

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra chemie**



**Česká zemědělská  
univerzita v Praze**

**Vliv hnojení na obsah karotenoidů v pšenicích s barevným  
zrnem**

**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Adam Kos**

**Kvalita potravin a zpracování zemědělských produktů**

**Vedoucí práce: Ing. Luboš Paznocht, Ph.D.**

**© 2021 ČZU v Praze**

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv hnojení na obsah karotenoidů v pšenících s barevným zrnem" jsem vypracoval 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 autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne \_\_\_\_\_

## **Poděkování**

Rád bych touto cestou poděkoval vedoucímu diplomové práce Ing. Lubošovi Paznochtovi, Ph.D. za jeho trpělivost, pečlivost, cenné rady a připomínky. Dále bych chtěl poděkovat Ing. Barboře Burešové za pomoc při statistickém zhodnocení. Nakonec chci poděkovat mé rodině za podporu při psaní této práce.

# Vliv hnojení na obsah karotenoidů v pšenicích s barevným zrnem

## Souhrn

Pšenice představuje pro lidstvo důležitý zdroj energie. Kromě poskytnutí základních živin (sacharidy, bílkoviny), je pšeničné zrnو využíváno jako zdroj mikronutrientů, mezi které patří například karotenoidy. Karotenoidy jsou organické sloučeniny, které jsou řazeny mezi tetra-terpenoidní pigmenty. Tyto látky mají prokázaný účinek na lidské zdraví, a jejich zvýšená konzumace může mít vliv na omezení výskytu mnoha onemocnění, jako jsou kardiovaskulární choroby a diabetes. Pozitivní účinek karotenoidů je připisován jejich antioxidačním vlastnostem.

V rámci pokusu byl zkoumán vliv dávky dusíkatého hnojení na obsah karotenoidů v zrnو dvanácti barevných pšenic (purpurové, modré, žluté, černé) a jedné kontrolní, komerčně pěstované, červené odrůdy. Těchto třináct genotypů pšenic bylo ošetřeno různými dávkami dusíkatého hnojiva, T1 - nulová dávka (0 kg N/ha), T2 - střední dávka (80 kg N/ha) a T3 - vysoká dávka (160 kg N/ha). Karotenoidy byly analyzovány a kvantifikovány za pomoci HPLC-DAD. V zrnech pšenic byl stanoven lutein, zeaxanthin, estery luteinu a Z-izomery luteinu. Nejvíce zastoupený karotenoid ve všech zkoumaných genotypech byl lutein, který tvořil 83,9 - 95,2 % z celkového obsahu karotenoidů. Vysoký obsah karotenoidů byl naměřen v genotypech Bona Vita (6,58 mg/kg sušiny), Anthograin (3,03 mg/kg sušiny) a Rosso (2,56 mg/kg sušiny). Po statistickém zhodnocení výsledků nebyl zjištěn významný rozdíl mezi jednotlivými úrovněmi hnojení a obsahem karotenoidů v zrnech pšenice.

**Klíčová slova:** HPLC, kvalita zrna, lutein, minerální hnojení, *Triticum*

# The impact of fertilising on carotenoid content in coloured-grain wheats

## Summary

Wheat is an important source of energy for humanity. In addition to providing essential nutrients (carbohydrates, proteins), wheat grain is used as a source of micronutrients, such as carotenoids. Carotenoids are organic compounds, that are classified as tetraterpenoid pigments. These substances have a proven effect on human health and their frequent consumption can affect the incidence of many diseases, such as cardiovascular disease and diabetes. The positive effect of carotenoids is attributed to their antioxidant properties.

In the experiment, the effect of nitrogen fertilization doses on the carotenoid content in the grain of twelve colored wheat (purple, blue, yellow, black) and one control, commercially grown, red variety was investigated. These thirteen wheat genotypes were subjected to different levels of nitrogen fertilizer, T1 - zero dose (0 kg N/ha), T2 - medium dose (80 kg N/ha) and T3 - high dose (160 kg N/ha). Carotenoids were analyzed and quantified by HPLC-DAD. Lutein, zeaxanthin, lutein esters and Z-isomers of lutein were determined in the examined wheat. The most represented carotenoid in all examined genotypes was lutein, which accounted for 83,9 - 95,2 % in terms of carotenoid content. High content of carotenoids was found in genotypes Bona Vita (6.58 mg/kg dry weight), Anthograin (3.03 mg/kg dry weight) and Rosso (2.56 mg/kg dry weight). After statistical evaluation of the results, no significant differences between the individual levels of fertilization and carotenoids in wheat grains were found.

**Keywords:** HPLC, grain quality, lutein, mineral fertilization, *Triticum*

# Obsah

<b>1 Úvod</b> .....	<b>8</b>
<b>2 Cíle práce a hypotéza</b> .....	<b>9</b>
<b>3 Teoretická část</b> .....	<b>10</b>
<b>3.1 Historie obilovin</b> .....	<b>10</b>
<b>3.2 Pšenice setá</b> .....	<b>11</b>
3.2.1 Taxonomické zařazení.....	11
3.2.2 Morfologie pšeničného zrna .....	12
3.2.3 Chemické složení pšeničného zrna .....	13
3.2.4 Faktory ovlivňující chemické složení, kvalitu a výnos zrna pšenice.....	14
3.2.5 Pšenice s barevným zrnem .....	15
3.2.6 Šlechtění pšenice .....	18
<b>3.3 Karotenoidy</b> .....	<b>19</b>
3.3.1 Biosyntéza karotenoidů .....	19
3.3.2 Funkce karotenoidů u rostlin a živočichů .....	22
3.3.3 Karotenoidy v lidské výživě.....	22
3.3.4 Nutričně významné karotenoidy .....	23
3.3.5 Karotenoidy v pšenici.....	25
<b>3.4 Hnojiva</b> .....	<b>28</b>
3.4.1 Statková (organická) hnojiva .....	28
3.4.2 Minerální hnojiva .....	29
3.4.2.1 Projevy nedostatku některých prvků na rostlině pšenice.....	29
3.4.2.2 Dusíkatá hnojiva a jejich vliv na obsah látek v pšeničném zrně .....	29
3.4.2.3 Vliv hnojiv na obsah karotenoidů v pšenici.....	30
3.4.3 Ekologické vs konvenční zemědělství při pěstování pšenice.....	30
<b>4 Materiál a metodika práce</b> .....	<b>32</b>
<b>4.1 Podmínky experimentu a popis lokality</b> .....	<b>32</b>
<b>4.2 Rostlinný materiál</b> .....	<b>33</b>
<b>4.3 Agronomická opatření</b> .....	<b>34</b>
<b>4.4 Použité chemikálie k vlastnímu pokusu</b> .....	<b>35</b>
<b>4.5 Příprava vzorků pro stanovení karotenoidů</b> .....	<b>35</b>
<b>4.6 Separace a detekce karotenoidů</b> .....	<b>36</b>
<b>5 Výsledky</b> .....	<b>37</b>
<b>6 Diskuze</b> .....	<b>45</b>

<b>7 Závěr</b> .....	<b>49</b>
<b>8 Zdroje</b> .....	<b>50</b>

# 1 Úvod

Obilniny, zejména pšenice, rýže a kukuřice jsou hlavní potravinářské plodiny pro společnost, jak ji známe dnes. Tyto plodiny prošly za posledních deset tisíc let významným procesem domestikace (Carver 2009). Pšenice je celosvětově jedna z nejvíce konzumovaných a pěstovaných plodin (Igrejas et al. 2020). V Evropě jde o nejpoužívanější surovinu pro výrobu mouky, ze které se následně vyrábějí hojně konzumované základní potraviny, chleba, těstoviny a pečivo (Paznocht et al. 2018). Pšenice již dlouhou dobu zaujímá v České republice první místo z hlediska osevní plochy (ČSÚ 2019).

V dnešní době je pro uspokojení poptávky, a tedy k dosažení vysokých hektarových výnosů při pěstování pšenice zapotřebí použití hnojiv. Jsou to především hnojiva, která mají značný vliv na tento faktor. Zároveň také ovlivňují kvalitu výsledného produktu, tedy pšeničného zrna a mohou mít vliv i na jeho složení (Anderson & Garlinge 2000).

Hlavní složky, ze kterých se zrno skládá, jsou sacharidy a bílkoviny. Obsahuje ale také vitaminy, minerální látky (hořčík, vápník a železo) a aminoritní složky (vitaminy skupiny B a v menším množství i vitamin E) (Colasuonno et al. 2019). Pšenice dále obsahuje látky zvané karotenoidy. Jsou to organické látky patřící mezi tetraterpenoidy. V posledních letech jsou karotenoidy předmětem zkoumání, zejména proto, že některé z nich jsou zdraví prospěšné, a to například díky svým antioxidačním vlastnostem (Trono 2019).



## 2 Cíle práce a hypotéza

Cílem této diplomové práce bylo:

- 1) Zpracovat literární rešerši s tématem vliv hnojení na obsah karotenoidů v pšenících s barevným zrnem.
- 2) Stanovit obsah a spektrum karotenoidních látek v zrně barevných pšeníc metodou HPLC-DAD.
- 3) Vyhodnotit vliv úrovně minerálního hnojení na obsah karotenoidů v zrně barevných pšeníc.

Hypotéza:

Množství minerálního hnojení použité při pěstování pšenice s barevným zrnem má vliv na obsah karotenoidů v jejím zrně.

## 3 Teoretické část

### 3.1 Historie obilovin

Historie pěstování obilnin sahá již daleko do pravěku, kdy se z dřívějších lovců a sběračů postupně stávali pěstitelé a primitivní zemědělci (Beranová 2015). Domestikace obilovin, a tedy i pšenice je úzce spjatá se snahou tehdejších lidí si zajistit větší kontrolu nad svým přísunem potravy. Tento proces začal pravděpodobně před 12 tisíci lety (Weiss & Zohary 2011).

Obiloviny jsou již tisíce let hlavní součástí lidské výživy a sehrály důležitou roli při vývoji lidské civilizace. Rýže, pšenice, kukuřice, čirok a proso jsou důležité pro přežití několika miliard lidí po celém světě. Konzumace těchto plodin zajišťuje více než 50 % celosvětového kalorického příjmu obyvatel (Awika 2011).

Lidé nejdříve začali pěstovat pšenici planou dvouzrnku (*Triticum dicoccoides*). Poté následovala první domestikovaná pšenice jednozrnka (*Triticum monococcum*). Tento druh byl pěstován v oblasti mezi řekami Eufrat a Tigris. Toto území je v mnoha pramenech označováno jako Úrodný Půlměsíc. Později byla objevena i pšenice špalda (*Triticum spelta*), pšenice naduřelá (*Triticum turgidum*) a pšenice setá (*Triticum aestivum*). Postupem času začala být pšenice pěstována i v Asii, kam ji dopravili obchodníci cestující po hedvábné stezce (Igrejas et al. 2020). Pšenice byla v průběhu historie velmi důležitá například v Římském impériu, kde byla užívána jako jeden z hlavních zdrojů potravin. Z namleté pšenice tehdejší obyvatelé vyráběli většinou jednoduché placky. Chléb podobný tomu dnešnímu byl připravován až o několik století později, když byla zdokonalena technika mletí, za pomoci mlýnských kamenů (Beranová 2015).

Ve starověké Číně byla pšenice považována za jednu z pěti posvátných rostlin spolu s prosem, rýží, ječmenem a sójou. Změny v užití pšenice za poslední dvě tisíciletí jasně poukazují na to, jak se v západních zemích postupně zdokonaloval postup mletí pšenice na mouku a také její prosévání na velmi kvalitní bílou mouku. Tento proces zdokonalování technologie probíhal intenzivně v devatenáctém století při průmyslové revoluci. Pšenice začala nakonec zcela dominovat na trhu, v porovnání s ostatními obilovinami (ječmen, žito), protože spotřebitelé začali preferovat bílý chléb (Igrejas et al. 2020).

## 3.2 Pšenice setá

V České republice jde o nejhojněji pěstovanou polní plodinu s největší osevní plochou čítající bezmála jeden milion hektarů půdy (ČSÚ 2019). Pšenici můžeme nazvat plodinou, tedy rostlinou, která má pro člověka přímý užitek jako potrava, ale i nepřímý užitek, například jako krmivo pro dobytek. V posledních desetiletích byla nejvíce pěstována pšenice setá, pšenice tvrdá a pšenice špalda. Z tvrdé pšenice je vyráběna semolinová mouka, používaná v potravinářském průmyslu na přípravu těstovin. Špalda bývá často pěstována díky své dobré odolnosti a mouka z ní se používá na výrobu pečiva a krupice (Zimolka 2005). V současné době jsou největšími producenty pšenice seté Čína a Indie, a to zejména proto, že pšenice jako rostlina není příliš náročná na zavlažování (Igrejas et al. 2020). Na rozdíl od jiných obilnin ji zle pěstovat i v náročnějších klimatických podmínkách (Anderson & Garlinge 2000). Dokáže se také lépe adaptovat na prostředí ve kterém je pěstována, v porovnání s ostatními obilninami (Zimolka 2005).

Pšenice je těsně za rýží nejdůležitější zdroj energie pro člověka. Dále je také významným zdrojem bílkovin, i když složení esenciálních aminokyselin není úplně ideální, jde zejména o nedostatek lyzinu. Spotřeba pšeničné mouky na obyvatele ročně dosahuje po světě různých hodnot. Nejvíce jí zkonsumují obyvatelé Středního Východu a Východní Evropy, a to až 150 kg/osobu/rok. Naopak nejnižší spotřebu vykazují Africké země se svými přibližně 17 kg/osobu/rok. V Evropě a USA tato data v některých letech značně kolísají, a to zejména kvůli moderním trendům v dietách, které omezují příjem sacharidů a propagují vyšší příjem bílkovin (Awika 2011).

### 3.2.1 Taxonomické zařazení

Z taxonomického hlediska jsou obilniny zařazovány mezi traviny (*Gramineae*), a až na několik výjimek také všechny patří mezi lipnicovité (*Poaceae*). Pšenice se dále zařazuje v rostlinné říši takto: podříše - cévnaté rostliny (*Tracheobionta*), oddělení - krytosemenné (*Magnoliophyta*), třída - jednoděložné (*Liliopsida*), čeleď - lipnicovité (*Poaceae*), podčeleď - lipnicové (*Pooideae*), rod - pšenice (*Triticum*). Rod *Triticum* je rozdělován podle počtu chromozomů (14, 28, 42) na tři podrody, a to diploidní ( $2n = 14$ ), tetraploidní ( $2n = 28$ ) a hexaploidní ( $2n = 42$ ) pšenice (Zimolka 2005).

Do diploidních pšenic patří pšenice kulturní jednozrnka (*T. monococcum*) a pšenice planá jednozrnka (*T. boeoticum* Boiss.). Tento podrod má v dnešní době jen malé zemědělské využití a komerčně se příliš nepěstuje (Anderson & Garlinge 2000).

Do tetraploidních pšenic patří pšenice tvrdá (*T. durum*), pšenice naduřelá, pšenice polská (*T. polonicum*), pšenice Timofejevova (*T. timopheevi*), pšenice dvouzrnka (*T. dicoccum*) a pšenice planá dvouzrnka. Velký zemědělský význam má z této skupiny zejména pšenice tvrdá (Carver 2009).

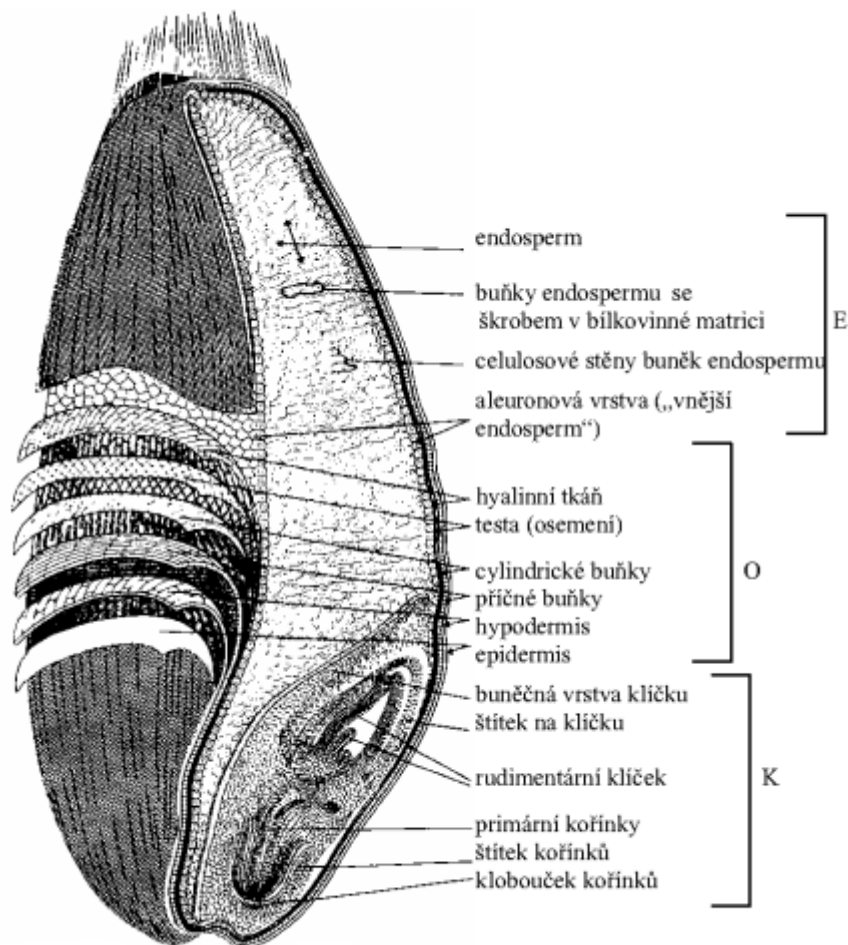
Do hexaploidních pšenic patří současně nejvíce pěstované a využívané pšenice. Hlavními dvěma zástupci jsou pšenice špalda a pšenice setá. Pšenice setá může mít čtyři

varianty: *milturum*, *erythrospermum*, *furregium* a *lutescens*. Tyto varianty se odlišují barvou a přítomností osin na klasu. V České republice bývá nejčastěji pěstována poslední varianta, tedy *lutescens* (Zimolka 2005).

### 3.2.2 Morfologie pšeničného zrna

Plodem pšenice je obilka (*caryopsis*). U obilovin je obilka buď spojena s pluchou (pluchaté zrno), nebo je oddělená (nahé zrno) (Šrámková et al. 2009). Pšeničná obilka má oválný tvar a nahé zrno a jednotlivé odrůdy se mohou lišit svojí délkou a zploštěním. Délka zrna se pohybuje okolo 5 až 8 mm na délku, 2,5 až 4,5 mm na šířku, a s hmotností přibližně 30 až 50 mg (Příhoda et al. 2004). Velikost zrna mohou výrazně ovlivnit klimatické podmínky a dále také hnojení (Anderson & Garlinge 2000).

Obilka má na jedné straně záhyb, kde byla připojena k rostlině (Příhoda et al. 2004). Zrno je chráněno proti poškození svými obalovými vrstvami (oplodím). Tyto vrstvy jsou většinou oddělovány v první fázi mletí zrna na mouku a jsou složeny z prázdných a mrtvých buněk. Na rozdíl od další vrstvy (nacházející se mezi endospermem a obalovými vrstvami) - aleuronu, která obsahuje živé protoplasty (Šrámková et al. 2009). Buňky aleuronu mají krychlovitý tvar a jsou důležité při procesu klíčení. Dále následuje součást zrna s největším podílem, která se nazývá endosperm. Ten hraje velmi důležitou roli, protože poskytuje energii, která je potřebná pro správný růst rostliny (Šrámková et al. 2009). Na jednom konci zrna se nachází klíček. Při mletí zrna na mouku je oddělován, protože snadno podléhá oxidačním procesům, které jsou při zpracování zrna velmi nežádoucí (Zimolka 2005). Jednotlivé části zrna pšenice jsou znázorněny na obrázku č.1.



**Obrázek č.1:** Podélný řez zrnem pšenice. Vrstva přecházející do mouky (E), do otrub (O) a odstraňovaná vrstva (K) (Příhoda et al. 2004)

### 3.2.3 Chemické složení pšeničného zrna

Složení zrna se může lišit v závislosti na několika faktorech: odrůda, klimatické podmínky, půdní typ a hnojení (Anderson & Garlinge 2000). Hlavní složky zrna jsou bílkoviny, sacharidy, lipidy a minoritní složky (například vitaminy skupiny B, E a minerální látky) (Carver 2009). Celkový obsah bílkovin v zrně se pohybuje mezi 10 - 18 % v sušině, obsah sacharidů je v rozmezí 60 - 75 % v sušině, obsah lipidů 2 - 2,5 % a obsah minerálních látek 1 - 2,6 %. Bílkoviny v pšenici se dají rozdělit na 4 typy: albuminy, globuliny, gliadiny a gluteniny (Příhoda et al. 2004). Albuminy a globuliny jsou koncentrovány v obalech, aleuronové vrstvě a v klíčku, a do těchto dvou skupin se řadí většina aktivních bílkovin (enzymů). Na celkovém obsahu bílkovin se podílejí 25 %. Gliadiny a gluteniny jsou složeny z podstatně složitější a nachází se především v endospermu. Jsou to zásobní bílkoviny. Nemají žádnou enzymovou aktivitu, jsou však důležité při výrobě těsta a mají vliv na jeho kvalitu. Na celkovém obsahu bílkovin se podílejí ze 75 % (Belderok et al. 2000).

Další významnou složkou jsou sacharidy. Obiloviny je ukládají ve formě škrobu. Jeho celkový obsah v zrna je 60 až 75 % sušiny zrna a rozděluje se na dvě frakce: amylozu a amylopektin. Ty se liší podle větvení, přičemž amyloza je lineární a amylopektin rozvětvený (Šrámková et al. 2009). Množství lipidů je v pšenici velmi malé, mají ale velký vliv na texturu a kvalitu výrobku. Mohou totiž tvořit komplexy jak s bílkovinami, tak se škrobem. Nejvíce jich je v klíčku (11 %) (Příhoda et al. 2004).

Jednotlivé části pšeničného zrna se velmi liší ve svém chemickém složení. Obalové vrstvy zrna jsou složeny z velké části z celulózy a pentozanů a obsahují vitaminy ze skupiny B a také minerální látky. Obsah bílkovin je v těchto vrstvách přibližně 16 % v sušině a minerálních látek 7 %. Další částí je aleuronová vrstva s vysokým obsahem bílkovin, a to až 30 %. Má také nejvyšší obsah minerálních látek při porovnání s ostatními částmi pšeničné obilky (Příhoda et al. 2004). Endosperm obsahuje velký podíl škrobu (Zimolka 2005). Kromě sacharidů jsou v endospermu zastoupeny také tuky (1,5 %) a bílkoviny (13 %). Obsah minerálních látek je v endospermu poměrně nízký a pohybuje se od 0,5 % po 1,5 % (Anderson & Garlinge 2000). Klíček je bohatý na bílkoviny (25 %) a také na tuky (8 - 13 %). Obsahuje značné množství minerálních látek (4,5 %) a je zdrojem vitamínu E (Šrámková et al. 2009).

### **3.2.4 Faktory ovlivňující chemické složení, kvalitu a výnos zrna pšenice**

Složení a technologická kvalita jsou důležité aspekty zkoumané u každého potravinářského produktu určeného pro lidskou spotřebu, pšenici nevyjímaje (Schaaf et al. 2020). U pšenice velmi záleží na kombinaci mnoha faktorů, podle nichž je buď zařazena jako vhodná pro pekařský průmysl, nebo naopak jako krmivo pro hospodářská zvířata (Smith & Gooding 1999). Mezi hlavní faktory ovlivňující chemické složení a technologickou kvalitu zrna pšenice patří podmínky, za jakých je plodina pěstována, dávka a typ užívaných hnojiv, posklizňové úpravy, a nakonec způsob a délka skladování (Zimolka 2005).

Výnos pšenice je také důležitý faktor, na který se soustředí většina pěstitelů a zemědělců (Hřivna et al. 2018). Existuje celá řada opatření, které lze uplatňovat pro dosažení co nejvyššího výnosu a kvality. Patří mezi ně zejména správné střídání plodin, dále pak hnojení a ochrana rostlin (Terrile et al. 2017).

Pšenice není v porovnání s ostatními obilninami příliš náročná na podmínky pěstování a daří se jí i v náročnějších klimatech s nižšími srážkovými úhrny (Anderson & Garlinge 2000). Během druhé poloviny minulého století byl několikanásobně zvýšen potenciál pšenice dosáhnout vysokého výnosu, a to zejména díky vyšlechtění odolnějších odrůd a používání hnojiv (Terrile et al. 2017). Za posledních padesát let byl také znamenitě zvýšen obsah bílkovin v zrna, snížen počet dní potřebných pro dozrání, zvýšena pevnost stébla a odolnost pšenice proti chorobám a škůdcům (Carew et al. 2009). Důležitý údaj je také hektarový výnos. Za hlavní faktor ovlivňující hektarový výnos pšenice je považován genotyp a přísun vody během doby kvetení (Terrile et al. 2017). Hektarový výnos se u komerčně pěstovaných

pšenice pohybuje kolem 4 - 5 tun s minimem 2 tun v letech se slabou úrodou a maximem až 7 tun v úrodných letech (Stehno et al. 2008).

Na kvalitu zrna mají dále velký vliv teploty během růstu rostliny (Anderson & Garlinge 2000). Doba, kdy jsou v zrnu vytvářeny všechny potřebné zásobní látky, je velmi závislá na teplotě po kvetení, tedy od konce června do začátku července. Až příliš vysoké teploty jsou však nežádoucí. Nejen že může dojít k prosychání rostlin, ale důsledek těchto teplot je také větší počet menších zrn, a ačkoliv rychlost růstu je zvýšena, nevyrovná to zkrácení doby růstu zrna (Smith & Gooding 1999).

Významnými faktory, které ovlivňují výnos pšenice jsou půdní vlastnosti a podnebí. Pšenice je plodina, která se dá snadno pěstovat v oblastech s mírným a středně teplým klimatem. Bývá seta na půdách slabě alkalických a slabě kyselých, které jsou pro ni ideální. Pro tuto plodinu je nejvhodnější půdní typ černozem a hnědozem. Pšenice bohužel díky svému málo rozvinutému kořenovému systému není dobrý konkurent pro plevely, které z půdy odčerpávají živiny a tím snižují hektarový výnos pšenice (Konvalina & Moudrý 2008).

### **3.2.5 Pšenice s barevným zrnem**

V současné době mimo klasických pšenic existují i genotypy s barevným zrnem (různé barevné genotypy jsou vyobrazeny na obrázku č.2). Tyto genotypy totiž obsahují větší množství karotenoidů v endospermu, a mají také schopnost vytvářet a ukládat antokyany ve svých vnějších obalových vrstvách (například v aleuronové vrstvě). V těchto pšenicích je zastoupeno několik hlavních karotenoidů: lutein,  $\beta$ -karoten,  $\beta$ -kryptoxanthin, zeaxanthin, antheraxanthin, taraxanthin, triticoxanthin a flavoxanthin (Paznocht et al. 2019).

Barevným pšenícím je v poslední době věnována zvýšená pozornost, a to zejména díky zdravotním výhodám, které jsou spojeny s jejich konzumací. Konzumace celozrnných produktů je spojována s nižším výskytem určitých onemocnění jako je diabetes, kardiovaskulární onemocnění nebo rakovina. Mnoho těchto mechanismů již bylo prokázáno a většina z nich je spojována s obsahem nutrientů a fytochemikálií, mezi které patří i karotenoidy (Martini et al. 2015). Konzumace karotenoidů je pro člověka výhodná díky tomu, že mají značné antioxidační vlastnosti (Paznocht et al. 2019).



**Obrázek č.2:** Barevné odrůdy pšenice 1 - bílá, 2,4 - modrá, 3,5 - purpurová (Mbarki et al. 2018)

V poslední době bylo vyšlechtěno mnoho různých barevných odrůd pšenice, s vysokým obsahem antokyanů, ale také dalších sekundárních metabolitů mezi které patří polyfenoly a karotenoidy (Sytar et al. 2018). Přítomnost těchto látek se projevuje různým zbarvením zrna. Současné genetické zdroje pšenice mají různou skladbu genů, potřebných pro tvorbu těchto pigmentů. Využití již existujících odrůd pšenice s různým genotypem je klíčové pro šlechtění odrůd s vyšším počtem genů, potřebných pro tvorbu barevných pigmentů. Důležité je, se také soustředit na komerční využití těchto nových odrůd. Například současné odrůdy poskytující geny pro tvorbu modrých a purpurových pigmentů mají obvykle nižší hektarový výnos v porovnání se standardními odrůdami (Martinek et al. 2013).

Nejběžněji pěstované odrůdy pšenice mají červenou a bílou barvu zrna (Wang et al. 2020). Červená barva je řízena třemi dominantními alelami. Jsou to *R-A1* (na chromozomu 3AL), *R-B1* (na chromozomu 3DL) a *R-D1* (chromozom 3DL). Bílá barva je řízena výskytem tří recesivních alel *r-A1*, *r-B1* a *r-D1*. Toto zbarvení je způsobeno výskytem derivátů katechinu a taninu, které vznikají při biosyntéze flavonoidů. Naproti tomu červená barva je spojována s vyšším obsahem fenolických látek. Červenou barvu zrna pšenice způsobují konkrétně látky flobafen a proantokyanidin (Himi & Noda 2005).

Další barevná varianta, která byla vyšlechtěna, je purpurová pšenice (obrázek č.3b). Tato barva perikarpu je způsobena geny pro purpurový perikarp *Pp* (Wang et al. 2020). Jde o geny *Pp1* a *Pp2*, které se vyskytují na chromozomech 7B a 7A. Tyto geny byly přeneseny na běžnou pšenici z tetraploidní pšenice *Triticum turgidum* L. subsp. *Abyssinicum* Vavilov. Purpurové odrůdy pšenice jsou charakteristické obsahem antokyanů (Martinek et al. 2013). Tato barva je způsobena především výskytem kyanidin 3-rutinosidu, peonidin 3-glukosidu, kyanidin 3-glukosidu a sukcinyl glukosidu (Jaafar et al. 2013; Martinek et al. 2013).

Mezi další odrůdy pšenice patří ty s modře zbarveným aleuronem. Výskyt této barvy určují geny pro modrý aleuron *Ba*, konkrétně kodominantní gen *Ba1* a *Ba2*. Gen *Ba1* byl přenesen do pšenice za pomoci celého chromozomového ramene z rostliny *Thinopyrum ponticum* a začleněn do chromozomu 4B (Martinek et al. 2013). Gen *Ba2* byl přenesen



z *Triticum boeoticum* (Kniewel et al. 2009). Modře zbarvené odrůdy pšenice se od těch purpurových liší skladbou obsažených antokyanů. V pšenici s modrým aleuronem se vyskytují zejména delphinidin 3-glukosid a delphinin 3-rutinosid, zatímco kyanidin 3-glukosid a kyanidin 3-rutinosid jsou obsaženy v malém množství v porovnání s purpurovými odrůdami (Martinek et al. 2013).

Existují i odrůdy pšenice se žlutým endospermem. Ten se může vyskytovat například u tvrdé pšenice (*Triticum durum*), kde je velmi žádoucí a posuzovaný jako jeden z hlavních kvalitativních znaků (Colasuonno et al. 2019). Odrůdy pšenice se žlutým endospermem obsahují vyšší množství karotenoidů v porovnání s ostatními barevnými odrůdami. Žlutá barva endospermu je řízena dvěma geny *Psy1* a *Psy2* které se vyskytují na homologních chromozomech 5 a 7. Tyto geny ovlivňují biosyntézu karotenoidů přes enzym fytoen syntázu (Martinek et al. 2013).



**Obrázek č.3:** Pšeničné zrno s různým obsahem pigmentů: **a** - červená (Red), **b** - purpurová (*Pp*), **c** - modrá (*Ba*), **d** - černá (*Ba+Pp*) (Böhmdorfer et al. 2018)

### 3.2.6 Šlechtění pšenice

K prvnímu šlechtění pšenice došlo ve Francii v polovině devatenáctého století a následně až na začátku dvacátého století v Itálii, díky znovuobjevení Mendelových zákonů (Igrejas et al. 2020). Šlechtitelé pšenice se nejdříve soustředili na zvýšení rezistence proti poléhání, odolnosti proti mrazu (Zimolka 2005) a také na odolnost kořenového systému, listů a stonku proti chorobám (Anderson & Garlinge 2000).

S postupem času bylo potřeba výrazně navýšit produkci pšenice, aby byla uspokojena poptávka rostoucí populace. To bylo možné zejména díky agronomickým a genetickým pokrokům během takzvané Zelené revoluce, což byl celosvětový proces, při kterém došlo k masivnímu nárůstu zemědělské produkce díky použití nových technologií (Igrejas et al. 2020).

Na začátku dvacátého prvního století se většina šlechtitelských programů soustředila na vyšlechtění takových odrůd, které budou mít co nejvyšší hektarové výnosy a zároveň budou odolné vůči stresu a chorobám (Zimolka 2005). Současný trend ale dává spíše přednost kvalitě před kvantitou, a proto se nynější výzkumy soustředí zejména na technologickou kvalitu zrna, složení bílkovin, absorpci vody a také na barvu mouky a s tím souvisejícím obsahem karotenoidů v zrně (Colasuonno et al. 2019).

Zastoupení karotenoidních látek v pšenici značně ovlivňuje genetická predispozice rostliny (Martinek et al. 2013). Obsah karotenoidů je kvantitativní znak regulovaný různými geny, které se vzájemně ovlivňují (Leenhardt et al. 2006). Tyto geny mají také vysokou dědičnost, což usnadňuje snahy šlechtitelů o vyvinutí odrůd s vyššími obsahy těchto látek (Colasuonno et al. 2019). Genové úseky pro tvorbu karotenoidů se u pšenice vyskytují téměř na všech jejích chromozomech (Martinek et al. 2013). Přibližně 60 % těchto úseků se vyskytuje na 7L homologních chromozomových ramenech. Minoritní úseky genů pro syntézu karotenoidů byly detekovány na chromozomech 1A, 1B, 2A, 3A, 4A, 4B, 5A, 5B, a 6B. Geny pro kvantitativní tvorbu  $\alpha$ -karotenu a  $\beta$ -karotenu se vyskytují na chromozomech 2A, 3B, 5A a 7A (Colasuonno et al. 2019). Gen, kterým je kódován enzym lykopen  $\epsilon$ -cykláza na chromozomu 3A, má důležitou roli při regulaci obsahu lykopenu v zrně pšenice, a gen kódující lykopen  $\beta$ -cyklázu ovlivňuje syntézu  $\beta$ -karotenu. Výzkum specifických genových úseků pro tvorbu karotenoidních látek v pšenici bude v budoucnu klíčový pro šlechtění odrůd se zvýšeným obsahem těchto látek (Colasuonno et al. 2019).

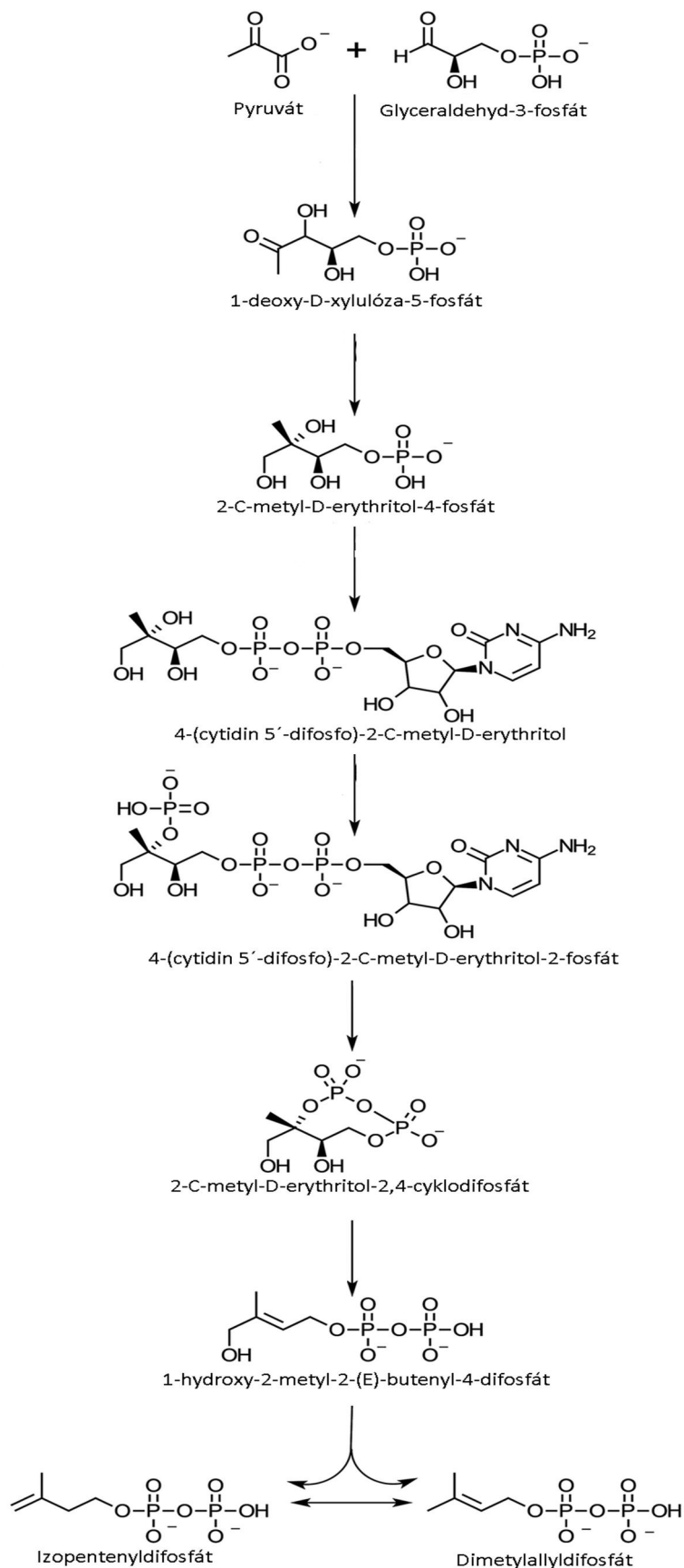
### 3.3 Karotenoidy

Karotenoidy jsou lipofilní pigmenty syntetizované rostlinami, řasami, bakteriemi, kvasinkami a plísněmi (Sun et al. 2018), a jsou řazeny mezi přirozeně se vyskytující tetraterpenoidní pigmenty (Britton 2020). Patří také mezi organické sloučeniny, rozpustné v tučných. Karotenoidy vykazují značnou chemickou reaktivitu a světlo absorbující vlastnosti. Jsou rozdělovány do dvou skupin na karoteny, které se skládají z atomů uhlíku a vodíku, a jejich formu, která navíc obsahuje kyslík xantofyly (Sun et al. 2018).

V současnosti bylo popsáno asi 1000 přirozeně se vyskytujících karotenoidů. Ty můžeme klasifikovat na základě jejich chemické struktury jako C<sub>30</sub>, C<sub>40</sub> a C<sub>50</sub>. Tato čísla udávají počet uhlíků, ze kterých se skládají. Nejdůležitější skupinou jsou C<sub>40</sub> karotenoidy. Do této skupiny patří až 95 % všech známých karotenoidních látek. Karotenoidy z této skupiny jsou syntetizovány eukaryotními organismy a bakteriemi a v přírodě se vyskytují ve značně větší míře než předchozí dvě skupiny (Sathasivam et al. 2020). V dietě člověka jich hraje určitou roli přibližně 50. Mezi významné karotenoidy pro výživu lidí patří β-karoten, α-karoten, lykopen, lutein, zeaxanthin a β-kryptoxanthin (Arathi et al. 2015). Karotenoidy jsou pro rostliny nepostradatelné a také klíčové ve výživě člověka (Sathasivam et al. 2020). Další dvě méně významné skupiny karotenoidů jsou C<sub>30</sub> a C<sub>50</sub> karotenoidy, které jsou syntetizovány nefotosyntetizujícími bakteriemi. V jejich struktuře je obsaženo 6 a 10 pětiuhlíkatých izoprenoidních molekul (Britton 2020).

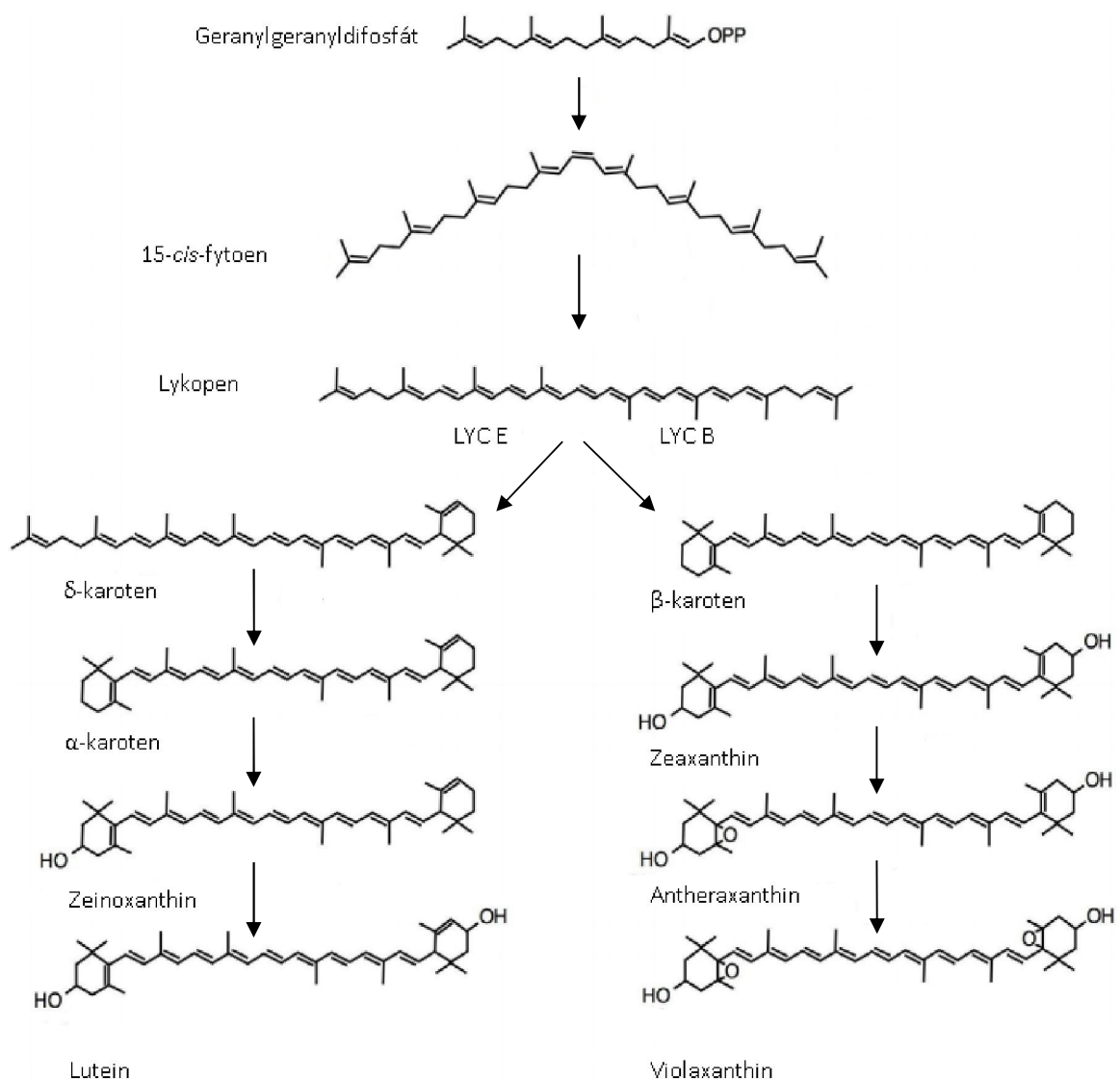
#### 3.3.1 Biosyntéza karotenoidů

V rostlinách jsou karotenoidy syntetizovány v květech, plodech, kořenech, a také v semenech (Hermanns et al. 2020). Aby mohly karotenoidy vzniknout, je nejdříve zapotřebí dvou prekurzorů, a to dimetylallyldifosfátu a izopentenylidifosfátu. Tyto izoprenoidní prekurzory mohou vzniknout za pomoci dvou metabolických drah. První je nazývána jako MVA dráha (podle kyseliny mevalonové) a zahrnuje celkem sedm reakcí (Kuzuyama & Seto 2012). Začátek této dráhy vychází z acetylkoenzymu A ze kterého nakonec vznikne izopentenylidifosfát. Dimetylallyldifosfát je poté vytvořen izomerací izopentenylidifosfátu působením enzymu izopentenylidifosfát delta izomerázy. Další možná dráha pro vznik prekurzorů je označována jako MEP dráha (znázorněna na obrázku č.4). Tato dráha začíná reakcí pyruvátu a glycerinaldehyd-3-fosfátu. Zatímco MVA dráhu využívají zejména houby a některý prokaryotické jednobuněčné mikroorganismy, MEP dráha je využívána vyššími rostlinami (Benerjee & Sharkey 2014).



**Obrázek č.4:** Syntéza izopentenylidifosfátu a dimetylallyldifosfátu (MEP dráha) (Banerjee & Sharkey 2014; upraveno)

Po uskutečnění MEP dráhy začne vlastní syntéza karotenoidů. Spojením izopentenyldifosfátu a dimetylallyldifosfátu vzniká geranyldifosfát. Dále do reakce vstupuje další molekula izopentenyldifosfátu, která s ním kondenzuje a dává vzniknout molekule farnezyldifosfátu. Tato molekula je znovu kondenzována izopentenyldifosfátem a vzniká geranylgeranyldifosfát, který obsahuje 20 uhlíků. Nakonec redukcí dvou molekul této sloučeniny vzniká 15-*cis*-fytoen, což je první karotenoid (Šivel et al. 2013). Z něj poté desaturací a izomerací vzniká lykopen. Z lykopenu dále vznikají, díky enzymům lykopen cyklázám (LYC E, LYC B), další karotenoidy (Sathasivam et al. 2020). Tento proces je znázorněn na obrázku č.5.



**Obrázek č.5:** Syntéza karotenoidů z geranylgeranyldifosfátu (Diretto et al. 2006; upraveno)

### 3.3.2 Funkce karotenoidů u rostlin a živočichů

Asi 50 karotenoidů v rostlinách působí jako složka absorbující světlo. Hlavní role těchto pigmentů spočívá v zachycování světla, převádění excitovaných elektronů k molekulám chlorofylu a mají také fotoprotektivní funkci díky regulaci proudění energie (Kaczor & Baranska 2016). Karotenoidy se v rostlinách mohou vyskytovat jako primární i jako sekundární metabolity. V zelených částech rostlin jsou jako primární metabolity nezbytné pro přežití jedince (Hermanns et al. 2020).

Karotenoidy mají funkci jako stabilizátory biomembrán a na nich navázaných pigmento-proteinových komplexů (Kaczor & Baranska 2016). Karotenoidy jsou pomocné pigmenty, které efektivně zvyšují rozsah světla, který rostlina absorbuje (Sun et al. 2018) a jsou efektivní zejména při vlnových délkách mezi 400 - 450 nm (Hermanns et al. 2020). Jejich ochranná role v rostlinách spočívá v potlačení tripletových chlorofylových molekul a pohlcení singletových kyslíků, které se mohou vyskytovat v chloroplastech (Kaczor & Baranska 2016). Karotenoidy jsou prekurzory metabolitů potřebných pro biosyntézu některých fytohormonů a strigolaktonů a pro formování různých signálních molekul. Mezi nejčastější zástupce vyskytující se ve fotosyntetizujících částech rostlin patří lutein,  $\beta$ -karoten, zeaxanthin a violaxanthin v sestupném pořadí. V nefotosyntetizujících částech rostliny (plody, kořeny, květy) se akumulují jako specializované metabolity. Tyto metabolity se rozkládají na vonné a aromatické sloučeniny s primárním cílem přilákat hmyz a zvířata pro rozptýlení semen (Hermanns et al. 2020). Karotenoidy také díky svým výrazným barvám lákají na rostlinu opylovače, kteří roznesou její pyl na velké vzdálenosti, a tím významně pomáhají rostlině v rozmnožování (Sun et al. 2018).

Rostliny syntetizují karotenoidy v plastidech a ukládají je ve svých buňkách (Amorim-Carrilho et al. 2014). Plastidy existují v mnoha formách, a to jako proplastidy, etioplasty, chloroplasty, amyloplastidy a chromoplasty. Tyto plastidy se velmi liší ve své schopnosti tvořit různé množství a typy karotenoidů, a hrají také významnou roli v řízení aktivity karotenoidů, jejich stabilitě a pigmentové rozmanitosti (Sun et al. 2018).

U živočichů mohou karotenoidy sloužit jako rozlišovací znak ve vztahu k pohlaví jedinců. U obratlovců chrání karotenoidy jejich buňky před poškozením oxidativním stresem. Protože jsou hydrofobní, vyskytují se v živočišných buňkách většinou v lipido-proteinových komplexech. Specifické proteino-chromoforové interakce v těchto komplexech jsou zodpovědné za červené, modré a zelené zabarvení krunýře u mnoha bezobratlých živočichů (humr, krevety, langusta) (Vishnevetsky 1999).

### 3.3.3 Karotenoidy v lidské výživě

Karotenoidy jsou důležité i ve výživě člověka (Hermanns et al. 2020). Lidský organismus je totiž nedokáže syntetizovat, a proto je musí přijímat v potravě (Vishnevetsky 1999). Protože jsou karotenoidy hydrofobní sloučeniny (Sun et al. 2018), tak aby došlo k jejich vstřebání v trávicím traktu, musí být nejdříve rozpuštěny ve smíšených micelách tuku.

Následně jsou přenášeny za pomoci lipoproteinů a dopraveny do různých tkání. Vaření a další tepelné úpravy způsobují narušení struktury potravin, takže rozpustnost a absorpce karotenoidů je v těchto případech zvýšena. Je také mnoho rozdílů mezi konkrétními jedinci. Každý má totiž individuální schopnost absorpce karotenoidů z potravy a jejich dopravení do tkání (Britton 2020).

Karotenoidy mohou být prekurzory pro vitamin A (retinol), esenciální mikronutrient, který má vliv na důležité funkce jako je zrak, imunitní reakce a reprodukce. Konkrétní prekurzory vitaminu A jsou  $\alpha$ -karoten,  $\beta$ -karoten a  $\beta$ -kryptoxanthin (Arathi et al. 2015). Deficit vitaminu A je ve světě jedním z nejčastějších případů nedostatku mikronutrientu. Tento nedostatek postihuje celosvětově přes 250 milionů předškolních dětí a velké množství těhotných žen (Hermanns et al. 2020).

Karotenoidy mohou působit v lidském těle jako antioxidanty. Antioxidační aktivita je základní ochranou před mnoha chronickými onemocněními. Bylo prokázáno, že některé karotenoidy mají preventivní účinek proti různým onemocněním jako je Alzheimerova choroba (astaxanthin a  $\beta$ -karoten), Parkinsonova choroba ( $\beta$ -karoten), kardiovaskulární onemocnění (lutein, astaxanthin,  $\alpha$ -karoten, krocín a lykopen) a diabetes (lutein, zeaxanthin, astaxanthin,  $\alpha$ -karoten a lykopen). Dále bylo dokázáno, že některé karotenoidy mohou ovlivňovat imunitní systém, nebo mají neuroprotektivní efekt a v neposlední řadě i antinádavé účinky (Kaczor & Baranska 2016; Hermanns et al. 2020). Karotenoidy jsou také důležité pro správný zrak. Nižší příjem  $\beta$ -karotenu je spojen s výskytem syndromu světelné přecitlivělosti očí. Na zdraví lidského oka mají také vliv lutein a zeaxanthin, které pomáhají chránit oko před škodlivým zářením a snižují riziko výskytu makulární degenerace a katarakty (Hermanns et al. 2020; Vishnevetsky 1999).

Karotenoidy mají velký potenciál jako doplňky stravy ( $\beta$ -karoten), nebo bývají značně využívány v potravinářském průmyslu jako barviva (Sun et al. 2018). Kromě  $\beta$ -karotenu je nejvíce vyráběným karotenoidem astaxanthin, který je přidáván jako barvivo do krmné dávky u lososovitých ryb a korýšů, aby bylo dosaženo žádoucí barvy masa. Zdrojem těchto karotenoidů mohou být také některé řasy a kvasinkové kultury. Syntetické karotenoidy vytvořené mikroorganismy jsou běžně konzumovány v podobě doplňků ve výživě člověka, nebo se přidávají jako potravinářská barviva do ovocných džusů, alkoholických nápojů a mléčných výrobků. Dále jsou jimi obohacována krmiva pro zvířata, a jsou součástí mnoha výrobků ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu (Kaczor & Baranska 2016).

### 3.3.4 Nutričně významné karotenoidy

Existuje velké množství karotenoidních látek, ale jen malá část z nich ovlivňuje zdraví lidského organismu. V potravinovém řetězci a výživě člověka se jich vyskytuje okolo 100 jednotlivých sloučenin. Mezi nejvýznamnější patří  $\alpha$ -karoten,  $\beta$ -karoten, lutein, zeaxanthin a lykopen (Eggersdorfer & Wyss 2018). Tyto karotenoidy mají některé společné vlastnosti.

Patří mezi ně antioxidační aktivita a citlivost na světlo, teplo a kyslík. Při jejich zvýšené konzumaci mohou pozitivně ovlivňovat zdraví člověka (Gasa-Falcon et al. 2020).

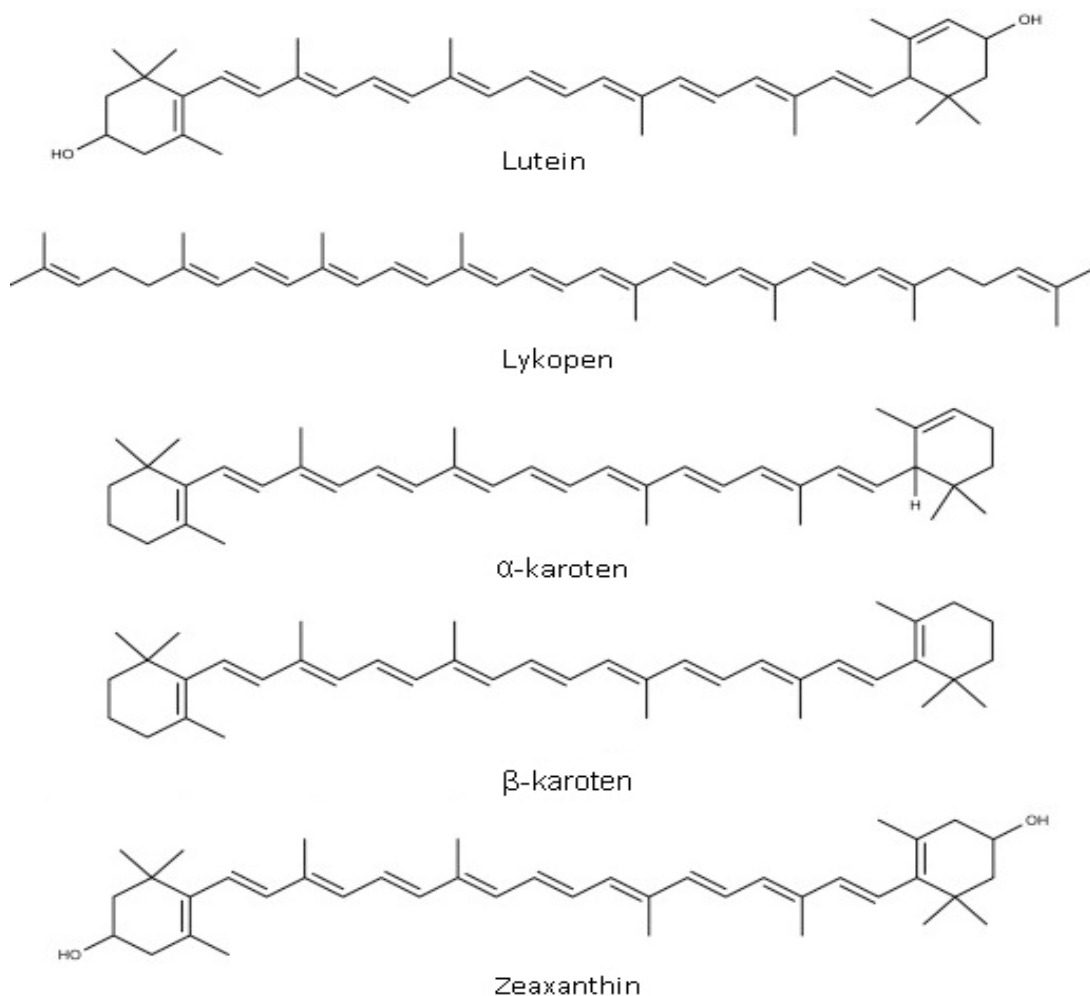
$\alpha$ -karoten se v potravě vyskytuje hojně a má aktivitu provitaminu A (Hermanns et al. 2020). Díky jeho struktuře (obrázek č.6), může být přetvořen na jednu molekulu retinolu.  $\alpha$ -karoten vykazuje možné protirakovinné a imuno-modulační účinky. Některé studie (Hermanns et al. 2020; Gasa-Falcon et al. 2020) uvádějí, že může mít pozitivní vliv při předcházení výskytu kardiovaskulárních onemocnění a rakoviny, ale další studie toto tvrzení vyvracejí (Eggersdorfer & Wyss 2018; Johnson 2002). Je to pravděpodobně způsobeno tím, že se  $\alpha$ -karoten vyskytuje v potravě s množstvím  $\beta$ -karotenu a tyto dva karotenoidy je od sebe těžké oddělit. Vysoký obsah  $\alpha$ -karotenu (až 30 mg/kg sušiny) mají například mrkve (Eggersdorfer & Wyss 2018).

$\beta$ -karoten je také prekurzorem vitamínu A. Jeho zvýšená konzumace ve stravě je spojována s nižší incidencí kardiovaskulárních onemocnění a degenerativních poruch (Gasa-Falcon et al. 2020).  $\beta$ -karoten je celkově nejrozšířenější a nejznámější karotenoid. Je to důležitý mikronutrient a jako rostlinný pigment je zodpovědný za oranžovou barvu. V rostlinách se může vyskytovat v krystalické formě v chromoplastech. Aby byl vyvážen a následně vstřebán v trávicím traktu je třeba ho uvolnit za pomoci zpracování jídla například jeho povařením (Lemmens et al. 2009). Výskyt jednoho karotenoidu ve stravě může výrazně ovlivňovat absorpci ostatních karotenoidů v trávicím traktu (Caballero et al. 2013).

Lutein, rostlinný pigment, patří k těm nejvíce zastoupeným karotenoidům v ovoci a zelenině. Tento karotenoid se hojně vyskytuje také v oční sítnici, a proto je často uváděn jako makulární pigment (Granado-Lorencio et al. 2010). Lutein je ve velkém množství obsažen v listové zelenině a ve vejcích. Tento karotenoid však nevykazuje aktivitu provitaminu A. Je nejvíce známý tím, že zabraňuje oxidačním procesům v sítnici a chrání tak oko před tímto stresem. Je také obsažen v lidské mozku, kde je jako nejzastoupenější karotenoid, a to především u dětí a dospívajících. Dále má také prokázané protizánětlivé účinky (Caballero et al. 2013).

Zeaxanthin také patří mezi takzvané makulární pigmenty (Granado-Lorencio et al. 2010). Tyto pigmenty mají schopnost překonat bariéru mezi krví a sítnicí, a dokáží se v lidském oku akumulovat (Buscemi et al. 2018). Zatímco lutein se hromadí v periferní části sítnice, nejvyšší koncentrace zeaxanthinu je v jejím středu (Zhang et al. 2020). V potravinách se zeaxanthin vyskytuje v kukuřici, pomerančích, listové zelenině a ve vaječném žloutku. Tento karotenoid je svou strukturou velmi podobný luteinu, který má tři centra chiralit, zatímco zeaxanthin jen dvě (Šivel et al. 2013), jak je znázorněno na obrázku č.6.





**Obrázek č.6:** Významné karotenoidy (Ribeiro et al. 2018; upraveno)

### 3.3.5 Karotenoidy v pšenici

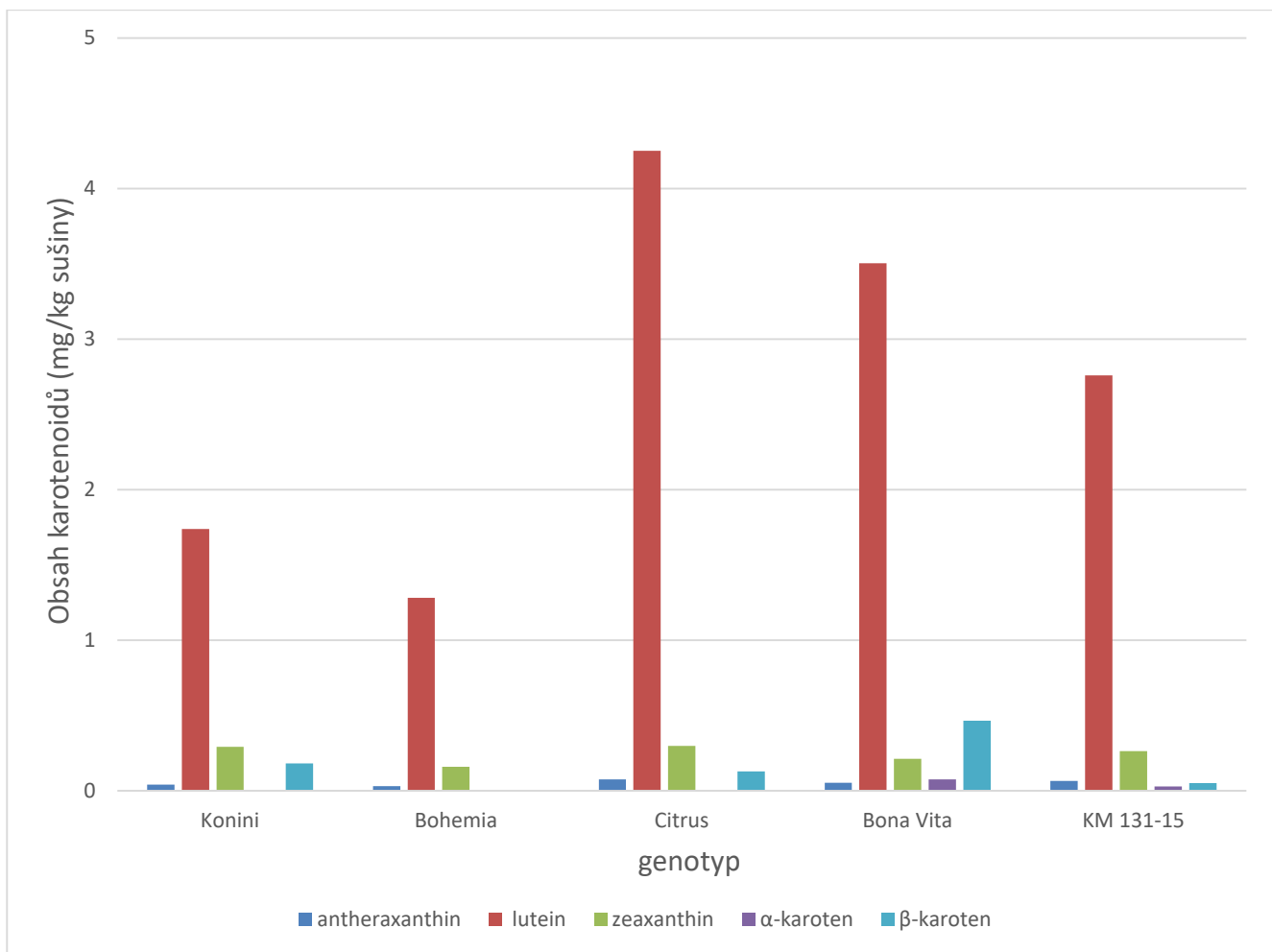
Pšenice, hlavní komponent v lidské stravě, může být zdrojem karotenoidů (Moore et al. 2005). V obyčejné mouce získané z běžně pěstované pšenice jich není obsaženo příliš velké množství (0,08 - 0,3 mg/kg sušiny) (Lv et al. 2012), proto bylo v nedávné době vyšlechtěno mnoho speciálních odrůd, které jsou bohaté na tyto látky. Barevná pšenice totiž není jenom zdrojem esenciálních látek potřebných k životu, ale nabízí se i jako zdroj dalších zdraví prospěšných látek, karotenoidů, které jsou známé svými pozitivními účinky na lidské zdraví (Mellado-Ortega & Hornero-Méndez 2016).

V pšenicích s barevným zrnem se hojně vyskytují různé karotenoidy, nejvíce je zastoupen lutein, zeaxanthin, α-karoten, β-karoten, antheraxanthin a v neposlední řadě je zde i malé množství β-kryptoxanthinu (Paznocht et al. 2019). Lutein se vyskytuje jako hlavní karotenoid ve většině pšenic, přibližně z 70 - 90 % a různé druhy pšenice se významně liší ve

svém celkovém obsahu karotenoidů. Běžně pěstovaná pšenice setá jich obsahuje v průměru 1,2 - 2 mg/kg sušiny zrna. Větší množství karotenoidů je obsaženo v pšenici špaldě, a to 1,5 - 3,5 mg/kg (Hussain et al. 2015). Primitivní odrůdy pšenice (*Triticum turgidum* L., *Triticum polonicum* L.) nemají významný obsah karotenoidních látek (0,94 - 1,89 mg/kg), jak uvádí ve své studii Hussain et al. (2015). Naopak vysoký obsah karotenoidů vykazuje pšenice jednozrnka (4 - 14 mg/kg) (Hentschel et al. 2002).

V potravinách se karotenoidy většinou vyskytují jako *E*- izomery, naopak *Z*- izomery vznikají během tepelné úpravy. Tyto dva izomery se liší svými biologickými vlastnostmi, antioxidační aktivitou a také biodostupností. V závislosti na genotypu dané plodiny jsou karotenoidy přítomné v barevných pšenicích buď v jejich volné, nebo esterifikované formě (Paznocht et al. 2019). V nezelených částech pšenice závisí akumulace karotenoidů na výskytu takových struktur, které jsou schopné tyto karotenoidy ukládat. Tyto struktury jsou označovány jako plastoglobuly a protože jsou bohaté na lipidy, karotenoidy se v nich dokáží efektivně akumulovat. Stabilita karotenoidů je v těchto strukturách mnohem větší než v jiných částech rostliny (chloroplastech), a to proto, že zde karotenoidy tvoří estery s mastnými kyselinami. Karotenoidy v esterifikované formě jsou lépe chráněny před degradací způsobenou fotooxidací (Mellado-Ortega & Hornero-Méndez 2017).

Karotenoidům se nyní dostává větší pozornosti než kdy dříve, protože jejich zařazení do jídelníčku s sebou nese celou řadu výhod. Bylo prokázáno, že dokáží zpomalit, nebo zcela zastavit výskyt některých populačních onemocnění, a tím přispět k celkové kvalitě života. Jedním možným způsobem jak je zařadit do běžně konzumované stravy je za pomoci pšenice s barevným zrnem. Obsah některých karotenoidů u vybraných odrůd pšenic můžeme vidět na grafu č.1.



**Graf č.1:** Obsah karotenoidů u vybraných genotypů pšenice: Konini (purpurová), Bohemia (červená), Citrus (žlutá), Bona Vita (žlutá), KM 131-15 (modrá) (Kos 2019; upraveno)

Vysoký obsah karotenoidů vykazuje také pšenice tvrdá. Tato pšenice je velmi důležitou surovinou pro výrobu těstovin (Zimolka 2005). Z této odrůdy pšenice je vyráběna semolinová mouka. Hlavní kvalitativní znaky u tohoto druhu mouky je obsah bílkovin a barva. Podle obsahu pigmentů může být žlutá, která je velmi žádoucí, nebo hnědá, která je méně žádoucí (Colasuonno et al. 2019). Žlutou barvu semolinové mouky a těstovin způsobuje právě obsah karotenoidů (Ramachandran et al. 2010). Průměrný obsah karotenoidů v tvrdé pšeničce se pohybuje okolo 6 mg/kg sušiny. Vyskytují se zde β-karoten, α-karoten, lutein, zeaxanthin, β-kryptoxanthin, antheraxanthin, taraxanthin, flavoxanthin a tritikoxanthin. Nejvíce zastoupený karotenoid je lutein (až 90 % z celkového obsahu karotenoidů). Lutein se vyskytuje v aleuronové vrstvě, endospermu a v klíčku (Colasuonno et al. 2019). Zbylé karotenoidy (zeaxanthin, esterifikovaný lutein, Z-izomery luteinu a zeaxanthinu, β-kryptoxanthin, β-karoten, α-karoten) jsou obsaženy v poměrně malém množství od 3 - 5 % z celkového obsahu karotenoidů (Ficco et al. 2014).

### 3.4 Hnojiva

Hnojiva jsou látky, důležité pro dosažení správného růstu rostliny, a k zajištění technologické kvality výsledného produktu (Zimolka 2005). Hnojiva mají velký vliv na úrodnost půdy a její vlastnosti (Vaněk et al. 2012). Jejich první použití se datuje již do období neolitu, ale první hnojiva vyprodukovaná chemickou cestou byla vytvořena až na počátku devatenáctého století, kdy byl objeven superfosfát, smícháním kyseliny sírové a kostní moučky. Později byla kostní moučka nahrazena koprolitem a nerosty bohatými na fosfáty, které zajistily zdroj fosforu (Hu et al. 2020).

Draselná hnojiva začala být používána nejdříve v Německu, a to v druhé polovině devatenáctého století. K hlavnímu rozvoji průmyslového odvětví, specializujícího se na produkci hnojiv, došlo během první, a následně koncem druhé světové války. První syntetické hnojivo na bázi dusíku byl dusičnan vápenatý, který byl připraven reakcí kyseliny dusičné s uhličitanem vápenatým s následnou neutralizací amoniakem (Russel & Williams 1977). Hnojiva používaná v současné době mohou mít velmi pestré složení a jsou rozdělována na statková (organická) a minerální (Zimolka 2005). Koncentraci dusíku a dalších nutrientů ve svrchních vrstvách půdy lze ovlivnit aplikací organických a minerálních hnojiv. Společná aplikace těchto dvou typů hnojiv je důležitá pro optimalizaci obsahu půdních látek a efektivní využití vody v půdě. Správné zvolení použitých hnojiv má také vliv na kvalitu semen (Holík et al. 2018).

#### 3.4.1 Statková (organická) hnojiva

Tato hnojiva jsou vyráběna ve většině případů v zemědělském podniku, a tam vznikají jako odpadní produkt chovaných zvířat (kejska, močůvka a hnůj), nebo jsou to rostlinné zbytky (sláma, komposty) (Zimolka 2005).

Dlouhodobé používání chemických hnojiv může značně snížit úrodnost půdy, znemožnit efektivitu používaných hnojiv, což vede k výraznému poklesu výnosu. Proto jsou kromě hnojiv vytvořených chemickou cestou používána i ta organická. Jejich aplikace je využívána již několik tisíc let, v porovnání s chemickými, která začala být vyráběna a používána ve velké míře až v první polovině dvacátého století. Organická hnojiva prokazatelně zvyšují úrodnost půdy, zajišťují ideální podmínky k růstu plodin a zvyšují hektarový výnos (Hu et al. 2020). Tato hnojiva ovlivňují obsah uhlíku v půdě a tím pádem i množství mikroorganismů v půdním horizontu. Klíčovým faktorem u působení organických hnojiv v půdě je jejich postupné uvolňování živin do půdy. Dále mají vliv i na půdní strukturu (Holík et al. 2018).

### 3.4.2 Minerální hnojiva

Tato hnojiva jsou vyráběna chemickým průmyslem z přírodních vytěžených minerálů, jako jsou fosfáty, dolomity, nebo vápence. Těmito jsou do půdy doplňovány živiny, které z ní odcházejí při zemědělské činnosti (Santis et al. 2020).

K ubývání prvků z půdy dochází při sklizni, vyplavováním při vydatných deštích a také sorpcí. Tyto ztráty je třeba nahradit, aby měly pěstované plodiny dostatek živin pro svůj růst. V současné době se do půdy nejčastěji doplňuje dusík, draslík, fosfor, vápník a také hořčík (Holík et al. 2018). Minerální hnojiva jsou v nynější době kvůli dosažení co nejvyšších výnosů často nadužívána, což může vést až ke kontaminaci půdy a spodních vod (Santis et al. 2020).

#### 3.4.2.1 Projevy nedostatku některých prvků na rostlině pšenice

Při nedostatečném zásobování rostliny pšenice některými prvky jsou pozorovány mnohé nežádoucí projevy. Mezi nejčastější prvky u kterých hrozí deficit patří dusík, fosfor, draslík a vápník (Zimolka 2005).

Nedostatek dusíku se projevuje slabým vzrůstem rostliny a světle zeleným zabarvením listů (Saqib et al. 2020). To může vést až k jejímu úhynu. Deficit fosforu se na rostlině pšenice projevuje špatně vyvinutým kořenovým aparátem, slabě vyvinutými stébly a načervenalým zbarvením listů (Zimolka 2005; Anderson & Garlinge 2000). Málo draslíku v půdě se na pšenici projevuje velkou tvorbou odnoží a zakrslým tvarem (Anderson & Garlinge 2000). Při větším nedostatku vápníku je na rostlině pozorována nekrotizace kořenů, nedostatečná tvorba pylu a dále dochází ke snížení obsahu bílkovin v pšeničném zrna (Zimolka 2005).

#### 3.4.2.2 Dusíkatá hnojiva a jejich vliv na obsah látek v pšeničném zrna

Dusík je nejvíce limitujícím nutrientem při produkci pšenice (Mandic et al. 2015), a základní prvek potřebný pro správný vývin celé rostliny. Růst zrna přímo koreluje s dávkou dusíkatých hnojiv. Dusíkatá hnojiva mají také velký vliv na obsah bílkovin a stupeň jejich polymerace v zrna pšenice, a zvyšují technologickou kvalitu mouky a lepku. Správnou dávkou a načasováním hnojení lze dosáhnout zvýšeného obsahu bílkovin v zrna o 2 - 4 % (Santis et al. 2020). V případě pšeničného zrna je obsah bílkovin jedním z hlavních faktorů pro výslednou kvalitu mouky. Ta je velmi ovlivněna genetickou predispozicí dané odrůdy, prostředím a dostupností dusíku (Dupont et al. 2006). Nadměrná dávka dusíku má také vliv na složení bílkovin z hlediska obsahu gluteninů a gliadinů (Zhen et al. 2020). Gliadiny jsou důležité pro tažnost těsta a gluteniny hrají klíčovou roli při formování struktury těsta a polymeraci lepku. Gluteniny jsou rozdělovány na podjednotky s vyšší a nižší molekulovou hmotností. Gliadiny jsou rozdělovány podle sekvence aminokyselin na  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , a  $\omega$  (Santis et al. 2020). Efekt nadměrného příjmu dusíku spočívá ve zvýšení obsahu  $\omega$ -gliadinů a frakce podjednotek gluteninů s vysokou molekulovou hmotností. Naopak u  $\gamma$ -gliadinů

a frakce podjednotek gluteninů s nízkou molekulovou hmotností dochází k úbytku jejich obsahu. Množství albuminů a globulinů se při nadměrném přísunu dusíku nemění (Zhen et al. 2020).

Těsto z pšeničné mouky se zvýšeným obsahem bílkovin vykazuje lepší vlastnosti, a pečivo z něj vyráběné má vyšší objem. Na druhou stranu změny ve složení bílkovin ve prospěch gluteninů a gliadinů způsobují nižší soudržnost těsta při zvýšené teplotě (Dupont et al. 2006).

#### 3.4.2.3 Vliv hnojiv na obsah karotenoidů v pšenici

Karotenoidy hrají důležitou roli při fotosyntéze jako pomocné pigmenty. Jejich biosyntéza je podmíněna jak genetickými faktory, tak i podmínkami prostředí a v neposlední řadě i minerálním hnojením (Bojovič & Stojanovič 2005). Hnojení ovlivňuje formování listové plochy, která odráží celkový fotosyntetický potenciál rostliny (Holík et al. 2018). Ze všech makro prvků má nejvyšší vliv na vývin rostliny a její listové plochy dusík. Účinek dusíku může být značně zvýšen dostatkem fosforu a v menší míře i přísunem draslíku. Hnojení má tedy značný vliv na obsah karotenoidů v rostlině pšenice (Bojovič & Stojanovič 2005). Dle Konopka et al. (2012) může zvolený typ hnojení a velikost dávky pozitivně ovlivňovat i celkový obsah karotenoidů v zrně.

#### 3.4.3 Ekologické vs konvenční zemědělství při pěstování pšenice

Konvenční zemědělství je v současnosti nejrozšířenější systém hospodaření s půdou (Shaji et al. 2020). Soustředí se především na vysoké výnosy. Tento systém zahrnuje intenzivní použití pesticidů a syntetických hnojiv, které způsobují celou řadu problémů jako je negativní vliv na životní prostředí, eroze půdy, kontaminace vodních toků a eutrofizace řek. Dále se prostřednictvím konvenčního zemědělství mohou dostat do potravin toxické látky a rezidua (Anderson & Garlinge 2000).

Pravým opakem je ekologické zemědělství, které bylo zavedeno za účelem snížení negativních dopadů na životní prostředí. Smyslem ekologického zemědělství je produkovat potraviny s vysokou kvalitou udržitelným způsobem. Jeho základem je udržení biodiverzity, využití obnovitelných zdrojů a použití organických hnojiv. V ekologickém zemědělství se při pěstování pšenice nepoužívají minerální hnojiva (Lairon 2011).

Tyto dva druhy zemědělství mohou mít vliv na obsah řady látek v pšenici, karotenoidů nevyjímaje. Musí se však vzít v úvahu i další faktory, jako jsou podmínky při kterých byla pšenice pěstována, dále odrůda, počasí a genetická predispozice (Hussain et al. 2015). Zvolený typ obhospodařování půdy se významně projevuje na nutriční a technologické kvalitě zrna pšenice. Dokáže také velmi ovlivnit hektarový výnos pšenice, který může být u ekologického typu hospodaření až o 30 % nižší než u konvenčního. Tento vysoký rozdíl ve výnosu je pravděpodobně způsoben nutričním stresem, vlivem škůdců, chorob a plevelů

u ekologického pěstování pšenice (Campiglia et al. 2015). Systém hospodaření má vliv na obsah bílkovin a jejich složení, zastoupení lepku, škrobu, minerálních látek, organických kyselin a lipidů (Hussain et al. 2015).

Způsobem hospodaření je ovlivněna také kvalita pšenice pro pekařské zpracování. Ta závisí na obsahu dusíkatých látek a složení lepku (Nocente et al. 2019). Ekologicky pěstovaná pšenice má nižší obsah bílkovin, což je způsobeno absencí dusíkatých minerálních hnojiv. Tato pšenice se také výrazně liší zastoupením a poměrem gluteninů a gliadinů od konvenčně pěstované pšenice. Jde zejména o nižší obsah gluteninů s vyšší molekulární hmotností. Tím je ovlivněna stabilita a vývin těsta, vaznost vody, konzistence a objem pečiva. Díky tomu má ekologicky vypěstovaná pšenice horší pekařskou kvalitu, ale zároveň lepší nutriční kvalitu bílkovin, vzhledem k vyššímu zastoupení albuminů a globulinů (Václavíková et al. 2012). Dále má tato ekologicky vypěstovaná pšenice vyšší obsah sekundárních metabolitů než pšenice z konvenčního zemědělství, což může být způsobeno stresem a napadením škůdci, v důsledku zakázaného používání pesticidů a syntetických hnojiv (Hussain et al. 2015).

## 4 Materiál a metodika práce

### 4.1 Podmínky experimentu a popis lokality

V této diplomové práci bylo zkoumáno třináct genotypů pšenic, z toho dvanáct barevných (*Triticum aestivum* spp. *aestivum* L.) a jedna kontrolní, konvenčně pěstovaná červená pšenice (Aubusson). Tyto pšenice byly pěstovány při třech úrovních dusíkatého hnojení. T1 - nulová dávka (0 kg N/ha), T2 - střední dávka (80 kg N/ha) a T3 - vysoká dávka (160 kg N/ha).

Všech třináct genotypů bylo vypěstováno v jedné sezóně (2019 - 2020), na experimentálním pozemku v severozápadní Itálii, Cigliano v Piemontu. Experimentální pozemek v Cigliano se nachází v nadmořské výšce 237 m, půda je zde mělká, se středním množstvím organické hmoty, má průměrný obsah minerálů a vyšší obsah dusíku a fosforu. Podrobné údaje o složení a půdních vlastnostech jsou uvedeny v tabulce č.1.

**Tabulka č.1:** Půdní vlastnosti experimentálního pozemku

Vlastnosti půdy*	Cigliano
souřadnice	45°19'09.2"N - 8°02'50.0"E
nadmořská výška (m)	237
písek (%)	39,4
spraš (%)	52,3
jíl (%)	8,3
pH	6,6
organická hmota (%)	2,01
organický uhlík (%)	1,17
celkový dusík (%)	0,136
poměr C/N	8,6
kationtová výměnná kapacita (mEq/100 g)	10,6
výměnný draslík (mg/kg)	135
asimilovatelný fosfor (mg/kg)	25

\*Naměřené hodnoty byly získány ze vzorků půdy odebraných v hloubce 0 - 30 cm.



Celkem bylo tedy analyzováno 117 vzorků (třináct genotypů, tři úrovně hnojení, tři opakování). Design polního experimentu byl kompletně zaslepený blok se třemi opakováními. Každé z těchto tří opakování bylo provedeno na pozemku o ploše 10,5 m<sup>2</sup>.

## 4.2 Rostlinný materiál

Třináct genotypů zkoumaných pšenic zahrnovalo purpurové genotypy (Anthograin, Ceraso, AF Jumiko, KM 106-18, KM 98-18, Merlot, Rosso), modré genotypy (Skorpion, AF Oxana, KM 72-18), černý genotyp (AF Zora), žlutý genotyp (Bona Vita) a jeden kontrolní genotyp komerčně pěstované červené pšenice (Aubusson). Každý z těchto genotypů má specifickou barvu obilky a všechny jsou to ozimé formy. Charakteristika jednotlivých genotypů třinácti pšenic použitých v tomto experimentu je uvedena v tabulce č.2.

**Tabulka č.2:** Třináct genotypů pšenic použitých k pokusu

<b>Genotyp</b>	<b>Barva*</b>	<b>Status</b>	<b>Původ</b>
<b>Aubusson</b>	red	uznaná odrůda	Itálie
<b>Ceraso</b>	Pp	uznaná odrůda	Rakousko
<b>Merlot</b>	Pp	uznaná odrůda	Rakousko
<b>Rosso</b>	Pp	uznaná odrůda	Rakousko
<b>KM 72-18</b>	Ba	šlechtitelská linie	Česká republika
<b>AF Oxana</b>	Ba	uznaná odrůda	Česká republika
<b>AF Zora</b>	Ba + Pp	uznaná odrůda	Česká republika
<b>KM 106-18</b>	Pp	šlechtitelská linie	Česká republika
<b>KM 98-18</b>	Pp	šlechtitelská linie	Česká republika
<b>AF Jumiko</b>	Pp	uznaná odrůda	Česká republika
<b>Anthograin</b>	Pp	uznaná odrůda	Kanada
<b>Skorpion</b>	Ba	uznaná odrůda	Česká republika
<b>Bona Vita</b>	Ye	uznaná odrůda	Slovenská republika

\*red (červená), Pp (purpurová), Ba + Pp (černá), Ba (modrá), Ye (se žlutým endospermem)

### 4.3 Agronomická opatření

Všechny genotypy pšeníc byly hnojeny třemi různými dávkami dusíkatého hnojiva, jak je znázorněno v tabulce č.3. Dávka hnojiva byla vždy rozdělena na polovinu a byla podávána ve dvou etapách, přičemž první polovina byla přidávána ve fázi odnožování a druhá polovina ve fázi prodlužování stonku. Aplikace hnojiva byla prováděna manuálně.

**Tabulka č.3:** Množství přidaného hnojiva

Dávka dusíku*	Fáze odnožování (N kg/ha)	Fáze prodlužování stonku (N kg/ha)	Celková dávka (N kg/ha)
nulová	0	0	0
střední	40	40	80
vysoká	80	80	160

\* *dusičnan amonný (N 26 %)*

Kvůli zamezení výskytu chorob a napadení hmyzem byly aplikovány fungicidy (prothiokonazol + tebukonazol) a insekticid (deltametrin). Pšenice byla sklizena za pomoci obilné sklízecí mlátičky Walter Wintersteiger. V tabulce č.4 jsou znázorněny všechny prováděné kultivační opatření a ošetření rostlin i s termíny aplikace.

**Tabulka č.4:** Kultivační opatření

Datum	Opatření
6.11.2019	setí
5.3.2020	odnožování (první dávka N)
3.4.2020	prodlužování stonku (druhá dávka N)
6.5.2020	kvetení (fungicidy + insekticid)
30.6.2020	sklizeň

#### 4.4 Použité chemikálie k vlastnímu pokusu

V praktické části diplomové práce byly použity standardy  $\beta$ -karotenu (HPLC,  $\geq 95\%$ ),  $\alpha$ -karotenu (HPLC,  $\geq 97\%$ ), antheraxanthinu (HPLC,  $\geq 95\%$ ), luteinu (UV,  $\geq 95\%$ ), zeaxanthinu (UV,  $\geq 98\%$ ),  $\beta$ -apokarotenalu (UV,  $\geq 96\%$ ). Tyto standardy byly pořízeny ze Sigma-Aldrich, St. Louis, USA; CaroteNature, GmbH, Lupsingen, Švýcarsko; Extrasynthase, Genay, Francie. Dále byl použit butylhydroxytoluen (BHT,  $\geq 99\%$  FG), etanol ( $\geq 99,8\%$ ), tert-butylmetyleter (HPLC quality), metanol (HPLC quality), etanol (GR quality), aceton (GR quality), hexan (GR quality) a voda (HPLC quality).

#### 4.5 Příprava vzorků pro stanovení karotenoidů

Extrakce karotenoidů byla provedena za pomoci metody, speciálně přizpůsobené pro obilnou matici, dle Kotíkové et al. (2016). Pšeničná zrna byla nejemno rozemleta, za použití analytického mlýnku IKA A11 basic (Janke & Kunkel Co., Německo). Takto rozemletého a zhomogenizovaného vzorku byly naváženy 2 g na analytických vahách, do připravených a uzavíratelných plastových zkumavek. Následně bylo k tomuto vzorku odměřeno 12 ml extrakční směsi hexan:aceton:etanol v poměru 2:1:1 (v/v/v). Plastové zkumavky byly uzavřeny a vloženy do chladicího zařízení po dobu 24 hodin a při teplotě 4 °C. Takto extrahované vzorky byly promíchány na vortexu (Basic 3, IKA, KG, Německo). Poté byly vzorky vloženy na 10 minut do ultrazvukové lázně (PS 04, Powersonic-Notus, Ltd., Slovensko) kvůli správné homogenizaci a k zajištění rozpustnosti. Následně byly vzorky vloženy do centrifugy (5810 R, Eppendorf, Německo), kde byly odstředovány při 8228 rcf po dobu 10 minut. Z plastových zkumavek bylo odebráno 9 ml supernatantu do připravených odparných baněk s objemem 50 ml. Dále bylo ke zbylému sedimentu ve zkumavkách odpipetováno 12 ml extrakční směsi, a dříve popsaná extrakce byla provedena znovu. Výsledný extrakt byl odpařen na rotačním odparném zařízení (Rotavapor R-200, Büchi Labortechnik, AG, Švýcarsko), a reziduum v baňce, s obsahem karotenoidních látek, bylo rekonstituováno do 2 ml směsi etanol:aceton v objemovém poměru 3:2 s přídatkem 0,2 % butylhydroxytoluenu. Tyto vzorky byly poté přefiltrovány přes membránový mikrofiltr (PVDF 0,45  $\mu\text{m}$ ) do skleněných vialek a zanalyzovány za pomoci HPLC-DAD ve třech opakováních. Při přípravě vzorku byl použit interní standard  $\beta$ -apokarotenal. Kvůli co největšímu zamezení degradace vzorků probíhala jejich příprava v temnu.

## 4.6 Separace a detekce karotenoidů

Karotenoidy byly separovány a analyzovány za pomoci kapalinového chromatografu Ultimate 3000 (Thermo Scientific, USA) s chromatografickou kolonou C30 (YMC C30 Carotenoid Column 150 mm × 3 mm, 5-3 μm), při následujících podmínkách: teplota v koloně 25 °C, průtok 0,6 ml/min, teplota v autosampleru 10 °C, nástřikový objem 10 μl. K detekci byl využit DAD - fotometrický detektor s diodovým polem. Tato detekce byla provedena při dvou rozdílných vlnových délkách  $\lambda_1 = 445$  nm,  $\lambda_2 = 480$  nm (spektrální akvizice 300 - 700 nm). Gradient byl složen ze tří mobilních fází. Metanol - A, voda - B, tert-butylmetyleter (TBME) - C. Tento gradient je zapsán v tabulce č.5.

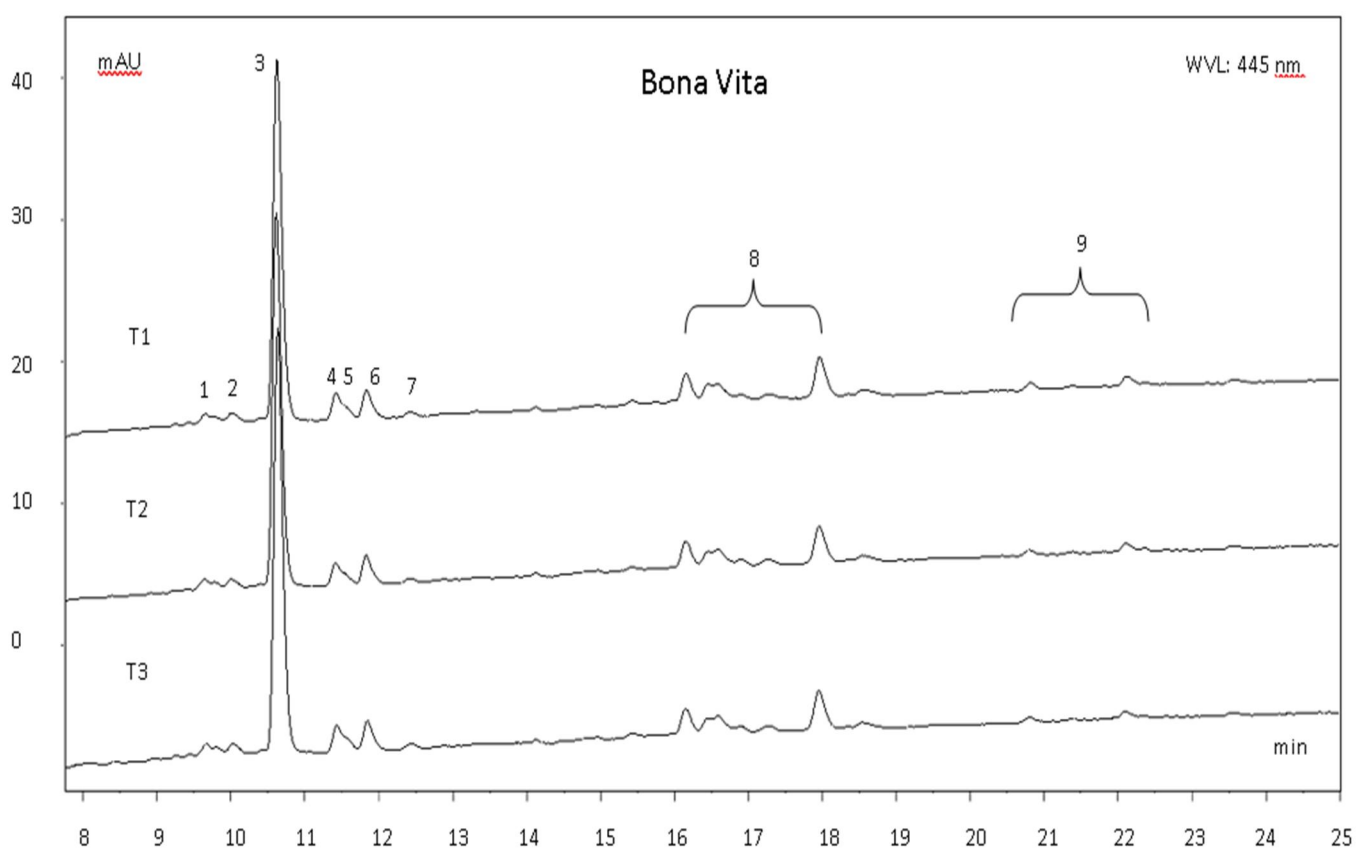
Identifikace analytů byla provedena na základě porovnání UV-Vis absorpčních spekter a retenčních časů s pořízenými standardy. Při následném porovnání ploch chromatografických píků s desetibodovou externí kalibrační řadou byla provedena kvantifikace karotenoidů (pro každý analyt koncentrační rozmezí 0,05-10 μg/ml). Detekční limity luteinu (0,006 μg/g), α-karotenu (0,01 μg/g), antheraxanthinu (0,004 μg/g), zeaxanthinu (0,012 μg/g), β-karotenu (0,015 μg/g) byly spočítány jako  $3,3 \times (\sigma/S)$ ;  $\sigma$  = směrodatná odchylka průsečíků osy y, které byly získány z pěti třibodových kalibračních křivek načrtnutých v blízkosti limitu detekce, S = průměr směrnic přímek.

**Tabulka č.5:** Gradient (A - metanol, B - voda, C - tert-butylmetylether)

ČAS [min.]	A [%]	B [%]	C [%]
0	90	10	0
1	90	10	0
6	90	0	10
22	40	0	60
24	20	0	80
26	20	0	80
30	90	10	0
33	90	10	0

## 5 Výsledky

Naměřené hodnoty karotenoidů ve třinácti genotypech pšeníc byly zapsány do tabulky č.7. Celkový obsah karotenoidů a suma luteinu (trans + Z-izomery + estery) u všech zkoumaných genotypů jsou znázorněny v grafu č.4 a grafu č.5. Číselné hodnoty jsou uvedeny pro každý typ hnojení (T1 - nehnojeno, T2 - střední dávka, T3 - vysoká dávka). Statistické zhodnocení bylo provedeno v programu Statistica 12, konkrétně Tukeyův HSD test, s hladinou významnosti  $\alpha = 0,05$ . Ukázkový chromatogram pro odrůdu Bona Vita je uveden na obrázku č.7.



**Obrázek č.7:** Chromatogram tří vzorků odrůdy Bona Vita (Ye) s rozdílným stupněm hnojení T1 - nehnojeno, T2 - střední dávka, T3 - vysoká dávka. 1 - (13-Z)-lutein, 2 - (13'-Z)-lutein, 3 - lutein, 4 - zeaxanthin, 5 - (9-Z)-Lutein, 6 - interní standard, 7 - (9'-Z)-lutein, 8 - monoestery luteinu, 9 - diestery luteinu.

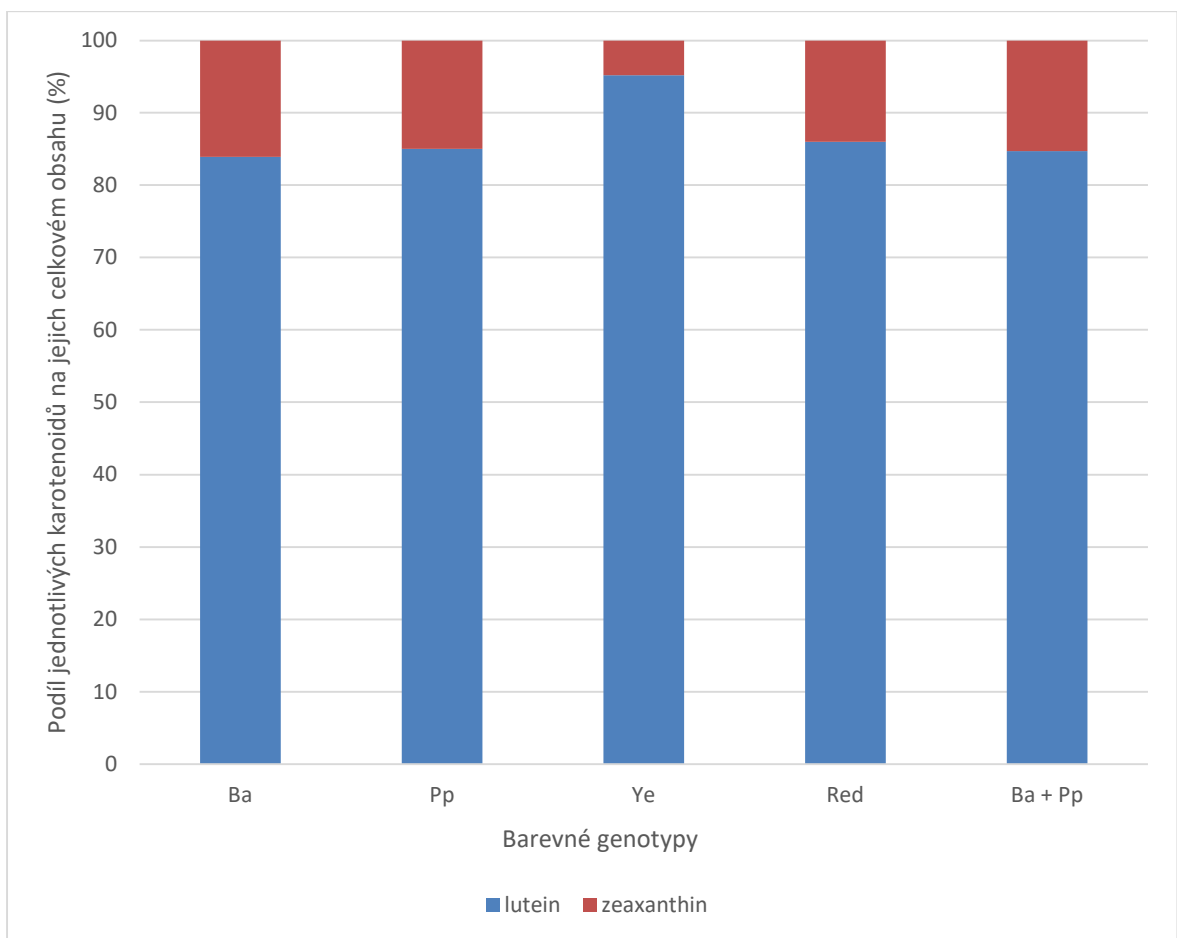
Celkové množství karotenoidů se ve zkoumaných třinácti odrůdách pšenice značně lišilo. Nejvyšší celkový obsah karotenoidů byl zjištěn ve žluté odrůdě Bona Vita (6,15 - 6,58 mg/kg sušiny), purpurové odrůdě Rosso (2,34 - 2,56 mg/kg sušiny) a purpurové odrůdě Anthograin (2,64 - 3,03 mg/kg sušiny). V běžně komerčně pěstované pšenici Aubusson byl naměřen obsah karotenoidů 1,72 - 2,11 mg/kg sušiny. Nejnižší obsah karotenoidů v této diplomové práci byl naměřen v pšenících Ceraso (1,14 - 1,37 mg/kg sušiny), KM 98-18 (1,11 - 1,39 mg/kg sušiny) a Merlot (1,38 - 1,69 mg/kg sušiny). Při vzájemném porovnání barevných variant je patrné, že purpurové odrůdy mají v průměru vyšší obsah celkových karotenoidů než modré, červené a černé odrůdy. Některé genotypy pšenic vykazovaly značný obsah esterů karotenoidů. Například odrůda Bona Vita, s obsahem až 2,58 mg/kg esterů luteinu, Anthograin (0,97 mg/kg) a Skorpion (0,54 mg/kg). Naopak v některých genotypech byl obsah těchto esterů v porovnání s přechozími odrůdami velmi nízký, jde zejména o genotyp Rosso, s průměrným obsahem 0,06 mg/kg esterů luteinu, KM 106-18 (0,04 mg/kg) a AF Jumiko (0,04 mg/kg). Zkoumány byly také Z-izomery luteinu. Množství těchto izomerů bylo v genotypech pšenic různorodé. Nejvyšší obsah Z-izomerů byl naměřen v modrém genotypu KM 72-18 (0,15 mg/kg), a nejnižší množství vykazovala purpurová pšenice Merlot (0,04 mg/kg).

Nejvíce zastoupený karotenoid ve všech zkoumaných genotypech barevné pšenice byl lutein. Grafické znázornění podílu luteinu v různých barevných genotypech je uvedeno v grafu č.2. Na celkovém obsahu karotenoidů se v této studii podílel průměrně z 87 %, u purpurových genotypů z 85 %, u modrých genotypů z 83,9 %, u žlutého genotypu z 95,2 %, u černého genotypu z 84,7 %, a u kontrolní červené odrůdy z 86 %. Nejvíce luteinu obsahovala žlutá odrůda Bona Vita (5,85 - 6,28 mg/kg), purpurová odrůda Anthograin (2,37 - 2,76 mg/kg) a purpurová odrůda Rosso (2,01 - 2,16 mg/kg). Naopak nejméně luteinu bylo stanoveno v purpurových pšenících KM 98-18 (0,92 - 1,19 mg/kg), Ceraso (0,93 - 1,12 mg/kg), a v modré odrůdě AF Oxana (1,11 - 1,44 mg/kg). Ve vzorcích pšenic bylo také zkoumáno zastoupení zeaxanthinu. Jeho obsah byl v průměru 13,04 %, z celkového obsahu karotenoidů. V purpurových genotypech se zeaxanthin na celkovém obsahu karotenoidů podílel průměrně z 15 %, v modrých genotypech z 16,1 %, v červené odrůdě z 14 %, ve žluté odrůdě z 4,8 %, a v černé odrůdě z 15,3 %. Grafické znázornění podílu zeaxanthinu v různých barevných genotypech je uvedeno v grafu č.2. Nejvyšší obsah zeaxanthinu byl naměřen v odrůdě Rosso (0,34 - 0,39 mg/kg), Aubusson (0,30 - 0,31 mg/kg), a KM 72-18 (0,31 - 0,33 mg/kg). Nejnižší množství zeaxanthinu bylo stanoveno v genotypu Ceraso (0,21 - 0,26 mg/kg).

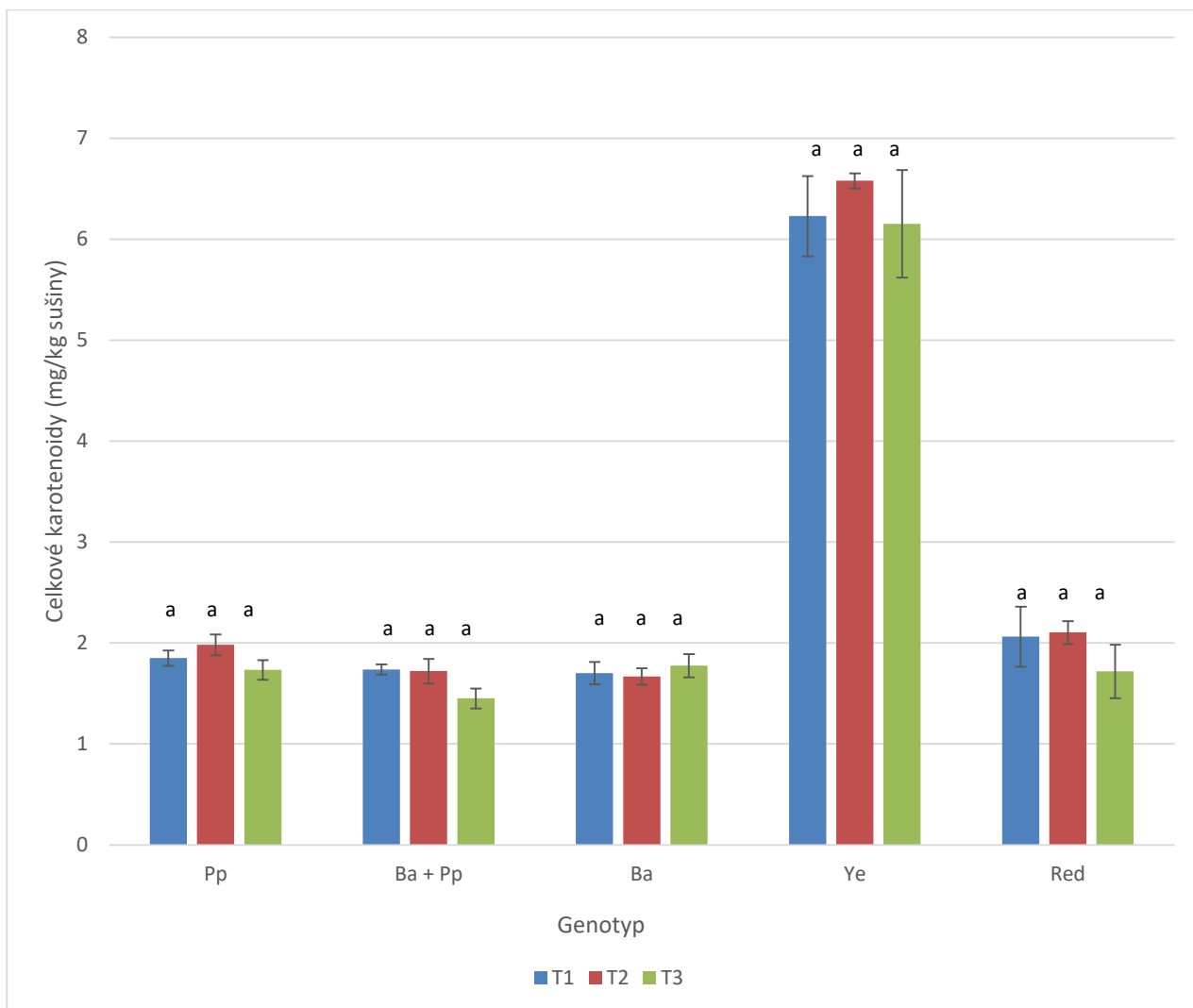
Výstup z provedených testů v programu Statistica 12 (jednofaktorová Anova, s hladinou významnosti  $\alpha = 0,05$  a Tukeyho HSD test), jsou znázorněny v grafu č.3 a v tabulce č.6. Z grafu č.3 je zřejmé, že různá dávka hnojiva neměla statisticky významný vliv na celkový obsah karotenoidů v různých barevných skupinách pšenic. Z tabulky č.6 je patrné, že hodnota p je větší než zvolená hladina významnosti  $\alpha = 0,05$ , a proto zamítáme nulovou hypotézu ( $H_0$ = mezi celkovým obsahem karotenoidů a typem hnojení existuje statisticky

významný rozdíl) u F testu. Mezi těmito dvěma faktory tedy neexistuje statisticky významný rozdíl při zvolené hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

Po statistickém zhodnocení je z grafu č.4 patrné, že změna v celkovém obsahu karotenoidů byla statisticky významná u genotypu KM 98-18, u kterého byl naměřen celkový obsah karotenoidů 1,26 mg/kg při T1, 1,39 mg/kg při T2 a 1,11 mg/kg při T3. Statisticky významný rozdíl v celkovém obsahu karotenoidů byl také zjištěn u genotypu AF Jumiko (1,76 mg/kg při T1, 1,77 mg/kg při T2 a 1,42 mg/kg při T3). Statisticky významné rozdíly byly zjištěny u dvou genotypů pšenic v případě sumy luteinu, konkrétně u KM 98-18 (1,04 mg/kg při T1, 1,19 mg/kg při T2 a 0,92 mg/kg při T3), a u AF Jumiko (1,48 mg/kg při T1, 1,49 mg/kg při T2 a 1,17 mg/kg při T3). U zbylých jedenácti genotypů pšenic nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly v celkovém obsahu karotenoidů, a ani v případě sumy luteinu.



**Graf č.2:** Podíl zeaxanthinu a luteinu (All-trans + Z-izomery + estery) na celkovém obsahu karotenoidů (Ye - žlutý genotyp, Ba - modré genotypy, Pp - purpurové genotypy, Ba + Pp - černý genotyp, Red - červený genotyp).



**Graf č.3:** Obsah karotenoidů ve skupinách pšenice při různé úrovni hnojení. T1 - nehnojeno, T2 - střední dávka, T3 - vysoká dávka, Ye - žlutý genotyp, Ba - modré genotypy, Pp - purpurové genotypy, Ba + Pp - černý genotyp, Red - červený genotyp. Rozdílná písmena statistiky vyznačují statisticky významné rozdíly při hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

**Tabulka č.6:** Výstup z programu Statistica 12 a výsledky testovacího modelu

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro Celkové karotenoidy - anova data Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	181,5554	1	181,5554	102,9912	0,000000
typ hnojení	0,2406	2	0,1203	0,0682	0,934158
Chyba	63,4616	36	1,7628		

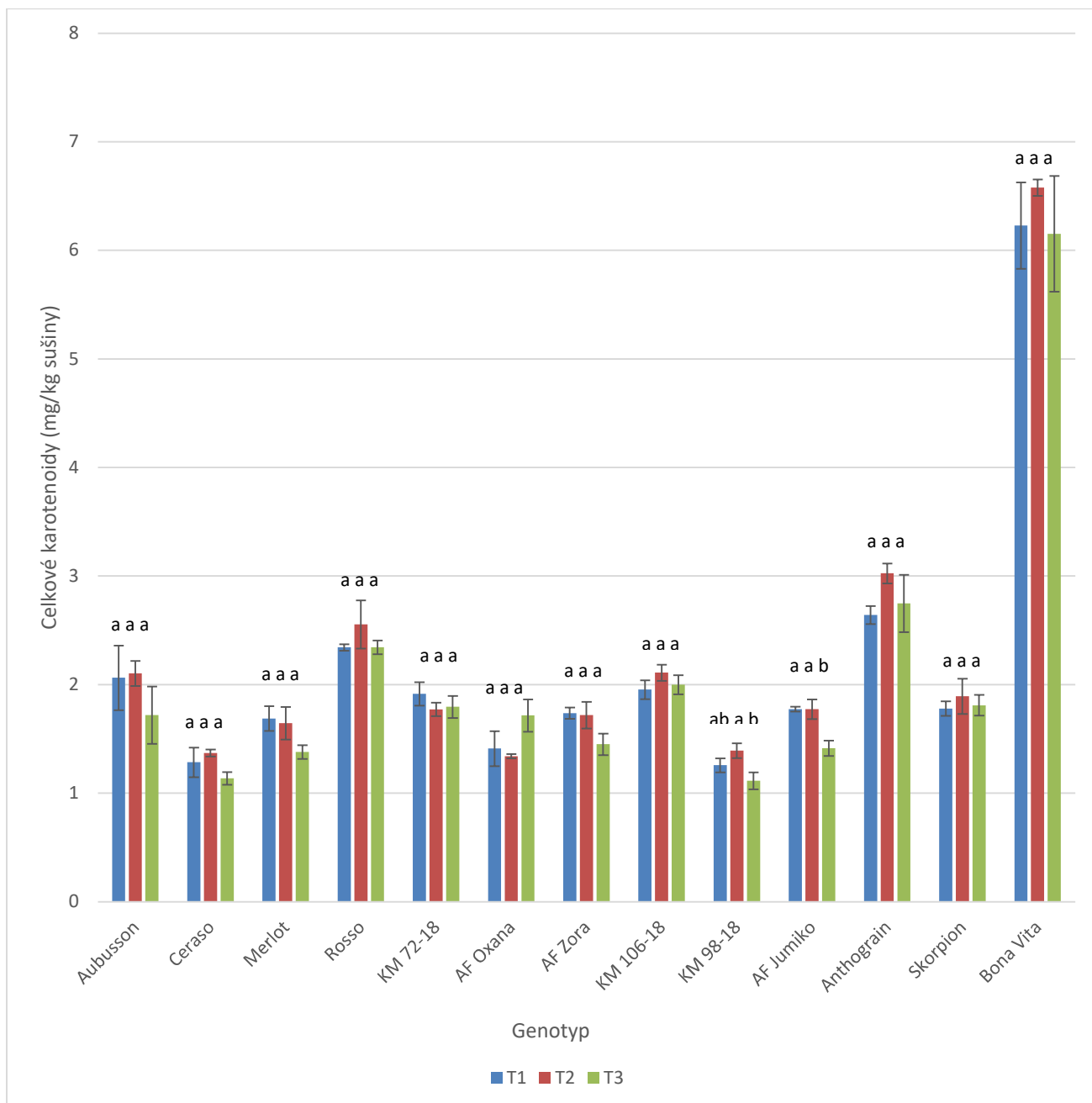


**Tabulka č.7:** Naměřené hodnoty ve třinácti genotypech pšenic při různé úrovni hnojení dusíkem (T1 - nehnojeno, T2 - střední dávka, T3 - vysoká dávka), se směrodatnými odchylkami. Rozdílná písmena statistiky ve stejných řádcích vyznačují statisticky významné rozdíly při hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

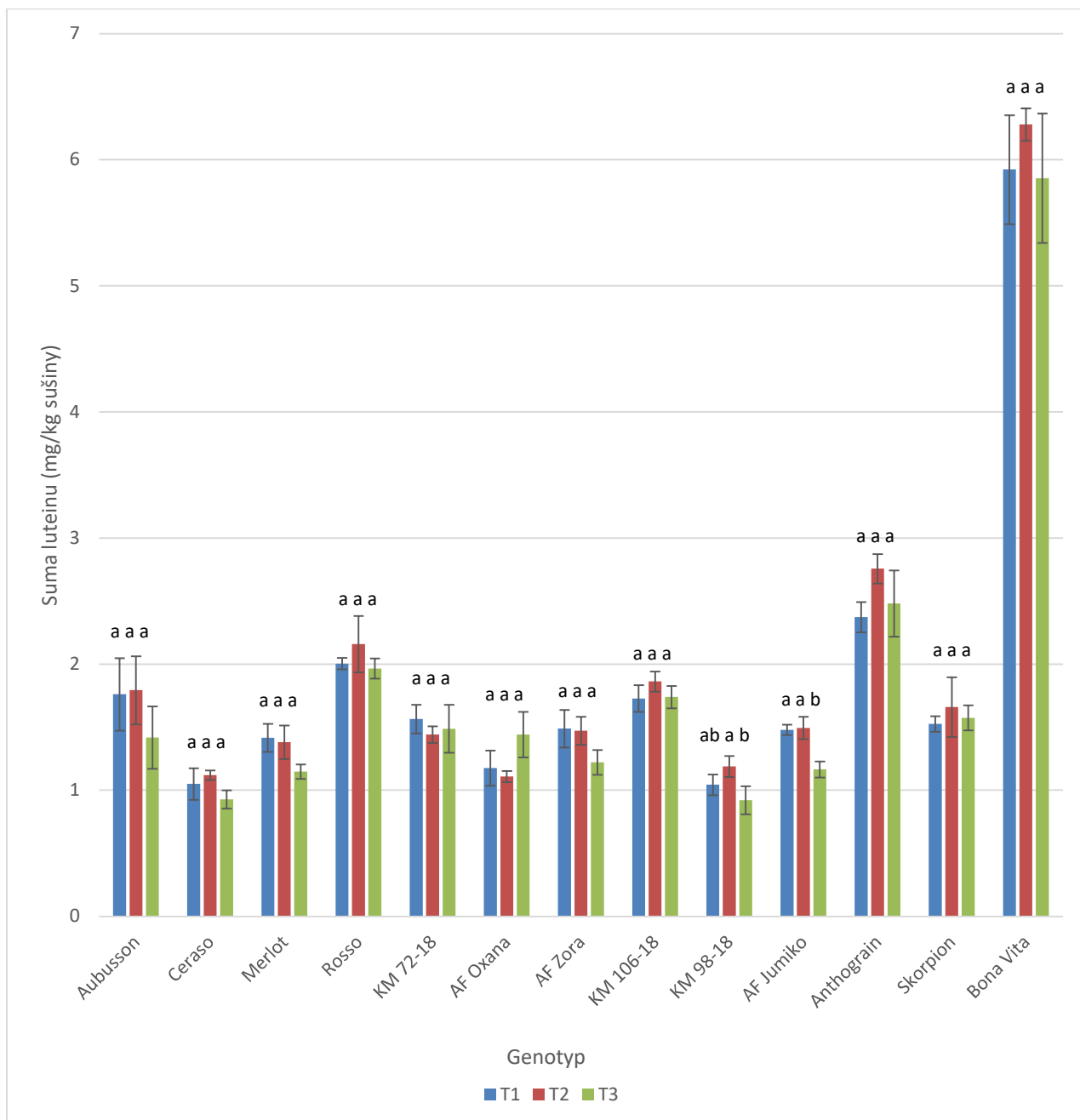
Genotyp (barva)	Typ hnojení	All-trans lutein	Z-izomery luteinu	Estery luteinu	Zeaxanthin
<b>Aubusson (red)</b>	T1	1,537±0,109a	0,059±0,005a	0,165±0,173a	0,302±0,010a
	T2	1,535±0,119a	0,056±0,002ab	0,202±0,148a	0,311±0,033a
	T3	1,224±0,066b	0,047±0,003b	0,147±0,178a	0,302±0,028a
<b>Ceraso (Pp)</b>	T1	0,858±0,107a	0,049±0,013a	0,142±0,006a	0,235±0,019ab
	T2	0,894±0,015a	0,071±0,011a	0,154±0,012a	0,251±0,004a
	T3	0,703±0,036a	0,098±0,024a	0,128±0,012a	0,208±0,011b
<b>Merlot (Pp)</b>	T1	1,173±0,085a	0,039±0,004a	0,203±0,023a	0,273±0,019a
	T2	1,139±0,111a	0,038±0,000a	0,204±0,022a	0,264±0,018a
	T3	0,919±0,039a	0,051±0,011a	0,175±0,007a	0,234±0,013a
<b>Rosso (Pp)</b>	T1	1,905±0,033a	0,069±0,007b	0,029±0,006a	0,339±0,009b
	T2	1,943±0,113a	0,099±0,003ab	0,116±0,107a	0,396±0,025a
	T3	1,825±0,058a	0,118±0,020a	0,022±0,002a	0,379±0,007ab
<b>KM 72-18 (Ba)</b>	T1	1,214±0,071a	0,108±0,012a	0,242±0,031a	0,349±0,007a
	T2	1,063±0,045ab	0,134±0,012a	0,244±0,009a	0,331±0,007a
	T3	0,985±0,029b	0,196±0,081a	0,306±0,079a	0,308±0,005b
<b>AF Oxana (Ba)</b>	T1	1,069±0,114a	0,053±0,015b	0,053±0,009a	0,236±0,026a
	T2	0,959±0,027a	0,097±0,013ab	0,053±0,005a	0,233±0,009a
	T3	1,054±0,029a	0,186±0,059a	0,202±0,091a	0,275±0,009a

Pokračování tabulky je na následující straně

Genotyp (barva)	Typ hnojení	All-trans lutein	Z-izomery luteinu	Estery luteinu	Zeaxanthin
<b>AF Zora (Ba + Pp)</b>	T1	1,326±0,043ab	0,055±0,009a	0,108±0,097a	0,249±0,013a
	T2	1,374±0,093a	0,067±0,013a	0,029±0,006a	0,249±0,017a
	T3	1,122±0,063b	0,075±0,032a	0,024±0,003a	0,229±0,010a
<b>KM 106-18 (Pp)</b>	T1	1,599±0,087a	0,079±0,006b	0,049±0,012a	0,227±0,004b
	T2	1,697±0,044a	0,129±0,029ab	0,036±0,006a	0,248±0,008a
	T3	1,529±0,056a	0,177±0,029a	0,032±0,005a	0,259±0,007a
<b>KM 98-18 (Pp)</b>	T1	0,813±0,026a	0,039±0,004a	0,191±0,052b	0,214±0,014a
	T2	0,802±0,036a	0,084±0,026a	0,302±0,021a	0,205±0,012a
	T3	0,594±0,044b	0,119±0,046a	0,207±0,021ab	0,194±0,009a
<b>AF Jumiko (Pp)</b>	T1	1,358±0,030a	0,079±0,004a	0,041±0,007a	0,296±0,005a
	T2	1,354±0,078a	0,097±0,008a	0,042±0,003a	0,281±0,006a
	T3	1,004±0,039b	0,118±0,022a	0,043±0,003a	0,249±0,014b
<b>Anthograin (Pp)</b>	T1	1,445±0,049a	0,072±0,011a	0,855±0,059a	0,268±0,006a
	T2	1,693±0,077a	0,089±0,010a	0,973±0,029a	0,268±0,005a
	T3	1,471±0,145a	0,102±0,013a	0,907±0,105a	0,268±0,009a
<b>Skorpion (Ba)</b>	T1	1,089±0,008a	0,067±0,023b	0,369±0,031a	0,254±0,014a
	T2	1,018±0,037ab	0,099±0,008b	0,542±0,191a	0,234±0,004a
	T3	0,965±0,035b	0,215±0,049a	0,394±0,014a	0,236±0,003a
<b>Bona Vita (Ye)</b>	T1	3,712±0,240a	0,126±0,002a	2,083±0,189a	0,306±0,008a
	T2	3,676±0,057a	0,111±0,003ab	2,493±0,069a	0,299±0,012a
	T3	3,172±0,288a	0,112±0,012b	2,582±0,213a	0,298±0,022a



**Graf č.4:** Obsah celkových karotenoidů ve třinácti genotypech pšeníc, při různé úrovni hnojení dusíkem (T1 - nehnojeno, T2 - střední dávka, T3 - vysoká dávka). Rozdílná písmena statistiky ve stejných sloupcích vyznačují statisticky významné rozdíly při hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .



**Graf č.5:** Suma luteinu (All-trans + Z-izomery + estery) ve třinácti genotypech pšeníc, při různé úrovni hnojení dusíkem (T1 - nehnojeno, T2 - střední dávka, T3 - vysoká dávka). Rozdílná písmena statistiky ve stejných sloupcích vyznačují statisticky významné rozdíly při hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

## 6 Diskuze

V této diplomové práci byl stanoven celkový obsah karotenoidních látek v sedmi purpurových genotypech (Pp), třech modrých (Ba) a jednom žlutém (Ye), černém (Ba + Pp) a kontrolním červeném (Red) genotypu pšenice. Průměrný celkový obsah karotenoidů byl ve třinácti vybraných genotypech pšenice stanoven v rozmezí 1,1 - 6,6 mg/kg sušiny. Tyto hodnoty se přibližně shodují s výsledky, které naměřily v pšenici Hussain et al. (2015) 0,94 - 4,8 mg/kg, a Trono (2019) 1,1 - 4,4 mg/kg. Na druhou stranu v některých studiích (Leenhardt et al. 2006; Moore et al. 2005) autoři uvádějí výrazně vyšší celkový obsah karotenoidů v pšenicích, až 14 mg/kg. Tyto studie se však věnovaly pšenice jednozrnce, která může vykazovat až trojnásobný celkový obsah karotenoidů v porovnání s pšenicí setou, zkoumanou v této práci. Pšenici jednozrnku zkoumali ve svém pokusu také Abdel-Aal et al. (2007), kteří uvádějí obsah karotenoidů v různých genotypech pšenice průměrně 7,41 mg/kg sušiny.

Ve všech genotypech pšenice byl jako nejvíce zastoupený karotenoid zjištěn lutein, jehož podíl se pohyboval v rozmezí 83,9 - 95,2 %, z celkového obsahu karotenoidů. Tento výsledek se přibližně shoduje s pokusem který prováděli Mellado-Ortega a Hornero-Méndez (2017), kteří naměřili v různých genotypech pšenice průměrně 89 % luteinu. Mírně se ale liší s výsledky studie Hussain et al. (2015), kde autoři uvádějí 70 - 80 % luteinu. Tato odchylka může být způsobená tím, že pokus Mellado-Ortega a Hornero-Méndez (2017) byl prováděn na ekologicky pěstované pšenici, kdežto ve studii Hussain et al. (2015) byla zkoumána konvenčně pěstovaná pšenice. Dále by tato odchylka mohla být způsobena tím, že Hussain et al. (2015) zkoumali pšenici špaldu, na rozdíl od pšenice seté, na kterou se soustředila tato práce. Druhý nejvíce zastoupený karotenoid byl zeaxanthin. Jeho obsah se v genotypech zkoumaných pšenic pohyboval v průměru 13 - 16 % z celkového obsahu karotenoidů. Tyto hodnoty se přibližně shodují s těmi, které naměřili ve své práci na barevných pšenicích Paznocht et al. (2018). Autoři v této studii určili obsah zeaxanthinu v rozmezí 11,8 - 19,8 % z celkového obsahu karotenoidů. Studie Mellado-Ortega a Hornero-Méndez (2017), Paznocht et al. (2018), Zrcková et al. (2018) uvádějí i výskyt dalších karotenoidů v pšenicích, a to  $\alpha$ -karotenu,  $\beta$ -karotenu a antheraxanthinu. Obsah těchto karotenoidů se v uvedených studiích pohyboval v řádu jednotek procent z celkového obsahu karotenoidů. V této diplomové práci nebyl obsah  $\alpha$ -karotenu,  $\beta$ -karotenu a antheraxanthinu stanoven.

Byly zkoumány také estery luteinu. V některých genotypech pšenice (AF Zora, KM 106-18) byl jejich obsah zanedbatelný, a pohyboval se jen v setinách mg/kg sušiny. Naproti tomu v několika genotypech byl jejich obsah velmi vysoký. Jde především o žlutou odrůdu Bona Vita, ve které bylo obsaženo až 2,58 mg/kg esterů luteinu, modrou odrůdu Skorpion s obsahem až 0,54 mg/kg esterů luteinu a purpurovou odrůdu Anthograin s obsahem až 0,97 mg/kg esterů luteinu. K podobným výsledkům se dopracovaly i studie Mellado-Ortega a Hornero-Méndez (2017) a Paznocht et al. (2018), kteří také zjistili značný výskyt esterů luteinu u některých žlutých, modrých a purpurových odrůd pšenice. Větší

výskyt esterifikovaných karotenoidů v pšenici má své výhody. Karotenoidy v této formě jsou totiž odolnější vůči degradaci během skladování, a i při následných technologických úpravách (Hussain et al. 2015), a proto by se budoucí studie měly také soustředit na odrůdy pšenice, které tvoří větší množství těchto esterů.

Obsah karotenoidů může být významně ovlivněn klimatickými podmínkami. Tímto faktorem se mimo jiné zabývali i autoři Paznocht et al. (2018) ve své studii. Tato studie byla zaměřena na obsah a zastoupení volných a esterifikovaných karotenoidů v několika genotypích pšenice, ječmene a tritordea, a to především na lutein, zeaxanthin, anteraxanthin,  $\alpha$ -karoten a  $\beta$ -karoten. Byly zde porovnávány stejné genotypy, vypěstované v letech 2014 a 2015 za stejných agronomických podmínek, ale každý rok byl charakteristický jinou úrovní srážek a teplot během růstu pšenic. Paznocht et al. (2018) v této studii uvádějí, že nižší množství srážek a vyšší průměrné roční teploty způsobily nárůst celkového obsahu karotenoidů v deseti ze čtrnácti zkoumaných genotypů. Ve studii Zrcková et al. (2018) byla také zkoumána barevná pšenice v souvislosti s pěstebními podmínkami. Autoři v této studii uvádějí, že vyšší stres, v podobě nižšího množství srážek a vyšších teplot způsobuje zvýšený celkový obsah karotenoidů. Zvýšené množství karotenoidů při specifických pěstebních podmínkách v zrnech pšenice jsou uvedeny i ve studii Fratianni et al. (2013). V této studii byla zkoumána pšenice tvrdá, která byla vystavena stresovým podmínkám v podobě nedostatku vláhy, a byl zde zjištěn nárůst celkového obsahu karotenoidů až o 20 %. Studie Lachman et al. (2013) také potvrzuje souvislost pěstebních podmínek s obsahem karotenoidů. V této studii autoři zkoumali karotenoidy v pšenici jednozrnce, dvouzrnce a pšenici seté. Tato pšenice byla vypěstována v letech 2009 a 2010. Lachman et al. (2013) uvádějí statisticky významné rozdíly zejména v obsahu luteinu, zeaxanthinu a  $\beta$ -karotenu. Obsah těchto karotenoidů byl v jejich studii až dvakrát vyšší v roce s mírnými srážkami a nadprůměrnými teplotami.

Výsledky předchozích studií (Paznocht et al. 2018; Zrcková et al. 2018; Fratianni et al. 2013; Lachman et al. 2013) se však značně rozcházejí se studií Groth et al. (2020), ve které autoři porovnávali 184 různých genotypů tvrdé pšenice v souvislosti s obsahem karotenoidů za působení rozdílných podmínek při pěstování. V této studii autoři uvádějí, že ve většině zkoumaných genotypů pšenice došlo k poklesu obsahu karotenoidů (luteinu a zeaxanthinu), zejména při nižším množství srážek a při vyšších teplotách. Tento výsledek potvrzuje studie která byla provedena autory Abdel-Aal et al. (2007), a ve které byly zkoumány různé genotypy pšenice jednozrnky, pšenice seté a pšenice tvrdé v časovém horizontu šesti let. Abdel-Aal et al. (2007) zde uvádějí zvýšený obsah luteinu při zvýšených srážkách a chladnějších podmínkách pěstování.

Z výše uvedených studií (Paznocht et al. 2018; Zrcková et al. 2018; Fratianni et al. 2013; Lachman et al. 2013; Groth et al. 2020; Abdel-Aal et al. 2007) je patrné, že obsah karotenoidů v pšenici může souviset s teplotami a srážkami v období růstu rostliny a tvorby zrna. Výsledky studií se však odlišují, proto nelze s jistotou konstatovat, jaké počasí má vliv na zvýšenou tvorbu karotenoidů.

Obsah karotenoidů v pšenici může ovlivňovat i způsob obhospodařování půdy, tedy konvenční a ekologické zemědělství. Autoři Zrcková et al. (2018) uvádí, že zvolený typ zemědělství může ovlivnit obsah některých antioxidantních látek v zrna pšenice. Zrcková et al. (2018) zjistili, že ekologicky vypěstovaná barevná pšenice vykazovala v jejich studii vyšší celkový obsah karotenoidů, a to až o 10 %. Touto problematikou se zabývali i autoři Konopka et al. (2012), kteří ve své studii porovnávali obsah karotenoidů v zrnech pšenice, při ekologickém a konvenčním zemědělství. Konopka et al. (2012) však v této studii uvádějí, že vliv způsobu hospodaření na obsah karotenoidů byl zcela zanedbatelný.

Zvýšený obsah antioxidantů v ekologicky pěstované pšenici může být způsoben změnami v rostlinném metabolismu. Ten je závislý na obsahu a dostupnosti dusíku v půdě, který je značně rozdílný v ekologickém a konvenčním zemědělství. Dále je třeba vzít v úvahu, že zvýšený obsah antioxidantů v ekologicky pěstované pšenici může být vysvětlen reakcí rostlin na napadení škůdci a chorobami, což je u takto pěstované pšenice běžné (Zrcková et al. 2020). Z hlediska ekologického a konvenčního zemědělství, byl obsah karotenoidních látek v zrna pšenice v současné době prozkoumán jen v malé míře, touto problematikou se zabývalo jen několik studií (Zrcková et al. 2020; Konopka et al. 2012), a proto nelze s jistotou říct, jak způsob obhospodařování zemědělské půdy ovlivňuje obsah těchto látek v zrna.

Na obsah karotenoidů v zrnech pšenice může mít vliv i hnojení. Vztahem mezi obsahem karotenoidů a dusíkatým hnojením se zabývali autoři Abad et al. (2004), ve své studii, přičemž zde zkoumali efekt dávky dusíkatého hnojiva (0 - 200 kg N/ha) na genotypy tvrdé pšenice, vypěstované ve dvou sezónách 1994 a 1995, a soustředily se výhradně na výnos a potravinářskou kvalitu. Abad et al. (2004) zjistili nárůst celkového obsahu karotenoidů při zvýšené dávce dusíku v obou sezónách. Obsah karotenoidů v jejich výzkumu se pohyboval od 4,81 - 6,52 mg/kg sušiny zrna. V první sezóně došlo k nárůstu obsahu karotenoidů při maximální dávce hnojiva (200 kg N/ha) o 5 %, a v druhé sezóně o 7 %. Abad et al. (2004) dále uvádějí, že nejnižší obsah karotenoidů měly pšenice, které nebyly hnojeny žádnou dávkou dusíku, a nejvyšší obsah karotenoidů měly pšenice, které byly hnojeny maximální dávkou dusíku (200 kg N/ha). Abad et al. (2004) tedy došli k závěru, že zvýšená dávka dusíku pozitivně ovlivňuje obsah karotenoidů v pšenici. Touto problematikou se zabývali i Konopka et al. (2012), kteří ve své práci provedli pokus s hnojením pšenice různými typy hnojiv (minerální hnojiva, kompost, hnůj, masokostní moučka), a sledovali změny v obsahu karotenoidů v pšeničném zrna. Celkový obsah karotenoidů se dle Konopka et al. (2012) pohyboval v rozmezí 3,54 - 3,87 mg/kg sušiny, přičemž rozdíly mezi jednotlivými typy hnojení se pohybovaly mezi 2 - 5 %. Nejvyšší obsah karotenoidů byl zjištěn v pšenici hnojené masokostní moučkou a minerálními hnojivy (dusík, fosfor, draslík), a naopak nejnižší množství karotenoidů bylo naměřeno v pšenici hnojené kompostem. Autoři studie dále zkoušeli přidávat k dávce hnojiva podpůrné půdní mikroorganismy, což mělo ale negativní vliv na akumulaci karotenoidů v zrnech pšenice. Vlivem dusíkatého hnojení na obsah karotenoidů a na technologickou kvalitu pšenice se zabývali ve své studii také Hidalgo a Brandolini (2016), ve které zkoumali pšenici jednozrnku, vypěstovanou ve dvou sezónách 2012 a 2013. Celkový obsah karotenoidů byl naměřen v rozmezí 5,42 - 12,41 mg/kg sušiny.

Dle Hidalgo a Brandolini (2016) neměla dávka dusíkatého hnojiva vliv na obsah karotenoidů v zrně pšenice. Vlivem hnojení na obsah karotenoidů v pšeničném zrně se zabývali i Fratianni et al. (2013) kteří ve své studii uvádějí, že nadměrná dávka síry, zvýšila obsah karotenoidů ve tvrdé pšenici o 10 % a to především množství luteinu. V této diplomové práci nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl v celkovém obsahu karotenoidů, při různé dávce dusíkatého hnojiva.

Obsah karotenoidů se může lišit i v závislosti na tom, jestli je daná odrůda pšenice v ozimé, nebo jarní formě. Konopka et al. (2006) ve své studii zjistili, že celkový obsah karotenoidů ve vybraných odrůdách jarních pšenic byl průměrně 3,52 mg/kg, zatímco celkový obsah karotenoidů v odrůdách ozimých forem pšenic byl průměrně 2,42 mg/kg. Jarní pšenice mohou vykazovat také vyšší obsah zeaxanthinu a  $\beta$ -kryptoxanthinu než ozimé formy pšenice (Hussain et al. 2015), zatímco obsah  $\beta$ -karotenu se v závislosti na formě pšenice příliš nemění (Konopka et al. 2006). Hussain et al. (2015) a Konopka et al. (2006) ve svých studiích uvedli, že jarní pšenice obsahovaly podíl  $\alpha$ -karotenu, zatímco v ozimé pšenici tento karotenoid nebyl zastoupen. Jarní pšenice také vykazuje nižší obsah luteinu v porovnání s pšenicí ozimou (Konopka et al. 2006). V této diplomové práci byly všechny pšenice formy ozimé, a proto nemohl být tento faktor prozkoumán.



## 7 Závěr

Pšenice je velmi důležitou surovinou v potravinářském průmyslu, která zajišťuje potravu pro velkou část světové populace, a jen velmi těžko by se dala nahradit. Bez použití komerčně vyráběných minerálních hnojiv by nebylo možné dosáhnout takových hektarových výnosů, potřebných k uspokojení stále se zvyšující poptávky rostoucí populace. Karotenoidy, obsažené nejen v pšenici, ale i dalších rostlinných a živočišných produktech, mají nezanedbatelný vliv na zdraví člověka, a mohou zamezit výskytu mnoha populačních onemocnění a chorob. Jednou z několika možností jak je zařadit do jídelníčku, je za pomoci pšenice s barevným zrnem.

V rámci pokusu této diplomové práce, který byl zaměřen na úroveň dusíkatého hnojení v souvislosti se zastoupením karotenoidů v pšenici s barevným zrnem, nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi těmito dvěma faktory. Z tohoto důvodu byla stanovená hypotéza „množství minerálního hnojení použité při pěstování pšenice s barevným zrnem má vliv na obsah karotenoidů v jejím zrně“ zamítnuta. Mohlo by to být způsobeno zejména tím, že pokus v této diplomové práci byl proveden na genotypech pšenice vypěstovaných pouze v jedné sezóně (2019 - 2020), a z toho plynou určitá omezení. Vliv hnojení na obsah karotenoidů v pšenici by měl být podroben rozsáhlejšímu výzkumu, protože není vyloučeno, že hnojiva (jejich dávka a složení) mohou skutečně nějakým způsobem ovlivňovat obsah karotenoidních látek a jejich spektrum v zrně pšenice.

## 8 Zdroje

Abad A, Lloveras J, Michelena A. 2004. Nitrogen fertilization and foliar urea effects on durum wheat yield and quality and on residual soil nitrate in irrigated Mediterranean conditions. *Field Crops Research* **87**:257-269.

Abdel-Aal MSE, Young C, Rabalski I, Hucl P, Fregeau-Reid J. 2007. Identification and quantification of seed carotenoids in selected wheat species. *Journal of agricultural and Food Chemistry* **55**:787-794.

Amorim-Carrilho KT, Cepeda A, Fente C, Regal P. 2014. Review of methods for analysis of carotenoids. *Trends in Analytical Chemistry* **56**:49-73.

Anderson WK, Garlinge JR. 2000. *The Wheat book: principles and practice*. Department of Agriculture and Food, Western Australia, Perth.

Arathi BP, Sowmya RP, Vijay K, Baskaran V, Lakshminarayana R. 2015. Metabolomics of carotenoids: The challenges and prospects - A review. *Trends in Food Science and technology* **45**:105-117.

Awika JM. 2011. *Major cereal grains production and use around the world*. American Chemical Society, Washington, DC.

Banerjee A, Sharkey DT. 2014. Methylerythritol 4-phosphate (MEP) pathway metabolic regulation. *Natural Product Reports* **31**:1043-1055.

Beranová M. 2015. *Jídlo a pití v pravěku a ve středověku*. Praha: Academia, Praha.

Belderok B, Mesdag J, Donner DA. 2000. *The wheat grain*. Springer press, Dordrecht.

Böhmdorfer S, Oberlerchner TJ, Fuchs C, Rosenau T, Grausgruber H. 2018. Profiling and quantification of grain anthocyanins in purple pericarp x blue aleurone wheat crosses by high-performance thin-layer chromatography and densitometry. *Plant methods* (e13007) DOI: 10.1186/s13007-018-0296-5.

Bojovič B, Stojanovič J. 2005. Chlorophyll and carotenoid content in wheat cultivars as a function of mineral nutrition. *Archives of Biological Sciences* **57**:283-290.

Britton G. 2020. Carotenoid research: History and new perspectives for chemistry in biological systems. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – molecular and cell biology of lipids* (e158699) DOI: 10.1016/j.bbalip.2020.158699.

Buscemi S, Corleo D, Di Pace F, Petroni LM, Satriano A, Marchesini G. 2018. The effect of lutein on Eye and Extra-Eye health. *Nutrients* (e30231532) DOI: 10.3390/nu10091321.

- Caballero B, Allen L, Prentice A. 2013. Encyclopedia of Human Nutrition (Third Edition). Academic Press, Italy.
- Campiglia E, Mancinelli R, Stefanis DE, Pucciarmati S, Radicetti E. 2015. The long-term effects of conventional and organic cropping systems, tillage managements and weather conditions on yield and grain quality of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) in the Mediterranean environment of central Italy. *Field Crops Research* **176**:34-44.
- Carew R, Smith EG, Grant C. 2009. Factors influencing wheat yield and variability: evidence from Manitoba. *Journal of Agricultural and Applied Economics* **41**:625-639.
- Carver FB. 2009. *Wheat Science and Trade*. John Wiley & Sons, Ames.
- Colasuonno P, Marcotuli I, Blanco A, Maccaferri M, Condorelli GE, Tuberosa R, Parada R, Camargo CA, Schwember RA, Gadaleta A. 2019. Carotenoid Pigment Content in Durum Wheat (*Triticum turgidum* L. var *durum*): An Overview of Quantitative Trait Loci and Candidate Genes. *Frontiers in Plant Science* **10**:13-47.
- ČSÚ. 2019. Český statistický úřad - Definitivní údaje o sklizni zemědělských plodin. ČSÚ, Praha. Available from <https://www.czso.cz/csu/czso/definitivni-udaje-o-sklizni-zemedelskych-plodin-2019> accessed (10.2020).
- Dupont MF, Hurkman JW, Vensel HW, Tanaka C, Kothari MK, Chung KO, Altenbach BS. 2006. Protein accumulation and composition in wheat grains: effect of mineral nutrients and high temperature. *European Journal of Agronomy* **25**:96-107.
- Diretto G, Tavazza R, Welsch R, Pizzichini D, Mourgues F, Papacchioli V, Beyer P, Giuliano G. 2006. Metabolic engineering of potato tuber carotenoids through tuber-specific silencing of lycopene epsilon cyclase. *BMC Plant Biology* **6**:1471-1484.
- Eggersdorfer M, Wyss A. 2018. Carotenoids in human nutrition and health. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **652**:18-26.
- Ficco MBD, Manstrangelo MA, Trono D, Borrelli MG, Vita DP, Fares C, Beleggia R, Platani C, Papa R. 2014. The colours of durum wheat: a review. *Crop & Pasture Science* **65**:1-15.
- Fратиanni A, Giuzio L, Di Criscio T, Zina F, Panfili G. 2013. Response of carotenoids and tocopherols of durum wheat in relation to water stress and sulfur fertilization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **61**:2583-2590.
- Gasa-Falcon A, Arranz E, Odriozola-Serrano I, Martín-Belloso O, Giblin L. 2020. Delivery of  $\beta$ -carotene to the *in vitro* intestinal barrier using nanoemulsions with lecithin or sodium caseinate as emulsifiers. *LWT* (e110059) DOI: [doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110059](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110059).

- Granado-Lorencio F, López-López I, Herrero-Barbudo C, Blanco-Navarro I, Cofrades S, Pérez-Sacristán B, Delgado-Pando G, Jiménez-Colmenero J. 2010. Lutein-enriched frankfurter-type products: Physicochemical characteristics and lutein *in vitro* bioaccessibility. *Food Chemistry* **120**:741-748.
- Groth S, Wittmann R, Longin HFC, Bohm V. 2020. Influence of variety and growing location on carotenoid and vitamin E contents of 184 different durum wheat varieties (*Triticum turgidum ssp. durum*) in Germany. *European Food Research and Technology* **246**:2079-2092.
- Hentschel V, Kranl K, Hollmann J, Lindhauer GM, Bohm V, Bitsch R. 2002. Spectrophotometric determination of yellow pigment content and evaluation of carotenoids by high-performance liquid chromatography in durum wheat. *Food Chem.* **50**:6663-6668.
- Hermanns SA, Zhou X, Xu Q, Tadmor Y, Li L. 2020. Carotenoid Pigment Accumulation in Horticultural Plants. *Horticultural Plant Journal* **6**:343-360.
- Hidalgo A, Brandolini A. 2016. Nitrogen fertilisation effects on technological parameters and carotenoid, tocol and phenolic acid content of einkorn (*Triticum monnococtum* L. subsp. *Monnococtum*): A two-year evaluation. *Journal of Cereal Science* (e727974) DOI: 10.1016/j.jcs.2016.11.002.
- Himi E, Noda K. 2005. Red grain colour gene (R) of wheat is a Myb-type transcription factor. *Euphytica* **143**:239-242.
- Holík L, Hlisnikovský L, Kunzová E. 2018. The effect of mineral fertilizers and farmyard manure on winter wheat grain yield and grain quality. *Plant Soil Environment* **64**:491-497.
- Hřivna L, Zigmundová V, Burešová I, Maco R, Vyhnálek T, Trojan V. 2018. Rheological properties of dough and baking quality of products using coloured wheat. *Plant Soil Environment* **64**:203-208.
- Hu J, He J, Wang Y, Wu Y, Chen Y, Ren Ch, Ren Z, Li X, Shi S, Du Y, He P. 2020. Design and study on lightweight organic fertilizer distributor. *Computers and Electronics in Agriculture* (e105149) DOI: 10.1016/j.compag.2019.105149.
- Hussain A, Larsson H, Kuktaite R, Olsson M. 2015 Carotenoid content in organically produced wheat: relevance for human nutritional health on consumption. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **12**:14068-14083.
- Igrejas G, Ikeda TM, Guzmán C. 2020. Wheat quality for improving processing and human health. Springer nature Switzerland AG, Switzerland.
- Jaafar SNS, Baron J, Siebenhandl-Ehn S, Rosenau T, Bohmdorfer S, Grausgruber H. 2013. Increased anthocyanin content in purple pericarp x blue aleurone wheat crosses. *Plant Breeding* (e12090) DOI: 10.1111/pbr.12090.

- Johnson E. 2002. The Role of Carotenoids in Human Health. *Nutrition in Clinical Care* **5**: 56-65.
- Kaczor A, Baranska M. *Carotenoids: Nutrition, Analysis and Technology*. 2016. John Wiley and Sons. Ltd. Pondicherry, India.
- Knievel DC, Abdel-Aal ESM, Rabalski I, Nakamura T, Hucl P. 2009. Grain color development and the inheritance of high anthocyanin blue aleurone and purple pericarp in spring wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Cereal Science* **50**:113-120.
- Konopka I, Czaplicki S, Rotkiewicz D. 2006. Differences in content and composition of free lipids and carotenoids in flour of spring and winter wheat cultivated in Poland. *Food Chemistry* **95**:290-300.
- Konopka I, Tańska M, Faron A, Stepien A, Wojtkowiak K. 2012. Comparison of the phenolic compounds, carotenoids and tocochromanols content in wheat grain under organic and mineral fertilization regimes. *Molecules* **17**:12341-12356.
- Konvalina P, Moudrý J. 2008. Pěstování pšenice seté v ekologickém zemědělství. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, České Budějovice.
- Kos A. 2019. Vliv skladování na obsah karotenoidů v zrnech pšenice s barevným endospermem a aleuronem [Bc. Thesis]. Česká zemědělská univerzita, Praha.
- Kuzuyama T, Seto H. 2012. Two distinct pathways for essential metabolic precursors for isoprenoid biosynthesis. *Physical and Biological science* **88**:41-52.
- Lachman J, Hejtmánková K, Kotíková Z. 2013. Tocols and carotenoids of einkorn, emmer and spring wheat varieties: Selection for breeding production. *Journal of Cereal Science* **57**:207-214.
- Lairon D. 2011 Nutritional quality and safety of organic food. A review. *Médecine & Nutrition* **47**:19-31.
- Leenhardt F, Lyan B, Rock E, Boussard A, Potus J, Chanliaud E, Remesy C. 2006. Genetic variability of carotenoid concentration, and lipoxygenase and peroxidase activities among cultivated wheat species and bread wheat varieties. *European Journal of Agronomy* **25**:170-176.
- Lemmens L, Buggenhout VB, Oey I, Loey VA, Hendrickx M. 2009. Towards a better understanding of the relationship between the  $\beta$ -carotene *in vitro* bio-accessibility and pectin structural changes: A case study on carrots. *Food Research International* **42**:1323-1330.
- Lv J, Yu L, Lu Y, Niu Y, Liu L, Costa J, Yu L. 2012. Phytochemical compositions, and antioxidant properties, and antiproliferative activities of wheat flour. *Food Chemistry* **135**:325-331.

- Mandic V, Krnjaja V, Tomic Z, Bijelic Z, Simic A, Muslic RD, Gogic M. 2015. Nitrogen fertilizer influence on wheat yield and use efficiency under different environmental conditions. *Chilean Journal of Agricultural Research* (e5839) DOI: 10.4067/S0718-58392015000100013.
- Martinek P, Jirsa O, Vaculová K, Chrpová J, Watanabe N, Burešová V, Kopecký D, Štiastna K, Vyhnálek T, Trojan V. 2013. Use of wheat gene resources with different grain colour in breeding. *Jahrestagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs Raumberg-Gumpenstein, Austria*.
- Martini D, Taddei F, Ciccoritti R, Pasquini M, Nicoletti I, Corradini D, D'Egidio GM. 2015. Variation of total antioxidant activity and phenolic acid, total phenolics and yellow coloured pigments in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *Durum*) as a function genotype, crop year and growing area. *Journal of Cereal Science* **65**:175-185.
- Mbarki A, Sytar O, Zivcak M, Abdelly C, Cerda A, Brestic M. 2018. Anthocyanins of coloured wheat genotypes in specific response to salstress. *Molecules* (e548944) DOI: 10.3390/molecules23071518.
- Mellado-Ortega E, Hornero-Méndez D. 2016. Carotenoid evolution during short-storage period of durum wheat (*Triticum turgidum* conv. *Durum*) and tritordeum (*xTritordeum* Ascherson et Graebner) whole-grain flours. *Food Chemistry* **192**:714-723.
- Mellado-Ortega E, Hornero-Méndez D. 2017. Lutein esterification in wheat flour increases the carotenoid retention and is induced by storage temperatures. *Foods* (e6120111) DOI: 10.3390/foods6120111.
- Mellado-Ortega E, Hornero-Méndez D. 2017. Effect of long-term storage on the free and esterified carotenoids in durum wheat (*Triticum turgidum* conv. *durum*) and tritordeum (*Tritordeum* Ascherson et Graebner) grains. *Food Research International* **99**:877-890.
- Moore J, Hao Z, Zhou K, Luther M, Costa J, Yu LL. 2005. Carotenoid, tocopherol, phenolic acid, and antioxidant properties of Maryland-grown soft wheat. *Journal of Agricultural Food Chemistry* **24**:6649-6657.
- Nocente F, Stefanis DE, Ciccoritti R, Pucciarmati S, Taddei F, Campiglia E, Radicetti E, Mancinelli R. 2019. How do conventional and organic management affect the healthy potential of durum wheat grain and semolina pasta traits. *Food Chemistry* (e124884) DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.05.158.
- Paznocht L, Kotíková Z, Orsák M, Lachman J, Martinek P. 2019. Carotenoid changes of colored-grain wheat flours during bun-making. *Food Chemistry* **277**:725-734.
- Paznocht L, Kotíková Z, Šulc M, Lachman J, Orsák M, Eliášová M, Martinek P. 2018. Free and esterified carotenoids in pigmented wheat, tritordeum and barley grains. *Food Chemistry* **240**:670-678.

Příhoda J, Skřivan P, Hrušková M. 2004. Cereální chemie a technologie I: cereální chemie, mlýnská technologie, technologie výroby těstovin. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha.

Ramachandran A, Pozniak JC, Clarke JM, Singh KA. 2010. Carotenoid accumulation during grain development in durum wheat. *Journal of cereal science* **52**:30-38.

Ribeiro D, Freitas M, Silva AMS, Carvalho F, Fernandes E. 2018. Antioxidant and pro-oxidant activities of carotenoids and their oxidation products. *Food and Chemical Technology* **120**:681-699.

Russel AD, Williams GG. 1977. History of chemical fertilizer development. *Soil Science Society of America Journal* **41**:260-265.

Santis AM, Giuliani MM, Flagella Z, Reyneri A, Blandino M. 2020. Impact of nitrogen fertilisation strategies on the protein content, gluten composition and rheological properties of wheat for biscuit production. *Field Crops Research* (e107829) DOI: 10.1016/j.fcr.2020.107829.

Saqib M, Abbas G, Akhtak J. 2020. Root-mediated acidification and resistance to low calcium improve wheat (*Triticum aestivum*) performance in saline-sodic conditions. *Plant Physiology and Biochemistry* **156**:201-208.

Sathasivam R, Radhakrishnan R, Kim KJ, Park US. 2020. An update on biosynthesis and regulation of carotenoids in plants. *South African Journal of Botany* (e05015) DOI: 10.1016/j.sajb.2020.05.015.

Shaji H, Chandran V, Mathew L. 2020. Controlled release fertilizers for sustainable agriculture. Academic press, London.

Schaaf US, Schreck J, Pietsch VL, Karbstrin HP. 2020. Wheat gluten stabilized emulsions: Influence of homogenization process, pH, and ethanol concentration on droplet breakup and stabilization. *Journal of Food Engineering* **287**:136-145.

Smith GP, Gooding MJ. 1999. Models of wheat grain quality considering climate, cultivar and nitrogen effects. *Agricultural and Forest Meteorology* **94**:159-170.

Stehno Z, Konvalina P, Dotlačil L. 2008. Metodika pěstování pšenice dvouzrnky. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha.

Sun T, Yuan H, Cao H, Yazdani M, Tadmor Y, Li L. 2018. Carotenoid Metabolism in Plants: The Role of Plastids. *Molecular Plant* **11**:58-74.

Sytar O, Boško P, Živčák M, Brestic M, Smetanska I. 2018. Bioactive phytochemicals and antioxidant properties of the grains and sprouts of colored wheat genotypes. *Molecules* (e2282) DOI: 10.3390/molecules23092282.

- Šivel M, Klejdus B, Kráčmar S, Kubáň V. 2013. Lutein - významný karotenoid ve výživě člověka. *Chemické listy* **107**:456-463.
- Šrámková Z, Gregorová E, Šturdík E. 2009. Chemical composition and nutritional quality of wheat grain. *Acta Chimica Slovaca* **2**:115-138.
- Terrile II, Miralles JD, González GF. 2017. Fruiting efficiency in wheat (*Triticum aestivum* L): Trait response to different growing conditions and its relation to spike dry weight at anthesis and grain weight at harvest. *Field Crops Research* **201**:86-96.
- Trono D. 2019. Carotenoids in cereal food crops: Composition and Retention throughout Grain Storage and Food Processing. *Plants* (e551) DOI: 10.3390/plants8120551.
- Václavíková M, Konvalina P, Hajšlová J. 2012. Kvalita pšenice v ekologickém zemědělství. *Zemědělec* **16**:32-33.
- Vaněk V, Balík J, Černý J, Pavlík M, Pavlíková D, Tlustoš P, Valtera J. 2012. Výživa zahradních rostlin. Nakladatelství Academia, Praha.
- Vishnevetsky M, Ovadis M, Vainstein A. 1999. Carotenoid sequestration in plants: the role of carotenoid-associated proteins. *Trends in Plant Science* **4**:232-235.
- Wang Z, Yang Y, Zhao J, Nie J, Zang H, Zeng Z, Olesen EJ. 2020. Yield benefits from replacing chemical fertilizers with manure under water deficient conditions of winter wheat - summer maize system in the North China. *European Journal of Agronomy* (e126118) DOI: 10.1016/j.eja.2020.126118.
- Wang X, Zhang X, Hou H, Ma X, Sun S, Wang H, Kong L. 2020. Metabolomics and gene expression analysis reveal the accumulation patterns of phenylpropanoids and flavonoids in different colored-grain wheats (*Triticum aestivum* L.). *Food Research International* (e109711) DOI: 10.1016/j.foodres.2020.109711.
- Weiss E, Zohary D. 2011. The neolithic southwest asian founder crops. *Current Anthropology*. **52**:237-254.
- Zhang J, Jia G, Wanbin Z, Minghao J, Wei Y, Hao J, Liu X, Gan Z, Sun A. 2020. Nanoencapsulation of zeaxanthin extracted from *Lycium barbarum* L. by complex coacervation with gelatin and CMC. *Food Hydrocolloids* (e106280) DOI: 10.1016/j.foodhyd.2020.106280.
- Zhen S, Deng X, Xu X, Liu N, Zhu D, Wang Z, Yan Y. 2020. Effect of high-nitrogen fertilizer on gliadin and glutenin subproteomes during kernel development in wheat (*Trtiticum aestivum* L.). *The Crop Journal* **8**:38-52.
- Zimolka J. 2005. Pšenice: pěstování, hodnocení a užití zrna. Profi Press, s.r.o., Praha.



Zrcková M, Capouchová I, Eliášová M, Paznocht L, Pazderů K, Dvořák P, Konvalina P, Orsák M, Štěřba Z. 2018. The effect of genotype, weather conditions and cropping system on antioxidant activity and content of selected antioxidant compounds in wheat with coloured grain. *Plant Soil Environment* **64**:530-538.