



Faculty of
Agronomy

Mendel
University
of Agriculture
and Forestry
in Brno



'08 Agro
MendelNet



Proceedings of International Ph.D. Students Conference
Brno, November 26, 2008

MENDEL UNIVERSITY OF AGRICULTURE AND FORESTRY IN BRNO

Faculty of Agronomy



Mendel^{'08}AgroNet

Proceedings of International Ph.D. Students Conference

2008 November 26

BRNO

MendelNet '08 Agro

Published by:

Faculty of Agronomy
Mendel University in Brno

Editor-in-Chief

Ing. Petr Škarpa, Ph.D.

Review Editors

Ing. Pavel Ryant, Ph.D.

Ing. Radim Cerkal, Ph.D.

Technical Editors

Ing. Vítězslav Dostál

Ing. Ivo Vyskočil

Address of Editorial Board

Mendel University in Brno, Faculty of Agronomy

Zemedelska 1, 613 00, Brno

Czech Republic

Tel.: +420 545 13 3345

E-mail: petr.skarpa@mendelu.cz

radim.cerkal@mendelu.cz

marie.konecna@mendelu.cz

MendelNet'08 Agro

Brno, Czech Republic

2008, November 26rd

Organizer

Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno

Acknowledgement:

The Conference MendelNet^{'08} Agro was realized thanks to support of the Research Plan No. MSM6215648905 "Biological and technological aspects of sustainability of controlled ecosystems and their adaptability to climate change", which is financed by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

and

Development project of Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic. - Motivation program of professional growth of young academic workers at MUAFA in Brno No. 74-2/B 200.

ISBN: 978-80-7375-239-2

Scientific Committee

Doc. Ing. Eduard Pokorný, CSc.

Doc. Ing. Pavel Veselý, CSc.

Doc. RNDr. Jana Kotovicová, Ph.D.

Doc. Ing. Josef Filípek, CSc.

Doc. Ing. Jan Pospíchal, CSc.

Prof. Ing. Jaroslava Ehrenbergerová, CSc.

Doc. MVDr. Zbyšek Sládek, Ph.D.

Organizing Committee

Ing. Pavel Ryant, Ph.D.

Ing. Petr Škarpa, Ph.D.

Mgr. Marie Konečná

Ing. Radim Cerkal, Ph.D.

Ing. Gabriela Růžičková, Ph.D.

Ing. Vítězslav Dostál

Ing. Ivo Vyskočil

Secretariat

Mgr. Marie Konečná

Ing. Petr Škarpa, Ph.D.

Reviewers

Ing. Gabriela Růžičková, Ph.D.

Ing. Jiří Skládanka, Ph.D.

Ing. Hana Pokladníková, Ph.D.

Ing. Josef Los, Ph.D.

Ing. Tomáš Gregor, Ph.D.

Mgr. Vilém Reinöhl, CSc.

Ing. Petr Sláma, Ph.D.

PREFACE

It is a tradition that the **MendelNet Conference** for undergraduate and postgraduate students is hosted by **Faculty of Agronomy** in the end of the year. From the first year, in 1996, it went by considerable progress reflected faculty life and events. Probably the most important change of the conference image is gradual increases of the sections number, connected with the implementation of new courses. Recently, increased number of the participants is welcomed, from our University, from partner universities in the Czech Republic and from abroad, respectively.

The mission and the aims of the Conference continue. It provides the students the opportunity to present their contributions in face of their colleagues and the scientific commissions. The students acquire the experiences with active presentation and defence of the results obtained from research on diploma and doctoral thesis. The discussions among the participants and the students are very valuable because it is the best training procedure for proper thesis defence in face of the commission. The **MendelNet'08 Agro Conference** is an ideal form for scientific survey acquirement in given specialization.

Prof. Ing. Ladislav Zeman, CSc.

Dean of FA MUAF in Brno

Contents

Section Plant Production

<i>THE PROCESS AND DEVELOPMENT OF PHENOPHASES OF SELECTED PLANTS IN SOUTH MORAVIA IN 1961 - 2007</i>	
BARTOŠOVÁ L., ŽALUD Z.	17
<i>INFLUENCE OF MAIZE CROP'S CONCENTRATION TO BIOGAS PRODUCTION</i>	
ČANDOVÁ D., PULKRÁBEK J.	29
<i>THE COMPARISON OF SEVERAL SOIL CULTIVATION METHODS IN THE TOKAJ-WINE REGION</i>	
GÖBLYÖS J.	36
<i>SCALE INSECTS (COCCOIDEA) - PESTS OF ORNAMENTAL PLANTS IN HOUSEHOLD</i>	
HLAVJENKOVÁ I., ŠEFROVÁ H.	44
<i>COMPARISON OF PHOTOSYNTHETIC ACTIVITY IN CULTURE AND WEED BEETS</i>	
HNILIČKA R., PULKRÁBEK J.	52
<i>INFLUENCE OF SELENIUM APPLICATION ON YIELD OF POTATOES (Solanum tuberosum) AND ITS CONTENT IN TUBERS AFTER HEAT TREATMENT</i>	
JEŽEK P., HLUŠEK J., LOŠÁK T.	59
<i>EFFICACY OF DIFFERENT FUNGICIDE PROGRAMMES AGAINST LATE BLIGHT OF POTATO IN SELECTED VARIETIES</i>	
KMOCH M., HAUSVATER E., POKORNÝ R.	67
<i>ASSESSMENT OF HERBICIDE EFFICACY BY MEASURING CHLOROPHYLL FLUORESCENCE</i>	
KOCUREK V., SMUTNÝ V., KŘEN J.	88
<i>ARGYRESTHIA THUIELLA AND A. TRIFASCIATA (LEPIDOPTERA: YPONOMEUTIDAE) – PESTS ORNAMENTAL CONIFEROUS TREE</i>	
KONEČNÁ H., ŠEFROVÁ H.	95
<i>DIFFERENCES IN THE BOTANICAL COMPOSITION OF A GRASS ST AND BASED ON THE MODE OF ESTABLISHMENT AND DIFFERENT INTENSITY OF EXPLOITATION</i>	
KRAUSOVÁ, A., HRABĚ, F.	101
<i>THE INFLUENCE OF DEVELOPMENTAL STAGE OF POTATO PLANTS ON THE DETECTION OF POTATO LEAFROLL VIRUS (PLRV)</i>	
KRÉDL Z., POKORNÝ R., DĚDIČ P.	108

<i>THE INFLUENCE OF DIFERENCIAL MINERAL NUTRITION N, P, K, MG, S ON YIELD AND QUALITY BUNCH OF GRAPES IN VINECULTURE REGION OF TOKAJ</i>	
KREMPA P., LOŽEK O., VARGA L., MARČEK M.	122
<i>BUFFERING ABILITY OF SELECTED SOIL TYPES</i>	
MARTINEC J., POKORNÝ E.	128
<i>SOIL EXTRACTION BY HOT WATER AND CALCIUM CHLORIDE</i>	
NEDVĚD V., BALÍK J., ČERNÝ J.	136
<i>LONG – TERM EVALUATION OF THE FLIGHT ACTIVITY OF RUSSIAN WHEAT APHID (DIURAPHIS NOXIA KURDJ.)</i>	
OLBRECHTOVÁ J., ŠEFROVÁ H.	142
<i>EARLY SWEET CORN PRODUCTION</i>	
OROSZ F., PAP Z., SLEZÁK K.	146
<i>METHODS OF COMPILING LONG-TERM PHENOLOGICAL SERIES IN SOUTHERN MORAVIA</i>	
PÁNÍK M., TRNKA M., MOŽNÝ M., ČERNÁ H.	153
<i>COMPARISON OF SAAZ HOP WITH OTHER CULTIVARS AND HOP NEWBREEDINGS</i>	
POKORNÝ J., ŠTRANC P., PULKRÁBEK J., HNILIČKA F.	162
<i>QUASSIA AMARA IN THE FIGHT AGAINST APPLE SAWFLY</i>	
PSOTA, V.	169
<i>EFFECT OF MORPHOLOGICAL AND BIOLOGICAL CHARACTERS OF WEED COMPETIVENESS OF GENUS TRITICUM L.</i>	
ŠRÁMEK, J., MOUDRÝ, J.	178

Section Animal Production

FACTORS AFFECTING METABOLISM OF DAIRY COWS

BALABÁNOVÁ M., HRDINA P., ZEMAN L. 188

EXTERIER AND PRODUCTION CHARACTERISTICS IN GACKO CATTLE BREED

ERBEZ M., CHLÁDEK G., ŠAROVSKÁ L., WALTEROVÁ L. 195

EVALUATION OF IMPORTANCE OF FOREIGN BREEDS HORSES ON CZECH WARM-BLOODED HORSE

KRČOVÁ S., JISKROVÁ I. 200

EFFECT OF LEGUMES IN BROILER'S DIETS ON SENSORY QUALITY OF MEAT

KŘÍŽOVÁ Š., KRATOCHVÍLOVÁ P., VAŠÁTKOVÁ A., ZEMAN L. 209

THE UTILIZATION OF CORN DDG INTENDED FOR CARP (Cyprinus carpio L.) DIETS

KUKAČKA V., MAREŠ J. 214

CONDUCTIVITY OF THE STALLION EJAKULATE

MAMICA O., MÁCHAL L., SEVERA L., ŠVÁBOVÁ L. 220

THE CHANGES OF MUSCLE FIBRES DIAMETER OF BULLS DEPENDING ON THE DIFFERENT FACTORS

NĚMCOVÁ K., ŠUBRT J., FILIPČÍK R., DRAČKOVÁ E. 225

THE QUALITY OF SILAGE AND TOTAL MIXED RATIO

POŠTULKA R., DOLEŽAL P. 234

STATISTIC ANALYSIS OF THE POPULATIONS OF AKHALTEKE HORSES ON THE BASIS OF BODY MEASUREMENTS IN CHOSEN COUTRIES

PRAUSOVÁ M., JISKROVÁ I., SOBOTKOVÁ E., MAJVELDER L. 240

EVALUATION OF INFLUANCE OF WEIGHT OF PIGLETS DURING THE WEANING ON THEIR WEIGHT GAIN AND FEED CONVERSION IN COMPARISON OF TWO FEEDING MIXTURES.

RADA V., ČECHOVÁ M. 248

THE EVALUATION OF CRITERIA OF YOUNG HORSES OF SPORT HORSES IN CZECH REPUBLIC

ŠAROVSKÁ L., WALTEROVÁ L., KRČOVÁ S., JISKROVÁ I. 259

FOURIER ANYLYSIS AS A TOOL FOR DESCRIPTION OF STALLION SPERM HEAD SHAPE VARIABILITY

ŠVÁBOVÁ L., SEVERA L., MAMICA O., MÁCHAL L. 266

***INFLUENCE OF FEEDING OF NATURALLY MOULDED DIETS
ON LEVEL OF HEPATIC ENZYMES***

VAŠÁTKOVÁ A., KRÍŽOVÁ Š., ZEMAN L. 274

***THE INFLUENCE OF CHELATES ON SELECTED BLOOD PARAMETERS
OF HORSES***

VEČEREK M., VAŠÁTKOVÁ A., MAREŠ P., ZEMAN L. 280

***REACTION OF HIGHER PRODUCING COWS ON SUMMER
TEMPERATURES IN THE STABLE***

WALTEROVÁ L., ŠAROVSKÁ L., CHLÁDEK G. 285

Section Agroecology

<i>RESEARCH OF POSSIBILITIES OF UTILIZATION OF SELECTED SORTS OF COMMUNAL WASTES FOCUSED ON WASTE TIRES</i>	
ADAMCOVÁ D., KOTOVICOVÁ J.	291
<i>THE PEDOCOMPACTION OF TOPSOIL AND SUBSOIL ON CHOSEN LOCALITIES</i>	
BRTNICKÝ M., VLČEK V., POKORNÝ E.	305
<i>GROWTH PERFORMANCE AFTER 1ST COPPING ON FAST GROWING WOODY PLANTS</i>	
DRLÍKOVÁ, L., FAJMAN, M., FRYC, V.	316
<i>MONITORING OF WATER POLLUTION OF ŽELEČSKÝ STREAM UNDER ŽELEČ VILLAGE</i>	
FIALOVÁ P., HUBAČIKOVÁ V., ROZKOŠNÝ M.	328
<i>WETLAND PLANTS AND THEIR USAGE IN CONSTRUCTED WETLANDS</i>	
FUSKA J., HÚSKA D.	335
<i>EROSION MODEL IN THE WIND EROSION PREDICTION SYSTEM</i>	
GREŠOVÁ L., STREĎANSKÝ J.	343
<i>THE STUDY OF OPERATIONAL, TECHNOLOGICAL AND URBANISTIC FARM CONCEPTION IN ORGANIC FARMING</i>	
JUNGA P., MAREČEK J.	353
<i>PROPERTY LOSS CAUSED BY IMMISSIONS IN AGRICULTURAL PRODUCTION</i>	
KAUFMAN P., SKLENÁR Š.	359
<i>PERSPEKTIVES OF WEGETABLE WASTE COMPOSTING</i>	
MACH P., TESAŘOVÁ M., MAREČEK J.	367
<i>THE LEVEL OF ORGANIC POLLUTION OF MIDDLE COURSE OF THE JIHLAVA RIVER ACCORDING TO SAPROBIC INDEX AND TROPHIC POTENTIAL</i>	
MAKOVSKÝ J., KRČOVÁ S., SPURNÝ P.	374
<i>PROPERTIES OF A RE-EVALUATED AGRICULTURAL SOILS IN MORAVSKÝ PÍSEK LAND REGISTER</i>	
NÁPLAVOVÁ M., HYBLER V.	382
<i>AMOUNT OF PROPERTY DAMAGE TO ANIMAL PRODUCTION CAUSED BY IMMISSIONS</i>	
PAULOVÍČOVÁ J., KALÚZ K.	397

<i>INTERESTS OF DEVELOPMENT OF RURAL REGIONS IN MORAVIAN - SLOVAK BORDER (FOR INSTANCE OF MICRO – REGION KAROLINKA)</i>	
PEKAŘOVÁ K.	402
<i>TITTLE: REGISTRATION OF SIGNIFICANT TREES IN STRŽITEŽ NAD LUDINOU</i>	
ŠKRDLA J., KUPEC P.	409
<i>ANALYSIS OF VOLUNTARY ENVIRONMENTAL POLICY IN AGRICULTURE</i>	
ŠVIKRUHOVÁ V., STREĎANSKÝ J.	422
<i>POSSIBILITIES OF APPLICATION OF BIOINDICATORS AT KLATOVY - ŠTĚPÁNOVICE LANDFILL</i>	
VAVERKOVÁ M., KOTOVICOVÁ J.	430

Section Techniques and Technology

POSSIBILITIES OF ULTRASOUND AND PRESSURE SENSORS USAGE FOR FLOW RATE MEASUREMENT OF SMALL FOREST STREAMS – DEFINITION OF USAGE LIMITS

DATINSKÝ J., KUPEC P. 441

IMPLEMENTING SPC IN INDUSTRIAL PROCESS

DOSTÁL P., ČERNÝ M. 450

THE USING OF GEOGRAPHICAL INFORMATION SYSTEMS IN WRECKED CARS TREATMENT

KONRÁD Z., FRYČ, J. 460

TEMPERATURE MEASUREMENT BY MEANS MODERN AUTOMATIZATION

KŘENOVSKÝ R. 469

APPLICATION FIELD NANOTEXTILES IN AGRICULTURE

LEV J., ČERNÝ M., NASADIL P. 477

THE COMPARISON OF DRAWBAR PERFORMANCE OF TRACTORS WITH DIFFERENT CHASSIS CONSTRUCTION

PREČ M., SEDLÁK P., BAUER F., ČUPERA J., ŠMERDA T. 483

MONITORING PROCESS OF BIOMATHANIZATION

ŠINKORA M., HAVLÍČEK M. 498

MATHEMATICAL MODEL OF THE HAY AGGREGATOR FELLA TS 1602

ŠMÍD V., BARTOŇ S. 506

CORROSION OF AUSTENITIC STEELS

ŠOCH Z., ČERNÝ M., FAJMAN M. 525

ESTIMATION SEASONAL EFFICIENCY PICKING THRESHING - MACHINES AND ECONOMY RUNNIG

ŠVEC M. 535

Section Food Technology

<i>DETECTION AND MONITORING OF PROBIOTIC MICROORGANISMS IN FERMENTED MILK PRODUCTS</i>	
BUREŠOVÁ K., BURDYCHOVÁ R.	541
<i>SOME MICROORGANISMS FORMING BIOGENIC AMINES IN DUTCH-TYPE SEMI-HARD CHEESE</i>	
CWIKOVÁ O., KOMPRDA T., DOHNAL V.	548
<i>PROBIOTIC CULTURES IN DRY FERMENTED SAUSAGES AND THEIR INFLUENCE ON THE CONTENT OF BIOGENIC AMINES</i>	
HOFERKOVÁ P., BURDYCHOVÁ R., BUBENÍČKOVÁ A., DOHNAL V.	555
<i>CONTAMINATION OF FEEDSTUFFS BY PHTHALIC ACID ESTERS</i>	
KRÁTKÁ L., JAROŠOVÁ A., STANCOVÁ V.	561
<i>SELECTED FACTORS INFLUENCING BIOGENIC AMINE CONTENT IN FERMENTED MEAT PRODUCTS</i>	
SLÁDKOVÁ P., PETIROVÁ E., KOMPRDA T., DOHNAL V., KALÁB J.	566
<i>MONITORING OF PHTHALATES CONTAMINATION IN BROILER CHICKS AND COMPARISON OF CCUMULATION OF DEHP AND DBP IN TISSUES</i>	
STANCOVÁ V., JAROŠOVÁ A., KRÁTKÁ L.	572
<i>CHANGES OF SENSORY QUALITY OF „METTWURST“ DEPENDIDG ON VEGETABLE OIL USED IN THE PRODUCTION</i>	
ŠULCEROVÁ H., BURDYCHOVÁ R.	577
<i>DETECTION OF FUNGAL CONTAMINATIONS IN POWDERED PEPPER USING MOLECURAL BIOLOGICAL METHODS</i>	
TROJAN V., HANÁČEK P., HAVEL L.	582
<i>THE QUALITY OF SPRING BARLEY IN DEPENDENCE OF PLANT NUTRION OF NITROGEN AND SULPHUR</i>	
VAVROUŠOVÁ P., HRIVNA L.	588
<i>THE IMPACT OF WINTER STORAGE OF LIVING CARPS ON RESENCE OF PHTALATE ESTERS IN MUSCLE</i>	
ZORNÍKOVÁ, G., JAROŠOVÁ, A., STANCOVÁ, V.	595

Section Plant Biology

<i>PROTEOME ANALYSIS OF ARABIDOPSIS THALIANA TRANSGENIC PLANTS WITH INCREASED LEVELS OF ENDOGENOUS CYTOKININS</i>	
BALDRIANOVÁ J., DYČKA, F., BOBÁLOVÁ, J., BRZOBOHATÝ B.	600
<i>THE SEPARATION OF GRAPEVINE (VITIS VINIFERA L.) CONCVLTA MEMBERS WITH MOLECULAR MARKERS</i>	
BODOR P., BISZTRAY G. D., PEDRYC A.	601
<i>PLANT TRANSPOSABLE ELEMENTS AS A TOOL FOR GENE LOCALIZATION</i>	
ČEGAN R., HOBZA R., MRÁČEK J., KEJNOVSKÝ E., WIDMER A., VYSKOT B.	607
<i>ISOLATION OF PHOSPHOPROTEOM AND ITS APPLICATION IN STUDY OF THE EFFECT OF CYTOKININ ON PLANTS</i>	
ČERNÝ M., BRZOBOHATÝ B.	618
<i>MOLECULAR DIAGNOSIS OF BYMV IN GLADIOLUS PLANTS</i>	
DURASAMY G. S., POKORNÝ R., HOLKOVÁ L.	623
<i>PURIFICATION OF MUTANT FORMS OF β-GLUCOSIDASE (HIS)6ZM-P60.1 (Z. Mays)</i>	
FILIPÍ T., DOPITOVÁ R., BRZOBOHATÝ B.	636
<i>EFFECT LOW LIGHT INTENSITY AND INCREASE CONCENTRATION OF CYTOKININS - PROTEOMIC ANALYSIS</i>	
MAREČKOVÁ M., BRZOBOHATÝ B.	646
<i>DEVELOPMENT AND OPTIMIZATION OF GENETIC TRANSFORMATION SYSTEM FOR GRAPE</i>	
NOVÁK E., ZOK A., PEDRYC A. AND OLÁH R.	650
<i>OXIDATIVE STRESS IN PLANTS WITH ELEVATED LEVEL OF CYTOKININS</i>	
NOVÁK J., VÁŇOVÁ P., SOUČEK P., BRZOBOHATÝ B.	656
<i>INTERACTION OF LIGHT AND CYTOKININS IN ARABIDOPSIS THALIANA – STRESS AND ANTHOCYANIN BIOSYNTHESIS</i>	
PAVLŮ J., BRZOBOHATÝ B.	657
<i>USING OF MICROSATELLITE MARKERS FOR IDENTIFICATION OF DUPLICATIONS IN COLECTION OF GENETIC RESOURCES OF PEPPER (Capsicum L.)</i>	
ROHRER M., CIESLAROVÁ J., HANÁČEK P., VYHNÁNEK T., STAVĚLÍKOVÁ H.	658

***STORAGE PROTEINS AND ABSCISIC ACID IN ZYGOTIC EMBRYOGENESIS
OF PEA (*Pisum sativum* L.)***

SOLNICKÁ P., KLEMŠ M., GRIGA M., HAVEL L. 667

***DNA POLYMORPHISM OF DOUBLE - HAPLOID LINES PARENTS
INTENDED FOR GENETICAL MAPPING***

ULLMANNOVÁ K., ŘEPKOVÁ J., HOLKOVÁ L., CHLOUPEK O. 672

VARIABILITY OF MICROSATELLITE MARKERS IN GENUS THYMUS

V AŠÍČKOVÁ Š., VEJL P., DUŠKOVÁ E., DUŠEK K., ČÍLOVÁ D., VAŠEK J. 685

***SEGREGATION ANALYSIS OF AGRICULTURAL IMPORTANT
TRAITS OF APPLES***

ZOUFALÁ J., VEJL P., MELOUNOVÁ M., BLAŽEK J., KŘELINOVÁ J., PAPRŠTEJN F. 701

Section Animal Biology

<i>VERIFICATION AVAILABILITY MICROSATELLITES PANEL FOR PARENTAGE IDENTIFICATION OF DIFFERENT CANINE BREEDS</i>	
BRYNDOVÁ M., KNOLL A.	713
<i>KIT GENE POLYMORPHISM IN ASSOCIATION WITH HORSE COAT COLOUR – TOBIANO</i>	
CHALUPOVÁ P., KNOLL A.	719
<i>THE ANALYSIS OF MICROSATELLITES RELATING TO POLLEDNESS IN BEEF CATTLE</i>	
KAPLANOVÁ, K., KNOLL, A.	726
<i>GENETICS ANALYSIS OF WHITE SPOTTING IN THE DOGS</i>	
NESVADBOVÁ M., KNOLL A.	734
<i>RESULTS EVALUATION OF PREDICTION POLLED/HORNED CATTLE IN MEAT SIMENTAL</i>	
STEHLÍK L., DVOŘÁK J.	738
<i>USAGE OF CHITOSAN FOR DNA AND BIOLOGICAL SAMPLES' STORAGE</i>	
ŠRUBAŘOVÁ P., DVOŘÁK J.	743
<i>THE POLYMORPHISMS OF PRNP GENE ASSOCIATED WITH BSE IN CATTLE</i>	
WEISZ F., KNOLL A.	748

THE PROCESS AND DEVELOPMENT OF PHENOPHASES OF SELECTED PLANTS IN SOUTH MORAVIA IN 1961 – 2007

PRŮBĚH A VÝVOJ FENOFÁZÍ VYBRANÝCH ROSTLINNÝCH DRUHŮ JIŽNÍ MORAVY V OBDOBÍ 1961 – 2007

Bartošová L., Žalud Z.

Department of Agrosystems and Bioclimatology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: Lenka_Bartosova@seznam.cz, zalud@mendelu.cz

ABSTRACT

Phenology is important indicator of climate progression and variability of meteorological values, especially temperature. The aim of our work is to process and assess, which meteorological parameters could be consider as driving variables determining the length and developmental rate of individual phenophases. And process how observed phenophases have changed in 1961 - 2007. As the phenophases in the agrosystems are influenced by human activity we used uncontrolled ecosystem as a modeling ground in order to develop robust and reliable methodology. We have observed phenophases (bud bursting and full leafing) of oak tree (*Quercus robur* L.) and wild garlic (*Allium ursinum* L.) first flower and full flowering on research plot of flood plain forests in southern Moravia since 1961 till now. In order to process the data we used computer tool FenoClim, which was developed at Institute of agrosystems and bioclimatology. FenoClim allows to easily determine climate variables that are driving onset and/or duration of specific phenophases (e.g. start and end of flowering or start of bud bursting and full leafing directly). Statistical analysis showed that Tavg and Tmax influenced the length of phenophases of *Quercus robur* and *Allium ursinum* most significantly. Tmin and Srad influenced the length of phenophases less; Day-length and Rain has no significant influence on length of studied phenophases. The start of *Quercus robur* bud bursting has shifted to the earlier time by 9,4 days. The start of first flower of *Allium ursinum* has advanced by 9,6 days.

Key words: phenology, length of phenophases, temperature, *Quercus robur*, *Allium ursinum*

Acknowledgements: We gratefully acknowledge the support of the Grant Agency of the Czech Republic (no. 521/08/1682), Research plan No. MSM6215648905 “Biological and technological aspects of sustainability of controlled ecosystems and their adaptability to climate change“ and of KONTAKT OC187 (linked to COST 734) that enabled data collection and development of the FenoClim software used in the study.

ÚVOD

Fenologie, jako věda zabývající se vývojovými fázemi životních cyklů rostlin a živočichů (Cleland et.al., 2007) se v současné době stává důležitým nástrojem při posuzování vývoje a případných změn klimatu. Globální změna klimatu může významně posouvat rostlinné fenofáze, protože teplota ovlivňuje časový vývoj rostlin (Bernier G., 1988; Partanen et.al., 1998). Nástup jarních fenofází ve středních a vyšších polohách je po ukončení dormance ovlivněn především teplotou (Linderholm, 2006) a mnoho studií popsalo úzkou korelaci mezi jarními fenofázemi a teplotou vzduchu (Menzel and Fabian, 1999; Wielgolaski, 1999; Abu-Asab et al., 2001; Chmielewski and Rötzer, 2002; Fitter and Fitter, 2002; Sparks and Menzel, 2002; Chmielewski et al., 2004). V mírném pásmu je reprodukční cyklus rostlin řízen především teplotou a délkou dne (Menzel, 2002), zatímco v nižších polohách musí být brán v úvahu také vliv evapotranspirace.

Současné fenologické studie také ukazují, že jarní fenofáze začínají o deset až dvacet dní dříve než před padesáti lety (Ahas et.al., 2002; Peñuelas et. al., 2002).

Rostliny neovlivněné agrotechnickými zásahy reagují přirozeně na změny teplot či srážek a jsou pro nás odrazem skutečných reakcí neřízených ekosystému na měnící se klima. Fenologická pozorování prováděná na dubu letním (*Quercus robur* L.) a česneku medvědí (*Allium ursinum* L.) v oblasti jižní Moravy byla započata v roce 1961 a trvají dodnes. Posun fenofází do dřívějšího data je u tohoto druhu zřejmý a jasně prokazatelný. Méně jasné jsou faktory způsobující tyto změny. Hlavním cílem této práce, proto bylo kvantifikovat vliv meteorologických prvků na fenofáze s použitím nově vyvinutého modelu FenoClim a také analyzovat termín nástupu a zejména doby trvání vybraných fenologických fází dubu letního s použitím mimořádně kvalitních fenologických pozorování z období 1961 – 2007.

Model FenoClim byl vyvinut na Ústavu agrosystémů a bioklimatologie a vyhodnocuje klimatické faktory přímo pro období konkrétní fenofáze. Tak je možné určit, která klimatická veličina koreluje s délkou fenofáze nejsilněji.

MATERIÁL A METODIKA

Tato práce se zabývá fenologickými fázemi dubu letního (*Quercus robur*) a česneku medvědí (*Allium ursinum*) na lokalitách lužního lesa jižní Moravy od roku 1961 do roku 2007. Fenologická pozorování byla prováděna dle metodiky Českého hydrometeorologického ústavu. Výzkumné plochy se nachází v Lednici na Moravě a v Lanžhotě. Plochy jsou od sebe vzdáleny cca 20 km, mají téměř shodnou nadmořskou výšku a svými klimatickými podmínkami se v období 1961 – 2007 výrazně neliší. Jako modelové druhy byly vybrány dub letní a česnek medvědí, jako typičtí zástupci lužního lesa.

Pozorování fenofází od počátku rašení do plného olistění na dubu letním byla prováděna na dvou stejných jedincích po celé sledované období. Začátek fenofáze je označen jako rašení pupenů a nastává, když je pozorován první prasklý pupen, jehož šupiny jsou

otevřeny a jsou vidět první špičky zelených lístků. Plné olistění nastává, když je koruna pokryta plně vyvinutými mladými listy, jejichž velikost se již nebude měnit. U česneku medvědího byla sledována fenofáze od prvního květu do plného kvetení a to u celé populace na lokalitě. Začátek fenofáze je stanoven, když se ve sledované populaci druhu objeví první květ. Míra kvetení byla procenticky zaznamenávána a plné kvetení bylo stanoveno, když 100% populace kvetlo, ale nenastal opad květů.

Lednická ani Lanžhotská lokalita nemá svou vlastní meteorologickou stanici. Denní meteorologická data byla proto určena pomocí software AnClim a dat z cca 130-ti meteorologických stanic na území České republiky. Hodnoty byly homogenizovány a interpolovány pro konkrétní místo určené geografickými souřadnicemi s použitím metody váženého průměru popsané Štěpánkem et. al. (2007). Meteorologické parametry potřebné pro další práci zahrnují maximální a minimální teplotu, srážky, rychlost větru, výpar a solární radiaci. Tyto parametry společně s fenologickými údaji, jako jsou termíny začátku a konce fenofází tvoří vstupní data pro model Fenoclim. Fenoclim byl vyvinut pracovníky Ústavu agrosystémů a bioklimatologie pro detailní analýzu vazby klimatických dat na nástup a trvání sledovaných fenofází. Tento model vyhodnocuje klimatické parametry přímo pro sledované období, které řídí začátek a trvání specifických fenofází (např. začátek a konec kvetení nebo začátek rašení pupenů a plné rozvinutí listů).

Pro důkladný rozbor délky a průběhu fenofází dubu letního a česneku medvědího byly vypočítány krátké a dlouhé fenofáze a fenofáze s průměrnou délkou. Fenofáze celého sledovaného období byly dle délky rozděleny pomocí průměrné hodnoty a směrodatné odchylky všech sledovaných fází. Krátké fenofáze jsou fenofáze, jejichž délka je nižší než hodnota směrodatné odchylky průměru a délky dlouhých fenofází jsou vyšší než hodnota směrodatné odchylky průměru.

Pomocí modelu Fenoclim byly vyhodnoceny teploty, při nichž je koeficient determinace mezi délkou fenofáze a sumou efektivních teplot (jak průměrných tak maximálních) nejvyšší. Pro tyto teploty byly určeny sumy efektivních teplot potřebných pro dosažení konkrétní fenofáze plného olistění. Tyto sumy efektivních teplot byly zároveň určeny pro teploty 0°C, 5°C a 10°C.

Statistické hodnocení bylo provedeno programem STATISTICA Cz (verze 8.0), pomocí kterého byly analyzovány základní statistické parametry hodnocených souborů a rovněž byla provedena trendová analýza. Pro hodnocení statistické významnosti byla stanovena hladina významnosti $\alpha = 0,05$.

VÝSLEDKY

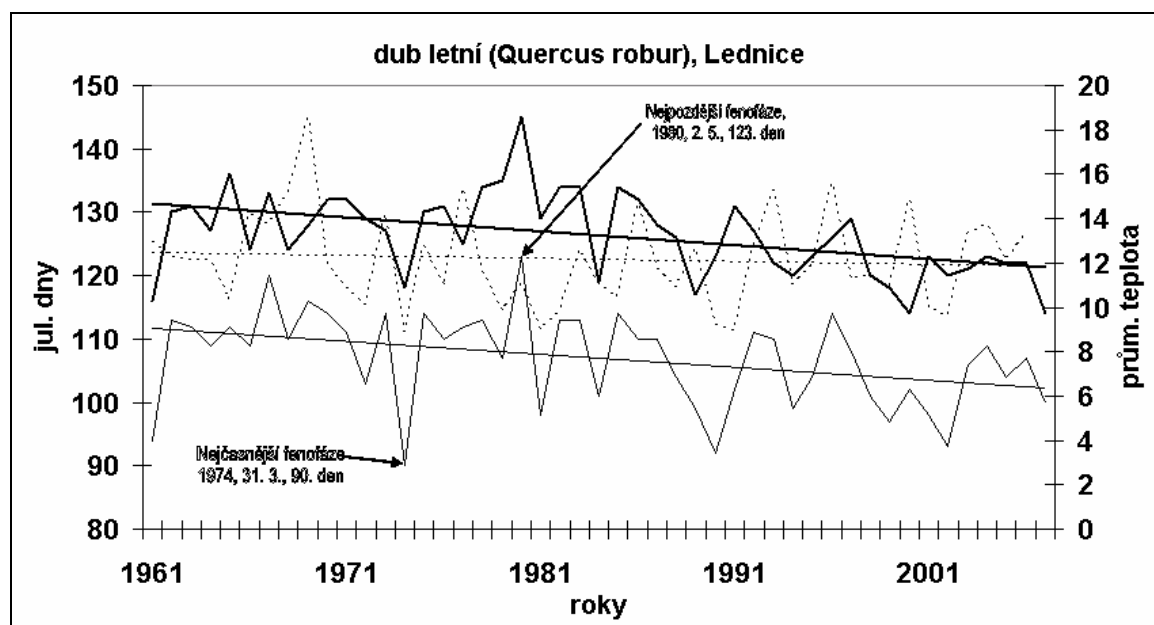
Dub letní

Délku fenofáze dubu od rašení pupenů do plného olistění dle výsledků statistického zhodnocení nejvíce ovlivňuje průměrná denní teplota ($r = -0,91$) a dále maximální teplota ($r = -0,89$) (Tab. 1a). Vztah mezi minimální teplotou během fenofáze a jejím trváním je

rovněž statisticky významný nicméně stupeň korelace je nižší ($r = -0,81$). Výrazně menší vliv má solární radiace ($r = -0,57$), přičemž srážky a délka dne trvání sledované fenofáze statisticky významně neovlivňují. Velmi úzký vztah mezi délkou fenofáze a průměrnou a maximální teplotou ještě potvrzují hodnoty sum nad 5°C a to jak sumy průměrných hodnot tak i maximálních.

Nejdelší fenofáze trvala 32 dní a nejkratší 13 dní a průměrná délka fenofáze dubu letního je 20 dní. Průměrný termín začátku rašení dubu letního je 17. 4. (107. den) a průměrný termín plného olistění je 6. 5. (126. den). Nejčasnější termín začátku fenofáze nastal 31. 3. (90. den) v roce 1974 a nejpozdější v roce 1980 3. 5. (123. den).

Průměrný začátek fenofáze (rašení pupenů) se od roku 1961 posunul do dřívějšího data o 9,4 dne a průměrný konec fenofáze (plné olistění) se posunul o 10,0 dne (Obr. 1). Zaznamenaná průměrná teplota během fenofáze se v období 1961 – 2007 výrazně nemění, přesto při zvýšení teploty o 1°C se zkrátí délka fenofáze až o 2,5 dne (Tab. 1b).



Obr. 1: na levé ose jsou plnou šedou čarou vyznačeny začátky fenofází (začátek rašení pupenů), jejichž termín se od roku 1961 posunul do dřívějšího data o 9,4 dne; na stejné ose jsou vyznačeny plnou černou čarou konce fenofází (plné olistění), jejichž termín se od roku 1961 posunul do dřívějšího data o 10,0 dne. Na pravé ose je slabou čárkovanou čarou vyznačena hodnota průměrné teploty během konkrétních fenofází. Šípkami je označen rok 1974, kdy nastoupila fenofáze nejčasněji a rok 1980, kdy nastoupila fenofáze nejpozději.

Tab. 1a: hodnota r - korelačního koeficientu a p -hodnota hladiny významnosti

	T prům	T max	T min	S rad	Srážky	Délka dne
r	-0,91	-0,89	-0,81	-0,57	0,22	-0,24
p	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14	0,11

Tab. 1b: změny v délce fenofází při změnách klimatických veličin

	↑T prům o 1°C	↑T max o 1°C	↑T min o 1°C	↑S rad o 1MJ.m ⁻² . den ⁻¹
délka fenofáze	↓2,3 dny	↓1,8 dne	↓2,5 dne	↓1,5 dne

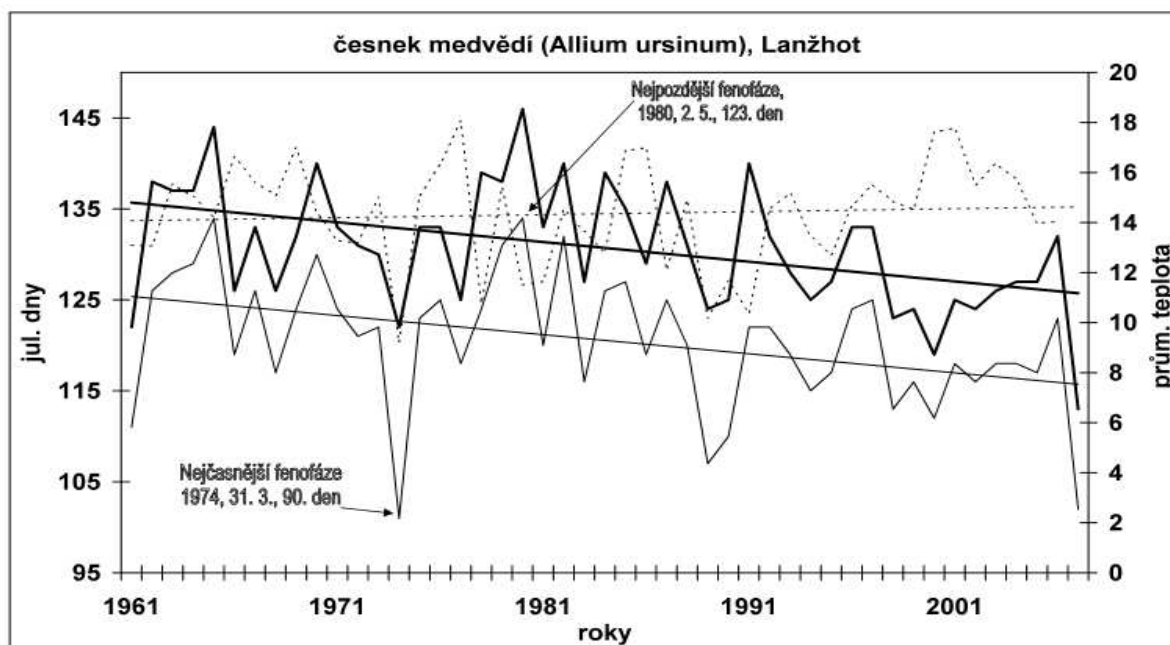
Česnek medvědí

Dle statistiky délku fenofáze kvetení česneku nejvíce ovlivňuje maximální ($r = -0,87$) a průměrná teplota ($r = -0,87$). Dále je statisticky významný vztah mezi délkou trvání fenofáze a minimální teplotou ($r = -0,7$) a rovněž solární radiací, i když v tomto případě není korelace tak těsná ($r = -0,68$) (Tab. 2a). Statisticky neprůkaznou korelaci můžeme dokázat u srážek a délky dne. Průměrné sumy maximálních a průměrných teplot nad 5°C opět dokazují úzkou vazbu s délkou fenofáze.

Nejdelší fenofáze trvala 22 dní a nejkratší 8 dní, průměrná délka trvání fenofáze je 11 dní. Průměrný začátek fenofáze je 1. 5. (121. den) a průměrný konec fenofáze je 11. 5. (131. den). Nejčasnější začátek fenofáze byl v roce 1974, 11. 4. (101. den) a nejpozdější 14. 5. (134. den) v roce 1980.

Krátké fenofáze se u česneku nevyskytují. Průměrná délka fenofáze se pohybuje v rozmezí 8 až 14 dní. Dlouhé fenofáze se pohybují v rozmezí 15 až 22 dní. Dlouhé fenofáze se vyskytují v 5 letech a normální fenofáze ve 42 letech.

Průměrný začátek fenofáze se od roku 1961 posunul do dřívějšího data o 9,6 dne (Obr. 2). A průměrný konec fenofáze se posunul do dřívějšího data o 9,9 dne. Při zvýšení teploty o 1°C se délka trvání fenofáze zkrátí až o 1,3 dne (Tab. 2b).



Obr. 2: na levé ose jsou plnou šedou čarou vyznačeny začátky fenofází (první květ), jejichž termín se od roku 1961 posunul do dřívějšího data o 9,6 dne; na stejné ose jsou vyznačeny plnou černou čarou konce fenofází (plné kvetení), jejichž termín se od roku 1961 posunul do dřívějšího data o 9,9 dne. Na pravé ose je slabou čárkovanou čarou vyznačena hodnota

průměrné teploty během konkrétních fenofází. Šípkami je označen rok 1974, kdy nastoupila fenofáze nejčasněji a rok 1980, kdy nastoupila fenofáze nejpozději.

Tab.2a: hodnota *r* - korelačního koeficientu a *p*-hodnota hladiny významnosti

	T prům	T max	T min	S rad	Srážky	Délka dne
r	-0,87	-0,87	-0,7	-0,68	0,24	-0,19
p	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,22

Tab. 2b: změny v délce fenofází při změnách klimatických veličin

	↑T prům o 1°C	↑T max o 1°C	↑T min o 1°C	↑S rad o 1MJ.m ⁻² . den ⁻¹
délka fenofáze	↓1,3 dne	↓1,0 dne	↓1,2 dne	↓0,8 dne

Krátké fenofáze dubu letního trvají 13 až 14 dní a vyskytovaly se v 8 letech za celé sledované období. Průměrná délka fenofáze trvá 15 až 25 dnů a takové fenofáze se vyskytovaly ve 31 letech. Dlouhá fenofáze trvá 26 až 32 dnů a tyto fenofáze se vyskytovaly v 8 letech. U česneku medvědího nebylo možné krátké fenofáze vyhodnotit, protože i ty nejkratší spadaly svojí délkou do průměrně dlouhých, přesto byly vybrány fenofáze s nejkratší délkou, aby bylo možné rozdíly porovnat. Průměrně dlouhé fenofáze se pohybují v rozmezí 8 až 14 dní. Dlouhé fenofáze se pohybují v rozmezí 15 až 22 dní. Dlouhé fenofáze se vyskytují v 5 letech a normální fenofáze ve 42 letech.

Hodnoty klimatických veličin během krátkých a dlouhých fenofází byly zprůměrovány a rozdíly jsou patrné v Tab. 3. Během nejkratších fenofází jsou teploty nadprůměrné. Průměrné hodnoty srážek jsou buď úplně nulové nebo jsou velmi nízké a v porovnání s lety, kdy fenofáze probíhaly déle jsou srážky nižší. Nejvíce se odlišují maximální teploty, jejichž hodnoty se v letech s krátkými a dlouhými fenofázemi liší až o 9°C. Roky s nadprůměrně dlouhými fenofázemi jsou typické nižšími teplotami, nižší solární radiací a vyšší průměrnou hodnotou srážek.

Tab. 3: Krátké a dlouhé fenofáze – průměrné hodnoty klimatických veličin ve vybraných letech

Rok	SRad	Tmax	Tmin	Tprům	Srážky
Quercus robur/dlouhé fenofáze	14,8	14,7	3,6	9,2	1,3
Allium ursinum/dlouhé fenofáze	14,4	15,5	5,4	10,5	2,0
Quercus robur/krátké fenofáze	17,6	22,1	8,5	15,3	0,8
Allium ursinum/krátké fenofáze	20,7	24,0	9,7	16,9	0,5

Pomocí modelu FenoClim byly získány průměrné a maximální sumy efektivních teplot potřebných k dosažení plného olistění dubu letního a plného kvetení česneku medvědího. Pro oba druhy byla zjištěna biologická nula, při níž je korelační koeficient

průměrné sumy efektivních teplot konkrétní biologické nuly a délky fenofáze nejvyšší. Tyto biologické nuly byly určeny pro průměrnou i maximální teplotu. Výsledné hodnoty jsou v Tab. 4.a a 4.b pro každý druh zvlášť.

Tab. 4a: Hodnoty sum efektivních teplot pro různé biologické nuly dubu letního; silně jsou vyznačeny hodnoty, kdy je korelační koeficient mezi sumou efektivních teplot a délkou fenofáze největší

Dub letní					
T AVG			T MAX		
biologická nula	r ²	DD	biologická nula	r ²	DD
0°C	0.8228	236.5°C	0°C	0.7882	355.9°C
0.8°C	0.8229	220.2°C	4.6°C	0.7883	262.3°C
5°C	0.8147	135.9°C	5°C	0.7882	254.2°C
10°C	0.7482	51.8°C	10°C	0.7774	154.8°C

Tab. 4b: Hodnoty sum efektivních teplot pro různé biologické nuly česneku medvědího; silně jsou vyznačeny hodnoty, kdy je korelační koeficient mezi sumou efektivních teplot a délkou fenofáze největší

Česnek medvědí					
T AVG			T MAX		
biologická nula	r ²	DD	biologická nula	r ²	DD
-0.7°C	0.7743	162.3°C	0°C	0.7773	222.1°C
0°C	0.7742	154.4°C	1.7°C	0.7775	203.1°C
5°C	0.7692	98.8°C	5°C	0.7768	166.3°C
10°C	0.6836	45.7°C	10°C	0.7677	110.8°C

PODROBNÝ POHLED NA VYBRANÉ ROKY 1974 A 1980

V roce 1974 probíhaly fenofáze výrazně déle a jejich začátek byl nejčasnější. Fenofáze se od průměrné délky lišila u dubu letního o 9 dní u česneku medvědího o 11 dní. Klimatické podmínky probíhající v období od rašení pupenů do plného olistění dubu letního odpovídají hodnotám sledovaným během dlouhých fenofází popsaných výše, tedy maximální, minimální i průměrné teploty mají v průběhu fenofází roku 1974 nízké hodnoty. Srážky jsou také nízké (průměrná hodnota je 0,2 mm). Období předcházející fenofázi je naopak výrazně teplé. Leden roku 1974 byl nadprůměrně teplý (jeden z nejteplejších za posledních 200 let). Během února proudil do střední Evropy teplý vzduch od jihu související s tlakovou níží nad Středomořím. Teploty nad tehdejšími územími Československa byly výrazně nad normálem. Měsíc březen byl mimořádně teplý a odchylka od měsíčního normálu činila místy až 5°C, při čemž srážky nad Moravou byly hluboce podprůměrné. V Praze byl, podle měření od roku 1775 a 1891, naměřen nejteplejší první jarní den. V měsíci dubnu probíhala sledovaná fenofáze dubu letního. Dle Synoptického přehledu počasí měla cirkulace nad severní polokoulí většinou meridionální (poledníkový) ráz počasí. Meridionální cirkulace byla vyvolána činností

anticyklon na severu, jejichž středy se udržovaly do 12. 4. nad Fenoskandií. Po jejich zadním okraji proudil do střední Evropy nejdříve teplý vzduch od jihu a důsledkem byly vysoké nadnormální teploty a počasí s malou oblačností. Po 13. 4. se přesunuly středy řídících anticyklon nad Skotsko (nad Severní moře) a tento vývoj byl doprovázen ve střední Evropě zhoršením počasí ve formě ochlazení a srážek (Synoptický přehled počasí, 1974).

Z výše uvedených dat je zřejmé, že nadprůměrně teplé první měsíce roku zapříčinily velmi brzký začátek fenofáze a její následné dlouhé trvání způsobilo ochlazení během měsíce dubna, kdy byly teploty od 13. 4. podprůměrné. Tím se vývoj zpomalil, případně zastavil a dokončení fenofáze se protáhlo do pozdější doby.

Rok 1980 je významný termínem začátku a konce fenofáze a to nejpozdějším začátkem i koncem fenofáze. Samotná délka fenofáze nemá významně odlišnou délku a patří do normálu, bude proto spíše důležité podívat se na průběh meteorologických událostí před začátkem fenofáze. U dubu letního začala fenofáze 2. 5. (123. den) a skončila 24. 5. (145. den), průměrný termín začátku a konce fenofáze je 17. 4. (107. den) a 6. 5. (126. den). Hodnoty klimatických veličin se v průběhu fenofáze dubu letního nijak výrazně neodlišují od normálu. Průměrné, maximální i minimální teploty byly mírně podprůměrné a průměrné hodnoty srážek se pohybovaly v normálu. Leden 1980 vykazuje téměř v celé Evropě podnormální teploty. Situace v tehdejší Československu odpovídala situaci nad celou Evropou. Leden 1980 byl teplotně podnormální s největší odchylkou $-3,5^{\circ}\text{C}$ a srážkově velmi různorodý. V únoru 1980 probíhala na severní polokouli většinou meridionální cirkulace. Oblast ČSSR byla teplotně nadprůměrná a v měsíčních srážkových úhrnech byly velké rozdíly. V březnu byla téměř celá Evropa (i území ČSSR) teplotně podnormální. Srážky byly na celém území rozdílné, ale spíše podnormální. Dubnová cirkulace na severní polokouli měla převážně meridionální charakter. Převažující cyklonalita se ve střední Evropě projevila vysokými měsíčními srážkovými úhrny. Nad 200% měsíčního normálu vykazují některé stanice v Bavorsku, tehdejší NDR, Rakousku a také v ČSSR. Meridionální cirkulaci odpovídají i teplotní poměry, kdy se ve střední a jižní Evropě projevily opakované vpády studeného vzduchu od severu. Jako celek byl tedy duben v ČSSR teplotně podnormální s výjimkou krátkého anticyklonálního období uprostřed měsíce. V květnu 1980 probíhala námi sledovaná fenofáze. Květen 1980 je v Evropě charakteristický častými výraznými vpády studeného arktického vzduchu ze severu a severovýchodu se sněžením na horách a byl téměř v celé Evropě teplotně podnormální. Nad střední Evropou a tedy i nad územím ČSSR, se střídala cyklonální cirkulace s anticyklonální a množství srážek bylo velmi rozdílné. Výrazně studené a suché bylo v ČSSR třetí (11. – 16. 5.) a páté (22. – 26. 5.) synoptické období s nočními mrazy. Celkově byl květen teplotně i srážkově podnormální (Synoptický přehled počasí, 1980).

Fenologická fáze se začala rozvíjet výrazně pozdě právě díky teplotám během měsíce dubna a května, kdy teploty dosahovaly nízkých hodnot a ještě během měsíce května se objevovaly noční mrazy, které rozvoj vegetace zpomalily a odsunuly na pozdější datum.

DISKUZE

Vývoj jarních druhů je nejvíce ovlivňován vysokými teplotami, které urychlují vývoj a zkracují fenofáze. Minimální teploty, které zaznamenáváme v ranních hodinách délky fenofází také ovlivňují a mohou vývoj druhů zpomalovat, ale pokud je v odpoledních hodinách dosaženo vysokých maximálních teplot tak jsou fenofáze ovlivněny právě těmito teplotami. Srážky nepovažujeme za určující veličinu, protože v jarních měsících jsou lužní lesy dostatečně zásobovány vodou a nejsou odkázány na zásobu vody ze srážek. Buermann et. al. (2003) uvádí, že srážky nemohou být brány jako hlavní či určující faktor ve vývoji jarních druhů rostlin na severní polokouli. Množství srážek a dostatečná vlhkost je určující spíše pro oblasti aridní a semi-aridní, kde jsou vodní zdroje limitovány (Peñuelas et. al., 2004).

Délka dne koresponduje s průběhem, délkou a načasováním fenofází. Čím dříve fenofáze nastupuje tím kratší je délka dne a naopak. Délka dne ale není dle statistiky určující pro průběh fenofáze. Heide (1993), Kramer (1994) a Falusi and Calamassi (1996) uvádí, že vliv fotoperiody je ve fenologii stromů rozporný a závisí na druzích stromů a jejich poloze. Naopak Körner (2007) uvádí, že fenofáze mohou být také ovlivňovány fotoperiodou, to se však v našem případě u sledovaných fenofází nepotvrdilo.

Při vyšších teplotách probíhají fenofáze rychleji, jsou krátké a také jejich nástup je dřívější. Po vpádu chladného vzduchu se vývoj zpomalí případně zastaví a fenofáze probíhá déle. Délky fenofází jsou v jednotlivých letech různé a rozdíly v jejich délce jsou mnohdy značné (viz. kapitola Výsledky). Vývoj a průběh fenofází je tedy silně dynamický a variabilní proces, který probíhá s ohledem na abiotické činitele.

Teplota je považována za hlavního činitele ovlivňujícího nástupy fenofází (Schwarz, 2003). Téměř všechny fenofáze jsou v úzkém vztahu s jarními teplotami v měsících předcházejících sledované fenofázi (Sparks and Carey, 1995; Sparks et. al. 2000; Abu-Asab et. al. 2001; Chmielewski and Rötzer 2001, 2002; Menzel 2003). Spojitost mezi jarními fázemi a teplotou vzduchu je také považována za základ pro fenologické jarní ukazatele kvetení a rozvoje pupenů, které jsou nejčastěji používány pro znázornění fenologických změn (Beaubien and Freeland 2000; Schwartz and Reiter 2000; Schwartz and Chen 2002). Körner (2006) uvádí, že růst organismů je úzce svázán s aktuálními teplotními podmínkami, které napomáhají metabolickým procesům. Mezisezónní variabilita teplot (stejně tak jako vlhkostní variabilita) má nepřímý vliv a může zkracovat či prodlužovat období, během kterého je rostlina schopna růstu. Teplota je tedy hlavní faktor, který řídí rychlost vývoje rostlin, ale jednotlivé vývojové fáze (jako například rašení pupenů, kvetení nebo opad listů) mohou být také ovlivňovány fotoperiodou. Obecně se jedná o rychlost, za kterou je rostlina a její orgány schopny projít svými vývojovými fázemi, které závisí na teplotě (Körner, 2007). Konkrétní hodnoty rozdílnosti délky fenofáze uvádí A. Zlatník (Zlatník, 1978) na základě pozorování v Giessenu, v Německu. Zde se podle třicetiletých pozorování délky fenofáze rozvoje listů u běžných dřevin liší díky klimatickým podmínkám o čtyři týdny, konkrétně u buku až o pět týdnů. Wheeler et.al. (1996) uvádí ve své práci, že

délka fenofáze, kdy se klasy plní obilím je určována hlavně teplotou a je kratší v podmínkách s vyššími teplotami.

Larcher (2003) uvádí, že pro vývoj rostliny je nezbytný adekvátní přísun teplot. Každý životně důležitý proces je nastavený na jistý teplotní rozsah. Teplota má podle něj nepřímý vliv na růst a průběh vývoje v důsledku jeho kvantitativních nároků na energii z metabolismu a biosyntézy a přímý vliv skrze regulátory vývoje jako jsou termoindukce, termoperiodicita a termomorfismus.

Nástupy fenofází přicházejí na námi sledovaných lokalitách dříve v teplých letech. Při sledování posunu fenofází do dřívějšího data o devět až deset dní za sledované období, můžeme konstatovat, že od roku 1961 se klima vyvíjí a přicházejí roky s teplejšími jarními obdobími. V mnoha odborných publikacích byl popsán dřívější nástup fenologických fází v závislosti na teplotě. Posun v jarních vývojových fázích byl zdokumentován pro mořské, sladkovodní a suchozemské organismy po celém světě i v oceánech (Parmesan, 2006; IPCC, 2007). Během posledních několika let byly změny v načasování jarních fenofází a jejich posuny do dřívějšího data pozorovány také v Evropě (Menzel and Fabian, 1999; Menzel and Estrella, 2001; Sparks and Menzel, 2002; Menzel et al., 2006), v Severní Americe (Beaubien and Freeland, 2000), v Koreji (Ho et al., 2006) a také v Číně (Chen et al., 2005).

ZÁVĚR

Výsledky námi získané ukazují, že veličiny, které ovlivňují průběhy a délky fenofází nejsilněji jsou maximální a průměrná teplota. Další klimatické veličiny, jako minimální teplota a solární radiace jsou statisticky významné, ale nedosahují takových korelačních koeficientů, jako maximální a průměrná teplota. Délka dne a srážky nejsou v tomto případě statisticky významné. Teplotu můžeme považovat za jeden z hlavních řídicích faktorů, který ovlivňuje nástup a délku trvání fenofází.

Začátky a konce fenofází (rašení pupenů a plné olistění) dubu letního se od roku 1961 posunuly do dřívějšího data až o 10,0 dne a začátky a konce fenofáze (první květ a plné kvetení) se v průběhu 47 let posunuly až o 9,9 dne.

LITERATURA

Ahas, R.; Aasa, A.; Menzel, A., et al., Changes in European spring phenology, *International journal of climatology* 22, 1727 – 1738, 2002

Abu-Asab M. S., P. M. Peterson, S. G. Shelton, S. S. Orli, Earlier plant flowering in spring as a response to global warming in the Washington, DC, area, *Biodiversity and Conservation*, 10, 597-612, 2001.

Beaubien E. G., H. J. Freeland, Spring phenology trends in Alberta, Canada: links to ocean temperature, *Int. J. Biometeorol.*, 44, 53-59, 2000.

- Bernier, G., The control of floral evocation and morphogenesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 39, 175–219, 1988.
- Buermann, W; Anderson, B; Tucker, CJ, et al., Interannual covariability in Northern Hemisphere air temperatures and greenness associated with El Nino-Southern Oscillation and the Arctic Oscillation, *Journal of geophysical research-atmospheres*, 108, 4396, 2003
- Cleland et. al., Shifting plant phenology in response to global change. *Trends in Ecology and Evolution*, Vol. 22 No. 7, 357 – 365, 2007.
- Falusi, M., and R. Calamassi, Geographic variation and bud dormancy in beech seedlings (*Fagus sylvatica* L), *Ann. Sci. For.*, 53, 967-979, 1996.
- Fitter, A.H., Fitter, R.S.R., Rapid changes in flowering time in British plants. *Science* 296, 1689–1691, 2002.
- Heide, O. M., Dormancy release in beech buds (*Fagus sylvatica*) requires both chilling and long days, *Physio. Plant.*, 89, 187-191, 1993.
- Chen, C., G. Jackson, K. Neill, D. Wichman, G. Johnson, and D. Johnson., Determining the feasibility of early seeding canola in the Northern Great Plains. *Agron. J.* 97:1252–1262, 2005.
- Chmielewski F. M., T. Rötzer, Response of tree phenology to climate changes across Europe, *Agricult. Forest Meteorol.*, 108, 101-112, 2001.
- Chmielewski F. M., T. Rötzer, Annual and spatial variability of the beginning of growing season in Europe in relation to air temperature changes, *Clim. Res.*, 19, 257-264, 2002.
- Chmielewski, F.-M., Müller, A., Bruns, E., Climate changes and trends in phenology of fruit trees and field crops in Germany, 1961–2000. *Agric. Forest Meteorol.* 121, 69–78, 2004.
- Intergovernmental panel on climate change (IPCC), The IPCC 4th Assessment Report, <http://www.ipcc.ch/>, 2007.
- Kramer, K., Selecting a model to predict the onset of growth of *Fagus sylvatica*., *J. Appl. Ecol.*, 31, 172-181, 1994.
- Larcher, W., *Physiological Plant Ecology, Ecophysiology and Stress Physiology of Functional Groups*, 4th Edition, Springer, 2003.
- Linderholm H.W., Growing season changes in the last century, *Agricultural and Forest Meteorology*, 137, 1-14, 2006.
- Menzel, A; Fabian, P, Growing season extended in Europe, *Nature*, 397, 659-659, 1999.
- Menzel, A; Estrella, N; Fabian, P, Spatial and temporal variability of the phenological seasons in Germany from 1951 to 1996, *Global Change Biology*, 7, 657-666, 2001.
- Menzel, A., Phenology, its importance to the Global Change Community Editorial Comment. *Climatic Change* 54, 379–385, 2002.
- Menzel, A., Phenology: Its importance to the global change community, *Clim. Change*, 54, 379– 385, 2003.
- Menzel A., Plant phenological anomalies in Germany and their relation to air temperature and NAO, *Climatic Change*, 57, 243-263, 2003.

- Menzel, A; Sparks, TH; Estrella, N, et al., European phenological response to climate change matches the warming pattern, *Global Change Biology*, 12, 1969-1976, 2006.
- Parmesan, C., Ecological and evolutionary responses to recent climate change, *Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 37, 637– 669, 2006.
- Partanen, J. et al., Effects of photoperiod and temperature on the timing of bud burst in Norway spruce (*Picea abies*). *Tree Physiol.* 18, 811–816, 1998.
- Peñuelas, J., I. Filella, and P. Comas, Changed plant and animal life cycles from 1952 to 2000 in the mediterranean region. *Globl Change Biol.*, 8, 532-544, 2002.
- Penuelas, J; Gordon, C; Llorens, L, et al., Nonintrusive field experiments show different plant responses to warming and drought among sites, seasons, and species in a north-south European gradient, *Ecosystems*, 7, 598-612, 2004.
- Schwartz M. D., B. E. Reiter, Changes in North American Spring, *Int. J. Climatology*, 80(8), 929 – 932, 2000.
- Schwartz M. D., X. Chen, Examining the onset of spring in China, *Clim. Res.*, 21, 157-164, 2002.
- Schwartz, M.D. Phenoclimatic measures. In *Phenology: An Integrative Environmental Science* (Schwartz, M.D., ed.), pp. 331 – 343, Kluwer, 2003.
- Spano, D., Cesaraccio, C., Duce, P., Snyder, R.L., Phenological stages of natural species and their use as climate indicators. *Int. J. Biometeorol.* 42, 124–133, 1999.
- Sparks T. H., and P.D. Carey, The responses of species to climate over two centuries: an analysis of the Marsham phenological record, *J. Ecology*, 83, 321-329, 1995.
- Sparks, T.H., Menzel, A., Observed changes in seasons: An overview, *International Journal of Climatology*, 22, 1715-1725, 2002.
- Štěpánek, P., ProClimDB – software for processing climatological datasets. CHMI, regional office Brno . <http://www.climahom.eu/ProcData.html>, 2007.
- Synoptický přehled počasí 1974, 1980. Příloha k “Dennímu přehledu počasí”, Hydrometeorologický ústav v Praze
- Wheeler, T.R., Batts, G.R., Ellis, R.H., Hadley, P. and Morison, J.I.L., Growth and yield of winter wheat (*Triticum aestivum*) crops in response to CO₂ and temperature, *J. Agric. Sci.* 127, 37–48, 1996.
- Wielgolaski, F.-E., Starting dates and basic temperatures in phenological observation of plants. *Int. J. Biometeorol.* 42, 158–168, 1999.
- Zlatník, A., *Lesnická fytoecologie*, Státní zemědělské nakladatelství, 1. vydání, Praha, 1978

INFLUENCE OF MAIZE CROP'S CONCENTRATION TO BIOGAS PRODUCTION

VLIV HUSTOTY POROSTU KUKUŘICE NA PRODUKCI BIOPLYNU

Čandová D., Pulkrábek J.

Department of Crop Production, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 - Suchbøl, Czech Republic

E-mail:candova@af.czu.cz, pulkrabek@af.czu.cz

ABSTRACT

Maize hybrids Benicia (FAO 300) and Saxxo (FAO 400) are compared in two seeding amount and in this report. These hybrids are both recommended for biogas production. The aim of this experiment is to learn yield of green biomass per 1 ha, yield of dry matter per 1 ha, biogas production per a day and biogas production per 1 ha. Field trial is held in Research station in Červený Újezd close to Prague. Maize biomass fermentation takes place in Research Institute of Agricultural Engineering in Prague. Pork slurry and medium from biogas station in Kněžice are used to inoculation. Variant Benicia 110 has higher yield of green biomass per 1 ha – 78,7 t, higher yield of dry matter per 1 ha - 30,5 t, higher production of biogas per 1 ha – 7576,2 m³ than variant Benicia 80. Variant Saxxo 90 has higher yield of green biomass per 1 ha – 69,8 t, higher yield of dry matter per 1 ha – 23,7 t, higher production of biogas per 1 ha – 8472,8 m³ than variant Saxxo 70. On base of this experiment is possible to say, that for biogass production is better to use higher seeding amount.

Key words: maize, biomas, slurry, yield, production

ÚVOD

Biomasa se za posledních několik let dostává, a to nejen u nás, ale i v celoevropském kontextu, z úrovně zajímavého alternativního paliva, do úrovně alternativního zdroje energie pro všechny typy uživatelů. Biomasa je v dlouhodobém horizontu pro Českou republiku nejperspektivnější z obnovitelných zdrojů pro výrobu elektřiny i tepla (HAVLÍČKOVÁ, SUCHÝ, WEGER, 2007).

Podle Evropské unie bude hlavní roli při substituci fosilních paliv hrát biomasa, i když při získávání energie z biomasy převažují termické konvenční procesy, začíná se stále více uplatňovat anaerobní digesce nedřevní fytomasy. Tento proces zabezpečuje bioplyn pro výrobu tepla a elektrické energie při zachování rostlinných živin, zejména dusíku a části přeměněné organické hmoty pro zúrodnování půdy (VÁŇA, SLEJŠKA 2002).

Anaerobní metanová fermentace organických materiálů – metalizace – je souborem procesů, při nichž směsná kultura mikroorganismů postupně rozkládá biologicky rozložitelnou organickou hmotu bez přístupu vzduchu. Konečnými produkty jsou vzniklá biomasa, plyny (CH_4 , CO_2 , H_2 , N_2 , H_2S) a nerozložený zbytek organické hmoty, který je již z hlediska hygienického a senzorického nezávadný pro prostředí, tj. je již stabilizován (DOHÁNYOS, 2007).

Kukuřice skýtá vysoký energetický potenciál, a to přibližně 324 000 MJ/ha. V porovnání s obilovinami, které produkují asi 216 000 MJ/ha, je energetický přínos kukuřice jednoznačný. Tato skutečnost je předpokladem k dobrému zhodnocení biomasy celých rostlin na výrobu energie (LEŠTINA, CEPÁK, KAJAN 2006). Z čerstvé kukuřičné hmoty (resp. z kg organické sušiny) lze získat 750 l bioplynu při držení ve fermentoru po dobu 20 dnů. Z kukuřičné siláže lze za stejnou dobu, tedy rovněž 20 dnů, získat 557 l bioplynu (PASTOREK, KÁRA, JEVIČ, 2004).

V programech šlechtitelských firem je dnes „energetická kukuřice“, cílem je vyšlechtění hybridu s výnosovým potenciálem, který se bude blížit ke 30 t suché hmoty z 1 ha (DIVIŠ, 2008). U těchto hybridů se šlechtitelé zaměřili na určité specifické vlastnosti, zejména na stabilitu výnosu, odolnost vůči chladu v období vzcházení, toleranci k suchu, odolnost vůči houbovým chorobám. Pokud hovoříme o poslední jmenované vlastnosti, jde o to, že pokud chceme co nejvyšší produkci metanu, nesmí hmota obsahovat větší množství toxinů a plísni. Je tedy naprosto mylné se domnívat, že do bioplynové stanice můžeme dát kukuřičnou siláž podřadné kvality.

MATERIÁL A METODIKA

Pokus byl založen 24.4.2007 na pozemcích Výzkumné stanice v Červeném Újezdě, okr. Praha – západ. Výzkumná stanice se rozkládá na $50^{\circ}04$ severní šířky a $14^{\circ}10$ východní délky. Průměrná nadmořská výška dosahuje 405m nad mořem. Zájmové území je součástí Bělohorské plošiny. Pozemek je zařazen do řepařské výrobní oblasti. Pokusné pozemky výzkumné stanice jsou situovány na východní straně katastru obce. Na sprašovém substrátu se tvoří převážně hnědozem, méně hnědozemě ilimerizované, černozemě ilimerizované a hnědozemě slabě oglejené. Hloubka ornice je 28-40 cm. Půda má mírný obsah humusu,

půdní reakce je neutrální, koloidní komplex je plně nasycen. Červený Újezd spadá do oblasti mírně teplé, klimatického okrsku mírně suchého. Průměrná roční teplota činí 7,7 °C, průměrná teplota za vegetační období (IV.-IX.) je 13,8 °C. Roční úhrn srážek činí v této oblasti 507 mm a průměrný vegetační úhrn srážek je 333mm. Nejbohatší srážky jsou v červenci, nejchudší v lednu a únoru. Vegetační období v této oblasti trvá od 1. dubna do 30. září.

Do pokusu byl zařazen kukuřičný hybrid Benicia od firmy Pioneer a hybrid Saxxo od firmy RAGT. Oba hybridy jsou speciálně vyšlechtěny a doporučovány firmou k energetickým účelům, tj. k produkci bioplynu. Pokusné varianty byly čtyři (dle výsevku), každá měla čtyři opakování. Velikost pokusné parcely byla 30 m². Předplodinou byl jarní ječmen, hloubka setí 5 cm, čtyři výsevky. U každého hybridu byl použit výsevek doporučený firmou Benicia 80 000 zrn/ha, Saxxo 70 000 zrn/ha a výsevek navýšený Benicia 110 000 zrn/ha, Saxxo 90 000 zrn/ha. Před setím, 22.4.2007, byl na všech pokusných parcelách aplikován plošně amofos v dávce 100 kg/ha (12 kg N/ha). Celková dávka dusíku byla 129 kg/ha. Přihnojení proběhlo ve fázi 6 ti listů 31.5.2007 hnojivem DAM 390 v dávce 300 l/ha. Tři dny po zasetí byl na pozemku aplikován přípravek Click 500 SC v dávce 1,5 l/ha a Trophy v dávce 2,0 l/ha. Porost kukuřice začal vzcházet 10 dnů po zasetí 4.5.2007. Sklizeň proběhla 25.9.2007. Vypěstovaná biomasa z tohoto pokusu byla využita k anaerobní fermentaci, která probíhala ve VÚZT v Praze Ruzyni.

Laboratorní pokus byl založen 27.9.2007 v pěti variantách, přehled variant uvádí tabulka 1. Doba zdržení ve fermentoru byla 29 dní. Nejprve byl odebrán rostlinný materiál na pokusných parcelkách na Výzkumné stanici v Červeném Újezdě. Z jedné pokusné varianty, z každého opakování bylo odebráno 5 rostlin. Z celých rostlin kukuřice jsme pomocí drtiče vytvořili řezanku o velikosti cca 1,5 cm, tím byl připraven směsný vzorek. Tento vzorek jsme použili k fermentaci. Jako inokulant byla použita kejda a fugát z BPS Kněžice.

Do jednotlivých fermentorů byly připraveny 2 kg směsi, která byla tvořena určitým podílem kukuřice, kejdy a fugátu viz. tab. 2. Podmínkou bylo, aby sušina vkládané směsi byla 8 %, v případě, že byla vyšší dolévala se voda, k tomu bylo nutné znát sušinu jednotlivých složek, dále bylo sledováno pH jednotlivých složek a celkové směsi, viz.tab. 3. Skleněné fermentory byly hermeticky uzavřeny a vloženy do lázně o teplotě 40 °C. V průběhu fermentace bylo denně sledováno množství vyprodukovaného bioplynu (ml) a následně byla zjištěna kumulativní produkce bioplynu za 29 dní.

Tab. 1: Přehled pokusných variant

Varianta	
1	60 % Benica 80 + 20 % kejda + 20 % fugát
2	60 % Benica 110 + 20 % kejda + 20 % fugát
3	60 % Saxxo 70 +20 % kejda + 20 % fugát
4	60 % Saxxo 90 +20 % kejda + 20 % fugát
5	50 % kejda + 50 % fugát (kontrola)

Tab. 2: Parametry vkládaných substrátů a směsí

Varianta	Sušina (%)	pH
	(27.9.2007)	
Benicia 80	36,6	6,5
Benicia 110	38,8	6,5
Saxxo 70	32,2	6,5
Saxxo 90	34,0	6,5
Fugát	5,4	8,8
Kejda	6,7	8,2
Směs Benicia 80	8,0	8,0
Směs Benicia 110	7,8	7,9
Směs Saxxo 70	7,9	7,5
Směs Saxxo 90	8,0	7,8
Směs fugát kejda - kontrola	6,5	7,9

VÝSLEDKY A DISKUZE

Nejvyšší hodnoty produkce bioplynu byly naměřeny u varianty Benicia 110. Tato varianta vyprodukovala nejvíce bioplynu 25. den - 2500 ml. U varianty Benicia 80 byla nejvyšší denní produkce bioplynu 1650 ml, a to rovněž 25. den fermentace, viz. graf 1.

Varianta Saxxo 70 dosáhla nejvyšší denní produkce bioplynu 22. den fermentace – 3200 ml. U varianty Saxxo 90 byla naměřena nejvyšší denní produkce bioplynu 19. den fermentace – 3500 ml, viz graf 2.

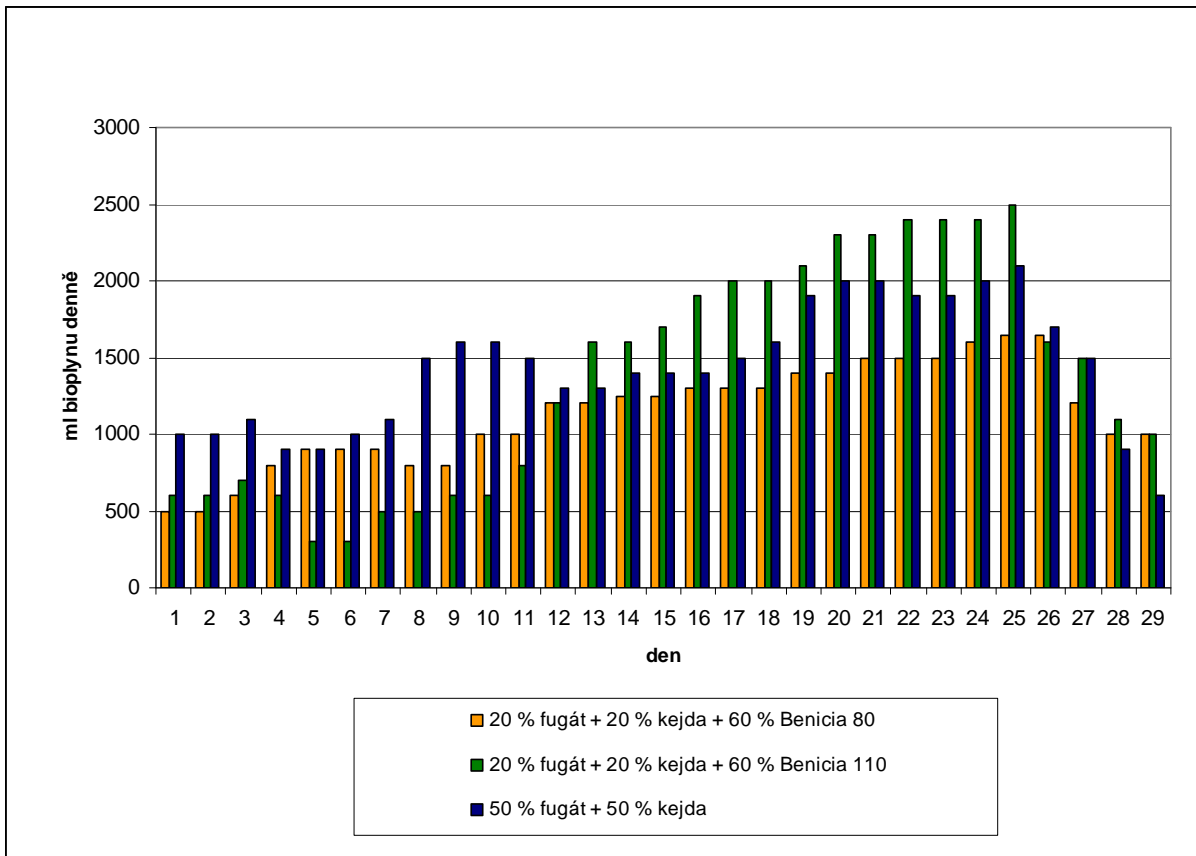
U kontrolní varianty byla denní produkce bioplynu oproti zbylým variantám vyšší. Kontrolní varianta dosáhla nejvyšší denní produkce bioplynu – 25. den fermentace – 2100 ml, viz graf 1 a 2.

Tabulka 3 uvádí kumulativní produkci bioplynu přepočtenou na 1 kg sušiny. Varianta Benicia 110 vyprodukovala za 29 dní 248,4 l bioplynu na 1 kg sušiny. To je o 43,8 l bioplynu více než u varianty Benicia 80. U varianty Saxxo 90 byla kumulativní produkce bioplynu 357,5 l.kg⁻¹ sušiny. U varianty Saxxo 70 byla kumulativní produkce bioplynu 288,6 l.kg⁻¹ sušiny.

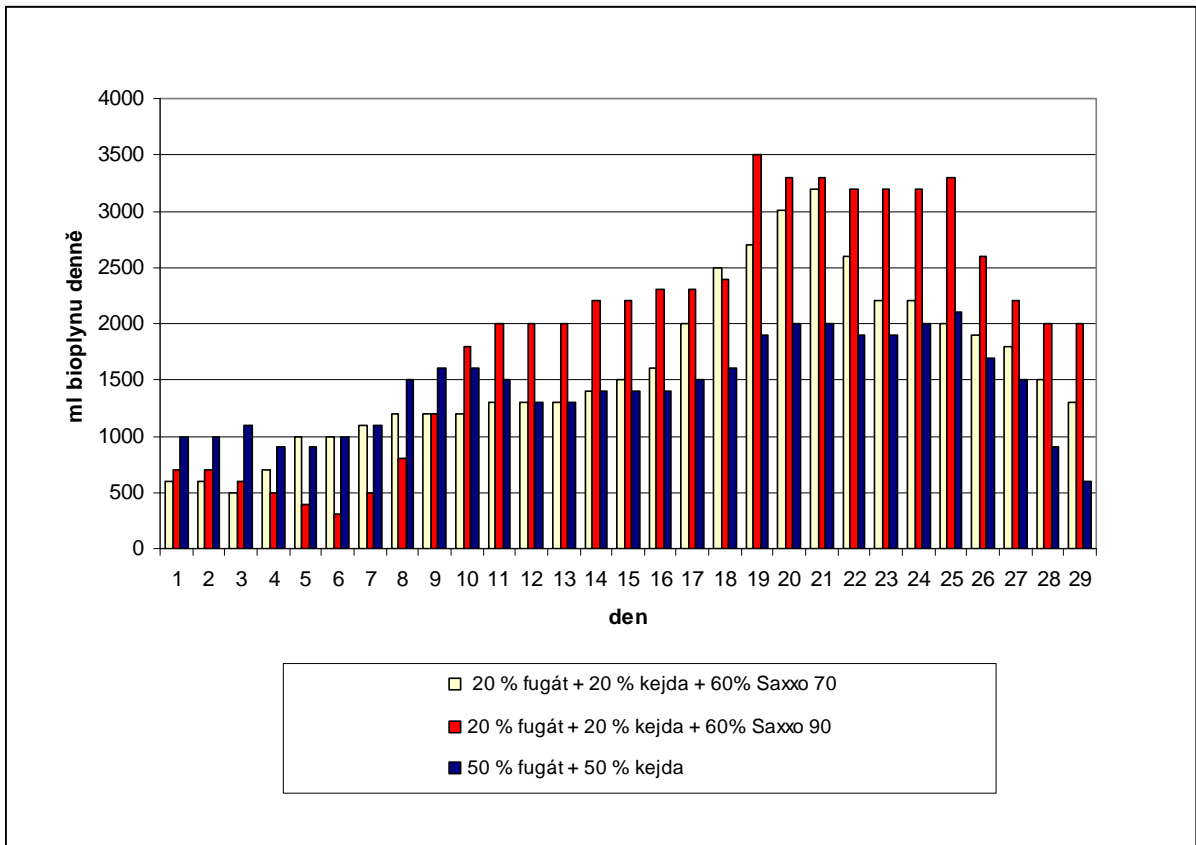
U varianty Benicia 110 byl výnos čerstvé biomasy 78,7 t.ha⁻¹, to je o 19,2 t.ha⁻¹ více než u varianty Benicia 80. Výnos suché hmoty z jednoho hektaru byl u varianty Benicia 110 30,5 t. U varianty Benicia 80 byl výnos suché hmoty z jednoho hektaru, oproti variantě Benicia 110, o 664,9 t nižší. Produkce bioplynu byla u varianty Benicia 110 o 3115,9 m³. ha⁻¹ vyšší než u varianty Benicia 80, viz tabulka 4.

Výnos čerstvé hmoty z jednoho hektaru byl u varianty Saxxo 90 o 8,7 tuny vyšší než u varianty Saxxo 70. U varianty Saxxo 90 bylo dosaženo o 3,9 t.ha⁻¹ suché hmoty více než u varianty Saxxo 70. Produkce bioplynu z jednoho hektaru byla u varianty Saxxo 90 o 2758,5 m³ vyšší než u varianty Saxxo 70, viz tabulka 4.

Graf 1: Denní produkce bioplynu u hybridu Benicia při výsevku 80 a 110 tisíc rostlin na 1 ha



Graf 2: Denní produkce bioplynu u hybridu Saxxo při výsevku 70 a 90 tisíc rostlin na 1 ha



Tab.3: Kumulativní produkce bioplynu přepočtená na 1 kg sušiny (l)

Varianta	l bioplynu na 1 kg sušiny
Benicia 80	204,6
Benicia 110	248,4
Saxxo 70	288,6
Saxxo 90	357,5
Fugát + kejda (kontrola)	350,2

Tab. 4: Výnos čerstvé biomasy, sušiny a bioplynu z 1 ha u varianty Benicia 80, Benicia 110, Saxxo 70 a Saxxo 90

	Sušina (%)	Výnos biomasy (t.ha ⁻¹)	Výnos sušiny (t.ha ⁻¹)	Produkce bioplynu (m ³ .ha ⁻¹)
Benicia 80	36,6	59,5	21,8	4460,3
Benicia 110	38,8	78,7	30,5	7576,2
Saxxo 70	32,2	61,1	19,8	5714,3
Saxxo 90	34,0	69,8	23,7	8472,8

ZÁVĚR

Při hodnocení výsledků pokusu bylo zjištěno, že u varianty Benicia 110, v porovnání s variantou Benicia 80, bylo dosaženo vyššího výnosu čerstvé biomasy – 78,7 t.ha⁻¹, vyššího výnosu suché hmoty z jednoho hektaru 30,5 t a vyšší produkce bioplynu 7576,2 m³. ha⁻¹. U varianty Saxxo 90, v porovnání s variantou Saxxo 70, byl zjištěn vyšší výnos čerstvé biomasy - 69,8 t.ha⁻¹, vyšší výnos suché hmoty z jednoho hektaru – 23,7 t a vyšší produkce bioplynu – 8472,8 m³. ha⁻¹

Na základě získaných výsledků lze konstatovat, že pro sklizeň kukuřičné biomasy určené k výrobě bioplynu se jako nejvhodnější z daných výsevků projevil u obou hybridů výsevů navýšený.

LITERATURA

DIVÍŠ, J., (2008): Kukuřičná siláž nosná surovina pro bioplynové stanice In: Sborník konference – Výstavba a provoz bioplynových stanic, Třeboň 9. – 10. října 2008: 75 -78.

DOHÁNYOS, M., (2007): Teoretické základy anaerobní fermentace In: Sborník konference – Výstavba a provoz bioplynových stanic, Třeboň 25. 26. října 2007: 23 -31.

HAVLÍČKOVÁ, K., SUCHÝ, J., WEGER, J., (2007): Potenciál biomasy v modelování území In: Sborník konference – Výstavba a provoz bioplynových stanic, Třeboň 25. 26. října 2007: 151 – 157.

LEŠTINA, J., CEPÁK V., KAJAN M., (2006): Fytomasa – energetický zdroj pro bioplynové stanice In: Sborník konference – Výstavba a provoz bioplynových stanic, Třeboň 19. – 20. října 2006: 109 – 115.

PASTOREK, Z.- KÁRA, J.-JEVIČ, P. (2004): Biomasa obnovitelný zdroj energie. FCC PUBLIC, 2004: 180

VÁŇA, J., SLEJŠKA, A. (2002): Bioplyn z fytomasy In: Sborník konference – Možnosti výroby a využití bioplynu v České republice, Třeboň 10. - 11. října 2002: 59-61

THE COMPARISON OF SEVERAL SOIL CULTIVATION METHODS IN THE TOKAJ-WINE REGION

SROVNÁNÍ NĚKOLIKA PŮDNÍCH KULTIVAČNÍCH METOD VE VINAŘSKÉM REGIONU TOKAJ

Göblyös J.

Department of Viticulture, Faculty of Horticultural Sciences, Corvinus University of Budapest,
Villányi str. 29-43, H-1118 Budapest, Hungary

E-mail: judit.goblyos@uni-corvinus.hu

ABSTRACT

Our results show that the different cultivation methods have higher effect on the yield than on the grape quality. The several cultivation methods have effect on the nitrate +nitrite content and the compaction of the soil. The mechanical cultivation helps to decompose the organic matters in the soil, but in some cases the nutrients infiltrate in the deeper layers and became unavailable to the grapes. This cultivation method causes soil compaction only in the subsoil. In this point of view, the straw mulch proved to be the best solution, but the results indicate, that it has to be renewed regularly. In 2008 the straw mulch proved to be the best solution regarding the yield. As it appears from the results, the soil cultivation method has an effect also on the temperature and relative humidity in the foliage, influencing the ratio of noble rotted berries.

Key words: straw mulch, barely cover crop, erosion, soil compaction, noble rot

INTRODUCTION

Soil cultivation is one of the most important questions of the agriculture. It has an effect not only on the soil, but indirectly on the plants as well. Therefore it is really relevant to choose the proper cultivation method. Also in case of integrated farming is advanced to apply these environment friendly methods. In case of vineyards is the soil cultivation also important, especially when the plantation is located in steep slopes. Such kind of erosion, which can be caused by heavy rainfalls or also by frequent mechanical soil cultivation, is a major problem. So soil cultivation method has to be chosen considering this.

LITERARY SURVEY

A suitable soil cultivation method improves the soil structure: compaction, erosion, nutrient losses can be reduced. It makes better conditions in the soil environment for the existing soil organisms, as follows it increases soil biological activity and the organic matter content of the soil can be preserved. The moisture content of the soil depends also on the cultivation method. The preservation of soil moisture is especially important, in that kind of areas where the precipitation is less than 500 mm / year and principally from June to August, when the evapotranspiration is greater than the precipitation, like in Hungary (Bauer et al., 2004). The growth of the roots is influenced by the structure of the soil; hereby the growth of the grape is related to the compaction and to the moisture content of the soil, too. The looser the soil is the longer the roots of the vine are (Wheaton et al., 2007). Nutrient uptake of the grape is affected by the soil compaction, the moisture content and the soil temperature. For example between the high soil temperature and N, K, Ca, Mg uptake is a positive correlation (Bogoni et al., 1995). Several abnormal circumstances in the soil, for example lack of water can cause stress on the plants, which influences the growth and the yield of the plants negatively (Fardossi, 2001).

One of the most often used soil cultivation methods in vineyards is mechanical cultivation. But when it is used too often or inadequate negative effects can be observed: decaying soil structure, erosion, nutrient losses, dry soil affected by greater evapotranspiration (Bauer et al., 2004). Mechanical soil cultivation results -through the long term traffic- topsoil and subsoil compaction below the frequent tillage depth (Ferrero et al., 2005).

Covering methods are ecological soil management techniques. As soil covering several materials or cover crops can be used.

Straw mulch is a relatively cheap and easy available material. Application of mulch has a lot of agronomic advantages, including the control of weeds and erosion, improvement in soil physical structure. The presence of mulch eliminates the need for frequent soil tillage in agroecosystems. It prevents the soil like an umbrella by heavy rainstorms (Schuch, 1981). The prevention of the soil is important, because the soil moisture in the whole profile depend primarily on the intensity of rainfall, not on the total amount of it. At high intensities soil moisture increases only in the surface layer, but no significant increases were observed in

deeper layers, where most of the roots are found. Under low intensity rainfalls, the increase in soil water content occurred in the whole profile (Ramos et al., 2006). The water budget of the soil improves due to the better structure and the straw reduces water loss by evaporation. It enhances the soil environment for existing soil organisms by improving soil nutrient availability and reducing soil temperature fluctuations (Jacometti et al., 2007). When the straw decays it adds nutrients to the soil, but because it's C: N ratio is wide, additional N is needed. Otherwise the lack of N causes pentosan effect (Fox, 1981).

Beside straw or other mulch materials, several crops can be used. Permanent or only in certain seasons covering crops, legumes or non legumes are appropriate to cover the soil between the rows. Cover crops compete with weeds, prevent erosion and soil compaction and in addition, they increase the complexity of agroecosystems. The soil structure and soil biological activity will improve. They facilitate to filter the water into the soil. It has an effect on the nutrient content of the soil, especially when a leguminous plant is used, because of the biological fixation of atmospheric N (Bauer et al., 2004). Cover crops have also negative effects on the vine performance; compete for water and nutrients in the soil with vine. Places, where precipitation is not high enough are not suitable for permanent cover crops, because of the great use of water. In this cases grapes are stunted, lower wine performance can be observed. The vegetative growth is reduced, but it can have also positive effects. Because of the lower canopy density, the microclimate of the plantation will change, the vapor content of the air will be lower, and because of this the infection of the grape with fungal diseases, for example *Botrytis cinerea*, is reduced (Monteiro et al., 2007). In some cases it can be disadvantageous, for example in the Tokaj wine region of Hungary, where the noble rot of the berries caused by *Botrytis cinerea* is important to gain Aszú wine. Infection of *Botrytis* requires moist conditions, but later for the rotting period, it needs drier climate. If the weather stays wet, grey rot of the bunches can be observed (Lehoczky, 1968). There is an increased light penetration in the thin canopy, so the titratable acidity of the berries can be reduced and the sugar content will improve (Ingels et al., 2005).

MATERIALS AND METHODS

The experiment was set up in the Tokaj-wine region in 2007. Three soil cultivation methods were compared: mulching with straw, barely cover crop (*Hordeum vulgare L. convar. vulgare MSF.*) and mechanical cultivation. The straw mulch was laid down in May 2007, in the case of the Hárslevelű variety it was renewed in 2008 July. The barely cover crop was sown in March, after a seed-bed preparing. The process of the mechanical cultivation contains a deep ploughing in autumn, and two cultivator treatment in a vegetation phase. In case of the Furmint variety the soil was cultivated in the first decade of July. The study was carried out on Royat cordon vines (with 1x1,8 m row and vine spacing). The investigated varieties were: 'Furmint' clone T.85 and 'Hárslevelű' clone K.9 grafted in Teleki 5.C. rootstocks. Every treatment is located in five rows, in four replications per treatment. The plantation is settled in a steep-slope area on loess soil in the site of Hétszőlő (Hárslevelű) and Nagyszőlő (Furmint), where the prevention of erosion is especially important.

In 2008 the NO_2+NO_3 content of the soil was measured. The soil samples were collected in the last pentad of every month from March to July, from the 0-30 cm and the 30-60 cm soil layers. The compaction of the soil was measured in June and July of 2008 with a penetrometer to the 45 cm depth in the soil. The yield and the ratio of noble rot within one bunch were recorded in case of case of both cultivars. The temperature and the relative humidity were observed in the foliage under the ripening period, from 1st July to 28th September.

RESULTS

The NO_2+NO_3 content of the soil was measured in the most cases in the soil samples from the mechanical cultivated rows, because this cultivation method helps to decay the organic mater in the soil. (Fig.1.) The minor values on the straw mulched and on the barely covered grapes can be explained with the pentosan effect, resulted by the decaying straw and the nutrient uptake on the barely, respectively. In case of the Hárslevelű variety can be observed that the higher nitrate+ nitrite values in the upper layers in June appeared in the 30-60 cm layer in July. The reason of it can be, that the mechanical cultivation in the beginning of July, and the big amount of precipitation in the month (68,7 mm), helped the nutrients getting down to the lower layers. Because the availability of the N in this layer for the grapes is not so advantageous, the over frequent use of mechanical cultivation in the vegetation season is not recommended.

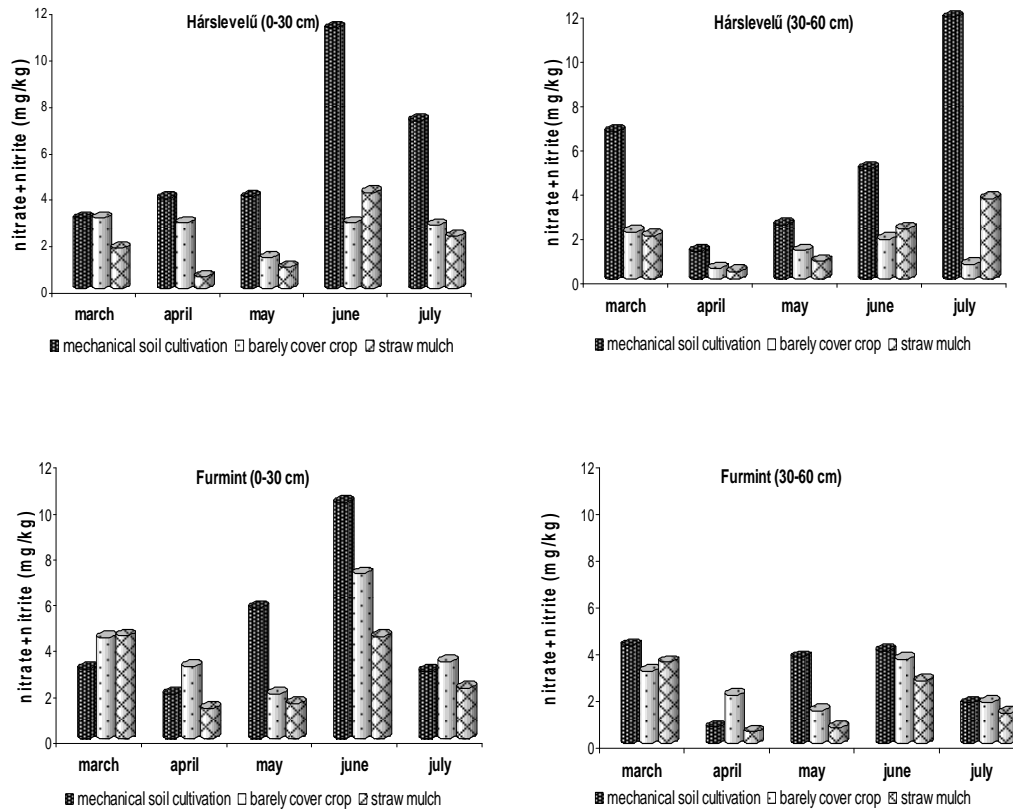


Figure 1. Nitrate and Nitrite content of the soil (Tokaj, 2008)

The measurements of the soil compaction in the last pentad of June and July have shown that in the upper (5-15 cm) cultivated layer of the soil is less compacted than the subsoil. In the 15-45 cm layer is a hard (in some cases 3000-3500 kPa) compaction, most likely caused by the tractor traffic.

In case of the Furmint variety was not found greater differences, because the straw mulch was laid down in May of 2007 and until then it was not renewed and the other vines were not cultivated until March. At the same time, in case of the Hárslevelű variety, because of the mechanical cultivation in the beginning of July and the refreshed straw mulch, differences can be observed among the treatments. The more hard compaction was measured in case of the barely cover crop and by the mechanical cultivation was the soil the less dense. In the barely covered rows makes the clipping the soil harder contrary to the straw mulched rows, where because of the weed depressing effect of the mulch, no cultivation or clipping is needed. However in the subsoil aren't greater differences between the treatments (Fig. 2.).

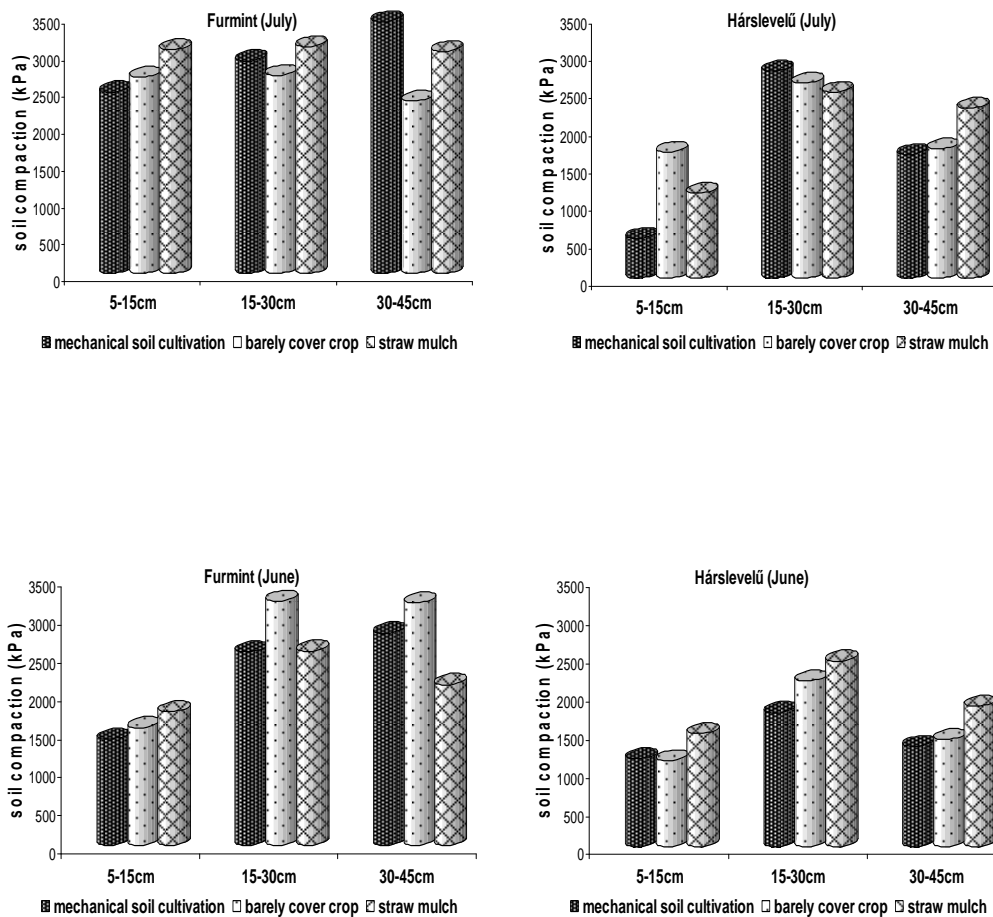


Figure 2. Compaction of the soil (Tokaj, 2008)

Comparing the yield and the average bunch weight on the plots, significant differences could be observed in case of both varieties. The highest average bunch weight was measured

in case of the straw mulched grapes, while the minor average bunch weight was measured on the barely covered grapes. The greater yield on straw mulched grapes the less on the barely covered plots was measured in case of both varieties. (Fig. 3.)

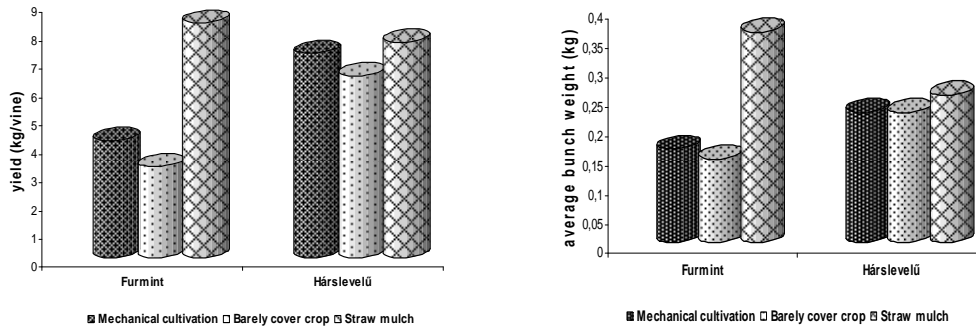


Figure 3. Average bunch weight and yield of Furmint and Hárslevelű (Tokaj, 2008)

The temperature and the relative humidity in the foliage were different in case of the several cultivation methods. The temperature was in the barely covered plots the higher. In the foliage of the mechanical cultivated and the straw mulched vines was the average temperature lower under the ripening period. The higher relative humidity was measured in case of the straw mulched plots, in case of both varieties. (Fig. 4.)

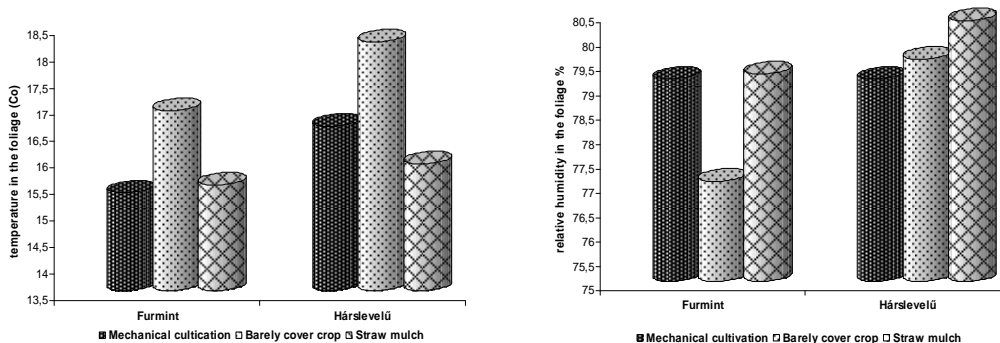


Figure 4. Temperature and relative humidity in the foliage in case of Furmint and Hárslevelű (Tokaj, 2008)

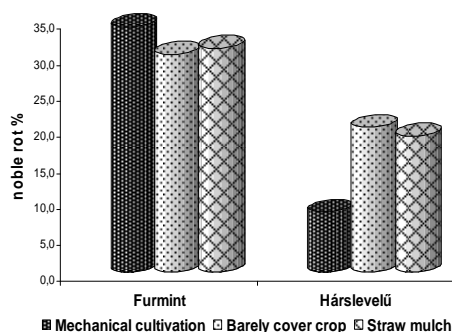


Figure 5. Ratio of noble rot within one bunch

From every treatment 100 randomly selected bunches were observed in four replications per treatment. The percentage of the rotted, Botrytis infected berries was counted within the bunches. In case of the Furmint variety more infected berries were counted. (Fig.5.)

Comparing the temperature and relative humidity in the foliage, goes to show, that they have an effect on the Botrytis infection.

DISCUSSION

Our results show that the different cultivation methods have higher effect on the yield than on the grape quality.

The several cultivation methods have effect on the nitrate +nitrite content and the compaction of the soil. The mechanical cultivation helps to decompose the organic matters in the soil, but in some cases the nutrients infiltrate in the deeper layers and became unavailable to the grapes. This cultivation method causes soil compaction only in the subsoil. In this point of view, the straw mulch proved to be the best solution, but the results indicate, that it has to be renewed regularly.

In 2008 the straw mulch proved to be the best solution regarding the yield. As it appears from the results, the soil cultivation method has an effect also on the temperature and relative humidity in the foliage, influencing the ratio of noble rotted berries.

REFERENCES

- Bauer, K., Fox, R., Ziegler, B., Moderne Bodenpflege im Weinbau. Österreichischer Agrarverlag, Leopoldsdorf. 2004.
- Bogoni, M., Panont, A., Valenti, L., Scienza, A., 1995. Effects of soil physical and chemical conditions on grapevine nutritional status. Acta Horticulturae 383 (Nutrition of deciduous fruit plants), 299-303.p.
- Fardossi, A. 2001. Einfluss von Stressfaktoren auf die Weinrebe. Der Winzer. 2/2001 11-12 p.
- Ferrero, A., Usowicz, B., Lipiec, J., 2005. Effects of tractor traffic on spatial variability of soil strength and water content in grass covered and cultivated sloping vineyard. Soil Tillage and Research 84 (2005) 127- 138.p.

Ingels, A.C., Scow, K.M., Whisson, D. A., Drenovsky, R.E., 2005. Effects of cover crops on grapevines, yield, juice, composition, soil microbial ecology, and gopher activity. *Am. J. Enol. Vitic.* 56:1 19-30. p.

Jacometti, M.A., Wratten, S.D., Walter, M., 2007. Management of understory to reduce the primary inoculums of *Botrytis cinerea*: Enhancing ecosystem services in vineyards. *Biological Control* 40 (2007) 57-64.p.

Lehoczky-Reichart 1968 A szőlő védelme Mezőgazdasági Kiadó Budapest

Monteiro, A., Lopes, C.M., 2007. Influence of cover crop on water use and performance of vineyard in Mediterranean Portugal. *Agriculture, Ecosystems and Environment.* 121(2007) 336-342.p.

Ramos, M.C., Martínez-Casanovas, J.A., 2006. Impact of land leveling on soil moisture and runoff variability in vineyards under different rainfall distributions in a Mediterranean climate and its influence on crop productivity. *Journal of Hydrology* 321 (2006) 131-146.p.

Schuch, M., Jordan, F., 1981. Ergebnisse zehnjähriger Erosionsschutzversuche im Steillagenweinbau in Franken. *Der Deutsche Weinbau.* 25/26/1981 1081-1082.p.

Wheaton, A.D., McKenzie, B.M., Tisdall, J.M., 2007. Management to increase the depth of soft soil improves soil conditions and grapevine performance in an irrigated vineyard. *Soil Tillage Res.* (2007), doi:10.1016/j. still. 2007.10.007

SCALE INSECTS (COCCOIDEA) - PESTS OF ORNAMENTAL PLANTS IN HOUSEHOLD

ČERVCI (COCCOIDEA) - ŠKŮDCI POKOJOVÝCH ROSTLIN

Hlavjenková I., Šefrová H.

Department of Crop Science, Breeding and Plant Medicine, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: IvaHlavjenkova@seznam.cz, sefrova@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this work was to compare occurrence of scale insects (species and their host plants) in greenhouses and households. The investigation of scale insects on ornamentals was carried out at various households in Brno. Six species belonging to 3 different families have been found on 48 plant samples from 25 households between 2007/2008. *Planococcus citri* (on 11 families / and 20 samples), *Rhizoecus cacticans* (1/1) (Pseudococcidae), *Coccus hesperidum* (6/18) (Coccidae), *Aspidiotus nerii* (4/6), *Diaspis boisduvalii* (1/2), *D. echinocacti* (1/1) (Diaspididae) were assigned on plants in households. The investigation of scale insects at various localities of greenhouses in the Czech Republic is still in progress but as one of the preliminary results can be said that the number of scales in households are generally lower than in greenhouses. It depends upon form of collecting samples. The species were mostly mealybugs, producing visible waxy covering or brown soft scale, which form wax covered tortoise-shaped scale that can be easily found. The protection of household plants is focused on using less toxic methods (horticulture oils, ethanol, soap emulsion), which eliminate the scales slowly and need a long time and frequently repeated applications.

Key words: ornamental plants, Coccidae, Diaspididae, Pseudococcidae, household pests, Czech Republic

Acknowledgments: Příspěvek byl zpracován s podporou Výzkumného záměru č. MSM6215648905 „Biologické a technologické aspekty udržitelnosti řízených ekosystémů a jejich adaptace na změnu klimatu“ uděleného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

ÚVOD

Červci (Coccoidea) představují skupinu bodavě savého hmyzu, který poškozují řadu hostitelských rostlin nejen ve volné přírodě, ale také ve sklenících, fóliovnících i domácnostech. Mezi červci převládají fytofágní druhy, které se podobně jako jiný polokřídlý hmyz (např. mšice) živí sáním mízy z floému. Stiletý napichují pletiva rostlin, sliny vypouštěné do ran dráždí okolí. Dochází k barevným změnám i deformacím poškozených orgánů, v okolí vpichu vznikají žluté nebo hnědavé skvrny. Silně napadené rostliny chřadnou a postupně hynou.

Červci znečišťují rostliny medovicí (nestrávené cukerné exkrementy), která je substrátem pro růst saprotrofních hub. Černé povlaky snižují asimilační schopnost rostlin i estetickou hodnotu výpěstků. V temperovaných prostorách působí červci na rostlinách problém nejen estetický (černě, přítomnost dospělců), ale také výrazně ovlivňují jejich zdravotní stav. Tělo červců je pokryté voskovými výpotky, které jej účinně chrání proti okolí a znesnadňují proniknutí prostředků chemické ochrany ke škůdci. Ve venkovním prostředí vytvoří červci během roku 1–2 generace, ve sklenících se často rozmnožují po celý rok. Počet generací závisí na podmínkách prostředí, množství i kvalitě potravy.

Výzkumu červců je na území České republiky věnována vzrůstající pozornost od konce 19. století. Ve větším počtu prací se jimi zabýval zvláště Zahradník (např. 1959; 1968; 1977; 1990). Na skleníkových a pokojových rostlinách bylo do devadesátých let 20. století podle Zahradníka (1990) zaregistrováno 45 druhů červců náležících do 7 čeledí: Asterolecaniidae (1 druh), Coccidae (6), Diaspididae (25), Eriococcidae (1), Margarodidae (1), Ortheziidae (1), Pseudococcidae (10). Různým aspektům morfologie a bionomie červců se dále věnovali například Miller (1956); Moucha (1979); Zahradník (1959a; 2004); Laštůvka a kol. (2004); Křístek, Urban (2004); Haragsim (2005); Šefrová (2006). Rozdělením, charakteristikou a ochranou rostlin proti červcům se zbývají například Heitzová (1995); Hušák a kol. (1996); Pavlíček, Kunte (2000).

V současné době probíhá výzkum diverzity skleníkových druhů červců na různých lokalitách v ČR. Jeho součástí je také odběr a shromažďování vzorků z dalších temperovaných prostor a jejich srovnání s faunou skleníkových druhů. Cílem tohoto výzkumu bylo zjistit, zda se druhové složení červců, kteří se vyskytují na pokojových rostlinách v domácnostech, nějak významně odlišuje od fauny červců ve sklenících, jaké druhy v domácnostech převažují a které hostitelské rostliny bývají červci preferovány. Zároveň jsou zpracována doporučení k ochraně pokojových rostlin na základě literárních podkladů i vlastních poznatků.

MATERIÁL A METODIKA

Výzkum diverzity skleníkových druhů červců byl zahájen v roce 2006 a v následujících letech doplněn o nové poznatky. Pro tvorbu příspěvku byly využity výsledky získané terénním studiem v letech 2007/2008 na lokalitách v Brně. V daném časovém období bylo shromážděno z 25 různých domácností 48 vzorků pokojových rostlin, na kterých byla zjištěna přítomnost červců. Vzorky červců byly odebírány z napadených rostlin, případně byly

rostliny zapůjčeny k pozorování a ošetření. Hmyz byl konzervován v 70% ethylalkoholu, část byla zpracována na trvalý preparát. Determinace probíhala podle nejnovějších klíčů a atlasů v entomologické laboratoři.

VÝSLEDKY A DISKUSE

1. Zaznamenané druhy

Z výše uvedených čeledí červců se na pokojových rostlinách vyskytují nejčastěji červci tří čeledí: červcovití (Pseudococcidae), označováni jako vlnatí červci, vlnatky nebo kořenovky, puklicovití (Coccidae) a štítienkovití (Diaspididae). Mezi nejpočetněji popisované druhy v literatuře, věnované pokojovým rostlinám, se z čeledi Pseudococcidae řadí *Planococcus citri*, *Pseudococcus longispinus* (uváděný jako *P. adonidum*) a z kořenových červců se jedná o druhy *Rhizoecus cacticans* a *R. falcifer*. Zvláštní pozornost zaslouží rod *Rippersia* Signoret 1875, jehož zástupce jako škůdce čeledi Cactaceae uvádí například Müller (1969) a Pasečný, Ullmann (2005). Zahradník (1990) jej ve své monografii nezmiňuje.

V praxi bývají v domácnostech nejběžněji zastoupeny druhy čeledi Pseudococcidae. Na pokojových rostlinách byli v letech 2007/2008 zaznamenáni 2 zástupci této čeledi,

červec citroníkový, *Planococcus citri* a červec *Rhizoecus cacticans*, specializující se na podzemní orgány čeledi Cactaceae. Tento druh byl nalezen na kořenech kaktusů v soukromé sbírce na jedné lokalitě. Nejčastějšími hostiteli červce citroníkového byly rostliny citrusů. Byl určen na 8 zkoumaných vzorcích čeledi Rutaceae. Tento polyfágní druh byl často nalézán také na zástupcích čeledi Araliaceae (5 vzorků), Araceae (4 vzorky), Agavaceae (4 vzorky). Přehled rostlin v domácnostech, na kterých byl v letech 2007/2008 *Planococcus citri* zaznamenán uvádí tabulka 1.

Tab. 1 Přehled hostitelských rostlin s výskytem červce citroníkového

	Čeď (hostitelská rostlina)	Místo napadení na rostlině
<i>Planococcus citri</i>	Agavaceae (<i>Dracaena</i>)	obě strany listů, paždí listů
	Araliaceae (<i>Schefflera</i> , <i>Fatsia</i>)	místo přisedání listů na stonek, vrchol
	Amaryllidaceae (<i>Amaryllis</i> , <i>Clivia</i> , <i>Eucharis</i>)	pochvy listů, obě strany listů
	Araceae (<i>Philodendron</i> , <i>Monstera</i>)	mladé výhony, šupiny, květenství, listy
	Crassulaceae (<i>Crassula</i>)	místo přisedání listů na stonek, vrchol
	Cyperaceae (<i>Cyperus alternifolius</i>)	vrcholové části, květenství
	Euphorbiaceae (<i>Euphorbia</i>)	stonek, paždí stonků, vegetační vrchol
	Fabaceae (<i>Albizia</i>)	místa přisedání listů na stonek
	Geraniaceae (<i>Pelargonium</i>)	paždí listů, vegetační vrchol
	Rutaceae (<i>Citrus</i>)	větve, listy, květy, plody
	Urticaceae (<i>Pilea</i>)	spodní strana listů, větvení stonků a listů

Mezi skleníkové škůdce čeledi Pseudococcidae náleží 10 druhů zaznamenaných na řadě hostitelských rostlin. Potravně se jedná většinou o polyfágy, domácí v tropických a subtropických oblastech, odkud se rozšířili pravděpodobně na dovážených sbírkových rostlinách. Z čeledi Coccidae bylo do 90. let 20. století zaznamenáno na skleníkových a pokojových rostlinách 6 druhů, tabulka 2.

Tab. 2 Přehled skleníkových druhů čeledi Pseudococcidae a Coccidae

	Název druhu		Název druhu
Čeď: Pseudococcidae	<i>Nipaecoccus nipae</i> (Maskell, 1893)	Čeď: Coccidae	<i>Coccus hesperidum</i> Linnaeus, 1758
	<i>Planococcus citri</i> (Risso, 1813)		<i>Coccus pseudoheperidum</i> (Cockerell, 1895)
	<i>Pseudococcus calceolariae</i> (Maskell, 1879)		<i>Parasaissetia nigra</i> (Nietner, 1861)
	<i>Pseudococcus longispinus</i> (Targ.-Toz., 1867)		<i>Saissetia coffeae</i> (Walker, 1852)
	<i>Pseudococcus viburni</i> (Signoret, 1875)		<i>Saissetia oleae</i> (Olivier, 1791)
	<i>Rhizoecus cacticans</i> (Hambleton, 1946)		<i>Pulvinaria floccifera</i> (Westwood, 1870)
	<i>Rhizoecus dianthi</i> Green, 1926		
	<i>Rhizoecus falcifer</i> Künickel d'Herculis, 1878		
	<i>Spilococcus mamillariae</i> (Bouché, 1844)		
	<i>Vryburgia brevicruris</i> (McKenzie, 1960)		

Z čeledi puklicovitých (Coccidae), lze na pokojových citrusových rostlinách nalézt puklici oranžovníkovou, *Coccus hesperidum*, případně drobnější, kulovité puklice *Saissetia oleae* a *S. coffeae*, Hušák a kol. (1996). Podrobným členěním puklic se dostupná literatura věnovaná problematice pokojových rostlin nezabývá, zpravidla uvádí pouze popis, jak tuto čeď od ostatních odlišit. Na sledovaných pokojových rostlinách byl z čeledi puklicovitých zaznamenán pouze druh *C. hesperidum* na rostlinách čeledi Rutaceae (*Citrus*) na 6 vzorcích, Moraceae (*Ficus*) na 5 vzorcích, Zingiberaceae (*Zingiber*) 1 vzorku, Theaceae (*Camellia japonica*) 2 vzorcích, Primulaceae (*Cyclamen*) 1 vzorku, Lauraceae (*Laurus nobilis*) 3 vzorcích z různých lokalit.

Nejpočetněji zastoupenou čeledí červců ve sklenících jsou štítenkovití (Diaspididae). Do 90. let 20. století bylo v temperovaných prostorách zaznamenáno 25 druhů těchto škůdců (Zahradník 1959b; 1968; 1977; 1990). V publikacích o pokojových rostlinách bývá charakterizována obvykle pouze čeď. Výjimečně je zmiňována štítenka skleníková *Pinnaspis aspidistrae* (Signoret, 1869) a štítenka břechťanová *Aspidiotus nerii* Bouché, 1833 (Rod, 2007) a na kaktusech uvádí Pavlíček, Kunte (2000) štítenku *Diaspis echinocacti* (Bouché, 1833).

Tab. 3 Hostitelské spektrum a četnost zaznamenaných druhů červců

	Název	R/počet vzorků		Název	R/počet vzorků
Pseudococcidae	<i>Planococcus citri</i>	Rutaceae/8	Coccidae	<i>Coccus hesperidum</i>	Rutaceae/6
		Araliaceae/5			Moraceae/5
		Araceae/4			Lauraceae/3
	Agavaceae/4	Theaceae/2			
Amaryllidaceae/3	Primulaceae/1				
Crassulaceae/1	Zingiberaceae/1	6/18			
Cyperaceae/1					
Euphorbiaceae/1	Diaspididae	<i>Aspidiotus nerii</i>	Arecaceae/3		
Fabaceae/1			Apocynaceae/1		
Geraniaceae/1			Araliaceae/1		
Urticaceae/1			Orchidaceae/1		
<i>Rhizoecus cacticans</i>	Cactaceae/1	12/21	<i>Diaspis boisduvalii</i>	Orchidaceae/2	
			<i>Diaspis echinocacti</i>	Cactaceae/1	6/9

Na devíti vzorcích pokojových rostlin byly zaznamenány 3 druhy štítenkovitých. Jednalo se o š. břechťanovou *Aspidiotus nerii* na 3 vzorcích čeledi *Arecaceae* (*Phoenix*), 1 vzorku čeledi *Apocynaceae* (*Nerium oleander*), 1 vzorku *Orchidaceae* (*Dendrobium*) a 1 rostlině *Araliaceae* (*Schefflera*). Na dvou rostlinách *Orchidaceae* byl určen druh *Diaspis bouisduvalii* Signoret, 1869. Na jednom vzorku čeledi *Cactaceae* zaznamenán druh *Diaspis echinocacti*. Celkový přehled červců zaznamenaných na pokojových rostlinách uvádí tabulka 3.

2. Doporučení k ochraně pokojových rostlin

Přítomnost červců na pokojových rostlinách bývá většinou poprvé zaznamenána ve chvíli, když jsou již viditelně poškozeny (žloutnutí a opadávání listů, nekrotické skvrny, povlaky černí) nebo je nalezen škůdce. Vizuálně nevýraznější jsou druhy červců, produkující bílá vosková vlákna, červcovití (*Pseudococcidae*). Puklicovití bývají nalézáni často až v dospělosti, kdy vytváří charakteristický štítek. Zaznamenání a odlišení druhů čeledi štítenkovitých už vyžaduje alespoň obecnou znalost o problematice červců. Pěstitel často získává informace o škůdcích z literatury věnované pokojovým rostlinám. Tato rozlišuje červce (*Coccoidea*) obvykle na druhy vlnaté (řadí sem rody *Pseudococcus*, *Planococcus*, *Rhizoecus*) a puklice. Štítenkovití bývají opomíjeni, i když představují nejpočetnější skupinu ve sklenících. Toto zjednodušené rozdělení pěstiteli zpravidla postačuje, každý literární zdroj nabízí zároveň způsob, jak proti škůdci zasáhnout. V tabulce 4 jsou uvedena nejběžnější doporučení k ochraně, uváděné v literatuře o pěstování pokojových rostlin (pokud byly uvedeny již neregistrované prostředky na ochranu rostlin, byly nahrazeny povolenými).

Ochrana pokojových rostlin je problematická z hlediska aplikace insekticidů v obytných prostorách a uchování rostlin po tomto zásahu v izolaci. Proto se doporučení k ochraně zaměřují na pracnější a časově náročnější metody, vyžadující ruční odstranění škůdce nebo opakované aplikace nejedovatých látek (ethanol, oleje, mýdlové roztoky). Tyto postupy lze realizovat v provozu nebo při pěstování skleníkových rostlin jen velmi obtížně.

Tab. 4 Doporučení k ochraně pokojových rostlin

Červcovití obecně	<ul style="list-style-type: none"> - přemístit rostlinu na chladnější a světlejší místo - seškrábat voskové štítky, potírat alkoholem při slabém napadení - po použití alkoholu rostlinu otřít čistým mokrým hadříkem - ošetření v době vegetačního klidu (v zimě), minerální oleje - ¹⁾ aplikovat tak, aby olejový film ulpěl na všech částech rostliny i z rubové strany - u rostlin s tuhými listy lze použít olejovou emulzi nebo lesk na listy (Frutapon Lesk listů, Frutapon Superlesk, Frutapon Folio) - místo alkoholu lze použít mýdlový roztok, pak rostlinu osprchovat insekticidy -sprej s pyrethrinem (Spruzit Gartenspray) <li style="padding-left: 20px;">-oleje: Frutapon, Biool, Raptol, Spruzit AF - systémové přípravky Applaud 25 WP opakovat (max. 3x v intervalu 5-7 dnů) - aplikace mimo obytné prostory, izolace, - ²⁾ trvá li napadení 2-3 měsíce, je lepší rostlinu odstranit
<i>Pseudococcidae</i>	<ul style="list-style-type: none"> - preferují teplo a suchý vzduch (chladnější místnost a rosení vývoj zpomalí) - osídlují špatně dostupná místa, při malém napadení odstranit ručně vatou s lihem - na počátku napadení lze setřít hadříkem namočeným v mýdlovém roztoku, lihu - silném napadení: insekticid (systémový) Applaud, Agrion Delta, Best, Fast M, Sumithion super (dodržovat OL, do skanutí, opakovat)

	- ³⁾ při teplotách nad 21°C australské slunéčko <i>Cryptolaemus montrouzieri</i>
Rhizoecus	<ul style="list-style-type: none"> - pěstování kaktusů v zemině s přídavkem rašelínku - důkladná kontrola při nákupu, při podezření prohlédnout i kořeny - preventivní ošetření po nákupu nových rostlin insekticidem - před přenesením do sbírky izolace rostlin (několik týdnů), kontroly - při zjištění zkrátit kořeny do zdravé části a namočit do insekticidu - přesadit do nového substrátu, rostlinu do izolace mimo sbírku
Coccidae a Diaspididae	<ul style="list-style-type: none"> - prevence, kontrola i spodních stran listů, izolace - zachytit v první fázi vývoje, stádium larvy-pohyblivé, drobné, nejlépe insekticid - ruční odstranění štítků, mýdlový roztok, teplá voda s jarem, líh, minerální oleje - před ošetřením pečlivě zakrýt zem pod rostlinou <ul style="list-style-type: none"> - přípravky na bázi olejů Frutapon, Biool, Raptol, Spruzit AF - důkladná aplikace včetně spodních stran - insekticid ve spreji (Spruzit Gartenspray) - postřik mimo obytné prostory, izolace, kontroly, opakovat - použití systémových přípravků: doporučován Agrion Delta

Zdroje informací v tabulce 4: Heitzová (1995); Hessayon (1995); Longmann (1995); Hušák a kol. (1996); Vermeulen (1998); Pavlíček, Kunte (2000); Flehmingová, Strauss (2002); Klocek (2004); Křesadlová, Vilín (2004); Pasečný, Ullmann (2005); Greiner, Weber (2006); Sedláčková (2006)

Vysvětlivky k tabulce 4:

¹⁾ Böhmer, Wohanka (2003), nedoporučují používat minerální oleje příliš často, ucpávají i průduchy

²⁾ pokud hrozí napadení ostatních rostlin, nelze-li provést chemické ošetření, objevuje-li se škůdce opakovaně nebo se jeho výskyt zesiluje (mezní řešení)

³⁾ biologická ochrana funguje za přísně vymezených podmínek a je obvykle založena na rovnováze mezi predátorem a jeho potravou

ZÁVĚR

Fauna červců pokojových rostlin se zdá být druhově chudší ve srovnání se skleníkovou, ale v základu ze zaznamenaných skleníkových druhů vychází. V praxi nebyl na pokojových rostlinách nalezen žádný neuváděný druh, pouze v literatuře byl zmíněn druh rodu *Ripersia*, který se v běžné skleníkové zvířené pravděpodobně dosud nevyskytl. Nižší počet druhů červců na pokojových rostlinách může záviset i na způsobu získávání vzorků. Z uvedeného počtu vzorků se na 48 % z nich vyskytovali zástupci červcovitých, kteří v dospělosti vytváří výrazné voskové struktury, 37 % vzorků zajišťoval jediný zaznamenaný druh puklicovitých, p. oranžovníková, štítenkovití byli k determinaci přinášeni sporadicky, i když počtem druhů na skleníkových rostlinách dominují. Lze předpokládat, že fauna červců zaznamenávaných na pokojových rostlinách se v budoucnosti rozšíří o druhy méně jednoznačně postřehnutelné (štítenkovití). Červci na pokojových rostlinách budou předmětem pozorování i v následujících letech. Z doporučení k ochraně vyplývá potřeba nechemického odstranění škůdců z rostlin. Jsou doporučovány přípravky na bázi olejů, které však při dlouhodobém používání mohou negativně ovlivnit i vitalitu rostlin. Další možností je opakované ruční odstraňování škůdce, které lze realizovat právě v domácnostech a jehož úspěšnost závisí na vytrvalosti pěstitele.

LITERATURA

- Böhmer B., Wohanka W. (2003): Atlas chorob a škůdců okrasných rostlin, ovoce a zeleniny. Brázda, Praha, 239 s.
- Flehmingová A., Strauss F. (2002): Pokojové rostliny. Nakl. Svojtka, Praha, 156 s.
- Greiner a., Weber A. (2006): Pokojové rostliny jak je neznáte. Nakl. Svojtka, Praha 190 s.
- Haragsim O. (2005): Medovice a včely. Brázda, Praha, 184 s.
- Heitzová H. (1995): Pokojové rostliny. Svojtka & Vašut, Praha, 239 s.
- Hessayon D. G. (1996): Pokojové rostliny. Beta, Praha, 225 s.
- Hušák J., Táborský V., Valíček P. (1996): Tropické a subtropické ovoce, pěstování a využití. Brázda, Praha, 125 s.
- Klocek M., Klocek T. (2004): Citrusy, nejkrásnější druhy a odrůdy. Rebo Productions, Čestlice, 95 s.
- Křesadlová L., Vilín S. (2004): Exotické rostliny v nádobách. Computer Press, Praha, 95 s.
- Křístek J., Urban J. (2004): Lesnická entomologie. Academia, Praha, 445 s.
- Laštůvka Z., Gaisler J., Šťastná P., Pelikán J. (2004): Zoologie pro zemědělce a lesníky. Konvoj, Brno, 264 s.
- Longman D. (1995): Péče o pokojové rostliny. Slovart, Praha, 191 s.
- Miller F. (1956): Zemědělská entomologie. ČSAV, Praha, 1 057 s.
- Moucha J. (1979): Podřád Červci (Coccinea), s. 113–120. In: Hanzák, J., Moucha, J., Zahradník J. Světem zvířat, V. díl (2. část), Bezobratlí. Albatros, Praha, 452 s.
- Müller V. E. (1969): Ochrana květin a jiných rostlin. SZN, Praha, 420 s.
- Pasečný P., Ullmann J. (2005): Sukulenty. Grada publishing, Praha, 73 s.
- Pavlíček P., Kunte L. (2000): Nová kniha o kaktusech. Dona, České Budějovice, 118 s.
- Rod J. (2007): Červci. Zahradkář: I./07
- Sedláčková E. (2006) Orchideje v bytě. Grada publishing, Praha, 75 s.
- Šefrová H. (2006): Rostlinolékařská entomologie. Konvoj, Brno, 257 s.
- Vermeulen N. (1998): Kaktusy a sukulenty. Rebo Productions, Čestlice, 144 s.
- Zahradník J. (1959a): Červci – Coccinea, s. 527–552, 614–716. In: Kratochvíl, J. (ed.), Klíč zvířeny ČSR, III. Nakl. ČSAV, Praha, 869 s.
- Zahradník J. (1959b): Kritická bibliografie červců Československa (Homoptera, Coccinea). Acta Faun. Ent. Mus. Nat. Pragae, suppl. 1, 70 s.
- Zahradník J. (1968): Schildläuse unserer Gewächshäuser. Die neue Brehm – Bücherei, Wittenberg Lutherstadt, 44 s.

Zahradník J. (1977): Aleyrodinea – Coccinea. In "Enumeratio Insectorum Bohemoslovakiae". Acta Faun. Ent. Mus. Nat. Pragae, suppl. 4: 117–122.

Zahradník J. (1990): Die Schildläuse (Coccinea) auf Gewächshaus und Zimmerpflanzen in den Tschechischen Ländern. Acta Univ. Carol.–Biol., 34: 1–160.

Zahradník, J. (2004): Hmyz. Aventium, Praha, 326 s.

COMPARISON OF PHOTOSYNTHETIC ACTIVITY IN CULTURE AND WEED BEETS

POROVNÁNÍ FOTOSYNTETICKÉ AKTIVITY PLEVELNÝCH A KULTURNÍCH ŘEP

Hnilička R., Pulkrábek J.

Department of Crop Production, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 - Suchdol, Czech Republic

E-mail: hnlickar@af.czu.cz, pulkrabek@af.czu.cz

ABSTRACT

We monitored photosynthetic activity and respiration in plants of weed beets and in culture plants of sugar and feed beets in growth phase of 18 BBCH (8 genuine leaves). Culture and weed plants reached the highest values at 2 p.m. and their average was 8 $\mu\text{mol of CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Differences in photosynthesis intensity are visible in the afternoon hours, when weed beets reach higher values. In the afternoon hours it was opposite. Also we can say, that during all day, the plants of weed beets had higher transpiration and their value reached maximum of 1,47 $\text{mmol of H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. In comparison of culture and weed plants it is evident, that weed beet is a large competitor of culture beets, also in photosynthesis intensity.

Key words: Beta vulgaris, weed beet, photosynthesis activity, daily running

ÚVOD

Ani letošní rok se z pohledu pěstitele cukrovky neobejde bez problémů spojených s výskytem plevelné řepy na pozemcích s cukrovou řepou. Na mnoha lokalitách jsme již počátkem června mohli pozorovat vybíhající rostliny plevelných řep. Řada pěstitelů se s tímto problémem musí potýkat, což negativně ovlivňuje ekonomiku pěstování této plodiny.

První zprávy o výskytu plevelné řepy v kulturách pocházejí z Velké Británie, kde byly objeveny jednoleté formy řepy s dormantními semeny. V letech 1978 – 81 bylo 18 – 21 % polí ve Velké Británii zamořeno semenáčky rodu *Beta* (Maughan 1984), které byly náhodně zaneseny do polí následkem kontaminace osiva a nazvány “plevelná řepa”. Později byla plevelná řepa objevena také v ostatních evropských zemích (Skalický a kol. 2007).

Plevelná řepa má původ ve Středozeří a přední Asii, kde se vyskytuje planě rostoucí druh řepa přímořská *Beta vulgaris ssp. maritima*. Rozdíly v původu vyplývají z rozdílného způsobu, jakým byly tyto řepy zpočátku klasifikovány. Někteří autoři je popisovali jako výdrol, jiní jako plané nebo jednoleté řepy či poslední jako křížence mezi planými a kulturními formami (Nováková 2007). Plevelné řepy se na našich polích objevily počátkem osmdesátých let spolu s dovozem zahraničního osiva (Jirsák 1998). Příčinu jejího výskytu je nutno hledat v množení osiva cukrovky v zemích jižní Evropy. Do těchto oblastí bylo postupně přesunuto veškeré množení osiva cukrovky, neboť zde jsou lepší klimatické podmínky pro dosažení vyšších výnosů a lepší semenářské jakosti osiva. Naproti tomu však s sebou kontaminaci osiva semeny plevelné řepy. Pro ni je zmíněná oblast domovinou (Weishaupt 1994).

Z přímořské řepy byly zřejmě odvozeny současné kulturní typy. Ta se používala při šlechtění kulturních odrůd a snadno se kříží s kulturními formami rodu *Beta* – řepa (*B. vulgaris ssp. vulgaris var. altissima* – cukrovka, *B. vulgaris ssp. vulgaris var. rapaceae* – krmná řepa, *B. vulgaris ssp. vulgaris var. vulgaris* – červená řepa, *B. vulgaris ssp. cicla* – řepa obecná listová).

Teoreticky jsou v odborných kruzích diskutovány dva možné zdroje původu a vzniku plevelných řep.

- 1) Rozmnožením ekotypů náchylných k vybíhání a spontánně vyselektovaných z povolených odrůd. Kulturní řepy vznikaly 2000 let přirozenou a umělou selekcí z původně jednoleté plané přímořské řepy. Dvouletost je tedy znakem získaným.
- 2) Zavlečení osivem kontaminovaným jednoletými planými formami řep z množitelských oblastí ve Středomoří.

Z praktického hlediska jde zcela jednoznačně o druhý zdroj, neboť problém plevelných řep se ve všech evropských řepářských oblastech objevil až s použitím jednoklíčkového osiva.

V České republice se plevelná řepa ve větší míře začala vyskytovat v souvislosti s dovozem osiva z jihoevropských zemí. Pro svou škodlivost a negativní působení na čistotu porostů byla plevelná řepa zařazena v roce 1992 mezi karanténní plevele (Vášová 1995). Přestože dnes již kategorie karanténních plevelů neexistuje, je plevelná řepa v porostech

cukrovky závažným hospodářským problémem a je jí nutno stále věnovat náležitou pozornost (Zahradníček a kol. 2003).

Plevelná řepa má stejné nároky na vodu, živiny a světlo jako kulturní řepa. Výskyt jedné plevelné rostliny na 1 m² představuje redukci výnosu z této plochy o 12 % (Longden 1982). Při výskytu 1 000 vyběhlic na 1 ha, není-li takové zaplevelení zlikvidováno, je další pěstování cukrovky na stejném pozemku neekonomické (Krouský 2001). Rostliny lze charakterizovat jako živé organizmy, jejichž specifickou vlastností je schopnost získávat energii dvěma principiálně odlišnými způsoby: fotosyntézou a dýcháním. Zatímco při fotosyntéze je energie získávána využitím energie slunečního záření, dýchání představuje reakce organického substrátu s molekulárním kyslíkem. V obou případech se vytváří krátkodobá energetická zásoba - ATP. To platí nejen pro řepu cukrovou, ale i plevelnou. Obě tyto rostliny jsou si jak z morfologického tak fyziologického hlediska podobné a na příslušné lokalitě si tedy silně konkurují. Porovnáním fotosyntetické aktivity a respirace tohoto plevele s kulturními odrůdami nám napoví jak si navzájem rostliny konkurují a do budoucna by toto podrobné poznání mohlo přispět k propracování metod likvidace rostlin plevelných řep.

MATERIÁL A METODIKA

Hlavním cílem naší práce bylo zjistit a porovnat rychlost fotosyntézy u kulturních rostlin cukrových řep a řep plevelných. Za kulturní rostliny jsme použili dvě odrůdy cukrových řep konkrétně odrůdu SD 15734 od firmy Strube Dieckmann (která je právě v registračním řízení a zkoušená pod názvem Bering) a Fiorenza od firmy KWS. V pokuse je také použita odrůda krmné řepy Monro od Florimond Despréz. V poloprovozních podmínkách jsme oseli maloparcelky těmito odrůdami a zároveň byla vyseta i plevelná řepa. Všechny parcelky byly ošetřeny v klasickém systému tří herbicidních aplikací. Vlastní měření intenzity fotosyntézy bylo ve fázi BBCH 18 (8 pravých listů) komerčním přenosným infračerveným analyzátozem LC pro+ s listovou komůrkou, který umožňuje měřit při hustotě ozáření FAR (400-700 nm) v rozsahu 0-2000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ a teplotě -5 až +50 °C. Na všech variantách jsme provedli měření na prvním měřitelném listu. Listová komůrka o velikosti 6,25 cm² byla vytemperována na teplotu 23°C a nastavena na intenzitu osvětlení 600 nm. Každá rostlina byla měřena po dobu 15 minut ve třech opakováních a výsledky byly zprůměrovány.

VÝSLEDKY A DISKUZE

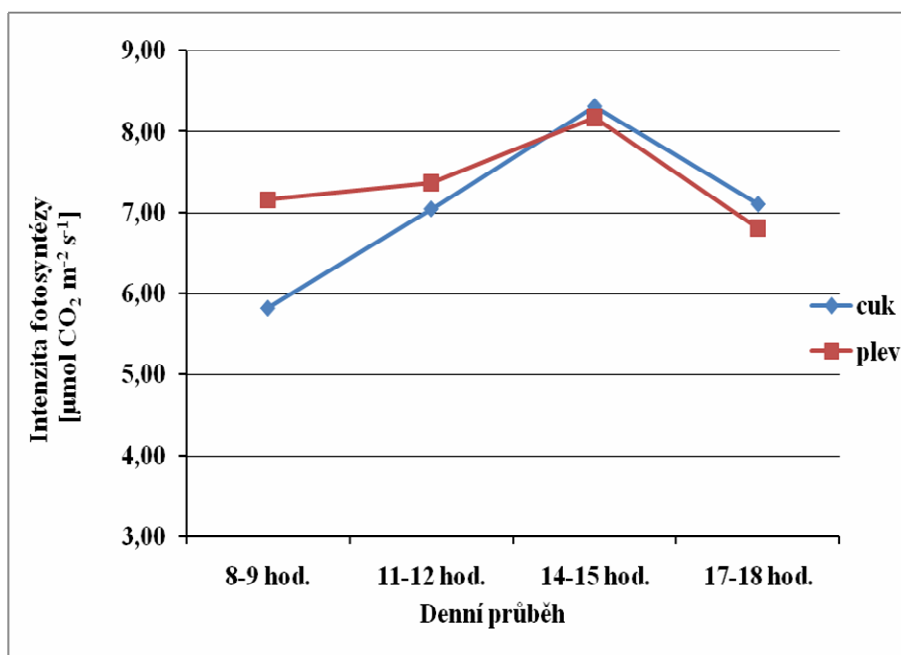
Rostliny rodu Beta zařazujeme mezi rostliny typu C3. U těchto rostlin se intenzita fotosyntézy měřená v $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ pohybuje v rozmezí 5 až maximálně 20 μmol . V našem případě byla minimální hodnota u cukrové řepy 2,65 μmol . Zatímco maximální hodnoty dosahovaly 11,19 μmol . U rostlin plevelných řep bylo toto rozmezí velmi podobné mezi 3,56 až 10,09 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, viz tabulka č. 1.

Tab. 1: Denní hodnoty intenzity fotosyntézy řepy s 8 pravými listy

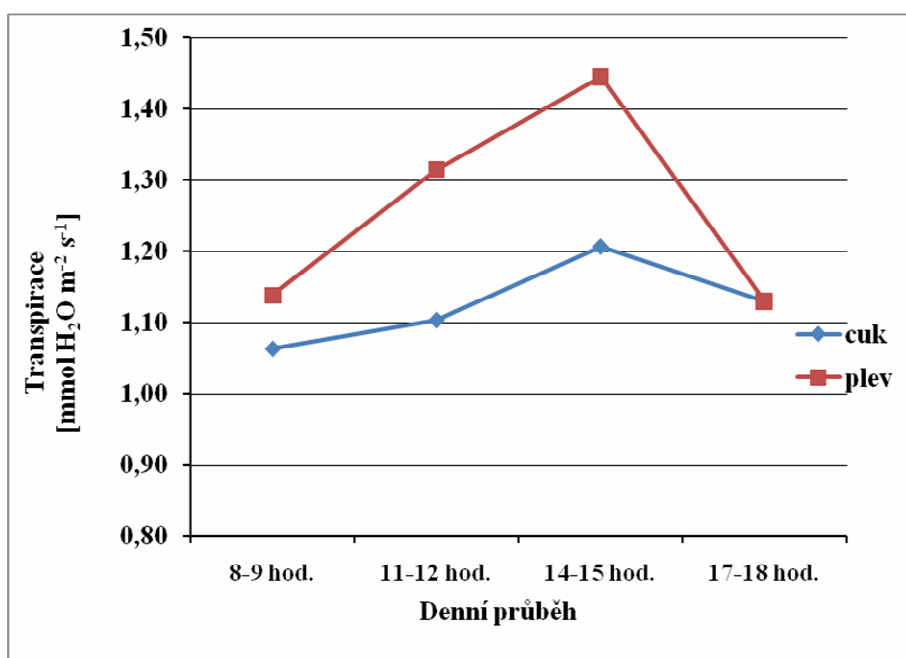
Časové období								
Intenzita fotosyntézy v $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	8 – 9 hod.		11 – 12 hod.		14 – 15 hod.		17 – 18 hod.	
	Cukrová řepa	Plevelná řepa	Cukrová řepa	Plevelná řepa	Cukrová řepa	Plevelná řepa	Cukrová řepa	Plevelná řepa
Minimální	2,65	5,47	2,63	3,56	7,66	6,76	6,25	5,09
Maximální	6,04	8,52	11,19	10,7	9,03	10,09	8,49	8,75
Průměr	5,82	7,15	7,04	7,36	8,31	8,17	7,10	6,80

Při obecném pohledu na rozdíly mezi cukrovou a plevelnou řepou jsme zjistili, že oba tyto druhy nejintenzivněji fotosyntetizují okolo 14 hodiny a dosahují téměř shodných hodnot a to okolo $8 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. V dopoledních hodinách intenzivněji fotosyntetizovala plevelná řepa jak je patrné z grafu č. 1. V odpoledních hodinách se obě rostliny téměř vyrovnaly a intenzita fotosyntézy se snižovala. Z grafu č.2. je patrné, že v době kdy rostliny nejintenzivněji fotosyntetizovaly docházelo také k nejvyšší transpiraci a prodýchávání. U plevelné řepy je tento jev patrnější než u kulturní řepy. Tyto výsledky měření fotosyntézy u cukrové řepy jsou porovnatelné s výsledky Pospíšilové (2004), která se tímto měřením zabývala. Měření probíhalo za celodenního intenzivního slunečního osvětlení a teplotě 26°C .

Graf 1: Denní průběh intenzity fotosyntézy

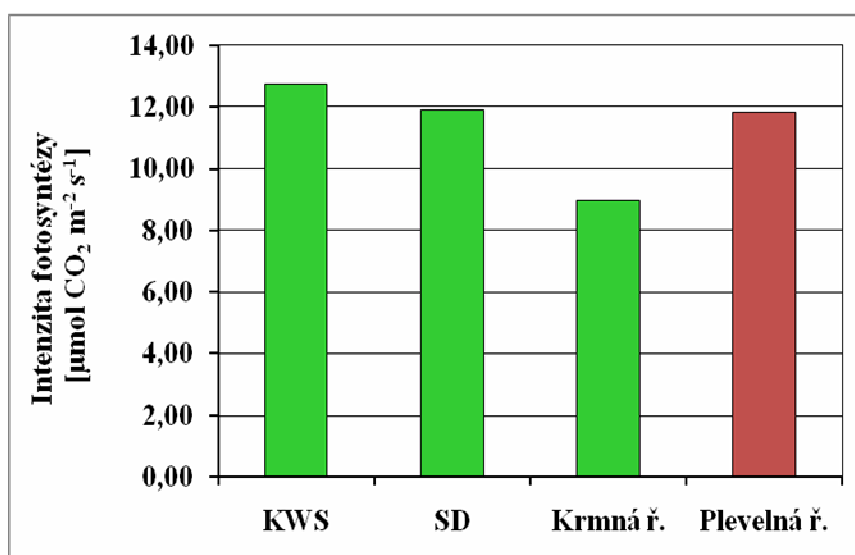


Graf. 2: Denní průběh transpirace

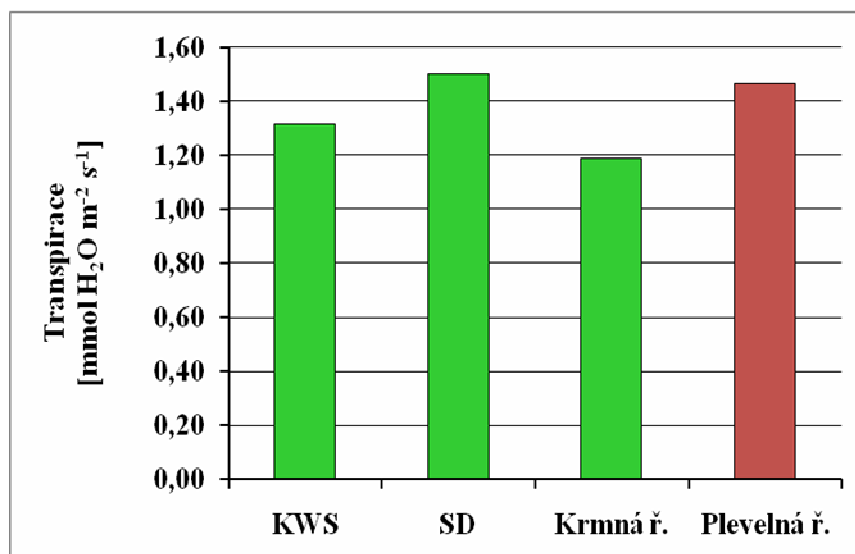


Při porovnání intenzity fotosyntézy jednotlivých odrůd jsme zjistili, že nejvyšších hodnot dosahuje odrůda Fiorenza a to $12,8 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, naopak nejnižších odrůda krmná řepy $9 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Plevelná řepa dosáhla podobných hodnot jako odrůda Bering viz graf č. 3. V porovnání s ostatními odrůdami plevelná řepa silně transpirovala. Její hodnota se ustálila na $1,47 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ a předstihla jak krmnou řepu, tak i odrůdu Fiorenza, viz graf č. 4.

Graf 3: Intenzita fotosyntézy u jednotlivých odrůd



Graf 4: Transpirace jednotlivých odrůd



ZÁVĚR

Z hodnot naměřených pomocí analyzátoru LC pro+ je patrné, že plevelná řepa je velkým konkurentem pro rostliny cukrových řep, ale hlavně řep krmných. S těmito rostlinami dosahuje téměř shodných a někdy i větších hodnot a dá se tedy usuzovat na její větší konkurenční schopnost. Zatímco schopnost intenzivněji fotosyntetizovat se projevuje hlavně v dopoledních hodinách transpirační křivka byla v průběhu celého dne vyšší. Z kulturních řep se lépe než plevelná řepa projevila odrůda Fiorenza. V řadě zemědělských podniků kde se cukrová řepa pěstuje představuje stále ekonomicky výhodnou plodinu. Abychom se o tuto možnost pěstování do budoucna neochudili je nutné důsledně rostliny plevelných řep z porostu odstraňovat.

LITERATURA

Maughan G. L. (1984): Survey of weed beet in sugar beet in England 1978 – 81. *Crop Protection* 3 (3), 315 - 325.

Skalický, M., Tůma, J., Novák, J., Pulkrábek, J., Stekolvá, J. (2007): Phenotype variability of weed beet (*Beta vulgaris* L.), *Cereal Research Communications*, Vol. 35, No. 2, 1077 – 1080

Nováková Kateřina (2007): Studium biologie plevelné řepy s přihlédnutím k zavádění transgenních odrůd cukrovky, Disertační práce ČZU Praha

Jirsák, A. (1998): Vyrůstající výskyt plevelných řep varuje, *Úroda*, č. 6, s. 26-27.

Weishaupt F.(1994): Nepodceňujme plevelnou řepu, *LČaŘ* 110, č.6, červen

Vášová Z. (1995): Plevelná řepa v cukrovce – *Úroda*7, 36-37

Zahradníček, J., Holec, J., Soukup, J., ČZU Praha, Příbyl, P., farma P/T Čaradice u Žatce: Plevelná řepa se dál zákeřně šíří, 2003, *Zemědělec* 32

Longden, P. C. (1982): Understanding how to control weed beet in sugar beet. *Proceedings British Crop Protection Society – Weeds*, Brighton, UK, 55-60.

Krouský, J.(2001): Plevelná řepa, staronový nepřítel, *Listy cukrovarnické a řepařské*, 117, č. 9-10, s. 208-210.

Pospíšilová, J., Baťková, P.(2004): Effects of pre-treatments with abscisic acid and/or benzyladenine on gas exchange of French bean, sugar beet, and maize leaves during water stress and after rehydration, *Biologia Plantarum* 48 (3): 395-399.

INFLUENCE OF SELENIUM APPLICATION ON YIELD OF POTATOES (*Solanum tuberosum*) AND ITS CONTENT IN TUBERS AFTER HEAT TREATMENT

VLIV APLIKACE SELENU NA VÝNOS BRAMBOR A JEHO KONCENTRACI V HLÍZÁCH PO TEPELNÉ ÚPRAVĚ

Ježek P., Hlušek J., Lošák T.

Department of Agrochemistry, Soil Science, Microbiology and Plant Nutrition, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic.

E-mail: ingredience@seznam.cz, hlusek@mendelu.cz, losak@mendelu.cz

ABSTRACT

In small-plot experiment with potatoes was explored the effect of foliar applications of Se (200 and 400 g Se.ha⁻¹) and applications of Se into the soil on tuber yields, the Se concentration in dried tubers and boiled tubers and in chips and effect of Se applications on concentration of semiessential amino acids arginin and histidin in dried tubers. Varieties Ditta and Karin were used in the experiment and selenium was applied in the form of sodium selenite (Na₂SeO₃). 5 treatments were used in the experiment: (1) control; (2) 12 kg Se.ha⁻¹; (3) 24 kg Se.ha⁻¹; (4) 200 g Se.ha⁻¹; (5) 400 g Se.ha⁻¹. The total yields of tubers per ha were the highest in the control treatments. The variety Ditta produced higher yields. The average content of Se increased with the applied dose as compared to the control. The effect of Se applications on amino acids concentration in tubers was only in the case of His. The concentration of Arg and His was the sign of the variety.

Key words: selenium, application, potatoes, yield, quality, amino acids

Acknowledgments: This study was elaborated as a part of the research order NAZV No. 1G46058 “Strengthening the competitiveness of potato growers through production of tubers with a higher consumer quality”.

ÚVOD

V poslední době se stále více sleduje kvalita potravin vzhledem k obsahu různě prospěšných látek lidskému zdraví. Tyto látky mají ochranné, terapeutické či jinak zdraví podporující účinky a v přírodě se nachází v různých zdrojích a množstvích. Mezi tyto látky souhrnně označované jako antioxidanty patří společně s kyselinou askorbovou, karotenoidy, tokoferoly a flavonoidy také prvek selen (Se).

Se zaujímá mezi minerály své speciální místo velice kontroverzního stopového prvku. To vyplývá z jeho úzkého vztahu mezi jeho esencialitou a toxicitou pro lidský organismus na jedné straně a globálním nedostatkem tohoto prvku na straně druhé (Surai, 2006). Místem vstupu Se do potravního řetězce je půda, v níž se obsah Se pohybuje v závislosti na půdním typu a geografických podmínkách mezi 0,25 až 0,37 ppm (Kabata-Pendias et al., 2000). V půdě se Se nachází v různých oxidačních stupních – selenid (Se^{2-}), selenit (SeO_3^{2-}) a selenát (SeO_4^{2-}) (Marschner, 1995), přičemž rostliny přednostně přijímají selenáty před selenity. Kromě toho může rostlina přijímat Se ve formě aminokyselin jako selenomethionin (Hlušek et al., 2005). Příjem Se rostlinou ovlivňuje půdní reakce, přičemž se stoupajícím pH dochází ke značnému snížení příjmu selenitu i selenátu. Pozitivní vliv na příjem Se má zvýšený obsah organické hmoty, sesquioxidy a jílové minerály (Øgaard et al., 2006).

V rostlinách byl Se identifikován v celé řadě sloučenin jako selenát, selenit, selenocystein, selenomethionin, selenomethylselenocystein atd. (Whanger, 2002). Největší množství Se v rostlinách je navázáno ve struktuře selenomethioninu, který obsahuje 50 a více procent Se z jeho obsahu v rostlině (Surai, 2006). Dalším zdrojem Se pro člověka může být maso (zejména rybí), které je na Se bohaté a obsahuje více Se než zelenina a ovoce. Se je však v maso z převážné části ve formě selenocysteinu, který je pro člověka biologicky méně přístupný oproti selenomethioninu v rostlinách (Poggi, 2000).

V lidském těle je Se součástí biologicky aktivních bílkovin. Nejdůležitější z nich je glutathionperoxidasa, která se podílí na ochraně lipoproteinových membrán proti působení toxických sloučenin kyslíku (Surai, 2006) a thioredoxin reduktáza, která se podílí na regeneraci antioxidačního systému a je součástí bílkovin podílejících se na produkci thyroïdního hormonu (Hawkesford, Zhao, 2007). Nedostatek Se negativně ovlivňuje fungování imunitního systému, mužských reprodukčních orgánů, štítné žlázy a také negativně působí na rozvoj astmatu či různých zánětů (Rayman, 2000).

Doporučený denní příjem Se je u dospělých jedinců 0,055 mg na den (Dietary Reference Intakes-DRI, 2000), ve většině zemí EU je však denní příjem Se pod touto úrovní (Matek et al., 2000). Brambory (*Solanum tuberosum*,) jsou rostlinou, ve které lze hnojením zvýšit obsah selenu. Při jejich konzumaci v ČR 80 kg za rok na osobu by mohli být jedním ze způsobů, jak zvýšit obsah Se ve výživě člověka.

Význam brambor jako neopomenutelné součásti jídelníčku člověka vyplývá kromě jiného také z příznivé skladby aminokyselin a hodnoty indexu esenciálních aminokyselin, které se pohybují okolo 83% vaječného standardu (Prugar et al., 2008).

Cílem pokusu bylo posoudit vliv různých způsobů hnojení selenem (půdní, foliární aplikace) na výnos bramborových hlíz a na obsah Se v sušených hlízách, vařených hlízách a

hranolcích a vliv aplikace Se na obsah semiesenciálních aminokyselin arginin a histidin (Arg, His) v hlízách brambor.

MATERIÁL A METODIKA

Maloparcelkový pokus byl založen metodou dělených dílců na pokusné stanici Školního zemědělského podniku MZLU v Žabčicích u Brna, která se nachází v nadmořské výšce 184 m n. m. Průměrná roční teplota lokality za posledních 30 let je 9,2°C a průměrný roční úhrn srážek 483,3 mm. Agrochemické vlastnosti zeminy před založením pokusu ukazují tab. 1.

Přístupné makroelementy (Ca, Mg, K, P) byly v půdě vyluhovány extrakčním činidlem Mehlich III. Obsah Ca, Mg, K byl stanoven metodou atomové absorpční spektrometrie (AAS), P kolorimetricky. Se byl po extrakci ve 2M HNO₃ stanoven metodou AAS a půdní reakce byla stanovena potenciometricky ve výluhu CaCl₂.

Tab. 1. Výsledky analýz půdy před založením pokusu (Mehlich III)

Druh stanovení	mg.kg ⁻¹ zeminy	Zásoba
Fosfor	87,5	dobrá
Draslík	204,8	dobrá
Hořčík	383,6	velmi vysoká
Vápník	3 399,2	vysoká
Selen (2M HNO ₃)	0,11	-
pH/CaCl ₂	6,07	slabě kyselá

V pokusu byly použity 2 odrůdy brambor raná Karin a poloraná Ditta, na nichž byla testována aplikace Se ve formě seleničitanu sodného (Na₂SeO₃) do půdy a foliárně ve čtyřech úrovních hnojení. Pokus byl porovnáván se Se nehnojenou variantou a byl založen ve čtyřech opakováních. Termín foliární aplikace byl zvolen pro dobu počátku tuberizace. Schéma pokusu uvádí tab. 2.

Tab. 2. Schéma založení pokusu

Varianta	Dávka Se.ha ⁻¹	Způsob aplikace	Termín aplikace
1.	0 - kontrola	-	-
2.	12 kg	do půdy	před založením
3.	24 kg	do půdy	před založením
4.	200 g	foliárně	21.5. 2007
5.	400 g	foliárně (děleně 200 + 200)	1. aplikace 21.5. 2007 2. aplikace 28.5. 2007

Vlastní výsadba pokusu proběhla 3.4. 2007 do sponu 0,75 x 0,25 m. V průběhu vegetace byly aplikovány pesticidy proti plevelům, mandelince bramborové (*Leptinotarsa decemlineata*) a plísni bramborové (*Phytophthora infestans*).

Odrůda Karin byla sklizena 2.7. 2007 tedy 99. den vegetace a Ditta 9.7. 2007 106. den vegetace. Hlízy byly omyty vodou a oloupany. Část oloupaných hlíz byla nakrájena na plátky a usušena při 60°C. Další část hlíz byla upravena vařením a nakonec část hlíz byla připravena smažením jako hranolky (teplota smažení 190°C). Následovně byly vařené brambory a hranolky usušeny při 60°C a zhomogenizovány na laboratorním mlýnku.

Mineralizace pro stanovení obsahu Se v různě tepelně zpracovaných vzorcích brambor byla provedena směsí HNO₃ a H₂O₂ v mikrovlnném zařízení MILESTONE MLS 1200 MEGA a následně byly vzorky analyzovány atomovým absorpčním spektrometrem UNICAM 939 „SOLAR“ metodou tvorby hydridů pomocí „vapor systém“ UNICAM VP 90.

Aminokyseliny (His, Arg) byly stanoveny po kyselé hydrolyze středotlakou kapalinovou chromatografií pomocí automatického analyzátoru aminokyselin AAA 400.

Výsledky byly statisticky zpracovány v programu STATISTICA 8 metodou vícefaktorová ANOVA s následným testováním dle Tukeye při 95% hladině významnosti.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Při hodnocení vlivu odrůdy a dávky Se na celkový výnos hlíz měly oba faktory statisticky průkazný vliv. Vyššího výnosu dosáhla odrůda Ditta (19,95 t.ha⁻¹) oproti Karin (12,33 t.ha⁻¹). U variant hnojených Se byl zjištěn průkazně nižší výnos u všech variant s aplikací Se do půdy v porovnání s kontrolní variantou a variantami hnojenými foliárně. V případě odrůdy Ditta nebyl při foliární aplikaci pokles výnosu brambor statisticky průkazný.

V případě odrůdy Karin se koncentrace Se v sušených hlízách (tab. 3) pravidelně zvyšovala v závislosti na dávce Se. Při aplikaci Se do půdy (12 a 24 kg Se.ha⁻¹) se jeho obsah v hlízách zvýšil 5,9krát respektive 8,15krát oproti Se nehnojené kontrole. Mezi jednotlivými variantami hnojenými Se do půdy však nebyl statisticky průkazný rozdíl. Podobný trend byl zaznamenán v případě foliární aplikace (200 a 400 g Se.ha⁻¹), kde došlo také k nárůstu obsahu Se v hlízách. V tomto případě se obsah Se zvýšil 2,4krát respektive 5,13krát v případě vyšší foliárně aplikované dávky. Mezi jednotlivými variantami s foliární aplikací také nebyly zaznamenány statisticky průkazné rozdíly. Při celkovém posouzení vlivu dávek Se na jeho koncentraci v hlízách oproti Se nehnojené kontrole došlo u všech Se hnojených variant ke statisticky průkaznému nárůstu obsahu Se. Pouze v případě 4. varianty nebyla zvýšená koncentrace Se statisticky průkazná.

U odrůdy Ditta měl nárůst obsahu Se v sušených hlízách brambor v podstatě stejný průběh jako v případě sušených hlíz odrůdy Karin. V případě dávek Se do půdy byly nárůsty koncentrace Se v hlízách statisticky průkazné oproti nehnojené kontrole. U foliární aplikace nebyl v případě obou Se hnojených variant odrůdy Ditta nárůst koncentrace Se statisticky prokázán. Podobných závěrů dosáhl Poggi et al. (2000) který popisuje při foliární aplikaci Se (50 a 150 g.ha⁻¹) lineárně se zvyšující jeho obsah v hlízách brambor a Jůzl et al. (2006), který došel k závěru, že obsah Se se zvyšoval se vzrůstající aplikovanou dávkou, přičemž již po aplikaci nejnižší dávky, tedy 100 g Se.ha⁻¹ foliárně, došlo k jeho 2,81násobnému zvýšení koncentrace v hlízách oproti Se nehnojené kontrole.

Závislost mezi koncentrací Se v hlíze a odrůdou nebyla prokázána. Mezi odrůdami v případě jednotlivých variant nebyly prokázány statistické rozdíly.

V experimentu byl dále hodnocen vliv dávek Se na jeho obsah ve vařených hlízách a v hranolcích. Po tepelné úpravě brambor byl zachován podobný trend v nárůstu koncentrace Se v daných výrobcích jako v případě sušených hlíz. Nárůst obsahu Se byl v případě vařených hlíz (tab. 4) ve všech Se hnojených variantách kromě varianty 4 statisticky průkazný.

Tab. 3. Vliv hnojení selenem na jeho obsah v sušených hlízách (mg.kg^{-1} sušiny)

Varianta	Karin			Ditta		
	mg.kg^{-1}	%	σ	mg.kg^{-1}	%	σ
1	0,200 b	100	0,000	0,227 b	100	0,039
2	1,180 acd	590	0,301	1,403 cd	618	0,401
3	1,630 d	815	0,273	1,006 acd	443	0,556
4	0,474 ab	237	0,128	0,654 ab	288	0,142
5	1,025 acd	513	0,439	0,809 abc	356	0,112

*stejná písmena označují neprůkazné rozdíly mezi variantami a odrůdami
 σ – směrodatná odchylka

Tab. 4. Vliv hnojení selenem na jeho obsah ve vařených hlízách (mg.kg^{-1} sušiny)

Varianta	Karin			Ditta		
	mg.kg^{-1}	%	σ	mg.kg^{-1}	%	σ
1	0,200 c	100	0,000	0,200 c	100	0,000
2	1,318 b	659	0,294	0,981 ab	491	0,563
3	1,373 b	687	0,230	0,884 ab	442	0,494
4	0,494 ac	247	0,181	0,552 ac	276	0,129
5	0,841 ab	421	0,121	0,989 ab	495	0,186

*stejná písmena označují neprůkazné rozdíly mezi variantami a odrůdami
 σ – směrodatná odchylka

Také v případě hranolků (tab. 5) byl zaznamenán statisticky průkazný nárůst obsahu Se pod vlivem stoupajících dávek Se do půdy oproti kontrole. V případě foliární aplikace Se byl statisticky průkazný nárůst zaznamenán pouze v případě odrůdy Karin při vyšší dávce Se (400 g Se.ha^{-1}).

Tab. 5. Vliv hnojení selenem na jeho obsah v hranolcích (mg.kg^{-1} sušiny)

Varianta	Karin			Ditta		
	mg.kg^{-1}	%	σ	mg.kg^{-1}	%	σ
1	0,249 a	100	0,060	0,200 a	100	0,000
2	0,945 bc	380	0,044	0,746 b	373	0,111
3	1,154 c	463	0,241	1,167 c	584	0,174
4	0,421 a	169	0,194	0,428 a	214	0,083
5	0,814 b	327	0,047	0,333 a	167	0,059

*stejná písmena označují neprůkazné rozdíly mezi variantami a odrůdami
 σ – směrodatná odchylka

Při hodnocení vlivu hnojení Se na obsah AMK argininu (tab. 6) v hlízách nebyl tento vztah statisticky prokázán a nebyl také statisticky prokázán rozdíl v obsahu Arg mezi odrůdami Karin a Ditta.

Tab. 6. Obsah AMK arginin v sušených hlízách (g.kg^{-1} sušiny)

Varianta	Karin			Ditta		
	g.kg^{-1}	%	σ	g.kg^{-1}	%	σ
1	3,091 a	100	0,166	2,320 a	100	0,045
2	2,850 a	92	0,079	2,502 a	108	0,051
3	2,733 a	88	0,124	2,569 a	111	0,070
4	2,795 a	90	0,176	3,335 a	144	1,438
5	2,804 a	91	0,016	2,401 a	103	0,008

*stejná písmena označují neprůkazné rozdíly mezi variantami a odrůdami
 σ – směrodatná odchylka

V případě AMK histidinu (tab. 7) došlo při aplikaci Se do půdy ke zvyšování koncentrace této AMK v hlízách odrůdy Ditta, přičemž v případě třetí varianty (24 kg Se.ha^{-1} do půdy) byl tento nárůst koncentrace statisticky průkazný oproti Se nehnojené kontrole. Naopak foliární aplikace způsobila u odrůdy Ditta pokles koncentrace His v hlízách. V případě vyšší foliární dávky Se (400 g Se.ha^{-1}) byl tento pokles statisticky průkazný oproti nehnojené kontrole.

U odrůdy Karin nebyl u půdní aplikace Se zaznamenán průkazný rozdíl v obsahu His v hlízách oproti Se nehnojené kontrole. Foliární aplikace způsobila v případě Karin pokles obsahu His v hlízách podobně jako u odrůdy Ditta. V případě vyšší foliárně aplikované dávky (400 g Se.ha^{-1}) byl tento pokles také statisticky průkazný.

Mezi odrůdami byl zaznamenán statisticky průkazný rozdíl pouze v případě třetí varianty, kdy obsah His odrůdy Ditta byl statisticky průkazně vyšší oproti Karin. Míčala (1978) uvádí, že podíly jednotlivých AMK se mohou měnit v závislosti na odrůdě a podmínkách pěstování.

Tab. 7. Obsah AMK histidin v sušených hlízách (g.kg^{-1} sušiny)

Varianta	Karin			Ditta		
	g.kg^{-1}	%	σ	g.kg^{-1}	%	σ
1	0,975 abc	100	0,031	1,017 bc	100	0,023
2	0,985 abc	101	0,033	1,085 cd	107	0,024
3	0,967 abc	99	0,051	1,165 d	115	0,051
4	0,885 ab	91	0,032	0,979 cd	96	0,031
5	0,898 ab	92	0,013	0,876 a	86	0,041

*stejná písmena označují neprůkazné rozdíly mezi variantami a odrůdami
 σ – směrodatná odchylka

ZÁVĚR

Z dosažených výsledků koncentrací Se v hlízách vyplývá vyšší účinnost foliární aplikace Se (g.ha^{-1}) oproti jeho aplikaci do půdy (kg.ha^{-1}) a také slabší účinek na výnos hlíz. Dalším faktorem, na jehož základě můžeme upřednostnit foliární aplikaci, je finanční náročnost, kdy mnohonásobně nižší dávky Se na ha nebudou mít tak enormní vliv na finanční náklady spojené s aplikací hnojiva.

Obsah Arg a His v hlízách lze považovat za odrůdovou vlastnost, přičemž vlivem dávek Se se koncentrace Arg nijak neměnila. V případě His odrůda Ditta pozitivně reagovala na půdní aplikaci Se zvýšením koncentrace této AMK v hlízách. Foliární aplikace koncentrací His v případě obou odrůd snižovala.

LITERATURA

- Dietary Reference Intakes (DRI) (2000): National research council. Washington, National Academy Press: 284-319.
- Hawkesford, J. M., Zhao, F. J. (2007): Strategies for increasing the selenium content of wheat. *Journal of Cereal Science*, 46 (3): 282-292.
- Hlušek, J., Jůzl, M., Čepl, J., Lošák, T. (2005): Vliv přidávání sloučenin selenu do půdy na obsah sloučenin selenu v hlízách brambor. *Chemické listy*, 99 (7): 515-517.
- Jůzl, M., Hlušek, J., Čepl, J., Elzner, P., Čížek, M. (2006): Zvyšování nutriční kvality brambor. *Bramborářství*, 14 (5): 8-9.
- Kabata-Pendias, A., Pendias, H. (2000): Trace elements in soils and plants. 3rd ed. CRC Press, Boca Raton: 413 p.
- Marschner, H. (1995): Mineral nutrition of higher plants. Academic Press Limited, London: 889 p.
- Matek, M., Blanusa, M., Grgić, J. (2000): Determination of the daily dietary selenium intake in Croatia. *European Food Research and Technology*, 210 (3): 155-160.
- Míča, B. (1974): Vliv skladování a vaření na obsah volných aminokyselin u brambor. *Rostlinná výroba*, 24 (7): 731-737.
- Øgaard, F. A., Sogn, A. T., Grotvold, E., S. (2006): Effect of cattle manure on selenate and selenite retention in soil. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 76 (1): 39-48.
- Poggi, V., Arcioni, A., Filippini, P., Pifferi, G. P. (2000): Foliar application of selenite and selenate to potato (*Solanum tuberosum*): Effect of a ligand agent on selenium content of tubers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 (10): 4749-4751.
- Prugar, J. a kol. (2008): Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a. s., Komise jakosti rostlinných produktů ČAZV, Praha: 327 s.
- Rayman, M. P. (2000): The importance of selenium to human health. *Lancet*, 356 (9225): 233-241.
- Surai F P. (2006): Selenium in nutrition and health. Nottingham University Press: 974 p.
- Whanger, P.D. (2002): Selenocompounds in plants and animals and their biological significance. *Journal of the American College of Nutrition*, 21 (3): 223-232.

EFFICACY OF DIFFERENT FUNGICIDE PROGRAMMES AGAINST LATE BLIGHT OF POTATO IN SELECTED VARIETIES

ÚČINNOST RŮZNÝCH FUNGICIDNÍCH PROGRAMŮ PROTI PLÍSNI BRAMBORU U VYBRANÝCH ODRŮD

Kmoch¹ M., Hausvater² E., Pokorný¹ R.

¹ Department of Crop Science, Breeding and Plant Medicine, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

² Department of Protection, Potato Research Institute, Dobrovského 2366, Havlíčkův Brod, 580 01, Czech Republic

E-mail: xkmoch@node.mendelu.cz, hausvater@vubhb.cz, pokorny0@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The scientific work was aimed at the most worldwide important and dangerous pathogen of potato (*Solanum tuberosum* L.), *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary from kingdom *Chromista*, which causes the disease, called late blight of potato. It can cause important losses of yield and quality of potato tubers. The main aim of this work was to evaluate efficacy of several fungicide programmes against this pathogen. These programmes were evaluated in several potato varieties (Adéla, Asterix, Bionta, Kordoba, Magda, Minerva, Rosara, Solara, Riviera) in the years 2006 and 2007. According to results, the meteorological conditions of particular year influenced the infection of potato plants. It is necessary to adapt pathogen control in connection with different meteorological conditions. Fungicide programmes with early control (before negative forecast) and control according to forecast were the most efficacious in the majority of potato varieties in the year 2006. The sequence of fungicides in this programme was Ridomil Gold MZ 68 WP (metalaxyl-M 4% and mancozeb 64 %), Casoar (prophamocarb-hydrochloride 375 g and chlorothalonil 375 g), 3 x Altima 500 SC (fluazinam 500 g). We can conclude from general evaluation, that programmes with early and intensive control by the most efficacious fungicides should be applied on stands with susceptible varieties.

Key words: fungicides, varieties, *Solanum tuberosum*, *Phytophthora infestans*

Acknowledgments: Pokusy v této práci spadaly pod projekt s názvem NAZV – QG 50055.

ÚVOD

Lilek brambor (*Solanum tuberosum* L., 1753) patří do čeledi lilkovitých (*Solanaceae*). Jeho původní domovinou je Jižní Amerika (podhorské a horské oblasti And v dnešním Peru). Horské oblasti Peru, Bolívie a Chile jsou dnes centrem biodiverzity bramboru s velkým množstvím místních odrůd a „divokých“ (planých) příbuzných.

S pěstováním brambor se v našich krajích nesměle začalo již na počátku 18. století, ale větší rozšíření se datuje až do druhé poloviny 19. století. Bramborářství má v České republice již tradici. Je moderní, srovnatelné s bramborářstvím zemí s podobnými přírodními podmínkami, schopné plně zajistit potřebu domácího trhu. V současné době patří brambory k jedné z nejvýznamnějších zemědělských plodin a jsou nepostradatelnou součástí jídelníčku nejen díky své nutriční hodnotě, ale i dostupnosti. Plochy jejich pěstování se v posledních letech stále mění, zvláště v posledních letech, kdy dochází ke snižování výměry.

Brambor patří mezi rostliny, které jsou napadány celou řadou patogenů s různým významem. Jsou to organismy z říše *Chromista* (mezi ně patří *Phytophthora infestans*), houby, viry, viroidy, bakterie, aktinomycety a mykoplazmy. Poškozovány jsou jimi jak nadzemní tak i podzemní části. Poškození listů a stonků znamená redukci asimilačního aparátu a to má negativní vliv na výkon fotosyntézy. Poškození kořenů a stolonů má obvykle nepříznivý dopad na další růst a vývoj rostliny. Při napadení hlíz je ovlivněna jejich kvalita, omezuje se tržní využití a v některých případech jsou hlízy zcela znehodnoceny. Výskyt onemocnění ve většině případů znamená výrazné snížení produkce. Brambor za určitých podmínek (nevhodná teplota, vlhkost, půda, výživa aj.) trpí i abiotickými poruchami. Mimo to je napadán mnohými škůdci. Některé choroby a škůdci mají karanténní charakter a vztahují se na ně zvláštní rostlinolékařská nařízení.

Největší škody z „houbových“ patogenů (i když správně podle taxonomického zařazení by se mělo říkat „chromistových“) způsobuje pěstitelům brambor patogen *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary 1876, který vyvolává chorobu s názvem plíseň bramboru. Plíseň je stálým ohrožením produkce brambor po celém světě. Zdokonalení ochrany proti tomuto patogenu je dlouhodobým cílem základního a aplikovaného výzkumu. Důkladné znalosti biologie, ekologie a epidemiologie patogenu, pochopení mechanismů, procesů a stupňů jeho evoluce jsou důležitým předpokladem pro požadovanou účinnost ochranných opatření a tím i pro úspěšné pěstování bramboru a uplatňování této komodity na trhu.

Vhodné zvolení fungicidu (správně „chromistocidu“) a správná volba fungicidního programu by měly být jedním z mnoha možných způsobů eliminace působení tohoto patogenu na rostlinu bramboru a také k omezení jeho případného vzniku rezistence k některým účinným látkám při opakované aplikaci tzv. jednoplohových fungicidů. Volba nejvhodnějšího fungicidního sledu je významná nejen z hlediska účinnosti ochranného zásahu a možného rizika vytvoření rezistence patogenu k fungicidům, ale i z hlediska ekonomického.

I přes omezování využívání chemických přípravků na ochranu rostlin v posledních letech, je stále používání těchto látek nedílnou součástí intenzifikace zemědělské výroby.

MATERIÁL A METODIKA

Název metodiky dle EPPO: Phytophthora infestans on potatoe P1/2(3).

Obecná charakteristika lokality provádění pokusu

Maloparcelkové přesné polní pokusy byly provedeny v rocích 2006 a 2007 ve Výzkumném ústavu bramborářském Havlíčkův Brod, s.r.o na pokusné stanici Valečov. Výzkumný ústav bramborářský se nachází v bramborářské výrobní oblasti v nadmořské výšce 455 m n. m. Průměrná roční teplota je zde 7,2 °C a průměrná teplota během vegetace 12,6 °C. Průměrný roční úhrn srážek je 691,6 mm a úhrn průměrných srážek během vegetace 403,3 mm. Vyskytují se zde hlinitopísčité půdy.

Uspořádání pokusu

V pokusu bylo zařazeno 5 variant:

1. varianta – kontrola
2. varianta – časné ošetření (ještě před negativní prognózou)
sled: Ridomil Gold MZ 68 WP, Casoar, 3 x Altima 500 SC
3. varianta – ošetření podle negativní prognózy
sled: jako u varianty 2
4. varianta – ošetření podle negativní prognózy
sled: 2 x Novozir MN 80, 2 x Electis, 2 x Altima 500 SC
5. varianta – úsporná ošetření (dlouhé intervaly)
sled: 3 x Altima 500 SC

Pokus byl veden ve 4 opakováních od každé varianty na pokusných parcelkách o rozměrech 7,5 x 3 m (plocha jedné parcelky 22,5 m²). Na každé parcelce byly 4 řádky po 25 rostlinách. Rostliny byly vysazeny do sponu 0,75 x 0,3 m, tj. 100 rostlin na parcelku (44 444 rostlin x ha⁻¹). Do pokusu bylo zařazeno 9 odrůd bramboru (Adéla, Asterix, Bionta, Kordoba, Magda, Minerva, Rosara, Solara, Riviera).

Způsob hodnocení a vyhodnocení pokusu

Veškerá hodnocení byla vykonávána na dvou prostředních řádcích pokusné parcelky (tj. na 50 rostlinách v každém opakování). V době očekávání výskytu byla prováděna důkladná prohlídka porostu s cílem nalézt první symptomy napadení patogenem. Výnos se zjišťoval bezprostředně po sklizni. Hlízy sklizené ze dvou prostředních řádků byly zváženy a výnos byl vyjádřen v kg. Napadení hlíz hodnoceno na omytých a rozkrojených hlízách 3 týdny po sklizni. Napadení bylo vyjádřeno jako % celkového počtu hodnocených hlíz.

Statistické vyhodnocení takto založeného pokusu bylo provedeno pomocí dvoufaktorové analýzy rozptylu (faktor vlivu fungicidního programu) a jednofaktorové

analýzy rozptylu (faktor vlivu odrůdy na napadení) za použitím statistického programu UNISTAT 5.1.

Meteorologická data v pokusných letech

Veškerá meteorologická data byla získávána pomocí automatické meteorologické stanice umístěné přímo v porostu bramboru.

Termíny ošetřování porostu v roce 2006

1. ošetření: 7. 7. 2006 (pouze varianta 2)
2. ošetření: 17. 7. 2006 (varianta 2, 3, 4, 5)
3. ošetření: 25. 7. 2006 (varianta 2, 3, 4)
4. ošetření: 3. 8. 2006 (varianta 2, 3, 4, 5)
5. ošetření: 10. 8. 2006 (varianta 2, 3, 4)
6. ošetření: 23. 8. 2006 (varianta 2, 3, 4, 5)

Termíny ošetřování porostu v roce 2007

1. ošetření: 15. 6. 2007 (pouze varianta 2)
2. ošetření: 2. 7. 2007 (všechny varianty)
3. ošetření: 11. 7. 2007 (všechny varianty)
4. ošetření: 20. 7. 2007 (všechny varianty)
5. ošetření: 1. 8. 2007 (všechny varianty, pouze 2. 7., 20. 7., 13. 8., 3 x Altima 500 SC)
6. ošetření: 13. 8. 2007 (všechny varianty)
7. ošetření: 20. 8. 2007 (všechny varianty, pouze odrůda Adéla, Asterix, Bionta, u zbývajících odrůd již chyběla nat')

VÝSLEDKY A DISKUZE

Fungicidní programy u jednotlivých odrůd

Pro zjištění účinnosti fungicidních programů u každé odrůdy byly sledy (varianty) vyhodnoceny v jednotlivých letech pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu a mnohonásobného porovnávání dle Tukey-HSD a pro zhodnocení za oba dva ročníky včetně rozdílů mezi ročníky byla použita dvoufaktorová analýza rozptylu a mnohonásobné porovnávání dle Tukey-HSD. Hladina významnosti byla všude $\alpha = 0,05$.

Odrůda Adéla

U odrůdy Adéla nebyly zjištěny žádné statisticky průkazné rozdíly mezi variantami jak v roce 2006, tak i v roce 2007 u všech hodnocených ukazatelů (Tab. 1 a 2).

Byly však statisticky prokázány rozdíly mezi ročníky, a to u počtu napadených hlíz (v roce 2006 vyšší napadení hlíz), počtu hlíz celkem (v roce 2007 vyšší celkový počet hlíz), % napadených hlíz (v roce 2006 vyšší % napadených hlíz) a hmotnosti hlíz celkem (v roce 2006 vyšší celková hmotnost hlíz) (Tab. 3).

Při porovnání variant v průměru obou ročníků nebyly prokázány statisticky významné rozdíly u žádného hodnoceného ukazatele (Tab. 3).

Tab. 1 Vliv fungicidních programů – odrůda Adéla, rok 2006 (jednofaktorová analýza)

Varianta	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
1	6,3 a	449,8 a	1,5 a	0,64 a	51,7 a	1,27 a
2	0,8 a	436,3 a	0,2 a	0,03 a	58,9 a	0,04 a
3	0,5 a	436,5 a	0,1 a	0,03 a	58,4 a	0,04 a
4	0,5 a	441,5 a	0,1 a	0,02 a	76,8 a	0,04 a
5	4,0 a	412,0 a	1,0 a	0,40 a	54,2 a	0,74 a

Tab. 2 Vliv fungicidních programů – odrůda Adéla, rok 2007 (jednofaktorová analýza)

Varianta	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
1	0 a	643,5 a	0 a	0 a	43,4 a	0 a
2	0 a	571,3 a	0 a	0 a	41,8 a	0 a
3	0 a	670,5 a	0 a	0 a	49,1 a	0 a
4	0 a	657,3 a	0 a	0 a	45,4 a	0 a
5	0 a	673,5 a	0 a	0 a	42,1 a	0 a

Tab. 3 Vliv fungicidních programů – odrůda Adéla, rok 2006 a 2007 (dvoufaktor. a.)

	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
Rok						
2006	2,4 b	435,2 a	0,6 b	0,2 a	60,0 b	0,4 a
2007	0,0 a	643,2 b	0,0 a	0,0 a	44,4 a	0,0 a
Varianta						
1	3,1 a	546,6 a	0,73 a	0,32 a	47,6 a	0,64 a
2	0,4 a	503,8 a	0,09 a	0,01 a	50,4 a	0,02 a
3	0,3 a	553,5 a	0,05 a	0,01 a	53,7 a	0,02 a
4	0,3 a	549,4 a	0,06 a	0,01 a	61,1 a	0,02 a
5	2,0 a	542,8 a	0,50 a	0,20 a	48,2 a	0,37 a

Odrůda Asterix

U odrůdy Asterix byly zjištěny statisticky průkazné rozdíly u hmotnosti hlíz celkem v roce 2006 u varianty 2 a 3, přičemž tyto varianty měly významně vyšší hmotnost ve srovnání s ostatními variantami (Tab. 4).

Statisticky významné rozdíly v roce 2007 nebyly prokázány u žádného hodnoceného ukazatele (Tab. 5).

Další statisticky průkazné rozdíly byly zjištěny mezi ročníky, a to u počtu napadených hlíz (v roce 2006 vyšší počet napadených hlíz), celkového počtu hlíz (v roce 2007 vyšší celkový počet hlíz), % napadených hlíz (v roce 2006 vyšší % napadených hlíz), hmotnosti napadených hlíz (v roce 2006 vyšší hmotnost napadených hlíz) a hmotnosti napadených hlíz vyjádřené v % (v roce 2006 vyšší hmotnost napadených hlíz) (Tab. 6).

Při porovnání variant v průměru obou ročníků byl zjištěn statisticky významný rozdíl u hmotnosti hlíz celkem u varianty 2 a 3, přičemž tyto varianty měly významně vyšší celkovou hmotnost hlíz ve srovnání s ostatními variantami (Tab.6).

Tab. 4 Vliv fungicidních programů – odrůda Asterix, rok 2006 (jednofaktorová analýza)

Varianta	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
1	4,5 a	474,3 a	1,0 a	0,20 a	33,9 a	0,5 a
2	2,5 a	507,3 a	0,5 a	0,30 a	54,4 b	0,5 a
3	2,3 a	463,5 a	0,5 a	0,10 a	51,2 b	0,3 a
4	3,5 a	466,0 a	0,8 a	0,20 a	39,2 a	0,6 a
5	1,0 a	472,0 a	0,2 a	0,10 a	39,4 a	0,2 a

Tab. 5 Vliv fungicidních programů – odrůda Asterix, rok 2007 (jednofaktorová analýza)

Varianta	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
1	0,3 a	517,3 a	0,05 a	0,01 a	43,4 a	0,01 a
2	0,5 a	509,5 a	0,10 a	0,01 a	45,6 a	0,03 a
3	0,3 a	546,3 a	0,05 a	0,01 a	48,3 a	0,01 a
4	0,0 a	508,3 a	0,00 a	0,00 a	43,6 a	0,00 a
5	0,5 a	505,5 a	0,10 a	0,03 a	43,2 a	0,06 a

Tab. 6 Vliv fungicidních programů – odrůda Asterix, rok 2006 a 2007 (dvoufakt. a.)

	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
Rok						
2006	2,8 b	476,6 a	0,6 b	0,20 b	43,6 a	0,40 b
2007	0,3 a	517,4 b	0,1 a	0,10 a	44,8 a	0,02 a
Varianta						
1	2,4 a	495,8 a	0,5 a	0,10 a	38,7 a	0,3 a
2	1,5 a	508,4 a	0,3 a	0,10 a	50,0 b	0,2 a
3	1,3 a	504,9 a	0,3 a	0,06 a	49,7 b	0,1 a
4	1,8 a	487,1 a	0,4 a	0,10 a	41,4 a	0,3 a
5	0,8 a	488,9 a	0,2 a	0,04 a	41,3 a	0,1 a

Odrůda Bionta

U odrůdy Bionta nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl v roce 2006 i v roce 2007 u žádného sledovaného ukazatele (Tab. 7 a 8).

V porovnání obou ročníků byl zjištěn průkazný rozdíl jenom u počtu hlíz celkem (v roce 2006 vyšší celkový počet hlíz) (Tab. 9).

Další statisticky významný rozdíl byl prokázán při porovnání variant v průměru obou ročníků u hmotnosti hlíz celkem u varianty 2 (nejvyšší celková hmotnost hlíz) (Tab. 9).

Tab. 7 Vliv fungicidních programů – odrůda Bionta, rok 2006 (jednofaktorová analýza)

Varianta	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
1	3,0 a	589,0 a	0,51 a	0,12 a	53,0 a	0,21 a
2	0,5 a	606,5 a	0,08 a	0,18 a	62,6 a	0,28 a
3	1,8 a	599,0 a	0,27 a	0,14 a	59,6 a	0,24 a
4	1,5 a	607,3 a	0,25 a	0,11 a	59,7 a	0,19 a
5	2,0 a	554,0 a	0,36 a	0,14 a	56,6 a	0,24 a

Tab. 8 Vliv fungicidních programů – odrůda Bionta, rok 2007 (jednofaktorová analýza)

Varianta	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
1	2,8 a	510,5 a	0,54 a	0,18 a	51,5 a	0,36 a
2	1,3 a	491,5 a	0,25 a	0,08 a	58,8 a	0,13 a
3	2,0 a	512,8 a	0,40 a	0,21 a	59,5 a	0,35 a
4	0,5 a	515,3 a	0,09 a	0,02 a	57,6 a	0,03 a
5	1,3 a	517,8 a	0,24 a	0,12 a	58,4 a	0,20 a

Tab. 9 Vliv fungicidních programů – odrůda Bionta, rok 2006 a 2007 (dvoufakt. a.)

	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
Rok						
2006	1,8 a	591,2 b	0,29 a	0,14 a	58,3 a	0,23 a
2007	1,6 a	509,6 a	0,30 a	0,12 a	57,2 a	0,21 a
Varianta						
1	2,9 a	549,8 a	0,52 a	0,15 a	52,2 a	0,29 a
2	0,9 a	549,0 a	0,16 a	0,13 a	60,7 b	0,20 a
3	1,9 a	555,9 a	0,34 a	0,18 a	59,6 ab	0,30 a
4	1,0 a	561,3 a	0,17 a	0,07 a	58,6 ab	0,11 a
5	1,6 a	535,9 a	0,30 a	0,13 a	57,5 ab	0,22 a

Odrůda Kordoba

U odrůdy Kordoba nebyl zjištěn jak v roce 2006, tak i v roce 2007 statisticky průkazný rozdíl u žádného hodnoceného ukazatele (Tab. 10 a 11).

Průkazný rozdíl byl zjištěn v porovnání obou ročníků u všech sledovaných ukazatelů, a to počtu napadených hlíz (v roce 2006 vyšší počet napadení hlíz), počtu hlíz celkem (v roce 2007 vyšší celkový počet hlíz), % napadených hlíz (v roce 2006 vyšší % napadených hlíz), hmotnosti napadených hlíz (v roce 2006 vyšší hmotnost napadených hlíz), hmotnosti hlíz celkem (v roce 2006 vyšší celková hmotnost hlíz) a hmotnosti napadených hlíz vyjádřené v % (v roce 2006 vyšší hmotnost napadených hlíz) (Tab. 12).

Při porovnání variant v průměru obou ročníků nebyl zjištěn mezi variantami statisticky průkazný rozdíl u žádného ukazatele (Tab. 12).

Tab. 10 Vliv fungicidních programů – odrůda Kordoba, rok 2006 (jednofaktorová a.)

Varianta	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
1	14,0 a	416,5 a	3,38 a	0,90 a	38,6 a	2,36 a
2	23,8 a	428,5 a	5,46 a	2,18 a	46,2 a	5,17 a
3	23,0 a	412,0 a	5,10 a	1,63 a	43,8 a	3,78 a
4	8,5 a	403,5 a	2,09 a	0,54 a	44,3 a	1,19 a
5	22,8 a	397,5 a	5,74 a	1,28 a	40,4 a	3,16 a

Tab. 11 Vliv fungicidních programů – odrůda Kordoba, rok 2007 (jednofaktorová a.)

Varianta	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
1	0,5 a	416,3 a	0,10 a	0,01 a	37,4 a	0,03 a
2	1,0 a	514,0 a	0,20 a	0,02 a	36,6 a	0,04 a
3	0,8 a	499,3 a	0,16 a	0,04 a	38,7 a	0,11 a
4	1,8 a	510,5 a	0,38 a	0,11 a	37,1 a	0,31 a
5	0,0 a	523,8 a	0,00 a	0,00 a	35,9 a	0,00 a

Tab. 12 Vliv fungicidních programů – odrůda Kordoba, rok 2006 a 2007 (dvoufakt. a.)

	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
Rok						
2006	18,4 b	411,6 a	4,4 b	1,30 b	42,7 b	3,10 b
2007	0,8 a	512,8 b	0,2 a	0,04 a	37,1 a	0,10 a
Varianta						
1	7,3 a	466,4 a	1,74 a	0,46 a	37,0 a	1,20 a
2	12,4 a	471,3 a	2,83 a	1,10 a	41,4 a	2,61 a
3	11,9 a	455,6 a	2,63 a	0,83 a	41,3 a	1,94 a
4	5,1 a	457,0 a	1,24 a	0,33 a	40,7 a	0,75 a
5	11,4 a	460,6 a	2,87 a	0,64 a	38,2 a	1,58 a

Odrůda Magda

U odrůdy Magda nebyl zjištěn v roce 2006 i v roce 2007 statisticky průkazný rozdíl u žádného ukazatele (Tab. 13 a 14).

Průkazný rozdíl byl zjištěn mezi ročníky u počtu hlíz celkem (v roce 2007 vyšší celkový počet napadených hlíz a hmotnosti hlíz celkem (v roce 2007 vyšší celková hmotnost hlíz) (Tab. 15).

Při porovnání variant v průměru obou ročníků nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl u žádného sledovaného ukazatele (Tab. 15).

Tab. 13 Vliv fungicidních programů – odrůda Magda, rok 2006 (jednofaktorová a.)

Varianta	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
1	0,25 a	378,5 a	0,07 a	0,03 a	32,3 a	0,10 a
2	0,25 a	389,3 a	0,07 a	0,02 a	34,8 a	0,06 a
3	0,50 a	384,5 a	0,13 a	0,01 a	32,7 a	0,02 a
4	0,25 a	383,0 a	0,06 a	0,01 a	32,4 a	0,02 a
5	0,25 a	371,0 a	0,07 a	0,00 a	31,1 a	0,01 a

Tab. 14 Vliv fungicidních programů – odrůda Magda, rok 2007 (jednofaktorová a.)

Varianta	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
1	0,5 a	591,3 a	0,08 a	0,04 a	41,9 a	0,07 a
2	0,3 a	598,3 a	0,04 a	0,23 a	39,0 a	0,52 a
3	0,0 a	606,5 a	0,00 a	0,00 a	43,0 a	0,00 a
4	0,3 a	583,8 a	0,04 a	0,01 a	40,5 a	0,01 a
5	0,3 a	582,0 a	0,04 a	0,01 a	38,8 a	0,02 a

Tab. 15 Vliv fungicidních programů – odrůda Magda, rok 2006 a 2007 (dvoufakt. a.)

	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
Rok						
2006	0,3 a	381,3 a	0,08 a	0,01 a	32,7 a	0,04 a
2007	0,3 a	592,4 b	0,04 a	0,05 a	41,0 b	0,12 a
Varianta						
1	0,4 a	484,9 a	0,07 a	0,03 a	37,1 a	0,09 a
2	0,3 a	493,8 a	0,05 a	0,12 a	37,4 a	0,29 a
3	0,3 a	495,5 a	0,06 a	0,00 a	38,3 a	0,01 a
4	0,3 a	483,4 a	0,05 a	0,01 a	36,4 a	0,01 a
5	0,3 a	476,5 a	0,06 a	0,01 a	34,9 a	0,01 a

Odrůda Minerva

U odrůdy Minerva byly zjištěny statisticky průkazné rozdíly v roce 2006 u % napadených hlíz, kde varianta 2 měla nejnižší % napadených hlíz. Další průkazný rozdíl byl u hmotnosti napadených hlíz, kde varianta 2 zaznamenala nejnižší hmotnost napadených hlíz, hmotnosti hlíz celkem, kde u varianty 2 byla nejvyšší celková hmotnost hlíz a hmotnosti napadených hlíz vyjádřenou v %, kde u varianty 2 a 3 byla zaznamenána nejnižší hmotnost napadených hlíz) (Tab. 16).

V roce 2007 nebyl zjištěn průkazný rozdíl u žádného hodnoceného ukazatele (Tab. 17).

Při porovnání obou ročníků byl prokázán rozdíl u počtu napadených hlíz (v roce 2006 vyšší počet napadených hlíz), počtu hlíz celkem (v roce 2007 vyšší celkový počet hlíz), % napadených hlíz (v roce 2006 vyšší % napadených hlíz), hmotnosti napadených hlíz (v roce 2006 vyšší hmotnost napadených hlíz) a hmotnosti napadených hlíz vyjádřené v % (v roce 2006 vyšší hmotnost napadených hlíz vyjádřená v %). Mezi variantami v průměru obou ročníků byl zjištěn významný rozdíl jenom u ukazatele hmotnost hlíz celkem, kde u varianty 2 byla nejvyšší celková hmotnost hlíz (Tab. 18).

Tab. 16 Vliv fungicidních programů – odrůda Minerva, rok 2006 (jednofaktorová a.)

Varianta	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
1	21,0 ab	408,0 a	5,21 bc	1,68 bc	38,3 a	4,48 c
2	4,5 a	447,5a	1,00 a	0,31 a	43,3 b	0,72 a
3	7,5 a	414,5 a	1,82 ab	0,72 ab	42,0 ab	1,71 ab
4	20,5 ab	417,0 a	4,88 abc	1,70 bc	39,6 ab	4,26 bc
5	30,0 b	440,0 a	6,83 c	1,91 c	38,1 a	4,93 c

Tab. 17 Vliv fungicidních programů – odrůda Minerva, rok 2007 (jednofaktorová a.)

Varianta	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
1	4,0 a	470,8 a	0,84 a	0,20 a	34,1 a	0,53 a
2	2,5 a	565,8 a	0,45 a	0,10 a	43,0 a	0,24 a
3	1,3 a	555,5 a	0,22 a	0,12 a	40,6 a	0,28 a
4	9,3 a	564,8 a	1,54 a	0,85 a	44,1 a	1,77 a
5	1,0 a	534,8 a	0,20 a	0,05 a	40,3 a	0,13 a

Tab. 18 Vliv fungicidních programů – odrůda Minerva, rok 2006 a 2007 (dvoufakt. a.)

	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
Rok						
2006	16,7 b	425,4 a	3,95 b	1,26 b	40,2 a	3,22 b
2007	3,6 a	538,3 b	0,65 a	0,26 a	40,4 a	0,59 a
Varianta						
1	12,5 a	439,4 a	3,02 a	0,94 a	36,2 a	2,51 a
2	3,5 a	506,6 a	0,72 a	0,21 a	43,2 b	0,48 a
3	4,4 a	485,0 a	1,02 a	0,42 a	41,3 ab	1,00 a
4	14,9 a	490,9 a	3,21 a	1,27 a	41,9 ab	3,02 a
5	15,5 a	487,4 a	3,51 a	0,98 a	39,2 ab	2,53 a

Odrůda Riviera

U odrůdy Riviera byl zjištěn statisticky významný rozdíl v roce 2006 u hmotnosti hlíz celkem, kde varianty 2 a 3 mají nejvyšší celkovou hmotnost hlíz (Tab. 19).

V roce 2007 nebyly prokázány průkazné rozdíly u žádné varianty u žádného sledovaného ukazatele (Tab. 20).

Při porovnání variant obou ročníků byl prokázán rozdíl u počtu napadených hlíz (v roce 2006 vyšší počet napadených hlíz), počtu hlíz celkem (v roce 2007 vyšší celkový počet hlíz), % napadených hlíz (v roce 2006 vyšší % napadených hlíz), hmotnosti napadených hlíz (v roce 2006 vyšší hmotnost napadených hlíz), hmotnosti hlíz celkem (v roce 2006 vyšší celková hmotnost hlíz) a hmotnost napadených hlíz vyjádřené v % (v roce 2006 vyšší hmotnost napadených hlíz vyjádřená v %).

U variant v průměru obou ročníků nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl u žádného sledovaného ukazatele (Tab. 21).

Tab. 19 Vliv fungicidních programů – odrůda Riviera, rok 2006 (jednofaktorová a.)

Varianta	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
1	59,0 a	356,0 ab	16,41 a	3,69 a	31,7 a	12,27 a
2	2,0 a	359,0 ab	0,56 a	0,11 a	40,5 b	0,28 a
3	2,0 a	371,0 b	0,53 a	0,13 a	40,1 b	0,28 a
4	66,0 a	335,5 a	20,24 a	3,41 a	32,6 ab	10,67 a
5	39,5 a	330,0 a	11,98 a	2,76 a	34,3 ab	8,04 a

Tab. 20 Vliv fungicidních programů – odrůda Riviera, rok 2007 (jednofaktorová a.)

Varianta	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
1	3,0 a	437,0 a	0,63 a	0,09 a	28,3 a	0,32 a
2	0,5 a	521,3 a	0,09 a	0,03 a	34,2 a	0,10 a
3	0,5 a	349,3 a	0,09 a	0,11 a	22,4 a	0,27 a
4	2,3 a	375,0 a	0,45 a	0,15 a	24,5 a	0,42 a
5	2,8 a	491,3 a	0,54 a	0,14 a	32,9 a	0,45 a

Tab. 21 Vliv fungicidních programů – odrůda Riviera, rok 2006 a 2007 (dvoufakt. a.)

	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
Rok						
2006	33,7 b	350,3 a	10,0 b	2,0 b	35,9 b	6,3 b
2007	1,8 a	434,8 b	0,4 a	0,1 a	28,5 a	0,3 a
Varianta						
1	31,0 a	396,5 a	8,56 a	1,89 a	30,0 a	6,29 a
2	1,3 a	440,1 a	0,33 a	0,07 a	37,4 a	0,19 a
3	1,3 a	360,1 a	0,31 a	0,12 a	31,2 a	0,28 a
4	34,1 a	355,3 a	10,34 a	1,78 a	28,6 a	5,55 a
5	21,1 a	410,6 a	6,26 a	1,45 a	33,6 a	4,25 a

Odrůda Rosara

U odrůdy Rosara nebyl zjištěn v roce 2006 statisticky průkazný rozdíl u žádného ukazatele při porovnání s variantou 1 (kontrola). Pouze byl nalezen průkazný rozdíl u počtu napadených hlíz mezi variantou 5 a variantami 2 a 3, přičemž varianty 2 a 3 vykázaly významně nižší počet napadených hlíz. Rovněž u % napadených hlíz byl zjištěn významný

rozdíl mezi variantou 5 a variantami 2 a 3, přičemž varianty 2 a 3 měly průkazně nižší % napadených hlíz (Tab. 22).

Průkazný rozdíl nebyl zjištěn v roce 2007 u žádného sledovaného ukazatele (Tab. 23). Další statisticky významný rozdíl byl zjištěn v porovnání obou ročníků u počtu napadených hlíz (v roce 2006 vyšší počet napadených hlíz), počtu hlíz celkem (v roce 2007 vyšší celkový počet hlíz), % napadených hlíz (v roce 2006 vyšší % napadených hlíz), hmotnosti napadených hlíz (v roce 2006 vyšší hmotnost napadených hlíz) a hmotnosti napadených hlíz vyjádřené v % (v roce 2006 vyšší hmotnost napadených hlíz vyjádřená v %) (Tab. 24).

Při porovnání variant v průměru obou ročníků nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl u žádného ukazatele (Tab. 24).

Tab. 22 Vliv fungicidních programů – odrůda Rosara, rok 2006 (jednofaktorová a.)

Varianta	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
1	5,3 ab	480,3 a	0,18 ab	0,18 a	35,4 a	0,50 a
2	2,0 a	529,5 a	0,37 a	0,07 a	44,3 a	0,16 a
3	1,8 a	512,0 a	0,34 a	0,09 a	47,2 a	0,23 a
4	6,0 ab	484,8 a	1,25 ab	0,27 a	38,6 a	0,69 a
5	10,8 b	512,8 a	2,09 b	0,35 a	39,1 a	0,87 a

Tab. 23 Vliv fungicidních programů – odrůda Rosara, rok 2007 (jednofaktorová a.)

Varianta	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
1	0,0 a	562,0 a	0,00 a	0,00 a	42,7 a	0,00 a
2	0,0 a	528,8 a	0,00 a	0,00 a	39,3 a	0,00 a
3	0,0 a	562,3 a	0,00 a	0,00 a	46,9 a	0,00 a
4	0,3 a	527,8 a	0,05 a	0,02 a	41,1 a	0,03 a
5	0,0 a	544,0 a	0,00 a	0,00 a	39,9 a	0,00 a

Tab. 24 Vliv fungicidních programů – odrůda Rosara, rok 2006 a 2007 (dvoufakt. a.)

	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
Rok						
2006	5,2 b	503,9 a	1,03 b	0,19 b	40,9 a	0,49 b
2007	0,1 a	545,0 b	0,01 a	0,00 a	42,0 a	0,01 a
Varianta						
1	2,6 a	521,1 a	0,54 a	0,09 a	39,0 a	0,25 a
2	1,0 a	529,1 a	0,19 a	0,04 a	41,8 a	0,08 a
3	0,9 a	537,1 a	0,17 a	0,05 a	47,0 a	0,12 a
4	3,1 a	506,3 a	0,65 a	0,14 a	39,9 a	0,36 a
5	5,4 a	528,4 a	1,05 a	0,17 a	39,5 a	0,43 a

Odrůda Solara

U odrůdy Solara byly zjištěny statisticky významné rozdíly v roce 2006 u ukazatele hmotnost hlíz celkem, kde u varianty 3 byla nejvyšší hmotnost hlíz, nejnižší u varianty 1 (kontrola) (Tab. 25). Průkazné rozdíly v roce 2007 nebyly zjištěny u žádného hodnoceného ukazatele (Tab. 26).

U dané odrůdy byly významné rozdíly mezi ročníky, a to u počtu hlíz celkem (v roce 2007 vyšší celkový počet hlíz) a hmotnosti hlíz celkem (v roce 2006 vyšší celková hmotnost hlíz). Při porovnání variant v průměru obou ročníků nevznikl mezi nimi statisticky významný rozdíl u žádného sledovaného ukazatele (Tab. 27).

Tab. 25 Vliv fungicidních programů – odrůda Solara, rok 2006 (jednofaktorová a.)

Varianta	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
1	3,3 a	455,8 a	0,74 a	0,40 a	48,2 a	0,83 a
2	1,0 a	448,3 a	0,21 a	0,09 a	54,4 ab	0,15 a
3	0,5 a	457,8 a	0,11 a	0,11 a	56,2 b	0,19 a
4	1,3 a	444,5 a	0,29 a	0,19 a	54,1 ab	0,37 a
5	1,0 a	453,5 a	0,21 a	0,06 a	51,9 ab	0,11 a

Tab. 26 Vliv fungicidních programů – odrůda Solara, rok 2007 (jednofaktorová a.)

Varianta	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
1	4,5 a	718,8 a	0,61 a	0,20 a	34,3 a	0,55 a
2	2,0 a	725,5 a	0,27 a	0,14 a	41,1 a	0,34 a
3	6,3 a	721,0 a	0,86 a	0,40 a	40,5 a	0,99 a
4	2,0 a	693,3 a	0,28 a	0,12 a	37,1 a	0,33 a
5	0,5 a	698,8 a	0,06 a	0,02 a	37,0 a	0,03 a

Tab. 27 Vliv fungicidních programů – odrůda Solara, rok 2006 a 2007 (dvoufakt. a.)

	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
Rok						
2006	1,4 a	452,0 a	0,31 a	0,17 a	53,0 b	0,33 a
2007	3,1 a	711,5 b	0,42 a	0,17 a	38,0 a	0,45 a
Varianta						
1	3,9 a	587,3 a	0,67 a	0,30 a	41,2 a	0,69 a
2	1,5 a	586,9 a	0,24 a	0,11 a	47,8 a	0,25 a
3	3,4 a	589,4 a	0,49 a	0,25 a	48,3 a	0,59 a
4	1,6 a	568,9 a	0,28 a	0,16 a	45,6 a	0,35 a
5	0,8 a	576,1 a	0,13 a	0,04 a	44,5 a	0,07 a

Porovnání napadení všech odrůd

Při porovnání napadení jednotlivých odrůd byla použita naměřená data z varianty 1 (kontrola) za rok 2006, kdy byl vyšší výskyt stejnojmenného patogenu. Jako statistická metoda byla použita jednofaktorová analýza rozptylu a mnohonásobné porovnávání dle Tukey-HSD. Hladina významnosti byla $\alpha = 0,05$.

Mezi napadeními jednotlivých odrůd byly zjištěny statisticky průkazné rozdíly u všech sledovaných ukazatelů (Tab. 28).

U ukazatele počet napadených hlíz byl zjištěn průkazný rozdíl u odrůdy Riviera (nejvyšší napadení hlíz). Další odrůda s nejvyšším napadením hlíz byla Minerva. Naopak odrůda Magda vykazovala nejnižší počet napadených hlíz. Další odrůdy s nejnižším napadením hlíz byly Bionta a Solara.

U počtu hlíz celkem byl zjištěn významný rozdíl u odrůdy Bionta (nejvyšší celkový počet hlíz). Další odrůdy s nejvyšším celkovým počtem hlíz jsou Rosara a Asterix. Naopak odrůdy s nejnižším celkovým počtem hlíz jsou Riviera a Magda.

U % napadených hlíz byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl u odrůdy Riviera (nejvyšší % napadených hlíz). Naopak odrůda s nejnižším % napadených hlíz byla Magda.

U hmotnosti napadených hlíz byl statisticky významný rozdíl u odrůdy Riviera (nejvyšší hmotnost napadených hlíz). Na druhé straně odrůda s nejnižší hmotností napadených hlíz byla Magda.

U hmotnosti hlíz celkem byl prokázán rozdíl u odrůdy Bionta (nejvyšší celková hmotnost hlíz). Další odrůdy s nejvyšší celkovou hmotností hlíz jsou Adéla a Solara. Odrůdy Riviera a Magda vykázaly naopak nejnižší celkovou hmotnost hlíz.

U hmotnosti napadených hlíz vyjádřenou % byl statisticky významný rozdíl u odrůdy Riviera (nejvyšší hmotnost napadených hlíz vyjádřená v %). Další odrůda byla Riviera. Naopak odrůdy s nejnižší hmotností napadených hlíz vyjádřenou v % byly Magda a Bionta.

Tab. 28 Porovnání napadení všech odrůd – rok 2006 (jednofaktorová a.)

Odrůda	Počet napadených hlíz (ks)	Počet hlíz celkem (ks)	% napadených hlíz	Hmotnost napadených hlíz (kg)	Hmotnost hlíz celkem (kg)	Hmotnost napadených hlíz (%)
Adéla	6,3 a	449,8 bc	1,46 a	0,64 a	51,7 b	1,27 a
Asterix	4,5 a	474,3 bc	0,97 a	0,17 a	33,9 a	0,49 a
Bionta	3,0 a	589,0 d	0,51 a	0,12 a	53,0 b	0,21 a
Kordoba	14,0 ab	416,5 abc	3,38 ab	0,90 ab	38,6 a	2,36 a
Magda	0,3 a	378,5 a	0,07 a	0,03 a	32,3 a	0,10 a
Minerva	21,0 ab	408,0 ab	5,21 ab	1,68 ab	38,3 a	4,48 ab
Riviera	59,0 b	356,0 a	16,50 b	3,69 b	31,7 a	12,27 b
Rosara	5,3 a	480,3 c	1,01 a	0,18 a	35,4 a	0,50 a
Solara	3,3 a	455,8 bc	0,74 a	0,40 a	48,2 b	0,83 a

Přesné polní pokusy na zhodnocení účinnosti fungicidních programů proti patogenu *Phytophthora infestans* u vybraných odrůd jsem provedl v rocích 2006 a 2007 na pokusné stanici Valečov, která patří Výzkumnému ústavu bramborářskému Havlíčkův Brod, s.r.o.

První výskyty a šíření patogenu se odvíjejí podle průběhu počasí a množství infekčních zdrojů v oblasti, zejména v počátečním období infekce porostů. V konkrétních případech pak rozhodují meteorologické a půdní faktory v mikrolokalitě a daném porostu a náchylnost pěstované odrůdy (RASOCHA, 2004).

V roce 2006 se do určité míry opakovala situace z roku předcházejícího, zejména pokud se týká nedostatku zdrojů infekce v sadbě, pozdějšího napadení porostů a slabé infekce hlíz. Hlavní období výskytu a šíření patogenu však bylo neobvykle pozdní a zahrnovalo především dvě poslední srpnové dekády. Rozhodující byl samozřejmě průběh počasí, který ovlivnil průběh vegetace a vývoj patogenu v porostech. Dlouhé zimní období zpozdilo výsadbu. Porosty vzcházely až kolem poloviny června a v tomto měsíci nedošlo k jejich zapojení a vytvoření příznivého mikroklimatu pro vývoj patogenu. Červen byl sice srážkově mírně nadnormální, ale rozložení srážek nebylo příhodné pro dlouhodobější ovlhčení listové plochy potřebné k infekci. Následoval velmi suchý červenec se srážkami hluboko

pod normálem a vysokými teplotami, tj. podmínkami zcela nevhodnými pro patogen. Situaci pak zásadně změnila intenzivní srážky a ochlazení v první dekádě srpna a umožnily infekci porostů. Šíření infekce v nati bylo velmi rychlé. Od druhé poloviny srpna až do konce vegetace však chyběly srážky potřebné k proplavení spor patogenu k hlízám a jejich infekce tak u většiny odrůd byla minimální. První výskyty primárních infekcí a omezená ohniska plísně byly zjištěny v ranobramborářské oblasti na přelomu června a července na zavlažovaných pozemcích. Výjimečně byly pozorovány v tomto období také primární infekce v bramborářské oblasti u partií náchylných odrůd. Další šíření patogenu však bylo přerušeno. Primární infekce se pak znovu objevily v závěru července a k epidemickému šíření patogenu pak došlo v první dekádě srpna po dešťových srážkách (HAUSVATER *et al.*, 2007).

V roce 2007 byla velmi mírná zima, ve které prakticky nedošlo k promrznutí půdy. Jednalo se o mimořádně teplý ročník, kdy teploty během vegetačních přesahovaly dlouhodobý průměr o více jak 3 °C. Vytvořily se tak neobvyklé a mnohdy protichůdné vztahy v systému patogen – prostředí – hostitel, které je obtížné zobecnit a přesněji charakterizovat. Zaznamenáno bylo několik tropických dnů. Suchý měsíc duben, kdy za celý měsíc bylo na Valečově naměřeno pouze 0,7 mm dešťových srážek, naopak umožnil včasnou výsadbu i rychlé vzcházení rostlin. I další měsíce jako květen, červen a srpen byly srážkově slabší (RASOCHA *et al.*, 2007). Podmínky pro infekci porostů a šíření patogenu obecně nebyly vhodné nebo byly nepříznivé jen krátkodobě. Po celou dobu vegetace chybělo delší srážkové období. V lokalitách s vyššími srážkovými úhrny a zamokřením půdy se sice objevovala ohniska choroby, k jejímu epidemickému šíření však nedošlo. Vzhledem k nepříznivým podmínkám byly ale první výskyty patogenu v bramborářské oblasti zjištěny relativně brzy, a to již počátkem druhé červnové dekády. Jednalo se většinou o velmi časně sazené porosty v rizikových lokalitách nebo se zdroji infekce v sadbě. Druhá vlna infekce se objevila v první polovině července, k plošnému šíření patogenu však opět nedošlo. Častěji byly symptomy plísně pozorovány až koncem srpna v souvislosti s nižšími nočními teplotami a srážkami v podobě rosy. V tomto období však byla většina porostů poškozena suchem a identifikace byla velmi obtížná. K ovlivnění výnosů v důsledku napadení patogenem téměř nedošlo (HAUSVATER *et al.*, 2007).

Ze získaných výsledků z provedených pokusů vyplývá, že obecně mezi ročníky 2006 a 2007 je statisticky významný rozdíl u všech sledovaných ukazatelů - počet napadených hlíz (ks), počet hlíz celkem (ks), % napadených hlíz, hmotnost napadených hlíz (kg), hmotnost hlíz celkem (kg), hmotnost napadených hlíz (%). U jednotlivých odrůd však docházelo k odlišným výsledkům u jednotlivých ukazatelů. V roce 2006 bylo napadení vyšší než v roce 2007, kdy se patogen vyskytl jen sporadicky. Lze tedy konstatovat, že ročník významně ovlivňuje výskyt a rozvoj infekce patogenu *Phytophthora infestans*. Napadení listů a hlíz závisí jednoznačně na množství a rozložení srážek a teplotách, které v daném roce panují.

Základem úspěšné ochrany proti patogenu je volba vhodné odrůdy pro dané podmínky. Pěstitel by měl znát náchylnost vybrané odrůdy k patogenu v nati a na hlízách a tomu podřídit další pěstitelská opatření, ale také fungicidní ochranu a termín ukončení vegetace. Náchylné odrůdy nelze bez rizika pěstovat např. v uzavřených vlhkých lokalitách s těžší půdou, vegetace by měla být nejvíce urychlena (naklíčení hlíz, včasná výsadba) apod.

Zcela zásadní je výběr odrůdy pro ekologické systémy pěstování, kde lze použít pro přímou ochranu pouze měďnaté fungicidy v omezené míře. Velký význam má také volba odrůdy pro zahrádky a malé plochy. U odolné odrůdy lze omezit nutný počet chemických ošetření (RASOCHA *et al.*, 2004).

Z výsledků pokusů je dále patrné, že statisticky významný rozdíl se nachází většinou v roce 2006 u varianty 2 (časné ošetření – ještě před negativní prognózou, sled: Ridomil Gold MZ 68 WP, Casoar, 3 x Altima 500 SC) a varianty 3 (ošetření podle negativní prognózy, sled: Ridomil Gold MZ 68 WP, Casoar, 3 x Altima 500 SC) u většiny odrůd. Významný rozdíl je patrný nejvíce u odrůdy Riviera, Solara, Minerva a Asterix. Tyto fungicidní sledy jsou pro vybrané odrůdy neúčinnější. V roce 2007 významné rozdíly nejsou z důvodu nepříznivých meteorologických podmínek, které neumožnily patogenu rozvoj. Z obecného hodnocení vyplývá, že u odrůd s podobnými vlastnostmi musí být uplatňována časná a intenzivní ochrana neúčinnějšími přípravky. U varianty 5 (úsporná ošetření, dlouhé intervaly, sled: 3 x Altima 500 SC) bylo ošetření u některých odrůd méně účinné a přineslo ztráty na výnosech a relativně vysoké napadení hlíz i při nižším infekčním tlaku patogenu. Je jednoznačně zřejmé, že přizpůsobení aplikace fungicidů náchylnosti odrůdy k patogenu *Phytophthora infestans* v nati a na hlízách je součástí základních předpokladů úspěšné ochrany.

Nelze než souhlasit s DOLEŽÁLEM (2007), který považuje použití fungicidů proti patogenu *Phytophthora infestans* za rozhodující součást intenzivní ochrany. Lze s ním také jednoznačně souhlasit, že o efektivnosti fungicidní ochrany rozhoduje především včasná a kvalitní aplikace, vhodná frekvence postřiků a výběr fungicidů podle konkrétní situace a náchylnosti odrůdy.

Při srovnání napadení odrůd se projevila jejich rozdílná reakce na patogen. Nejvíce byla napadena odrůda Riviera, Minerva a Kordoba. Naopak nejméně byly napadeny Magda, Bionta a Solara. Nejvyšší výnos hlíz poskytla odrůda Bionta, Adéla a Solara. Nejnižšího výnosu pak dosáhla odrůda Riviera, Magda a Asterix. Z tohoto porovnání je patrné, že odrůdové znaky mají velmi značný vliv na napadení rostliny patogenem a výrazně ovlivňují kvantitu a kvalitu sklízených hlíz.

ZÁVĚR

Během pokusných roků 2006 a 2007 jsem sledoval a vyhodnocoval výskyt patogenu *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary 1876 v přesných polních pokusech a na základě naměřených dat jsem vyhodnocoval účinnost čtyř fungicidních programů u devíti vybraných odrůd bramboru.

Ze získaných výsledků lze vyvodit následující závěry:

1. Mezi ročníky 2006 a 2007 byl obecně zjištěn statisticky průkazný rozdíl u většiny sledovaných ukazatelů u všech odrůd. U jednotlivých odrůd však došlo k odlišným výsledkům u některých ukazatelů. Vyšší napadení hlíz pak bylo v roce 2006, kdy byly příznivější meteorologické podmínky pro výskyt a rozvoj patogenu. Z těchto výsledků

vyplývá, že vliv meteorologických podmínek ročníku má značný vliv na napadení rostliny patogenem.

2. Podle rozdílnosti meteorologických podmínek ročníků je nutné volit adekvátní počet ošetření a přizpůsobit chemickou ochranu konkrétní situaci daného roku.
3. Z výsledků pokusů bylo dále patrné, že nejúčinnější fungicidní program byl u velké většiny odrůd a sledovaných ukazatelů v roce 2006 u varianty, kde bylo provedeno časné ošetření, tj. ještě před negativní prognózou (sled: Ridomil Gold MZ 68 WP, Casoar, 3 x Altima 500 SC) a dále u varianty, kde bylo provedeno ošetření podle negativní prognózy (sled: Ridomil Gold MZ 68 WP, Casoar, 3 x Altima 500 SC). Tyto programy byly nejúčinnější u odrůdy Asterix, Minerva, Riviera a Solara, kdy tyto odrůdy vykázaly nejvyšší výnos.
4. Z obecného hodnocení vyplývá, že u náchylných odrůd s podobnými vlastnostmi musí být uplatňována časná a intenzivní ochrana nejúčinnějšími přípravky. Volba správného fungicidního programu a jeho následné přizpůsobení náchylnosti odrůdy k patogenu *Phytophthora infestans* v nati a na hlízách je součástí základních předpokladů úspěšné ochrany.
5. Při porovnání reakce odrůd na patogen v roce 2006 byla zjištěna jejich rozdílná reakce. Nejvíce byla infikována odrůda Riviera a Minerva. Naopak nejméně byly infikovány odrůdy Magda a Bionta. Nejvyšší výnos hlíz poskytla odrůda Bionta, Adéla a Solara. Nejnižšího výnosu pak dosáhla odrůda Riviera, Magda a Asterix. Chemická ochrana bramboru musí být volena podle náchylnosti dané odrůdy k patogenu.

LITERATURA

Doležal, P.; Hausvater, E.; Grézl, V. (2007): Význam negativní prognózy pro stanovení prvního termínu ošetření proti plísni bramboru a využití automatické meteorologické stanice. *Bramborářství* 15 (5): 12-16.

Hausvater, E.; Doležal, P.; Mazáková, J. (2007): Plíseň bramboru v roce 2006. *Bramborářství* 15 (3): 11-18.

Hausvater, E.; Doležal, P.; Satrapová, V. (2007): Houbové a bakteriální choroby brambor a ochrana v roce 2007. *Bramborářství* 15 (5): 17-20.

Rasocha, V.; Hausvater, E.; Doležal, P. (2004): *Choroby, škůdci a abionózy bramboru*. České Budějovice: Orion spol. s.r.o. 74 s. ISSN: 1211-362 X.

Rasocha, V.; Hausvater, E.; Doležal, P. (2007): Odrůdové pokusy u brambor v roce 2007 na Valečově. *Bramborářství* 15 (6): 25-27.

ASSESSMENT OF HERBICIDE EFFICACY BY MEASURING CHLOROPHYLL FLUORESCENCE

HODNOCENÍ ÚČINNOSTI HERBICIDŮ POMOCÍ MĚŘENÍ FLUORESCENCE CHLOROFYLU

Kocurek V., Smutný V., Křen J.

Department of Agrosystems and Bioclimatology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xkocurek@node.mendelu.cz, smutny@mendelu.cz, kren@mendelu.cz

ABSTRACT

The possibilities of efficacy detection of three selected herbicides were determined by measuring of chlorophyll fluorescence parameters using FluorCam (fluorescence camera). Application of selected herbicides BASAGRAN SUPER (2 l/ha), CALLISTO 480 SC (0,25 l/ha) + ATPLUS 463 (0,5%) and CLICK 500 SC (2 l/ha) was done in registered doses in growth period of four right leaves of redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*) plants. Quantum yield (QY) was selected as an assessing parameter of chlorophyll fluorescence, which was compared with subjective assessment and growing parameters. Measurements were done 0, 1, 2, 3, 6, 9 and 15 days after treatment. The obtained results showed that it is possible to detect each of selected herbicides by measuring parameters of chlorophyll fluorescence. Effect of herbicide BASAGRAN SUPER was detected as first, already several minutes after application compared to detection by subjective assessment after 1 day after treatment. Herbicide CLICK 500 SC was detected first day after treatment compared to detection by subjective assessment after 3 days after treatment. Detection on herbicide CALLISTO 480 SC was same for quantum yield and subjective assessment - 3 days after treatment. Obtained results showed that we can detect effect of herbicides BASAGRAN SUPER and CLICK 480 SC even before visible damage of weed plants.

Keywords: herbicide efficacy, chlorophyll fluorescence, fluorcam

Acknowledgements:

This study was supported by the Research plan No. MSM6215648905 “Biological and technological aspects of sustainability of controlled ecosystems and their adaptability to climate change“, which is financed by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

ÚVOD

V současné době je účinnost herbicidů posuzována především subjektivním hodnocením ošetřených rostlin. Při tomto hodnocení mohou nastat určité nepřesnosti, jelikož každý hodnotitel může pomocí svého zraku výsledek vyložit poněkud odlišně. Navíc samotný efekt herbicidu v mnoha případech není viditelný okem, přičemž samotná rostlina už může být velmi vážně a výrazně poškozena. Z tohoto důvodu je vyvíjena řada diagnostických metod pro hodnocení účinnosti herbicidů. Fluorescence chlorofylu je jednou z velmi perspektivních metod, která by mohla do budoucna přinést kvalitní a spolehlivé výsledky a informace o působení herbicidů a jejich účinnosti a to nejen pro firmy produkující přípravky na ochranu rostlin, ale též pro samotné zemědělce.

Fluorescence chlorofylu, jak uvádí Prášil (2003), je metoda studia fotosyntézy a diagnostiky porostu, která nalézá stále větší uplatnění v rostlinné fyziologii, ekofyziologii a studiu fotosyntézy při sledování procesů, které s fotosyntézou přímo či nepřímo souvisejí. Podle Soukupové a Roháčka (2003) je sledování fluorescence chlorofylu cestou, jak zkoumat fotosyntetické procesy ve všech fotosyntetizujících organizmech.

Metoda měření fluorescence chlorofylu má několik výhod. Mougeta a Tremblina (2002) uvádějí, že je to metoda nedestruktivní, neinvazivní, rychlá a zároveň velmi citlivá. Používá se ve velké míře k časně detekci abiotického i biotického stresu (vysoká teplota, mráz, sucho, nedostatek živin, infekce, působení herbicidů aj.) (Oukarroum a kol., 2007, Tóth a kol., 2007, Christen a kol., 2007). Některé z nich jsme schopni zaznamenat a především konkrétně změřit ještě dříve, než jsou projevy navenek viditelné. Výsledkem jsou navíc přesná číselná určení sledovaných parametrů vysoké vypovídací hodnoty.

MATERIÁL A METODIKA

Pokusy byly uskutečněny v herbologické laboratoři Ústavu agrosystémů a bioklimatologie MZLU v Brně. Pěstování rostlin laskavce ohnutého (*Amaranthus retroflexus*) bylo uskutečněno v růstovém boxu v kontrolovaných pěstebních podmínkách. Semena byla vyseta do plastových květináčů černé barvy o straně 8 cm s perforovaným dnem. Do každého květináče bylo vyseto 5-10 semen, která byla získána z rostlin v plné zralosti v okolí Brna. Laskavec byl vyset do směsi zahradnického substrátu a písku v poměru 2:1. Z několika vzešlých rostlin byla ponechána vždy 1 rostlina /na 1 květináč. Květináče byly umístěny na plastových platech s nasákovou textilií na dně, která po pravidelném zalévání sloužila jako zdroj vody pro rostliny laskavce.

Samotná aplikace herbicidů byla prováděna v růstové fázi 4 pravých listů. Byly aplikovány 4 varianty (viz. tab. 1.). Pro postřik byl použit ruční elektrický postřikovač SOLO SPRAYSTAR 460 o objemu 1 litr.

Tab. 1. Přehled variant a aplikovaných herbicidů

Herbicid	Účinná látka	Skupina	Dávka
Kontrola	—	—	—
BASAGRAN SUPER	480g bentazone + 150g aktivátor	benzodiathiazoly	2 l / 300 l
CLICK 500 SC	500g terbuthylazine	triaziny	2 l / 300 l
CALLISTO 480 SC	480g/l mesotrione	triketony	0,25 l / 300 l + smáč.

Z uvedených herbicidů jsou všechny systémově působící kromě BASAGRANU SUPER, který je kontaktní. Tento herbicid patří spolu s herbicidem CLICK 500 SC mezi inhibitory fotosyntézy na fotosystému II (PS II). CALLISTO 480 SC řadíme mezi inhibitory syntézy karotenoidů.

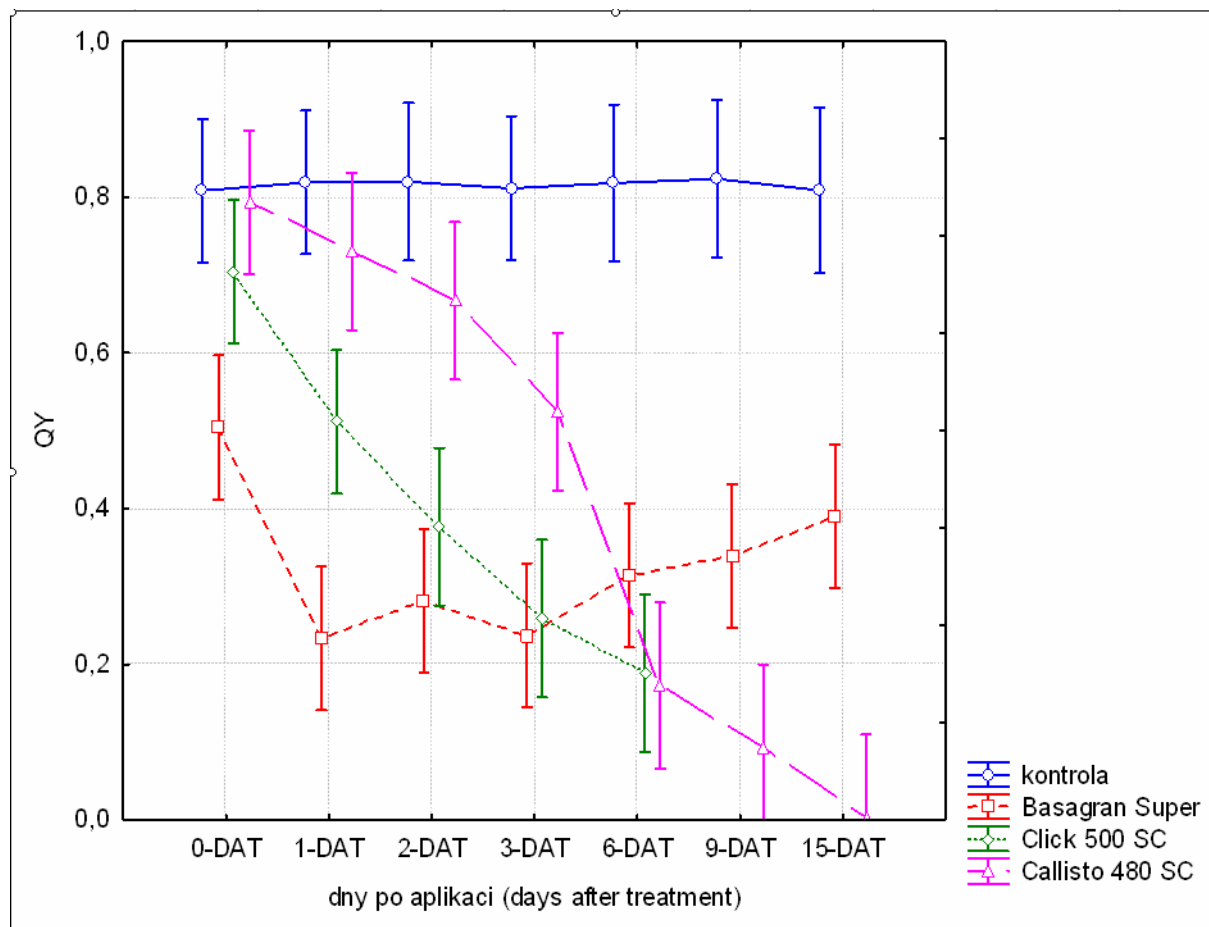
Samotné měření probíhalo s měřicím přístrojem „FluorCam“ a jako hodnotící parametr byl vybrán kvantový výtěžek fluorescence QY (quantum yield), který je vypočítán ze vzorce $QY = (F_m - F_o) / F_m$, kde F_m je maximální fluorescence a F_o minimální fluorescence snímaného objektu. Tento parametr je v současnosti nejvíce prostudován a také je nejvíce využíván. Pro zjednodušení lze říci, že hodnota QY ve své podstatě poukazuje na „zdravotní stav rostliny.“ Nabývá hodnot od 0 do 1, přičemž zdravé rostliny ve volné přírodě vykazují max. hodnoty okolo 0,8 a snížení pod 0,7 znamená již výrazné zhoršení zdravotního stavu.

Měření byla prováděna v 0, 1, 2, 3, 6, 9 a 15 dnech po aplikaci a současně byly také hodnoceny růstové charakteristiky (výška rostlin, počet listů větších než 5 mm) a subjektivní hodnocení poškození rostlin podle vytvořené desetibodové stupnice (10 = zdravá rostlina, 1 = mrtvá rostlina), která zohledňuje typ herbicidu a jeho charakteristický způsob účinku.

Všechny hodnoty byly statisticky zpracovány na softwaru Statistica, a to analýzou variance, metodou následného testování pomocí Tukeyova testu a výpočtem korelačních koeficientů u naměřených dat.

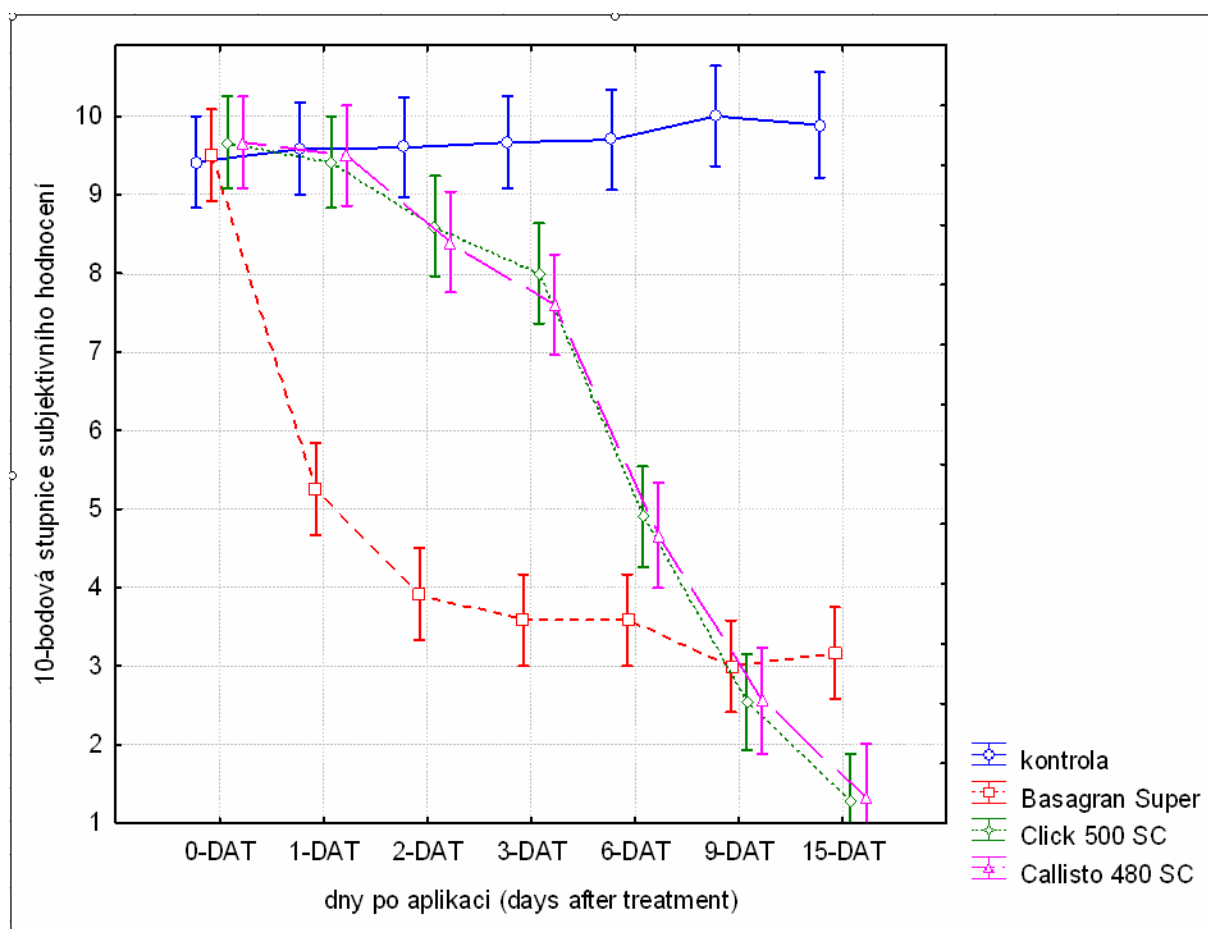
VÝSLEDKY A DISKUZE

Graf 1. Průměrné hodnoty kvantového výtěžku (QY) pro testované herbicidy ($p < 0,05$)



Naměřené hodnoty kvantového výtěžku (QY) ukázaly, že největší a nejrychlejší pokles hodnot QY nastal u inhibitorů fotosyntézy tj. BASAGRAN SUPER a CLICK 500 SC. U herbicidu BASAGRAN SUPER byl průkazný rozdíl oproti kontrole již několik minut po aplikaci (0-DAT). U herbicidu CLICK 500 SC byl zjištěn průkazný rozdíl oproti kontrolní variantě jeden den po aplikaci (1-DAT), zatímco u herbicidu CALLISTO 480 SC došlo k průkaznému poklesu hodnot QY až třetí den po aplikaci (3-DAT). Rostliny ošetřené herbicidem CLICK 500 SC a CALLISTO 480 SC všechny uhynuly, u herbicidu BASAGRAN SUPER díky jeho kontaktnímu charakteru některé rostliny přežily a dále rostly což vysvětluje zvýšení hodnot QY v následujících dnech.

Graf 2. Subjektivní hodnocení poškození rostlin podle 10-bodové stupnice (10=zdravá) ($p < 0,05$)



Při subjektivním hodnocení zdravotního stavu rostlin nedošlo bezprostředně po aplikaci (0-DAT) k žádným průkazným změnám. Pro herbicid BASAGRAN SUPER byl zjištěn průkazný rozdíl oproti kontrolní variantě až v prvním dni po aplikaci, u herbicidů CLICK 500 SC a CALLISTO 480 SC po třech dnech od aplikace.

Tab. 2. Hodnoty korelačních koeficientů ($p < 0,05$) mezi hodnotami QY a ostatními hodnocenými parametry

	Subjektivní hodnocení	Výška rostlin	Počet listů > 5 mm
QY-Basagran super	0,43*	0,45*	0,43*
QY-Click 500 SC	0,84*	0,54*	0,63*
QY-Callisto 480 SC	0,94*	0,57*	0,41*

Z dat uvedených v tab. 2. vyplývá, že nejvyšší závislost mezi hodnotami QY byla zjištěna u herbicidů CLICK 500 SC a CALLISTO 480 SC pro subjektivní hodnocení. Pro tyto herbicidy (systémově působící) má parametr QY vysokou vypovídací schopnost z pohledu

kvantifikace herbicidní účinnosti. Naproti tomu u kontaktně působícího herbicidu BASAGRAN SUPER byla hodnota korelačního koeficientu mezi QY a subjektivním hodnocením nižší (korelační koeficient 0,43). Herbicid BASAGRAN SUPER způsobuje poškození rostliny v místě kontaktu účinné látky s rostlinným pletivem, což výsledně může znamenat úplné zničení rostliny, přestože část rostliny nebyla herbicidem ovlivněna. Měření pomocí fluorescenční kamery však toto nezohledňuje, neboť nehodnotí pouze zasaženou část rostliny, ale celkovou plochu rostliny, která je kamerou snímána. Ostatní sledované růstové parametry se ukázaly jako méně vhodné pro vyjádření míry účinnosti herbicidu, o čemž svědčí nižší hodnoty korelačních koeficientů s QY.

Tab. 3. Dny po aplikaci, kdy byl zjištěn průkazný rozdíl od kontrolní varianty ($p < 0,05$) u jednotlivých parametrů

	Výška rostlin	Subjektivní hodnocení	Počet listů > 5 mm	QY
Basagran Super	3	1	1	0
Click 500 SC	6	3	3	1
Callisto 480 SC	6	3	6	3

Pro jednotlivé herbicidy z výsledků vyplývá, že průkazně detekovatelné jsou nejdříve pomocí kvantového výtěžku (QY), poté pomocí subjektivního hodnocení, počtu listů větších než 5mm a nakonec výšky rostlin. Z toho vyplývá, že jsme pomocí měření QY schopni u uvedených herbicidů zjistit jejich účinek ještě před viditelnými známkami poškození rostliny.

ZÁVĚR

Velmi důležitým zjištěním vyhodnoceným na základě výsledků získaných z pokusu je fakt, že působení herbicidů se prokazatelně projeví ve změně fluorescence chlorofylu a kamera FluorCam poskytuje dostatečné možnosti pro využití při hodnocení účinnosti herbicidů. Z výsledků dále vyplývá, že měření fluorescence chlorofylu pomocí přístroje FluorCam lze využít k časnému hodnocení účinnosti herbicidů, které ovlivňují fotosyntézu.

Možnost časného stanovení lze velice dobře odůvodnit faktem, že herbicidní efekt lze zachytit ještě před viditelnými projevy účinnosti, a to především právě díky měření fluorescence, která nám podává reference o aktuálním stavu rostliny, kdežto příznaky poškození herbicidem hodnocené subjektivně se projeví až o něco později. Platí to především pro výsledky u kontaktního herbicidu BASAGRAN SUPER a systémového herbicidu CLICK 500 SC, které patří mezi inhibitory fotosyntézy.

FluorCam nám dále umožňuje zachytit rychlost a intenzitu působení herbicidu v jednotlivých částech rostliny. Zvláště u systémových herbicidů je na fluorescenčních fotografiích jasně viditelný rozdíl u mladých částí rostlin, které jsou herbicidem zasaženy nejvíce.

LITERATURA

- CHRISTEN, D., SCHÖNMANN, S., JERMINI, M., STRASSER, R. J., DÉFAGO, G. (2007): Characterization and early detection of grapevine (*Vitis vinifera*) stress response to esca disease by in situ chlorophyll fluorescence and comparison with drought stress. *Environmental and Experimental Botany*, 60: 504-514.
- MOUGET, J.L, TREMBLIN, G., (2002), Chlorophyll fluorescence *in vivo*, *Aquatic Botany* 74, str. 219-231.
- OUKARROUM, A., MADIDI, S. E., SCHANSKER, G., STRASSER, R. J. (2007): Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll *a* fluorescence OLKJIP under drought stress and re-watering. *Environmental and Experimental Botany*, 60: 438-446.
- PRÁŠIL, O. (2003): Fluorescence chlorofylu jako metoda studia fotosyntézy a diagnostiky porostu, *Časopis Živa*, (6), 246-248.
- SOUKUPOVÁ, J., ROHÁČEK, K., (2003), Fluorescence, fotosyntéza a stres: Jak to spolu souvisí?, Ústav fyzikální biologie JU, AVČR, 14 s.
- TÓTH, S. Z., SCHANSKER, G., GARAB, G., STRASSER, R. J. (2007): Photosynthetic electron transport activity in heat-treated barley leaves: The role of internal alternative electron donors to photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1767: 295-305.

ARGYRESTHIA THUIELLA AND A. TRIFASCIATA (LEPIDOPTERA: YPONOMEUTIDAE) – PESTS ORNAMENTAL CONIFEROUS TREES

MOLOVKA ZERAVOVÁ A M. JALOVCOVÁ (LEPIDOPTERA: YPONOMEUTIDAE) - ŠKŮDCI OKRASNÝCH JEHLIČNANŮ

Konečná H., Šefrová H.

Ústav pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství, Agronomická fakulta, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika.

E-mail: xkonec17@node.mendelu.cz, sefrova@mendelu.cz

ABSTRACT

Bionomics of *Argyresthia* species injurious on ornamental coniferous trees have been verified by breeding and monitoring of stadiums in laboratory and in the field on research areas: the castle park of Lednice, arboretum of the MZLU in Brno, arboretum in Nový Dvůr. *Argyresthia thuiella* overwinters as caterpillar in branchlets, it pupates in spring there. Moths fly since the last decade of Mai up to the second half of June. Imagoes of *Argyresthia trifasciata* fly since half May up to the middle June. Hibernating stadium is still finding out. Both species have in our territory one generation per year. *Argyresthia thuiella* was registered on *Thuja occidentalis* and *T. plicata*, *Argyresthia trifasciata* on *Juniperus communis*, *J. chinensis*, *J. sabina* and *J. × median*, *J. squamata*; it wasn't found on *Juniperus conferta*, *Chamaecyparis pisifera* and *Calocedrus decurrens*.

Key words: pests of ornamental trees, *Argyresthia thuiella*, *A. trifasciata*

Acknowledgments: Příspěvek byl zpracován s podporou Výzkumného záměru č.

MSM6215648905 „Biologické a technologické aspekty udržitelnosti řízených ekosystémů a jejich adaptace na změnu klimatu“ uděleného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

ÚVOD

Se zvyšujícím se významem okrasných výsadeb úměrně roste potřeba znalostí škůdců a možnosti ochrany okrasných dřevin. Na našem území je rod *Argyresthia* zastoupen 30 druhy (Laštůvka & Liška, 2007). Na jehličnatých dřevinách se vyvíjí 13 druhů. Molovka zeravová (*Argyresthia thuiella*) a m. jalovcová (*A. trifasciata*) byly na naše území zavlečené z jiných geografických oblastí. Z tohoto důvodu je těmto druhům věnována značná pozornost. Škody, které molovky způsobují, bývají často pro jejich nenápadnost, alespoň v počátečním stavu, snadno přehlíženy. U starších výsadeb dochází k estetickému znehodnocení napadených dřevin. U mladších výsadeb mohou molovky způsobit vážné škody.

MATERIÁL A METODIKA

Rozšíření molovek *Argyresthia thuiella* a *A. trifasciata* na našem území je zjišťováno vizuální kontrolou hostitelských dřevin na třech studijních plochách: v zámeckém parku v Lednici, v arboretu MZLU v Brně a v arboretu v Novém Dvoře. První dvě lokality se nacházejí na území Jihomoravského kraje, třetí lokalita v Moravskoslezském kraji.

Bionomie a intenzita výskytu obou druhů je ověřována chovem v laboratorních podmínkách a sledováním vývojových stadií na hostitelských rostlinách v terénu. V laboratorních podmínkách byl v červnu 2008 založen nádobový pokus s různými druhy okrasných jehličnanů čeledi Cupressaceae: zerav západní (*Thuja occidentalis*), zerav řasnatý (*T. plicata*), cypřišky (*Chamaecyparis* spp.), jalovce (*Juniperus* spp.). Pokus byl rozdělen na dvě skupiny. Každá skupina obsahovala stejný počet dřevin a také stejné druhy dřevin. K první skupině pokusných dřevin byla pod ochranné síť umístěna molovka zeravová ve stadiu kukly v napadených větvičkách zeravů. A k druhé skupině dřevin byla vypuštěna imaga molovky jalovcové. Cílem pokusu je zjistit, na jakých hostitelských rostlinách se molovky mohou vyvíjet a určit přezimující stadium a zimoviště molovky jalovcové.

Od počátku srpna 2008 probíhá pravidelný odběr napadených částí jehličnanů za účelem sledování vývoje a růstu housenek molovek *Argyresthia thuiella* a *A. trifasciata*. Při tomto pozorování byla zjišťována parazitace housenek u obou druhů a probíhá pokus dochování parazitoidů.

VÝSLEDKY A DISKUZE

1. Charakteristika sledovaných druhů molovek rodu *Argyresthia*

Molovka zeravová *Argyresthia thuiella* (Packard, 1871)

Drobný motýlek, rozpětí křídel 5,0–7,0 mm. Přední křídla jsou poměrně úzká, zadní kopinatá s dlouhými třásněmi. Hlava a hrud' jsou bělavé, zadeček a nohy šedé. Přední křídla jsou bělavě šedá s tmavými, hnědými a černými skvrnami na předním okraji a v apexu. Na zadním okraji křídla jsou tři tmavé skvrny, prostřední je největší. Zadní křídla jsou šedá. Pohlavní rozdíly v habitu nejsou, identifikace pohlaví je spolehlivá podle zakončení zadečku, případně podle genitálií. V klidu zaujímají imaga, podobně jako ostatní druhy molovek,

specifický postoj, opírají se o první dva páry končetin, zatímco třetí je přitažen ke vztyčenému zadečku svírajícímu s podložkou úhel asi 15° (Povolný & Zacha, 1990; Šefrová, 2006 a; Tomiczek et al., 2005; Vávra, 1999).

Molovka zeravová pochází ze Severní Ameriky, kde byla popsána jako nový druh Packardem již v roce 1871. V Evropě byla poprvé zaregistrována v Holandsku Frankenhuyzenem, v roce 1974. Během dvou desetiletí osídlila většinu území západní a střední Evropy. V současnosti je známa z Belgie, Holandska, Německa, Polska, Švýcarska, Rakouska, České republiky, Slovenska a Maďarska (Deschka, 1995; Plate & Köllner, 1977). V České republice byla poprvé zjištěna na více místech v roce 1988 (Povolný & Zacha, 1990; Povolný in Novák & Liška, 1997). V současné době se vyskytuje po celém území v závislosti na přítomnosti hostitelských rostlin, tj. je omezena pouze na urbanizované prostředí a parky. Šíří se anemochorně a transportem sazenic hostitelských dřevin (Novák & Liška, 1997; Povolný & Zacha, 1990; Šefrová & Laštůvka, 1995).

Sledováním bionomie molovky zeravové ve vnějších i v laboratorních podmínkách byly potvrzeny literární údaje. Molovka zeravová má v průběhu roku jedinou generaci. Imaga se líhnou podle teploty stanoviště zhruba od poslední dekády května do poloviny června. V této době kladou samičky vajíčka na nové výhonky zeravů. Housenky se po vylíhnutí okamžitě zahlodávají do letorostů, v jejichž ose později vyžírají 2–3 cm dlouhou chodbičku. Dorostlá housenka je 5–6 mm dlouhá, nevýrazně hnědozelená s černou hlavou. V prvním roce života prodělávají čtyři svlékání, takže prezimují jako pátý larvální instar ve vyhlodané chodbičce, kde se na jaře, počátkem května, kuklí. Stadium kukly trvá asi 3 týdny (Povolný & Zacha, 1990; Vávra, 1999).

Molovka zeravová dosahovala v prvních letech invaze značných početností, což bylo provázeno silným a opticky nápadným znehodnocením zeravů. Zdá se, že početnost tohoto druhu je tlumena povětrnostními faktory a snad i oligofágními parazitoidy. Při dosažení vyšší početnosti způsobuje především estetické poškození rostlin.

Molovka jalovcová *Argyresthia trifasciata* (Staudinger, 1871)

Drobný motýlek, rozpětí křídel 8,0–10,0 mm. Přední křídla jsou poměrně úzká, zadní kopinatá s dlouhými trásněmi. Má charakteristické zbarvení zcela odlišné od ostatních druhů molovek žijících na našem území. Hlava je bělavá, hrud' zelenavě kovově lesklá, zadeček a nohy šedé. Přední křídla jsou žlutozelená nebo hnědozelená, výrazně kovově lesklá, se třemi bělavými příčnými proužky. Zadní křídla jsou šedá (Agassiz, 1996; Stigter & Van Frankenhuisen, 1992; Vávra, 1999).

Molovka jalovcová byla popsána Staudingerem v roce 1871 ve Švýcarsku. Autochtonní je ve švýcarských, francouzských, rakouských a patrně i italských Alpách, kde je existenčně vázána na porosty jalovce chvojky (*Juniperus sabina*). Zhruba od počátku 80. let 20. století se rozšířila také na okrasné druhy jalovců a jejich kultivary. Jako další hostitelské rostliny bývají uváděny zeravy *Thuja* a cypřišky *Chamaecyparis*. V současnosti je známa ze Španělska, Anglie, Francie, Belgie, Holandska, Švédska, Dánska, Německa, Švýcarska, Itálie, Polska, Rakouska a České republiky (Agassiz, 1996; Stigter & Van Frankenhuisen, 1992).

Na našem území byla poprvé nalezena v Klenčí pod Čerchovem v roce 1995, v roce 1997 byl tento druh zjištěn kalamitně na několika kusech jalovce virginského (*Juniperus virginiana*) v Praze (Vávra in Novák & Liška, 1997). Nyní se patrně vyskytuje po většině území v závislosti na přítomnosti hostitelských rostlin. Šíří se anemochorně a transportem sazenic hostitelské dřeviny (Šefrová & Laštůvka, 2005; Šumpich, 2002; Vávra, 1999). Stejně jako molovka zeravová působí hlavně estetické poškození okrasných jehličnanů (Šefrová, 2006 b; Tomiczek et al., 2005).

Molovka jalovcová má v průběhu roku jedinou generaci. Imaga se líhnou v našich podmínkách podle teploty stanoviště zhruba od poloviny května do počátku června. V této době kladou samičky vajíčka na nové výhonky jalovců. Housenky se líhnou po 3–4 týdnech a nejprve minují jehlice. Rostou pomalu a vytvářejí minu asi 10 mm dlouhou. Potom přecházejí na další jehlici a minují osu letorostu. Vyžírají 20–30 mm dlouhou chodbičku. Dorostlá housenka je 5–6 mm dlouhá, hnědě zelená nebo zelená s černou hlavou. Přezimující stadium, zimoviště a další vývoj *Argyresthia trifasciata*, bude upřesněn po dalším pozorování.

2. Intenzita napadení okrasných jehličnanů molovkami rodu *Argyresthia*

K hostitelským rostlinám molovky zeravové patří zeravy (*Thuja* spp.), méně často cypřišky (*Chamaecyparis* spp.) (Povolný & Zacha, 1990). Sledováním dřevin v terénních podmínkách byla zjištěna na zeravu západním (*Thuja occidentalis*), méně početně na zeravu řasnatém (*T. plicata*). Nejvyšší napadení je doposud zaznamenáno v zámeckém parku v Lednici na zeravu západním (*Thuja occidentalis*). Na ostatních lokalitách je její početnost výrazně nižší. Na cypřišcích (*Chamaecyparis* spp.) a jalovcích (*Juniperus* spp.) nebyla zjištěna.

Dřevina	Arboretum MZLU v Brně	Zámecký park Lednice	Arboretum Nový Dvůr
<i>Thuja occidentalis</i>	2	5	2
<i>Thuja plicata</i>	0	2	0
<i>Chamaecyparis lawsoniana</i>	0	0	0
<i>Juniperus sabina</i>	0	0	0

Tab. 1 Hostitelské dřeviny a hustota molovky zeravové; 0 – bez výskytu, 1 – druh zcela ojedinělý, 2 – <10 jedinců, 3 – 10–20 jedinců, 4 – 20–100 jedinců, 5 – druh velmi hojný (stovky až tisíce min nebo jedinců)

Hostitelskými rostlinami molovky jalovcové jsou jalovce (*Juniperus* spp.), výrazně preferuje jalovec virginský (*Juniperus virginiana*). Dále byla zjištěna na jalovci čínském (*J. chinensis*), j. chvojce (*J. sabina*) a jalovci prostředním (*J. × media*). Na všech studijních plochách se na těchto druzích jalovce vyskytovala ve vysoké početnosti. V arboretu MZLU v Brně byla také v nižší početnosti zjištěna na cypřišku Lawsonově (*Chamaecyparis lawsoniana*). Na zeravech (*Thuja* spp.), pazeravu sbíhavém (*Calocedrus decurrens*) a

Juniperus conferta zjištěna nebyla. Přehled hostitelských dřevin a intenzitu napadení jednotlivých druhů molovkou jalovcovou zjištěnou během našeho sledování uvádí tab. 2.

Dřevina	Arboretum MZLU v Brně	Zámecký park Lednice	Arboretum Nový Dvůr
<i>Thuja occidentalis</i>	0	0	0
<i>Thuja plicata</i>	0	0	0
<i>Juniperus communis</i>	0	1	1
<i>Juniperus chinensis</i>	4	-	-
<i>Juniperus sabina</i>	4	4	5
<i>Juniperus sabina</i> 'Tamariscifolia'	3	3	5
<i>Juniperus × media</i>	4	-	-
<i>Juniperus × media</i> 'Pfitzeriana Aurea'	-	0	5
<i>Juniperus × media</i> 'Pfitzeriana Glaucá'	-	0	5
<i>Juniperus horizontalis</i>	4	0	0
<i>Juniperus horizontalis</i> 'Plumosa'	0	-	-
<i>Juniperus virginiana</i>	4	-	-
<i>Juniperus squamata</i>	-	0	3
<i>Juniperus conferta</i>	0	-	-
<i>Calocedrus decurrens</i>	0	-	-
<i>Chamaecyparis lawsoniana</i>	1	0	0
<i>Chamaecyparis pisifera</i> 'Filifera'	-	0	0

Tab. 2 Hostitelské dřeviny a hustota molovky jalovcové; 0 – bez výskytu, 1 – druh zcela ojedinělý, 2 – <10 jedinců, 3 – 10–20 jedinců, 4 – 20–100 jedinců, 5 – druh velmi hojný (stovky až tisíce min nebo jedinců)

ZÁVĚR

Bylo doposud zjištěno, že hostitelskými dřevinami molovky zeravové jsou zeravy (*Thuja* spp.). Na jalovcích (*Juniperus* spp.) a cypřišcích (*Chamaecyparis* spp.) nebyla zjištěna. Nejvyšší početnost molovky zeravové je zaznamenána v parku v Lednici. Sledováním bionomie ve vnějších i laboratorních podmínkách byla u molovky zeravové potvrzena jedna generace za rok. Přezimuje ve stadiu housenky v poškozených větvičkách zeravů. Molovka jalovcová preferuje jako hostitelskou rostlinu jalovce (*Juniperus* spp.). Na sledovaných lokalitách byla ve vysoké početnosti zjištěna na jalovci virginském (*Juniperus virginiana*), jalovci čínském (*J. chinensis*), j. chvojce (*J. sabina*) a jalovec prostřední (*J. × media*). V menší početnosti byla zjištěna také na cypřišku (*Chamaecyparis lawsoniana*). Na

zeravech (*Thuja* spp.), pazeravu sbíhavém (*Calocedrus decurrens*) a *Juniperus conferta* zjištěna nebyla. Molovka jalovcová má jednu generaci za rok. Přezimující stadium, zimoviště a další vývoj molovky jalovcové bude upřesněn po dalším pozorování.

LITERATURA

Agassiz D. J. L. (1996): Yponomeutidae, s. 39–114. In: Emmet A. M. (ed.), *The moths and butterflies of Great Britain and Ireland*. Vol. III. Harley Books. Colchester, 452 s.

Deschka G. (1995): Schmetterlinge als Einwanderer. *Stapfia* 37, Katal. OÖ. Landesmus. N.F., 84: 77–128.

Hieke K., 1978: *Praktická dendrologie I*. Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 533 s.

Hurych V., 1996: *Okrasné dřeviny pro zahrady a parky*. Květ, Praha, 183 s.

Kurir A. (1983): Zur Ausbreitung und Biologie der Nordamerikanischen Thujenminiermotte *Argyresthia thuiella* Packard (Lep., Argyresthidae) in Österreich. *Pflanzenschutzberichte*, 47: 1–11.

Laštůvka Z. & Liška J. (2007): *Seznam motýlů České republiky. Checklist of Lepidoptera of the Czech Republic (Insecta: Lepidoptera)*. <http://www.lepidoptera.wz.cz> [navštíveno 19.8.2008]

Novák I. & Liška J. (eds) (1997): Katalog motýlů (Lepidoptera) Čech. *Klapalekiana*, 33 (Suppl.): 1–159

Plate H.-P. & Köllner V. (1977): Zum Auftreten von *Argyresthia thuiella* (Packard) (Lepidoptera, Hyponomeutidae) in Deutschland. *Nachrbl. Dtsch. Pflanzenschutzd.*, 29: 33–36.

Povolný D. & Zacha V. (1990): Blastotere thujella Packard – nový škůdce thují v ČSSR. *Ochrana rostlin*, 26: 67–71.

Pejchal M. 1983: *Sadovnická dendrologie: návody do cvičení – jehličnany*. SPN, Praha, 168 s.

Stigter H. & Frankenhuyzen A. Van (1992): *Argyresthia trifasciata*, a new pest on conifers in the Netherlands (Lepidoptera: Yponomeutidae, Argyresthiinae). *Entomologische Berichten, Amsterdam*, 54: 33–37.

Šefrová H. (2005): Minující druhy řádu lepidoptera na dřevinách arboreta MZLU v Brně – druhové složení, původ a vliv na zdravotní stav dřevin. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 53(2): 133–141.

Šefrová H. (2006) a: *Argyresthia thuiella* (Packard, 1871) – molovka zeravová, s. 294–295. In: Mlíkovský J. & Stýblo O. (eds), *Nepůvodní druhy fauny a flóry České republiky*. Praha, ČSOP a MŽP ČR, 496 s.

Šefrová H. (2006) b: *Rostlinolékařská entomologie*. Konvoj, Brno, 258 s.

Šefrová H. & Laštůvka Z. (2005): Catalogue of alien animal species in the Czech Republic. *Acta Univ. Agric. Silv. Mendel. Brun.*, 53(4): 151–170.

Šumpich J. 2002: Faunistic records from the Czech Republic – 143. Lepidoptera: Micropterigidae, Yponomeutidae, Agonoxenidae. *Klapalekiana*, 38: 26.

Tomiczek CH., Cech T., Krehan H., Perný B., Hluchý M. & Šefrová H. (2005): *Atlas chorob a škůdců okrasných dřevin*. Biocont Laboratory, Brno, 219 s.

Vávra J. (1999): Nezvaní hmyzí přistěhovalci v našich parcích. *Živa*, 47: 80–82.

DIFFERENCES IN THE BOTANICAL COMPOSITION OF A GRASS STAND BASED ON THE MODE OF ESTABLISHMENT AND DIFFERENT INTENSITY OF EXPLOITATION

ROZDÍLY V BOTANICKÉM SLOŽENÍ TRAVNÍHO POROSTU PODLE ZPŮSOBU ZALOŽENÍ A PŘI ROZDÍLNÉ INTENZITĚ VYUŽÍVÁNÍ

Krausová, A., Hrabě, F.

Department of Animal Nutrition and Forage Production, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xkrausov@node.mendelu.cz, hrabe@mendelu.cz

ABSTRACT

The stand was established in 1999 at the Research Station in Vatín by sowing a clover-grass mixture. In the period 1999 – 2005 the stand was mulched 3 times every year. In 2004 part of the stand (1/2) was treated with the “Roundup” herbicide and after the plants died off in the autumn of the same year the area was ploughed down. Part of the area was re-established in the form of controlled grassing – after ploughing down Roundup was applied and a clover-grass mixture was sown. Part of the re-established area was left for spontaneous grassing. On one part Roundup was applied and one part was not treated with Roundup. In all the variants two modes of management were used – mulching once a year and mulching 3 times a year. It was discovered that the botanical composition of a mulched grass stand established on arable land was greatly affected not only by the mode of establishment of the stand, but particularly by the frequency of cuttings. The mode of establishment affected the proportion of cultural species in the stand; the frequency of cuttings affected the light and water conditions, mulching affected nutrient cycling and the stage of succession affected the stability of the stand. The first variant – original 8-year-old stand already in the stabilisation stage of succession had a high proportion of grasses, both in terms of the weight (more than 90 %) and number of species. The variants of controlled and spontaneous grassing are going through the “quack-grass stage” with a prevailing dominance of dicotyledonous species in the controlled grassing variants and prevailing number of dicotyledonous species in spontaneously grassed variants. The frequency of cuttings affected particularly the proportion of leguminous plants in the stand. In some variants which were mulched once a year the leguminous plants disappeared completely.

Key words: arable land, grass stand, spontaneous grassing, mulching.

Acknowledgment: This study was supported by the Research plan No. MSM6215648905 “Biological and technological aspects of sustainability of controlled ecosystems and their adaptability to climate change“, which is financed by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

ÚVOD

Mulčování travního porostu se jeví jako alternativní způsob uchování kulturnosti travních porostů i ploch orné půdy uváděné „do klidu“ zatravněním.

Zemědělství bylo a je součástí péče o krajinu. Za dnešní situace, kdy není potřeba využívat porosty ke krmení, ale je nutné udržet ráz krajiny a únosný stav životního prostředí, je třeba volit jiné způsoby pro zachování porostů. (Fiala, Gaisler, 1999)

Cílem výzkumu je hodnocení sukcese travního porostu založeného řízeným a samovolným zatravněním při různé intenzitě mulčování. Sukcese obnovených porostů je srovnávána se stavem dlouhodobě využívaného travního porostu. V článku je hodnoceno složení porostu z hlediska botanických skupin a četnosti druhů na jednotlivých variantách pokusu.

Při uvedených způsobech zatravnění je nutné sledovat botanické složení porostu. Svobodová a kol. (2003) uvádí rizika, která se mohou projevit při samozatravnění půdy – ohrožení kvality půd, možností budoucího využívání a riziko zaplevelení okolních ploch. Z hlediska druhového složení je proto nutné tyto plochy obhospodařovat, jedním z možných způsobů využití je mulčování. Chemické ošetření je problematické z důvodu zachování pestrosti druhů, ale také z důvodů ekonomických a ekologických.

Důležitou součástí pokusu je sledování fází sukcese. Podle Hrabě, Buchgraber (2004) existují 2 fáze sukcese, počáteční fáze, trvající do 3 – 6 roku po zatravnění a období stabilizační od 6 roku po založení. V pokusu se porovnávají tyto dvě fáze – variantami jsou travní porost založený před 8 lety a travní porost obnovený řízeným nebo samovolným zatravněním.

MATERIÁL A METODIKA

Popis stanoviště

Pokus byl založen na pozemcích Výzkumné pícninářské stanice MZLU Brno ve Vatíně. VPS se nachází v CHKO Žďárské vrchy, okres Žďár nad Sázavou. Výzkumná stanice náleží do bramborářské výrobní oblasti v ekologických podmínkách, které lze považovat za typické pro oblast Českomoravské vysočiny. Nadmořská výška stanoviště je 560 m n. m.

Půdním typem stanoviště je kambizem typická, písčitohlinitá, která se nachází na deluviu biotické ortoruly.

Klimatické podmínky: Katastrální území obce Vatín lze charakterizovat jako slabě mírně teplou klimatickou oblast. Třicetiletý průměr ročních teplot za období 1970 až 2000 je 6,9 °C a průměr ročních srážek za stejné období je 617,5 mm.

Pokusné varianty

V roce 1999 byl nově založen jetelotravní porost. Druhová skladba: *Festuca rubra* (odr. Harald) 40 %, *Festuca ovina* (odr. Aurora) 30 %, *Poa pratensis* (odr. Slezanka) 25 %, *Trifolium repens* (odr. Mena) 5 %. Výsev 35 kg/ha. Porost založen výsevem bez krycí plodiny. Porost byl v období let 1999 – 2005 mulčován 3x v roce.

V roce 2004 byla část porostu (1/2) ošetřena systémovým herbicidem „Roundup“ a po odumření na podzim téhož roku byla plocha zaorána.

A) Původní porost

B) „Řízený úhor“ – v létě roku 2005 bylo provedeno ošetření této části plochy Roundupem, následně byla vyseta jetelotrávní směs s cílem částečného potlačení plevelných druhů. Složení JTS: *Festuca rubra* (odr. Tagera) 30 %, *Poa pratensis* (Slezanka) 20 %, *Lolium perenne* (odr. Pimpernel) 20 %, *Lolium multiflorum var.west.* (odr. Jivet) 20 %, *Trifolium repens* (odr. Rivendel) 10 %.

C) Přirozené samozatravnění s ošetřením plochy na jaře 2005 Roundupem; plocha je dále ponechána k volnému procesu samozatravnění.

D) Přirozené samozatravnění bez ošetření ploch Roundupem; plocha je dále ponechána k volnému procesu samozatravnění.

Na všech variantách byl použit dvojí způsob obhospodařování – mulčování 1x ročně a mulčování 3x ročně.

Termíny sečí: Blok I – mulčování 3x za rok 31. 5.; 1. 8.; 30. 10.

Blok II – mulčování 1x za rok – 1. 8.

Plocha nebyla v průběhu trvání pokusu hnojena minerálními hnojivy.

Druhy rostlin, zjištěné botanickým rozbořem z fytomasy, odebrané z 1 m² vždy v termínech sečí, byly rozděleny do 3 botanických skupin: trávy, jeteloviny, ostatní byliny. Poslední skupina zahrnuje dvouděložné byliny a ostřice a biky.

U bloku I, 3x ročně mulčovaného porostu byly použity rozboř 1. seče, prováděné 31. 5., u bloku II, 1x ročně mulčovaného byly použity výsledky rozboř z jediné seče prováděné 1. 8.

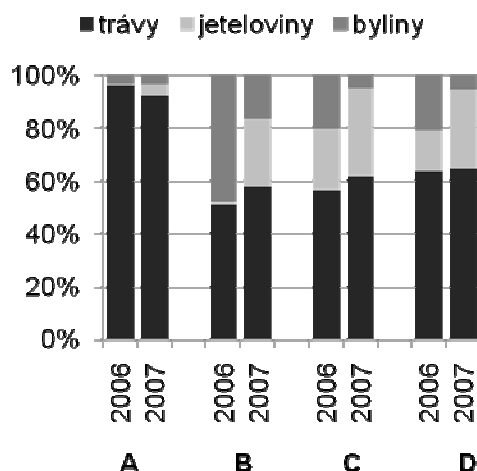
VÝSLEDKY A DISKUZE

Zastoupení botanických skupin

Zastoupení (% dominance) jednotlivých skupin, tj. trav, vikvovitých a ostatních bylin, je patrné z grafických zobrazení (graf 1 a 2)

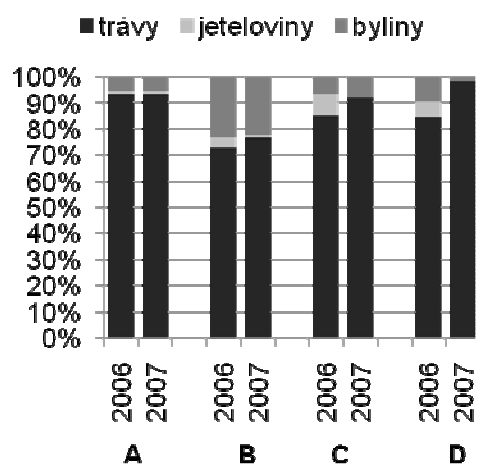
Obr. 1. Zastoupení botanických skupin, velký mulč, I. blok, 1. seč. Vatín, 2006 – 2007.

Fig. 1 Representation of botanical groups, high mulch, I. blok, 1. seč. Vatín, 2006 – 2007.



Obr. 2. Zastoupení botanických skupin, velký mulč, II. blok, 1. seč. Vatín, 2006 – 2007.

Fig. 2 Representation of botanical groups, high mulch, II. blok, 1. seč. Vatín, 2006 – 2007.



Výrazný rozdíl v zastoupení porostových skupin je mezi porostem 3x ročně mulčovaným a 1x ročně mulčovaným. U porostu s větší četností sklizní v roce je poměrně vyšší zastoupení jetelovin, zvláště ve druhém užitkovém roce. Poznatek je v souladu s výsledky dřívějšího výzkumu (Krausová, 2007). Podobných výsledku dosáhl také Fiala (2007). Je to dano patrně tím, že jetel plazivý, který je zde nejvíce zastoupený, je silně světlomilný a porost mulčovaný 1x ročně až v letním období neposkytuje dostatek světla. Poměrně nižší zastoupení trav je jednak u variant samozatrávnění, a zvláště pak u varianty s vysetou jetelotrávní směskou. To by mohlo být dáno tím, že po zaorání starého porostu a použití totálního herbicidu zůstala v půdě semena dvouděložných rostlin, které se prosadily jak na ploše ponechané samovolnému zatrávnění, tak i ve vysetém, v prvních letech slabě zapojeném jetelotrávním porostu. Tomu odpovídá i to, že v druhém užitkovém roce se zastoupení trav na všech obnovených variantách zvýšilo.

Počet druhů

Jedná se o počet druhů v jednotlivých botanických skupinách (tab. 1 a 2), přitom trávy byly dále rozděleny na výběžkaté a trsnaté. U každé varianty byl pak brán ohled na dominanci druhů, to znamená, že každá skupina byla rozdělena na druhy se zastoupením do 5 % a nad 5 % zastoupení. Jedná se o hmotnostní podíl, určený na základě botanických rozborů.

U porostů založených řízeným zatrávněním, a to jak u porostu původního, tak u obnoveného převažují travní druhy (v r. 2007 5 – 7 druhů trav oproti 2 – 4 dvouděložným druhům), u samozatrávnění převažuje počet dvouděložných druhů a to zvláště v 1. užitkovém roce (10 – 14 dvouděložných druhů oproti 2 – 4 druhům trav). Ve druhém roce u variant

samozatravnění výrazně klesá počet druhů a to především dvouděložných. To je v souladu s poznatky Svobodové a kol. (2003), která uvádí ve druhém roce po ponechání porostu samovolnému zatravnění zvýšení podílu dvouděložných plevelných druhů, které se postupně pravidelným obhospodařováním omezují. Výběžkaté druhy trav představované v této fázi především *Elytrigia repens*, převažují nad podílem druhů trsnatých na všech variantách. Tento jev je nejméně výrazný u varianty B – obnovený porost s vysetou jetelotravní směsí. Výraznější je tento rozdíl u třísečného způsobu obhospodařování, kde pouze var. B má jeden trsnatý druh s podílem nad 5%. Jeteloviny jsou ve většině porostů zastoupeny pouze jedním druhem (*Trifolium repens*), v porostech ponechaných samovolnému zatravnění, mulčovaných 1x ročně ve druhém roce zcela vymizely, což je pravděpodobně dáno nedostatkem světla.

Tab. 1. Počet a strukturální skladba druhů trav, jetelovin a dvouděložných bylin v mulčovaných travních porostech. Vatín, 2006.

Tab. 1 Number and structural composition of species of grasses, leguminous plants and dicotyledonous herbs in mulched grass stands. Vatín, 2006.

Varianta		3x ročně mulčování			1x ročně mulčování			
		celkem	pod 5 %	nad 5 %	celkem	pod 5 %	nad 5 %	
		počet	počet	počet	počet	počet	počet	
A	trávy	výběžkaté	4	1	3	4	0	4
		trsnaté	0	0	0	1	1	0
	jeteloviny	1	1	0	1	1	0	
	dvouděložné	3	3	0	6	6	0	
	celkem	8	5	3	12	8	4	
B	trávy	výběžkaté	4	3	1	4	3	1
		trsnaté	3	2	1	1	0	1
	jeteloviny	1	1	0	1	1	0	
	dvouděložné	9	6	3	15	14	1	
	celkem	17	12	5	21	18	3	
C	trávy	výběžkaté	3	2	1	4	3	1
		trsnaté	1	1	0	0	0	0
	jeteloviny	1	0	1	1	0	1	
	dvouděložné	16	15	1	12	12	0	
	celkem	21	18	3	17	15	2	
D	trávy	výběžkaté	2	1	1	3	1	2
		trsnaté	0	0	0	0	0	0
	jeteloviny	1	0	1	1	0	1	
	dvouděložné	14	13	1	10	10	0	
	celkem	17	14	3	14	11	3	

Tab. 2 Počet a strukturální skladba druhů trav, jetelovin a dvouděložných bylin v mulčovaných travních porostech. Vatín, 2007.

Tab. 2 Number and structural composition of species of grasses, leguminous plants and dicotyledonous herbs in mulched grass stands. Vatín, 2007.

Varianta		blok 1			blok 2			
		celkem	pod 5 %	nad 5 %	celkem	pod 5 %	nad 5 %	
		počet	počet	počet	počet	počet	počet	
A	trávy	výběžkaté	4	1	3	5	2	3
		trsnaté	1	1	0	2	2	0
	jeteloviny	1	1	0	1	1	0	
	dvouděložné	4	4	0	2	2	0	
	celkem	10	7	3	10	7	3	
B	trávy	výběžkaté	4	3	1	5	3	2
		trsnaté	3	2	1	1	0	1
	jeteloviny	1	0	1	2	2	0	
	dvouděložné	4	3	1	4	3	1	
	celkem	12	8	4	12	8	4	
C	trávy	výběžkaté	3	1	2	3	1	2
		trsnaté	2	2	0	1	0	1
	jeteloviny	1	0	1	0	0	0	
	dvouděložné	10	10	0	5	4	1	
	celkem	16	13	3	9	5	4	
D	trávy	výběžkaté	3	2	1	4	3	1
		trsnaté	2	2	0	1	0	1
	jeteloviny	1	0	1	0	0	0	
	dvouděložné	7	7	0	3	3	0	
	celkem	13	11	2	8	6	2	

ZÁVĚR

Výzkum prokázal, že významný vliv na botanické složení mulčovaného travního porostu, založeného na orné půdě, má nejen způsob založení porostu, ale zejména frekvence sečí. Způsob založení ovlivňuje podíl kulturních druhů v porostu, frekvence sečí světelné a hydrologické podmínky, vlastní mulčování koloběh živin a stádium sukcese stabilitu porostu.

U první varianty – původního porostu, který se nachází již ve stabilizační fázi sukcese, je patrný vysoký podíl trav a to jak v hmotnostním podílu tak i co do počtu druhů.

Na variantách řízeného a samovolného zatravnění probíhá fáze „pýrového stadia“ s převahou dominance dvouděložných druhů u řízeného zatravnění a u variant samozatravnění s převahou počtu dvouděložných druhů.

Četnost sečí ovlivňuje především podíl jetelovin v porostu. V některých variantách mulčovaných 1x ročně jeteloviny vymizely úplně.

LITERATURA

Fiala, J., Gaisler, J. (1999): Obhospodařování travních porostů pícninářský nevyužívaných. Metodiky pro zemědělskou praxi. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, s. 31.

Fiala, J. (2007): Mulčování trvalých travních porostů. Sborník z mezinárodní vědecké konference: Ekológia trávneho porastu VII. Banská Bystrica, Výskumný ústav trávnych porastov a horského poľnohospodárstva, s. 390 – 403.

Hrabě, F., Buchgraber, K. (2004): Pícninářství: Travní porosty. Brno: MZLU, s. 68.

Krausová, A. (2007): Vliv mulčování na rychlost a směr sukcese porostu při řízeném a samovolném procesu zatravnění. Mendelová zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Lesnická a dřevařská fakulta. Vedoucí diplomové práce Prof. Ing. František Hrabě, CSc.

Svobodová, M. a kol. (2003): Jak ošetřovat spontánní úhory. Úroda 2/2003, s. 54 – 55.

THE INFLUENCE OF DEVELOPMENTAL STAGE OF POTATO PLANTS ON THE DETECTION OF *POTATO LEAFROLL VIRUS* (PLRV)

VLIV VÝVOJOVÉ FÁZE BRAMBORU NA DETEKCI *POTATO LEAFROLL VIRUS* (PLRV)

Krédl¹ Z., Pokorný¹ R., Dědič² P.

¹ Department of Crop Science, Breeding and Plant Medicine, , Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

² Department of Virology, Potato Research Institute, Dobrovského 2366, Havlíčkův Brod, 580 01, Czech Republic

E-mail: kredl.zdenek@centrum.cz, pokorny0@node.mendelu.cz, dedic@vubhb.cz

ABSTRACT

The work was aimed at elucidation of optimal date for detection of *Potato leafroll virus* (PLRV) in potato leaves by ELISA, the symptoms of disease and the effect of infection on the height of plants. The optimal term for PLRV detection was three weeks after tubers seeding in the greenhouse. In this term we obtained 97,6 percentage of positive results. There were 83,3 percentage and 76,2 percentage of positive results in the fifth and seventh week after tuber seeding. We did not find any correlation between expression of symptoms and relative virus concentration expressed as level of extinction in ELISA. Infection of potato plants by PLRV significantly influenced plant height.

Key words: *Solanum tuberosum*, *Potato leafroll virus*, ELISA, detection

Acknowledgments: Výsledky práce byly získány při řešení projektu NAZV QH 71123 Variabilita viru svinutky bramboru (PLRV), zvýšení spolehlivosti jeho detekce a uplatnění transgenóze v rezistentním šlechtění.

ÚVOD

Patogeni virového původu patří mezi nejdůležitější původce chorob brambor. Výskyt virových chorob je v našich klimatických podmínkách hlavním problémem, neboť výraznou měrou ovlivňují dosažené výnosy, protože brambory jsou značně vnímavé k těmto virovým patogenům, což je jejich negativní vlastnost. V našich klimatických podmínkách je ještě znásobena silným infekčním tlakem virů, vyvolaným vysokým výskytem přenašečů. Z těchto důvodů je velice obtížné udržení dobrého zdravotního stavu porostů, což se negativně projevuje především na kvalitě sadby.

Znalost spektra specifické populace patogenů umožní, aby k výsadbě byly cíleně vybírány odrůdy s uspokojivou hladinou rezistence a zároveň sadba s minimálním napadením hlíz tak, aby došlo k výnosové kompenzaci hlíz vlivem sousedících zdravých rostlin a nedošlo ke statisticky významnému snížení výnosu. K tomu se používají diagnostické sérologické metody, které v sadbě brambor bezpečně detekují výskyt patogena a umožní tak vybrat pouze zdravou sadbu, která je následně certifikována.

Jedním z nejdůležitějších faktorů preventivní ochrany porostů brambor je tedy používání zdravé certifikované sadby, která podle právních předpisů prošla kontrolou proti virovým patogenům pomocí ELISA testu na odborných pracovištích. Jako další faktory ochrany proti virovým patogenům je výběr vhodných rezistentních odrůd a dodržování správné pěstební agrotechniky. V neposlední řadě nesmíme zapomenout na ochranu porostů brambor proti přenašečům virových patogenů. Při pěstování sadby je třeba dbát na to, aby byly pečlivě prováděny negativní výběry.

Při použití certifikované sadby by na produkčních plochách neměla být podle stávající právní normy vysazována sadba s větším napadením hlíz těžkým virovým onemocněním než deset procent, popřípadě hlíz napadených lehkými virózy po přepočtu na tento výskyt pomocí koeficientu 0,33. Podle uvedených hodnot lze odvodit, že u porostů infikovaných sledovanými viry do tohoto stupně nedojde ke statisticky významnému snížení výnosu hlíz. Při vyšším stupni zamoření, ke kterému velmi snadno u porostů dochází zejména při opakovaném přesazování vlastní necertifikované sadby, vzniká výrazná výnosová deprese.

MATERIÁL A METODIKA

V experimentu bylo použito 14 odrůd bramboru, které nebyly uznány certifikačním řízením sadby brambor v důsledku zvýšené nebo vysoké hladiny napadení PLRV. Bylo tak možné v předběžných testech vybrat dostatečný počet hlíz s reálným předpokladem jejich infekce PLRV. Jednalo se o odrůdy Barbora, Belana, Claret, Colette, Ikar, Janet, Karin, Marena, Nancy, Princess, Red Anna, Vladan, Westamyl a KE 149/21. Po důkladném omytí a osušení hlíz se jednotlivé hlízy očíslovaly a narovnaly do sadbovače v počtu 94 kusů tak, aby následně mohly být po otestování dužniny přímo vybrány pouze ty, které vykazovaly odpovídající extinkční hodnoty indikující infikované, resp. zdravé hlízy. Jako metoda pro vyhodnocování vzorků byla zvolena DAS ELISA.

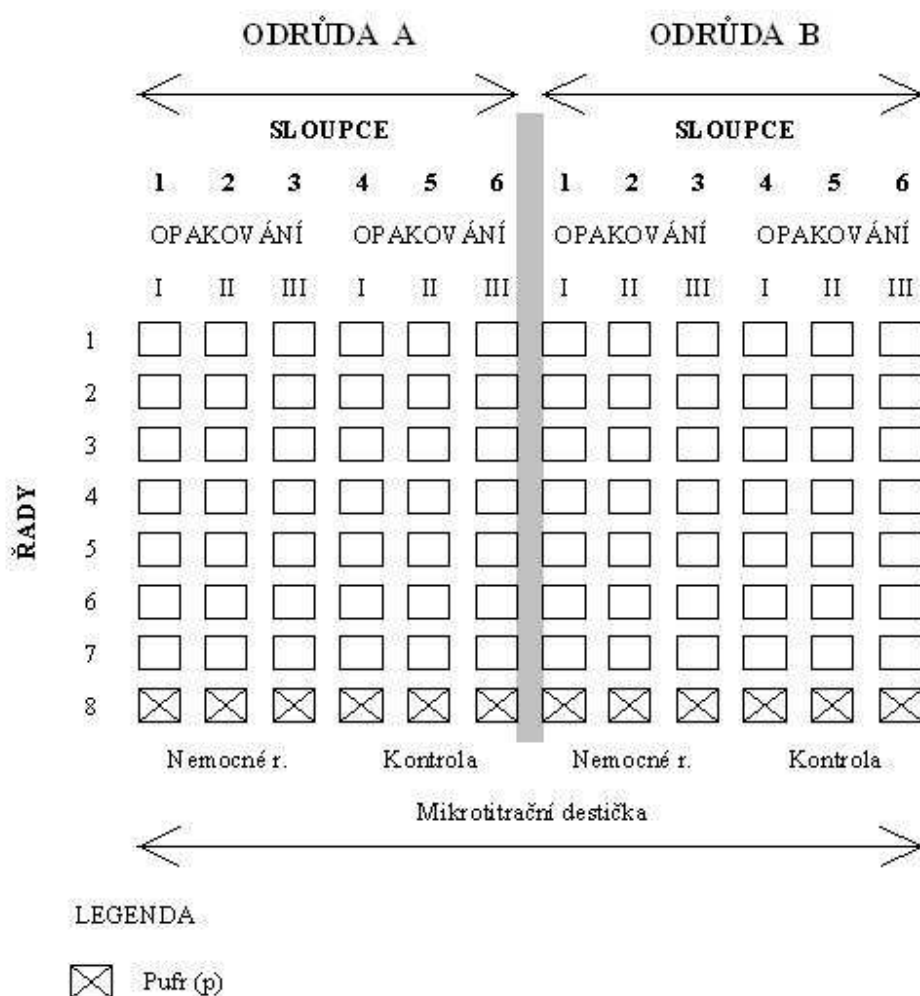
Z připravených a očíslovaných hlíz se odebral vzorek vždy pupkové části hlízy pomocí speciálního nože se dvěma ostřími. Výsledný proužek dužniny hlíz se vložil do poloautomatického lisu, odebrala se kapka rostlinné šťávy (cca 50 μ l) a smíchala s extrakčním puřem Tris v poměru 1:10.

Ředění polyklonálních protilátek a AP konjugovaných protilátek jsme prováděli vždy dle doporučení výrobce. Ředění bylo v potahovacím i konjugátovém pufru v poměru 1:1000 protilátky/pufr. Ředění PNP v substrátovém pufru je taktéž 1:1000 PNP/pufr (1mg/ml). Na každou jamku mikrotitrační destičky jsme používali 100 μ l roztoku každé protilátky a substrátu. Jednotlivé pracovní etapy jsou po příslušných inkubačních intervalech přerušovány vymýváním nenavázaných reagensů.

Z výsledků spektrofotometru bylo vybráno z každé odrůdy 21 hlíz s nejvyššími hodnotami extinkce, zpravidla o hodnotách 0,200 až 0,500 U (absorbance při 405 nm) podle zamoření odrůdy a 21 hlíz určených jako zdravá kontrola s nižšími hodnotami extinkce, zpravidla v rozpětí 0,062 až 0,100 U. Vybrané hlízy se uskladnily při teplotě tři až pět °C až do 18. 1. 2008.

Pro stimulaci klíčení byly hlízy podélně rozříznuty a zasázeny 18. 1. 2008 do kontejnerů (o velikosti 12 x 12 cm) pupkovou částí dolů a přihrnuly se substrátem až po okraj. Zasázené hlízy v kontejnerech byly umístěny do skleníku s průměrnou teplotou 19,1 °C. Z hlediska optimalizace a efektivity pokusu byly kontejnery vyrovnány do tvaru mikrotitrační destičky, tzn., že při stávajícím počtu hlíz se na jednu destičku při vzorkování vejdu 2 odrůdy (*Obr. 1*). Každá odrůda zahrnovala 3 opakování po 7 rostlinách napadených hlíz a 3 opakování po 7 rostlinách kontrolních (nenapadených) hlíz. Každé opakování odpovídalo jednomu sloupci a rostliny řadám. Do prvních třech sloupců v pořadí od nejvyšší hodnoty extinkce až po nejnižší se vždy řadily hlízy s předpokladem jejich infekce PLRV a stejně tak se řadily i zdravé hlízy, resp. od čtvrtého do šestého sloupce. V poslední řadě všech sloupců byla vynechána místa, která byla následně při vyhodnocování označována jako pufr, neboť mikrotitrační destička má 8 řad. Jako pufr (p) byly označovány při vlastním hodnocení ELISA též všechny položky, které chyběly (rostlinky příliš malé v prvních termínech, nebo zničené hnilobou a pod.).

Obr. 1: Schéma uspořádání pokusu



Hodnocení průběhu napadení rostlin probíhalo ve třech termínech. Ve 3 týdnů po výsadbě se odebraly první vzorky listů pro hodnocení koncentrace viru v rostlinách bramboru, neboť většina rostlinek bramboru narostla během této doby do velikosti plně uspokojivé pro odebrání optimální velikosti listů pro ELISA testy. Ve skleníku se z každé rostliny, resp. z každého květináče odebral dostatečně velký spodní list a založil se do připraveného sešitu s předem očíslovanými stránkami tak, aby nemohlo dojít později k jejich záměně. Rostlinná šťáva z rozdrčených listů se smíchala s extrakčním pufrem Tris.

Dále se provedlo vizuální symptomatické vyhodnocování příznaků PLRV na jednotlivých rostlinách každých odrůd a měření výšek rostlin.

V pátém týdnů po výsadbě se uskutečnily druhé odběry vzorků listů pro vyhodnocování koncentrace viru v rostlinách bramboru a druhé vizuální symptomatické vyhodnocování příznaků PLRV na jednotlivých rostlinách každých odrůd a druhé měření vzrůstu rostlin. Vlastní průběh pokusu je totožný s vyhodnocováním výsledků ve 3 týdnů po výsadbě.

V sedmém týdnů po výsadbě se realizovaly třetí odběry vzorků listů pro vyhodnocování koncentrace viru v rostlinách bramboru a třetí vizuální symptomatické vyhodnocování příznaků

PLRV na jednotlivých rostlinách každých odrůd a třetí měření vzrůstu rostlin. Vlastní průběh pokusu je totožný s vyhodnocováním výsledků ve 3 týdnu po výsadbě.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Zjištěné výsledky četnosti výskytu PLRV v hlízách a extinkce byly hodnoceny dvoufaktorovou analýzou rozptylu (ANOVA), přičemž faktory byly termín a odrůda. Následně byly hodnoceny rozdíly mezi odrůdami v jednotlivých termínech hodnocení. Výsledky analýzy byly testovány dle Tukeye na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. V jednotlivých termínech bylo statisticky vyhodnoceno také měření výšek rostlin u nemocných a zdravých rostlin v průměru za všechny sledované odrůdy. Byla použita dvoufaktorová analýza rozptylu (odrůda a zdravá x nemocná rostlina), nicméně při hodnocení byl použit pouze faktor zdraví rostlin. Výsledky analýzy byly testovány dle Tukeye na hladině významnosti $\alpha = 0,01$. Hodnocení bylo prováděno v programu UNISTAT 5.1.

Výsledky testu hlíz

Po otestování 94 hlíz bramboru z každé odrůdy na výskyt PLRV bylo potřeba vybrat 21 hlíz s reálným předpokladem infekce PLRV. Extinkční hodnota pro výrok infikovaná/zdravá hlíza byla stanovena na 0,200 U, která se vymezuje jako třínásobek průměrné extinkční hodnoty pufru + rezerva. Jak je zřejmé z Tab. 1, průběh detekce napadení PLRV z dužniny hlíz nedával uspokojivé výsledky z hlediska výše extinkčních hodnot u řady odrůd, a proto bylo potřeba vybrat hlízy s extinkční hodnotou co nejbližší stanovenému limitu. Mezi odrůdy s poměrně vysokým zastoupením hlíz infikovaných PLRV se zařadily Ikar, Janet a Claret. Tyto odrůdy vykazovaly rovněž poměrně vysokou extinkci u infikovaných hlíz. Naopak odrůdy Belana, Colette a Westamyl měly malý počet infikovaných hlíz s poměrně nízkou extinkcí vzorků. Vzhledem k tomu, že ne u všech odrůd bylo dostatečné množství napadených hlíz, byly do dalších analýz průběhu napadení rovněž vybrány i odrůdy s nižšími hodnotami extinkce: Belana, Colette, Karin, KE 149/21, Marena, Princess a Westamyl.

Tab. 1: Počet napadených hlíz a průměrné extinkce

Číslo	Odrůda	PNH	Extinkce průměr
1	Barbora	26	0,3700
2	Belana	3	0,2190
3	Claret	78	0,4640
4	Colette	5	0,2690
5	Ikar	86	0,4610
6	Janet	88	0,5810
7	Karin	13	0,3430
8	KE 149/21	11	0,3640
9	Marena	9	0,2530
10	Nancy	26	0,3710
11	Princess	15	0,3060
12	Red Anna	22	0,4120
13	Vladan	27	0,3530
14	Westamyl	5	0,2770

Symptomatické vyhodnocování průběhu napadení

Symptomatické vyhodnocování rostlin bramboru probíhalo ve třetím, pátém a sedmém týdnu po výsadbě. Infikované rostliny se porovnávaly se zdravou kontrolou.

Barbora

Ve třetím i pátém týdnu po výsadbě rostliny odrůdy Barbora nevykazovaly žádné příznaky napadení PLRV a vypadaly zdravě a svěže. První vizuálně rozpoznatelné příznaky napadení PLRV se projevily jemným prosvětlováním žilnatiny až v sedmém týdnu po výsadbě. Symptomy svinování listů nebyly pozorovány.

Belana

Symptomy slabého žloutnutí spodních listů byly pozorovány až v sedmém týdnu po výsadbě. Do této doby mezi infikovanými rostlinami PLRV a kontrolou nebyly rozpoznány vizuální změny. Pro silné napadení patogenem *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (bakteriální černání stonku) musela být tato odrůda vyloučena z dalšího vyhodnocování.

Claret

Symptomy žloutnutí apikální části listů a lehké lžícovité svinování od špiček těchto listů byly pozorovány v pátém týdnu po výsadbě. V sedmém týdnu po výsadbě již rostliny infikované PLRV vytvářely chlorózu mezižilnatiny kolem okraje celého listu a ve středním patře i slabé svinování listů.

Colette

První symptomy u odrůdy Colette byly zpozorovány až v pátém týdnu po výsadbě, které se projevily velmi slabou chlorózou listů a lehkým lžícovitým stáčením listů, aby po další dva týdny tyto příznaky nabraly na intenzitě. V jednom případě byl zaznamenán výskyt antokyanizace listové nervatury a přiléhajícího pletiva. Jednalo se o rostlinu s extinkční hodnotou 1,213 U (Hodnota extinkce naměřená v sedmém týdnu po výsadbě). Díky silnému napadení patogenem *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* byla tato odrůda vyloučena z dalšího vyhodnocování.

Ikar

Rostliny odrůdy Ikar infikované PLRV se projevily zpomalením růstu a tvorbou trsů metlovitého vzhledu již ve třetím týdnu po výsadbě. Po sedmi týdnech od výsadby

mezižilnatinová chloróza zachvátila listy napadených rostlin, které se člunkovitě stáčely a po smáčknutí vydávaly papírový zvuk.

Janet

Ve třetím týdnu po výsadbě bylo u jedné infikované rostliny s extinkční hodnotou 0,350 U pozorováno vrcholové stáčení listů. Ostatní rostliny se na pohled zdály svěží a zdravé. V pátém týdnu po výsadbě se již projevila slabá mezižilnatinová chloróza, v nízkém a středním patře lžícovité stáčení listů a ve vrcholových partiích člunkovité stáčení listů. V posledním termínu byly již listy zasaženy chlorózou kolem celého listu u všech infikovaných rostlin, včetně typického svinování listů, které po smáčknutí vydávaly papírový zvuk.

Karin

Odrůda Karin vykazovala stejné příznaky napadení PLRV v pátém i sedmém týdnu po výsadbě jako odrůda Claret pouze s tím rozdílem, že svinuté listy po smáčknutí praskaly a vydávaly typický papírový zvuk. Odrůdu Karin zasáhl z 1/4 patogen *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, a proto byla z dalšího vyhodnocování vyloučena.

KE 149/21

Ve všech hodnocených termínech nebyly pozorovány žádné symptomatické příznaky napadení PLRV, s výjimkou inhibice růstu. V pátém a sedmém týdnu po výsadbě byl pozorován u 3 rostlin výskyt Y virózy bramboru (*Potato virus Y*).

Marena

Odrůda Marena podobně jako KE 149/21 nevykazovala žádné příznaky napadení PLRV. Z důvodu většího napadení patogenem *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* musela být tato odrůda vyloučena z dalšího vyhodnocování.

Nancy

Infikované rostliny odrůdy Nancy vykazovaly ve třetím týdnu po výsadbě nižší růst. Již v pátém týdnu po výsadbě rostliny polehly a z 1/2 je napadl patogen *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. Na několika infikovaných rostlinách PLRV se projevila velmi slabá chloróza mezižilnatiny bez svinování listů. Z důvodu vysoké destrukce rostlin vlivem patogena *Erwinia carotovora* byla odrůda Nancy vyloučena z dalšího vyhodnocování.

Princess

Ve všech termínech vyhodnocování infikované rostliny PLRV odrůdy Princess vytvářely nitkovité stonky. Od pátého týdne po výsadbě začaly spodní listy silně žloutnout, aby v sedmém týdnu chloróza zachvátila celé rostliny, které následně polehly.

Red Anna

Ve třetím týdnu po výsadbě 1/2 rostlin nevyrostla a v pátém týdnu po výsadbě zbylé rostliny zachvátil patogen *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, tudíž rostliny nemohly být symptomaticky vyhodnoceny, a tato odrůda musela být vyloučena z dalšího vyhodnocování.

Vladan

Odrůda Vladan během třetího a pátého týdne po výsadbě vypadala zdravě, bez příznaků napadení PLRV. První symptomy infekce PLRV se pozorovaly až v sedmém týdnu po výsadbě ve formě světlejší barvy listové plochy a menším vzrůstem u 4 rostlin s extinkčními hodnotami v rozpětí 1,3 – 2,5 U. Ostatní rostliny bez viditelných symptomů infekce PLRV. Pro větší napadení patogenem *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* byla tato odrůda vyloučena z dalšího vyhodnocování.

Westamyl

Již při prvním symptomatickém vyhodnocování se infikované rostliny oproti kontrole jevíly nižším vzrůstem. Tato inhibice se potvrdila v dalších termínech hodnocení spolu s příznaky kadeření vrcholových listů, metlovitým vzrůstem a tvorby nepravidelných hnědých nekrotických

skvrn (Obr 18). V sedmém týdnu po výsadbě se jako další příznak napadení PLRV objevila chloróza mezižilnatiny. Pro silné napadení patogenem *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* byla tato odrůda vyloučena z dalšího vyhodnocování.

Vizuální symptomy napadení PLRV se u většiny hodnocených infikovaných odrůd objevily až v pátém týdnu po výsadbě. Největší intenzita byla však pozorována až v období sedmého týdne po výsadbě. Napadené rostliny různých odrůd PLRV se projevily inhibicí růstu, tvorbou nitkovitých stonků, prosvětlováním žilnatiny a postupnou chlorózou listové plochy od apikální části listů postupující kolem okrajů listů. Chlorotická diskolorace začínala nejdříve v nižších listových patrech, později i ve vyšších patrech a pomalu zachvacovala celé listy, které se pozvolna lžícovitě, a poté člunkovitě stáčely směrem nahoru kolem hlavního nervu. Některé stočené listy po smáčknutí vydávaly typický papírový zvuk. Na některých listech se po infekci PLRV vytvořily nepravidelné hnědé nekrotické skvrny, nebo antokyanizace listové nervatury a přiléhajícího pletiva. V několika případech bylo pozorováno vrcholové stáčení a kadeření listů. Trsy napadených rostlin měly často výrazný metlovitý vzhled. U každé odrůdy nějaké napadené rostliny nevykazovaly symptomy, jednalo se tedy o latentní infekci.

Četnosti napadení a průběh extinkce

Při hodnocení dvoufaktorovou analýzou rozptylu mezi jednotlivými odrůdami došlo v průměru za všechny tři hodnocení ke statisticky významnému rozdílu ve velikosti extinkce, avšak v četnosti napadení nikoliv (Tab. 2). Průměrné hodnoty extinkce nemají vypovídající hodnotu, neboť porovnávání odrůd podle tohoto kritéria postrádá smysl. Velikost extinkce však může poukázat na skutečnost, že u některých odrůd mohlo dojít k rychlejšímu šíření a množení patogena v hostitelské rostlině, což zřejmě souvisí s obrannými mechanizmy rostliny, nebo že některé vybrané hlízy obsahovaly ve své tkáni vyšší koncentraci viru, který se v průběhu růstu rostliny rychleji šířil a množil.

Tab. 2: Vliv odrůdy na velikost extinkce a počet napadených rostlin

Odrůda	Extinkce	Četnost
KE 149/21	0,5116 a	6,3333 a
Janet	0,5581 a	5,5556 a
Princess	0,6244 a	6,1111 a
Barbora	0,6635 ab	5,5556 a
Claret	0,6654 ab	5,7778 a
Ikar	1,0977 b	6,6667 a

Porovnávání vlivu termínu hodnocení na velikost extinkce a počet napadených rostlin udává Tab. 3. Na základě analýzy rozptylu bylo zjištěno, že rozdílné termíny hodnocení mají statisticky významný vliv na četnosti napadení. Z těchto výsledků tedy vyplývá, že optimální termín pro detekci PLRV z listů rostlin je první termín, tedy třetí týden po výsadbě, neboť mezi tímto termínem a dalšími dvěma následujícími byl zjištěn statisticky významný rozdíl. Závislost extinkčních hodnot na různých termínech detekce nebyla prokázána.

Tab. 3: Vliv termínu hodnocení na velikost extinkce a počet napadených rostlin

Termín	Extinkce	Četnost
I	0,8553 a	6,8333 b
II	0,6110 a	5,8333 a
III	0,5941 a	5,3333 a

Porovnávání extinkčních hodnot a četnosti napadení po jednotlivých termínech znázorňují Tab. 4, Tab. 5 a Tab. 6. V prvním termínu hodnocení nebyl statisticky významný rozdíl jak mezi extinkcemi odrůd, tak mezi četnostmi napadení (Tab. 4). U odrůdy KE 149/21, Princess a Claret se v jednom případě nepodařilo prokázat napadení PLRV, a tím došlo ke snížení průměrné četnosti napadení a potažmo i snížení průměrných extinkčních hodnot. Z těchto závěrů je zřejmé, že extinkce u tohoto neprůkazného napadení nepřesáhla hodnotu 0,200 U, což je limitní hranice pro bezpečné určení infekce PLRV. Extinkční hodnota 0,200 U je současně indukující hranice, kdy lze virus detekovat vizuálně při barevné změně substrátu.

Tab. 4: Velikosti průměrné extinkce a průměrné četnosti v I. termínu

Odrůda	Extinkce	Četnost
KE 149/21	0,6118 a	6,6667 a
Janet	0,7493 a	7,0000 a
Princess	0,5640 a	6,6667 a
Barbora	1,2421 a	7,0000 a
Claret	1,0055 a	6,6667 a
Ikar	0,9591 a	7,0000 a

Ve druhém termínu hodnocení se prokázal významný rozdíl mezi extinkcemi odrůd (Tab. 5). Odrůda Ikar se vyznačovala téměř trojnásobnými extinkčními hodnotami oproti odrůdám KE 149/21, Janet, Barbora a Claret. Stejně tak odrůda Princess měla vyšší hodnoty extinkce o více než polovinu před odrůdami KE 149/21, Janet, Barbora a Claret. V tomto termínu tedy došlo k rapidní změně koncentrace PLRV v rostlinách bramboru, kdy u odrůdy Ikar a Princess došlo k mírnému zvýšení koncentrace PLRV a u ostatních odrůd k prudkému poklesu koncentrace PLRV v porovnání s I. termínem hodnocení. Snížení hladiny průměrných extinkcí odrůd vedlo ke snížení četnosti napadení. Nejvíce patrné je to u odrůdy Barbora a Claret, kde se ve II. termínu nepodařilo prokázat napadení u 7 rostlin.

Tab. 5: Velikosti průměrné extinkce a průměrné četnosti ve II. termínu

Odrůda	Extinkce	Četnost
KE 149/21	0,4377 a	6,3333 a
Janet	0,4623 a	6,0000 a
Princess	0,7796 ab	6,6667 a
Barbora	0,3406 a	4,6667 a
Claret	0,4278 a	4,6667 a
Ikar	1,2178 b	6,6667 a

Ve třetím termínu hodnocení se rovněž nepodařilo statisticky prokázat rozdíl mezi extinkcemi odrůd a rozdíl mezi četnostmi napadení. Přesto lze z Tab. 6 vyhodnotit, že průměrné extinkce odrůd v porovnání s II. termínem zůstaly téměř shodné, pouze u odrůdy Barbora a Claret mírně narostly a jen v jednom případě extinkce klesla (odrůda Princess). Dále můžeme pozorovat závislost, kdy se u obou odrůd se zvyšující se extinkcí zvedl i počet průkaznosti napadení. Zajímavé pozorování je taktéž u odrůdy Janet, která měla nejmenší četnosti napadení, neboť se nepodařilo prokázat napadení u 10 rostlin.

Tab. 6: Velikosti průměrné extinkce a průměrné četnosti ve III. termínu

Odrůda	Extinkce	Četnost
KE 149/21	0,4855 a	6,0000 a
Janet	0,4626 a	3,6667 a
Princess	0,5296 a	5,0000 a
Barbora	0,4077 a	5,0000 a
Claret	0,5629 a	6,0000 a
Ikar	1,1161 a	6,3333 a

Hodnocení výšek rostlin

V rámci hodnocení výšek kontrolních a infikovaných rostlin se podařilo prokázat, že byl ve všech termínech statisticky průkazný rozdíl (Tab. 7). Infikované rostliny byly vždy minimálně o 1/3 nižší než zdravé rostliny. Ve třetím týdnu po výsadbě zaostávaly infikované rostliny v růstu o cca 8 cm a v pátém a sedmém týdnu shodně o cca 13 cm. Při symptomatickém hodnocení byl výškový rozdíl zaznamenán v pátém a sedmém týdnu po výsadbě (II – III termín), tudíž se rostliny dají v porostu podle tohoto kritéria detekovat, přesto je však možné zakrslost rostlin způsobenou virem PLRV snadno zaměnit za zakrslost způsobenou jinými faktory (např. faktor odrůdy, abiotické vlivy atd.).

Tab. 7: Průměrné výšky nemocných a kontrolních rostlin

Skupina	Termín		
	I	II	III
Nemocné	17,4365 a	34,3810 a	37,6984 a
Zdravé	25,1521 b	47,2336 b	50,6693 b

Diskuze

Příznaky napadení se projevily inhibicí růstu, chlorózou rostlin od špiček listů po zasažení celého jejich okraje a následným typickým člunkovitým stáčením listů kolem hlavního nervu směrem nahoru nejdříve spodního, později vyššího patra. Podobné symptomatické projevy napadení PLRV uvádějí i BENADA et al. (1958), JAYASINGHE (1988), ČAČA et al. (1990), TÁBORSKÝ & ŠEDIVÝ (1997), DĚDIČ (1998A), RASOCHA et al. (2004) a VOKÁL et al. (2004). Symptomy infekce PLRV se projevily převážně až po pěti týdnech od výsadby. Můžeme potvrdit i závěry, že ochořelé listy jsou někdy nafialovělé a při smáčknutí praskají a vydávají typický papírový zvuk, což uvádějí BENADA et al. (1958), JAYASINGHE (1988), RASOCHA et al. (2004) a VOKÁL et al. (2004). Stejně tak dokládáme výsledky totožné s BENADOU et al. (1958), kdy na špičkách listů vznikají nepravidelné hnědé nekrotické skvrnky. Podle JAYASINGHEHO (1988), RASOCHY et al. (2004) a VOKÁLA et al. (2004) mají trsy často nápadný metlovitý vzhled, což se nám podařilo potvrdit také. Podle JAYASINGHEHO (1988) je intenzita příznaků napadení PLRV závislá na odrůdě a prostředí, kdy některé odrůdy nevykazují symptomy (latentní infekce) a PLRV není možné detekovat v porostu vizuálně. Ke stejným závěrům jsme došli i my, a to s tím rozdílem, že u každé odrůdy některé napadené rostliny PLRV nevykazovaly symptomy. Jednalo se o rostliny obsahující ve své tkáni různé množství viru. Nelze tedy jednoznačně určit jakýkoli vztah extinkčních hodnot s projevem příznaků, neboť symptomy nevykazovaly rostliny jak s nízkou hodnotou extinkce, tak rostliny s vysokou hladinou extinkce

(nad 2,000 U). Výsledky též potvrzují časté maskování příznaků onemocnění rostlin bramboru PLRV ve skleníkových podmínkách

Porovnávání velikosti průměrných extinkčních hodnot mezi jednotlivými odrůdami může vypovědět o jejich specifické náchylnosti k PLRV. Odrůda Ikar měla téměř dvojnásobnou průměrnou extinkční hodnotu před ostatními odrůdami. Je tedy možné, že tato odrůda má též vyšší stupeň náchylnosti nežli ostatní odrůdy. Tomu odpovídá rovněž vysoká četnost výskytu PLRV v porostech této odrůdy. Jak uvádí ATABEKOV et al. (1984), BARKER (1987) a BARKER, (1989), šíření PLRV v nefloemové tkáni může být stimulováno, jestliže jsou rostliny společně nakaženy dalšími viry. V naší práci jsme se zaměřili pouze na hodnocení průkaznosti PLRV v různých termínech, a proto tento závěr nemůžeme potvrdit. Je ale také možné, že odrůda Ikar měla ve tkáni hlíz mnohem vyšší koncentraci viru, který se následně po růstu rostliny a příznivým podmínkám rychleji množil.

Při porovnávání termínů hodnocení četnosti detekce napadení, resp. porovnávání průkaznosti napadení, bylo zjištěno, že nejvhodnější termín pro detekci PLRV z listu rostlin je v rannějších termínech po výsadbě, kdy se podařilo prokázat největší četnosti napadení a zároveň se ve tkáních rostlin detekovala nejvyšší koncentrace viru. Tomu odpovídá též zvýšení počtu vizuálně reagujících rostlin, i když počet rostlin infikovaných PLRV, ale bez vizuálních příznaků ve skleníku může být stále poměrně vysoký. Koncentrace viru v rostlině při hodnocení v pátém týdnu po výsadbě rapidně klesla (s výjimkou odrůdy Ikar a Princess) a v sedmém týdnu víceméně stagnovala. Znamená to tedy, že okolo třetího týdne po výsadbě koncentrace viru v rostlinách kulminovala a později klesala a stagnovala. S hodnotami extinkce úzce korelovaly i zjištěné četnosti napadení. Ve třetím týdnu po výsadbě se pouze u třech odrůd nepodařilo prokázat napadení u jedné rostliny. V pátém týdnu po výsadbě se již nepodařilo prokázat v průměru více jak 3 napadení, nejvíce však u odrůdy Barbora a Claret, kde se neprokázalo napadení shodně u 7 rostlin. V sedmém týdnu po výsadbě se nepodařilo prokázat napadení v průměru u 5 rostlin na každou odrůdu, avšak nejvíce napadení se nezdařilo dokázat u odrůdy Janet, a to ze 47,6 %. Z výše uvedeného vyplývá, že při hodnocení výskytu PLRV ve třetím týdnu po výsadbě se prokáže nejvíce napadení rostlin s relativně nízkou chybou. Naproti tomu dle metodiky Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského (ÚKZUZ) se doporučuje diagnostika virů bramboru pomocí metody ELISA za 5 – 6 týdnů po výsadbě. Nutno je však dodat, že pro definitivní závěry, nebo pro komplexní doporučení přehodnocení metodiky by bylo třeba pokus ještě zopakovat a možná i rozšířit základní soubor, abychom dostali více dat.

V rámci hodnocení výšek kontrolních a infikovaných rostlin se podařilo prokázat, že infikované rostliny se vyznačují nižším růstem, a to zpravidla o třetinu. Jak popisuje BENADA et al. (1958), JAYASINGHE (1988), ČAČA et al. (1990), TÁBORSKÝ & ŠEDIVÝ (1997), DĚDIČ (1998A), RASOCHA et al. (2004) a VOKÁL et al. (2004), sekundární příznaky inhibice růstu je možné zaznamenat již na rostlinách vysokých 15 centimetrů.

ZÁVĚR

Metoda DAS ELISA a její modifikace jsou v současné době téměř výlučnou metodou pro sériovou detekci PLRV. Na celém světě jsou každoročně využívány miliony analýz pro detekci všech hlavních virů bramboru, včetně PLRV za použití této metody. Detekční prahový extinkční limit na úrovni 0,200 U (při absorbanzi A405 nm) zpravidla plně vyhovuje. Z našich výsledků analýzy jednotlivých termínů vhodných pro detekci PLRV z listů rostlin vyplývá, že se jako optimální termín pro detekci jeví třetí týden po výsadbě. Tento termín byl nejučinnější, neboť ze sledovaných vzorků se podařilo prokázat 97,6 % pozitivních detekcí. V pátém týdnu po výsadbě tomu bylo již 83,3 % pozitivních detekcí a konečně v sedmém týdnu po výsadbě pouze 76,2 % pozitivních detekcí. Současně je na tomto místě třeba poukázat ještě na skutečnost, že ve třetím týdnu po výsadbě byly také detekovány nejvyšší extinkční hodnoty. Proměnlivost extinkčních hodnot, a tedy koncentrace viru ve tkáních rostlin při různé době hodnocení pravděpodobně závisí i na řadě faktorů, jako je teplota při pěstování rostlin, stáří rostlin, na translokaci, lokalizaci viru a zároveň na obranných mechanismech rostliny. Tyto faktory však mohou mít výrazný negativní vliv na spolehlivost detekce PLRV a vůbec všech virů bramboru. Proto je nezbytné pro spolehlivost diagnózy uplatnit vlastní postupy přípravy diagnostických souprav s výběrem kvalitních a účinných protilátek, jež mají zásadní význam pro spolehlivost laboratorní diagnózy.

Z výsledků hodnocení výšek rostlin jednoznačně vyplývá, že infikované rostliny se projevují inhibicí růstu zpravidla o 1/3.

Společně s inhibicí růstu se infikované rostliny projevily postupnou chlorózou listové plochy, pozvolným lžícovitým a člunkovitým stáčením listů kolem hlavního nervu, které po smáčknutí vydávaly typický papírový zvuk. V některých případech se infekce projevila tvorbou nepravidelných hnědých nekrotických skvrn a antokyanizací listové nervatury a přiléhajícího pletiva. Trsy napadených rostlin měly často nápadný metlovitý vzhled. Neméně důležité je odhalení latentní infekce, která byla pozorována u každé odrůdy na několika rostlinách s různou hladinou extinkce, a proto je obtížné určit jakýkoli vztah extinkčních hodnot s intenzitou symptomů. Proto je nezbytné využívat na úseku virologie pro sériovou kontrolu sadby brambor především metodu ELISA, která je při volbě správné diagnostické soupravy a vhodných protilátek spolehlivá a doposud nepřekonaná.

LITERATURA

ATABEKOV J. G., TALIANSKY M. E., DRAMPYAN A. H., KAPLAN I. B., TURKA I. E. (1984): Systemic infection by a phloem – restricted virus in parenchyma cells in mixed infection. Russian. *Biologicheskije nauki*. 10: 28 – 31.

BARKER H. (1987): Invasion of non – phloem tissue in *Nicotiana clevelandii* by *potato leafroll luteovirus* is enhanced in plants also infected with *potato Y potyvirus*. *Journal of General Virology*. 68: 1223 – 1227.

BARKER H. (1989): Specificity of the effect of sap – transmissible viruses in increasing the accumulation of luteoviruses in co – infected plants. *Annals of Applied Biology*. 115: 71 – 78.

BENADA J., BRÜCKNER F., DRACHOVSKÁ-ŠIMANOVÁ M., DRBAL J., KŘÍŽ J., KVÍČALA B., MRÁZ F., MÜLLER J., NOVÁKOVÁ-PFEIFEROVÁ J., RATAJ K., SKALICKÝ V., VIELWERTH V., VOŘÍŠEK V., ZACHA V. (1958): *Zemědělská fytopatologie: choroby polních plodin*. SZN Praha: 775 s.

ČAČA Z., DUŠEK J., ŘÍMOVSKÝ K., SVÍTIL J. (1990): *Ochrana polních a zahradních plodin*. SZN Praha: 362 s. ISBN 80-209-0171-X

DĚDIČ P. (1998): *Virové choroby brambor – současný stav řešení v České republice*. Úroda. XXXXVI (11): příloha 19 – 21. ISSN 0139-6013

JAYASINGHE U. (1988): *Potato leafroll virus PLRV*. Technical information Bulletin 22. International Potato Center Lima Peru: 21 s.

RASOCHA V., HAUSVATER E., DOLEŽAL P. (2004): *Choroby škůdci a abionózy bramboru*. Vydáno samostatně jako příloha měsíčníku *Agro – Ochrana, výživa, odrůdy*. Orin České Budějovice: 74 s. ISSN 1211 – 362 X

TÁBORSKÝ V., ŠEDIVÝ J. (1997): *Rostlinolékařství*. Credit Praha: 347 s. ISBN 80-902295-2-2

VOKÁL B., ČEPL J., ČÍŽEK M., DIVIŠ J., DOMKÁŘOVÁ J., FÉR J., HAMOUZ K., HAUSVATER E., JŮZL M., RASOCHA V., ZRŮST J. (2004): *Pěstování brambor*. Agrospoj Praha: 261 s.

THE INFLUENCE OF DIFERENCIAL MINERAL NUTRITION N, P, K, Mg, S ON YIELD AND QUALITY BUNCH OF GRAPES IN VINECULTURE REGION OF TOKAJ

VPLYV DIFERENCOVANEJ MINERÁLNEJ VÝŽIVY N, P, K, Mg, S NA ÚRODU A KVALITU HROZNA VO VINOHRADNÍCKEJ OBLASTI TOKAJ

Krempa P., Ložek O., Varga L., Marček M.

Department of Agrochemistry and Plant Nutrition, Faculty of Agrobiolgy and Food Resources, Slovak University of Agriculture in Nitra, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

E-mail: marcek.martin@gmail.com, Otto.Lozek@uniag.sk, Ladislav.Varga@uniag.sk,
paulus25@gmail.com

ABSTRACT

The nutritional experiment with application of N, P, K, S, Mg nutrients on the cultivars of Muškát žltý and Lipovina was established in locality Malá Trňa of Tokaj vineculture region. Agrechemical soil analysis showed slight acid to acid reaction, content of N_{an} was medium, content of phosphorus very low, content of available potassium very low to medium, content of calcium medium, content of magnesium high to very high, sulphur was low to medium, content of zinc was low to medium, content of manganese, iron was medium to high, and content of humus was very low to medium. On the experiment was established 3 different variant of the trial and the best economical parameters with cultivars Muškát žltý a Lipovina were achieved under the application of 50 kg nitrogen per hectar plus respective amount phosphorus, potassium and sulphur in the form of chloride-free of NPKS fertilizer. In this case, increment of yield in comparison to non-fertilized control represented 21,4 % and increase of profit in consequence of this combination of fertilizers application represented 17 407,- Sk.

Key words: grape- vine, macronutrients, micronutrients, Tokaj

ÚVOD

Vinič hroznorodý ako kultúra pestovaná na jednom stanovišti 2 až 3 desaťročia si vyžaduje mimoriadnu pozornosť z hľadiska zabezpečenia dostatku živín v pôde. Hnojenie rodiacich vinohradov sa začína realizovať od piateho roku výsadby štepov. Zameriava sa predovšetkým na udržovacie vápnenie, pravidelné hnojenie organickými hnojivami a hnojenie priemyselnými hnojivami, potrebných k nahradeniu makro a mikroživín. Pri nástupe rodivosti v piatom roku po výsadbe by mal mať vinič optimálny obsah živín v pôde a v ďalších rokoch je potrebné zabezpečiť výživu nahradzovacím systémom v závislosti od pestovaných odrôd viniča, ich nárokov na živiny, dosahovanú úrodu a odber živín hroznom, listami a drevom viniča (Vanek 1996, Fecenko, Ložek 2000, Ložek a kol. 2006).

MATERIÁL A METODIKA

Pred založením výživárskych pokusov v máji 2006 boli odobrané pôdne vzorky za účelom stanovenia agrochemickej charakteristiky pôdy: makroživín N, P, K, Ca, Mg, S, mikroživín Fe, Zn, Cu, Mn, pôdnej výmennej kyslosti a obsah humusu. Na stanovenie pôdnych charakteristík sa použili uznané metódy používané pri agrochemických rozboroch pôdy.

Tab. 1 Content of macronutrients in soil

Odroda viniča (1)	Hĺbka odberu vzorky v m (2)	Obsah makroživín v mg.kg ⁻¹ pôdy (3)					
		N	P	K	Ca	Mg	S
Lipovina	0-0,3	13,8	20,0	360	3 000	345	15,0
Lipovina	0,3-0,6	10,8	12,5	318	2 100	335	13,8
Muškrát žltý	0-0,3	11,4	20,0	190	2 200	510	13,8
Muškrát žltý	0,3-0,6	17,0	17,5	175	2 500	575	22,5

(1)cultivar of grape-vine, (2) depth of soil sample, (3) contents of macronutrients

Tab. 2 Content of micronutrients, humus and pH in soil

Odroda viniča (1)	Hĺbka odberu vzorky v m (2)	Obsah mikroživín v mg.kg ⁻¹ pôdy (3)				Humus v % (4)	pH/KCl
		Zn	Fe	Mn	Cu		
Lipovina	0-0,3	1,68	109,6	77,6	4,52	2,19	6,07
Lipovina	0,3-0,6	0,52	120,0	101,6	2,48	1,06	5,60
Muškrát žltý	0-0,3	0,80	68,0	39,2	2,72	1,40	5,44
Muškrát žltý	0,3-0,6	1,20	101,6	88,0	3,60	0,97	5,44

(1) cultivar of grape-vine, (2) depth of soil sample, (3) contents of micronutrients, (4) contents of humus

Tab. 3 Variant of the trial

Variant výživy (1)	Dávka živín v kg.ha ⁻¹ a názov použitého hnojiva (2)
0	nehnojená kontrola
1	50 kg N vo forme LAD 27
2	50 kg N + 11,9 kg MgO + 26,2 kg S vo forme NMgS 21-5-11
3	50 kg N + 35,7 kg P ₂ O ₅ + 71,4 kg K ₂ O + 25 kg S vo forme Duslofert Extra 14-10-20-7S

(1) variant of treatment, (2) nutrients ration and sort of fertilizer

Každý variant výživy je 4-krát opakovaný a jedno opakovanie má plochu 100 m².

Zber úrody hrozna sa uskutočnil ručne, osobitne z každého opakovania a úroda sa prepočítala na hektár s priemerným počtom jedincov 3.333 ks.ha⁻¹. V mušte sa stanovila cukornatosť a obsah titrovateľných kyselín. Úroda hrozna sa vyhodnotila metódou analýzy rozptylu a diferencie medzi variantami sa posúdili Tukeyovým testom. Dosiadnutá úroda hrozna sa posúdila aj z ekonomickej efektívnosti hnojenia a prírastku zisku na jednotku plochy.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Aplikovaná výživa na úrovni 50 kg N.ha⁻¹ pri všetkých kombináciách s ostatnými živinami (MgS a PKS) vysokopreukazne zvýšila úrody hrozna pri obidvoch odrodách o 0,499 t.ha⁻¹ až 1,427 t.ha⁻¹ v porovnaní s nehnojenou kontrolou (tab. 4 a 5).

Prídavok horčíka a síry k dusíku a taktiež prídavok fosforu, draslíka a síry k dusíku na oboch úrovniach dusíkatej výživy sa evidentne prejavili aj v ekonomike hnojenia viniča, čo dokumentuje vyprodukovaný zisk z jednotky plochy na týchto kombináciách hnojenia. Najlepšie ekonomické parametre sa dosiahli pri aplikovaní 50 kg dusíka na hektár plus príslušné množstvo fosforu, draslíka a síry vo forme bezchloridového NPKS hnojiva, keď prírastok úrody oproti nehnojenej kontrole činil 21,4 % a zvýšenie zisku vplyvom tejto kombinácie hnojenia predstavovalo 17 407,- Sk.ha⁻¹.

Tieto jednorôčné výsledky poukazujú, že zásoba živín v pôde je na nedostatočnej úrovni a preto aplikované dávky živín sa výrazne prejavili na úrode hrozna už v prvom pokusnom roku.

Tab. 4 Yield of grape-vine,, variety Muškát žltý

Variant výživy (1)	Úroda hrozna t.ha ⁻¹ (2)			Relatívne % (3)
	2006	2007	2-ročný priemer	
0 - nehnojené	6,943	6,750	6,846	100
1 - 50 N (LAD)	7,499	7,249	7,374	107,7
2 - 50 N + MgS (Magnisul)	7,776	7,728	7,752	113,2
3 - 50 N + PKS (Duslofert)	8,083	8,177	8,130	118,8
DT 0,05 d ⁺	0,463	0,475	0,470	-
DT 0,01 d ⁺⁺	0,625	0,665	0,658	-

(1) variant of treatment, (2) yield of grape-vine, (3) relatively

Tab. 5 Yield of grape-vine, variety Lipovina

Variant výživy (1)	Úroda hrozna t.ha ⁻¹ (2)			Relatívne % (3)
	2006	2007	2-ročný priemer	
0 - nehnojené	6,806	6,250	6,528	100
1 - 50 N (LAD)	7,633	6,845	7,239	110,9
2 - 50 N + MgS (Magnisul)	7,889	7,295	7,592	116,3
3 - 50 N + PKS (Duslofert)	8,166	7,688	7,927	121,4
DT 0,05 d ⁺	0,451	0,435	0,442	-
DT 0,01 d ⁺⁺	0,631	0,609	0,619	-

(1) variant of treatment, (2) yield of grape-vine, (3) relatively

Tab.6 Saccharinity in must, variety Muškát žltý

Variant výživy (1)	Cukornatosť muštu v °ČNM (2)			Relatívne % (3)
	2006	2007	2-ročný priemer	
0 - nehnojené	23,8	21,5	22,65	100
1 - 50 N (LAD)	22,9	21,7	22,30	98,5
2 - 50 N + MgS (Magnisul)	23,5	21,5	22,50	99,3
3 - 50 N + PKS (Duslofert)	24,5	26,9	25,70	113,5
DT 0,05 d ⁺	0,92	0,88	0,91	-
DT 0,01 d ⁺⁺	1,24	1,22	1,23	-

(1) variant of treatment, (2) must saccharinity, (3) relatively

Tab. 7 Saccharinity in must, variety Lipovina

Variant výživy (1)	Cukornatosť muštu v °ČNM (2)			Relatívne % (3)
	2006	2007	2-ročný priemer	
0 - nehnojené	24,0	21,6	22,80	100
1 - 50 N (LAD)	23,2	18,6	20,90	91,7
2 - 50 N + MgS (Magnisul)	22,5	17,2	19,85	87,1
3 - 50 N + PKS (Duslofert)	23,5	16,7	20,10	88,2
DT 0,05 d ⁺	0,92	0,83	0,88	-
DT 0,01 d ⁺⁺	1,24	1,16	1,21	-

(1) variant of treatment, (2) must saccharinity, (3) relatively

Tab. 9 Economic effectiveness of fertilization, variety Muškát žltý

Variant výživy (1)	Prírastok úrody (2)		Náklady na hnojenie Sk.ha ⁻¹ (3)	K _{EE} (4)	Zisk Sk.ha ⁻¹ (5)
	t.ha ⁻¹	Sk.ha ⁻¹			
0 - nehnojené	-	-	-	-	-
1 - 50 N (LAD)	0,528	7.920	1.808	4,38	6.112
2 - 50 N + MgS (Magnisul)	0,906	13.590	2.067	6,57	11.523
3 - 50 N + PKS (Duslofert)	1,284	19.260	3.578	5,38	15.682

(1) variant of treatments, (2) yield increment, (3) cost on fertilisation, (4) coefficient of economical effectiveness, (5) profit

Tab. 9 Economic effectiveness of fertilization, variety Lipovina

Variant výživy (1)	Prírastok úrody (2)		Náklady na hnojenie Sk.ha ⁻¹ (3)	K _{EE} (4)	Zisk Sk.ha ⁻¹ (5)
	t.ha ⁻¹	Sk.ha ⁻¹			
0 - nehnojené	-	-	-	-	-
1 - 50 N (LAD)	0,711	10.665	1.808	5,90	8.857
2 - 50 N + MgS (Magnisul)	1,064	15.960	2.067	7,72	13.893
3 - 50 N + PKS (Duslofert)	1,399	20.985	3.578	5,87	17.407

(1) variant of treatments, (2) yield increment, (3) cost on fertilisation, (4) coefficient of economical effectiveness, (5) profit

ZÁVER

Výsledky dvojročného pokusu vykonaného na 5 ročnom vinohrade vo vinohradníckej oblasti Tokaj (lokalita Malá Trňa) na odrodách Muškát žltý a Lipovina, nám štatisticky potvrdili vyššiu účinnosť kombinovaného bezchloridového hnojiva Duslofert Extra 14-10-20-7S v porovnaní s ostatnými použitými hnojivami v pokuse.

Najlepšie ekonomické parametre sa dosiahli pri aplikovaní 50 kg dusíka na hektár plus príslušné množstvo fosforu, draslíka a síry vo forme bezchloridového NPKS hnojiva (Duslofert Extra 14-10-20-7S), keď prírastok úrody oproti nehnojenej kontrole činil 21,4 % a zvýšenie zisku vplyvom tejto kombinácie hnojenia predstavovalo 17 407,- Sk.ha⁻¹.

LITERATÚRA

Fecenko, J. , Ložek, O.(2000) : Výživa a hnojenie poľných plodín. Nitra:SPU, 2000, 442 s.

Ložek, O., Slamka, P., Ducsay, L., Hanáčková, E., Varga, L (2006).: Agrochemická charakteristika pôdy 5-ročného vinohradu na lokalite Malá Třňa v tokajskej vinohradníckej oblasti. In: Tokajské vinohradníctvo a vinárstvo na Slovensku 105. SPU Nitra, 2006, s. 36 – 40, ISBN 80-8069-737-X

Vanek, G.(1996): Vinič 3. Pestovanie. Bratislava: Príroda, 1996, 149 s.

BUFFERING ABILITY OF SELECTED SOIL TYPES

PUFRAČNÍ SCHOPNOST PŮD U VYBRANÝCH PŮDNÍCH TYPŮ

Martinec J., Pokorný E.

Department of Agrochemistry, Soil Science, Microbiology and Plant Nutrition, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xmartin9@node.mendelu.cz, pokorny@node.mendelu.cz

ABSTRACT

Buffering ability of soils is a significant soil property. It is an ability of soil to resist acids or bases entering the soil environment and maintain the soil pH within optimum limits. The aim of the present thesis was to monitor different buffering ability of selected soil types and find significant correlations with other chemical properties of soil. The selected soil types included gleysol (GL), fluvisol (FL) and Phaeozems (PH). Other monitored soil properties included pH/H₂O, pH/KCl. Samples of individual soil types were collected in eleven localities largely with arable soil, occasionally grassland. The soil samples were taken at depths equivalent to the depth of topsoil and subsoil. The results of the monitoring show a considerable diversity of buffering ability of soil depending on soil type. Phaeozems has the highest buffering ability to acids while gleysol has the lowest. Gleysol, on the other hand, has the best ability to buffer bases, while phaeozems has the worst.

Key words: soil, buffering ability, chemical soil properties, soil reaction

Acknowledgments: Příspěvek byl zpracován s podporou Výzkumného záměru č. MSM6215648905 „Biologické a technologické aspekty udržitelnosti řízených ekosystémů a jejich adaptace na změnu klimatu“ uděleného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

ÚVOD

Tlumivost půdy je její schopnost udržovat svou reakci (pH) při přidávání roztoků kyselin nebo zásad. Jedná se tedy o schopnost půdy tlumit výkyvy pH směrem do kyselé i zásadité oblasti (Jandák a kol., 2003).

Proto patří nejen mezi důležité půdní, ale i ekologické vlastnosti. Půdy s vysokou pufovitostí tak představují optimální stanoviště pro rostliny, neboť mají stabilnější chemické vlastnosti (Dykyjová, 1989).

Tato schopnost závisí na obsahu koloidní frakce a její kvalitě, na stupni nasycení sorpčního půdního komplexu, na obsahu karbonátů, organické hmotě a její kvalitě apod. U vzorků zemin s velkou ústojností se výsledné pH po přidání kyselin či zásad prakticky téměř nemění, ale u vzorků zemin s malou ústojností je třeba velké opatrnosti při aplikaci fyziologicky kyselé či zásadité působících průmyslových hnojiv (Jandák a kol., 2003).

Naším záměrem bylo sledování rozdílných puфраčních schopností u vybraných půdních typů a hledání významných korelačních vztahů s dalšími chemickými půdními vlastnostmi. Vybranými půdními typy byly glej (GL), fluvizem (FL) a černice (CC). Dalšími sledovanými půdními vlastnostmi byly: pH/H₂O, pH/KCl.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky jednotlivých půdních typů byly odebrány celkem na 11 lokalitách, na území celé České republiky. Převážně se jednalo o ornou půdu, popř. trvalé travní porosty, které byly v minulosti využívány jako orná půda.

Půdní vzorky se odebíraly z profilu odpovídajícího mocnosti ornice a podorničí.

Puфраční schopnost

Roztokem 0,5 molárního chloridu vápenatého se vytěsňují vodíkové ionty, k jednotlivým navážkám stejného půdního vzorku se přidává stoupající množství NaOH (do jedné řady) a stoupající množství HCl do druhé řady. Stanovené hodnoty pH jednotlivých vzorků se vynesou do grafu proti danému množství HCl a NaOH a spojí se do titračních křivek.

Totéž se provede se vzorky mořského písku jako standardu. Plocha sevřená křivkou pH půdního vzorku a písku udává hodnotu tlumivosti (obvykle se tlumivost vyjádří plošně v cm²) (Jandák a kol., 2003).

Aktivní půdní reakce (pH/H₂O)

Aktivní kyselost zjišťujeme potenciometrickým měřením koncentrace H⁺ ve vodní suspenzi.

Tato forma kyselosti se nejvíce vyskytuje v půdách odvápněných, sorpčně nenasycených s vysokým podílem adsorbovaných iontů H⁺ a Al³⁺.

Výměnná půdní reakce (pH/KCl)

Draselnými ionty se vytěsní ionty vodíku poutané sorpčním komplexem půdy a elektrometricky se změří výměnná reakce půdy (pH/KCl) (Pokorný, 2005).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Aktuální půdní reakce

Z analýzy jednofaktorové variance vyplývá, že mezi jednotlivými půdními typy v ornici je statisticky průkazný rozdíl mezi půdním typem glej a černice. U glejů byla dosažena nejnižší průměrná hodnota aktuální půdní kyselosti (6,0) a naopak u černic byla tato hodnota nejvyšší (7,7). U fluvizemí nebyla nalezena statistická průkaznost vůči ostatním půdním typům a hodnota pH/H₂O dosáhla 7,2 (Graf 1).

V podorničí byly zjištěny nepatrně vyšší průměrné hodnoty oproti ornici a byla odhalena vyšší, statisticky průkazná diference mezi jednotlivými půdními typy. Průměrné hodnoty jsou dobře patrné z grafu 2 a pohybují se v rozsahu od 6,0 (gleje), přes 7,4 (fluvizemě) až po nejvyšší naměřenou hodnotu 7,8 u černic. Statistická průkaznost byla nalezena mezi všemi třemi půdními typy.

Výměnná půdní reakce

Statisticky průkazný rozdíl mezi hodnotami výměnné půdní reakce v ornici a v podorničí byl zjištěn mezi půdními typy glej a černice. Černice tak v obou případech dosahují neutrálního a gleje kyselého pH.

Stejně jako u aktuální tak i u výměnné půdní reakce byly zjištěny nižší hodnoty v ornici nežli v podorničí. Jedinou výjimku tvoří gleje u nichž se zjistila nepatrně vyšší výměnná půdní reakce v ornici (4,8), v podorničí odpovídá průměrná hodnota 4,7. Fluvizemě v ornici dosahují průměrné hodnoty 6,3 a v podorničí 6,4. A černice jak v ornici tak i v podorničí mají hodnoty nejvyšší, blíží se pH 7 (Graf 3, Graf 4).

Pufrační schopnost půdy proti kyselinám

Průměrné hodnoty dosažené pro jednotlivé půdní typy byly statisticky průkazné v ornici i v podorničí mezi stejnými dvojicemi půdních typů. Jednalo se o průkaznost mezi půdním typem glej - černice.

V ornici se hodnota tlumivosti proti okyselení pohybovala kolem 30 cm² u fluvizemí i černic, naopak u glejů tato hodnota nabývala sotva polovičních hodnot. Nejvyšší průměrná plocha sevřená mezi dvěma křivkami byla u černic a pohybovala se kolem 38 cm². Druhou nejvyšší plochou respektive tlumivostí se vyznačovaly fluvizemě (27,6 cm²) a nejmenší schopnost půdy odolávat vůči okyselení je u glejů (14,1 cm²) (Graf 5).

V podorničí pufrační schopnost klesá jak u glejů tak u černic a pohybuje se kolem 13 cm² respektive 38 cm². Naopak u fluvizemí je pufrační schopnost mírně vyšší nežli je tomu v ornici (28 cm²) (Graf 6).

Pufrační schopnost půdy proti zásadám

Tento ukazatel byl ze všech sledovaných vlastností jako jediný statisticky průkazný mezi půdními typy glej - černice, glej - fluvizem a to jak v ornici tak v podorničí.

Tlumivost půdy vůči bazím je oproti tlumivosti vůči kyselinám odlišná respektive opačná. V tlumivosti proti okyselení dominuje půdní typ černice popřípadě fluvizem a naopak nejmenší schopnost tlumit kyseliny má glej. Naopak glej má největší schopnost tlumit přísun bazí do půdy a to až 2x silněji nežli je tomu u černice nebo fluvizemě. Tato síla u gleje odpovídá ploše 45,7 cm² v ornici a 41,5 cm² v podorničí. A na srovnání uveďme, že tlumivost u fluvizemě a černice se pohybuje jen kolem 23 cm² (Graf 7, Graf 8).

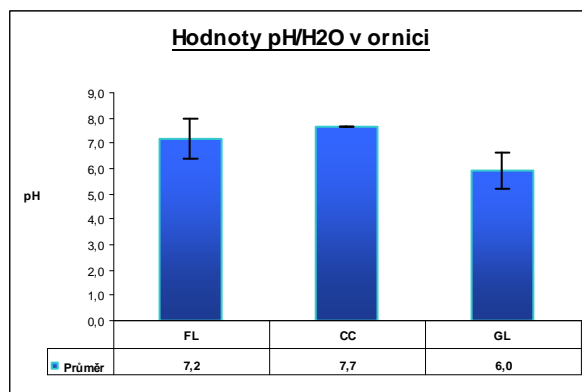
Celková pufrací schopnost půdy proti kyselinám a zásadám

Tento ukazatel jako jediný vyšel statisticky neprůkazný jak v ornici, tak v podorničí. Nejvyrovnanějších hodnot bylo dosaženo u černice, u které se hodnoty mezi ornicí a podorničím lišili v desetínách cm² (v ornici 61,6 cm², v podorničí 61,2 cm²) a velice podobně tomu bylo i u fluvizemí (v ornici 52,8 cm², v podorničí 51,6 cm²). Poněkud výraznější rozdíly byly zjištěny u gleje, u něhož se hodnoty v ornici vyšplhaly na hodnotu 59,7 cm² a v podorničí klesly na 54,3 cm² jak je patrné z grafu 9 a grafu 10.

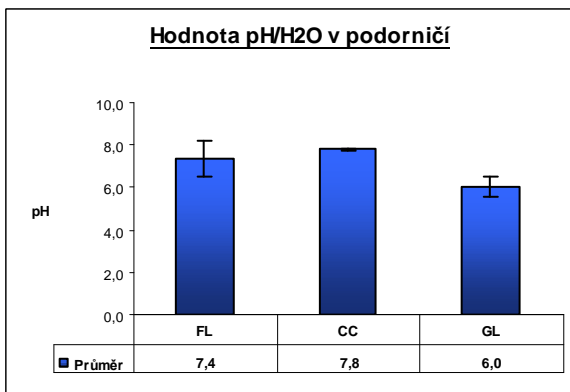
Acidobazický poměr půdní tlumivosti

Acidobazický poměr vyšel statisticky průkazný v ornici i v podorničí a to opět mezi půdním typem glej – černice. U gleje dosáhl hodnot 0,3, jednalo se tedy o silně acidoidní tlumicí charakter a to stejný jak pro ornici tak i pro podorničí. Mnohem vyšších hodnot bylo dosaženo u fluvizemě (v ornici 1,4 a v podorničí 1,5) a nejvyšších hodnot u černice (v ornici 1,7 a v podorničí 1,6).

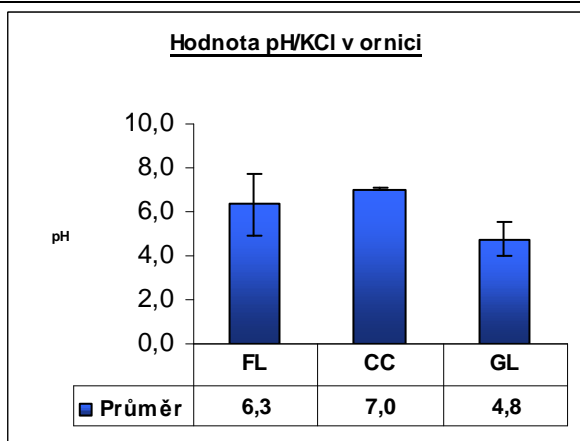
Graf 1 Hodnoty pH/H₂O v ornici



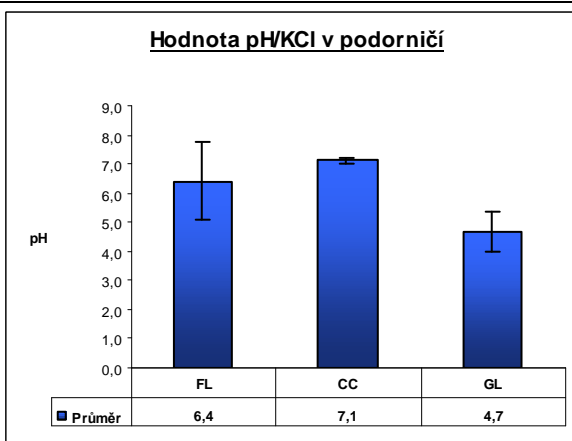
Graf 2 Hodnoty pH/H₂O v podorničí



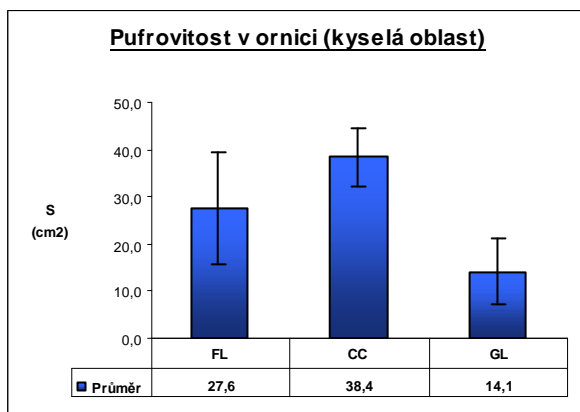
Graf 3 Hodnoty pH/KCl v ornici



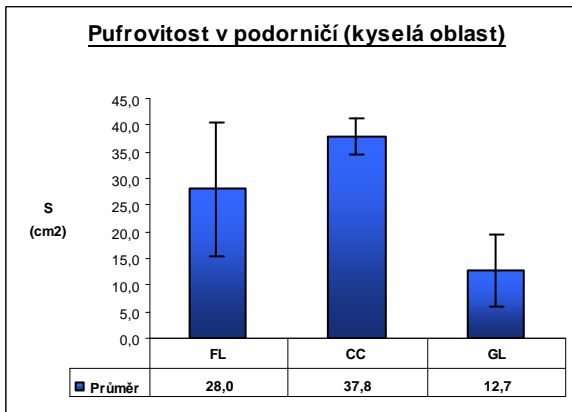
Graf 4 Hodnoty pH/KCl v podorničí



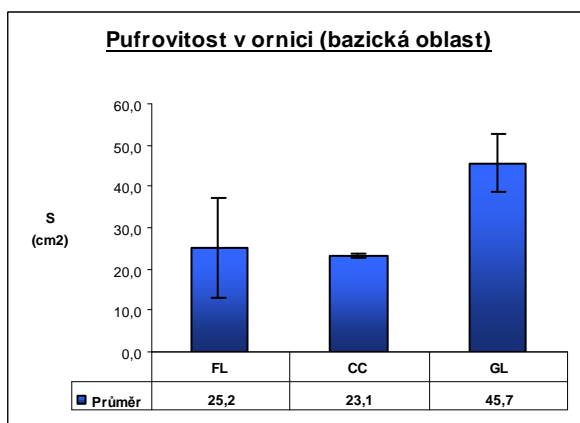
Graf 5 Pufrační schopnost půdy proti kyselinám v ornici



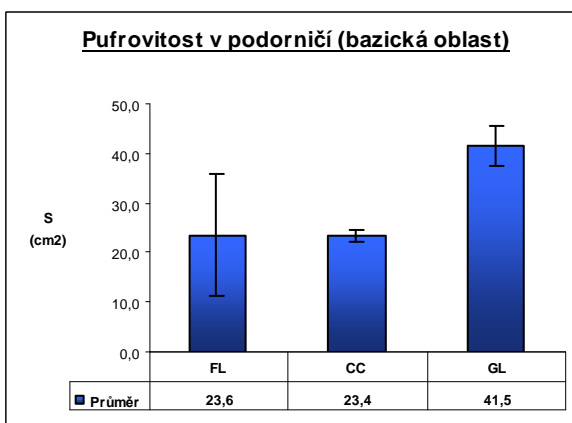
Graf 6 Pufrační schopnost půdy proti kyselinám v podorničí



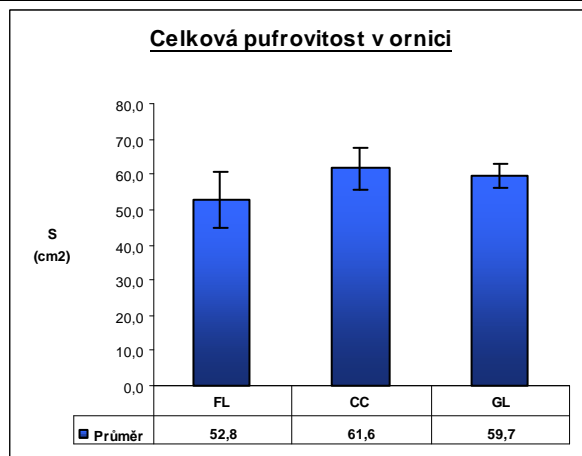
Graf 7 Pufrační schopnost půdy proti zásadám v ornici



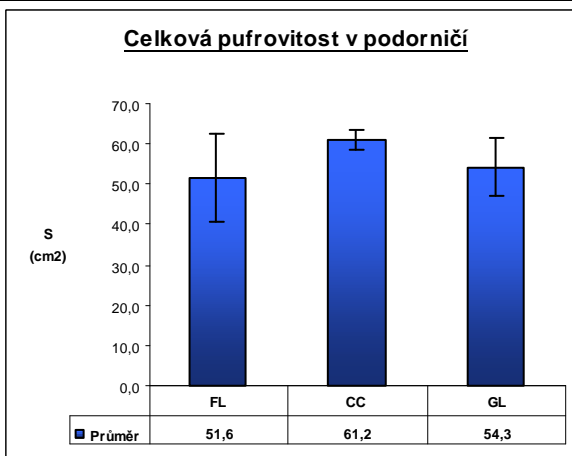
Graf 8 Pufrační schopnost půdy proti zásadám v podorničí



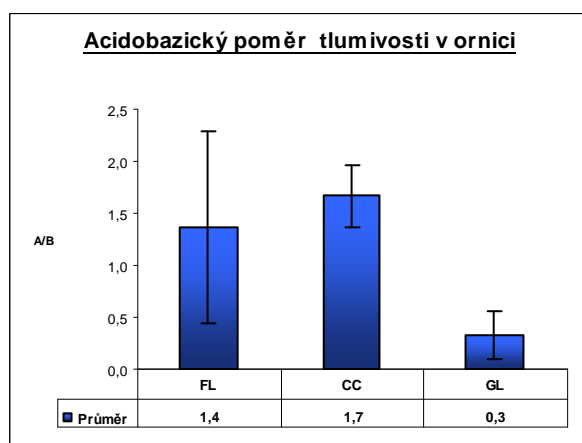
Graf 9 Celková pufrací schopnost v ornici



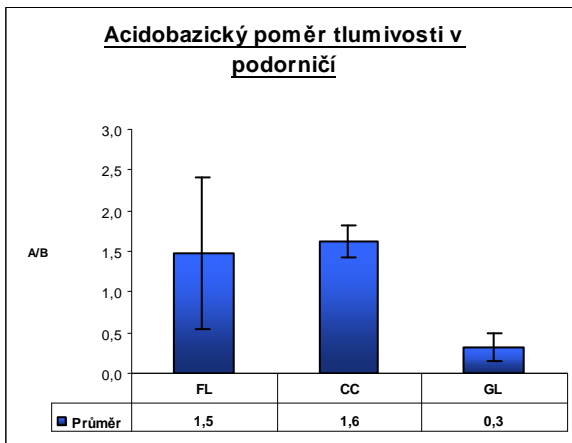
Graf 10 Celková pufrací schopnost v podorničí



Graf 11 Acidobazický poměr půdní tlumivosti v ornici



Graf 11 Acidobazický poměr půdní tlumivosti v podorničí



Výsledné půdní reakce korespondují s výsledky celé řady literárních zdrojů. Půdní reakce se u černic pohybuje v rozmezí od neutrální až po slabě alkalickou a u glejů je zpravidla kyselá až silně kyselá. Naopak u fluvizemí je půdní reakce spolu s nasyceností sorpčního komplexu proměnlivá a s přibývajícím nadmořskou výškou klesá (Jandák, 2007; Tomášek, 2000). U pufrací schopnosti půdy proti kyselinám a bazím je pravděpodobně dobře vidět jak se na ústojné schopnosti humózních půd, mezi něž fluvizemě a černice patří, podílí adsorpčně nasycený humus. Jeli silně nasycen výměnnými bázemi (Ca^{2+} , Mg^{2+}), snadno odstraňuje vznikající kyselost výměnnou bází za ionty vodíku půdního roztoku. Alkalitu naopak neutralizuje tím, že disociací svých kyselých skupin uvolní H^+ do půdního roztoku, kde spolu s OH^- vytvoří málo disociovanou vodu (Jandák, 2007).

Dále jak Jandák (2003) uvádí je vyšší obsah humusu jak u černic tak i u fluvizemí. U fluvizemí se nivní sedimenty mohou ukládat každoročně, vrstevnatě a s nepravidelným

rozložením humusu v profilu. Tyto sedimenty dále také obsahují živiny, snesené erozí z oblastí, kterými řeka protéká (Němeček, 1990). To vše tak může vysvětlovat rozdílnou pufrací schopnost, která se může s hloubkou měnit.

Naopak u glejů dochází při přeměně organických látek ke snížení mineralizace a dochází až k rašelinění, při vysoké tvorbě nízkomolekulárních organických látek. Tímto způsobem pak převládají ve složení humusu fulvokyseliny, jejich obsah s hloubkou stoupá a nasycenost sorpčního komplexu je nízká (Jandák, 2007). A toto vše pak může úzce korelovat se zmíněnou pufrivitostí vůči kyselinám a bazím, respektive s acidobazickým poměrem tlumivosti.

S půdní charakteristikou acidobazického poměru tlumivosti jsme se doposud v literatuře nesetkali, ale přesto ho lze považovat za jeden z velmi důležitých ukazatelů. Stejně jako obsah humusu nám charakterizuje kvantitativní vlastnosti půdy, tak kvalita humusu (např. HK/FK) nám popisuje jeho kvalitativní stránku a složení. Stejně tak ukazatelé tlumivosti půdy vůči kyselinám a bazím nás informuje o kvantitativních vlastnostech půdy, kdežto acidobazický poměr tlumivosti nám popisuje kvalitativní stránku tohoto parametru. Vypočítá se jako poměr pufrovitosti vůči kyselinám a pufrovitosti vůči bazím. Jinými slovy nám řekne jaký tlumivý charakter půda vykazuje vůči kyselinám a bazím a lépe tak charakterizuje pufrivost jako celek.

Dá se říci, že čím je tento ukazatel větší tak tím má tlumivost bazoidnější charakter, tedy lépe odolává kyselinám nežli zásadám a naopak čím je tato hodnota nižší tak tím má naopak charakter acidoidnější a lépe tedy odolává bazím. Podle tohoto můžeme zařadit gleje mezi půdní typy s výrazným acidoidním tlumivým charakterem a půdní typy černice a fluvizemě mezi půdy s výrazným bazoidním tlumivým charakterem.

ZÁVĚR

Potvrdilo se, že pufrací schopnost půd je nejenom důležitý půdní, ale i ekologický ukazatel, který nestačí charakterizovat pouze kvantitativními ukazateli, ale je třeba i určovat jeho kvalitu. Proto nestačí stanovit pouze velikost pufrací schopnosti, ale je třeba určit i její charakter.

Mezi sledovanými půdními typy se zjistila rozdílná pufrací síla, ale i její rozdílný charakter. Nejvyšší tlumivou schopnost proti okyselení má půdní typ černice a nejnižší glej. Naopak nejvyšší schopnost tlumit zásady má půdní typ glej a nejnižší černice. Gleje reagovaly na přidavek kyselin a bazí silně acidoidně a fluvizemě s černicemi bazoidně.

LITERATURA

Dykyjová D. a kol. (1989): Metody studia ekosystémů. Academia Praha, 690 s., ISBN 21-046-89

Jandák J. a kol. (2003): Cvičení z půdoznalství. Ediční středisko MZLU Brno, 92 s., ISBN 80-7157-733-2

Jandák J. a kol. (2007): Půdoznalství. Ediční středisko MZLU Brno, 142 s., ISBN 978-80-7157-559-7

Pokorný E., Denešová O. (2005): Aktuální a potenciální vlastnosti orných půd střední Moravy. Ediční středisko MZLU Brno, 77 s., ISBN 80-7157-889-4

Němeček J. a kol. (1990): Pedologie a paleopedologie. Academia Praha, 546 s., ISBN 80-200-0153-0

Tomášek M. (2000): Půdy České republiky. ČGÚ Praha, 68 s., ISBN 80-7075-403-6

SOIL EXTRACTION BY HOT WATER AND CALCIUM CHLORIDE

EXTRAKCE PŮDY HORKOU VODOU A CHLORIDEM VÁPENATÝM

Nedvěd V., Balík J., Černý J.

Department of Agrienvironmental Chemistry and Plant Nutrition, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 - Suchbát, Czech Republic

E-mail: nedved@af.czu.cz, balik@af.czu.cz, cernyj@af.czu.cz

ABSTRACT

Our objective was to compare different soil extraction methods; hot water extraction and extraction by 0,01 M CaCl₂ and to follow the changes in contents of nitrogen and carbon in longterm field experiment with different systems of fertilizing. Various systems of N fertilization strongly influenced the content and various forms of C and N in the soil. After the comparison of the evaluated treatments, the best results were obtained in both experiments in sewage sludge treatments. The application of sewage sludge gave the highest amounts of high-quality organic compounds. Hot water extraction method is stronger than 0.01 M CaCl₂ extraction and provides long-term information about N mineralization in the soil whereas extraction by 0.01 M CaCl₂ represent actual data of the content of easily mineralizable N compounds.

Key words: hot water extraction, extraction by 0,01 M CaCl₂, longterm field experiment, soil organic matter, mineralization

Acknowledgments: Příspěvek byl zpracován v rámci grantu NAZV 1G58027 a grantu CIGA 21140/1313/3150.

ÚVOD

Půdní organická hmota (soil organic matter, SOM), nositel půdní úrodnosti, se skládá z primární organické hmoty (POM) a humusu. POM má minimální kationovou výměnnou kapacitu, přeměňuje se v průběhu mineralizace (obsah POM se snižuje v důsledku uvolňování CO₂) a humifikace a je zdrojem energie pro půdní mikroorganismy (Kolář et al., 2000). Můžeme ji rozdělit na dvě části. První je relativně inertní (složitě uvolnitelná mineralizačním procesem), zatímco druhá je potencionálně mineralizovatelná a tato může být vyjádřena obsahem aktivního organického uhlíku (Körschens, 1980). V závislosti na stavu zásobení půdy může kolísat každoroční množství mineralizovatelného N z půdní organické hmoty (při jinak stejných podmínkách s ohledem na roční průběh povětrnostních podmínek) o více jak 100 %. Z tohoto důvodu je důležité znát množství dusíku, který může být v průběhu roku mineralizován z SOM a podle toho stanovit optimální dávku dusíkatého hnojení. U metody extrakce horkou vodou (Körschens., 1980), extrakce 0,01 M CaCl₂ (Houba et al., 1986) a EUF metodou (Nemeth et al., 1976) je snaha kromě obsahu minerálního dusíku využívat také údajů o obsahu dusíku v organických vazbách (N_{org}), který byl extrahován. V průběhu vegetace lze v průměru počítat přibližně s 60-120 kg N.ha⁻¹, které jsou uvolněny mineralizací organické hmoty. Výsledky dlouhodobých polních výsledků, které uvádějí Kubát et al. (1999) ukazují, že součásti půdní organické hmoty obsahující dusík, jsou více náchylné k rozkladu a mineralizaci než ty, které dusík neobsahují. Mineralizovatelné množství dusíku v půdě je v zásadě závislé na dvou faktorech. Prvním faktorem je množství mineralizovatelných dusíkatých sloučenin (kvantita N-Poolu). Přitom je zde velmi těsná souvislost s humusovým poolem, který Paul a Juma (1981) rozdělili do 3 skupin - aktivní fáze (nerozložená biomasa odumřelých mikroorganismů a zbytky rostlin, poločas rozpadu 77 týdnů), stabilizovaná fáze (poločas rozpadu cca 30 let) a pasivní fáze (poločas rozpadu cca 600 let). Druhým faktorem je aktivita mikrobiálních procesů (intenzita transformačních procesů). Mikrobiální aktivita a půdní úrodnost přitom spolu úzce souvisí, protože díky biomase mikroorganismů nastává mineralizace důležitých organických sloučenin a mobilizace důležitých makroprvků C, N a P (Ros et al., 2003).

Cílem tohoto sledování bylo porovnat spolu metody extrakce horkou vodou a extrakce 0,01 M CaCl₂ a sledovat změny v obsazích různých forem N a C v dlouhodobých pokusech s různými systémy N hnojení.

MATERIÁL A METODIKA

Stacionární dlouhodobý pokus byl založen na 2 pokusných pozemcích s rozdílnými půdně-klimatickými podmínkami v lokalitách Hněvčeves (hnědozem) a Humpolec (kambizem) v roce 1997. V rámci pokusu jsou střídány tři plodiny: brambory, pšenice ozimá a ječmen jarní. Pokus je uspořádán tak, že umožňuje pěstování všech plodin v každém roce zároveň (tab. 1). Hodnoty pH/CaCl₂, obsah celkového uhlíku Ct a celkového dusíku Nt a obsah přijatelných živin stanovený dle Mehlich III (P, Mg, K) udává tabulka č. 2.

Tab.1. Schéma pokusu

varianta č.	hnojení	brambory	pšenice	ječmen
		kg N.ha-1		
1	kontrola	0	0	0
2	kal 1	330	0	0
3	kal 3	990	0	0
4	hnůj	330	0	0
5	N	120	140 (70+70)	70
6	N+sláma	120+5 t slámy	140 (70+70)	70

N v LAV 27,5 %

Organickými hnojivy bylo hnojeno pouze k první plodině v osevním sledu, proto u brambor je sledováno přímé působení organického hnojení, u ozimé pšenice a jarního ječmene působení následné. Kromě varianty 1 (kontrola) a varianty 3 (kal 3) bylo aplikováno za rotaci pěstovaných plodin 330 kg N.ha-1. Na variantě 6 bylo pod brambory zaoráno 5 t.ha-1 slámy ječmene. Dusík v minerálních hnojivech k ozimé pšenici byl aplikován ve dvou dílčích dávkách (70 kg N.ha-1 - regenerační dávka, 70 kg N.ha-1 - produkční dávka). U jarního ječmene byl N aplikován jednorázově před setím (70 kg N.ha-1). Pro potřeby pokusu jsou používány kaly z ÚČOV Praha.

Tab.2. Hodnota pH, obsah Ct, Nt a obsah přijatelných živin v roce 2005 na kontrolní variantě (Mehlich III)

lokality	Mehlich III					
	pH/CaCl ₂	Ct (%)	Nt (%)	P (mg.kg ⁻¹)	Mg (mg.kg ⁻¹)	K (mg.kg ⁻¹)
Hněvčeves	5,9	1,65	0,13	101	132	165
Humpolec	5,1	2,29	0,18	99	120	185

Extrakce horkou vodou

Pro stanovení obsahu extrahovatelných forem dusíku a extrahovatelného organického uhlíku horkou vodou v půdě byla použita jemnozem. Zemina byla předem usušena na vzduchu při teplotě 40°C. 10 g zeminy bylo naváženo do 100 ml extrakční baňky se zpětným chladičem. Zemina byla zalita 50 ml destilované vody. Suspenze byla mírně vařena po dobu jedné hodiny. Po vychladnutí byly vzorky odstředěny (Körschens et al., 1980). Ve výluhu byl stanoven obsah N-NO₃⁻, N-NH₄⁺, obsah celkového extrahovatelného dusíku (N_{hws}) a extrahovatelného organického uhlíku (C_{hws}). Měření bylo provedeno segmentovou průtokovou analýzou s kolorimetrickým stanovením na přístroji SKALAR^{plus}System (fy Skalar, Holandsko).

Extrakce 0,01 M CaCl₂

Pro stanovení minerálního N (N_{minCaCl₂}) a celkového extrahovatelného dusíku (N_{CaCl₂}) v půdě byla použita vlhká zemina. Jako extrakční činidlo byl použit 0,01 M CaCl₂ (Houba et al., 1986). 10 g zeminy bylo vyluhováno ve 100 ml extrakčního činidla. Po 2 hodinách třepání byly půdní výluhy odstředěny. Ve výluhu byl stanoven obsah N-NO₃⁻, N-NH₄⁺, obsah celkového extrahovatelného dusíku (N_{CaCl₂}) a extrahovatelného organického uhlíku (C_{DOC}). Měření bylo provedeno segmentovou průtokovou analýzou s kolorimetrickým stanovením na přístroji SKALAR^{plus}System (fy Skalar, Holandsko).

Celkové obsahy N_t a C_t byly stanoveny oxidací na přístroji LECO CNS 2000. Pro analýzy půd byly použity odběry provedené po sklizni pšenice v roce 2003, 2004 a 2005.

VÝSLEDKY A DISKUZE

V tabulce 3 je znázorněn podíl extrahovatelného N_{hws} a N_{CaCl_2} z celkového obsahu N_t a podíl C_{hws} a C_{DOC} z celkového obsahu C_t jako průměry ze sledovaných variant. Po přepočtu na hmotnost ornice. ha^{-1} při hloubce ornice 25 cm jsme získali následující hodnoty: v Hnědčevsi (hnědozem) činí množství N_{hws} 274,0 $kg.ha^{-1}$ a N_{CaCl_2} pouze 74,0 $kg.ha^{-1}$ u C_{hws} to je pak 2293,0 $kg.ha^{-1}$ a 183,0 $kg.ha^{-1}$ C_{DOC} . V Humpolci (kambizem) je v ornici obsaženo 409,7 $kg N_{hws}.ha^{-1}$ a 80,5 $kg N_{CaCl_2}.ha^{-1}$ resp. 2999,0 $kg C_{hws}.ha^{-1}$ a 244,0 $kg C_{DOC}.ha^{-1}$. Tyto výsledky poukazují na vyšší mineralizaci organické hmoty na kambizemi a jsou v souladu s výsledky Kubát et. al (2003), kteří zkoumali obsah celkového a rozložitelného uhlíku na více než 140 stanovištích v České republice.

Při extrakci horkou vodou (tab. 4) byly naměřeny nejvyšší obsahy sledovaných frakcí v kambizemi na variantě kal3: 44,2 ppm $N_{min(hws)}$ a 90,7 ppm $N_{org(hws)}$ (varianta kal1), 133,9 ppm N_{hws} ($N_{min(hws)}+N_{org(hws)}$) a 887,9 ppm C_{hws} . Extrakcí 0,01 M $CaCl_2$ (tab.5) byl nejvyšší obsah $N_{min(CaCl_2)}$ a N_{CaCl_2} ($N_{min(CaCl_2)}+N_{org(CaCl_2)}$) stanoven v kambizemi na variantě kal3 (24,9, resp. 32,4 ppm). Nejvyšší obsah 9,8 ppm $N_{org(CaCl_2)}$ byl zaznamenán na variantě hnůj a stejně tak obsah C_{DOC} 80,3 ppm opět v kambizemi.

Sledované varianty s různými systémy N hnojení výrazně ovlivňují obsah a různé formy C a N v půdě, nicméně nelze opomenout významný vliv rozdílných půdně-klimatických podmínek. To potvrzují Garau et al. (1986), kteří zjistili ve svém pokusu, že půdní typ byl nejdůležitější faktor ovlivňující mineralizaci N, dále bylo rozhodující aplikované množství hnojiv a až poté jejich vlastnosti. Při porovnání sledovaných variant hnojení vychází na obou stanovištích nejlépe aplikace čistírenských kalů, která zanechává v půdě nejvyšší množství kvalitních organických látek, avšak varianta kal 1 a hnůj poskytují srovnatelné výsledky.

Extrakce horkou vodou je silnější extrakční metoda než extrakce 0,01 M $CaCl_2$, což potvrzuje i srovnání dat z tabulek 4 a 5. Toto je způsobeno tím, že při extrakci horkou vodou je extrahována odumřelá mikrobiální půdní biomasa, jednoduché organické látky a dále látky, které jsou hydrolyzovatelné nebo depolymerizovatelné v podmínkách extrakce horkou vodou, zatímco při extrakci 0,01 M $CaCl_2$ jsou uvolňovány pouze nitrátové a amonné ionty (také nitritové) z půdního roztoku a půdního sorpčního komplexu a velmi lehce rozpustný organický uhlík a dusík. Z toho lze usoudit, že extrakce horkou vodou nám podává výhledově dlouhodobější informace o mineralizaci N v půdě a naopak extrakce 0,01 M $CaCl_2$ nám udává aktuální údaj o obsahu snadno přístupných sloučenin N.

Tab. 3. Podíl (v %) N_{hws} a N_{CaCl_2} z celkového obsahu N_t ; podíl (v %) C_{hws} a C_{DOC} z celkového obsahu C_t (průměr ze sledovaných variant)

	N_{hws}	N_{CaCl_2}	C_{hws}	C_{DOC}
hnědozem	3,31	0,90	4,59	0,37
kambizem	4,17	0,82	3,86	0,31

Tab. 4. Extrakce půdních vzorků horkou vodou na hnědozemi a kambizemi (průměr za období let 2003 – 2005 v jednotkách ppm)

stanoviště		hnědozem				kambizem			
č.v.	varianta	N _{min(hws)}	N _{org(hws)}	N _{hws}	C _{hws}	N _{min(hws)}	N _{org(hws)}	N _{hws}	C _{hws}
1	kontrola	16,9	48,2	65,0	573,0	19,7	74,1	93,8	718,1
2	kal1	19,9	55,0	74,9	635,4	35,3	90,7	126,0	868,6
3	kal3	26,1	61,1	87,2	727,1	44,2	89,7	133,9	887,9
4	hnůj	16,7	55,2	72,0	642,6	27,1	76,7	103,8	769,2
5	N	19,5	48,4	68,0	541,3	24,4	69,0	93,4	716,8
6	N+sláma	20,9	49,7	70,6	549,1	29,0	75,6	104,7	838,0

Tab. 5. Extrakce půdních vzorků 0,01 M CaCl₂ na hnědozemi a kambizemi (průměr za období let 2003 – 2005 v jednotkách ppm)

stanoviště		hnědozem				kambizem			
č.v.	varianta	N _{min(CaCl₂)}	N _{org(CaCl₂)}	N _{CaCl₂}	C _{DOC}	N _{min(CaCl₂)}	N _{org(CaCl₂)}	N _{CaCl₂}	C _{DOC}
1	kontrola	18,6	5,6	24,2	55,8	10,5	5,1	15,6	49,5
2	kal1	11,7	5,8	17,5	48,0	10,8	6,8	17,6	48,8
3	kal3	18,3	6,5	24,9	58,1	24,9	7,6	32,4	79,6
4	hnůj	10,9	5,4	16,3	45,0	12,3	9,8	22,0	80,3
5	N	13,1	4,3	17,3	45,1	10,5	6,3	16,8	54,2
6	N+sláma	15,0	3,4	18,4	40,9	15,8	8,4	24,3	77,3

ZÁVĚR

Extrakce horkou vodou je vhodná metoda pro stanovení množství potenciálně mineralizovatelného dusíku v půdě. Při extrakci horkou vodou bylo mobilizováno 3,31 % z obsahu N_t v hnědozemi a 4,17 % z obsahu N_t v kambizemi. Obsah dusíku extrahovaného 0,01 M CaCl₂ činí v hnědozemi pouze 27 % dusíku extrahovaného horkou vodou a v kambizemi pak pouze 20 %.

LITERATURA

- Garau M. A., Felipo M.T., Ruiz de Villa M.C. (1986): Nitrogen mineralization of sewage sludge in soils. *J. Environ. Qual.*, 15: 225 – 228.
- Houba V.J.G., Novozamsky I., Huybregts A.W.M. van der, Lee J.J. (1986): Comparison of soil extractions by 0,01 M CaCl₂, by EUF and some conventional extraction procedures. *Plant. Soil. Environ.*, 96: 433 – 437.
- Körschens, M. (1980): Beziehungen zwischen Feinanteil, C_t- und N_t-Gehalt des Bodens. *Arch. Acker- u. Pflanzenbau u. Bodenk.* 24, 9: str. 582-592.
- Nemeth, K. (1976): Die effektive und potentionelle Nährstoffverfügbarkeit im Boden und ihre Bestimmung mit Elektro-ultrafiltration. *Habilitationschrift Universität Giessen.*
- Kubát J., Nováková J., Cerhanová D., Apfelthaler R. (1999): Organic nitrogen cycle ammonification and nitrification activity in long-term field experiment. *Rostl. Výr.*, 45: 397 – 402.

Kubát J., Cerhanová D., Nováková J., Klement V., Čermák P., Dostál J. (2004): Total organic C and its decomposable part in arable soils in the Czech Republic. *Arch. Agron. Soil Sci.*, 50: 21 – 32

Paul E. A., Juma N. G. (1981): Mineralization and immobilization of soil nitrogen by microorganism. In: Clark F. E., Rosswal T. (eds.): *Terrestrial nitrogen cycles*. *Ecology Bulletin* 33. Stockholm, Sweden: 179 – 195.

Ros, M., Hernández, M.T., García, C., 2003. Soil microbial activity after restoration of a semiarid soil by organic amendments. *Soil Biol. Biochem.* 35: s. 463–469.

LONG-TERM EVALUATION OF THE FLIGHT ACTIVITY OF RUSSIAN WHEAT APHID (DIURAPHIS NOXIA KURDJ.)

DLOUHODOBÉ HODNOCENÍ LETOVÉ AKTIVITY MŠICE ZHOUBNÉ (DIURAPHIS NOXIA KURDJ.)

Olbrechtová J., Šefrová H.

Department of Crop Science, Breeding and Plant Medicine, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: janaolbrecht@centrum.cz, sefrova@mendelu.cz

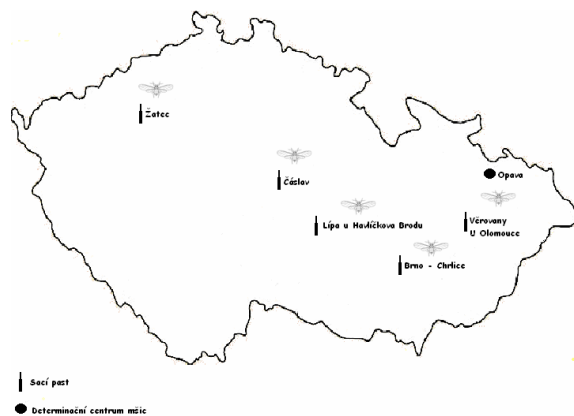
ABSTRACT

Aphids are serious pests of agricultural crops so the knowledge of their bionomics, flight activity and life cycles is very important for the agricultural profession. The collection of aphids was made in the way of Johnson-Taylor suction traps. Suction traps were situated in five locations (Čáslav, Chrlice, Lípa u Havlíčkova Brodu, Věrovany, Žatec). The temperatures were taken in the height of 2 meters above the ground level. The aphids were collected every day from the beginning of April to the end of November. The aphids were put into bottles with 70% ethanol and sent to the central laboratory in Opava where the samples were further analysed. The separated aphids were processed in potash hydroxide and consequently in lactic acid. The flight activity of Russian Wheat Aphid (*Diuraphis noxia* Kurdj.) has been monitored since 1997. The catches used to be trapped only in the warm localities Chrlice and Věrovany. Russian Wheat Aphid (*Diuraphis noxia* Kurdj.) was widely spread in 2007. Probably, the catches of Russian Wheat Aphid (*Diuraphis noxia* Kurdj.) will be below-average in 2008. The bionomic and migration of Russian Wheat Aphid (*Diuraphis noxia* Kurdj.) is unexplored.

Key words: Suction trap, Russian Wheat Aphid (*Diuraphis noxia* Kurdj.), Monitoring

ÚVOD

V České republice byly v roce 1992 vystavěny sací pasti typu Johnson – Taylor, které jsou umístěny v pěti místech. Tyto lokality jsou Čáslav, Chrlice, Lípa u Havlíčkova Brodu, Věrovaný a Žatec. Sací pasti jsou rozmístěny tak, aby reprezentovaly všechny zemědělské výrobní oblasti.



Obr. 1 Rozmístění sacích pastí na území České republiky

Mezi nejvýznamnější obilní mšice patří mšice střemchová (*Rhopalosiphum padi*), dále pak kyjatka travní (*Metopolophium dirhodum*) a kyjatka osenní (*Sitobion avenae*). Rychlým krokem se však k těmto 3 druhům přibližuje teplomilná mšice zhoubná (*Diuraphis noxia*). Obilniny stále zaujímají v osevních postupech velké místo, měli bychom se tedy zajímat o své škůdce jak o mšici střemchovou, dvě kyjatky, tak i o mšici zhoubnou, která se svou početností (především v roce 2007) přibližuje k nejvýznamnějším obilním mšicím. Nad mšicí zhoubnou stále visí několik neobjasněných otázníků, proto by se měla stát předmětem zájmu odborné veřejnosti, která by její přítomnost a škodlivost na našem území zodpovědně vysvětlila.

V úvodu bych ráda podotkla, že sací pasti jsou sice určeny pro sběr mšic, ale v neposlední řadě se zachytí ve vzdušném planktonu i velice zajímavé úlovky hmyzu jako například asijské sluněčko *Harmonia axyridis*.

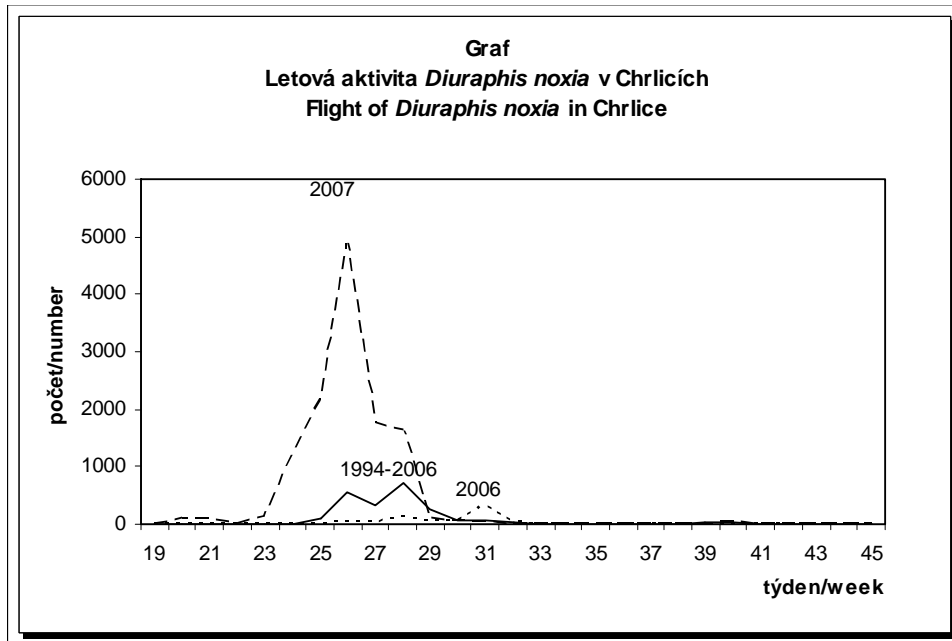
MATERIÁL A METODIKA

Mšice jsou odchyťovány do sacích pastí, které jsou vysoké 12,2 m. Mšice se sbírají pravidelně každý den od začátku dubna do konce listopadu. Ulovený materiál se konzervuje v 70% líhu a pak se posílá do laboratoře v Opavě, kde probíhá determinace jednotlivých mšic. Mšice se macerují v 10% KOH a poté se archivují v kyselině mléčné.

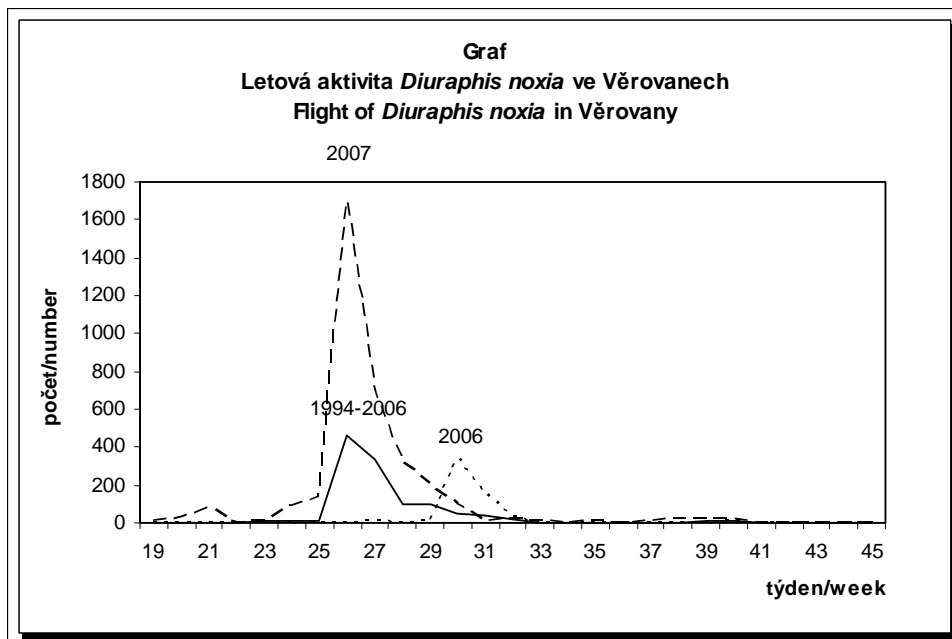
VÝSLEDKY A DISKUZE

Monitoring mšice střemchové, kyjatky travní a kyjatky osenní má v České republice dlouhou tradici. Provádí se již 16 let. Monitorování letové aktivity mšice zhoubné začalo o

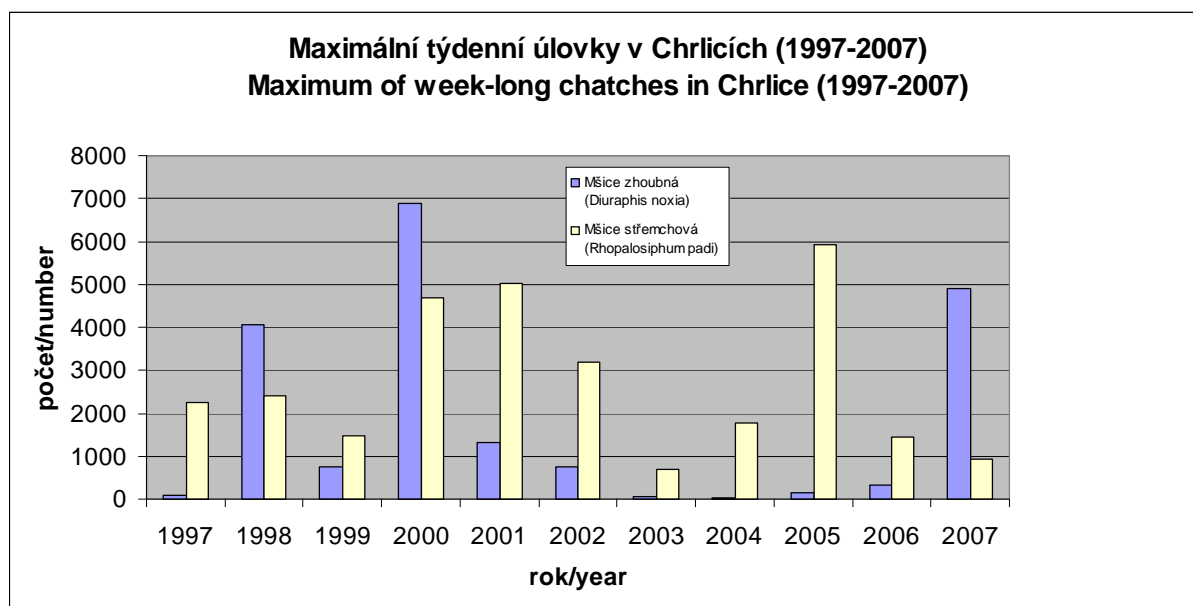
něco později až v roce 1997, kdy byly zjištěny větší úlovky v teplejších moravských oblastech (Chrlice, Věrovany), a od té doby je mšice zhoubná pravidelně sledována. Maximální týdenní úlovky mšice zhoubné dosahovaly v roce 2000 téměř hodnoty 7000 ks. Poté nastalo období šestiletého útlumu (od roku 2001 až do roku 2006), kdy se maximální týdenní úlovky průměrně pohybovaly pod 1000 ks. V roce 2007 překvapivě mšice zhoubná měla pro svůj rozvoj vhodné podmínky (mírná zima) a opět dosahovala extrémně vysokých záchytů. Její maximální týdenní úlovky se přibližovaly k 5000 ks okřídlených mšic.



Graf 1 Grafické znázornění průběhu letové aktivity mšice zhoubné v Chrlicích



Graf 2 Grafické znázornění průběhu letové aktivity mšice zhoubné ve Věrovanech



Graf 3 Dlouholeté grafické porovnání úlovků mšice střemchové a mšice zhoubné

ZÁVĚR

Dlouhodobé pozorování letové dynamiky mšic ukazuje, že mšice střemchová nemá ve svých úlovcích viditelné výkyvy. Naproti tomu u mšice zhoubné sledujeme výchylku v počtu ulovených okřídlených mšic v šestileté periodě, poněvadž vše ukazuje na to, že sezóna roku 2008 bude velice slabá. Suma ulovených mšic zhoubných dosahuje prozatím hodnoty 94 ks (v období od dubna do září 2008). Zda-li je to ovlivněno průběhem počasí, vlivem proudění vzduchu, přemnožení populace, se dozvíme pečlivým a dlouholetým monitoringem mšic.

LITERATURA

Blackman R.L., Eastop V.F. (2000): Aphids on the World's Crop, John Wiley and Sons, England, 466s., ISBN 0 471 85191 4.

Emden H.F., Harrington R. (2007): Aphids as Crop Pests, CABI, UK, 717s., ISBN-13: 978 0 85199 819 0.

Rotrekl J. (2000): Zemědělská entomologie, MZLU, Brno, 83s., ISBN 80-7157-473-2.

Šefrová H. (2006): Rostlinolékařská entomologie, Konvoj, Brno, 257s., ISBN 80-7302-086-6.

EARLY SWEET CORN PRODUCTION

RANÁ PRODUKCE CUKROVÉ KUKUŘICE

Orosz F.^{1,2}, Pap Z.¹, Slezák K.¹

¹Department of Vegetable and Mushroom Growing, Corvinus University of Budapest, H-1118 Budapest, Villányi út 29-43, Hungary.

²Department of Horticulture, Sapientia Hungarian University of Transylvania, 540485 Tîrgu Mureş, Şoseaua Sighişoarei 1C, Romania.

E-mail: ferenc.orosz@uni-corvinus.hu

ABSTRACT

In our trial we tried to find out how the time of propagation and transplanting influenced the growing season of sweet corn along with some major properties relevant to quality. The following technological variations were compared: transplanted plants with floating row cover (with 2 planting dates); transplanted plants with no row cover; direct seeded plants with no row cover. The transplant growing period reduced the growing period by 16 to 28 days, compared to the technology used in the existing practice of production. Earliness had a negative influence on ear weight, nonetheless it is worth while to attempt since the market is not so exacting with new products in the early period. In our trial the effect of earliness had a favourable influence in case of reducing- and total sugar content accumulation of seeds.

Key words: earliness, sweet corn, seedlings, fleece covering.

INTRODUCTION

Currently, Hungary is not considered as an influential country of the market considering the majority of the vegetables. The only exception is the sweet corn. Although the yield fluctuated, the growing area have grown continuously, in 2002 we gone before French and Hungary became the European leader in sweet corn growing. The impulsive force of great growth, was the canning and freezing industry. Based on its present growing area, the sweet corn is the vegetable which is grown on the greatest area in Hungary and after the sudden and sharp decline in 2003 this plant returned in a rise after 2006. With a growing area of over 30,000 hectares Hungary is presently the first in the EU (Tömpe, 2006). Our export is threatened seriously by Thailand with its low prices, which is possible through 3 times pro year harvesting. This threat was limited for the moment with an anti dumping moratorium accepted by EU for five years. In the case of the former, however, the increase in fresh consumption partly counterbalanced the rate of decrease. In order to promote fresh consumption, as well as to maintain and increase the sweet corn exports, it is necessary to promote investigations so as to be able to ensure a further increase in the growing area and yields of sweet corn with the help of the experiences. Of the production technology elements, a number of researchers studied or are currently studying the sowing time of sweet corn. Ripening can occur earlier when sowing earlier and using high quality seeds, as compared to normal or late sowing. I'só (1969) after their multi-year sowing date trial, concluded the following: in the case of an earlier sowing seed germination will be more protracted, but from the point of view of ear ripening it was more favourable than late sowing. Early sowing is also recommended by Aldrich (1970) for the reason that the roots will penetrate deeper this way, from where they can get water even in periods of drought and the more intensive vegetative growth also takes place during the period of shorter daytime and this way the plants will be smaller and will be less prone to lodge. Several techniques are known in the art for the purpose of early fresh market shipments: seedling growing or direct seeding with temporary plant cover (Kurucz 1998; Hodossi 2004). Direct seeded sweet corn under fleece cover showed earlier ripening and gave better yields in the experiments of Kassel (1990). The plots under fleece cover reached harvest maturity 12 days earlier as compared to the plots with no cover. Besides, a greater number of missing plants was observed in the plots with no cover. As a result of the greater plant number and the better ear set per plant yields were much higher in the plots with fleece cover. According to another solution in use, the seeds are sown in 10 to 14 cm deep seed trenches and the latter are covered with floating row cover. The cover is removed 22 to 24 days after sowing. This gives 4-6 day earliness in emergence and 8 to 10 day advantage in growth and development (Hodossi&Kovács, 1996). The most widespread method of seedling production is the use of soil blocks (Pereczes, 1999) which can also significantly increase earliness. According to the trials of Kurucz (1998) seedling growing advanced harvest by 2 weeks. According to Hodossi (2004) 10 to 12 day earliness can be achieved by planting seedlings grown in soil blocks and 6 to 8 day earliness by seedlings grown in trays. The measurements of Kassel (1990) revealed that the ears of direct seeded corn plants under floating row cover could be harvested 10 days earlier as compared to

the plots planted with seedlings and having no cover. The combined application of seedling growing and floating row cover can advance harvest by three weeks as compared to the traditional technology and can give farmers a three to four times greater income (Kurucz, 1998; Pecz, 1999). Arun Kumar et al. (2007) found the grains to have a reducing sugar level of 2,3-3,2 %, the non reductive sugar content range between 17,01-24,38 %. In point of sugar content, after Herrmann (2001) notification 100g fresh kernels contents about 1g reductive sugar (glucose+fructose) and on average 2,16g (1,6-2,7) g sucrose.

MATERIAL AND METHOD

The experiments were set up in years 2006 and 2007 on an area equipped for irrigation at the Experimental Farm of the Faculty of Horticulture of the Corvinus University of Budapest. The test variety was Spirit, a normal sweet corn with a very early growing period (85 days).

The following treatments were applied during the experiment

P1 = covered plants grown from transplants (Apr 6th 2006 and Apr 4th 2007)

P2 = uncovered plants grown from transplants (Apr 20th 2006 and Apr 19th 2007)

P3 = covered plants grown from transplants (Apr 20th 2006 and Apr 19th 2007)

P4 = uncovered direct sowing (Apr 20th 2006 and Apr 19th 2007) (Control)

For the purpose of seedling growing, the seeds were sown on March 16th and March 30th in 2006 and March 13th and March 30th in 2007, in trays with rigid walls. For growing the seedlings we used a commercial mix made of white peat 10-20 mm, PG Mix 1 kg/m³ + micro nutrients, bentonite 40 kg/m³, pH 5,5-6,5. The seedlings were grown for 3 weeks in both cases and were planted out at the 3 to 4 leaf phenological stage. At the two propagation times the treatments P1 and P3 were covered with Novagryl floating row cover, having a weight of 19 g/m², (using the small tunnel technique) in order to enhance earliness. The floating row cover was removed on May 16th in 2006 and May 11 in 2007. The cornstand was created at a spacing of 110+40x22 cm in twin rows. Each plot had an area of 6x7 m. The edge was the outer twin rows of the 4 twin rows of the plot. Number of repeats: 4. Fertilization was done by top dressing with N. No farmyard manure was applied. In the application of the N top dressing rates (34% ammonium nitrate), in 7-8 leaves and tasseling stages, we were careful not to apply an active ingredient dose of over 50 kg/ha in order to prevent salt damage. Farmyard manure was not applied. During the experiment, near the harvesting time, we studied some important valuable properties. During harvest the ears, together with the husks, were collected from the two central twin rows. After that, 20 ears of average appearance were selected from each row and the following measurements were carried out:

- unhusked ear weight (gram)
- reducing sugar content (%)
- total sugar content (= compound sugars, chiefly sucrose) (%)

For sugar content determination was used the Luff-Schoorl method. The statistical analysis was carried out by using the programme RopStat 1.1 with the help of which we performed one-way comparison of repeated measures. The differences between the homogeneity of

variances were tested with Levene test (Balog *et al.* 2007). $P < 0.01$ confidence limits are considered as statistically significant differences (Balog *et al.* 2008b). When the standard deviations were identical, the mean values were compared by pairs using the Tukey-Kramer test, while in the case of the non identical standard deviations the means were compared using the Games-Howell test (Vargha, 2007).

RESULTS AND DISCUSSIONS

Harvesting time in the experimental years are represented in Table 1.

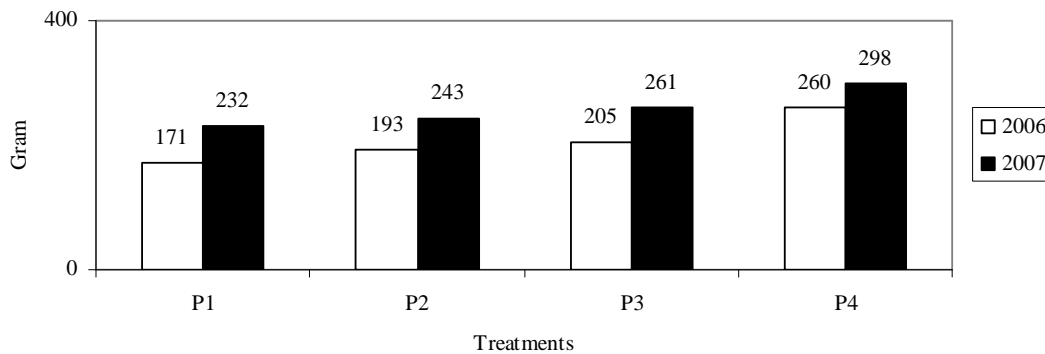
Table 1. Time of harvesting:

Treatments	Starting harvest (days after transplanting)	
	2006	2007
P1	77 (VI.22)	67 (VI.11)
P2	67 (VI.26)	63 (VI.22)
P3	67 (VI.26)	63 (VI.22)
P4	83 (VII.12)	80 (VII.9)

The absolute growing season (measured in days) was the shortest in the treatments P2 and P3, merely 67, respectively 63 days, i.e. the corns became ready for harvest 16, respectively 17 days earlier than those of P4 (control), which were propagated at a time, around Apr 20th, and in a way according to the existing practice of production (by direct seeding). Though the absolute growing season measured in days was 10, respectively 4 days longer (77 days) in the treatment P1, of early planting and provided with floating row cover, as compared to the treatments P2 and P3, at the same time, as planting was carried out 14, respectively 15 days earlier, the result was that it was the cobs from these corn plants that we managed to put first on the market.

One of the major characteristics in connection with yield rating, unhusked ear weight, are summarised in Figure 1.

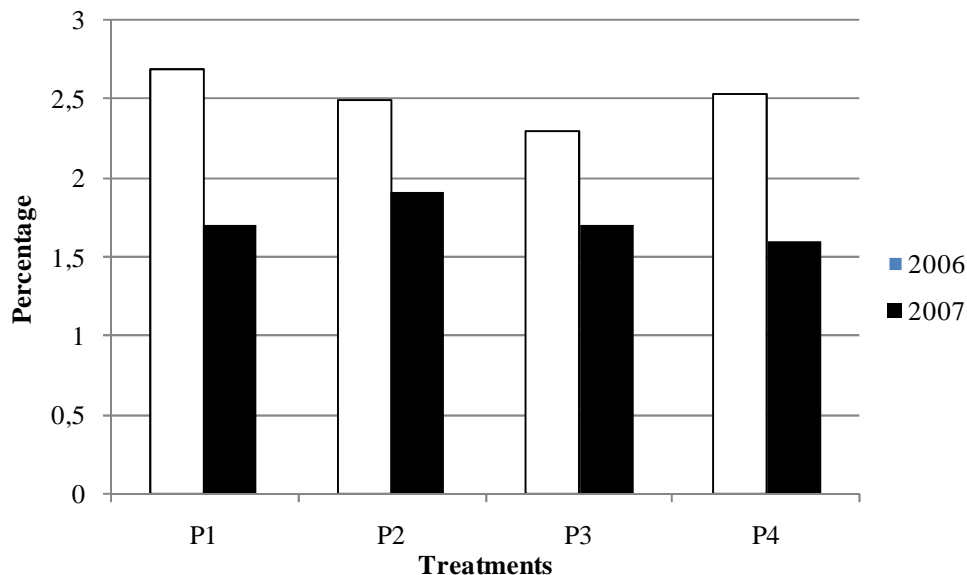
Figure 1. Unhusked ear weight (g):



Analysing the data measured for unhusked ear yield, we saw that the average weight of the ears of the treatment P1 was significantly (at $p < 0.01$ level) lower as compared to the treatments P2 and P3, as well as to the treatment P4 (control). The greatest average unhusked ear weight was measured with the ears of the control treatment P4. Though there was some difference between the plants of the treatments P2 and P3 in unhusked ear weight, statistically this was not significant.

The effect of applied technologies on reductive sugar content of kernels is presented on figure 1.

Figure 1. Reductive sugar content (%).

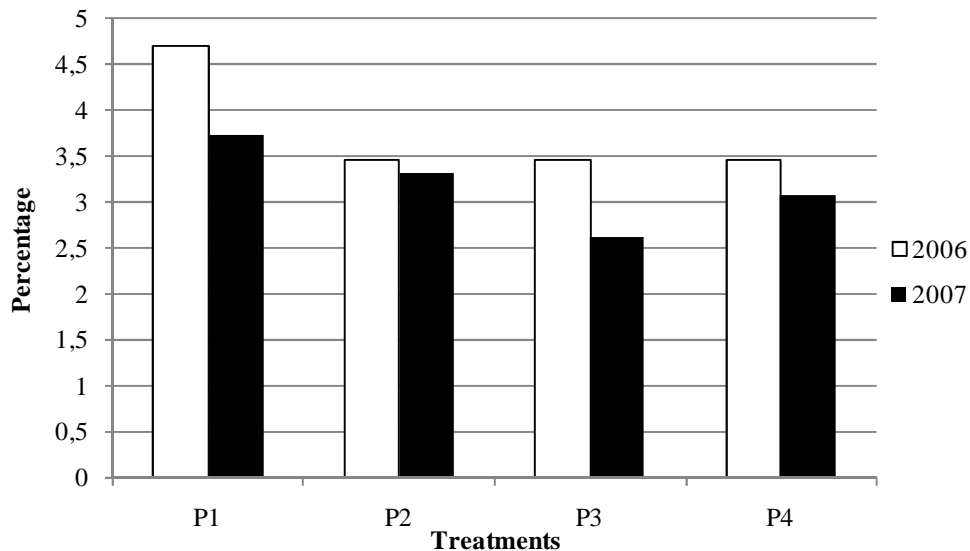


After the first experimental year (2006), which was considered as less favourable for early sweet corn production the measured reductive sugar content was significantly higher (at $p < 0.01$ level) in case of P1 (covered plants grown from transplants) and P4 (uncovered direct sowing) treatments, and higher in case of the P2 and P3 treatments in comparison to the similar treatments in the next (considered favourable) experimental year 2007. According to

literary dates we measured higher values, but we didn't know, that the compared varieties were the same or not.

The total sugar content is summarized in figure 2.

Figure 2. Total sugar content (%).



Analyzing the total sugar content of kernels we have seen the same trends as in case of reducing sugar content in both experimental years. The highest sugar content values were measured in kernel of P1 treatment in both years, but this difference between the experimental years and among the other treatments statistically was not significant.

CONCLUSIONS

Based on the 2006 and 2007 year's results of the experiments, the following conclusion can be made:

The growing season was significantly reduced in the transplanted treatments compared to the direct seeded (control) treatment. Harvest time occurred in 2006 with 20 days, and in 2007 with 28 days earlier in the case of the treatment of early transplanting and with floating row cover (P1), with 16 days in 2006 and 17 days in 2007 earlier in the case of the treatments of later transplanting and with and without cover (P2 and P3). At the same time the floating row cover did not produce any shortening in the growing season in the treatments P2 and P3.

Compared to the data by Hermann (2001), according to our findings, the concentration of the reducing sugars were superior to 1 g. Relative to the reducing sugar content, such data as published by Arun Kumar *et al.* (2007) (2,3-3,2%) were encountered as well, but only in first experimental year 2006. In case of total sugar content we have not find such as high values.

REFERENCES

- Aldrich S. R. (1970): In: Inglett, G. E.: Corn culture, processing, products. The AVI Publishing Co. Inc., Westport, Connecticut.
- Arun Kumar, M.A., Galli, S.K., Patil, R.V. (2007): Effect of levels of NPK on quality of sweet corn grown on vertisols. *Karnataka J. Agric. Sci.*, 20 (1): 44 – 46.
- Balog, A., Markó, V. (2007): Chemical disturbances effects on community structure of rove beetles (*Coleoptera: Staphylinidae*) in Hungarian agricultural fields. *North-Western Journal of Zoology*, 3 (2): 67-74.
- Balog, A., Markó, V., László, Á. (2008): Rove beetles (*Coleoptera: Staphylinidae*) collected during the long term ecological research in a Hungarian oak forest. *Journal of Environmental Biology*, 29 (2): 263-266.
- Herrmann, K. (2001): *Inhaltstoffe von Obst und Gemüse*. Ulmer Verlag, Stuttgart.
- Hodossi S. (2004): Csemegekukorica. In: Hodossi S. – Kovács A. – Terbe I. (szerk.): *Zöldségtermesztés szabadföldön*. Mezőgazda Kiadó, Budapest.
- Hodossi S. Kovács A. (1996): A koraiság javításának jelentősége és lehetőségei a csemegekukorica termesztésben. *Hajtatás, korai termesztés*, 27 (3): 11-13.
- I'só I. (1969): Kísérletek a kukorica korai vetésével (1965-1968). In: *Kukoricatermesztési kísérletek 1965-1968*. (Szerk. I'só I.). Akadémiai Kiadó. Budapest, 248-255.
- Kassel, LVG. (1990): Direktaussaat von Zuckermals unter Vlies. *Gemüse*, 1990. 26 (7): 350.
- Kurucz M. (1998): Palántázott és takart csemegekukorica. *Kertészet és szőlészet*, 47 (11): 7.
- Perczes J. (1999): Csemegekukorica. In: *Nagymagvú zöldségfélék*. (Szerk. Mártonffy B., Rimóczi I.). Mezőgazda Kiadó. Budapest.
- Tömpe A. (2006): *Zöldségtermesztés. Kertészet és szőlészet*. 55 (48): 8-10.
- Vargha, A. (2007): *Matematikai statisztika pszichológiai, nyelvészeti és biológiai alkalmazásokkal*. Pólya Kiadó. Budapest.

METHODS OF COMPILING LONG-TERM PHENOLOGICAL SERIES IN SOUTHERN MORAVIA

METODY KOMPLETACE DLOUHODOBÝCH FENOLOGICKÝCH POZOROVÁNÍ NA JIŽNÍ MORAVĚ

Pánik M., Trnka M., Možný M., Černá H.

Department of Agrosystems and Bioclimatology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xpanik@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The main aim of the study was to analyze methods that would be applicable for analysis of long-term phenological records of plant species with importance for apiculture. As the first step ten of thousands of records from phenological yearbooks published between 1923 and 1960 were digitized into the easily accessible database. At selected cases digitized database was supplemented by latter phenological observations available at Czech Hydrometeorological Institute. In this way an example of long-term record was reconstructed for period 1923-1979 for sites in southern Moravia. In the next step the individual sites in digital database were georeferenced in order to be used in GIS type of analysis, which allows more efficient use of scattered historical records. The analysis of long-term observations indicated some statistically significant trends toward earlier onset of phenological stages (in case of *Salix Capri*, *Cerasus avium* and *Cerasus vulgaris*) which is rather surprising given the fact that the period prior to 1980 has not been considered as being particularly affected by ongoing climate change. The first results indicate very high potential of properly used phenological datasets for regional climate change impact studies.

Poděkování: Tento příspěvek vznikl s podporou projektu Grantové agentury ČR č. 521/08/1682 a Výzkumného záměru č. MSM6215648905 „Biologické a technologické aspekty udržitelnosti řízených ekosystémů a jejich adaptace na změnu klimatu“ uděleného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

ÚVOD

Fenologie je nauka zabývající se studiem časového průběhu periodicky se opakujících životních projevů tj. vývojových fází rostlin a živočichů a studiem vazeb těchto tzv. fenologických fází na klimatických i půdních podmínkách během jednotlivých let (VALENTA, 2008). Řecké slovo „Phaino“, které dalo fenologii název, znamená „projev, vzhled“. Naznačuje, že pozornost fenologů upoutávají jen dobře zjevné, zřetelné a nápadné vývojové fáze studovaných organismů. Jsou to jevy v přírodě, které nastávají každoročně, avšak v nestejných termínech případně s rozdílnou intenzitou, protože odrážejí časově proměnlivé podmínky prostředí. Na základě pozorování fenolog určuje počátek a konec fenologických fází, což lze následně využít v agrometeorologické charakteristice území (ROŽNOVSKÝ, 2006). Fenologická fáze (fenofáze) je určitý zevně dobře rozpoznatelný, zpravidla každoročně se opakující projev vývinu nadzemních orgánů (zejména pupenů, listů, květenství) sledovaných druhů vyšších rostlin (VALENTA, 2008). Fenologické údaje umožňují mimo jiné hodnocení vlivu podnebí a počasí na vývoj rostlin a jsou také společnou časovou základnou pro poskytování aktuálních meteorologických informací pro sektor zemědělství (VALTER, 2005).

V poslední době se fenologická pozorování využívají k zjišťování vztahů a reakcí rostlinstva probíhající změnu klimatických podmínek i jeho odpovědi na výrazné výkyvy počasí v různých letech. V rámci diplomové práce na téma „Meziroční variabilita nástupu a trvání květu včelařsky významných druhů“ budou fenologická data klíčová pro stadium dlouhodobé adaptace vybraných druhů na měnící se klimatické podmínky a možné dopady na včelařství.

Již v minulosti byly fenologické pozorování srovnávány s dlouhodobými klimatickými řadami a studovány vzájemné vztahy mezi nimi. Základy pravidelnému a metodicky sjednocenému pozorování staniční fenologické sítě položil Carl von Linné, který ve Švédsku a Finsku zřídil 18 stanic (NEKOVÁŘ, 2008). Další zdokonalení v pozorování přišlo v 19. století zásluhou pražského meteorologa K. Frietsche, který se zúčastnil mezinárodní konference v Londýně roku 1860 (SCHNELLE, 1955). V letech 1927 - 1937 byly výsledky fenologických pozorování v našem státě publikovány prof. Dr V. Novákem a Ing. J. Šimkem ve vzorně vypravených fenologických ročenkách (KLIKA, 1954). Česká meteorologická služba převzala fenologii v roce 1940 s celou sítí a archivem údajů od roku 1923. Postupně docházelo k redukci počtu stanic všeobecné fenologie (v roce 1960 na 900, 1970 na 600, 1980 na 400 stanic) a kolem roku 1985 ke specializaci sítě fenologie na polní plodiny (83 stanic), ovocné dřeviny (32 stanic) a lesní rostliny (48 stanic). Fenologické ročenky vydával ČHMÚ do roku 1960 (NEKOVÁŘ, 2007).

Cílem práce bylo analyzovat možné metody, které jsou použitelné pro rekonstrukci fenologických pozorování na území jižní Moravy u včelařsky významných druhů, zjištění návaznosti fenologických fází na teplotě vzduchu a vytvoření prostorového modelu pozorovací staniční sítě s četností jejich měření.

METODIKA

Vlastní kompletace dat byla prováděna z dochovaných Phenologických ročenek Československých vydaných prof. Novákem (NOVÁK, 1923-1937) a Fenologických ročenek Československých (HÚP, 1938-1960). „Novákovy fenologické ročenky“ byly vydávány jako knižní výtisky pro jednotlivá léta a aby bylo možné s daty efektivně pracovat, bylo součástí této studie vybudování digitálního archivu fenologických dat pro období 1923-1960. Jednalo se o naskenování tištěných pokladů s následnou úpravou drobných chyb, které vznikaly při převodu z tištěné formy a tímto způsobem byla vytvořena databáze několika desítek tisíc pozorování. Ročenky zaznamenávaly fenologická data ze všech sledovaných stanic Čech, Moravy, Slezka a Slovenska. Z praktických důvodů byla doposud do databáze převedena pouze data pro oblasti Moravy a Slezka. Ve všech oblastech byly jednotlivě sledovány polní kultury, luční kultury, lesní stromy, ovocné stromy a keře a rostliny divoce rostoucí. Pro tento příspěvek byly vybrány všechny významné včelařské druhy rostlin, které byly zařazeny do dlouhodobých fenologických sledování - *Acer pseudoplatanus* (javor klen), *Robinia pseudoacacia* (trnovník akát), *Corylus avellana* (líška obecná), *Salix caprea* (vrba jíva), *Cornus mas* (dřín obecný), *Tilia cordata* (lípa malolistá), *Cerasus avium* (třešeň ptačí), *Pirus malus* (jabloň letní), *Cerasus vulgaris* (višeň obecná). Při výběru těchto devíti druhů byly zohledněny kritéria včelařského významu. Jde především o pyloidárnost a nektárodárnost rostlin, protože včela medonosná je pro svou závislost na přírodních zdrojích potravy i neocenitelným ekologickým činitelem (PŘIDAL, 2005). Vlastní zápisy fenologických pozorování byly pořizovány co nejpřesněji pro každý druh pro zvlášť určené typické fenofáze. U většiny sledovaných druhů rozeznáváme tyto typy fenofází - rašení, první listy, plné olistění, butonizace, počátek kvetení, plný rozkvet, konec kvetení, tvorba pupenů, počátek fruktifikace, opadání listů. V tomto příspěvku se omezíme pouze na fenofázi, která je pro včelu medonosnou nejdůležitější, tedy počátek kvetení. Tato fáze je charakteristická květy rozevřenými (jehnědy či šištice rozvolněné), prašníky jsou viditelné a alespoň některé z nich se právě otvírají a uvolňují pyl (VALTER, 2005).

Teprve po digitalizaci dat a výběru zkoumaných druhů rostlin bylo možné přistoupit k vlastnímu výběru stanic s dlouhodobým pozorováním. Jednalo se o analýzu všech dostupných dat pro jednotlivé stanice a druhy rostlin tak, aby bylo možné získat co nejdélejší a pokud možno co nejsouvislejší řady fenologických pozorování. Cílem je aby tyto řady byly reprezentativní a použitelné v dalších částech studie. Z několika desítek stanic je s ohledem na výraznou proměnlivost sítě možné vybrat pouze několik slibných lokalit pro další analýzu. Metody práce budou v tomto příspěvku demonstrovány na příkladu stanice Šlapanice. Na této lokalitě bylo navíc možné data získaná z fenologických ročenek doplnit o novější data (1961-1979), která poskytl Český hydrometeorologický ústav výměnou za digitalizované ročenky. Bohužel i Fenologická služba ČHMÚ má relativně omezený rozpočet a dostupná fenologická data z jednotlivých stanic jsou velmi omezená. To je mj. důsledkem dramatické redukce pozorovací sítě. Bohužel převážná část fenologických pozorování končí v rozmezí roků 1980-1990 což je případ i lokality Šlapanice. Jednotlivá data ročních nástupů počátku kvetení vybraných 9 druhů rostlin pro jednotlivé stanice byly seskupeny a seřazeny dle. Vznikla pro jednu stanici (Šlapanice) a jeden druh dlouhodobá řada fenologického pozorování počátku

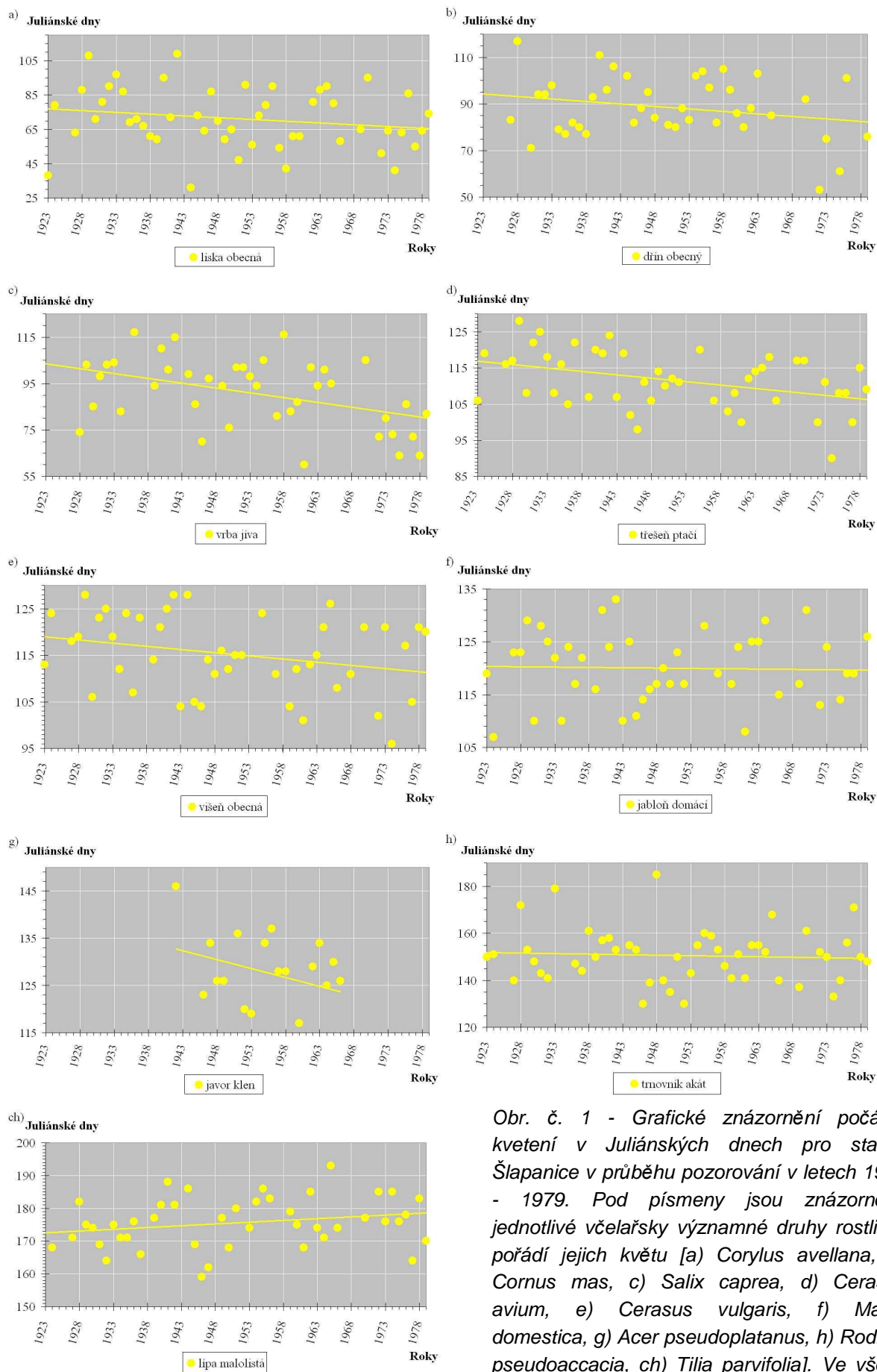
kvetení. Graficky to bylo vyjádřeno pomocí bodového grafu a zhodnocení statistické významnosti trendu jak parametrickými tak neparametrickými metodami s použitím programu Statistika v. 8.1.. Řada pozorování na stanici Šlapanice jsou neúplná a proto bylo přistoupeno k jejímu doplnění vytvořením jednoduchého fenologického modelu na základě teplotních údajů. K analýze byly využity hodnoty průměrné měsíční teploty z nedalé stanice Brno - Tuřany. K výpočtu data počátku kvetení byly použity průměrné měsíční teploty za určité období předcházející nástupu jmenované fáze. Jedná se o teploty z období, kdy v jednotlivých rostlinách začínají metabolické procesy. Analýzou dat průměrných měsíčních teplot byly dopočítány korelační koeficienty. Na základě jejich násobku s průměrnými teplotami přičtenými k hranici koeficientu byl vypočítán datum nástupu fenologické fáze pro druh *Cerasus avium* (třešeň ptačí). V další fázi zpracování diplomové práce počítají autoři s použitím sofistikovaného přístupu opírajícího se o detailní databázi denních dat a využití programu FenoClim vyvíjeného na Ústavu agrosystémů a bioklimatologie.

Popsaná metoda však umožňuje vytvoření pouze relativně omezeného počtu datových řad a nevyužívá rozsáhlé databáze fenologických pozorování která jsou alespoň v některých obdobích k dispozici. Proto je vyvážena druhá metoda opírající se o tzv. regionální fenologické řady. Tato metoda spočívá ve využití všech dostupných dat pro daný druh v daném ročníku pro výpočet prostorového průměru pro zvolený region. Za tímto účelem byly veškeré údaje z fenologických ročenek manuálně georeferencovány, neboť v ročenkách samotných ani v dostupných metadatech nejsou k dispozici souřadnice míst fenologických pozorování. Jedná se o neobyčejně pracný proces v řádu stovek pracovních hodin, neboť jedinými údaji které jsou o místě pozorování k dispozici je název obce v jejímž katastrálním území byla pozorování prováděna a jméno okresu. V současné době bylo dokončeno georeferencování dat z období 1927-1960 a je poprvé prezentována v rámci této práce.

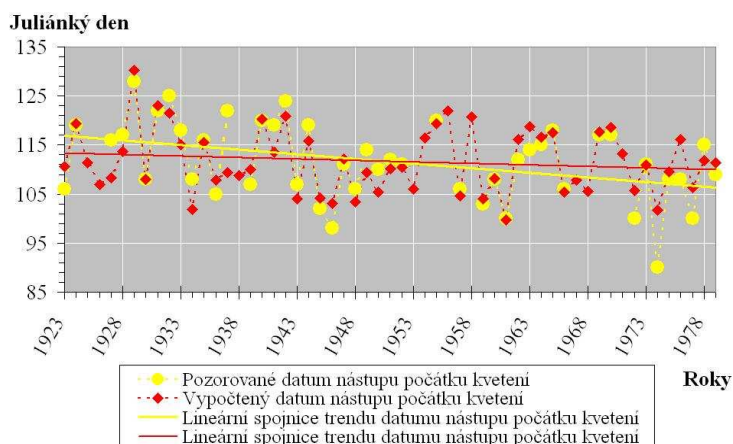
VÝSLEDKY A DISKUZE

Kompletace staničních dat

Postupnou kompletací fenologických dat bylo možné vytvořit grafická znázornění nástupu fenologické fáze počátku kvetení například stanice Šlapanice, která má relativně dlouhou řadu fenologických pozorování. V přiložených grafech lze sledovat roční změny v datu nástupu fenologických fází pro jednotlivé druhy (Obr. č. 1). Grafické znázornění těchto hodnot umožňuje rovněž analýzu změn data kvetení v období 1923-1979. Jak vyplývá z grafů nástupu data prvního květu vykazuje výraznou meziroční variabilitu a současně je zřejmé, že ve sledovaném období 56 let se u 8 druhů posunula doba začátku květu do dřívější doby a to až o 4 dny za dekádu v případě vrby jívy. Jen u lípy malolisté se průměrná doba prvního květu nevýrazně opoždí. Jak ukazuje Tab. č. 1 jsou tyto změny statisticky významné pouze v případě třešně ptačí, višně obecné a vrby jívy.

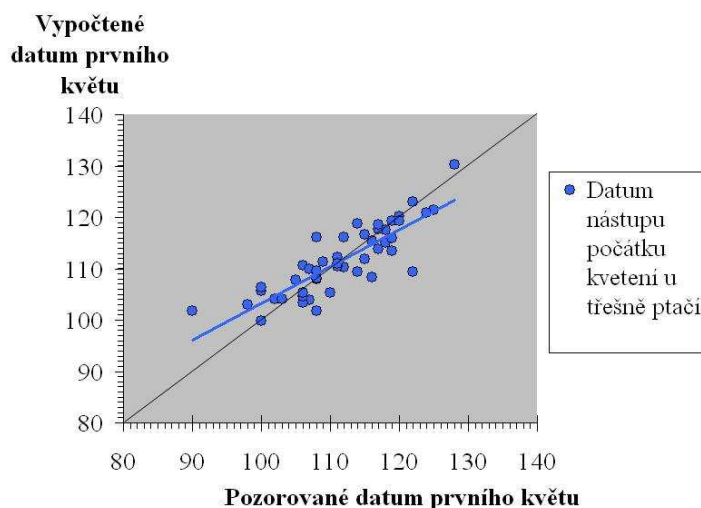


Obr. č. 1 - Grafické znázornění počátku kvetení v Juliánských dnech pro stanici Šlapanice v průběhu pozorování v letech 1923 - 1979. Pod písmeny jsou znázorněny jednotlivé včelařsky významné druhy rostlin v pořadí jejich květu [a) *Corylus avellana*, b) *Cornus mas*, c) *Salix caprea*, d) *Cerasus avium*, e) *Cerasus vulgaris*, f) *Malus domestica*, g) *Acer pseudoplatanus*, h) *Rodinia pseudoaccacia*, ch) *Tilia parvifolia*]. Ve všech případech je znázorněn lineární trend



Obr. č. 2 - Porovnání pozorovaného datumu nástupu počátku kvetení u *Cerasus avium* (třešeň ptačí) s vypočteným datumem nástupu počátku kvetení vzniklým analýzou průměrných měsíčních teplot.

Obrázek číslo 2 dokumentuje současnou rekonstrukci časové řady prvního květu třešně ptačí kombinací pozorovaných fenologických dat a teplotních dat pro lokalitu Šlapanice. Je zřejmé že použitá metoda poměrně dobře vystihuje meziroční variabilitu a dosahuje výsledků srovnatelné kvality jako práce ČREPINŠEKA (2002) či WIELGOLASKÉHO (2003). Zároveň je ale jasné, že metoda opírající se o měsíční teplotní data nevyhovuje ve všech ročnicích a v některých případech vede až k 10 denní chybě v odhadované fenofázi (Obr. č. 3), a proto bude nutné použít denní data a statisticky sofistikovanější postup.

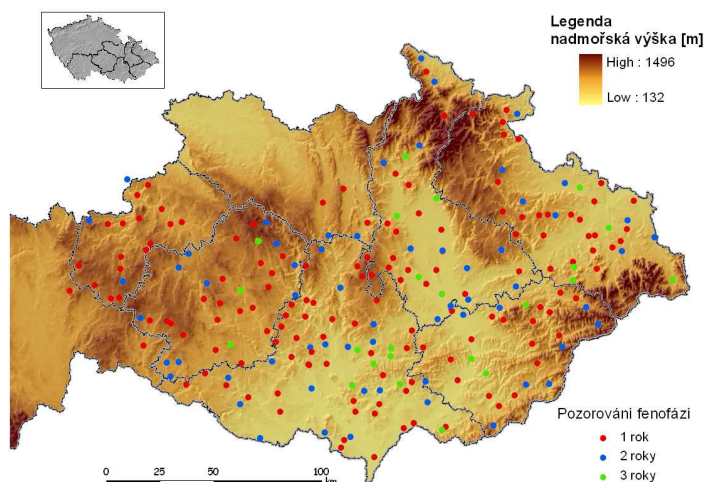


Obr. č. 3 – Vztah mezi pozorovaným datem prvního květu třešně ptačí a datem odhadnutým na základě sumy efektivních teplot pro lokalitu Šlapanice ($n = 47$, $r = 0,8459$).

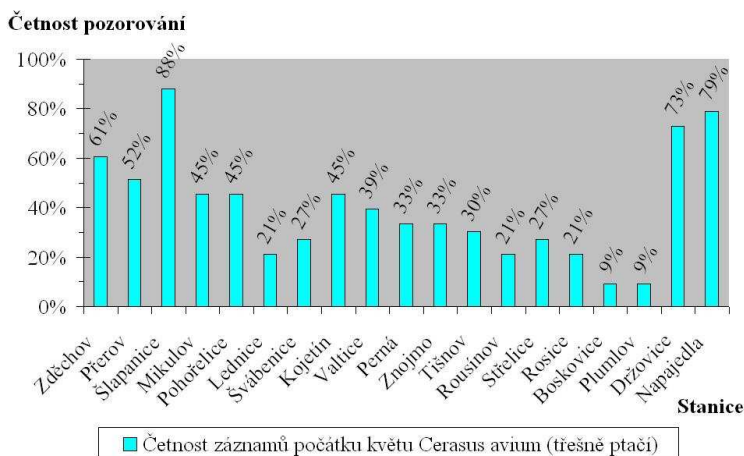
Výpočet prostorového průměru

Obrázky 4 a 5 ilustrují smysl a význam využití prostorového průměru pro rekonstrukci fenologických řad vytvářením regionálních průměrů na základě digitalizace a následného georeferencování historických dat. Jako příklad byly vybrány fenologické stanice na Moravě a ve Slezsku kde byla prováděna pozorování fenofází třešně ptačí v letech 1950, 1955 a 1960. Celková hustota sítě fenologických stanic v těchto třech letech je 223 stanic, ale pouze na 23 z

nich byla pozorování prováděna ve všech třech zkoumaných letech. Pro dva roky ze tří jsou data dostupná na 64 stanicích, zatímco 139 stanic má během tří zkoumaných let pouze jeden záznam. Tento neblahý stav soustavné obměny pozorovací sítě je ještě více zřejmý z Obr. 5., který zachycuje všechny fenologické stanice na jižní Moravě s větším počtem pozorování. Je jasné, že pouze pro 5 stanic z 19 jsou záznamy k dispozici alespoň v polovině z celkového počtu 33 let během studované období (1927-1960). Vytváření regionálních řad tak musí být nezbytným doplněním metody rekonstrukce fenologických pozorování pro jednotlivé stanice.



Obr. č. 4 - Mapa fenologických stanic na Moravě a ve Slezsku a počet provedných pozorování fenologických fází u *Cerasus avium* (třešeň ptačí) ve 3 vybraných ročnících (1950, 1955, 1960).



Obr. č. 5 - Ukázka četnosti prováděných pozorování fenofáze počátku kvetení *Cerasus avium* (třešně ptačí) na stanicích jižní Moravy v letech 1927 - 1960.

ZÁVĚR

Byly demonstrovány dvě metody práce s fenologickými daty. Na základě první metody byly prokázány úzké vazby mezi fenologickými fázemi počátku kvetení a teplotou vzduchu. Nastíněny byly trendy a statistické významnosti postupu fenofází vlivem

zvyšujících se průměrných měsíčních teplot patrné nejvíce u třešně ptačí a vrby jívy. Průměrné datумы nástupu počátku kvetení se posunuly o 10,6 a 23,2 dne do dřívější doby. Druhou metodou bylo prostorové znázornění sítě fenologických stanic jižní Moravy na základě kterých lze vytvářet regionální fenologické řady. Tyto podklady budu sloužit jako vstupní materiály diplomové práce Meziroční variability nástupu a trvání květu včelařsky významných druhů a budou využity i v rámci řešení projektu GAČR 512/08/1682.

Tab. č. 1 - Statistická významnost průběhu pozorování fenologické fáze počátku kvetení u včelařsky významných druhů rostlin.

Druh	n - počet pozorování	r - korelační koeficient	změna nástupu fáze dny/dekádu	Statistická významnost trendu	
				Pearson	Kendal
Corylus avellana (líška obecná)	50	0,192	-2,075	0,0905	0,0726
Cornus mas (dřín obecný)	41	0,240	-2,152	0,0655	0,2645
Salix caprea (vrba jíva)	41	0,433	-4,15	0,0024**	0,0053**
Cerasus avium (třešň ptačí)	47	0,399	-1,884	0,0027**	0,0087**
Cerasus vulgaris (višeň obecná)	46	0,274	-1,356	0,0328*	0,0524
Pirus malus (jabloň letní)	46	0,024	-0,116	0,4354	0,4099
Acer pseudoplatanus (javor klen)	21	0,311	-3,761	0,3555	0,4758
Robinia pseudoacacia (trnovník akát)	49	0,062	-0,445	0,3358	0,4078
Tilia cordata (lípa malolistá)	44	0,236	1,076	0,0616	0,0558

LITERATURA

ČREPINŠEK, Z., 2005.: Spring phenological events in Slovenia related to air temperature., Arboreta Phenologica, 48, 9-17.

HÚP - HYDROMETEOROLOGICKÝ ÚSTAV PRAHA, 1938-1960.: Fenologická ročenka Československé republiky., Praha

KLIKA, J., NOVÁK, J., GREGOR, A., 1954.: Praktikum fytoecologie, ekologie, klimatologie a půdoznalství., Československá akademie věd, sekce biologická., Praha, 773 s.

NEKOVÁŘ, J., a kol., 2007.: Sborník prací Českého hydrometeorologického ústavu., Svazek 50, Česká fenologická databáze pro klimatologické aplikace., Praha, 126 s, ISBN 978-80-86690-44-5

NEKOVÁŘ, J., KOCH, E., KUBIN, E., NEJEDLIK, P., SPARKS, T., WIELGOLASKI, F-E., 2008.: COST Action 725, The history and current status of plant phenology in Europa., History of international phenology networks., 182 pp, Finland, ISBN 978-951-40-2091-9

NOVÁK, V., 1923-1937.: Fenologické ročenky Československé., Zprávy výzkumných ústavů zemědělských ČSR, Praha

PŘIDAL, A., 2005.: Ekologie opylovatelů., Brno, 112 s., ISBN 80-86787-04-4

ROŽNOVSKÝ, J., LITSCHMANN, T., VYSKOT, I. (ed)., 2006.: Fenologická odezva proměnlivosti podnebí - Fenologie jako nauka, metoda a prostředek., Brno, ISBN 80-86690-35-0

SCHNELLE, F., 1955.: Pflanzenphänologie., Akademische Verlagsgesellschaft Geet & Portis, Leipzig, 299 pp

VALENTA, O., LICHTENBERK, L., 2008.: Fenologie [online], [cit. 15. října 2008],
Dostupné na World Wide Web:

http://www.postmoderne.net/ondre/centrum/skola_soubory/Prirodoveda/fenologie.htm

VALTER, J., 1982, aktualizace 2005.: Návod pro činnost fenologických stanic - ovocné dřeviny (Metodický předpis č. 3). 1.vyd. Praha: Český hydrometeorologický ústav. 80 s.

WIELGOLASKI, F.E., 2003.: Climatic factors governing plant phenological phases along a Norwegian fjord. J. Biometeorol., 47, 213-220.

COMPARISON OF SAAZ HOP WITH OTHER CULTIVARS AND HOP NEWBREEDINGS

POROVNÁNÍ CHMELE ODRŮDY ŽATECKÝ POLORANÝ ČERVENÁK S JINÝMI ODRŮDAMI A NOVOŠLECHTĚNÍM CHMELE

Pokorný¹ J., Štranc¹ P., Pulkrábek¹ J., Hnilička² F.

¹Department of Crop Production, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 - Suchdol, Czech Republic

²Department of Botany and Plant Physiology, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 - Suchdol, Czech Republic

E-mail: pokornyj@af.czu.cz, stranc@af.czu.cz, pulkrabek@af.czu.cz, hnlicka@af.czu.cz

ABSTRACT

In this article we evaluate hop plants of different cultivars regarding photosynthesis rate, yield and alpha - bitter acids (BA). In an experiment we monitored Saaz hop and newly growed, sometimes more effective, hop cultivars and newbreeding, mostly with higher bitter acids content, but with worse composition of compounds important for brewing industry. We established the experiment at experimental station of the Czech University of Life Sciences in Prague. Cultivars including prospective newbreeding were selected so we could cover all spectrum of cultivars from mild aromatic to high-content. Regarding photosynthesis rate and yield the best was an old Czech cultivar Saaz hop – Osvald's clone 72 from root-covered seedling. Prospective newbreeding proved to be newbreeding No. 4784 regarding yield and alpha - bitter acids content.

Keywords: chmel otáčivý, odrůdy, novošlechtění, Žatecký poloraný červeňák (ŽPČ), výnos, alfa hořké kyseliny

ÚVOD

V České republice byl do poloviny 90. let pěstován výhradně Žatecký poloraný červeňák (ŽPČ). Dle platných předpisů nebylo možné pěstovat ve chmelařských oblastech jiné odrůdy resp. klony chmele než původu ŽPČ. Až po schválení nového zákona o chmelu 97/96 Sb. bylo umožněno pěstovat jiné odrůdy chmele (Nesvadba, 2000).

Trend produkce a obchodu s chmelem směřuje k produkci nových odrůd, vyhovujících náročným požadavkům pivovarského průmyslu (Čepička, Dostálek, 2002). Nové české hybridní odrůdy chmele, vyšlechtěné Chmelařským institutem v Žatci, jsou svojí výkonností i hospodářskými vlastnostmi srovnatelné s většinou konkurenčních odrůd, jejichž produkty jsou k nám dováženy převážně z USA a SRN. České odrůdy je však předčí svojí jemností hořkosti vyplývající z genetického základu, jímž je aromatický ŽPČ (Vent, Kloub, 1998).

Tvorbu výnosu chmele, podobně jako i jiných kulturních rostlin, můžeme charakterizovat jako výsledek komplexního působení vzájemně se ovlivňujících činitelů, z nichž se projevují především geneticky podmíněné vlastnosti odrůd a soubor povětrnostních a půdních podmínek. Využití produkčního potenciálu je závislé na hierarchicky uspořádaném sledu fyziologických funkcí v různých úrovních rostliny a porostu. Fyziologii chmelových rostlin Žateckého poloraného červeňáku byla v minulosti věnována značná pozornost (Pastyřík, 1973). Nové české odrůdy chmele zaváděné od poloviny 90. let minulého století do pěstitelské praxe mají často vyšší výnosový potenciál a odlišnou dynamiku nárůstu hmoty v průběhu vegetace. Zda jsou však vhodné do stávajících chmelařských oblastí a poloh v ČR však zůstává otázkou.

MATERIÁL A METODY

Pokus byl uskutečněn na pokusné chmelnici České zemědělské univerzity v Praze, v areálu kampusu této univerzity. Pedologicky se jedná o karbonátovou černozem na spraši. Chmelnice se nachází v nadmořské výšce cca 280 m, zeměpisné délce 14°22' a šířce 50°08'. Průměrná roční teplota vzduchu se zde pohybuje okolo 7,9°C, průměrný roční úhrn srážek je cca 526 mm.

V pokuse byly sledovány čtyři v ČR běžně pěstované odrůdy chmele. První odrůdou byl ŽPČ (Žatecký poloraný červeňák - Osvaldův klon 72 M) patřící mezi jemně aromatické chmele. Dodaná sadba byla dvojího typu:

prostokořenná – výrobcem byl Chmelařský institut v Žatci

balíčková (krytokořenná) – výrobcem byl Ing. Jaroslav Štranc, CSc.

Dalšími odrůdami byly: odrůda Premiant – patřící mezi hořké, odrůda Agnus – patřící mezi vysokoobsažné, avšak vykazující spíše vlastnosti hořkých odrůd a zahraniční odrůda Magnum – typická vysokoobsažná odrůda. Dále byly do pokusů zařazeny čtyři perspektivní novošlechtění 4788, 4784, 4237, 4837, které jsou v současné době zařazeny v odrůdových zkouškách ÚKZÚZ.

Od každé odrůdy jsme vybrali vždy jednu průměrnou rostlinu, přibližně ve stejné fázi růstu, na které byly měřeny fyziologické procesy. Zjišťovali jsme rychlost fotosyntézy komerčním přenosným infračerveným analyzátozem LC pro+ (ADC Bio Scientific Ltd.)

s listovou komůrkou, který umožňuje měřit při hustotě ozáření FAR (400-700 nm) v rozsahu 0-2000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ a při teplotě v rozmezí -5 až +50 °C. Měřili jsme ve dnech 6. 6., 14. 6., 3. 7., 18. 7. a 8. 8.2007. Při každém měření, po ustálení podmínek uvnitř měřicí komůrky, byly měřené hodnoty automaticky zaznamenávány po dobu 10-15 min v intervalu 1 min. Jako optimální byla nastavena teplota 25°C. Hustota ozáření byla nastavena na 600 nm. Od vzcházení rév až do zahájení sklizně byly rostliny chmele pravidelně sledovány a hodnoceny. Obsah alfa hořkých kyselin byl stanoven konduktometricky a udává se jako konduktometrická hodnota v procentech (KH). Výnos chmele je uveden jednak v tunách čerstvého chmele na ha, jednak po usušení v tunách suchého chmele na ha (přepočítáno na 10% vlhkost chmele).

Porost chmelnice byl vysázen na podzim roku 2006 (23.10.2006). Výsadba proběhla za relativně příznivých (mírně sušších) povětrnostních podmínek. Do ručně vyhloubených jamek (35 cm) jsme zapravili kompost. Po vysázení a zahrnutí chmelové sadby (kořenáčů) jsme na povrch přidali malou vrstvu mulče pro lepší provzdušnění a jímání vláhy. Z každé rostliny byly vedeny v průměru dva chmelové výhony na jeden chmelovod. Ve vegetačním období 2007 byly kromě řezu provedeny běžné agrotechnické zásahy. Přehled hlavních pěstebních opatření je popsán v tabulce 1.

Tab. 1. Přehled hlavních pěstebních opatření

4.5.	drátkování - jeden chmelovod ke každé rostlině.
15.5.	plečkování meziřadí a pletí v řadech
18.5.	zavádění - 2 výhony na jeden chmelovod + SA 300 kg/ha
23.5.	postřik proti svilušce chmelové (Nissorun 10 WP 0,05%)
1.6.	plečkování meziřadí a pletí v řadech
6.6.	plečkování meziřadí a pletí v řadech, opravné zavádění
11.6.	postřik proti svilušce chmelové (Ortus 5 SC 0,125%)
14.6.	postřik proti peronospoře chmelové + stimulace růstu (Aliette Bordeaux 0,4% + Lexin 0,25 l/ha), odstranění přebytečných chmelových výhonů
16.7.	plečkování meziřadí
17.7.	pletí v řadech + přihnojení LV 250 kg/ha, mělká priorávka řadů
18.7.	dotáčení odkloněných hlav zavedených chmelových rév
23.7.	postřik proti mšici chmelové + stimulace růstu (Karate Zeon 5 CS 0,02% + Lexin 0,25 l/ha)
08.8.	postřik proti svilušce chmelové (Omite 30 W 0,2%)
24.- 26. 8.	ruční sklizeň chmele

Tab. 2. Výsledky agrochemického rozboru půdy

pH	P (mg/kg)	K (mg/kg)	Mg (mg/kg)	Ca (mg/kg)	humus (%)	hmot. poměr K/Mg
7,5 A	103 D	288 D	245 D	7548 VV	2,8 S	1,2

VÝSLEDKY

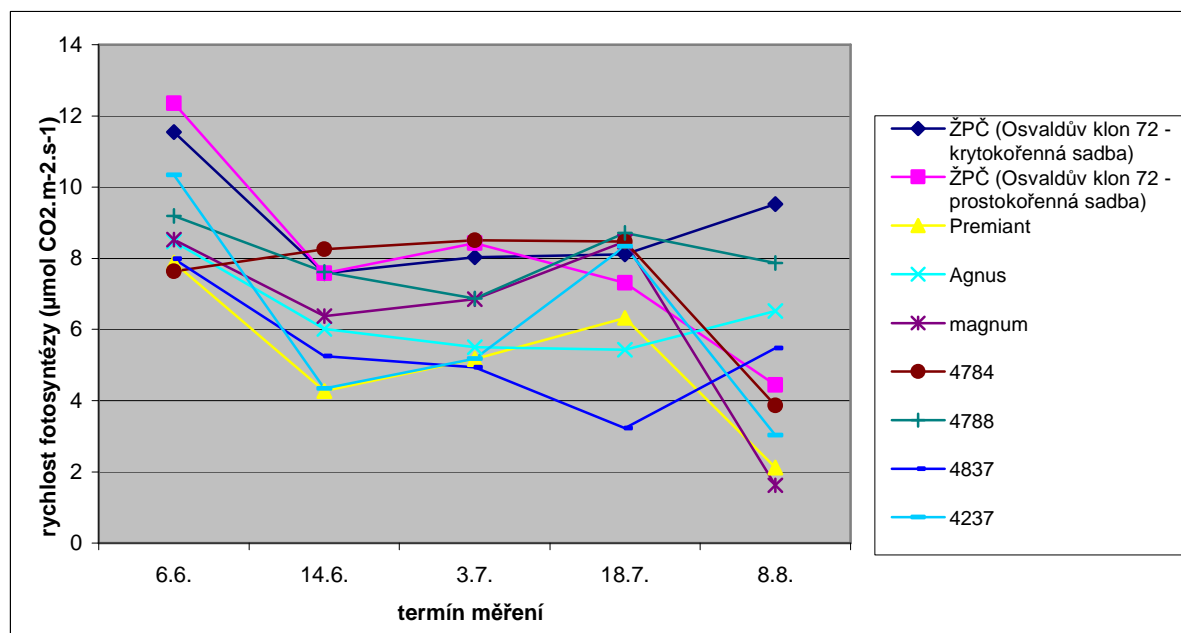
Vegetační pozorování

Porost chmele jsme v prvním roce výsadby hodnotili jako dobrý. Odrůdy ŽPČ, Premiant, Agnus, 4788, 4784, dorostly výšky stropu konstrukce, odrůda Magnum a novošlechtění č. 4837 a 4237 dorostly pouze do ¾ výšky konstrukce. Habitus rostlin byl u většiny odrůd válcovitý, až na odrůdy ŽPČ a 4784, které měly habitus válcovitý až boudovitý. U posledně jmenovaných odrůd byla také pozorována lepší růstová kondice. Vzhledem ke skutečnosti, že byl porost zakládán na podzim loňského roku, nebyl prováděn řez chmele. Částečně i z důvodu neřezu byl porost ve většině případů velmi nevyrovnaný. Pouze u ŽPČ z krytokořenné sadby jsme zaznamenali pozdější nástup dlouhivého růstu cca o 10 dní, a jeho dobrou vyrovnanost. U rostlin z této sadby jsme rovněž zjistili vyrovnanější nástup pazochování, hlávkování, kvetení i technické zralosti. Mírně nižší, avšak přesto dobrou vyrovnanost jsme také pozorovali u odrůdy 4784. U ŽPČ z prostokořenné sadby jsme zaznamenali vysoké procento chybějících (odumřelých) rostlin, přičemž rostliny odumíraly také u novošlechtěnců č. 4784 a 4237. Vyššího procenta chybějících rostlin u prostokořenné sadby ŽPČ bylo zřejmě způsobeno horší kvalitou sadby.

Fyziologická měření

Rychlost fotosyntézy byla měřena v 5 termínech. Termíny byly voleny v závislosti na fenologických fázích chmelových rostlin. Rychlost fotosyntézy v průběhu vegetace je zaznamenána v grafu č. 1. Průměrné hodnoty rychlosti fotosyntézy jsou uvedeny v tabulce 3.

Graf 1. Průměrné rychlosti fotosyntézy sledovaných odrůd chmele během vegetace



Tab. 3. Rychlost fotosyntézy v $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$

Termín měření	6.6.	14.6.	3.7.	18.7.	8.8.
ŽPČ (krytokořenná sadba)	11,55	7,58	8,03	8,11	9,52
ŽPČ (prostokořenná sadba)	12,36	7,58	8,43	7,31	4,44
Premiant	7,88	4,27	5,17	6,33	2,13
Agnus	8,47	6,01	5,5	5,43	6,52
Magnum	8,53	6,38	6,86	8,47	1,62
4784	7,64	8,26	8,51	8,47	3,87
4788	9,19	7,62	6,87	8,71	7,87
4837	7,99	5,25	4,94	3,23	5,47
4237	10,34	4,34	5,18	8,34	3,03

Z grafu 1 a z hodnot tab. 3 jsou patrné rozdíly v rychlosti fotosyntézy mezi odrůdami a termíny měření. S ohledem na termíny měření můžeme konstatovat, že nejvyšší rychlost fotosyntézy, až na odrůdu č. 4784, byla zaznamenána v období počátku června. Dne 6. 6.2007 byla nejvyšší okamžitá rychlost fotosyntézy zjištěna u ŽPČ (Osvaldův klonu 72 – prostokořenná sadba - $12,36 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). Naopak nejnižší okamžitou rychlost fotosyntézy jsme zjistili u odrůdy č. 4784 ($7,64 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). V polovině června, zřejmě následkem výrazného přisušku a nadnormálních teplot rychlost fotosyntézy klesla téměř u všech sledovaných odrůd. Výjimku tvořila odrůda 4784, která vykazovala velmi vyrovnanou výši fotosyntézy po celé sledované období, až do začátku srpna kdy výrazně klesla. Na začátku července se rychlost fotosyntézy příliš nelišila od předešlého období. Podobný trend rychlosti fotosyntézy u odrůd ŽPČ (Osvaldův klon 72 – krytokořenná sadba), Agnus, 4784, jsme zaznamenali i v polovině července. U odrůd Premiant, Magnum, č. 4788 a 4237 rychlost fotosyntézy vzrůstala v rozmezích od $1,16$ do $3,16 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, ale u odrůdy ŽPČ (Osvaldova klonu 72 – prostokořenná sadba) a č. 4837 rychlost fotosyntézy klesala. Velmi rozdílný průběh rychlosti fotosyntézy vykazovalo poslední měření (8. 8.2007), kdy u odrůd ŽPČ (Osvaldův klon 72 – prostokořenná sadba), Premiant, Magnum, 4784 a 4237 se rychlost fotosyntézy rapidně snížila. Například odrůda Magnum v tomto termínu vykazovala nejnižší hodnotu rychlosti fotosyntézy za celé sledované období ($1,62 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). Opakem byly odrůdy ŽPČ (Osvaldův klon 72 – krytokořenná sadba), Agnus a č. 4837, u nichž se rychlost fotosyntézy mírně zvýšila.

Z dosažených výsledků vyplývá, že nejvyšší průměrnou rychlost fotosyntézy za celé vegetační období měla odrůda ŽPČ (Osvaldův klon 72 – krytokořenná sadba $8,95 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). Současně lze konstatovat, že rychlost fotosyntézy u této odrůdy nevykazovala výrazné výkyvy vlivem změn v průběhu počasí během vegetace. Výsledky proto naznačují dobrou adaptabilitu fotosyntetického aparátu této odrůdy ke změně povětrnostních podmínek. Absolutně nejvyšší okamžitou rychlost fotosyntézy jsme zjistili rovněž u této odrůdy chmele, avšak z prostokořenné sadby ($12,36 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ dne 6. 6.2007). Odrůda chmele z této sadby vykazovala obdobně vyrovnaný průběh rychlosti fotosyntézy jako stejná odrůda z krytokořenné sadby. Průměrná hodnota rychlosti fotosyntézy za sledované období byla však nižší než u odrůdy z krytokořenné sadby, protože při posledním měření u prostokořenné

sadby poklesla rychlost fotosyntézy až na hodnotu $4,44 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Důsledkem bylo časnější ukončování intenzivního růstu chmelových rostlin z prostokořenné sadby, což vypovídá o diametrálně odlišné vitalitě sadby totožné odrůdy ŽPČ od dvou různých producentů, a to ve prospěch krytokořenné sadby dodané.

Odrůda Premiant vykazovala nejnižší průměrnou rychlost fotosyntézy ($5,16 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). U této odrůdy jsme rovněž pozorovali velkou nevyrovnanost rychlosti fotosyntézy. U odrůd Agnus, Magnum a 4237 se průměrná hodnota rychlosti fotosyntézy ve sledovaném období příliš neměnila ($6,39$, $6,37$ a $6,25 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). Při posledním měření se však u odrůdy Magnum hodnota rychlosti fotosyntézy snížila na nejnižší dosaženou hodnotu ($1,62 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 8. 8.2007). Odrůda č. 4784 měla průměrnou rychlost fotosyntézy za sledované období $7,35 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, odrůda č. 4788 - $8,05 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ a odrůda 4837 - $5,38 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$.

Výnos a obsah alfa hořkých kyselin

Výnosy jsou uvedeny v tabulce 4 a obsahy alfa hořkých kyselin v tabulce 5.

4. Výnosy v t/ha suchého a čerstvého chmele

	ŽPČ (krytokořenná sadba)	ŽPČ (prostokořenná sadba)	Premiant	Agnus	Magnum	4784	4788	4837	4237
t/ha (čerstvého chmele)	3,90	2,80	3,15	3,53	2,22	3,56	2,18	1,57	3,78
t/ha (suchého chmele, 10% vlhkost)	1,11	0,79	0,89	1,00	0,63	1,01	0,62	0,45	1,07

5. Obsahy alfa hořkých kyselin u jednotlivých odrůd

	ŽPČ (krytokořenná sadba)	ŽPČ (prostokořenná sadba)	Premiant	Agnus	Magnum	4784	4788	4837	4237
% KH v sušině	6,20	6,85	10,60	10,50	9,65	10,55	8,65	4,90	3,25

Z hlediska výnosu nejlepšího výsledku dosáhla odrůda ŽPČ (Osvaldův klon 72 – krytokořenná sadba), a to $1,11 \text{ t/ha}$ (suchého chmele) s relativně vysokým obsahem alfa hořkých kyselin $6,2 \%$ (jedná o odrůdu jemně aromatickou). Stejná odrůda ŽPČ, ale z prostokořenné sadby dosáhla sice vyššího obsahu KH - $6,85\%$, s tím rozdílem, že výnos byl o cca $0,3 \text{ t/ha}$ nižší oproti odrůdě z krytokořenné sadby. Rozdíly ve výnosu a obsahu KH vhodným způsobem dokresluje výše zmíněná rychlost fotosyntézy. Velmi dobrého výnosu dosáhlo i novošlechtění 4237 s výnosem $1,07 \text{ t/ha}$, ale s výrazně nižším obsahem alfa hořkých kyselin ($3,25 \%$). Třetí nejlepší výnos vykazovala odrůda 4784, a to $1,01 \text{ t/ha}$. Tato odrůda se vyznačovala vysokým obsahem alfa hořkých kyselin ($10,55 \%$) a může se proto řadit do skupiny odrůd obsažnějších. U novošlechtěnců 4788 a 4837 jsme zaznamenali nízký až velmi

nízký výnos (0,62 a 0,45 t/ha), přičemž odrůda 4788 měla obsah alfa hořkých kyselin 8,65 % a odrůda 4837 dosáhla 4,90 % KH, tj. druhého nejnižšího obsahu alfa hořkých kyselin.

Odrůdy Premiant a Agnus v našich pokusech z hlediska výnosu nepřesahovaly průměrné hodnoty. Z hlediska obsahu KH se tyto odrůdy řadí mezi hořké (Premiant) až vysokoobsažné (Agnus), přičemž odrůda Agnus měla dle propozic šlechtitele dosáhnout vyššího obsahu KH.

Zklamáním byla i zahraniční (SRN) odrůda Magnum, která poskytla výnos 0,63 t/ha a obsahem alfa hořkých kyselin (9,65 %) nespĺnila parametry vysokoobsažných chmelů, mezi které se řadí.

ZÁVĚR

Na základě získaných výsledků lze konstatovat, že průměrná rychlost fotosyntézy za sledované vegetační období byla nejvyšší u Žateckého poloraného červeňáku – (Osvaldův klon 72 - krytokořenná sadba). Lze tedy říci, že z námi sledovaných odrůd má ŽPČ v našich podmínkách nejlepší schopnost zužitkovat fotosyntetickou energii během vegetace, což potvrzuje i nejvyšší výnos ze všech sledovaných odrůd, tj. 1,11 t/ha, s relativně vysokým obsahem alfa hořkých kyselin. Proto se ŽPČ právem řadí mezi tradiční a nejpěstovanější odrůdy v ČR. Dále je třeba připomenout, že kvalita sadby má velmi významný vliv na produktivitu založeného porostu chmele. Z novošlechtěnců se z hlediska výnosu ukazuje jako perspektivní odrůda 4237, a rovněž odrůda 4784, přičemž odrůda 4784 dosahuje relativně vysoké konduktometrické hodnoty (10,55 %). Poznamenáváme, že výsledky jsou zatím jednoleté a je třeba k nim přistupovat s určitým nadhledem.

LITERATURA

Čepička J., Karabín M.: Polyphenolic compounds of beer natural antioxidants, Chemické listy 96 (2): 90-95 2002

Nesvadba, V.: Rajonizace hybridních genotypů chmele, Výroční zpráva za rok 1999, Chmelařství, 2000 (9-10), s. 107-113

Pastyřík, V.: Vliv přírodních podmínek na výkonnost chmelových odrůd. Kandidátská disertační práce, 1973.

Vent, L.- Kloub, V.: Provozní várky s českými odrůdami chmele, Chmelařství, 1998 (6), s. 78-79.

QUASSIA AMARA IN THE FIGHT AGAINST APPLE SAWFLY

QUASSIA AMARA V BOJI PROTI PILATCE JABLEČNÉ

Psota V.

Department of Zoology, Fisheries, Hydrobiology and Apiculture, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xpsota@node.mendelu.cz

ABSTRACT

During May 2008 the efficacy of extract from tropical shrub wood *Quassia amara* L. against sawfly (*Hoplocampta testudinea*) were evaluated. Trial was located in apple orchard (variety Idared) in south Moravia. It was small-plot trial with five variants each has four replications. Control variant was treated only with water (400 l.ha⁻¹). Four variants with leach from *Quassia amara* had following dosages 3 kg.ha⁻¹; 4,5 kg.ha⁻¹; 2 × 3 kg.ha⁻¹ (after five days) and 9,25 kg.ha⁻¹. The highest efficacy was achieved with 9,25 kg.ha⁻¹ – 65,45%, followed by 4,5 kg.ha⁻¹ - 58,01%; 3 kg.ha⁻¹ – 55,02% and 2 × 3 kg.ha⁻¹ – 37,96%. All trial variants were statistically different from control variant.

Key words: apple orchard, sawfly, quassia amara, quassin, extract, hoplocampa testudinea

ÚVOD

Pilatka jablečná (*Hoplocampa testudinea*, Klug 1814) škodí v jarním období na vyvíjejících se plodech. Žír housenic probíhá buď těsně pod slupkou a na takovémto plodu se pak tvoří korkovitá jizva čímž je snížena tržní kvalita. Nebo se housenice prokousává až do jádřince a v tomto případě plod opadá.

Dorostlé housenice pilatek přezimují v půdě a kuklí se na jaře. Dospělci se líhnou před květem jabloní. Samičky kladou po jednom vajíčku do stěny číšek jabloňových květů pod kališní plátky (HLUCHÝ & kol., 2008). V závislosti na teplotě klade jedna samice 20 a více vajíček, avšak byl zaznamenán případ, kdy jedna samice kladla 51 vajíček (GRAF & kol., 2001).

Škody lze omezit výběrem méně náchylných odrůd, přičemž nejčastěji napadané jsou rané odrůdy jako Idared, James Greave, Vista Bella apod. (HLUCHÝ & kol., 2008). V integrované a konvenční produkci lze v současné době použít dva registrované přípravky na bázi účinných látek Thiacloprid a Chlorpyrifos-methyl (SRS, 2008). V ekologickém zemědělství nemají čeští ovocnáři k dispozici žádný přípravek. Ve Švýcarsku byl vyvinut přípravek Quassan na základě laboratorně připraveného z rostliny *Quassia amara*. Tento přípravek se běžně používá ve Švýcarsku a Německu. Pro českého ekozemědělce je však finančně nedostupný.

Amargo (*Quassia amara* L.) je 2 – 6 metrů vysoký tropický keř původem z Jižní Ameriky. Ve dřevě tohoto keře se nachází silně hořký diperten lakton quassin, který má velmi široké insekticidní účinky (RAINTREE NUTRITION, 1996). Dle nařízení rady EHS č. 2092/91 o ekologickém zemědělství je *Quassia* povolena v tomto systému jako pomocná látka na ochranu rostlin (MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ ČR, 2007).

V roce 2004 proběhly dva pokusy s přípravkem Quassan v organickém pěstování švestek proti pilatce švestkové (*Hoplocampa minuta*) v Norsku. Přípravek Quassan dosáhl v rámci těchto pokusů podobné účinnosti jakou mají běžné chemické insekticidy registrované proti pilatce (JAASTAD & kol., 2007).

Pro účely organického pěstování jabloní byl zkoušen standardizovaný extrakt quassinu proti pilatce jablečné (*Hoplocampa testudinea*) v Německu. Z pokusů provedených v letech 2002-2004 se jeví jako optimální dávka 6 g/ha/m výšky stromu. S touto dávkou bylo dosaženo účinnosti okolo 80 a více %. Poměrně dobré účinnosti dosahovala i nižší dávka 4 g/ha/m výšky stromu (KIENZLE & kol., 2006).

Jako alternativa komerčně vyráběných přípravků se pro biopěstitele jeví příprava extraktu na základně znalosti průměrného obsahu quassinu ve dřevě rostliny *Quassia amara*.

MATERIÁL A METODIKA

Pokus probíhal v jabloňovém sadě na jižní Moravě, okres Břeclav. Na ploše zvolené pro pokus byla pěstována odrůda Idared ve sponu 3 × 4,5 m (740 stromů na hektar).

Od začátku dubna probíhal monitoring výskytu dospělých pilatek pomocí bílých lepových desek. Ve druhé dekádě dubna byli zaznamenáni první jedinci v lepových pastech, k největšímu náletu do pastí však docházelo až v první polovině třetí dekády. Ve dnech 24. a

25. dubna probíhal odchyt dospělých pilatek pomocí sklepávadla, odchycené kusy pak byly krátkodobě skladovány v prodyšných plastových krabičkách.

Pro potřeby výzkumu byly využity monofilové izolátory o délce 1,35 m a obvodu 1,4 m. Dne 25. dubna byl v dopoledních hodinách založen samotný pokus. Monofilové izolátory byly umístěny na rozkvetlé letorosty (obr. 1) a do každého byly umístěny dvě samice a jeden samec pilatky jablečné. Izolátor byl pak provázkem uzavřen tak, aby pilatky nemohly uniknout. Pokus byl rozdělen do pěti variant, vždy po čtyřech opakováních (varianta = 4 izolátory). Jedna varianta byla kontrolní, tři byly ošetřeny jednorázově různou koncentrací postřiku a jedna varianta byla ošetřena dvakrát v rozmezí 5 dnů.



Obr. 1. Letorost s monofilovým izolátorem

Dne 29.4. byly izolátory odstraněny a pokusné letorosty byly označeny žlutou deskou. V tento den bylo také z pokusných letorostů odebráno 30 květů pro sledování vývoje vajíčka.

K přípravě výluhu bylo použito dřevo rostliny *Quassia amara*, ze dvou zdrojů. Jednak to byla hrubší štěpka (firma Biokeller, Německo; obr. 2) a pak velmi jemný prášek (firma Schacht, Německo, obr. 3).



Obr. 2 Dřevní štěpka keře *Q. amara*



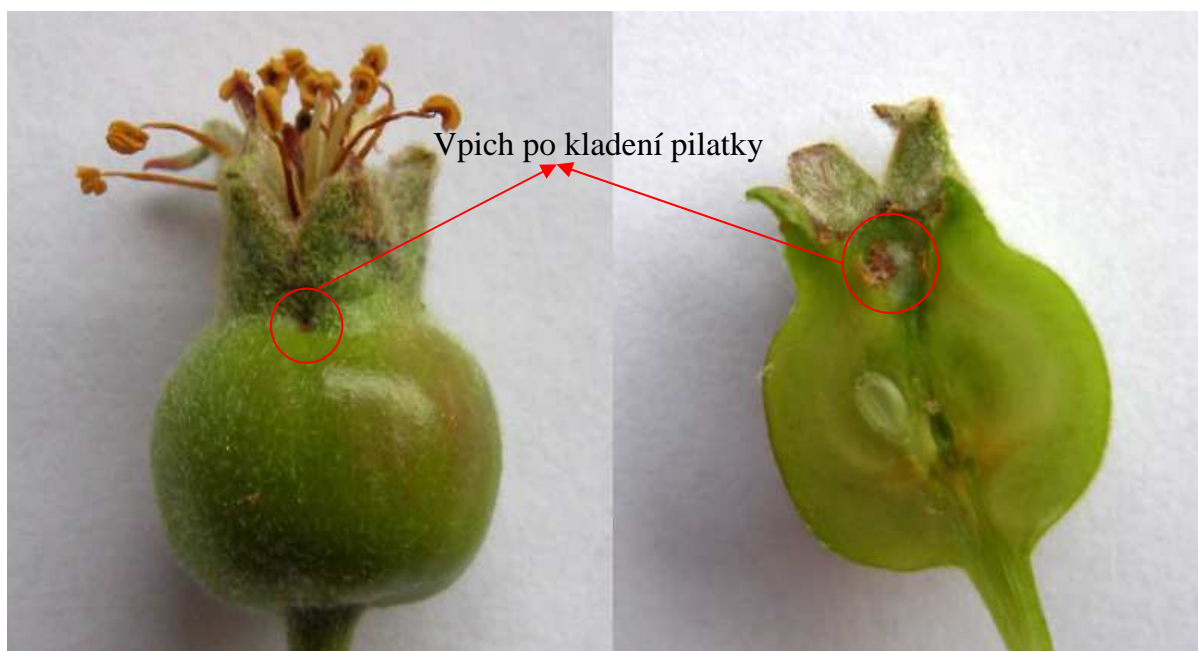
Obr. 3. Dřevní prách keře *Q. amara*

Dne 5. května bylo dle sledování vývoje ve vajíčku zjištěno, že 70 % housenic se nachází v posledním stádiu těsně před líhnutím. Toto stádium lze rozlišit pomocí binokulární lupy – housenice ve vajíčku se hýbe, má již patrné oči a tělní struktury lze dobře rozlišit (LÁNSKÝ, 2005). Na základě tohoto zjištění byla dne 6. května zahájena příprava výluhu. Ve dvou litrech odstáté vody bylo hodinu pozvolna vařeno 100 gramů štípanky (firma Biokeller). Druhý výluh byl připraven na základě návodu, který firma Schacht (obr. 4) přikládá k prášku ze dřeva rostliny *Quassia amara*. Tento prášek byl tedy půl hodiny vařen v odstáté vodě. Oba dva byly ponechány 24 hodin odstát.



Obr. 4. Maloobchodní balení dřevní prachu *Q. amara* od firmy Schacht

Následujícího dne, tedy 7. května byl v ranních hodinách proveden postřik ručním motorovým postřikovačem. Postřik byl rozdělen do pěti variant s tím, že každá měla čtyři opakování. Kontrolní varianta byla ošetřena pouze dávkou vody v množství $400 \text{ l} \cdot \text{ha}^{-1}$ spolu



Obr. 5. Plod s vpichem po kladení pilatky

se smáčedlem Silwett v dávce $0,1 \text{ l} \cdot \text{ha}^{-1}$. Pro pokusné varianty byly stanoveny dávky quassia dřeva v množství $3 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$, $4,5 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ a $2 \times 3 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ v rozmezí pěti dnů. Při výpočtu dávky se vycházelo z toho, že dle stáří a tloušťky letorostu kolísá obsah quassinu ve dřevě v rozmezí od 0,14 % do 0,28 % (VILLALOBOS & KOL., 1999). V případě odvaru z prášku quassia dřeva od firmy Schacht byla dávka stanovena dle návodu firmy v množství $9,25 \text{ kg} \cdot \text{ha}$. Při stanovování dávky bylo kalkulováno s počtem stromů na hektaru, tedy bylo vypočítané množství dřeva na připadající na jeden strom.

Dne 12. května byl proveden postřik dvojnásobné varianty dávkou $3 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$. Ve stejný den, byly odstřiženy pokusné letorosty z kontrolní a jednoaplikačních variant. Ve dnech 12. - 13. května proběhlo vyhodnocení napadení plodů na odstřižených letorostech. V rámci každého opakování byl spočítán celkový počet plodů na pokusném letorostu. Dále bylo

zjištěno množství plodů, do kterých kladla pilatka vajíčko, což se pozná podle vpichu v oblasti kalichu (obr. 5). V rámci plodů, do kterých pilatka kladla, byl stanoven počet těch, kde vylíhnutá housenice způsobila škodu, což lze poznat podle typické jizvy (obr. 6).

Dne 16.5. byly odstříženy letorosty na variantě se dvěma ošetřeními a ve stejný den proběhlo i vyhodnocení této varianty.

V rámci každé varianty byl u zjištěných hodnot stanoven průměr. Podíl průměrného množství housenic, které způsobily škodu, ku celkovému počtu plodů s vpichem po kladení pilatky představoval populaci housenic pilatek po ošetření.

Účinnost výluhu byla stanovena podle Abbotta:

$$\text{účinnost \%} = \left(1 - \frac{\text{populace škůdce na ošetřené variantě po postřiku}}{\text{populace škůdce na kontrolní variantě po postřiku}}\right) \times 100.$$

VÝSLEDKY A DISKUSE

Dle analýzy variance má dávka vysoce statisticky průkazný vliv na množství poškozených plodů pilatkou jablečnou, což svědčí o tom, že výluh je účinný na housenice pilatek (tab. 2). LSD testem, bylo statisticky prokázáno, že všechny čtyři dávky se statisticky průkazně liší od kontroly (tab. 3).

Dávky 3; 4,5 a 9,25 kg.ha⁻¹ se od sebe statisticky neliší (tab. 3), avšak v případě 9,25 kg.ha⁻¹ může být výsledek zkreslen nižším množstvím plodů v této variantě (tab. 1), což bylo pravděpodobně způsobeno chybným výběrem letorostů při zakládání pokusu.



Obr. 6. Plod s jizvou po žíru

Nejvyšší účinnosti bylo dosaženo v případě dřeva v podobě prachu v dávce 9,25 kg.ha⁻¹ a to 65,45 % (obr. 4.). Překvapivě nejnižší účinnost byla zjištěna u dvojjaplíkační varianty 2 x 3 kg.ha⁻¹. Jednoaplíkační varianty v dávkách 3 a 4,5 kg.ha⁻¹ dosáhly 55,02 a 58,01% účinnosti (obr. 4.).

Jelikož lze předpokládat, že v den postřiku byla část housenic pilatek zažraných uvnitř plodu je pravděpodobné, že tyto housenice účinku postřiku unikly. Pokud by tedy byl postřik proveden o den či dva dříve, bylo by pak zřejmě dosaženo vyšší účinnosti.

Varianta	Opakování	Plůdky	Vpichy	Jizvy	Populace pilatky
Kontrola	1	73	51	32	0,568
	2	81	54	25	
	3	81	64	40	
	4	153	90	50	
	celkem	388	259	147	
	průměr	97	64,75	36,75	
2 x 3 kg.ha ⁻¹	1	76	67	27	0,352
	2	59	30	5	
	3	102	72	27	
	4	116	61	22	
	celkem	353	230	81	
	průměr	88,25	57,5	20,25	
3 kg.ha ⁻¹	1	59	45	6	0,255
	2	166	84	29	
	3	61	48	8	
	4	89	58	17	
	celkem	375	235	60	
	průměr	93,75	58,75	15	
4,5 kg.ha ⁻¹	1	112	57	5	0,238
	2	44	35	10	
	3	100	65	16	
	4	117	78	25	
	celkem	373	235	56	
	průměr	93,25	58,75	14	
Schacht 9,25 kg.ha ⁻¹	3	76	52	9	0,196
	2	42	26	11	
	1	28	13	2	
	20	96	62	8	
	celkem	242	153	30	
	průměr	60,5	38,25	7,5	

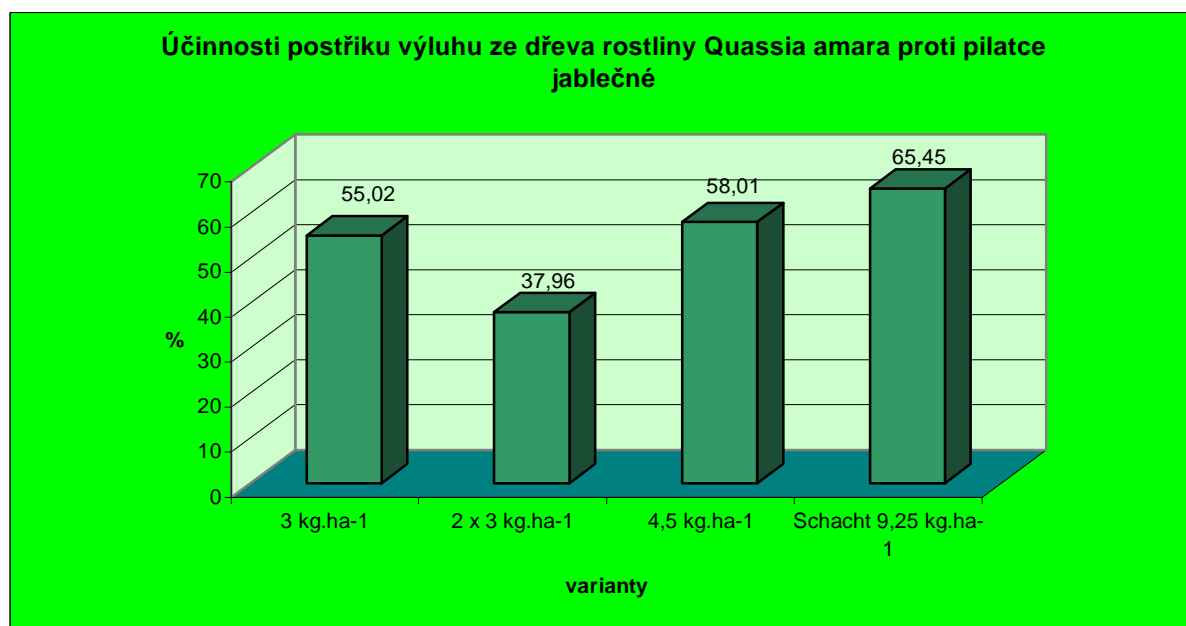
Tab. 1. Získaná data

ANOVA	Součet Čtverců	d.f.	průměr čtverců	F	p	
dávka	19,1732	4	4,79329	23,8063	0,000000	***
opakování	0,4258	3	0,14193	0,7049	0,549145	
dávka*opakování	7,2185	12	0,60154	2,9876	0,000399	***
Chyba	219,8699	1092	0,20135			

Tab. 2. Analýza variance

	LSD - test	alfa=0,05
dávka	data	
Schacht	0,196078	a
4,5 kg.ha ⁻¹	0,238298	a
3 kg.ha ⁻¹	0,255319	a
2 x 3 kg.ha ⁻¹	0,352174	b
Konotrola	0,567568	c

Tab. 3. LSD - test



Obr. 7. Účinnost výluhu ze dřeva rostliny Quassia amara proti housenicím pilatky jablečné

ZÁVĚR

Na základě výsledků v předložené práci, lze usuzovat, že extrakt připravený ze dřeva keře *Quassia amara* by mohl být vhodný jako prostředek proti pilatce jablečné v ekologickém pěstování jabloní, ale i mimo něj (například v hobby zahrádkářství).

Jako optimální se jeví dávka dřeva 3 – 4 kg.ha⁻¹. Při stanovování dávky je dobré přihlídnout ke sponu, tedy k množství stromů na hektaru a případně také k hustotě koruny.

V dalším výzkumu by bylo dobré zpřesnit optimální dávku. Pokračovat by se také mělo na zpřesnění termínu ošetření a zjistit zda lze líhnoucí se housenice pokrýt jedním a nebo dvěma postřiky.

PODĚKOVÁNÍ

Za finanční a materiální podporu při zpracování tohoto pokusu děkuji firmě Biocont Laboratory, spol s r.o. Jmenovitě bych chtěl poděkovat Ing. Martinovi Bagarovi, Ph.D., který mi pomohl hlavně s technickou přípravou pokusu. Za bezplatné poskytnutí vzorku dřeva rostliny *Quassia amara* děkuji německé firmě Schacht.

LITERATURA

GRAF, B., HÖPLI, U. & HÖHN, H., 2001: The apple sawfly, *Hoplocampa testudinea*: Temperature effects on adult life-span and reproduction. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 98: 377-380.

JAASTAD, G., RØEN, D., BJOTVEIT, E & MOGAN, E., 2007: Pest management in organic plum production in Norway. *Acta Horticulturae*, 734: 193-199.

HLUCHÝ, M., ACKERMANN, P., ZACHARDA, M., LAŠTŮVKA, Z., BAGAR, M., JETMAROVÁ, E., VANEK, G., SZÓKE, L. & PLÍŠEK, B., 2008: Ochrana ovocných dřevin a révy v ekologické a integrované produkci. Biocont Laboratory spol. s r.o., Brno, 498 s.

KIENZLE, J., ZIMMER, J., MAXIN, P., RANK, H., BATHON, H. & ZEBITZ, C. P. W., 2006: Efficacy of Quassia extract on the apple sawfly *Hoplocampa testudinea* Klug, s. 239-242. In.: BOOS, MARKUS, (Eds.), 2006: Ecofruit - 12th International Conference on Cultivation Technique and Phytopathological Problems in Organic Fruit-Growing. Proceedings to the Conference from 31st January to 2nd February 2006 at Weinsberg/Germany.

LÁNSKÝ, M., 2005: Integrovaná ochrana ovoce v systému integrované produkce. Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský, Holovousy. 159 s.

MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ ČESKÉ REPUBLIKY, 2007: Nařízení rady (EHS) č. 2092/91 o ekologickém zemědělství a k němu se vztahujícím označování zemědělských produktů a potravin. Available at: <http://81.0.228.70/attachments/Zak242+NR2092_kons4-07_int-2_MB.pdf>.

RAINTREE NUTRITION, 1996: Tropical plant database. <last update 01-14-2007>. Available at: <<http://www.rain-tree.com/amargo.htm>>.

SRS, 2008: Seznam registrovaných přípravků. Státní rostlinolékařská správa. Available at: <[http://www.srs.cz/pls1/pp_public/rpg10a\\$rozh.querylist](http://www.srs.cz/pls1/pp_public/rpg10a$rozh.querylist)>

VILLALOBOS, R., MARMILLOD, D., OCAMPO, R., MORA, G. & ROJAS, C., 1999: Variations in the quassin and neoquassin content in quassia amara (Simaroubaceae) in Costa Rica: ecological and management implications. *Acta Horticulturae* 502: 369-376.

EFFECT OF MORPHOLOGICAL AND BIOLOGICAL CHARACTERS OF WEED COMPETIVENESS OF GENUS *TRITICUM* L.

VLIV MORFOLOGICKÝCH A BIOLOGICKÝCH ZNAKŮ NA KONKURENCESCHOPNOST VŮČI PLEVELŮM U VYBRANÝCH ZÁSTUPCŮ RODU *TRITICUM* L.

Šrámek J., Moudrý J.

Department of Agroecology, Faculty of Agriculture, University of South Bohemia in České Budějovice, Studentská 13, 37005 České Budějovice, Czech Republic

E-mail: sr.honza@email.cz, moudry@zf.jcu.cz

ABSTRACT

Regulation of weeds is not easy and smooth thing in organic farming system, because the methods of chemical regulation of weeds are limited by the restrictions and legislative regulations. The protection against weeds is based on the complex measures. Wheat has a weak root system. It is not too competitive to weeds. More competitive varieties must be chosen at the initial selection (wide root system, faster initial growth, higher rate of tillering, etc.) Einkorn, emmer wheat and spelta wheat are characterized by better ability of tillering, therefore, they are more competitive to weeds, even if the seeding rate or emergence are lower. Current methods of the evaluation of the rate of weeds on the fields are not exact. Each variety may be evaluated from the point of view of the morphological, biological and economic features. After that, the competitiveness of the variety to weeds may be evaluated too. Each feature is evaluated during the growing season (when the crop is growing on the field). These morphological characters were evaluated: tuft shape (BBCH 29), position of flag leaf (BBCH 51), length of plant (BBCH 69), length and width of flag leaf (BBCH 77) and length of the upper internode (BBCH 83). These biological characters were evaluated: growing season: initial growth – speed (BBCH 10-52), growing season: from sweeping stage till ripeness (BBCH 10-92) and lodging degree (BBCH 29 and BBCH 87). In the field trial were 9 varieties of 4 kind genus wheat (*Triticum* L.). There were 2 varieties of einkorn (*Triticum monococum* L.): Schwedisches einkorn (J1) and J2118 (J2); 2 varieties of emmer *Triticum dicocum* SCHUEBL): registered variety Rudico (D1) and Mestnaja (D2); 2 varieties of spelt (*Triticum spelta* L.): JŠ1 (Š1) and JŠ4 (Š2) and 3 varieties of wheat (*Triticum aestivum* L.) – 1 modern variety: SW Kadrlj (M), 1 obsolete: Jara (K) a land race: Postoloprtská land race (P). Each fields have area: 1,25 x 5 m (6,25 m²). Sowing rate was 350 grains/ m² for all varieties. During the growing season was taken the rate of weeds by the combined method (counting and weighting). Morphological and biological characters had the effect of dry matter contents above-ground part of plant and weeds. Lodging in later growth time have effect of dry matter increase of weeds. These varieties: Jara (K), Postoloprtská land race (P), SW Kadrlj (M) and Rudico (D1) had futhers points. The rate of weeds is

considerably reduced by a good selection of varieties which are competitive to weeds. We may avoid too high rate of weeds in such way.

Key words: wheat, weed, emmer, spelt, einkorn.

Acknowledgments: This work was supported by the NAZV QG 50034.

ÚVOD

Regulace plevelů není v ekologickém zemědělství jednoduchou záležitostí, protože využití metod chemické regulace plevelů je limitováno omezeními danými legislativními předpisy. Ochrana proti plevelům spočívá na celém komplexu přímých a nepřímých opatření.

Diagnóza zaplevelení je nezbytným předpokladem pro volbu účinné metody pro hubení plevelů ve sledovaném agroekosystému. Stanovení míry škodlivosti jednotlivých druhů plevelů v plodině je důležité zejména při rozhodování o použití účinného způsobu hubení. V plevelářském výzkumu a praxi je základní metodou zjišťování zaplevelení fytoocenologická analýza porostu jednotlivých kulturních rostlin a zastoupených plevelů (PETR, 1989).

Ke stanovení intenzity zaplevelení porostů kulturních rostlin i celkového výskytu jednotlivých druhů plevelů na ploše můžeme použít celkem 4 metody: metodu odhadovou, početní, váhovou a kombinovanou. Nejpřesnější z těchto metod je metoda kombinovaná. Je kombinací metody početní (vyjadřuje počet rostlin plevelů a plodiny) a metody váhové (udává poměr hmoty plevelů a kulturních rostlin). Z dosažených výsledků však nelze posoudit početní stav a nedostatečně se vyjadřuje zaplevelení jednotlivými druhy. Metoda kombinovaná je nejdokonalejší a nejobjektivnější, neboť vyjadřuje zaplevelení porostů a rozdělení plevelů po celém honu. Této metody se používá pro přesnější zjišťování zaplevelení, zvláště na menších pokusných plochách. Její nevýhodou je značná pracnost a vyžaduje dobré zkušenosti (HRON & KOHOUT, 1974).

Současné metody na hodnocení zaplevelení polních plodin jsou nepřesné. Jednotlivé odrůdy lze hodnotit podle morfologických, biologických a hospodářských znaků. Po vyhodnocení vybraných znaků lze predikovat konkurenceschopnost vůči plevelům dané odrůdy. Jednotlivé znaky se hodnotí během vegetace na poli.

MATERIÁL A METODIKA

V roce 2008 byl založen maloparcelkový pokus na ekologicky certifikovaném pozemku JU ZF V Č. Budějovicích. Do pokusu bylo zařazeno celkem 9 odrůd 4 druhů rodu pšenice (*Triticum* L.). Byly vybrány 2 zástupci pšenice jednozrnky (*Triticum monococum* L.): Schwedisches einkorn (J1) a J2118 (J2), 2 zástupci pšenice dvouzrnky (*Triticum dicoccum* SCHUEBL): právně chráněná odrůda Rudico (D1) a Mestnaja (D2), 2 zástupci pšenice špaldy (*Triticum spelta* L.): JŠ1 (Š1) a JŠ4 (Š2) a 3 zástupci pšenice seté (*Triticum aestivum* L.) – 1 moderní odrůda: SW Kadrij (M), 1 stará odrůda: Jara (K) a 1 krajová přesívka: Postoloprtská přesívka (P). Jednotlivé parcelky měly velikost 1,25 x 5 m (6,25 m²). Výsevek byl pro všechny zástupce 350 zrn/m². Předplodina byla vojtěška. Pokus byl ve dvojím opakování.

Během vegetace byly sledovány vybrané znaky, které byly vybrány z publikace „Šlechtění a hodnocení vhodnosti odrůd pšenice seté (*Triticum aestivum* L.) pro ekologické a low input systémy hospodaření.“ (Tab. 1). Ke zjištěným hodnotám byly přiřazeny body podle stupnice hodnocení jednotlivých znaků. Body za každou odrůdu byly následně sečteny.

Pokusné stanoviště v Českých Budějovicích je v bramborářské výrobní oblasti s nadmořskou výškou 388 m n. m. Klimatický region MT3 (mírně teplá oblast), půdní typ – kambidzem pseudoglejová, půdní druh – hlinitopísčítá. Průměrná roční teplota je 8,2 °C a průměrný úhrn ročních srážek je 620 mm.

Během vegetace bylo zaplevelení hodnoceno pomocí kombinované metody. Z každé parcelky ve třech vybraných růstových fázích (DC 29, DC 59 a DC 92) byla odebrána nadzemní hmota kulturní rostliny a plevelů z plochy 0,25 m². Rostliny pšenice byly zjištěny početně i hmotnostně. Plevelné druhy byly také určeny hmotnostně, určeny dle jednotlivých druhů a spočítány. Rostliny pšenice i plevelné rostliny se usušili v sušárně do konstantní hmotnosti ke zjištění sušiny.

Tab. 1: Hodnocené znaky

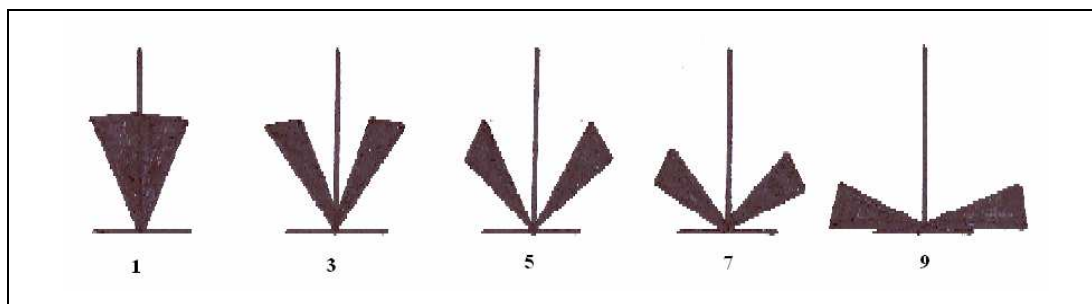
Morfologické znaky	
<i>Hodnocený znak</i>	<i>Termín DC</i>
Tvar trsu	23-39
Postavení praporcového listu	51
Délka rostliny	69
Délka praporcového listu	77
Šířka praporcového listu	77
Délka horního internodia	83
Biologické znaky	
Vegetační doba: růst počáteční - rychlost	10 – 59
Vegetační doba: metání až zrání	10 – 92
Stupeň poléhání	59, 87

VÝSLEDKY A DISKUZE

Tvar trsu se hodnotil ve fázi DC 29 (konec odnožování). V této fázi je vytvořeno maximální množství odnoží. Tvar trsu při odnožování zvyšuje konkurenceschopnost vůči plevelům v počátečních fázích růstu (KONVALINA *et al*, 2007).

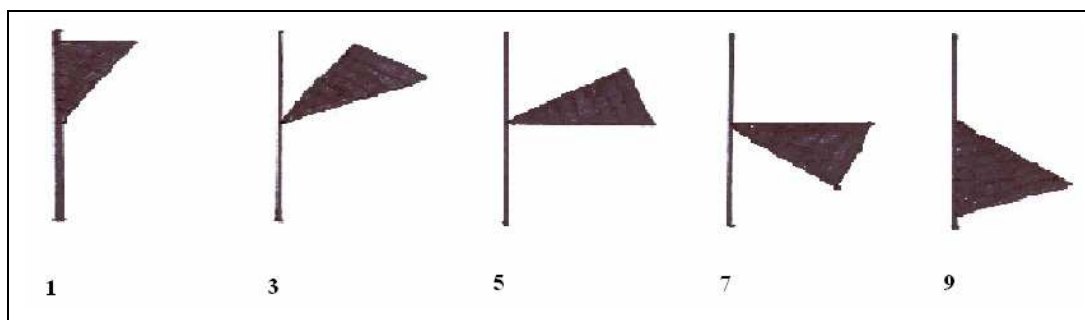
Hodnocení proběhlo podle obrázkového klíče (Obr. 1). Pro vyšší konkurenceschopnost vůči plevelům je vhodnější polovzpřímený a rozložený trs. Tento tvar trsu měly následující odrůdy: JŠ1 a JŠ4 (pš. špalda), Schwedisches einkorn a J2 (pš. jednozrnka), Mestnaja (pš. dvouzrnka), Postoloprtská přesívka (pš. setá). Ostatní odrůdy měly méně vhodný trs z hlediska jeho tvaru. V této fázi ve variantě pšenice dvouzrnky – odrůda Rudico byla zjištěn při hodnocení zaplevelení hmotnostní metodou nejvyšší procentický podíl sušina v nadzemní části plevelů.

Obr. 1: Hodnocení tvaru trsu (KONVALINA *et al*, 2007)



Dalším morfologickým znakem bylo hodnocení postavení praporcového listu v růstové fázi DC 51 (počátek metání). Hodnocení proběhlo také podle obrázkového klíče (Obr. 2). Pro zvýšení konkurenceschopnosti vůči plevelům je vhodnější vzpřímený až vodorovný praporcový list. Toto postavení listu absorbuje dostatek slunečního záření a vede k dostatečnému zastínění spodních pater porostu (KONVALINA *et al*, 2007). Vhodné postavení praporcového listu měly následující odrůdy: JŠ1 a JŠ4 (pš. špalda); Rudico a Mestnaja (pš. dvouzrnka); Postoloprtská přesívka a starší odrůda Jara (pš. setá).

Obr. 2: Hodnocení postavení praporcového listu (KONVALINA et al, 2007)



Délka rostliny se hodnotila v růstové fázi DC 69 (po odkvětu). Výška rostlin je udávána jako důležitý znak pro zvýšení konkurenční schopnosti vůči plevelům (GOODING et al., 1993). KUNZ, KARUTZ (1991); EISELE, KÖPKE (1997); MÜLLER (1998); KÖPKE (2005) poukazují na skutečnost, že vyšší odrůdy lépe konkurují. Rostlina plevel přeroste a zastíní spodní patra porostu. Pokud je rostlina nízká, tak je efekt opačný a plevel stíní kulturní rostlinu. Nejvhodnější je střední až vysoká délka rostliny (81 – 125 cm) (GOODING et al., 1993). Tato délka byla naměřena v obou opakování u dvou odrůd: Schwedisches einkorn (pš. jednozrnka) a moderní odrůdy SW Kadrijl (pš. setá). U následující odrůd byla vhodná délka naměřena pouze u jednoho opakování: JŠ1 (pš. špalda), J2 (pš. jednozrnka), a Jary (pš. setá). Ostatní odrůdy měly délky rostlin velmi vysokou. Příčinou bylo velké množství dusíku v půdě po předplodině vojtěšce. Velmi vysoké druhy mají vyšší náchylnost k poléhání.

Dalším hodnoceným morfologickým znakem byla délka a šířka praporcového listu. Měření a hodnocení obou znaků proběhlo v růstové fázi DC 77 (pozdně mléčná zralost). Dostatečně široký praporcový list zvyšuje konkurenceschopnost vůči plevelům z důvodu zastínění spodních pater porostu. Nejvhodnější je středně široký (1,6 – 2,1 cm), široký (2,2-2,7 cm) a velmi široký (>2,7 cm) praporcový list (KONVALINA et al, 2007). Tuto vhodnou šířku praporcového listu měly pouze odrůdy Rudico (pš. dvouzrnka) a Postoloprtská přesívka (pš. setá). Ostatní odrůdy měly úzký až velmi úzký praporcový list. Délka praporcového listu je nejvhodnější od 16 – 27 cm. Toto kritériu bylo u všech odrůd splněno.

Posledním hodnoceným morfologickým znakem byla délka horního internodia v růstové fázi DC 83. Délka horního internodia je nejvhodnější od 31 – 50 cm. Delší internodium může zvyšovat náchylnost rostliny k poléhání. Všechny hodnocené odrůdy měly délky horního internodia střední až dlouhou, kromě odrůdy Schwedisches einkorn (pš. jednozrnka). Horní internodium u této odrůdy bylo velmi dlouhé.

První hodnoceným biologickým znakem byla rychlost počátečního růstu. Tento znak se hodnotí počtem dnů od vzejití porostu (DC 10) do úplného vymetání (DC 59). Důležitý je rychlý růst rostlin v počátečních růstových fázích, který má vést k co nejrychlejšímu dosažení vysokých hodnot LAI (LAMMERTS van BUEREN, 2002). Rychlost vývoje rostliny a celého porostu ovlivňuje celkovou konkurenceschopnost vůči plevelům (KONVALINA, et. al 2007). Nejlepší konkurenceschopnost vůči plevelům mají jarní odrůdy se střední (72-73 dní) až velmi vysokou (69 dnů) rychlostí počátečního růstu. Střední až velmi vysokou rychlost

počátečního růstu měly následující odrůdy: JŠ1 a JŠ4 (pš. špalda); Postoloprtská přesívka, Jara a SW Kadrilj (pš. setá). Ostatní odrůdy měly rychlost počátečního růstu nízkou až velmi nízkou (74 – 79 dní).

Hodnocení vegetační doby vzházení až zrání se hodnotí od fáze DC 10 – DC 92. Ideální je odrůda raná. Pokud je odrůda raná, tak má větší konkurenční schopnost vůči plevelům. Ze souboru vybraných odrůd je kladně hodnocena pouze odrůda Schwedisches einkorn (pš. jednozrnka) jako odrůda se střední vegetační dobou. Ostatní odrůdy mají vegetační dobu velmi krátkou.

Posledním hodnoceným biologickým znakem je stupeň poléhání. Při poléhání v časných růstových fázích dochází k prorůstání plevelných rostlin porostem (KONVALINA, *et. al* 2007). Tento znak se hodnotil dvakrát během vegetace. První hodnocení proběhlo na konci metání ve fázi DC 59. U jednotlivých odrůd byla hodnocena intenzita a rozsah poléhání. Stupeň poléhání je vyjádřen jako kombinace těchto dvou hodnot. Ve dvou opakování byla odolná vůči poléhání odrůda Rudico (pš. dvouzrnka), Jara a SW Kadrilj (pš. setá). Odrůdy Š2 (pš. špalda), Schwedisches einkorn (pš. jednozrnka) a Postoloprtská přesívka (pš. setá) měly alespoň v jednom opakování dobrou odolnost vůči poléhání. Tento znak se hodnotil ještě ve fázi žluté zralosti (DC 87). V této fázi se stupeň poléhání hodnotil stejných způsobem. Ve dvou opakování byly odolné vůči poléhání stejné odrůdy jako na konci metání (DC 59), a to odrůda Rudico (pš. dvouzrnka), Jara a SW Kadrilj (pš. setá). Odrůdy, které měly ve fázi DC 59 jedno opakování vyhodnoceno jako odolné k poléhání, tak ve fázi DC 87 již nevykazovaly stejné výsledky a obě opakování byly polehlé.

Tab. 2: Hodnocené morfologické a biologické znaky - bodové hodnocení

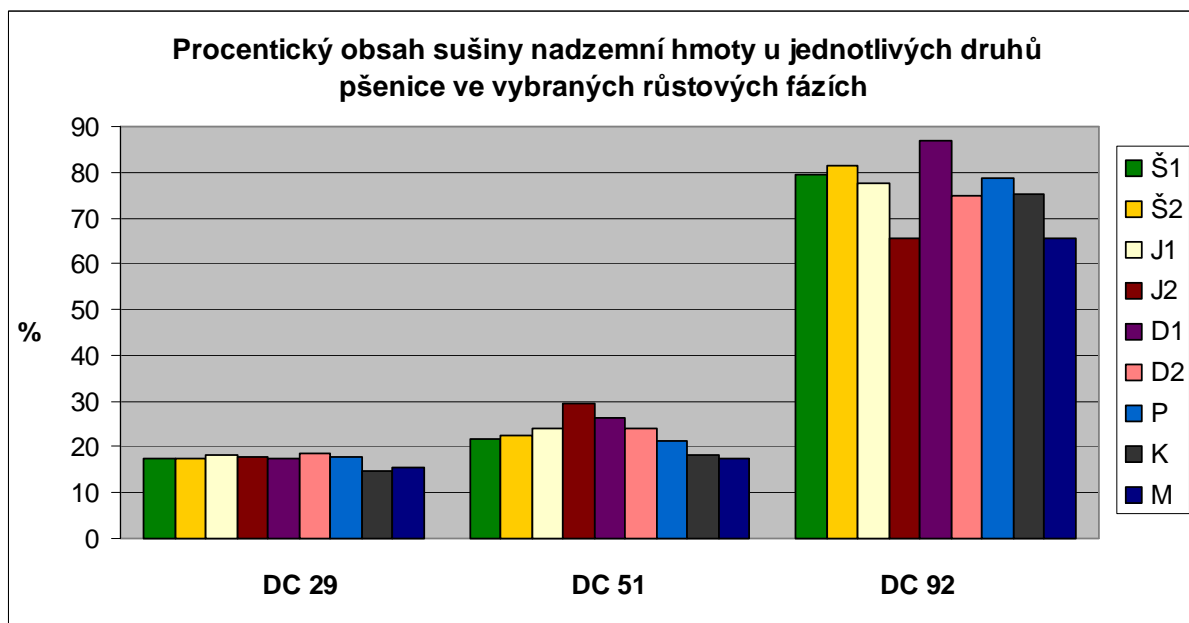
Druh pšenice	Morfologické znaky												Biologické znaky								Součet bodů - 2 opakování	Ø počet bodů – 1 opakování
	Tvar trsu DC 29		Postavení praporcového listu DC 51		Délka rostliny DC 69		Délka praporcového listu DC 77		Šířka praporcového listu DC 77		Délka horního internodia DC 83		Rychlost počátečního růstu DC 10 -59		Vegetační doba DC 10 -92		Stupeň poléhání DC 59		Stupeň poléhání DC 87			
	opak.		opak.		opak.		opak.		opak.		opak.		opak.		opak.		opak.		opak.			
	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.		
Š1	5	5	3	3	4	0	3	3	0	0	3	3	4	4	0	0	0	0	0	0	40	20
Š2	5	5	3	3	0	0	3	3	0	0	3	3	4	4	0	0	0	5	0	0	41	21
J1	5	5	0	0	4	4	3	3	0	0	0	0	0	0	4	4	0	5	0	0	37	19
J2	5	5	0	0	4	0	3	3	0	0	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	26	13
D1	0	0	3	3	0	0	3	3	3	3	3	3	0	0	0	0	5	5	5	5	44	22
D2	5	5	3	3	0	0	3	3	0	0	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	28	14
P	5	5	3	3	0	0	3	3	3	3	3	3	4	4	0	0	0	5	0	0	47	24
K	0	0	3	3	0	4	3	3	0	0	3	3	4	4	0	0	5	5	5	5	50	25
M	0	0	0	0	4	4	3	3	0	0	3	3	4	4	0	0	5	5	5	5	48	24

Během vegetace bylo zjišťováno zaplevelení pomocí kombinovanou metodou (početně i hmotnostně). V růstových fázích DC 29, DC 51 a DC 92 byla odebrána nadzemní biomasa pšenice a nadzemní biomasa plevelů z plochy 0,25 m². Biomasa byla usušena do konstantní sušiny a vypočítán procentický obsah sušiny. Z následující tabulky (Tab. 3) a grafů (Graf 1, Graf 2) jsou patrné rozdíly u některých odrůd mezi obsahem sušiny v nadzemní hmotě pšenice a plevelů. Nejvyšší nárůst sušiny mezi růstovou fází DC 51 a DC 92 byl u odrůdy Rudico. Tato odrůda měla 87 % sušiny v nadzemní hmotě pšenice. Naproti tomu u této odrůdy bylo největší snížení procentického podílu sušiny u plevelů mezi fázemi DC 51 a DC 92. Bylo to způsobeno zvýšením podílu sušiny u nadzemní části pšenice. U odrůdy Schwedisches einkorn (pš. jednozrnka) byl procentický obsah sušiny plevelů ve fázi DC 29 18,7 % a ve fázi DC 51 23,0 %. K většímu nárůstu podílu sušiny došlo až ve fázi DC 92 a to na 33,8 %. Tento nárůst byl způsoben zvýšením poléháním porostu mezi fázemi DC 51 a DC 92 a většímu růstu plevelů v porostu této odrůdy. Při polehnutí v pozdějších růstových fázích také dochází k prorůstání porostu plevelnými rostlinami, jako v porostu u odrůdy Schwedisches einkorn (pš. jednozrnka).

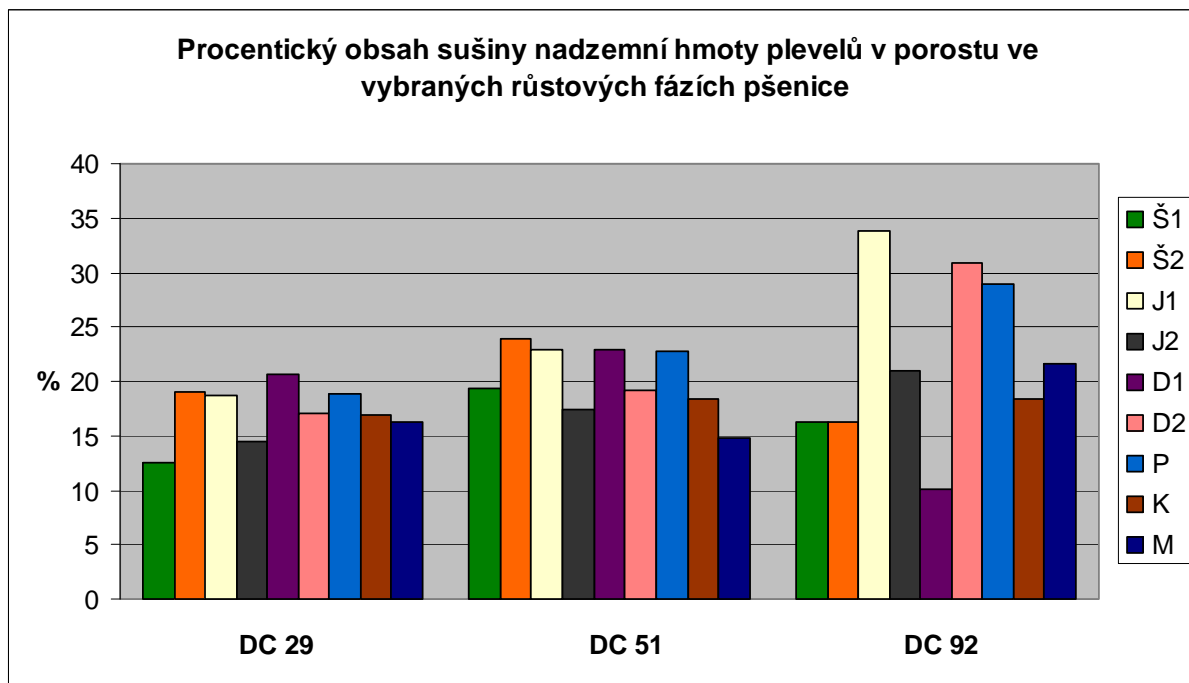
Tab. 3: Procentický podíl sušiny pšenice a plevelů v růstových fázích DC 29, DC 51, DC 92

Druh pšenice	Sušina nadzemní části pšenice [%]			Sušina nadzemní části plevelů v porostu [%]		
	DC 29	DC 51	DC 92	DC 29	DC 51	DC 92
Š1	17,6	21,9	79,6	12,6	19,3	16,3
Š2	17,4	22,6	81,5	19,0	23,9	16,3
J1	18,3	24,2	77,5	18,7	23,0	33,8
J2	18,0	29,5	65,5	14,4	17,4	20,9
D1	17,3	26,3	87,0	20,6	23,0	10,1
D2	18,6	24,2	74,7	17,1	19,2	30,9
P	17,9	21,4	78,7	18,8	22,7	28,9
K	14,9	18,3	75,1	16,9	18,4	18,4
M	15,7	17,6	65,4	16,3	14,8	21,7

Graf 1:



Graf 2:



ZÁVĚR

Regulace plevelů v ekologickém zemědělství má komplexní charakter, jehož cílem udržet plevele jako tzv. doprovodné rostliny v počtu, který nezpůsobuje významné ekonomické ztráty, resp. přispívá ke stabilitě agroekosystému.

Výběrem vhodné odrůdy s dobrou konkurenční schopností vůči plevelům lze předejít možnému zaplevelení porostu. Pro větší konkurenceschopnost vůči plevelům je důležité brzké zakrytí půdy v prvních fázích růstu. Vlastnosti spojené s velkou pokryvností půdy zahrnují rychlý a brzký růst, vysokou odnožovací schopnost a planofilní postavení listů s vysokým indexem listové plochy (LAI).

Pokud se v pozdějších fázích růstu zvyšuje procentický obsah sušiny nadzemní části pšenice, tak se snižuje procentický obsah sušiny v nadzemní části plevelů. U vysokých až velmi vysokých odrůd může dojít k poléhání. V tomto případě plevele prorostou porostem a začínají konkurovat kulturní rostlině, především zastíněním. U pozdních odrůd, pokud je porost řídký, dochází ke zvyšování procentického podílu sušiny nadzemní části plevelů. Porost nerovnoměrně dozrává, snižuje se kvalita zrna a dochází ke zhoršení sklizně.

LITERATURA

Eisele, J. A., Köpke, U. (1997): Choice of cultivars in organic farming: new criteria for winter wheat ideotypes, *Pflanzenbauwissenschaften*, 2: 84-89.

Gooding, M.J., Thompson, A.J., Davies, W.P. (1993): Interception of photosynthetically active radiation, competitive ability and yield of organically grown wheat varieties, *Asp App Biol*, 34: 355-362.

Hron, F., Kohout, V. (1974): *Polní plevele – Metody plevelářského výzkumu a praxe*, SPN, Praha, p. 224.

Konvalina, P., Zechner, E., Moudrý, J. (2007): Breeding and variety testing of bread wheat – *Triticum aestivum* L. for organic and low input farming, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích Zemědělská fakulta, České Budějovice, p. 132.

Köpke, U. (2005): Crop ideotypes for organic cereal cropping systems. In: Proceedings of the COST SUSVAR/ECO-PB Workshop on Organic Plant Breeding Strategies and the Use of Molecular Markers. 17.-19. January, Driebergen, The Netherlands, 13-16.

Kunz, P., Karutz, C. (1991): *Pflanzenzüchtung dynamisch. Die Züchtung standortpflangepasster Weizen und Dinkelsorten. Erfahrungen, Ideen, Projekten.* Forschungslabor an Goetheanum, Dornach, Switzerland, p. 164.

Lammerts van Bueren, E. T., et al. (2002): Ecological concepts in organic farming and their consequences for an organic crop ideotype. In: Lammerts van Bueren, E. T., Organic plant breeding and propagation: concepts and strategies. Ph.D. thesis Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, p. 38-61.

Müller, K. J. (1998): From word assortments to regional varieties. In: WIETHALER, C., WYSS, E. (Eds.). Organic plant breeding and biodiversity of cultural plants. NABU/FiBL, Bonn, 81-87.

Petr, J. (1989): *Rukověť agronoma*, SZN, Praha, p. 688.

FACTORS AFFECTING METABOLISM OF DAIRY COWS

FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ VNITŘNÍ PROSTŘEDÍ U SKOTU.

Balabánová M., Hrdina P., Zeman L.

Department of Animal Nutrition and Forage Production, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xbalaba1@node.mendelu.cz, zeman@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of the thesis was to examine the influence of a daily ration on the levels of parameters found in metabolic profile of dairy cows. The influence of the composition of daily ration on various biochemical parameters was observed in eight farms. We would like to talk about calcium and phosphorus mainly. It has been found out that the income of dry matter ranged from 15.969 kg to 21.733 kg per cow a day. The average intake of calcium was 187.055 ± 39.358 g per cow a day and phosphorus was 88.186 ± 11.691 g per piece a day. With the use of correlation analysis it has been found out that the income of nutrients (dry matter, PDI, P and Mg) and energy influenced blood parameters (glucose, Ca, P, Mg, Zn, Cu). It has been found that the income of dry matter had a positive influence on Zn and Cu levels and negative influence on Na and Ca levels. The income of Ca had no effect on Mg, P, Na, Zn, Cu and glucose. Minimal intake of calcium (6.2 g Ca per 1 kg dry matter) and phosphorus (3.2 g P per 1 kg dry matter) for dairy cow (600 live weight and less 25 kg milks) was kept. There were 9.6 g Ca per 1 kg dry matter and 4.53 g P per 1 kg dry matter on the average in feeding ration. Rising intake of phosphorus leads to positive increasing of P in blood and positively influenced the level of Mg in blood.

Key words: calcium, phosphorus, feeding ration, dairy cow

ÚVOD

Základem dobrého chovu skotu je udržování dobré výživy a zdraví, které spolu úzce souvisí. Poruchy metabolismu a některá orgánová onemocnění jsou řazeny do komplexu produkčních chorob. Poruchy jsou závislé na několika faktorech (plemenná příslušnost, výše produkce, úroveň výživy, technologie ustájení atd.) a jejich negativní vliv je dán především tím, že snižují užitkovost zvířat, mají vliv mimo jiné na kvalitu produktů a plodnost.

V praxi bývá problém dodržovat nejen správnou technologii krmení, opomíjí se základní zásady výživy, ať už se jedná o zkrmování krmiv narušených či jinak znehodnocených z dietetického i hygienického hlediska, nebo dokonce krmiv závadných. Výživa skotu patří k nejdůležitějším faktorům vnějšího prostředí, které determinují zdravotní stav zvířat, plodnost, produkci mléka a jsou předpokladem realizace genetického potenciálu jedince i celého chovu, a které může chovatel ovlivnit.

Poznatky z praxe ukazují, že se zvyšující se užitkovostí skotu (zejména dojníc) se zhoršuje zdravotní stav zvířat a především plodnost. Antagonistický vztah mezi užitkovostí a plodností krav existuje a prokazují to mnohá vědecká pracoviště ve světě i v České republice.

Zájem o oblast produkčních poruch se zvyšuje v důsledku toho, že ekonomické ztráty způsobené těmito poruchami jsou značné.

Značný vliv na vznik produkčních chorob má neadekvátní výživa, nutriční nedostatky jsou velmi často způsobeny nízkou koncentrací živin, minerálních látek, stopových prvků a vitamínů. Z minerálních látek jsou nejdůležitějšími makroprvky a to především vápník a fosfor.

Vápník má v organismu mnohostrannou funkci. Vyskytuje se ve všech buňkách a tkáních i biologických tekutinách. Kromě přímé účasti na tvorbě kostí je nezbytný pro tvorbu mléka, krevní koagulaci, pro zachování normální neuromuskulární dráždivosti a permeability membrán, pro kontraktilitu svalových vláken, činnost srdce a ledvin. Nejvíce jej zůstává obsaženo v kostní tkáni, na jejíž tvorbě se podílí společně s fosforem. Fosfor má tedy funkci stavební, účastní se fosforylačních procesů, je nezbytný pro přenos energie, detoxikační činnost a zasahuje také do acidobazických procesů (Jagoš, 1985).

Proto bychom se v této práci chtěli věnovat posouzení vlivu výživy na změny parametrů vnitřního prostředí zjišťované v krvi dojníc hlavně z pohledu vápníku a fosforu. Tyto parametry krve jsou stanovovány v průběhu provádění metabolických profilových testů dojníc a srovnávány s hodnotami přijatých živin v krmných dávkách, které jsou sestavovány na základě analýzy jednotlivých krmných komponent a optimalizovány za pomoci výpočetní techniky.

MATERIÁL A METODIKA

Výsledky práce byly sledovány a vyhodnocovány na skupinách zvířat různého věku a kategorií dojníc. Za použití výstupů jednotlivých metabolických testů a chemických analýz objemných krmiv, rovněž tak i jadrných. Do sledování byly zakomponovány výsledky testů z více chovů pro docílení validity měření. V konečném souboru bylo vyhodnoceno 284 dojníc z 8 různých chovů při dvaceti jednotlivých metabolických testech, které byly prováděny během 3 let.

Rozebory krmiv byly prováděny v analytických laboratořích z důvodu oblastní dostupnosti jednotlivých sledovaných chovů. Krmné dávky byly optimalizovány pomocí různých standardizovaných postupů dle doporučení jednotlivých výživářských firem.

V rámci metabolických testů bylo sledováno více parametrů, ale prezentovat bychom chtěli především výsledky dvou hlavních zástupců minerálního profilu a to koncentraci

vápníku a fosforu. Uvedené parametry byly konfrontovány s jednotlivými parametry krmných dávek.

Odběr krve byl prováděn do odběrových souprav hemos z *vena caudalis mediana* bez antikoagulačních přísad. Krev se nechala stát při pokojové teplotě 20 – 25°C do úplného vysrážení a následoval odběr séra, z něhož byly analyzovány jednotlivé biochemické parametry.

Vápník byl prokazován plamenovou a absorpční fotometrií. Pro měření koncentrace fosforu byla využita chemická reakce fosfátu s amoniummolybdatem.

Objemová krmiva byla v laboratořích vzorkována a analyzována dle Vyhlášky Ministerstva zemědělství č.124/2001 Sb. Základní principy stanovení sledovaných parametrů. Obsah vápníku byl stanoven z chloridového výluhu popele vzorku. Stanoví se titračně manganometricky nebo vážkově jako síran vápenatý nebo metodou atomové absorpční spektrometrie. Dalšími metodami jsou atomová emisní spektrofotometrie v indukčně vázaném plazmatu či titračně chelatometrická metoda. Stanovení fosforu se provádělo po reakci s molybdatovanadátovaným činidlem spektrofotometricky nebo po vysrážení chinolinovým činidlem vážkově. Jinou metodou je atomová emisní spektrometrie v indukčně vázaném plazmatu.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Byla sledována vzájemná závislost veličin pomocí korelačních analýz (s pravděpodobností 1% a 5%). V rámci minerálního profilu se nám podařilo potvrdit složitost vztahů mezi jednotlivými prvky v organismu, a to tak, že zvýšení hladiny jednoho prvku v krevní plazmě může vést následně ke změnám v hladinách jiných prvků, což je v souladu s tvrzením autorů Zeman a kol. (2006).

V první řadě jsme celý soubor podrobili základnímu statistickému vyhodnocení. V praxi není vždy jednoduché dodržet optimální složení krmných dávek tak, aby negativně neovlivňovaly zdravotní stav a užitkovost dojnic. Potvrzuje to i fakt, že většina metabolických testů byla v chovech prováděna z důvodů zhoršené užitkovosti dojnic a špatného zdravotního stavu zvířat. Pouze menší část metabolických testů daného souboru byla prováděna pro kontrolu předkládané krmné dávky.

Výsledky sledování potvrdily, že se zvyšujícím se příjmem sušiny se snižovala hladina Ca ($r = -0,166$ $P < 0,05$). Zvyšující se hladina P v krevní plazmě zvyšovala hladinu Zn v krvi ($r = 0,19$ $P < 0,01$) a zvyšující se množství Ca v krvi způsobovalo snížení hladiny Cu v krevním séru ($r = -0,37$ $P < 0,01$).

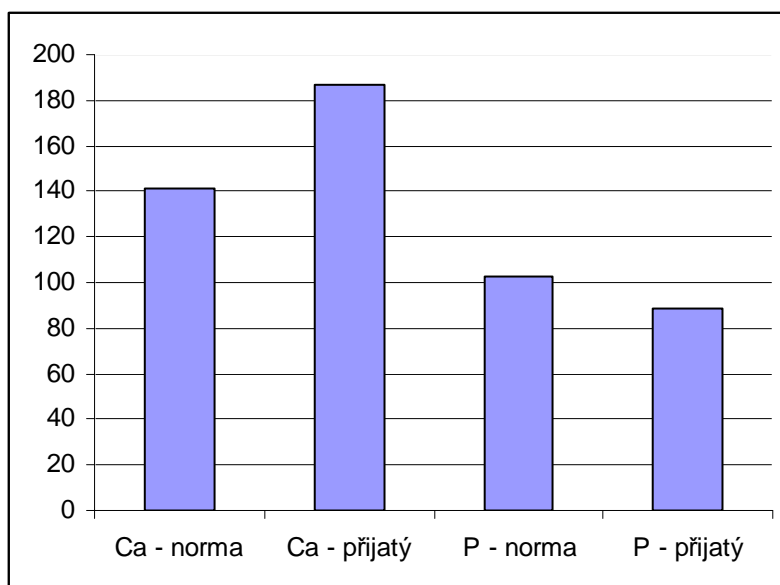
V 1 kg sušiny krmné dávky pro laktující krávy o živé hmotnosti 600 kg při denní dojivosti do 25 kg mléka musí být minimálně 6,2 g Ca a 3,2 g P (Kopřiva, 2004). V naší krmné dávce, jejíž průměrný příjem v sušině byl 19,47 kg bylo podáváno 187,06 g Ca denně (9,61 g Ca/kg suš.) a 88,19 g P/den/dojnici (4,53 g P/kg suš.).

Tab 1. Hodnoty vápníku a fosforu v krmné dávce.

	Ca [g/den]	P [g/den]
Průměr v KD	187,06	88,19
Počet N	281	281
Minimum. v KD	136,488	67,705
Minimum. v 1 kg suš.	7,01	3,48
Maximum. v KD	301,327	112,053
Maximum. v 1 kg suš.	15,48	5,76
SE (Standard error)	39,287	11,670

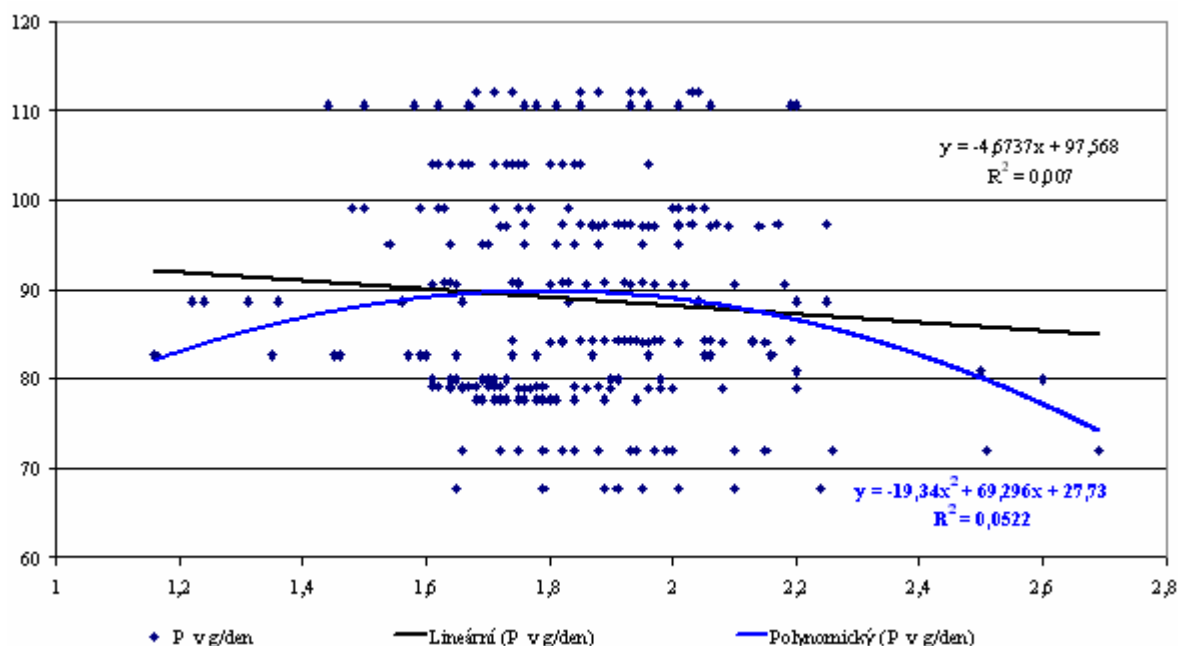
Normovaná potřeba vápníku a fosforu se lišila ve skutečném příjmu krmné dávky. Vápníku bylo přijato více, než byla norma, oproti tomu fosforu bylo přijato méně.

Graf 1. Denní potřeba Ca a P dojcnic v g/ks/den a skutečný příjem.



Vliv příjmu P na jeho hladinu v krvi dokládá graf 1. Pozorovali jsme, že regresní závislost mezi příjmem fosforu (X) a hladinou fosforu v krvi (Y) se dá vyjádřit rovnicí polynomu druhého stupně ($Y = a + bX + cX^2$) tedy $Y = +27,73 + 69,296X - 19,34 X^2$.

Graf 2. Vliv příjmu fosforu na jeho hladinu v krvi (P v g/den).



Hodnoty vápníku v krvi by se měly pohybovat v rozmezí 2,25 až 3,0 mmol/l a průměrně se pohybovaly pod minimální limitní hranicí a to kolem hodnoty 2,16 mmol/l krve. Fosfor má optimální rozmezí 1,65 – 2,25 mmol/l a skutečná průměrná hodnota do tohoto optima spadala svojí hodnotou 2,02 mmol/l.

Produkční choroby mají velmi často subklinický průběh (Matějčíček, 2004), probíhají mnohdy velmi dlouhou dobu a když jsou diagnostikovány na základě klinických příznaků, je již organismus velmi často výrazně poškozen a náprava je velmi obtížná. Dojnice je většinou vyřazena z chovu pro některá z vážných onemocnění, jako jsou zejména sterilita, snížená užitkovost, onemocnění paznehtů, onemocnění orgánů gastrointestinálního traktu a jater. S ohledem na značné ekonomické ztráty, které uvedené poruchy zdraví vyvolávají již na subklinické úrovni, je snaha řešit tuto problematiku dříve, než se vyvine klinický syndrom onemocnění.

Kontrola výživy, analýza dat z kontroly užitkovosti a posouzení tělesné kondice poskytují informace k metabolismu energie, cukrů, tuků a proteinu a tím k riziku výskytu ketózy, steatózy jater a lipomobilizačního syndromu i k zásobování vlákninou a riziku subklinické bachorové acidózy. Tyto poruchové faktory představují nejčastější poruchy po otelení a v rané laktaci (Staufenbiel, 2007). Na druhé straně nedovolují výpověď o metabolismu makroprvků, mikroprvků, vitamínů a o zátěži škodlivými součástmi krmiva (mykotoxiny).

Například prevence ulehnutí (paraplegia) spočívá v pravidelné kontrole vývoje zdravotního stavu dojnic, zejména před porodem a po něm, v dostatečném a plnohodnotném krmení, především v dostatečné dotaci P, správném poměru Ca : P (1 : 1 až 2: 1). Další zdravotní poruchy, které jsou způsobeny také nevyvážeností tohoto poměru hypofosfatémie (*hypophosfatemia*), měknutí kostí (*osteomalatia*), nebo poporodní obrna (*paresis puerperalis*) jak uvádí Jagoš a kol. (1985). Oproti tomu, Mahlkow-Nerge K., Tischer M., Ziger P. (2005) uvádějí, že na výskyt ulehnutí dojnic po porodu má podstatnější vliv bilance draslíku v krmivu než obsah Ca a P. Na základě tohoto zjištění byla každému krmivu přiřazena DCAB hodnota (Mahlkow-Nerge a kol., 2005), která má vypovídající schopnost o kyselosti krmiva a vyjadřuje tak eventuální potřebu ke krmivu přidat soli silných kyselin (síranu, chloridy) za tím účelem, aby po vstřebání živin do krevního oběhu bylo docíleno mírně kyselého charakteru krve.

Soubor fyziologických a metabolických odpovědí na stres může mít za následek snížení příjmu sušiny, což dále sníží dostupnost živin pro produkci. Jak narůstají stresové situace, a nastávají stále větší fyziologické a metabolické změny, které nakonec vyústí v abnormalitu diskutovanou jako metabolická dysfunkce (Van Saun, 2004). Všechny tyto okolnosti je proto nezbytně nutné brát v úvahu při závěrečných interpretacích jednotlivých výsledků metabolických testů.

ZÁVĚR

Vzorky v našem případě byly ve většině případů odebírány s cílem odhalit subklinickou formu chorob, proto výsledné údaje z rozborů nemohly přesně odpovídat teoretickým předpokladům fyziologických hodnot. Očekávali jsme, že u námi sledovaných zvířat budou parametry sledované v krevní plazmě odpovídat složení krmných dávek. Méně jsme pak předpokládali závislost mezi konzumovanými živinami a parametry sledovanými v krvi, a to proto, že při skupinovém krmení není dostatečně možné zajistit u konkrétní dojnice průměrný příjem krmiva. Také sledovaná stáda krav měla rozdílnou úroveň péče o zvířata. Pro udržení optimálního zdravotního stavu stáda je nezbytná kvalifikovaná veterinární prevence a včasné řešení vzniklého problému rychlým odstraněním vyvolávající příčiny, zejména pokud se jedná o nedostatky ve výživě. Stádo by mělo být neustále podrobováno celkovému posuzování, měl by být sledován výživný stav dojnic v průběhu celého mezidobí (počet dnů od porodu do porodu), žravost, přežvykování a charakter výkalů, denní produkce mléka, složky mléka a příznaky říje. Zjištění jakékoliv patologické změny by mělo vést k podrobnému vyšetření stáda, odhalení příčin a navržení nápravy vzniklého problému. Pro zjišťování subklinických forem produkčních chorob dojnic je vypracován systém preventivní diagnostiky, tzv. metabolický profilový test, který je však někdy přeceňován anebo se mu naopak nevěnuje patřičná pozornost. Pokud krávy dostanou stanovenou a doporučenou krmnou dávku, která odpovídá po stránce množství, složení a kvality, jsou výsledky v chovech také odpovídající. I ve vynikajících chovech by se měl metabolický test provádět 2x – 3x ročně jako preventivní vyšetření. Chovatel by tak zjistil, zda je jeho krmná dávka vybalancovaná a optimální pro danou kategorii zvířat

A proto zastáváme stejný názor jako Hofírek a kol. (2004), že je třeba v konkrétních podmínkách zemědělského podniku bezpodmínečně nutné provést ekonomickou kalkulaci předpokládaných nákladů na jedné straně a na druhé spočítat finanční přínos po uplatnění preventivních opatření. Na základě těchto porovnávání si pak snad chovatel uvědomí, že je lepší krmit kvalitně, než později hradit finančně nákladnější léčbu zdravotních problémů způsobených nekvalitním krmením.

LITERATURA

HOFÍREK B., PECHOVÁ A., DOLEŽEL R., PAVLATA L., DVOŘÁK R., FLEISCHER P. a kol.: Produkční a preventivní medicína v chovech mléčného skotu. 1. vyd. Brno : Veterinární a farmaceutická univerzita, 2004. 184 s. ISBN 80-7305-501-5

JAGOŠ P. a kol. (1985): Diagnostika, terapie a prevence nemocí skotu. 1. vyd. Praha : Státní zemědělské nakladatelství, 1985. 472 s.

MAHLKOW – NERGE K., TISCHER M., ZIGER P.: Modernes Fruchtbarkeits – management beim Rind.1. vyd. Bonn : AgroConcept GmbH, 2005. 206 s. ISBN 3–9810575–0-3.

MATĚJÍČEK M.: Využití metabolických testů k hodnocení výživy u skotu. Informační magazín VVS Verměřovice, 2004. Dostupné z internetu : http://www.vvs.cz/vvs_info/jaro2004 [cit. 12. 2. 2007]

STAUFENBIEL,R.: Metabolické testy. Dostupné z internetu <http://www.genoservis.cz/layout.php> [cit. 6. 12. 2007]

VAN SAUN, R. J.: Výživa a management krav v přechodovém období : klíč k úspěšné reprodukci stáda in Sborník referátů z odborného semináře v Hradci Králové, dne 17. 4. 2004

ZEMAN L. a kol.: Výživa a krmení hospodářských zvířat. 1. vyd. Praha : Profi Press s. r. o., 2006. 360 s. ISBN 80-86726-17-7

EXTERIER AND PRODUCTION CHARACTERISTICS IN GACKO CATTLE BREED

EXTERIEROVÉ CHARAKTERISTIKY A MLÉČNÁ UŽITKOVITOST GATACKÉHO SKOTU

Erbez M., Chládek G., Šarovská L., Walterová L.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: miljanerbez@gmail.com, chladek@mendelu.cz

ABSTRACT

Captured dimensions from 2006 in Gacko cattle are compared to previous captured in similar research at 1956. Research shows that all exterior dimensions are increased. The most obviously growth is in live weight of cattle approximately 70% from 285 kg. Crest height growth from 112.26 to average 124.07 cm, body length from 129.07 to 143.00 cm, breast width grow up from 30.42 to 45.53, breast depth from 58.90 to 65.14 cm. Breast circumference growth from 153.90 for 23.79 cm at farm Planinsko Dobro and for 28.91 in SCG. Average rump height in Gacko cattle nowadays is 128.85 and it was 115.20. Seating pins length growth from average 36.34 to 43.37. Average circumference of shin bone is 19.81. Milk productivity is decreased from average 1160 kg for 237 days to 3820.51 kg for 305 days. Average daily production grows up from 60.23%.

ABSTRAKT

Exteriér gatackého plemene skotu byl porovnáván s mírami z podobného výzkumu z roku 1956. Sledování bylo provedeno v roce 2006. Byl zjištěn nárůst všech měr. Největší nárůst byl zjištěn u živě hmotnosti skotu, a to v průměru o 70%. Výška v kohoutku se zvětšila z průměrných 112.26 cm na průměrných 124.07 cm. Šikmá délka těla se zvětšila z průměrných 129.07 cm na 143.00 cm, šířka hrudníku se zvětšila z 30.42 cm na 45.53 cm, hloubka hrudníku se zvětšila z 58.90 cm na 65.14 cm. Obvod hrudníku se zvětšil z předchozích 153.90 na 177,69 cm na farmě Planinsko Dobro a na farmě SCG na 182,81 cm. Průměrná výška v kříži u gatackého skotu je dnes 128.85 cm z původních 115.20 cm. Šířka pánve v sedacích hrbolech se zvětšila z průměrných 36.34 cm na 43.37 cm. Průměrný obvod holeně je 19.81 cm. Produkce mléka se zvýšila z 1160 kg za 237 dnu laktace na 3820.51 kg za 305 dnu laktace.

ÚVOD

Tato práce byla zpracována na základě programu Ministerstva Zemědělství, Lesnictví a Vodohospodářství „Záchrana autochtonních druhů zvířat“. Bylo změřeno celkem 205 dojnic v obcích Gacko a Kalinovik, z toho 72 kusů na farmě Planinsko Dobro a 82 kusů na malých soukromých farmách v Gacku a 51 kusů od soukromých majitelů z města Kalinovik. Byla zjištěna produkce mléka na druhé, třetí a čtvrté laktaci u 72 krav v letech 2003 a 2008.

CÍL PRÁCE

Cílem práce bylo zhodnocení pokroku ve šlechtění gatackého skotu.

Buša

Toto primitivní plemeno skotu se dříve chovalo skoro na celém balkánském poloostrově. Výška v kohoutku u tohoto plemene skotu byla kolem 112 cm, hmotnost od 250 – 300 kg s užitkovostí 500-700 kg mléka za laktaci, obsah tuku byl od 3,7 % do 4,5 %. Toto plemeno se chovalo v Dalmácii, jižní části Bosny a Hercegoviny, v Černé Hoře a jižním Srbsku a Makedonii. Buša byly nahrazována plemeny s vyšší užitkovostí u důvodu zvyšující se spotřeby potravin živočišného původu koncem 19. a začátkem 20. stol. Dnes buša skoro neexistuje. Poslední kusy se vyskytují v chráněném chovu nebo v nějakých vzdálených horských vesnicích.

Tyrolské šedé

Tyrolský šedý skot pochází z Rakouska. Nejvíce je chován v jižním Tyrolsku. Je to dlouhověký skot, kombinované užitkovosti. Průměrná roční užitkovost je 4680 kg mléka s 3,9 % tuku a 3,3% bílkovin. Denní přírůstky vykrmovaných býků dosahují 1150 g při jateční výtěžnosti až 60%.

Gatacký skot

Gatacký skot byl vyšlechtěn ze starého plemene buša, které bylo malého tělesného rámce s nízkou užitkovostí. Početní stavy tohoto skotu v Bosně a Hercegovině nepřesahují 12000 kusů, z toho jich je 9000 ks ve východní části Srbské republiky, tj. 4 % z celkové populace skotu. Největší procento tohoto skotu se chová ve výšce nad 850 m.n.m. Chovný standard byl stanoven šlechtitelským programem let 1956 a 1980. Cílem bylo vyšlechtit plemeno s dobrou masnou užitkovostí, s průměrnou mléčnou užitkovostí 3.500 kg za laktaci, s obsahem tuku 4% a s vyrovnaným exteriérem.

Dnes je to kombinované plemeno skotu, malého až středního tělesného rámce, nenáročné a odolné k špatným klimatickým podmínkám a produkcí kvalitního masa a mléka. Zbarvení tohoto plemene je šedé až tmavě šedé, někdy hnědé. Býci mají často tmavší barvu, v některých případech až černou. Krávy a býci jsou rohatí. Je to dlouhověký skot, s 8 - 9 laktacemi. Už v padesátých letech minulého století, populace gatackého skotu byla taková, že mohli být selektováni býci podle šlechtitelského programu. Hlavním centrem pro šlechtitelskou práci se stala farma Planinsko Dobro v Gacku, univerzitní farma Gvozno u města Kalinovik a Centrum za umělého oplodnění z Banjaluki. K zušlechtění bylo použito plemeno Tyrolské šedé.

Během občanské války v Bosně a Hercegovině se tento chovný program přestal používat. Nevedla se přesná chovatelská evidence. Přirozená plemenitba se stala hlavním způsobem reprodukce, jak v Gacku, tak v Kalinoviku. To vše mělo negativní vliv na kvalitu chovu a plemenářskou práci. Kontrola užitkovosti se znovu začala provádět hlavně v Gacku.

MATERIÁL A METODIKA

V práci jsme se zaměřili na exteriérové charakteristiky Gatackého skotu. Pro výběr dojnic byl důležitý známý původ a charakteristické kvalitativní znaky, jako jsou barva a rohatost. Měření exteriéru bylo prováděno pomocí hůlkové a páskové míry. Data o produkci mléka byla získána na farmě v Gacku.

VÝSLEDKY A DISKUZE

EXTERIÉR

V tabulce č.1 jsou ukázány průměrné tělesné míry a průměrná hmotnost gatackého skotu.

Tabulka č. 1: Tělesné míry a hmotnost dojnic gatackého skotu (1956 a 2006)

Tělesné míry	h/p	2006			1956	Min difference	Max difference
		SCG (n=82)	PD Gacko (n=72)	Kalinovik (n=51)	Gacko (n=506)		
Tělesný rozměry v cm							
Výška v kohoutku	h	124.97	124.04	123.21	112.56	10.65	12.41
Šikmá délka těla	h	143.86	142.54	142.61	129.07	13.47	14.79
Šířka hrudníku	h	46.88	44.72	45.00	30.42	14.3	16.46
Hloubka hrudníku	h	66.28	64.48	64.67	58.90	5.58	7.38
Obvod hrudníku	p	182.81	177.69	178.00	153.90	23.79	28.91
Výška v kříži	h	129.88	129.09	127.58	115.20	12.38	14.68
Šířka mezi sedacími hrboly	h	43.33	43.06	43.74	36.34	6.72	7.34
Obvod holeně	p	19.81	20.71	19.91	15.10	4.71	5.61
Hmotnost v kg							
Hmotnost	p	509.21	468.85	468.47	285	183.47	224.21

Poznámka:

1. h-míry měřeny hůlkovou mírou, p- míry měřeny páskovou mírou,
2. SCG - soukromý chov Gacko, PD Gacko - Planinsko Dobro Gacko, Kalinovi - soukromý chov Kalinovik

V tabulce č. 1 můžeme vidět změny tělesných měř u gatackého skotu v posledních 40 letech. Výsledek šlechtitelského programu je u všech tělesných měř velmi patrný. Výška v kohoutku se od roku 1956 průměrně zvýšila o 8 % a je 124,97 cm. Šikmá délka těla se zvýšila v rozmezí od 13.47 cm do 14.79 cm a měří v průměru 143 cm. Hmotnost a šířka hrudníku měli největší nárůst. Šířka hrudníku se zvýšila o víc než 50 % z 30.42 cm na 46.88 cm v SCG a na

45.00 v Kalinoviku. Nejnížší je na farmě Planinsko Dobro Gacko a to 44.72cm. Hloubka hrudníku se zvýšila o 9 %, největší je v SCG a to 66.28 cm. Obvod hrudníku je opět největší v SCG a to 182.81 cm, v průměru se zvýšil 15 %. Výška v kříži se zvýšila o 12.38 cm v Kalinoviku a o 14.68 cm v SCG. Průměrně je větší než 129 cm, což znamená, že se gatacký skot patří do plemen se středním tělesným rámcem. Šířka mezi sedacími hrboly se nejvíc zvětšila a to na 43,74 cm. Obvod holeně je největší na farmě Planinsko Dobro Gacko a to 20.71 cm. Hmotnost dojnic gatackého skotu se zvýšila o přibližně 70%.

MLÉKO

Tabulka č. 2. znázorňuje produkci a obsahové složky mléka u 72 dojnic na druhé, třetí a čtvrté laktaci.

Tabulka č. 2: Produkce a obsahové složky mléka

Ukazatel	Průměr z let 2003 a 2008	1956
Délka laktace (dny)	305,54	237
Tuk (%)	3.94	3.80
Bílkoviny (%)	3.24	---
Množství mléka (kg)	3820.51	1160

Data byla získána na farmě Planinsko Dobro Gacko v letech 2003 a 2008. Při přepočtu na normovanou laktaci 305 dnů byla zjištěna vyšší užitkovost o 164 %. Obsah tuku se zvýšil o 0,14%.

ZÁVĚR

Ze zjištěných dat můžeme konstatovat, že došlo ke konsolidaci exteriéru a tělesných měr u gatackého skotu. Použité šlechtitelské postupy se osvědčily a vhodné je dále používat. Toto plemeno patří mezi genetické rezervy, proto je zapotřebí věnovat tomuto plemeni pozornost. Je důležité zachovat biodiverzitu, aby nedošlo k ztrátě původních plemen, která patří ke kultuře každého státu.

LITERATURA

Erbez, M.: Eksterijer i proizvodne karakteristike gatačkog govečeta, diplomski rad, Univerzitet u Banjoj Luci, Poljoprivredni fakultet, 2005.

Erbez, M.: Gatačko goveče, internet magazin, poljoprivreda.info, Srbija, 2008.

Hans Heinrich Sambraus, Atlas plemen hospodářských zvířat, 1986, 2001, Eugen Ulmer KG, Stuttgart, Germany

Ilančić D.: Gatačko govedo – vrelo za oplemenjivanje naše buše, Stočarstvo, 4 Zagreb, 1952.

Rako, A.: Uticaj oberintalskog goveda na popravku buše u okolici Sinja. Veterinarski Arhiv, 17, 264 – 305, Zagreb, 1947.

Važić, B., Drinić M., Kasagić D., Erbez, M, Kralj, A., Rogić, B., Morfometrijske karakteristike gatačkog govečeta, Univerzitet u Banjoj Luci, Poljoprivredni fakultet, 2007.

Lalović, M.: Genotipska i fenotipska varijabilnost, proizvodne i reproduktivne osobine alpske rase goveda na području Gacka, Agronomski fakultetu Čačku, Univerzitet u Kragujevcu, 2002.

Daty Ministarstva Zemědělství, Lesnictví a Vodohospodářství- Služba na chov a šlechtňý domácích zvířat, z projektu „Záchrana autochtoných druhů zvířat Republike Srpské“,

Dipl. ing. Zelenović, Miloš: Štalska knjiga, Farma Planinsko Dobro Gacko, Gacko.

Zavod za statistiku Republike Srpske, godišnji izvještaj za 31.12.2007.

EVALUATION OF IMPORTANCE OF FOREIGN BREEDS HORSES ON CZECH WARM-BLOODED HORSE

ZHODNOCENÍ VÝZNAMU ZAHRANIČNÍCH PLEMEN KONÍ VE ŠLECHTĚNÍ ČESKÉHO TEPLOKREVNÍKA

Krčová S., Jiskrová I.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xkrcova@mendelu.cz , jiskrova@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this work was the evaluation of influence of selected foreign horse breeds on the Czech Warmblood. Breeds are the Hannoverian, the Holstein, the Oldenburg, the Westphalian and the German Warmblood. For statistical evaluation we used the sport outcomes that were expressed by PPB rate (average helping points). This rate is based on the gained penal points in the competition and counted with the help of matrix that takes into account the difficulty of the competition in a form of helping points. Gained results were worked out with the method of GLM. With a method of manifold comparison we set the differences between breed, sex, and age groups. It is clear from the results that the statistical decisive is the difference among the breed, where the highest value of PPB (5.0007) is reached by group D100 (the offspring of Hannoverian horse parents), the biggest group among the breed (27.02%) is H50 (one of the parents is the Holstein horse). In evaluating the difference between the sexes the highest PPB value is present in stallions (4.0120) and the biggest group are the mares (47.72%). In looking at the differences among the age groups of horses the highest PPB (3.8530) is present in group 5 (eight years old) and the most represented group in the competition (17.53) is group 7 (ten to thirteen years old horses).

Key words: horses, the Hannoverian horse, the Holstein horse, the Westphalian horse, the Oldenburg horse, German warmblood, the Czech Warmblood, jumping performance

ÚVOD

Chov koní má v českých zemích bohatou tradici. Vyvíjel se, obdobně jako v jiných státech, pod vlivem místních hospodářsko, politických podmínek s dlouhodobým zaměřením na vojenskou potřebu, dopravu a poštovní služby, ceremoniál a v menší míře na zemědělství (Štencl, 1976).

Na území České republiky byly původně chovány 2 odlišné typy teplokrevníků. Tažný typ v Čechách ovlivnili především importovaní oldenburští plemeni a jejich potomstvo a na vývoji ušlechtilého moravského teplokrevníka se naopak podíleli polokrevníci rakouskouherských hřebčínů Radovec a Piber (Misař, 2005). Moravský chov měl úplně odlišný charakter než chov český. Odlišný vývoj chovu koní na Moravě a v Čechách byl také předurčen mentálními faktory moravských chovatelů. Ti vyžadovali koně ušlechtilé, chodivé a s výbornou mechanikou pohybu. Temperament a výkonnost koní byly odrazem odbornosti chovatelů (Hošák, 2005)

Na počátku 20. stol. vzrůstaly nároky jezdeckých, dělostřeleckých a vozatajských útvarů na doplnění a rozšíření početních stavů koní v souvislosti s blížícím se válečným konfliktem (Misař, 2004).

Do konce 50. let 20. století byl u nás kůň nepostradatelnou tažnou silou zejména v zemědělství, které stále požadovalo vedle chladnokrevníka co nejmohutnějšího teplokrevníka, téměř výhradně s jednostrannou užitkovostí tažného koně. Teprve v pozdějších letech nastává rozmach jezdeckého sportu a typová přestavba českého teplokrevníka (Misař a Jiskrová, 2001).

Od druhé polovině 60. let až do období 70. let byla vyvinuta snaha o typovou a tvarovou přeměnu dosavadního rázu českého teplokrevníka, včetně korigování fundamentu a zlepšení tělesných rozměrů odpovídajících náročnějším podmínkám pro zápisy do plemenných knih. Největším producentem jezdeckých koní na export byl v tomto období SPÚ Albertovec, který již svým původním posláním jako bývalý vojenský hřebčín byl určen pro produkci sportovních koní (Hošák, 1966).

V 70. až 90. letech minulého století postupně sílil vliv hřebců trakénských a hřebců ostatních německých plemen a posléze hřebců francouzské a holandské provenience. V tomto období se v Čechách a na Moravě vytváří postupně genově nesourodá populace teplokrevných koní s názvem český teplokrevník. Tento název je pro celou zmíněnou populaci teplokrevných koní v ČR používán od roku 1971 (Hošák, 2005).

Snaha šlechtit českého teplokrevníka na sportovní výkonnost zesílila až v několika posledních letech. Ta byla mimo jiné podmíněna skutečností, že český teplokrevný chov není schopen v mezinárodním měřítku konkurovat zahraničním plemenům sportovních koní, která jsou na sportovní výkonnost speciálně šlechtěna desítky let. Navíc v tomto období došlo k administrativnímu vyčlenění čtyř samostatných plemen (český teplokrevník, moravský teplokrevník, slovenský teplokrevník, kůň Kinský). Převody všech čtyř plemen jsou vzájemně

provázané a plemeno český teplokrevník zůstává i v současné době nejpočetnější (Misař a Jiskrová, 2001).

MATERIÁL A METODIKA

Při šlechtění je rozhodující výběr plemenných zvířat podle schopnosti přenášet své vlastnosti na potomstvo, tedy podle výkonnosti potomstva. *Přehled o sportovní výkonnosti koní v ČR* obsahuje vybrané výsledky kontroly dědičnosti. Výsledky jsou zpracovávány z klasických soutěží, které lze využít pro výpočet kontroly dědičnosti. Systém hodnocení sportovní výkonnosti koní v ČR vypracovala Pellarová (1986). Toto hodnocení vychází z kritéria trestních bodů získaných ve sportovních soutěžích, které jsou pomocí matice zahrnující stupeň obtížnosti soutěže převedeny na pomocné body. Ty se dále přepočítávají na jeden start koně.

Celkově jsme za sledované období shromáždily 3279 údajů.

O každém koni jsme zaznamenali následující údaje:

Hlavní údaje - Plemenná skupina	Pomocné údaje - Jméno koně
Rok startu	Otec
Pohlaví	Matka
Rok narození	Otec matky
Věk při startu	Země původu
PPB	

Třídění dle pohlaví:

- 1 - hřebci
- 2 – klisny
- 3 – valaši

Třídění podle věku:

Soubor jsme rozčlenili dle věku v daném roce startu.

- 1 – čtyřletí koně
- 2 – pětiletí koně
- 3 – šestiletí koně
- 4 – sedmiletí koně
- 5 – osmiletí koně
- 6 – devítiletí koně
- 7 – desetiletí koně
- 8 – jedenáctí a dvanáctiletí koně
- 9 – třináctí a víceletí koně

Data byla statisticky zpracována pomocí lineárního modelu GLM ve statistickém programu UNISTAT 5.1.

Modelová rovnice:

$$y_{ijklm} = \mu + p_i + s_j + r_k + v_l + e_{ijklm}, \text{ kde:}$$

y_{ijklm} – sledovaný efekt

μ – celkový průměr souboru

p_i – pevný efekt i-tého plemene

s_j – pevný efekt j-tého pohlaví

r_k – pevný efekt k-tého roku startu

v_l – pevný efekt l-tého věku při startu

e_{ijklm} – náhodný efekt

Pomocí metody mnohonásobného porovnání Sheffe interval jsme mohli stanovit rozdíly mezi jednotlivými sledovanými efekty – plemennými skupinami, pohlavím a skupinami dle věku.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Na základě statistického zpracování za sledované období let 2003–2006 jsme zjistili statisticky průkazné rozdíly u 58 hodnot faktoru plemene. Ze získaných údajů v tabulce č. 1 vyplývá, že největší hodnotu PPB vykazuje skupiny Han100 (5,0191) a naopak nejmenší hodnotu skupina W25 (1,6255).

Tab. 1 Výsledky následného testování jednotlivých plemen dle PPB

Skupina	Příp.	Průměr	W25	G50	G25	Han50	W50	H50	H25	Han25	W100	G100	H100	O100	Han100
W25	22	1,6255									*		*	*	*
G50	173	2,4894								*	*		*	*	*
G25	196	2,5919									*		*	*	*
Han50	707	2,8829									*		*	*	*
W50	155	3,0431											*	*	*
H50	880	3,0767											*	*	*
H25	62	3,1052											*	*	*
Han25	265	3,5215		*									*	*	*
W100	83	4,1002	*	*	*	*									
G100	26	4,1804													
H100	359	4,6004	*	*	*	*	*	*	*	*					
O100	135	4,8146	*	*	*	*	*	*	*	*					
Han100	216	5,0191	*	*	*	*	*	*	*	*					

Výsledky tabulky č.1 dokladují převahu hannoverských koní importovaných do ČR. Skupinu, která má nejvyšší průměr PPB (5,0191), představují potomci F1 generace, kde otec i

matka jsou plemene hannoverský kůň. Dle mého názoru je to zapříčiněno skutečností, že většina koní v této skupině Han100 je importována z Německa, kde je prověřen jejich sportovní potenciál v náročných výkonnostních zkouškách a v následné sportovní kariéře. Další možností je, že někteří chovatelé uvědoměle vybírají rodičovské páry podobného plemenného základu. Pokud se podíváme na ostatní plemenné skupiny, které mají vysoký průměr PPB, jedná se rovněž o koně, kteří k nám byli dovezeni ze zahraničí a působí v našem chovu nebo jezdeckém sportu. Také v těchto případech se jedná o cílené importy sportovních koní.

Následující tabulka č. 2 uvádí procentické zastoupení jednotlivých plemenných skupin ve skokových soutěžích v ČR. Údaje v tabulce dokládají největší počet startujících koní skupiny H50 (26,84%). To dokládá převažující trend posledních let, kdy převažuje mezi českými jezdci i chovateli obliba holštýnských koní.

V České republice se na šlechtění podílí podstatnou měrou německá plemena. Nejpočetnějším plemenem v základním souboru je plemeno holštýnské. Intenzivním šlechtěním se u tohoto plemene docílilo poměrně tvrdé konstituce s vynikající mechanikou pohybu a skokovými schopnostmi, které se velmi dobře projevily u potomků ČT. Naproti tomu, je oldenburské plemeno zastoupeno v počtu 4,12%, ale jeho hodnota PPB (4,8146) je na druhém místě. Tento výsledek dokazuje, že oldenburský kůň má velmi dobré skokové schopnosti.

Tab. 2 Početní zastoupení startů jednotlivých plemenných skupin

Pořadí	Plemenná skupina	Příp.	%	PPB
1.	W25	22	0,67	1,6255
2.	G50	173	5,28	2,4894
3.	G25	196	5,98	2,5919
4.	Han50	707	21,56	2,8829
5.	W50	155	4,73	3,0431
6.	H50	880	26,84	3,0767
7.	H25	62	1,89	3,1052
8.	Han25	265	8,08	3,5215
9.	W100	83	2,53	4,1002
10.	G100	26	0,79	4,1804
11.	H100	359	10,95	4,6004
12.	O100	135	4,12	4,8146
13.	Han100	216	6,59	5,0191

Tabulka č. 3 přináší výsledky srovnání sledovaných koní podle pohlaví a tabulka č. 4 početní zastoupení jednotlivých pohlaví v databázi.

Tab. 3 Statistické porovnání podle pohlaví

Skupina	Příp.	Průměr	Valaši	Klisny	Hřebci
Valaši	1157	3,1695			*
Klisny	1556	3,3241			*
Hřebci	566	4,0862	*	*	

(* - statisticky průkazný rozdíl)

Podle tabulky č. 3 vykazuje pohlaví statisticky průkazný rozdíl ve čtyřech případech. Statisticky průkazně nejvýkonnější skupinou jsou hřebci, mezi výkonností klisen a valachů je poměrně malý rozdíl bez prokázané statistické významnosti. Přesto klisny vykazují mírně vyšší výkonnost podle průměru PPB.

Tab. 4 Procentické zastoupení pohlaví

Skupina	Příp.	%	Průměr	Valaši	Klisny	Hřebci
Valaši	1157	35,29	3,1695			*
Klisny	1556	47,45	3,3241			*
Hřebci	566	17,26	4,0862	*	*	

Z údajů tabulky č. 4 zjišťujeme, že nejméně početnou skupinou jsou hřebci (17,26%). Pokud se u hřebce projeví předpokládané skokové vlohy a výborný charakter, je nadále využíván ve sportu a zároveň působí jako plemeník. Majitel a trenér koně se mohou společně dohodnout na způsobu připouštění a na délce trvání připouštěcí sezóny. Postupně hřebec může navyšovat vlastní skokovou výkonnost a prokazovat své kvality. Hřebce, který neprokáže kvalitu svého původu a sportovní schopnost, je rozumnější vykastrovat a ke sportovním účelům využívat jako valacha. Nejpočetnější skupinu představují klisny (47,45%). To dokazuje, že stále velké množství chovatelů zastává názor, že pro samotného chovatele je důležitější kvalitní klisna s prověřenou sportovní výkonností, která bude produkovat potomstvo, jenž udělá svému chovateli „jméno“. Novodobým trendem se stává zapouštění klisen metodou inseminace, kdy si každý majitel nebo chovatel může z katalogů nabízejících hřebců vybrat hřebce dle svých představ, nároků a požadavků. Důsledkem toho se stává vlastnictví hřebců pro účely plemnitby pro malé subjekty nerentabilní a neefektivní.

Tabulka č. 6 ukazuje statisticky průkazný rozdíl mezi jednotlivými kategoriemi věku vyskytující se v 18 případech a dokládá nejvyšší výkonnost skupiny osmiletých koní. Tato skutečnost je znázorněna v grafu č. 1. Tyto výsledky dokazují, že skokoví koně jsou ve věku 8 let dostatečně vyzrálí a připravení k výkonům ve skokovém sportu.

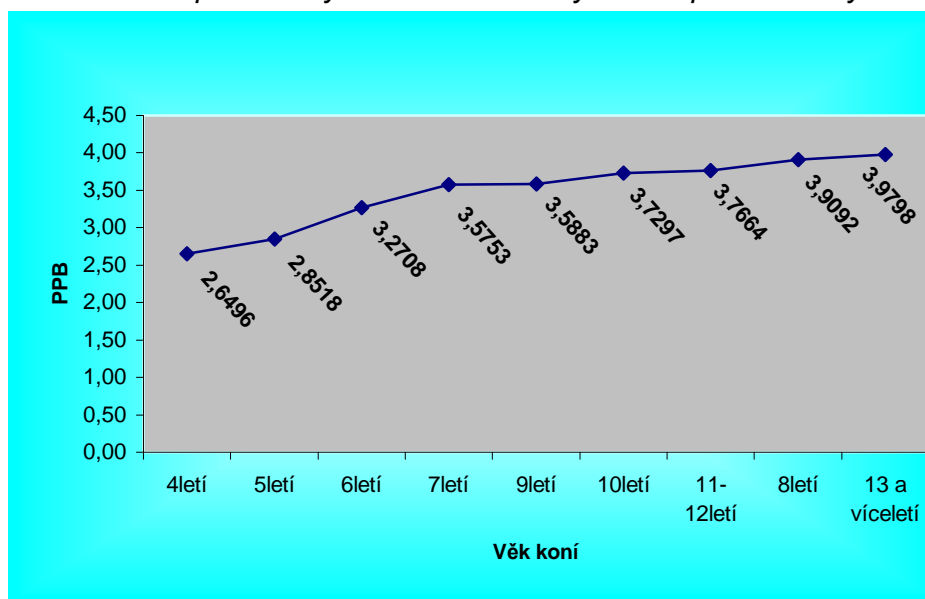
Tab. 6 Výsledky statistického porovnání PPB podle věku koní

Skupina	Příp.	Průměr	4letí	5letí	6letí	7letí	9letí	10letí	11-12letí	8letí	13 a víceletí
4letí	353	2,6496				*	*	*	*	*	*
5letí	533	2,8518				*	*	*	*	*	*
6letí	493	3,2708								*	
7letí	490	3,5753	*	*							
9letí	324	3,5883	*	*							
10letí	266	3,7297	*	*							
11-12letí	256	3,7664	*	*							
8letí	440	3,9092	*	*	*						
13 a víceletí	124	3,9798	*	*							

(* - statisticky průkazný rozdíl)

Údaje této tabulky dokladují nejvyšší účast ve skokových soutěžích u věkové skupiny pětiletých koní. Nejméně početná skupina startujících koní je třinácti a víceletí koně.

Graf 1 Znárodnění sportovní výkonnosti sledovaných koní podle věkových kategorií



Výsledky hodnot PPB dokazují, že skokoví koně jsou ve věku 13 a více let dostatečně vyžralí a připravení k výkonům ve skokovém sportu.

ZÁVĚR

Podle pořadí průměru PPB jsme zjistili, že na prvních pěti místech jsou potomci rodičů převážně narozených v Německu. Výsledky našeho sledování přínos zahraničních plemen pro chov a šlechtění českého teplokrevníka potvrzují. Na konci minulého století se stal ČT „otevřenou populací“ pro řadu evropských plemen.

Pokud se týká uplatnění německých plemen v českém chovu z hlediska početního zastoupení, nejvíce se uplatňuje holštýnský kůň. Naproti tomu nejmenší skupinou jsou potomci plemene ČT, kde otec matky je plemene westfálský kůň. Je to poměrně mladé plemeno, které je velmi blízké hannoverskému koni. Plemeno se dnes využívá především pro korekci skokových vlastností ČT.

Převládající zastoupení klisen oproti nejméně početné skupině hřebců je patrné i z výsledků pro celkový soubor. Využívání temperamentních plemenných hřebců, kteří neprojevili své schopnosti a nejsou perspektivními plemeníky, je pro jezdce a ošetřovatele nebezpečné. Z tohoto důvodu je výhodnější zařazovat do sportu valachy.

Posledním sledovaným efektem byl věk koní ve sportovních soutěžích. Zjistili jsme, že s narůstajícím věkem a intenzitou využití roste i výkonnost koně, která na základě získaných dat nabývá vrcholu ve věku 13 a více let (Skupina 9).

K této skupině se řadí koně, kteří v ČR startují na nejvyšších soutěžích (VC, MČR) a v zahraničí reprezentují ČR v jedné z nejnáročnějších soutěží (CSIO, PN, GP). Je nutné však podotknout, co si většina majitelů a trenérů skokových koní neuvědomuje, či si nechce uvědomit, že fyzická dospělost koní je dosažena zhruba ve věku $5 \frac{1}{2}$ roku a u německých plemen to může být o něco později. Prostředkem sloužícím k prověřování výkonnosti a stupňování, případně zachování její úrovně jsou výkonnostní zkoušky koní. Tyto požadavky se prověřují pomocí skokových soutěží KMK (Kriterium mladých koní) pro 4leté, 5leté a 6leté hřebce a klisny. Jednotlivé soutěže jsou dle věku odstupňovány. Z toho plyne, že kůň začne intenzivně pracovat a účastnit se skokových soutěží dříve, než fyzicky dospěje. Většina trenérů a jezdců klade příliš mnoho nepřiměřeného úsilí a tlaku, aby jeho „svěřenec“ dosáhl co nejrychleji a nejkvalitněji výborných výsledků bez ohledu na vlastní potřeby vývinu koně.

LITERATURA

Dušek, J., Misař, D., Müller, Z., Navrátil, J., Rakman, J., Tluchoř, J., Žlumov, P. (1999): Chov koní. Praha, Brázda, 352 s.

Dušek, J. (1987): Hodnocení hannoverského plemeníka Dietwarda II podle prvního ročníku jeho potomstva. Studijní informace o chovu koní, č. 15, s. 1-52.

Hošák, S. (2005): Moravský teplokrevník. Jezdectví, roč. 53, č. 12, s. 55.

Hošák, S. (1966): Rozbor celkového stavu produkce sportovních koní. Státní závěrečná práce, Vysoká škola zemědělská, 66s.

Lerche, F., (1951): Hlavní plemenici Státního hřebčína v Kladrubech n.L. v letech 1918-1948 jako podklad teplokrevného chovu koní v ČSR. Praha, Brázda 264 s.

Misař D., Jiskrová I., (2001): Chov a šlechtění koní. Brno, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 170 s.

Misař, D. (2004): Vojenský hřebčín Hostouň a jeho vliv na šlechtění jezdeckých koní. Jezdectví , č. 6, s. 28-30.

Pellarová, A., Dyková, Z., Teplý, V., Moravec, S.,(2003): Přehled o sportovních koních ČR. Slatiňany, VSCHK, 260 s.

Pellarová, A., Dyková, Z., Teplý, V., Moravec, S., (2004),: Přehled o sportovních koních ČR. Slatiňany, VSCHK 258 s.

Pellarová, A., Dyková, Z., Teplý, V., Moravec, S., (2005):. Přehled o sportovních koních ČR. Slatiňany, VSCHK, 258 s.

Pellarová, A., Dyková, Z., Teplý, V., Moravec, S., (2006): Přehled o sportovních koních ČR. Slatiňany, VSCHK, 264 s.

Štencl, F., (1976),: Vývoj chovu koní u nás I.díl, Pardubice, Ústav veterinární osvěty, 151 s.

Štencl, F.: (1977) Vývoj chovu koní u nás II.díl, Pardubice, Ústav veterinární osvěty, 201 s.

EFFECT OF LEGUMES IN BROILER'S DIETS ON SENSORY QUALITY OF MEAT

VLIV LUSKOVIN V DIETÁCH BROJLERŮ NA SENZORICKÉ VLASTNOSTI MASA

Křížová Š., Kratochvílová P., Vašátková A., Zeman L.

Department of Animal Nutrition and Forage Production, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xkrizov8@node.mendelu.cz, zeman@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of our study was sensory analysis of chicken meat from broilers fed mixtures with two different cultivars of peas (*Pisum sativum L.*) and horsebean (*Vicia faba L.*). The second aim was to evaluate if different content of antinutritive factors had effect on presence of unpleasant odour or taste in breast and thigh meat. The experiment was performed with 500 broilers of Cobb 500 hybrid combination. They were divided into five groups per 100 pieces. Feed mixtures contained 13 % of two cultivars of peas and 10 % of two cultivars of horsebean. Control group had 0,5 % of each cultivar. We chose two cultivars of peas and horsebean, which are very different in antinutritive factors levels. We chose peas cultivar ZEKON with low content of trypsin inhibitor (TIA, 5.47 mg/g) and peas cultivar GOTIK with high content of TIA (14.38 mg/g). The cultivars of horsebean we chose MISTRAL with low content of tannins (0.06 %) and MERKUR with high content of tannins (1.72 %). The 100 mm unstructured line scales were used for sensory evaluation. Sensory panel consisting of eight persons. Sensory analysis were carried out in three sessions. In breast meat were all descriptors, except tenderness, evaluated better in control group than other groups. The highest differences were in odour and taste. Differences were not statistically significant. In thigh meat are results similar, the best evaluation had chicken meat from control group. Differences were not statistically significant too. It can be concluded that feeding of peas in levels until 13 % and faba bean until 10 % has no significant effect on sensory quality of breast and thigh meat. We can safely use peas cultivars Zekon and Gotik and horsebean cultivars Merkur and Mistral in broiler's diets.

Key words: broiler, chicken, peas, horsebean, legumes, sensory quality

Acknowledgments: NAZV QF 3070

ÚVOD

Luskoviny jsou dobrým zdrojem dusíkatých látek z naší domácí produkce, můžeme jimi nahrazovat sójový extrahovaný šrot v krmných dávkách brojlerů i prasat. LAHOLA et al. (1990) uvádí, že vyšší dávky luskovin způsobují tvrdou konzistenci tuku a pokud jsou do krmné dávky zařazeny v neupraveném stavu, mohou ovlivnit chuť jatečných produktů.

Cílem naší práce bylo zjistit, zda má zařazení různých odrůd hrachu setého (*Pisum sativum L.*) a bobu obecného (*Vicia faba L.*) do diet brojlerových kuřat vliv na senzoryckou kvalitu masa a dále, zda má výrazně odlišný obsah antinutričních látek nějaký vliv na přítomnost cizího pachu či chuti v prsní a stehenní svalovině.

MATERIÁL A METODIKA

Do experimentu bylo zařazeno 500 brojlerů hybridní kombinace Cobb 500, kteří byli rozděleni do pěti skupin po 100 kusech. Do pokusných krmných směsí bylo aplikováno 13 % hrachu setého dvou odrůd nebo 10 % bobu obecného také ve dvou odrůdách. Kontrolní skupina obsahovala 0,5 % každé odrůdy hrachu a bobu.

Vybrali jsme dvě různé odrůdy hrachu a bobu, které se liší obsahem antinutričních látek. Z odrůd hrachu se sníženým obsahem antinutričních látek (inhibitorů trypsinu) byla zvolena odrůda ZEKON (5,47 mg/g) a s vysokým obsahem odrůda GOTIK (14,38 mg/g), který patří mezi tradiční odrůdy a vyznačuje se nejvyšším obsahem těchto látek. U bobu jsme vybrali bíle kvetoucí odrůdu MISTRAL s nízkým obsahem taninů (0,06 %) a barevně kvetoucí MERKUR s vysokým obsahem (1,72 %) těchto látek (PONÍŽIL et al., 2004).

K senzorycké analýze jsme použili grafické nestrukturované stupnice o délce 100 mm. Hodnocení se zúčastnilo 8 hodnotitelů. U prsní i stehenní svaloviny byly sledovány vybrané deskriptory: barva, textura, vůně, přítomnost cizího pachu, žvýkatelnost, šťavnatost, chuť a přítomnost cizí chuti. Zjištěné absolutní hodnoty jednotlivých hodnotitelů byly porovnány s průměrnými hodnotami hodnocení dané vlastnosti každým hodnotitelem a tyto relativní rozdíly byly podrobeny statistické analýze metodou analýzy rozptylu (Snedecor a Cochran, 1971). Senzorycká analýza byla provedena ve třech opakováních.

VÝSLEDKY A DISKUZE

V grafu 1 jsou uvedeny výsledky senzorycké analýzy prsní svaloviny podle průměrného hodnocení dané vlastnosti hodnotitelem. Čím je hodnota vyšší, tím je daná vlastnost lepší. Konkrétní hodnoty jsou v tabulce 1. U prsní svaloviny byly všechny deskriptory kromě žvýkatelnosti ohodnoceny nejlépe u kontrolní skupiny. Nejvýrazněji se tento rozdíl projevil u vůně a chuti, kde kontrola dosáhla hodnot $1,15 \pm 0,18$ a $1,21 \pm 0,19$, zatímco u ostatních skupin se u vůně hodnoty pohybovaly v rozmezí od $0,89 \pm 0,16$ u skupiny krmené směsí s bobem odrůdy Mistral do $0,97 \pm 0,12$ u skupiny, která měla v dietě zařazen bob odrůdy Merkur. U chuti byly hodnoty v rozmezí od $0,84 \pm 0,22$ u skupiny s bobem Merkur do $1,01 \pm 0,15$ u hrachu Gotik. Žádné rozdíly však nebyly statisticky průkazné.

V grafu 2 je uvedeno vyhodnocení senzoričké analýzy stehenní svaloviny. Výsledky jsou podobné jako u svaloviny prsní, u všech deskriptorů dopadla nejlépe kontrolní skupina. Rozdíly však opět nebyly statisticky průkazné.

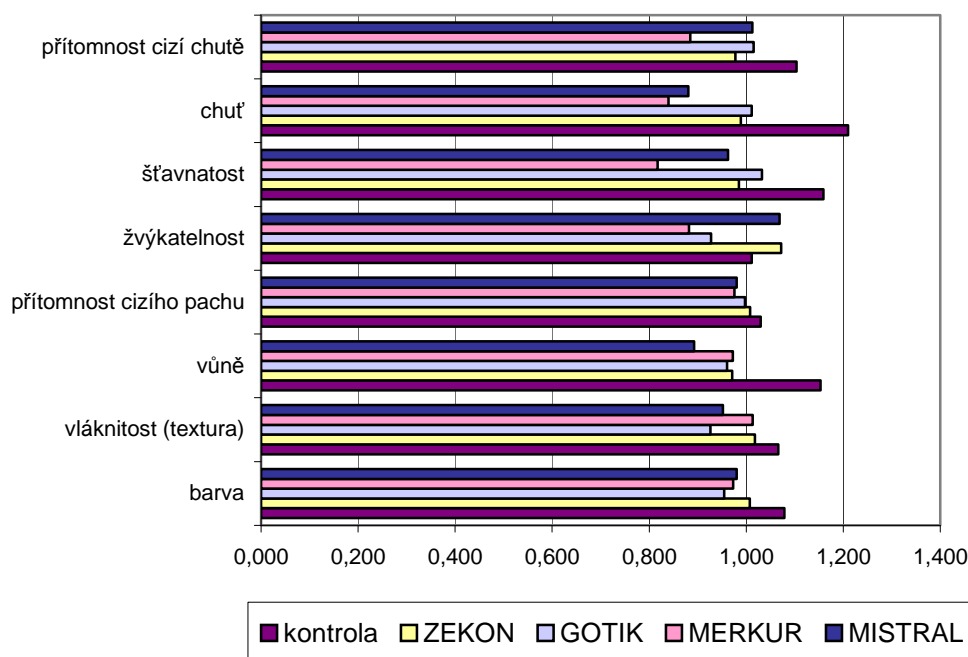
Ke stejným závěrům dospěli McNEILL et al. (2004) ve svém pokusu s brojlery, kterým bylo do krmné dávky zařazeno 20 % hrachové moučky. Organoleptické vlastnosti masa také nebyly výrazně ovlivněny. Potvrzují to také STEIN et al. (2006), kteří nahradili hrachem setým sóju v krmivu pro rostoucí prasata rovněž bez negativního ovlivnění senzoričké kvality vepřového masa.

Tab. 1 Senzorické ohodnocení prsní svaloviny podle průměrného hodnocení dané vlastnosti hodnotitelem

	barva	vláknitost (textura)	vůně	přítomnost cizího pachu	žvýkatelnost	šťavnatost	chuť	přítomnost cizí chutě
KONTROLA	1,08±0,10	1,07±0,17	1,15±0,18	1,03±0,07	1,01±0,16	1,16±0,30	1,21±0,19	1,10±0,12
ZEKON	1,01±0,09	1,02±0,15	0,97±0,09	1,01±0,03	1,07±0,17	0,98±0,27	0,99±0,21	0,98±0,15
GOTIK	0,95±0,09	0,93±0,10	0,96±0,16	1,00±0,08	0,93±0,16	1,03±0,32	1,01±0,15	1,02±0,14
MERKUR	0,97±0,09	1,01±0,10	0,97±0,12	0,98±0,05	0,88±0,20	0,82±0,22	0,84±0,22	0,88±0,19
MISTRAL	0,98±0,09	0,95±0,13	0,89±0,16	0,98±0,06	1,07±0,13	0,96±0,22	0,88±0,24	1,01±0,11

(průměr±směrodatná odchylka)

Graf 1 Senzorické ohodnocení prsní svaloviny podle průměrného hodnocení dané vlastnosti hodnotitelem

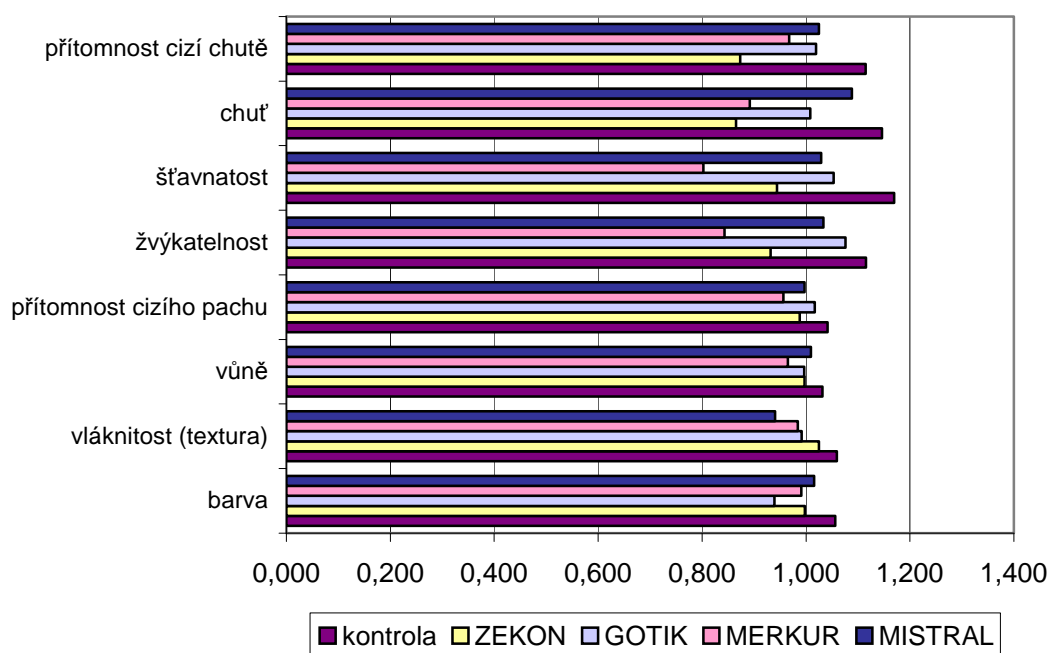


Tab. 2 Senzorické ohodnocení stehenní svaloviny podle průměrného hodnocení dané vlastnosti hodnotitelem

	barva	vláknitost (textura)	vůně	přítomnost cizího pachu	žvýkatelnost	šťavnatost	chuť	přítomnost cizí chutě
KONTROLA	1,06±0,10	1,06±0,10	1,03±0,12	1,04±0,07	1,12±0,12	1,17±0,17	1,15±0,21	1,11±0,11
ZEKON	1,00±0,07	1,02±0,08	1,00±0,10	0,99±0,05	0,93±0,13	0,94±0,15	0,87±0,13	0,87±0,17
GOTIK	0,94±0,12	0,99±0,12	1,00±0,07	1,02±0,06	1,08±0,12	1,05±0,15	1,01±0,16	1,02±0,10
MERKUR	0,99±0,11	0,98±0,12	0,96±0,11	0,96±0,08	0,84±0,18	0,80±0,18	0,89±0,15	0,97±0,11
MISTRAL	1,02±0,15	0,94±0,12	1,01±0,09	1,00±0,03	1,03±0,12	1,03±0,20	1,09±0,20	1,03±0,14

(průměr±směrodatná odchylka)

Graf 2 Senzorické ohodnocení stehenní svaloviny podle průměrného hodnocení dané vlastnosti hodnotitelem



ZÁVĚR

Z našich výsledků lze vyvodit, že zkrmování hrachu setého a bobu obecného v dietách kuřecích brojlerů nemělo v našem pokusu žádný průkazný negativní vliv na organoleptické vlastnosti prsní ani stehenní svaloviny. Rovněž se neprokázal vliv rozdílných odrůd hrachu a bobu lišících se obsahem antinutričních látek. Hrách odrůd Zekon a Gotik a bob odrůd Merkur a Mistral můžeme v hladinách 13 a 10 % bezpečně zařadit do krmných směsí pro kuřecí brojlery.

LITERATURA

MCNEILL, L., BERNARD, K., MACLEOD, M.G. Food intake, growth rate, food conversion and food choice in broilers fed on diets high in rapeseed meal and pea meal, with observations on sensory evaluation of the resulting poultry meat. *British Poultry Science*, 2004, vol.45, no. 4, p. 519-523. ISSN 0007-1668.

LAHOLA, J. et al. *Luskoviny. Pěstování a využití*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1990. 224s. ISBN 80-209-0127-2.

PONÍŽIL, A. et al. 2005. Studium využití semen hrachu a bobu v krmných směsích pro hospodářská zvířata. Roční zpráva projektu GF3070

SNEDECOR, G W., COCHRAN, W.G. 1967. *Statistical Methods*, 6th ed., Iowa State University Press, pp. 579.

STEIN, H. et al. The influence of dietary field peas (*Pisum sativum* L.) on pig performance, carcass quality, and the palatability of pork. *Journal of Animal Science*, 2006, vol. 84, no.11, p. 3110 – 3117.

THE UTILIZATION OF CORN DDG INTENDED FOR CARP (*CYPRINUS CARPIO* L.) DIETS

Využití kukuřičných výpalků v krmných směsích pro kapra obecného (*Cyprinus carpio* L.)

Kukačka V., Mareš J.

Department of Zoology, Fisheries, Hydrobiology and Apiculture, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: kukin@email.cz, mares@mendelu.cz

ABSTRACT

Effect of 0, 15 and 30% of corn DDG supplement to the diets (32% protein, 7.5% fat) for common carp (*Cyprinus carpio* L.) was investigated. The experimental feed were served three times a day (8.00, 13.00 and 18.00) to two year old carps for 42 days at daily feeding rate 3% of actually fish mass. The experiment was realized in three glass basin (200l) that were attached to recirculation system and air pump. The water temperature was 21.3 – 22.1°C, oxygen saturation 54 - 97% and pH value 7.37 – 7.84 during whole experiment. The main investigated parameters were body proportions, individual weight increment, specific growth rate (SGR), Fultons and Clarks condition coefficient and food conversion ratio (FCR). The values of body proportion, individual weight and conditions coefficients did not changed significantly by influence of different content of DDG. The highest values of growth rate was achieved by feeding diet with 15% of DDG (SGR=1.20 %·d⁻¹). The variant with 30% of DDG in diet achieved worse value of this parameter (SGR=1.14 %·d⁻¹) slightly. The lowest value of SGR achieved variant without corn DDG addition (0.97 %·d⁻¹). The values of SGR and individual weight increase were not different among experimental groups significantly. The same trend of results like a SGR values was found out by feed conversion (FCR) values. The best conversion ratio value was achieved in the group DDG 15 (FCR = 2.35), the second group was DDG 30 (FCR=1.45) and the worst values of this parameter was searched for DDG 0 group. The corn dry distillery grains could be added to common carps feeds to 30% of content. The best production result was investigated in feed variant with 15% of corn DDG addition.

Key words: growth, food conversion, stock fish

Acknowledgments: This study was supported by the Research plan No. MSM6215648905 “Biological and technological aspects of sustainability of controlled ecosystems and their adaptability to climate change“, which is financed by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

ÚVOD

V souvislosti s plánovaným zavedením povinného nahrazování určitého podílu klasických pohonných hmot ropného původu biopalivy se pro české zemědělce otevřela další možnost uplatnění jejich produktů. Jedná se zejména o řepku olejnou (*Brassica napus* L.) a z ní vyráběný MEŘO (methylester řepkového oleje), který je přidáván do nafty a obilniny pro produkci biolihu, jakožto přísadku do benzínu. Z obilnin se v podmínkách střední Evropy bude jednat zejména o pšenici, triticales, žito a kukuřici (Zeman a Tvrzník, 2007). Produkce biolihu v současné době již probíhá v rámci dalších odvětví průmyslu, např. lékárenství, chemický průmysl a pod. Po zpracování obilnin na ethanol zůstávají nevyužity lihovarské odpady - výpalky. Ty mohou být v mokřém či suchém stavu. Právě suché výpalky - DDG (dry distillery grains) se mohou stát finančně snadno dostupným krmným komponentem, vhodným pro hospodářská zvířata i pro ryby v rybníčních chovech. V minulosti již byly DDG testovány jako alternativní zdroj proteinu pro některé druhy ryb. Webster et al. (1993) krmil sumeckům skvrnitým diety se zastoupením DDG od 0% do 30%. Cheng a Hardy (2004) testovali využití kukuřičných výpalků v krmných směsích pro pstruha duhového. Wu et al. (1996) a Shawn et al. (2004) přidávali sušené obilní výpalky do krmiva pro tilapii nilskou a její křížence. U kapra testoval obilní výpalky v krmivu pro kapří plůdek Jirásek et al. (2004). Nejlepších produkčních ukazatelů dosáhli u skupiny ryb krmených dietou s 5-ti % zastoupením pšeničných výpalků.

MATERIÁL A METODIKA

Na jaře roku 2008 byla testována možnost využití kukuřičných výpalků do krmných směsí pro násadový materiál kapra obecného v rybníčních chovech. K experimentu byly použity dvouleté ryby linie Pohořelický lysec z chovu Rybníkářství Pohořelice a.s. Z těch byly vytvořeny 3 hmotnostně homogenní skupiny o 21 jedincích. Všechny ryby byly individuálně označovány vždy dvěma různě barevnými splinty do hřbetní svaloviny pro možnost individuálního vyhodnocení růstu. Na počátku a na konci experimentu byly u všech ryb zjištěny délkohmotnostní parametry a některé ukazatele exteriéru a kondice (Iv, Iš, Kf). Další kondiční parametry (Kc, HSI, GSI), vyžadující stanovení některých hodnot post mortem, byly zjišťovány na počátku pokusu u 9ks ryb a na konci u 6ks ryb z každé varianty.

Rybám byla předkládána experimentální krmiva vlastní receptury a výroby. Tato krmiva byla sestavena jako isoenergetická ($13 \text{ MJ} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DE}$), isonitrogenní (32% NL) a byla rybám předkládána 3x denně (8.00, 13.00, 18.00) v množství 3% aktuální hmotnosti obsádky. Zastoupení kukuřičných výpalků činilo dle varianty 0, 15 a 30% hmotnosti krmiva (označení skupin DDG 0, 15, 30). Pro významný nedostatek některých esenciálních aminokyselin, zejména lyzinu a metioninu, byly do krmných směsí přidány jejich syntetické varianty. Receptury krmiv, jejich nutriční a aminokyselinové složení je uvedeno v tabulce 1. a 2. Test probíhal po dobu 42 dní ve třech skleněných akváriích a objemu 200 l s kontinuální obměnou vody ($0,1 \text{ l} \cdot \text{s}^{-1}$) a rozvody pro vzduchování. V týdenních intervalech v průběhu pokusu probíhalo kontrolní zjišťování hmotnosti obsádky, následná úprava krmné dávky a čištění nádrží.

Tab. 1.: Složení krmných směsí a tabulkové hodnoty živin v dietách a výpalcích

Komponent [%]	DDG	DDG 0	DDG 15	DDG 30
DDG	-	0	15	30
Pšenice mouka	-	13	9	7
SEŠ	-	30	27	26
ŘEŠ	-	24	20	13
Otruby pšeničné	-	9	5	0
Syrovátka sušená	-	8	8	8
VITEX	-	7,7	7,7	7,6
Aminovitan	-	1	1	1
L-lyzin	-	0,3	0,4	0,5
DL-metionin	-	1	0,9	0,9
Řepkový olej	-	6	6	6
N-látky	25,8	32,2	32,2	32,4
Tuk	13,8	7,8	7,6	7,4
BNLV	48,9	36,3	36,0	36,1
DE [MJ.kg⁻¹]	16,2	13,0	12,9	12,9

Světelný režim byl nastaven na 16 hodin světla a 8 hodin tmy. Parametry kvality prostředí byly během testu zjišťovány denně a nabývali těchto hodnot: nasycení vody O₂: 54 - 97%; pH: 7,37 - 7,84; teplota vody: 21,3 - 22,1°C.

Tab. 2.: AMK složení použitých výpalků a testovaných diet

AMK [%]	DDG	DDG 0	DDG 15	DDG 30
Cys	4,1	2,8	1,8	1,2
Asp	15,2	37,5	36,5	35,8
Thr	8,2	13,9	13	12,9
Ser	12,6	16,9	16,1	17,3
Glu	61,6	67,8	66,6	66,7
Pro	10,2	15,5	13,6	12,1
Gly	18,1	16,9	16,2	15,1
Ala	10,7	15,5	16,6	17,8
Val	23,2	19,9	22,2	19
Met	6,5	10,1	11,3	7,1
Ile	3,8	16,2	15,5	15,5
Leu	18,1	27	27,5	30,1
Tyr	5,5	2,8	2,8	3,7
Phe	3,6	16,8	16,8	17,4
His	3,6	9,1	8,9	9
Lys	9,6	22	22,2	21,5
Arg	6,8	29,5	25,1	24,2

Pro stanovení ukazatelů růstu a konverze krmiva byly použity parametry FCR (Food Conversion Ratio), FCE (Food Conversion Efficiency), SGR (Specific Growth Rate), RGR (Relative Growth Rate), a hodnoty přírůstové. Pro vyhodnocení intenzity metabolismu pak hodnota PER (Protein Efficiency Ratio) (Mareš a Jirásek, 1999). Statistické vyhodnocení bylo uskutečněno v programu UNISTAT 5.1 Sheffeho metodou mnohonásobného porovnávání.

VÝSLEDKY A DISKUZE

V průběhu experimentu nebyl zjištěn úhyn ryb. Hodnoty sledovaných parametrů intenzity růstu, konverze krmiva a intenzity metabolismu jsou uvedeny v tab. 3. Mezi jednotlivými pokusnými variantami nebyly na konci testu zjištěny průkazné rozdíly hodnot u délkohmotnostních (Dc, Dt, v, š, m) ani kondičních (Kf, Kc, HSI, GSI) ukazatelů.

Tab.3. Hodnoty produkčních ukazatelů a hodnot intenzity metabolismu

		DDG 0	DDG 15	DDG 30
Vstup		6.5.2008		
Počet ryb	[ks]	21	21	21
Hmotnost ks	[g]	142,3 ± 22,1	143,6 ± 26,4	141,5 ± 24,2
Hmotnost obsádky	[g]	2989	3016	2972
Ukončení		17.6.2008		
Počet dní testu		42		
Počet ryb	[ks]	21	21	21
Hmotnost ks	[g]	220,1 ± 66,9	241,1 ± 67,8	232 ± 55,3
Hmotnost obsádky	[g]	4622	5063	4872
Přírůstek	[g]	1633	2047	1900
Přírůstek kusový	[g]	77,8 ± 49,9	97,5 ± 52,9	90,5 ± 49,9
Přír. kusový denní	[g.d ⁻¹]	1,9	2,3	2,2
RGR	[%]	53,2 ± 29,4	68,1 ± 29,4	65,8 ± 35,8
100%	[den]	79	62	64
SGR	[%·d ⁻¹]	0,97 ± 0,46	1,2 ± 0,42	1,14 ± 0,57
PER	[-]	0,99	1,18	1,17
Spotřeba krmiva	[g]	4586	4806	4662
FCR	[-]	2,81	2,35	2,45
FCE	[-]	0,36	0,43	0,41
FCR/SGR	[-]	2,9	1,96	2,15

Ryby, kterým bylo předkládáno krmivo s DDG však dosáhli vyšších kusových přírůstků o 25,3% (DDG 15 - 97,5g) resp. 11,6% (DDG 30- 90,5g) ve srovnání s kontrolní variantou DDG 0 (77,8g). Ovšem tento rozdíl mezi skupinami nebyl prokázán statistickou analýzou. Stejně jako u hodnot RGR a SGR. U parametru RGR, vyjadřujících relativní

přírůstek za období testu, dosáhly varianty DDG 15 a DDG 30 ve svých průměrech o 28,0 resp. 23,7% vyšších hodnot než kontrolní skupina DDG 0. Ryby ve variantě DDG 15 dosáhly též o 23,7% vyšší hodnoty ukazatele SGR ($1,20\% \cdot d^{-1}$) oproti kontrolní variantě ($0,97\% \cdot d^{-1}$), zatímco ryby varianty DDG 30, při stejném srovnání, jen o 17,5% ($1,14\% \cdot d^{-1}$). Zajímavý je též ukazatel 100% přírůstku své původní hmotnosti, kterého by ryby kontrolní varianty dosáhly za 79 dní, zatímco ryby krmené dietou s DDG již za 62 (DDG 15) resp. 64 dní (DDG30), při zachování intenzity chovu. U ryb skupiny DDG 15 byla konverze krmiva účinnější o 16,3% ($FCR=2,35$), zatímco u var. DDG 30 pouze o 12,8% ($FCR=2,45$) ve srovnání s kontrolní skupinou ($FCR=2,81$). Obdobně je tomu i u parametru FCE, vyjadřujícímu hodnotu přírůstku z jednotky hmotnosti krmiva, kde varianta s 15-ti % výpalků dosáhla hodnoty 0,43 a var. s 30-ti % DDG hodnoty 0,41, což je o 19,4 resp. 13,9% více než kontrolní skupina ($FCE=0,36$). Nejlepší hodnoty ukazatele FCR/SGR , který slouží jako zjednodušený ukazatel celkové produkční účinnosti krmiva, byly dosaženy u varianty DDG 15 (1,96). Pro variantu krmiva DDG 30 nabyl tento ukazatel hodnotu (2,15) o 6,5% a pro kontrolní variantu DDG 0 (2,9) dokonce o 32,4% vyšší. Využití proteinu z krmiva na přírůstek dosáhli obě varianty s výpalky obdobné hodnoty, ovšem výrazně vyšší než kontrolní skupina DDG 0 ($PER=0,99$) – o 19,2% varianta DDG 15 ($PER=1,18$), resp. o 18,2% var. DDG30 ($PER=1,17$).

Dosažené výsledky lze do jisté míry srovnávat jen s prací Jiráskova et al. (1999), kteří testovali krmnou směs se zastoupením pšeničných výpalků 0, 5, 10 a 15% pro kapří plůdek. Autoři konstatují dosažení lepších hodnot produkčních ukazatelů u všech diet s výpalky v porovnání s kontrolní skupinou, ovšem nejlepších výsledků dosáhla varianta krmiva, která obsahovala pouze 5% výpalků. Varianty s 10 a 15% výpalků dosáhly téměř identických hodnot produkčních parametrů, jen nepatrně horších než varianta s 5% DDG. Ze závěrů jejich práce vyplývá, že nepovažovali 15% zastoupení DDG v krmivech pro kapra za mezní hranici. Webster et al. (1993) dosáhli u sumečka skvrnitého největšího přírůstku a specifické rychlosti růstu (SGR) ve variantě s nejvyšším zastoupením výpalků (30%), zatímco nejlepší konverze krmiva dosáhla varianta s 20% zastoupením DDG. Cheng a Hardy (2004) konstatovali nejlepší dosažené produkční ukazatele u pstruha duhového ve skupině, již bylo předkládáno krmivo s 0% a 15% DDG oproti dalším skupinám (7,5% a 22,5%).

ZÁVĚR

Kukuřičné lihovarské výpalky lze úspěšně používat do krmných směsí pro kapří násadu až do množství 30%. Lepších produkčních ukazatelů bylo ovšem dosaženo při použití pouze polovičního množství (15%) výpalků. Obě varianty dosáhly výrazně lepších výsledků u sledovaných ukazatelů než kontrolní varianta, identických nutričních hodnot, ovšem bez zastoupení výpalků. Poměrně nízké hodnoty konverze krmiva dosažené v testu byly nejspíše negativně ovlivněny nízkou saturací vody kyslíkem. Při použití v podmínkách s vyšší koncentrací rozpuštěného kyslíku (rybniční chovy) lze očekávat dosažení lepších hodnot konverze krmiva a tedy i vyšších přírůstků.

LITERATURA

Cheng, Z. J., Hardy, R. W. (2004): Nutritional Value of Diets Containing Distiller's Dried Grain with Solubles for Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Applied Aquaculture*.15:101-113

Jirásek, J., Mareš, J.: Ukazatelé hodnocení produkční účinnosti krmiv. In *50 let výuky rybářské specializace na MZLU v Brně*. Brno: MZLU v Brně, 74-79

Jirásek, J. , Vetešník, L., Mareš, J. (2004): Využití suchých výpalků v krmných směsích pro kapří plůdek. In *55 let výuky rybářské specializace na MZLU v Brně*. Brno: MZLU v Brně, 71-76

Shawn, D. C., Mengel, G. J., Tidwell, J. H., Webster C. D.(2004): Evaluation of growth, feed utilization, and economics of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* _ *Oreochromis aureus*, fed diets containing different protein sources in combination with distillers dried grains with solubles. *Aquaculture Research*. 35: 365-370

Webster, C. D., Tidwell, J. H., Goodgame, L. S. (1993): Growth, Body Composition, and Organoleptic Evaluation of Channel Catfish Fed Diets Containing Different Percentages of Distillers' Grains with Solubles. *The progressive fish culturist*.55: 95-100

Wu, V. Y., Rosati, R. R., Brown, P. B.(1996): Effect of Diets Containing Various Levels of Protein and Ethanol Coproducts from Corn on Growth of Tilapia Fry. *J. Agric. Food Chem*. 44: 1491-1493

Zeman, L., Tvrzník, P.(2007): Využití vedlejších produktů vznikajících při výrobě bioetanolu. *Vědecký výbor výživy zvířat*, Brno, 60s

CONDUCTIVITY OF THE STALLION EJAKULATE

KODUKTIVITA EJAKULÁTU HŘEBCŮ

Mamica O., Máchal L., Severa L., Švábová L.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: mamica@mendelu.cz, machal@mendelu.cz, severa@mendelu.cz, svabova@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of our experiment was to find relation between the conductivity of the ejaculate and the qualitative parameters of the ejaculate. The investigations involved 10 clinically healthy stallions. During the four consecutive weeks of ejaculate collections the quantitative parameters and conductivity were determined. The obtained values of qualitative sperm indicators their electric properties were interpreted by statistical methods (\bar{x} , s_x , min. max.). The differences between two means were tested by the t-test. The closeness of the correlations between the respective indicators of ejaculate quality and their conductivity were interpreted by means of the calculated phenotype correlations. Calculations of phenotype correlations didn't reveal any statistically significant correlations between the conductivity of the stallion ejaculate and qualitative parameters.

Key words: stallion, ejaculate, conductivity

ÚVOD

Práce je zaměřena na sledování elektrických vlastností ejakulátu hřebců ve vztahu k vybraným kvalitativním ukazatelům ejakulátu. Cílem práce je změřit hodnoty měrné elektrické vodivosti u každého odebraného ejakulátu. Následně vyhodnotit vztah naměřených hodnot elektrických vlastností ejakulátu k zjištěným kvalitativním ukazatelům ejakulátu.

MATERIÁL A METODIKA

Sledování elektrických vlastností ejakulátu bylo provedeno u 10 klinicky zdravých plemenných hřebců různých plemen a různého věku. Sledování proběhlo ve čtyřech odběrových termínech, přičemž bylo každý odběrový termín provedeno 10 odběrů. Dle metodiky byl předpoklad, že pro další zpracování bude k dispozici 40 vzorků ejakulátu, u kterých budou provedeny měření sledovaných elektrických vlastností ejakulátu. V některých případech nemohly být změřeny a vypočteny všechny veličiny. Důvodem bylo nedostatečné množství ejakulátu.

Ejakulát byl získáván za běžného provozu reprodukčního centra a prioritou bylo zajištění potřebného množství ejakulátu pro výrobu inseminačních dávek které byly distribuovány chovatelům. Vlastní odběr ejakulátu se uskutečnil v prostorách reprodukčního centra Zemského hřebčince Tlumačov. Bezprostředně po odběru ejakulátu od hřebce bylo provedeno v laboratoři reprodukčního centra základní vyšetření ejakulátu:

- stanovení pH ejakulátu pomocí pH metru,
- stanovení objemu ejakulátu v kalibrované kádince,
- stanovení aktivity spermií subjektivním odhadem,
- stanovení koncentrace spermií hemocytometricky,
- měření elektrické vodivosti ejakulátu čtyřelektrodoým konduktometrem.

Získané hodnoty pH, objemu ejakulátu, aktivity a koncentrace spermií i zkoumané hodnoty dielektrických vlastností ejakulátu byly vyhodnoceny pomocí matematicko - statistických metod. Vztah mezi jednotlivými kvalitativními ukazateli ejakulátu a jejich elektrickými vlastnostmi byly vyhodnoceny pomocí vypočtených fenotypových korelací, průkaznost rozdílu mezi průměrnými hodnotami kvalitativních ukazatelů ejakulátu a elektrických vlastností ejakulátu byla testována t-testem.

VÝSLEDKY A DISKUSE

U sledovaných plemenných hřebců se objem získaného ejakulátu pohyboval v rozpětí 15,00 ml až 160,00 ml. Zjištěná průměrná koncentrace spermií v ejakulátu za celé sledované období byla $0,159 \cdot 10^9 \cdot \text{cm}^{-3}$. Zjištěná motilita spermií a její průměrná hodnota za celé sledované období byla vyrovnaná 69,44 %. Zjištěné průměrné hodnoty pH ejakulátu u všech hřebců za celé sledované období bylo (7,07).

Průměrné hodnoty měrné vodivosti ejakulátu hřebců za celé sledované období, měřené čtyř elektrodově, byly $0,397 \text{ S.m}^{-1}$. Mezi kvalitativními ukazateli ejakulátu a hodnotami měrné elektrické vodivosti ejakulátu byly vypočteny fenotypové korelace. Byla zjištěna významná statistická korelace mezi měrnou vodivostí ejakulátu a motilitou spermií ($r_p = 0,454$). Dále byly zjištěny významné záporné statistické korelace mezi měrnou vodivostí ejakulátu a pH ejakulátu ($r_p = -0,431$) a mezi měrnou vodivostí ejakulátu a objemem ejakulátu ($r_p = -0,416$).

ZÁVĚR

U ejakulátu vybraných plemenných hřebců byla zjišťována měrná elektrická vodivost ejakulátu. Zjištěné hodnoty byly srovnávány se základními kvalitativními ukazateli ejakulátu.

Při sledování byly zjištěny tyto průměrné hodnoty:

Základní kvalitativní ukazatele ejakulátu

- pH ejakulátu 7,07

- motilita spermií 69,44 %

- objem ejakulátu $53,33 \text{ cm}^3$

- koncentrace spermií $0,159 \cdot 10^9 \cdot \text{cm}^{-3}$

Průměrné hodnoty měrné elektrické vodivosti

- vodivost ejakulátu $0,397 \text{ S.m}^{-1}$

Vztah mezi jednotlivými průměrnými hodnotami měrné elektrické vodivosti a průměrnými hodnotami kvalitativních ukazatelů ejakulátu byl vyhodnocen pomocí statistické korelace.

Významná kladná statistická korelace byla zjištěna mezi:

měrnou vodivostí ejakulátu a motilitou spermií $r_p = 0,454$.

Významné záporné statistické korelace byly zjištěny mezi:

- měrnou vodivostí ejakulátu a objemem ejakulátu $r_p = -0,416$.

- měrnou vodivostí ejakulátu a pH ejakulátu $r_p = -0,431$.

Rozdíly průměrných hodnot měrné elektrické vodivosti ejakulátu a kvalitativních a ukazatelů ejakulátu byly statisticky neprůkazné.

Závěrem můžeme konstatovat, že na základě vypočtených korelačních vztahů, zvláště pak se statisticky velmi významnou nebo významnou závislostí lze uvažovat o možnosti využití těchto vlastností k doplňujícímu vyšetření kvality ejakulátu.

Tab. I Průměrné hodnoty kvalitativních ukazatelů ejakulátu hřebců a konduktivity ejakulátu

Odběr		pH	objem ejakulátu (ml)	motilita spermií (%)	koncentrace spermií ($10^9 \cdot \text{cm}^{-1}$)	konduktivita ($\text{S} \cdot \text{m}^{-1}$)
Celkem	x	7,07	53,33	69,44	0,159	0,397
	s_x	0,11	26,98	7,62	0,183	0,043
	max	7,34	160	90	0,548	0,405
	min	6,82	15	60	0,015	0,342

Tabulka II. Vypočtené fenotypové korelace mezi kvalitativními ukazateli ejakulátu hřebců a konduktivitou ejakulátu

	pH	objem ejakulátu (ml)	motilita spermií (%)	koncentrace spermií ($10^9 \cdot \text{cm}^{-1}$)
konduktivita ($\text{S} \cdot \text{m}^{-1}$)	-0,431	-0,416	0,454	0,391

* statisticky významná korelace

** statisticky vysoce významná korelace

LITERATURA

BRANDT, A.: Isledovanie dielektrikov na sverchvysokich častitach. GIFMK, Moskva, 1963

GAMČÍK, P., KOZUMPLIK, J.: Umelá inseminácia a andrologia hospodárskych zvierat, Príroda Bratislava, 1976, m 574 s.

KLIMENT, J.: Reprodukcia hospodárskych zvierat, Príroda Bratislava, 1989

KOZUPLÍK, J.: Morfologické zmeny a dekapitace spermií jako příčina poruchy plodnosti plemeníků, Veterinární Medicína, 35, 1990, 6, 331-336

MÁCHAL, L., KŘIVÁNEK, I.: Indicators of semen quality of roosters of tree parental layers lines and specific conductivity of the semen, Acta Vet. Brno, 2002, 71, 109-116

MARVAN, F. a kol.: Morfologie hospodárskych zvířat, ZN Brázda Praha, 1992, 303 s.

VĚŽNÍK, Z.: (cit. MASSANYI, L., TRANDŽIK, J.: Analyzovanie pohyblivosti býčích spermií v čerstvých ejakulátoch komputrovou technikou. Veterinární Medicína, 36, 1991, 2, 79-92) 1973

VĚŽNÍK, Z., ŠVECOVÁ, D.: K problematice hodnocení kvality ejakulátu plemenných býků. Náš chov, 49, 1989, 7, 301.

THE CHANGES OF MUSCLE FIBRES DIAMETER OF BULLS DEPENDING ON THE DIFFERENT FACTORS

ZMĚNY PRŮMĚRU SVALOVÝCH VLÁKEN BÝKŮ V ZÁVISLOSTI NA RŮZNÝCH FAKTORECH

Němcová K., Šubrt J., Filipčík R., Dračková E.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xnovak31@node.mendelu.cz, subrt@mendelu.cz

ABSTRACT

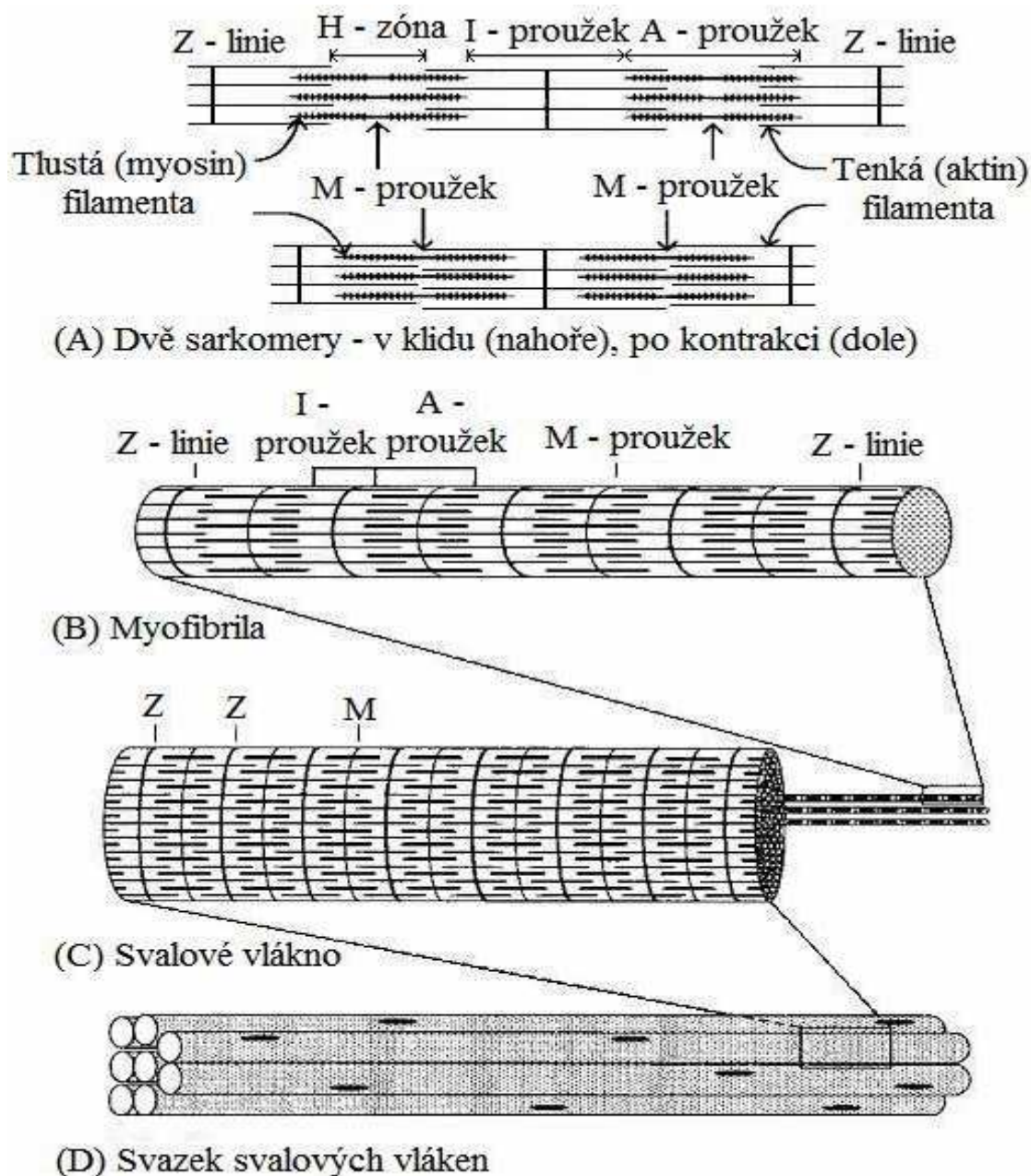
The objective of this work was to find out the changes in diameter of muscle fibres of bulls depending on different factors (age at slaughter, weight at slaughter and commercial type). To the analysis 5 breeds were included: Czech red pied bulls and his crossbreeds with the specialized meat breeds, further crossbreeds of hybrid bulls. A group of 85 animals was tested. For the analysis a pattern of musculus longissimus lumborum et thoracis was tested. This pattern was grained between the 9th and 10th dorsal vertebra. The patterns were measured by the modified software of firm LEICA used in microelectronics. Results of our work show, that age at slaughter influences diameter of muscle fibres. Their diameter grows with the age. We found out that the depth muscle fibres was $37,51 \pm 3,06 \mu\text{m}$ at the age at slaughter to 530 days, while at the age more than 541 days we measured mean value $39,41 \pm 3,27 \mu\text{m}$. Diameter of fibres is influenced even by the animal weight at slaughter. It is valid that animals have stronger muscle fibres when they have higher weight at slaughter. We noticed value $37,02 \pm 2,13 \mu\text{m}$ at the slaughter weight to 555 kg, at weight over 621 kg it was already $39,67 \pm 3,31 \mu\text{m}$. The last factor which influences mean depth muscle fibres, that we dealt with, was commercial type. The depth muscle fibres at each type is different. The strongest fibres we measured at the crossbreeds of hybrid bulls ($42,36 \pm 3,40 \mu\text{m}$), on the contrary the thinnest fibres had the bulls of Simmental ($36,91 \pm 2,64 \mu\text{m}$). The meat with thinner muscle fibres is finer, what we can distinguish when we appreciate the quality of meat. Our work show, that stated demand of the consumers we can influence by the choice of age and weight at slaughter of bulls.

Key words: bulls, diameter of muscle fibres, weight at slaughter, commercial type

ÚVOD

Funkční i morfologickou stavební jednotkou příčně pruhované svaloviny je svalové vlákno.

Obr. 1: Organizace sarkomer uvnitř myofibril a svalových vláken (HOSSNER, 2005)



Jedná se o soubuní válcovitého tvaru o délce i několika cm a tloušťce 50 – 100 μm (JELÍNEK a KOUDELA, 2003). STEINHAUSER et al. (2000) uvádějí, že se svalová vlákna rozdělují podle průměru na tenká a tlustá. Průměr tenkého svalového vlákna se pohybuje

mezi 20 – 40 μm , tlustá svalová vlákna dosahují v průměru až 100 μm . Dosahují délky až 15 cm, někdy se objevují ještě delší svalová vlákna (do 30 cm). TRNKA a OKROUHLÁ (2007) považují tloušťku svalových vláken za jeden z důležitých faktorů, které ovlivňují kvalitu masa. Svaly složené z tenčích a jemnějších vláken představují maso vyšší kvality ve srovnání se svaly se silnými svalovými vlákny. Podle JELÍNKA a KOUDELY (2003) délku i průměr svalových vláken ovlivňují jak druhová příslušnost, tak i plemeno, pohlaví, krajina těla, stejně tak i věk, výživa, chovatelské podmínky nebo pohybová aktivita zvířete. Také TRNKA a OKROUHLÁ (2007) uvádějí, že tloušťka svalových vláken je značně ovlivněna pohlavím, růstem a věkem zvířat a v neposlední řadě i kvalitou chovu. Kromě genetické determinace ji nejvýrazněji ovlivňují faktory prostředí, především pohybová aktivita a výživa.

Často se diskutuje o vzájemných vztazích síly vláken a věku, živé hmotnosti a výživy jatečných zvířat. Tyto faktory je třeba chápat ve vzájemné součinnosti. Svalová vlákna rostou s věkem jedince a jejich průměr se od narození do dospělosti zvětší 6 až 10krát (UHRÍN a UHRÍN, 1989). Také TRNKA a OKROUHLÁ (2007) poukazují na to, že u novorozených zvířat jsou všechny svaly složeny z tenkých svalových vláken o tloušťce 5 až 10 μm . S přibývajícím věkem a v souvislosti s funkčním uplatněním jednotlivých svalů svalová vlákna postupně hypertrofují a zesilují, tj. zvyšují průměr. Také podle ŠUBRTA et al. (2005) sílu svalových vláken ovlivňuje věk zvířete. Starší jedinci skotu mají svalová vlákna až 2,5krát silnější než telata. UHRÍN a UHRÍN (1989) informují, že rychlost zvětšování svalových vláken určuje intenzita růstu daného jedince, která je výslednicí intenzity tvorby bílkovin (proteosyntézy) určené geneticky a přísunem živin, to znamená výživy. Proto může mít přechodně silnější vlákna mladší zvíře, které intenzivněji roste a má vyšší hmotnost, jak starší zvíře s nižší intenzitou růstu. V dospělosti se však rozdíl vyrovnávají, protože se zastavuje růst, tvorba bílkovin se omezuje jen na obnovu opotřebovaných proteinů a ani v případě intenzivnější výživy se už netvoří svalové bílkoviny. Organismus přeměňuje živiny na tuk a ukládá je do zásoby v podobě tukového vaziva. Samozřejmě nedostatečná výživa v době růstu má za následek tenčí svalová vlákna, i když je potenciální schopnost zvířete syntetizovat svalové bílkoviny vyšší, ale zvíře ji nemůže realizovat pro nedostatek živin. ŠUBRT et al. (2005) uvádějí, že s rostoucí hmotností dochází k postupnému zesilování svalových vláken

Primitivní plemena mají silnější svalová vlákna než plemena domestikovaná – ušlechtilá. Jejich průměry se také liší mezi jednotlivými plemeny stejného druhu.

Existuje nepřímá závislost netto přírůstku a diametru svalového vlákna. Jedinci s vyšším přírůstkem při stejné porážkové hmotnosti se vyznačují tenčími a jemnějšími svalovými vlákny (ŠUBRT et al., 2005).

Ztlušťování svalových vláken, které je provázeno množováním myofibril, neprobíhá však ve všech svalech stejně. Nejvíce zesilují vlákna ve svalech často a značně namáhaných a zatěžovaných, jako jsou například svaly končetin. Naproti tomu svaly, které se funkčně uplatňují méně často a s vynaložením menší kontrakční síly (svaly v oblasti páteře), jsou u téhož jedince složeny ze svalových vláken podstatně tenčích (TRNKA a OKROUHLÁ, 2007). Také ŠUBRT et al. (2005) poukazují na to, že síla svalových vláken souvisí

s intenzitou pohybu v době výkrmu. Slabší vlákna jsou v odstupových a úponových částech a na periférii svalového břicha, naopak tlustá vlákna např. ve svalech pánevní končetiny. Podle UHRÍNA a UHRÍNA (1989) také kolísá průměr svalových vláken v jednom svalu. Toto kolísání může být velké i několik desítek mikrometrů. Proto průměr vždy vyjadřujeme průměrnými hodnotami z velkého množství vláken. Tyto průměrné hodnoty se liší v různých svalech jednoho jedince

Méně významné jsou rozdíly mezi pohlavími, i přesto samice mají zpravidla tenčí vlákna ve svalech v porovnání se samci (UHRÍN a UHRÍN, 1989). Také STEINHAUSER et al. (2000) informují o tom, že maso samic je jemnější v důsledku menšího průměru svalových vláken.

CÍL PRÁCE

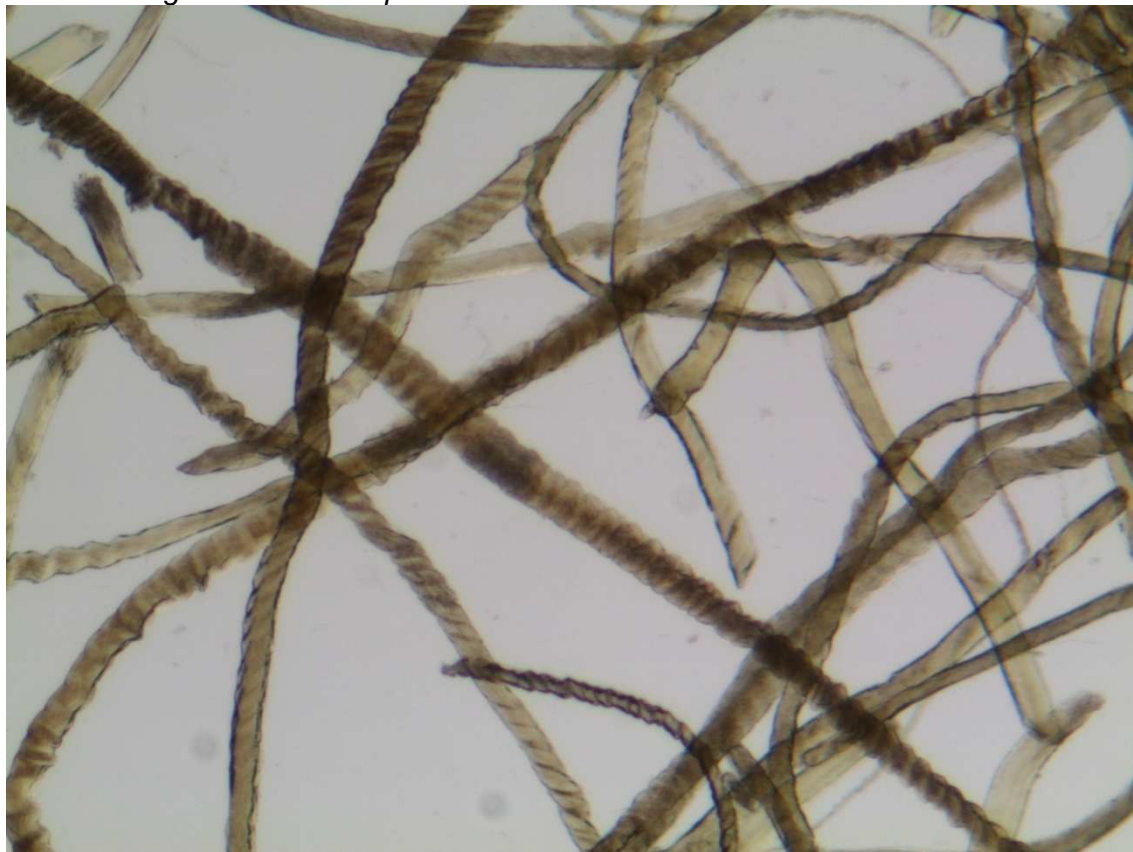
Cílem této práce bylo zjistit změny v diametru svalových vláken býků v závislosti na zvolených faktorech.

MATERIÁL A METODIKA

Do analýz bylo zahrnuto 85 býků Českého strakatého skotu – C (n=64) a jeho kříženců se specializovanými masnými plemeny: Charolais – Ch (n=6), Masný Simentál – MS (n=5), Galloway – Ga (n=4), dále kříženci hybridních býků „Chanel a Iritus“, resp. kombinace 50Ch25C25A a 50MS12,5H12,5Sh25Ch, v práci označené Hyb (n=6).

K laboratorním analýzám byl použit vzorek odblaněné svaloviny *Musculus longissimus lumborum et thoracis* získaný mezi 9. a 10. hrudním obratlem. Vzorky svalů o velikosti 1x1x1 cm byly uloženy na 50 dnů do 10 % - ního roztoku formaldehydu, 3 – 5 dní před měřením byly vloženy do 20 % - ní kyseliny dusičné, čímž došlo k uvolnění jednotlivých vláken. Klasickým způsobem byl vytvořen preparát, který byl zakapán směsí glycerinu a vody v poměru 1:1. K měření byl využit program firmy LEICA. Preparát je pozorován pod mikroskopem, jehož součástí je kamera. Kamera preparát naskenuje a obrázek je uložen do počítače, kde program provede měření náhodně vybraných vláken. U každého vzorku byl změřen průměr 150 svalových vláken a vypočítán jejich aritmetický průměr. Síla svalových vláken je uváděna v μm .

Obr. 2: Fotografie z mikroskopu.



Statistické vyhodnocení bylo provedeno v programu UNISTAT 5.1. Průkaznost rozdílu byla stanovena na úrovni 95 % a 99 % a byl použit Tukeyův HSD test.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Soubor býků byl poražen v průměrném věku $580 \pm 85,70$ dnů s velkým rozpětím od 523 dnů u nejmladších zvířat do 951 dnů u nejstarších jedinců (tabulka 1).

Jateční býci byli vykrmováni do průměrné porážkové hmotnosti $604 \pm 94,32$ kg. Nejlehčí býci byli poraženi při hmotnosti 406,80 kg, zatímco nejtěžší při 869,10 kg.

Nejnižší hmotnost JUT byla zaznamenána na úrovni 219,90 kg, naopak nejvyšší hmotnost JUT byla 488,24 kg. U skupiny býků byla zjištěna průměrná hmotnost JUT $339 \pm 53,21$ kg.

Soubor býků vykazoval průměrný přírůstek $592 \pm 96,97$ g.den⁻¹. Nejmenší netto přírůstek představoval 231,23 g.den⁻¹ a největší 794,68 g.den⁻¹.

Jatečná těla poražených býků byla hodnocena podle normy SEUROP. Nejméně zmasilá těla měla hodnotu 5 bodů, zatímco nejvíce zmasilá jatečná těla v pokusu dostala 3 body. Celková skupina měla průměrný počet bodů 3,99. Býci byli také zařazeni do tříd podle protučnělosti. Průměrný počet bodů u jatečných býků byl 2,29. Nejméně protučnělá těla měla 1 bod, naopak nejvíce protučnělá 3 body.

Tab. 1: Základní charakteristika poražených býků

Ukazatel	n	\bar{x}	S_x	Min	Max
Věk při porážce (dny)	85	580	85,70	523,00	951,00
Přepočtená hmotnost (kg)	85	604	94,32	406,80	869,10
Hmotnost JUT (kg)	85	339	53,21	219,90	488,24
Netto přírůstek (g.den ⁻¹)	85	592	96,97	231,23	794,68
SEUROP zmasilost (body) /*	85	3,99	0,39	3,00	5,00
SEUROP protučnění (body)/**	85	2,29	0,51	1,00	3,00

/* S=1, E=2, U=3, R=4, O=5, P=6 bodů

** 1=1, 2=2, 3=3, 4=4, 5=5 bodů

Na diametr svalových vláken má vliv věk poražených zvířat (tabulka 2). Se zvyšujícím se věkem v době porážky roste síla svalového vlákna, což odpovídá i našim výsledkům. Věk zvířat jsme rozdělili do tří kategorií. Ve věku do 530 dnů (n=29) jsme naměřili u skupiny býků hodnotu diametru $37,51 \pm 1,87 \mu\text{m}$. Ve věku v rozmezí 531 – 540 dnů (n=27) se tloušťka vlákna zvýšila na $38,34 \pm 3,06 \mu\text{m}$. Poslední věková kategorie zahrnovala věk zvířat nad 541 dnů (n=29), zde byla zjištěna hodnota diametru $39,41 \pm 3,27 \mu\text{m}$. Statisticky významný rozdíl na úrovni $p > 0,05$ byl zaznamenán mezi první a třetí věkovou kategorií. ŠUBRT et al. (2005) dospěl k odlišným výsledkům. V jejich analýzách nedocházelo ke zvětšování diametru svalových vláken s věkem. Ve věku do 500 dnů zjistili sílu svalových vláken $36,767 \pm 0,539 \mu\text{m}$. U zvířat poražených ve věku 501 – 560 dnů naměřili sílu vláken $36,161 \pm 0,489 \mu\text{m}$. Nad 561 dnů zaznamenali hodnotu diametru svalového vlákna $36,282 \pm 0,890 \mu\text{m}$. Odlišné výsledky byly způsobeny rozdílnou intenzitou růstu a užitkovým typem jatečných zvířat.

Tab. 2: Vliv věku poražených býků na diametr svalových vláken

Věk při porážce	n	\bar{x}	S_x	Statistická průkaznost	
				$p > 0,05$	$p > 0,01$
Do 530 dnů / ¹	29	37,51	3,06	1-3	-
531 – 540 dnů / ²	27	38,34	1,87		
Nad 541 dnů / ³	29	39,41	3,27		

¹ do 530 dnů=1; ² 531 – 540 dnů=2; ³ nad 541 dnů=3

Dalším faktorem, který ovlivňuje diametr svalových vláken, je hmotnost jatečných býků v době jejich porážky (tabulka 3). V naší práci jsme dospěli k závěru, že se zvyšující se hmotností roste také síla svalových vláken. Býci byli poraženi ve třech hmotnostních kategoriích. První kategorie zahrnovala býky poražené do 555 kg (n=31), jejich diametr svalového vlákna byl $37,02 \pm 2,13 \mu\text{m}$. Další kategorie představovala hmotnost býků

v rozmezí 556 – 620 kg (n=26), zde byla zjištěna hodnota diametru vláken $38,81 \pm 2,57 \mu\text{m}$. Poslední skupinu tvořili býci poraženi v hmotnosti nad 621 kg (n=28), u nichž jsme zaznamenali diametr $39,67 \pm 3,31 \mu\text{m}$. Statisticky průkazné rozdíly ($p>0,01$) byly prokázány mezi první a třetí hmotnostní kategorií. Další statisticky významné rozdíly byly zaznamenány na úrovni $p>0,05$ mezi první a druhou skupinou. Také ŠUBRT a ŽUPKA (1984) sledovali vliv zvyšování porážkové hmotnosti na sílu svalových vláken u 68 býků Českého strakatého skotu. V hmotnostní kategorii 1 (451 – 500 kg) zaznamenali hodnoty $34,0 \pm 1,9 \mu\text{m}$. V kategorii 2 (501 – 550 kg) zjistili hodnoty $35,7 \pm 1,3 \mu\text{m}$. V poslední hmotnostní kategorii (nad 551 kg) naměřili hodnoty $37,1 \pm 1,5 \mu\text{m}$. Stejně závěry stanovili i LÖRINC et al. (1968) a FOLTYS et al. (1980) aj. ŠUBRT a ŽUPKA (1988) také sledovali kvalitu masa u 29 býků Českého strakatého skotu vykrmovaných do vyšších porážkových hmotností. V hmotnostní kategorii 550 – 600 kg zjistili sílu svalových vláken $33,41 \pm 1,564 \mu\text{m}$, v kategorii nad 601 kg pak $38,01 \pm 1,785 \mu\text{m}$.

Tab. 3: Vliv přepočtené hmotnosti býků na diametr svalových vláken

Přepočtená hmotnost	n	\bar{x}	S_x	Statistická průkaznost	
				$p>0,05$	$p>0,01$
Do 555 kg ¹	31	37,02	2,13	1-2, 1-3	1-3
556 – 620 kg ²	26	38,81	2,57		
Nad 621 kg ³	28	39,67	3,31		

¹ do 555 kg=1; ² 556 – 620 kg=2; ³ nad 621 kg=3

Síla svalových vláken je ovlivněna i užitkovým typem poražených býků (tabulky 4). Do analýz bylo zahrnuto 5 užitkových typů. Diametry jednotlivých typů se od sebe značně lišily. Velmi podobné hodnoty diametru jsme zaznamenali u plemen C ($38,12 \pm 2,63 \mu\text{m}$) a Ga ($38,16 \pm 3,45 \mu\text{m}$). Nejtenčí svalová vlákna měl v našem pokusu MS, a to $36,91 \pm 2,64 \mu\text{m}$. Naopak nejsilnější vlákna jsme naměřili u kříženců hybridních býků (Hyb) – $42,36 \pm 3,40 \mu\text{m}$. Posledním sledovaným užitkovým typem byl Ch, u kterého jsme zjistili hodnotu $39,38 \pm 2,47 \mu\text{m}$. Statisticky průkazné rozdíly na obou hladinách významnosti byly prokázány mezi užitkovými typy C a Hyb, mezi Hyb a MS. ŠUBRT (1998) uvedl hodnocení kvality roštěnce býků českého strakatého skotu, jehož součástí byl také diametr svalových vláken ($37,46 \pm 5,09 \mu\text{m}$), který se blíží naší hodnotě. Také NOVÁKOVÁ (2007) se zabývala diametrem svalových vláken u souboru býků. U užitkového typu C zjistila sílu $38,97 \pm 5,20 \mu\text{m}$, což se shoduje s naší hodnotou. U typů Ch ($33,59 \pm 5,37 \mu\text{m}$) a MS ($38,46 \pm 3,19 \mu\text{m}$) se však naše výsledky nepatrně rozcházejí. Síle svalových vláken se věnovali i FILIPČÍK et al. (2008). U sledovaných užitkových typů zjistil nižší hodnoty, a to C ($34,03 \pm 3,65 \mu\text{m}$), Ga ($36,81 \pm 4,03 \mu\text{m}$), Ch ($37,69 \pm 6,29 \mu\text{m}$), MS ($34,90 \pm 5,57 \mu\text{m}$).

Tab. 4: Vliv užitkového typu býků na diametr svalových vláken

Užitkový typ	n	\bar{x}	S_x	Statistická průkaznost	
				p>0,05	p>0,01
C/ ¹	64	38,12	2,63	1-3, 3-5	1-3, 3-5
Ga/ ²	4	38,16	3,45		
Hyb/ ³	6	42,36	3,40		
Ch/ ⁴	6	39,38	2,47		
MS/ ⁵	5	36,91	2,64		

¹C=1; ²Ga=2; ³Hyb=3; ⁴Ch=4; ⁵MS=5

ZÁVĚR

Cílem práce bylo u 85 býků 5 užitkových typů skotu porovnat sílu svalových vláken. Jedná se o průběžné výsledky dosud neukončeného hodnocení faktorů ovlivňujících křehkost masa prostřednictvím průměrných hodnot síly svalových vláken. Z tohoto důvodu je poměrně široké variační rozpětí ve skupinách zvířat hodnocených podle faktorů (věk při porážce, porážková hmotnost a užitkový typ skotu). Z vyhodnocených dat vyplývá, že zvyšování věku jatečných býků v rozmezí do 530 dnů a nad 541 dnů se významně (p>0,05) podílí na zvyšování diametru svalových vláken (37,51 μm ; 39,41 μm). Shodné závěry lze provést i při hodnocení vlivu porážkové hmotnosti. Při zvýšení hmotnosti v kategorii s rozsahem do 555 kg a nad 621 kg se zvýšila (p>0,01) síla svalových vláken o více jak 2,5 μm (37,02 μm ; 39,67 μm). Významné změny (p>0,01) byly zaznamenány i při hodnocení vlivu užitkového typu. Nejjemnější vlákna byla naměřena u užitkového typu po otcích Masného Simentálského plemene (36,91 μm), zatímco nejsilnější svalová vlákna byla stanovena u potomstva po hybridních býcích s podílem Masného Simentálského, Charolaiského a Shorthornského plemene. Jedná se však o průběžné výsledky experimentu, které budou postupně zpřesňovány zvyšováním počtu pokusných zvířat v hodnocených skupinách.

LITERATURA

FILIPČÍK, R., ŠUBRT, J., BJELKA, M., HOMOLA, M., NOVÁKOVÁ, K. (2008): Využití hybridizace skotu k produkci hovězího masa. In: Šlechtění na masnou užitkovost a aktuální otázky produkce jatečných zvířat, Asociace chovatelů masných plemen Rapotín a MZLU v Brně, s. 104 – 110, ISBN 978-80-903143-8-2.

FOLTYS, V., NOSÁL', V., KICA, J. (1980): Vplyv plemena a živej hmotnosti na histologickú a histochemickú stavbu niektorých svalov výkrmového dobytká. In: Vědecké práce VÚŽV v Nitře, 18, s. 53 – 60.

HOSSNER, K. L. (2005): Hormonal regulation of farm animal growth, CABI Publishing, 223 s., ISBN 0 85199 080 0.

JELÍNEK, P., KOUDELA, K. (2003): Fyziologie hospodářských zvířat, MZLU v Brně, 409 s., ISBN 80-7157-644-1.

LÖRINC, F., SZEREDY, J., LOSONCSY, M. (1968): Fleischqualität und Bindegewebe. In: Fleischwirtschaft, 48, s. 796 – 798.

NOVÁKOVÁ, K. (2007): Vliv užitkového typu na kvalitu hovězího masa, Diplomová práce, MZLU v Brně, 85 s.

STEINHAUSER, L. et al. (2000): Produkce masa, Vydavatelství Last, 464 s., ISBN 80-00260-7-9.

ŠUBRT, J., FILIPČÍK, R., SIMEONOVÁ, J., BJELKA, M. (2005): Faktory ovlivňující masnou užitkovost kříženců se specializovanými výkrmovými plemeny skotu. In: Využití genetických metod ve šlechtění skotu na masnou užitkovost a její ovlivnění faktory prostředí, Asociace chovatelů masných plemen Rapotín, s. 22 – 42, ISBN 80-903143-7-6.

ŠUBRT, J., ŽUPKA, Z. (1988): Vliv zušlechťovacího křížení na kvalitu masa býků vykrmovaných do vyšších hmotností. In: Živočišná výroba, Československá akademie zemědělská, Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, 6, 33, s. 507 - 514, ISSN 0044-4847.

ŠUBRT, J., ŽUPKA, Z. (1984): Změny v kvalitě masa býků poražených ve vyšších hmotnostech. In: Živočišná výroba (tématické číslo – maso), Československá akademie zemědělská, Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, 5, 29, s. 421 – 428, ISSN 0044-4847.

TRNKA, M., OKROUHLÁ, M. (2007): Svalová vlákna – významný ukazatel kvality vepřového masa. In: Náš chov, Profi Press, s. r. o., 67, 11, s. 32 – 34, ISSN 0027-8068.

UHRÍN, V., UHRÍN, P. (1989): Produkcia mäsa z pohľadu štruktúrno funkčných vlastností svalov. Výskumný ústav živočíšnej výroby, Nitra, 82 s.

THE QUALITY OF SILAGE AND TOTAL MIXED RATIO

KVALITA SILÁŽÍ A SMĚSNÉ KRMNÉ DÁVKY

Poštulka R., Doležal P.

Department of Animal Nutrition and Forage Production, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xpostulk@node.mendelu.cz, dolezal@mendelu.cz

ABSTRACT

Our objective was to evaluate a quality of the silage at the agricultural plant. The quality of the total mixed ration was monitored and nutrient content was compared with nutrient requirements of a dairy. Maize silage, alfaalfa silage, “CCM” and sugar beet pulp silage were made. The samples of the silage were taken and analysed. Every silages had excellent quality, however the maize and alfaalfa silage had high acidity. The nutrient content did not respond to requirements of a dairy. During the evaluation process of the total mixed ration were discovered some differences in content of fiber, proteins and dry matter. It was due to different size of a particle of animal feed.

Key words: Maize, alfaalfa, silage, dry matter, protein, fiber, fermentation.

Acknowledgments: napojení příspěvku na projekt výzkumného záměru č. MSM 6215648905 „Biologické a technologické aspekty udržitelnosti řízených ekosystémů a jejich adaptace na změnu klimatu“ uděleného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

ÚVOD

Ve většině zemědělských podniků došlo k přechodu z vazného na volné ustájení, které umožňuje využít míchací krmné vozy. V souvislosti s využíváním krmných vozů dochází ke krmení směsnou krmnou dávkou nahrazující diferencované krmení jadrných a objemných krmiv.

Právě objemná krmiva, především siláže, představují hlavní komponentu směsných krmných dávek dojnic. Proto je silážím věnována velká pozornost a to nejen z hlediska chemického složení, ale také hygienické kvality a dietetického působení.

Jakákoliv disbalance mezi potřebou živin a jejím příjmem, popř. zkrmování nekvalitních, hygienicky narušených siláží, se projeví zhoršením zdravotního stavu, snížením mléčné užitkovosti a zhoršením reprodukčních ukazatelů.

MATERIÁL A METODIKA

Hodnocení kvality siláží a krmných dávek dojnic bylo prováděno v zemědělském podniku ZP Otice v průběhu roku 2007 a 2008.

Zemědělský podnik produkuje kukuřičnou siláž z celé rostliny, „CCM“, siláže ze zavadlé vojtěšky a siláž cukrovských řízků.

Chemické složení a výživná hodnota siláží byly stanoveny akreditovanou laboratoří Mikrop Čebín a EKO-LAB Žamberk. Sestavení krmných dávek zabezpečovala firma Mikrop Čebín, a.s.

Vzorky krmiv byly odebrány, zanalyzovány podle vyhlášky č. 124/2001 Sb. Vzorky kukuřičné siláže byly odebrány ze silážního žlabu, vzorky vojtěškové „senáže“ byly odebrány z hromady v přípravně krmiv a řízkové siláže přímo z PE vaků.

Vzorek směsné krmné dávky byl odebrán ihned po navezení z několika míst krmného stolu, dílčí vzorky byly znovu promíchány a byl odebrán konečný vzorek.

Laboratorní hodnocení sleduje fermentační proces (hodnotí se smyslové posouzení, obsah kyseliny mléčné a TMK, stupeň proteolýzy) a obsah sušiny, vlákniny, dusíkatých látek.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Ve sledovaném roce 2007 dosáhla kukuřičná siláž výborné kvality, byla proto zařazena v celkovém hodnocení kvality do třídy I. – Výborná. Obsah sušiny kukuřičné siláže v roce 2007 se pohyboval v průměru 320,7 g/kg sušiny. JAKOBE a kol. (1987) udávají optimální sušinu při sklizni v řepařské oblasti minimálně 32 - 36 %. Kukuřičná siláž však vykazovala vysokou kyselost vodního výluhu (1818 mg KOH/100g siláže). Kukuřičná siláž obsahovala 88,89 g/kg sušiny kyseliny mléčné a 22,35 g/kg sušiny kyseliny octové.

Obsah dusíkatých látek v kukuřičné siláži za rok 2007 se pohyboval okolo 80,16 g/kg sušiny, což je při zohlednění amoniakálního dusíku celkem 89,09 g/kg sušiny. Norma 2004 připouští 90 g/kg sušiny jako nejnižší hodnotu dusíkatých látek pro kukuřičné siláže, neuděluje však srážky za hodnoty pod uváděnou hranicí. Obsah vlákniny (dle Henneberga a

Stohmana) v kukuřičné siláži za rok 2007 byl 174,4 g/kg sušiny. Norma připouští maximální obsah na úrovni 210 g/kg sušiny.

Kvalita siláže „CCM“ dosáhla v roce 2007 dobrých výsledků, siláž byla zařazena do I. jakostní třídy – výborná. Za smyslové posouzení získal vzorek siláže plný počet bodů, totéž platilo i pro „posouzení“ stupně proteolýzy a obsahu kyseliny máselné. Tato siláž byla zařazena do fermentační třídy I. Obsah sušiny této siláže byl v roce 2007 na úrovni 651,37 g/kg sušiny. Podle „*hodnocení živinových ukazatelů*“ se má sušina kukuřice „CCM“ pohybovat v rozmezí od 550 do 690 g/kg sušiny.

Vzorek siláže z „CCM“ vykazoval poměrně nízký obsah vlákniny, a sice 28,12 g/kg sušiny, což je opět v relaci udávané normou. Podle DOLEŽALA et al. (2006) se pohybuje obsah vlákniny u kukuřice sklizené metodou „CCM“ mezi 60 – 70 g/kg sušiny.

Kukuřice „CCM“ vyhovovala hodnocení živinových ukazatelů i z pohledu dusíkatých látek, jejichž obsah byl 108,79 g/kg sušiny. Za hodnocení živinových ukazatelů získala tato siláž maximální možný počet bodů, tj. 70 bodů. Celkově byla tato siláž hodnocena jako výborná.

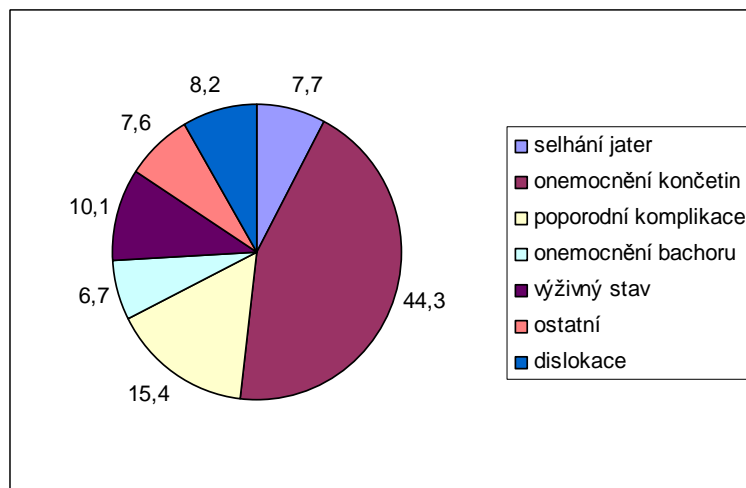
Hlavním problémem ovlivňující kvalitu bílkovinných siláží je dosažení optimální sušiny píce. Podle JAKOBEHO et al. (1987) se optimální sušina vojtěšky pro silážování pohybuje v rozmezí 40 – 45 %. Obsah sušiny silážované píce vojtěšky byl 383,3 a 422 g/kg sušiny. V podmínkách zemědělského podniku byl použit chemický preparát na bázi organických kyselin (*Mikropsil*) v dávce 3 l/t hmoty. Vojtěškové „*senáže*“ byly vyrobeny ze 3 sečí. Hodnocení živinových ukazatelů se opírá právě o obsah sušiny, vlákniny a dusíkatých látek. I přes nižší obsah sušiny ve vzorku 1 (383,3 g/kg) získaly oba vzorky siláží maximálně možný počet bodů za sušinu (tj. 20 bodů).

Obsah vlákniny byl na úrovni 184,1; resp. 203,6 g/kg sušiny, což odpovídá nejvyššímu hodnocení za vlákninu. Jako normativní hodnota dusíkatých látek v silážích ze zavadlé vojtěšky se udává hodnota 200 g/kg sušiny. U obou vzorků siláží byla tato hodnota vysoce převýšena, a sice 269,4 a 255,6 g/kg sušiny. Tento ukazatel byl tedy u obou vzorků ohodnocen 20 body. Za smyslové hodnocení získaly oba vzorky siláží shodně po 12 bodech. Kyselina máselná se u obou vzorků vyskytovala v minimálním množství a i v tomto hodnocení získaly oba vzorky maximální počet bodů, tj. 5. Ve stupni proteolýzy vykazují vzorky vojtěškových siláží mírnou odlišnost. Vzorek číslo 2 byl díky nízkému stupni proteolýzy ohodnocen 13 body, zatímco vzorek číslo 1, u kterého byl stupeň proteolýzy mírně nad úrovní (8 %), získal 11 bodů. Oba vzorky však byly zařazeny do třídy fermentace „I“.

Obě siláže ze zavadlé vojtěšky byly zařazeny do výsledné třídy I. – výborná a to i přes relativně nižší (383 g/kg sušiny) obsah sušiny u první siláže.

Siláž ze zavadlé vojtěšky však vykazovala vysokou kyselost vodného výluhu a to 2156 mg KOH/100g siláže, oproti referenční hodnotě 1450 – 1850 mg KOH/100g siláže. Podle Illka (2006) způsobuje vysoký příjem organických kyselin snížený příjem sušiny, sníženou tvorbu mikrobiálního proteinu, poruchy imunity, plodnosti. Snížená resorpce vápníku, zinku a mědi spolu s chronickou acidózou mohou být vedle působení mykotoxinů a biogenních aminů hlavní příčinou vyvolávající onemocnění končetin.

Graf č. 1: Příčiny vyřazení krav v zemědělském podniku (mimo selekci)



Lisované cukrovarské řízky vykazují ve svém průběhu vzhledem ke svému chemickému složení odlišnost ve fermentačním procesu. Nedochází k intenzivnímu mléčnému kvašení. Výsledná kvalita fermentačního procesu je závislá zejména na obsahu sušiny, vnější teplotě a teplotě silážovaných řízků, ale také na rychlosti plnění (DOLEŽAL et al. 2006). Tito autoři doporučují obsah sušiny nad 18 %, resp. 20 %. JAKOBE et al (1987) konstatují, že právě zvýšení sušiny způsobuje útlum nežádoucích kvašení.

Obsah sušiny se u vzorku řízkové siláže pohyboval na úrovni 228,3 g/kg, což je nad doporučovanou minimální hodnotou (18 – 20 %).

Vzorek řízkové siláže obsahoval 168,84 g vlákniny v kg sušiny. Podle hodnocení živinových ukazatelů nemá obsah vlákniny v řízkových silážích překročit hodnotu 250 g/kg sušiny. Obsah dusíkatých látek v řízkové siláži byl 98,9 g/kg sušiny, což nevyhovuje zcela hodnocení živinových ukazatelů. Vzhledem k dobrému smyslovému posouzení a nulovému výskytu kyseliny máselné byla řízková siláž zařazena do fermentační třídy I a do celkové třídy I. – výborná.

Vyhodnocení krmné dávky (2007)

Za sledované období byla hodnocena krmná dávka na 25 litrů. Při výpočtu krmných dávek byla použita průměrná živá hmotnost 650 kg ($H^{0,75} = 128,73$). Do krmné dávky byla započtena jadrná směs v množství 3,2 kg.

Krmná dávka vykazovala v porovnání s krmnou normou značné rozdíly. Krmná dávka vykazuje v porovnání s normou přebytek sušiny, který činí **27,4 %**, což je více než povolené rozpětí 10 % z krmné normy. Podobně hodnota NEL je v porovnání s krmnou normou vyšší, a sice o 15,9 %. Výrazný rozdíl mezi krmnou dávkou a krmnou normou byl zjištěn i u hodnot PDIN a PDIE – **52,3** resp. **30,9 %**. V nadbytku jsou proto i dusíkaté látky a to až o **47 %**. Obsahu vlákniny byl v krmné dávce vyšší o 29,6 %. Obrovský rozdíl byl zjištěn v obsahu vápníku v krmné dávce, kdy rozdíl mezi krmnou normou a obsahem v krmné dávce činil 75 %. Obsah fosforu byl v normě.

Dlouhodobě zvýšený přísun vápníku v dietě (nad 80 g/kg sušiny) vedl k jeho zajištění pouze na základě pasivního vstřebávání. Ostatní mechanismy získávání vápníku jsou utlumeny. Problémy nastanou po otelení, kdy prudce vzrostou nároky na vápník a pasivní vstřebávání nemůže požadované množství vápníku zajistit.

Z tohoto srovnání vyplývá, že živinové potřeby zvířat nejsou optimálně naplňovány krmnou dávkou. Ze srovnání je zřetelný přebytek snad všech živin.

Vyhodnocení směsné krmné dávky (2008)

Opodstatnění systému krmení směsnou krmnou dávkou se neopírá pouze o její složení, ale také o obsah sušiny. Při laboratorním rozboru vzorků TMR byl zjištěn obsah sušiny 48,16 a 46,67%. DOLEŽAL et al. (2005) uvádějí jako doporučenou hodnotu 50 – 55 %. Struktura směsné krmné dávky je ovlivněna nejen podílu jednotlivých krmiv, ale také na způsobu a délce míchání v krmném voze. Správná struktura krmiv velice úzce souvisí s fyziologickou funkcí batoru, k jeho motorice, k přezvykávání a obsah mléčného tuku. Jako fyziologické rozmezí uvádějí výše jmenovaní autoři 8 – 10 %. Obsah strukturální vlákniny byl zjištěn u vzorků TMR 7,35 a 8,34 %.

U vzorku TMR byly velké rozdíly i v separaci částic krmné dávky, stanovené na separátoru. Referenční hodnoty udávají procentuelní podíl částic na horním síti 2-8 %, na prostředním síti 30 – 50 %, na spodním síti 30 – 60 %, na dně méně než 20 %. Podíl částic na vrchním síti byl okolo 39 %, což neodpovídá referenční hodnotě. Podíly částic na středním síti (35,2 %) a na dně (3,8 %) se pohybovaly v doporučeném rozmezí. Podíl částic na spodním síti byl pod referenční hodnotou (21,1 %). V současné době nabývá na významu stanovení frakcí vlákniny a to především ADF a NDF. Jako optimální hodnota se pro ADF uvádí 16 – 20 % pro NDF minimálně 30 % v sušině. Ve vzorcích TMR byly zjištěny hodnoty ADF 19,6 % resp. 21,9 %, u frakce NDF 28,5 resp. 33,5 %.

CHAMBERLAIN a WILKINSON et al. (2006) uvádějí jako optimální obsah dusíkatých látek v krmných dávkách dojníc při užitkovosti 20 l/den 155 – 165 g/kg sušiny, při užitkovosti 30 l/den 165 – 175 g/kg sušiny. U vzorků TMR pro dojnice na vrcholu laktace byl zjištěn obsah 226,4 g NL/kg sušiny, u vzorku TMR pro krávy v období rozdojování bylo zjištěno 203,7 g NL/kg sušiny. Výše uvedení autoři dále konstatují, že právě překrmování dusíkatými látkami způsobuje snížení plodnosti, snížení pH v děloze a tím zhoršení výsledků následné reprodukce.

ZÁVĚR

Všechny siláže dosáhly co do živinového složení v daném roce výborné kvality. U všech sledovaných siláží byla kvalita fermentačního procesu dobrá. Kukuřičná siláž a siláž ze zavadlé vojtěšky však vykazovaly vysokou kyselost vodního výluhu.

Zhodnocená krmná dávka vykazovala značné rozdíly vzhledem ke krmné normě. Obsah sušiny, dusíkatých látek, energie, vápníku, PDIN, PDIE byly v nadbytku, pouze obsah

fosforu byl oproti krmné normě nižší. Vysoký obsah vlákniny v krmné dávce snižuje využitelnost ostatních krmiv, ale především zabírá místo energeticky bohatšími živinami, což má význam především v období rozdojování. Dlouhodobé překrmování dusíkatými látkami v dietě může vyústit v bachorovou alkalózu.

Směsná krmná dávka byla hodnocena z několika možných pohledů. Z hlediska struktury a separace částic vykazovala směsná krmná dávka odlišnosti od referenčních hodnot a to především na horním a středním síti. Sušina směsné krmné dávky byla pod optimální hodnotou. Obsah vlákniny byl z hlediska bachorového zdraví pod spodní hranicí 8 %. Frakce vlákniny ADF u směsné krmné dávky pro dojnice na vrcholu laktace byly v optimální výši, frakce NDF byla mírně pod minimální hodnotou. U směsné krmné dávky pro dojnice v období rozdojování byla hodnota frakce ADF nižší, frakce NDF byla v optimu.

LITERATURA

- ADAMOVIČ, H.: Proč hodnotit objemná krmiva, *Krmivářství*, 2007, č.1, roč. 11, s. 8 – 9.
- BARAN, M.: *Ovplyvňovanie bachorovej fermentácie prežúvavcov*. HARLEQUIN QUALITY, Košice, 2002, 1. vyd., s. 50, ISBN 80 – 968824 – 2 - 2
- ČEREŠŇÁKOVÁ, Z., et al.: Význam vlákniny ve výživě zvířat. In *Výživa dojnic a kvalita mléka. Sborník příspěvků z mezinárodního semináře*. Rapotín. Výzkumný ústav pro chov skotu, 2007. s.4-9.
- DOLEŽAL, P. et al.: Možnosti hodnocení kvality TMR pro dojnice z pohledu laboratoře a praxe. *Krmivářství*, 2005, č.2, roč. 9, s. 22 – 25.
- ILLEK, J.: Kvalita a hygienická nezávadnost siláží. *Náš chov*, 2007, č. 10, s.42-46.
- JAKOBE, P.: et al.: Konzervace krmiv, Praha, SZN, 1987, s. 250
- KUDRNA, V., et al.: Skladba krmných dávek pro dojnice a technika krmení. *Krmivářství*, 2007, roč. 11, č. 4, s. 26 – 27.
- PAŘILOVÁ, M.: Prevence a monitoring produkčních chorob. *Náš chov*, 2007, č. 11, s. 22-23
- ŠLOSÁRKOVÁ, S., SKŘIVÁNEK, M.: Fyziologie a patofyziologie metabolismu základních živin, minerálních látek a vitaminů u přežvýkavců. In *Kvalifikované osoby ve výrobě, distribuci a kontrole medikovaných premixů a ve výrobě a uvádění do oběhu medikovaných krmiv*. Brno: VFU Brno. Institut celoživotního vzdělávání a informatiky VFU Brno. 2002, modul II – A, s. 6 -9
- WILKINSON, J. M.: *Silage*. Ruddocks print. 2005, 254 s.

STATISTIC ANALYSIS OF THE POPULATIONS OF AKHALTEKE HORSES ON THE BASIS OF BODY MEASUREMENTS IN CHOSEN COUTRIES

STATISTICKÁ ANALÝZA POPULACÍ ACHALTEKINSKÝCH KONÍ VE VYBRANÝCH STÁTECH NA ZÁKLADĚ TĚLESNÝCH MĚŘ

Prausová M., Jiskrová I., Sobotková E., Majvelder L.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

Email: prauska@seznam.cz, jiskrova@mendelu.cz

ABSTRACT

Our research object was to record and to measure as much as possible Akhalteke horses, which are bred in Czech Republic, Russia and Kazakhstan. We measured and recorded 3 basic body measures – Height at withers, chest girth and girth of cannon. The only condition we have was the age of horses determined on to 3.5 years and older. At the end we recorded 260 horses. We divided the values to the groups according to state, sex and age category. We use the GLM method and Tukey-B test to evaluate the results. The results of the analyse of the Height at withers (HW) shew the statistically conclusively lower values of Czech horses than in horses from Russia and Kazakhstan. The average of the HW of Czech Akhalteke horses is 154.0385cm, in comparison with Russia 157.94 cm and Kazakhstanu 156.53 cm. Next we found the statistically conclusive differencies of the values of the Girth of Chest (GCh) between Akhalteke horses from Russia (179.65 cm), Czech Akhalteke horses (177.08 cm) and horses from Kazakhstan (174.82 cm). Also the Akhalteke mares (180.06 cm) had the statistically conclusively higher the GCh than stallions (176.58 cm).

Key words: Akhalteke horses, body measures, breed standard

Acknowledgments: Příspěvek vznikl za podpory řešení výzkumného záměru MSM 6215648905 a grantového projektu IGA 280191.

ÚVOD

Achaltekinský kůň je považován za nejstarší plemeno koní na světě. Vznikl šlechtěním místních koní turkmenskými kmeny, především kmenem Teke v oáze Achal v blízkosti Ašchabádu, dnešního Turkmenistánu (MAREŠOVÁ, 2004; ABRAMOVA, 2003). V současnosti je největší populace achaltekinských koní chována v Turkmenistánu (cca 40 %), v Rusku, Uzbekistánu a v Evropě a Americe. Sjednocením chovatelů po celém světě vznikla Mezinárodní asociace chovatelů achaltekinských koní (MAAK), jejímž prezidentem se stal prezident Turkmenistánu S. T. Nyazov (SHIRLIYEV, 2003). Celkový počet achaltekinských koní ve světě je odhadován na 6000 ks. Achaltekinský kůň je veden jako kulturní památka UNESCO (GLAZOVSKAYA, 2003). Je to kůň všestranně využitelný, konstitučně tvrdý a ochotný k práci (www.maak.ru).

Rozmezí tělesných měr udává IX. plemenná kniha a to jako minima a maxima naměřená v daném roce u všech koní (Tab. 1 a 2). Důvodem je, že stavy achaltekinských koní jsou stále nízké a zařazují se do chovu i jedinci s mírami neodpovídajícími standardu, pokud jejich rodokmen a výkonnost dostává požadavkům k zařazení do PK. Průměrné hodnoty tělesných měr jsou popsány v Tab. II (RJABOVA et al., 1993; KUZNETSOVA et al., 2007). Cílem naší práce bylo posoudit, zda se průkazně liší jednotlivé tělesné rozměry koní z různých chovatelských zemí.

MATERIÁL A METODIKA

Podkladová databáze achaltekinských koní byla sestavena na základě seznamu koní poskytnutým Českým svazem chovatelů achaltekinského koně (ČSCHAT), chovateli tří ruských hřebčínů (hřebčín Akhalt-Service Eisk, hřebčín Stavropol a hřebčín Schamboranta) a hřebčína Achal-Teke v Kazachstánu.

U všech koní byly zaznamenány tyto údaje:

- Jméno koně
- Otec
- Matka
- Otec matky
- Rok narození
- Pohlaví
- Stát
- Tělesné míry

1 Vymezení srovnávací základny achaltekinských koní

Celkový počet změřených achaltekinských koní v České republice byl 39, v Rusku 204 a v Kazachstánu 17.

Celou databázi 260 koní jsme rozdělili podle tří efektů:

- Stát
- Pohlaví
- Věková skupina

Třídění do skupin podle státu

Soubor jsme rozdělili podle údajů o majiteli koně, získali jsme celkem tři skupiny a číselně jsme je označili:

- 1 – Rusko (n = 204)
- 2 – Česká republika (n = 39)
- 3 – Kazachstán (n = 17)

Třídění do skupin podle pohlaví

Databázi jsme rozdělili podle pohlaví koní a číselně jsme je označili:

- 1 – hřebec (n = 83)
- 2 – klisna (n = 177)

Třídění do skupin podle věkové skupiny

Databázi změřených koní jsme s ohledem na vývin plemene rozdělili do šesti skupin podle data narození a číselně označili:

- 1 – ročník 1982-1990 (n = 31)
- 2 – ročník 1991-1993 (n = 39)
- 3 – ročník 1994-1996 (n = 47)
- 4 – ročník 1997-1999 (n = 54)
- 5 – ročník 2000-2002 (n = 51)
- 6 – ročník 2003-2005 (n = 38)

2 Měření koní

Koně v ČR jsme měřili kalibrovanou mírou hůlkovou a páskovou. Hodnoty tělesných měr koní z Ruska a Kazachstánu nám byly poskytnuty chovateli z hřebčínů. Tyto míry měřila v Rusku jedna pověřená osoba, taktéž tomu bylo i v Kazachstánu.

Tab. 1: Průměrné tělesné míry achaltekinských koní (www.maak.ru/breed_standart.php3)

Míry	Hřebci	Klisny
Kohoutková výška hůlková (KVH)	159	157
Obvod hrudníku (OH)	176	178
Obvod holeně (Ohol)	19,5	19

Tab. 2: Rozmezí tělesných měr achaltekinských koní (RJABOVA et al., 1993)

Míry	Hřebci	Klisny
Kohoutková výška hůlková (KVH)	154-165	146-166
Obvod hrudníku (OH)	168-185	161-192
Obvod holeně (Ohol)	18,5-20	17-20,5

3 Metody statistického zpracování

Pro porovnávání tělesných rozměrů koní z různých chovatelských zemí jsme využili parametry popisné statistiky, při testování vlivu efektů stát, pohlaví a věková skupina metody obecného lineárního modelu GLM. Použili jsme statistický program UNISTAT, verze 5.1.

V případech statisticky průkazného vlivu sledovaného efektu jsme stanovili vzájemné rozdíly hodnot tělesných měř pomocí Tukey-B metody mnohonásobného porovnávání.

Výpočet j lineárního modelu proběhl podle modelové rovnice:

$$Y_{ijkl} = \mu + p_i + s_j + v_k + e_{ijkl}, \text{ kde:}$$

μ = obecná střední hodnota

p_i = efekt i-tého státu ($i = 1,2,3$)

s_j = efekt j-tého pohlaví ($j = 1,2$)

v_k = efekt k-té věkové skupiny ($k = 1, \dots, 6$)

e_{ijkl} = reziduum

VÝSLEDKY A DISKUZE

1. Analýza kohoutkové výšky hůlkové (KVH)

Analýza souboru prokázala statisticky průkazný vliv efektu stát na kohoutkovou míru hůlkovou achaltekinských koní (Tab. 3).

Následným testováním (Tab. 4) jsme zjistili statisticky průkaznou odlišnost hodnot českých koní od koní pocházejících z Ruska a Kazachstánu. Koně v České republice mají průkazně nižší KVH než koně z Ruska či Kazachstánu. Podle našich výsledků souhrnné statistiky je zřejmé, že variabilita hodnot KVH souboru ruských achaltekinských koní je nižší ($V_x = 0,0198$) než koní z České republiky ($V_x = 0,0239$) a Kazachstánu ($V_x = 0,0233$). Domníváme se, že důvodem je delší historie šlechtění achaltekinského koně v Rusku, větší selekční tlak, vývoz jedinců s nižšími hodnotami KVH. Menší vyrovnanost KVH skupiny achaltekinských koní v ČR může být důsledkem podmínek chovu koní v ČR, především pak skutečnost, že většina koní pochází z chovu na Chrastavě. Jak píše PRAUSOVÁ (2006), byly podmínky tohoto chovu velmi nedostatečné, jak v krmení koní, tak v celkovém managementu chovu. Domníváme se, že také importy koní z východu souvisí s nižší KVH. Je možné, že důsledkem nákupů jedinců s nižším hodnocením a tudíž i nižšími hodnotami základních tělesných měř jsou hodnoty KVH koní v České republice statisticky průkazně nižší než u koní v Rusku a Kazachstánu.

Tab. 3: Zjištění statisticky průkazných rozdílů hodnot zvolených efektů pro faktor KVH

Zdroj variability	Součet čtverců	St. vol.	Významn.
Konstanta	6429952,524	1	0,0000
Dat. narození	11,628	5	0,9542
Pohlaví	21,977	1	0,1516
Stát	475,217	2	0,0000
Vysvětleno	545,169	8	0,0000
Chyba	2666,557	251	
Celkem	3211,726	259	

Tab. 4: Mnohonásobné porovnávání hodnot KVH pro efekt STÁT pomocí Tukey-B

Skupina	Příp.	Průměr	2	3	1
2	39	154,0385		*	*
3	17	156,5294	*		
1	204	157,9363	*		

1 – Rusko, 2 – Česká republika, 3 – Kazachstán

* - statisticky průkazný rozdíl

2. Analýza obvodu hrudníku (OH)

Analýza souboru prokázala statisticky průkazný vliv efektů stát a pohlaví na obvod hrudníku (Tab. 5). Pomocí následného testování (Tab. 6 a 7) jsme vyhodnotili statisticky průkaznou odlišnost hodnot OH.

V případě průkazné odlišnosti OH achaltekinských koní testované na efekt stát (Tab. 6), jsme zjistili, že koně chovaní v Rusku mají statisticky průkazně větší OH než koně v Česku či Kazachstánu. Domníváme se, že koně v Rusku jsou mohutnější z důvodu zaměření chovu na využití v dostizích a jezdeckém sportu. Achaltekinišší koně jsou v Rusku častěji než v ostatních zemích využíváni ve sportu a především v dostizích. Dalším důvodem může být větší počet chovných klisen v Rusku. Ty jsou zde rovněž intenzivněji využívány v reprodukci.

Také vliv efektu pohlaví se projevil při testování hodnot OH achaltekinských koní. Mnohonásobné porovnávání nám umožnilo zjistit, jak velký byl statisticky významný rozdíl mezi skupinou hřebců a klisen. Tab. VII uvádí průkazně vyšší průměr OH zjištěný u klisen než hřebců. OH je míra, která je velice ovlivnitelná kondicí, také však tréninkem či případnou březostí (SOBOTKOVÁ, 2006; DUŠEK, 2001). Odlišnost OH klisen od hřebců je rovněž zdůrazněna v plemenném standardu achaltekinského plemene (Tab. 1, 2). V něm je stanovené rozhraní OH pro klisny až 30 cm, oproti hřebcům (20 cm).

Tab. 5: Zjištění statisticky průkazných rozdílů hodnot zvolených efektů pro faktor OH

Zdroj variability	Součet čtverců	St. vol.	Významn.
Konstanta	8326078,230	1	0,0000
Dat. narození	199,588	5	0,4355
Pohlaví	635,673	1	0,0001
Stát	475,397	2	0,0035
Vysvětleno	1420,950	8	0,0001
Chyba	10309,220	251	
Celkem	11730,170	259	

Tab. 6: Mnohonásobné porovnávání hodnot OH pro efekt STÁT pomocí Tukey-B

Skupina	Příp.	Průměr	3	2	1
3	17	174,8235			*
2	39	177,0821			*
1	204	179,6520	*	*	

1 – Rusko, 2 – Česká republika, 3 – Kazachstán

* - statisticky průkazný rozdíl

Tab. 7: Mnohonásobné porovnávání hodnot OH pro efekt POHLAVÍ pomocí Tukey-B

Skupina	Příp.	Průměr	1	2
1	83	176,5759		*
2	177	180,0644	*	

1 – hřebci, 2 – klisny

* - statisticky průkazný rozdíl

3. Analýza obvodu holeně (Ohol)

Analýza souboru hodnot obvodu holeně neprokázala statisticky průkazný vliv u žádného z efektů (Tab. 8). Hodnoty Ohol achaltekinských koní se tedy minimálně lišily mezi jednotlivými zeměmi chovu, pohlavími a věkovými kategoriemi. Rovněž rozpětí hodnot OH ve standardu achaltekinského plemene je úzké (Tab. 2),

Tab. 8: Zjištění statisticky průkazných rozdílů hodnot zvolených efektů pro faktor Ohol

Zdroj variability	Součet čtverců	St. vol.	Významn.
Konstanta	99157,716	1	0,0014
Dat.narození	300,441	5	0,1749
Pohlaví	0,794	1	0,8863
Stát	9,512	2	0,8846
Vysvětleno	330,039	8	0,3887
Chyba	9729,835	251	
Celkem	10059,874	259	

ZÁVĚR

V naší práci jsme se zabývali podrobnou analýzou tělesných měr achaltekinských koní chovaných v České republice, Rusku a Kazachstánu. Podkladovou databázi tvořil soubor tří základních tělesných měr achaltekinských koní. Koně pocházeli v České republice od několika desítek majitelů, v Rusku ze tří významných hřebčínů a v Kazachstánu z jednoho nejvýznamnějšího a největšího hřebčína. V práci jsme porovnávali tělesné míry s ohledem na chovatelskou zemi koní, pohlaví a věkovou kategorii. Sledovali jsme vliv těchto faktorů na jednotlivé tělesné míry v závislosti na daném efektu. V případě prokázání statistické významnosti je dále testovali mnohonásobným porovnáváním Tukey-B testem.

Zjištěné výsledky dokumentují statisticky průkazné rozdíly mezi sledovanými efekty. Byl prokázán vliv země původu na KVH a OH achaltekinských koní; pouze u hodnot obvodu holeně jsme neprokázali žádnou statisticky významnou odlišnost. Výsledky analýzy KVH ukázaly statisticky průkazně nižší hodnotu KVH achaltekinských koní v České republice než koní z Ruska a Kazachstánu. Průměrná hodnota KVH českých achaltekinských koní 154,04 cm, v porovnání s koňmi z Ruska 157,94 cm a Kazachstánu 156,53 cm. Dále jsme vyhodnotili statisticky průkazný rozdíl hodnot OH ruských koní (179,65 cm) a koní z ČR (177,08 cm) a Kazachstánu (174,82 cm). Zjistili jsme rovněž průkazný rozdíl hodnot OH mezi jednotlivými pohlavími, a to průkazně větší OH u achaltekinských klisen (180,06 cm) než hřebců (176,58 cm).

V návaznosti na dané výsledky a diskuzi jsme stanovili závěry a doporučení pro budoucí praxi s cílem sjednotit populace achaltekinských koní v jednotlivých chovatelských zemích a zefektivnit chovatelské úsilí.

Zpřísnit plemenný standard achaltekinského plemene pro základní tělesné míry vymezením užšího rozpětí hodnot tělesných rozměrů v případě KVH a OH

Zařazovat do plemenitby pouze jedince odpovídající danému plemennému standardu a ty využívat dále v plemenitbě

Všechny koně by měla měřit osoba k tomuto účelu pověřená a proškolená, aby se docílilo co největší přesnosti v měření achaltekinských koní.

Je nutné zpřísnit výběr stanoviště pro měření koní. Dané místo musí splňovat základní požadavky: rovná plocha, stabilní, zpevněný povrch (nelze objektivně a precizně měřit koně například na travnatém povrchu, kdy kvalita záleží na úpravě a povětrnostních vlivům, či na nerovném bahnitém podkladu, atd.), který nepodléhá povětrnostním vlivům. Neméně důležité pro korektní měření koní je optimální stav měřidel. Je nutné koně na měření řádně připravit.

Je potřeba vybírat jedince pro dovoz do České republiky nejenom podle původu, ale také podle typu, exteriéru a základních tělesných měr. Bezchybný exteriér a vyrovnané tělesné míry představují základní ukazatel úspěšnosti daného koně jak ve sportovním využití, tak v chovu.

LITERATURA

ABRAMOVA, N. V., (2003): Achaltekinskaja poroda. Moskva, Vserosijskij Naučno-isledovatelskij institut koněžavodstva, s. 16.

DUŠEK, J., et al., (2001): Chov koní. Praha, Nakladatelství Brázda, s.r.o, s. 352. ISBN: 80-209-0282-1

GLAZOVSKAYA, L. K., (2003): Akhateke - A great racer of history. Aschabad, TDH – V. M. Khramov, s. 184.

KUZNETSOVA, J. et al., (2007): Achal-Teke inform. Moskva, Muzeum Koněvodstva Timirjazovy Univerzity, s. 172.

MAREŠOVÁ, P. Achaltekinský kůň. [verbální informace], 12. 9. 2004

PRAUSOVÁ, M., (2006): Chov achaltekinského koně v ČR. (Diplomová práce), Brno, 133s. MZLU v Brně.

RJABOVA, T. N., et al., (1993): Gosudarstvennaja plemennaja kniga lošaděj čistokrovnoj achaltekinskoj porody: TOM IX. Moskva, Vserosijskij Naučno-isledovatelskij institut koněžavodstva, s. 627. UDK: 636.11.082.21

SHIRLIYEV, Ch., (2003): Achaltekinci – Rajske koni = The Divine Akhalteke Horse. Ašchabád, Kelet-Dag LLC, s. 624. ISBN: 5-637861-08-0

Breed standard of the Akhalteke horses. [online]. [cit. 10. května 2008]. Dostupné na http://www.maak.ru/breed_standart.php3

SOBOTKOVÁ, E., (2006): Analýza populace starokladrubskeho koně z hlediska tělesné stavby. (Diplomová práce), Brno, 132 s. MZLU v Brně

EVALUATION OF INFLUENCE OF WEIGHT OF PIGLETS DURING THE WEANING ON THEIR WEIGHT GAIN AND FEED CONVERSION IN COMPARISON OF TWO FEEDING MIXTURES.

HODNOCENÍ VLIVU HMOTNOSTI SELAT PŘI ODSTAVU NA JEJICH PŘÍRŮSTEK A KONVERZI KRMIVA V POROVNÁNÍ DVOU KRMNÝCH SMĚSÍ

Rada V., Čechová M.

Ústav chovu a šlechtění zvířat, Agronomická fakulta, Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika

E-mail: xrada@node.mendelu.cz , cechova@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this work was the evaluation of influence of initial weight of piglets during the weaning on their growth in comparison of two feeding mixtures. In experiment were chosen 80 piglets, which were scaled and then separated into special, separated sections. Piglets were fed by feeding mixture ČOS for 18 days and then they were scaled again. Out of this group were chosen 50 piglets with similar weight and they were weighted again. These 50 piglets were separated into two groups. In each group there were given 25 piglets. In each group piglets were fed by different feeding mixture. Feeding mixture A1 no.1 was made in own manufactory, second mixture A1 no.2 was bought from a trading company. Feeding mixtures were bought in the amount of 1000kg and the experiment was finished at the time when one mixture was consumed. The experiment was carried out for 30days. Growth gain and feed conversion were observed. Better results achieved group were feed mixture A1 no.2. Fully it was fed 835 kg of the second mixture, total growth gain of the whole group came to 434,5 kg, feed conversion equated 1,92 kg per kg of weight gain and an average weight gain was 580 g per day. It was fed 1000 kg of the first mixture. So the whole amount was fed. Total growth gain of the whole group came to 400,0 kg, feed conversion equated 2,5 kg per kg of weight gain and an average weight gain was 537 g. This study was supported by the Research projekt MSM 6125648905.

Key words: feeding mixture, weight gain, feed conversion, pilet

ÚVOD

V poslední době prochází chov prasat celosvětově značně obtížným obdobím. Nepříznivá ekonomická situace na trhu přiměla řadu podniků k zásadním rozhodnutím v mnoha zemích dochází ke snížení početních stavů prasat. Dle Českého statistického úřadu klesly meziročně stavy prasat ve výkrmu o více jak 9 %, stavy prasnic klesly o 24 %, stavy prasniček klesly o 20 %, což znamená pokles o více než 23 % v celém sektoru chovu prasat.

Každý ekonomický subjekt na trhu musí být konkurenceschopný a vůči nepříznivé situaci na trhu se brání zaváděním opatření pro zlepšení své situace. V chovu prasat jsou to opatření k dosažení konkurenceschopnosti především ve snižování nákladů na jednotku výroby. Největší vliv na ekonomiku chovu prasat má počet životaschopných selat získaných od jedné prasnice za rok (49 % z celkových N), následovaný spotřebou krmiva (16%) a cenou krmiv (14%). Cena komodit, zejména obilovin potřebných pro výrobu krmiv, během druhé poloviny roku 2007 a první poloviny roku 2008 vzrostla několikanásobně avšak cena vepřového masa se výrazně nezměnila (Pulkrábek et al., 2005).

Prasata jsou složením a nároky na kvalitu krmiv přímým konkurentem člověka. Hlavní krmiva (obiloviny a sója) a živiny (proteiny, tuky a oleje) používaná pro krmení prasat mohou s malými úpravami sloužit jako přímé zdroje ve výživě člověka. To zvyšuje požadavky na co nejmenší plýtvání jak ve zdrojích krmiv, tak i v jednotlivých živinách. Moderní, rychle rostoucí genotypy prasat mají značně vysoké požadavky na potřebu energie a živin, ale vyznačují se také sníženou schopností přijímat větší objem krmiva (Pulkrábek et al., 2005).

Růst prasat je složitý biologický proces, který je charakterizován dvěma základními jevy :

- kvantitativním procesem – množením a růstem buněk
- kvalitativním procesem – diferenciací jednotlivých buněk různého tvaru a kvality

(Čechová, Mikule, Tvrdoň, 2003).

Růst lze charakterizovat po stránce genetické jako typický znak polygenního charakteru, na němž se podílejí geny malého účinku, tj. polygeny a faktory prostředí. Lze hodnotit také jeho fenotypovou proměnlivost a heritabilitu (Šiler, Kníže, Knížetová, 1980).

U rostoucích prasat se mění složení těla v závislosti na hmotnosti, příjmu energie i délce výkrmu. Denní přírůstky u starších prasat jsou absolutně vyšší, ale relativní přírůstky jsou nižší. Prasata potřebují k růstu (k uložení živin v těle) určité množství živin, které je definováno normou potřeby živin. Z živin přijatých v krmné dávce rostoucí prase nejprve uhradí svoji záchovnou potřebu a teprve zbývající část použije k reprodukci (tzn. k tvorbě přírůstku). Prasata během růstu rovnoměrně ukládají v těle dusíkaté látky anebo popeloviny. Tuk je zpočátku ukládán málo a přibližně od 60 kg živé hmotnosti se jeho denní ukládání prudce zvyšuje. U rostoucích chovných zvířat by se měla krmná dávka zásadně podávat podle věku a hmotnosti zvířat. K dispozici musí být dostatek nezávadné pitné vody (Pulkrábek et al., 2005).

Cílem práce bylo v provozním pokusu zjistit :

- a) vliv počáteční hmotnosti selat při odstavu na jejich růst, přírůstek, konverzi krmiva a na hmotnost konečnou při přesunu do výkrmu
- b) porovnání kvality dvou krmných směsí A1 (směs pro odstav selat) od dvou různých výrobců na základě vyhodnocení výše uvedených ukazatelů

MATERIÁL A METODIKA

Pokus byl započat při odstavu selat ve věku cca 28 dní, kdy bylo vybráno 80 selat, která byla individuálně zvážena a označena čísly od 1 do 80. Selata byla převedena do sekce předvýkrmu, kde byla krmena po dobu 18 dní krmnou směsí ČOS.

Následně byla všechna selata opět zvážena a z této skupiny 80 ks selat byla vybrána skupina 50 selat se stejnou nebo podobnou růstovou schopností, které byly opět převáženy a rozděleny na dvě poloviny. Jedna skupina byla následně krmena směsí A1 č.1 z vlastní družstevní míchárnou krmiv a druhá skupina byla krmena směsí A1 č.2 dodanou obchodní firmou. Obě směsi byly dovezeny v množství jedné tuny a pokus skončil v době, kdy jedna ze dvou směsí byla spotřebována. Vše bylo prováděno za stejných podmínek a směsi byly podávány ručně tak, aby bylo dosaženo co největší přesnosti.

Po ukončení pokusu byla selata opět zvážena a bylo provedeno vyhodnocení sledovaných ukazatelů.

Krmná směs A1 č.1

surovinové složení : ječmen setý 28,58%, pšenice 35%, sójový extrahovaný šrot 9,5%, rybí moučka 2,6%, olej řepkový 2,6%, lysin 0,6%, treonin 0,2%, methionin 0,2%, sůl 0,3%, monokalciium 0,4%, optiacid 0,3%, blattimix P1 – 0,5% ; 0,5%, Citrfeed 2,0%, kukuřice 16%, mravenčan vápenatý 0,7%, prisma-safe 0,3%, SSF 0,020%, seplex 0,2 %.

Krmná směs A1 č.2

surovinové složení : ječmen setý, kukuřice, sojový extrahovaný šrot, toastovaný, pšeničné otruby, pšenice, řepkové expelery, kukuřičné lihovarské výpalky sušené, sladový květ, rybí moučka, uhličitan vápenatý, živočišný tuk, L-lysin, sulfát a jeho vedlejší produkty z fermentace, mravenčan vápenatý, kyselina mléčná, premix doplňkových látek, chlorid sodný, dihydrogenfosforečnan vápenatý, L-threonin, premix enzymů, DL-methionin, cholinchlorid, ltryptofan.

deklarované jakostní znaky : vlhkost 12.0 %, dusíkaté látky 18.3 %, tuk 3.8 %, vláknina 4.0 %, popeloviny 5.2 %, lysin 1.12 %, vitamin A 13020 m.j./kg, vitamin D3 1980 m.j./kg, vitamin E (alfa-tokoferol) 95 mg/kg, síran měďnatý pentahydrát CuSO₄.5H₂O (celk. Cu) 147 mg/kg, endo-1,4-beta-xylanáza (EC 3.2.1.8.) 2000 U/kg, 3-fytáza (EC 3.1.3.8) 450 FTU/kg, antioxidanty : E 320 Butylhydroxyanisol, E 324 Ethoxychin, E 321 Butylhydroxytoluen.

Pozn.: družstvo nevede u svých směsí deklarované jakostní znaky a obchodní neposkytl recepturu směsi, proto jsou uvedeny rozdílné charakteristiky směsí.

Do pokusu byli zařazeni finální jateční hybridi prasat produkovaní v rámci hybridizačního programu France Hybrides.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Hodnocení hmotnosti selat při odstavu

Podle uvedené metodiky byla selata na základě zjištěné hmotnosti při odstavu rozdělena do hmotnostních skupin (intervalů).

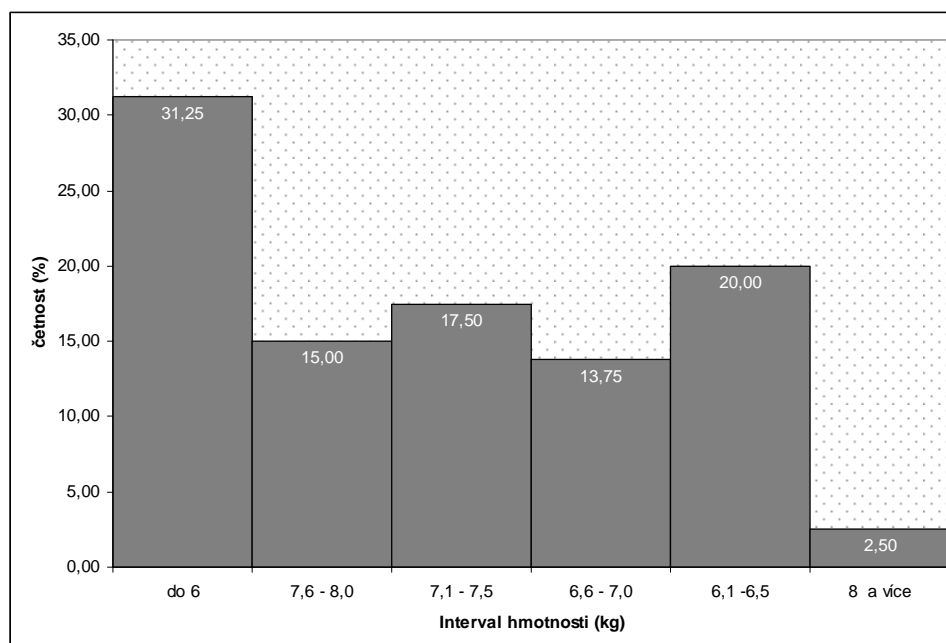
Tab.1 Hmotnost selat při odstavu

Pořadové číslo intervalu	Interval hmotnosti (kg)	Průměr intervalu hmotnosti (kg)	Intervalová četnost	
			absolutní	relativní
1	do 6	5,31	25	31,25
2	6,1 -6,5	6,19	16	20,00
3	6,6 - 7,0	6,72	11	13,75
4	7,1 - 7,5	7,25	14	17,50
5	7,6 - 8,0	7,73	12	15,00
6	8 a více	8,85	2	2,50
celkem			80	100

Z výsledků uvedených v tabulce 1 je zřejmé, že nejvyšší četnost byla v intervalu č. 1, tedy v hmotnosti při odstavu do 6 kg, což představuje 31,25 % selat.

Průměrná hmotnost selat při odstavu byla 6,47 kg/sele, směrodatná odchylka činila 0,996. Podobné hodnoty při odstavu selat uvádí Chyba (2008).

Graf. 1 Četnost selat při odstavu podle hmotnosti



Hodnocení hmotnosti selat na začátku pokusu

Selata po odstavu byla krmena krmnou směsí ČOS po dobu 18 dní. Po následné individuální zjištění hmotnosti, byl vybrán experimentální soubor o četnosti 50 ks, kam byla zařazena selata o přibližně stejné hmotnosti, tedy s co nejmenším rozpětím.

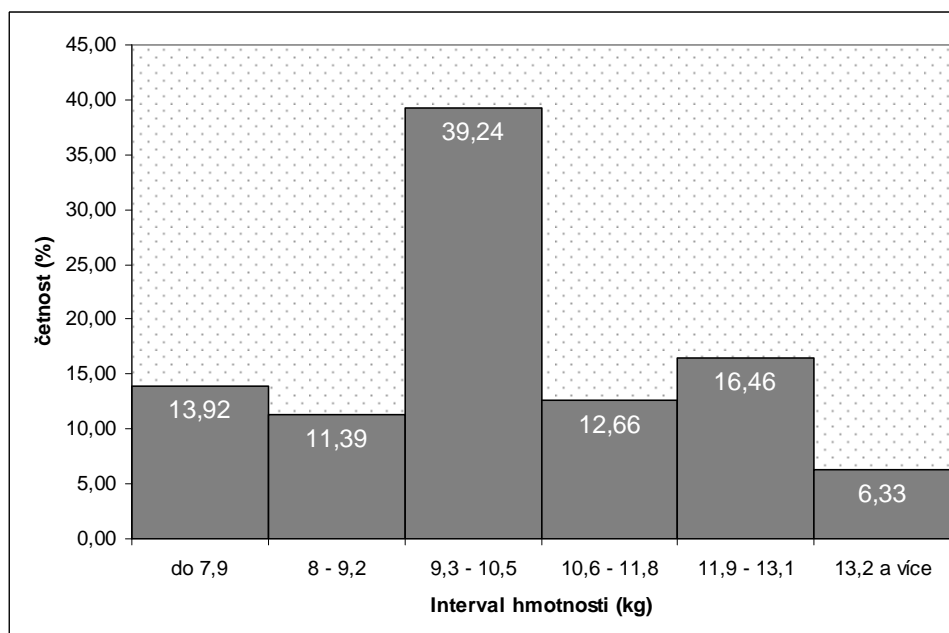
Tab.2 Hmotnost selat při začátku pokusu

Pořadové číslo intervalu	Interval hmotnosti (kg)	Průměr intervalu hmotnosti (kg)	Intervalová četnost	
			absolutní	relativní
1	do 7,9	7,25	11	13,92
2	8 - 9,2	8,80	9	11,39
3	9,3 - 10,5	10,16	31	39,24
4	10,6 - 11,8	11,14	10	12,66
5	11,9 - 13,1	12,74	13	16,46
6	13,2 a více	14,14	5	6,33
celkem			79	100

Z výsledků uvedených v tabulce 2 je zřejmé, že nejvyšší četnost byla v intervalu č. 3, tedy hmotnosti selat od 9,3 do 10,5 kg, což představuje 39,24 % ze skupiny selat.

Průměrná hmotnost selat byla 10,4 kg/sele a směrodatná odchylka činila 1,922. Při tomto vážení muselo být vyřazeno jedno sele z důvodu úhynu.

Graf. 2 Četnost hmotností selat při začátku pokusu



Hodnocení přírůstku selat před po začátek pokusu

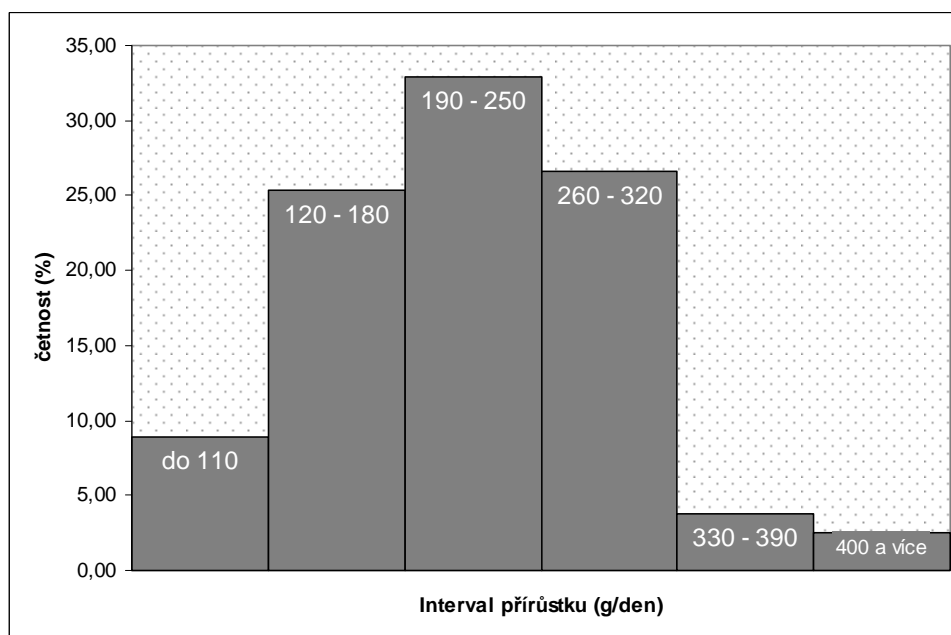
Tab. 3 Přírůstek selat od odstavu po začátek pokusu

Pořadové číslo intervalu	Interval přírůstků (g/den)	Průměr přírůstků intervalu (g/den)	Celkový přírůstek (průměr intervalu, kg)	Intervalová četnost	
				absolutní	relativní
1	110	80	1,47	7	8,86
2	120 – 180	150	2,77	20	25,32
3	190 – 250	220	4,02	26	32,91
4	260 – 320	280	5,11	21	26,58
5	330 – 390	360	6,53	3	3,80
6	400 a více	410	7,50	2	2,53
celkem				79	100

Z tabulky přírůstku selat za období krmení krmnou směsí ČOS vyplývá, že největší četnost byla v intervalu č. 3, tedy přírůstky selat od 190 do 250 g/den, což představuje 32,91 % ze skupiny selat.

Průměrný přírůstek selat za toto období byl 217 g/den a směrodatná odchylka činila 0,079. Průměrný celkový přírůstek celého skupiny byl 3,949 kg/sele.

Graf. 3 Četnost přírůstků na začátku pokusu



Tento celý soubor 50 kusů selat byl následně rozdělen na dvě skupiny po 25 kusech, který byl ustájen ve stejné stáji. Každá skupina byla krmena odlišnou krmnou směsí s označením A1 č.1 a A1 č.2. Po zkrmení množství 1 tuny krmné směsi, což trvalo 30 dní, bylo provedeno další kontrolní individuální vážení selat. Na základě zjištěných údajů byl spočítán průměrný denní přírůstek u každé skupiny a také spotřeba krmné směsi na jeden kilogram přírůstku. Výsledky jsou uvedeny v tabulkách č. 4, 5, 6 a 7.

Hodnocení přírůstku a porovnání dvou krmných směsí v pokusu

Tab. 4 Přírůstek selat v pokusu, počáteční i průměrná konečná hmotnost (u celé skupiny)

Pořadové číslo intervalu	Interval počáteční hmotnosti (kg)	Průměrná konečná hmotnost intervalu (kg)	Průměrný přírůstek v intervalu (g/den)	Intervalová četnost	
				absolutní	relativní
1	do 9,7	24,25	535	12	24,00
2	9,8 - 10,4	27,00	568	12	24,00
3	10,5 - 11,0	27,47	560	15	30,00
4	11,1 a více	29,55	563	11	22,00
celkem				50	100

Průměrný přírůstek selat celé skupiny byl 556 g/den.

Průměrná konečná hmotnost selat celé skupiny byla 27,04 kg/sele.

Tab. 5 Přírůstek selat v pokusu, počáteční i průměrná konečná hmotnost (u KS A1 č. 1)

Pořadové číslo intervalu	Interval počáteční hmotnosti (kg)	Průměrná konečná hmotnost intervalu (kg)	Průměrný přírůstek v intervalu (g/den)	Intervalová četnost	
				absolutní	relativní
1	do 9,7	24,00	525	6	24,00
2	9,8 - 10,4	26,00	537	6	24,00
3	10,5 - 11,0	27,25	550	8	32,00
4	11,1 a více	28,20	512	5	20,00
celkem				25	100

Průměrný přírůstek skupiny krmené krmnou směsí A1 č.1 byl 537 g/den.

Průměrná hmotnost selat skupiny na konci pokusu byla 26,36 kg/sele. Směrodatná odchylka činila 3,16.

Tab. 6 Přírůstek selat v pokusu, počáteční i průměrná konečná hmotnost (u KS A1 č.2)

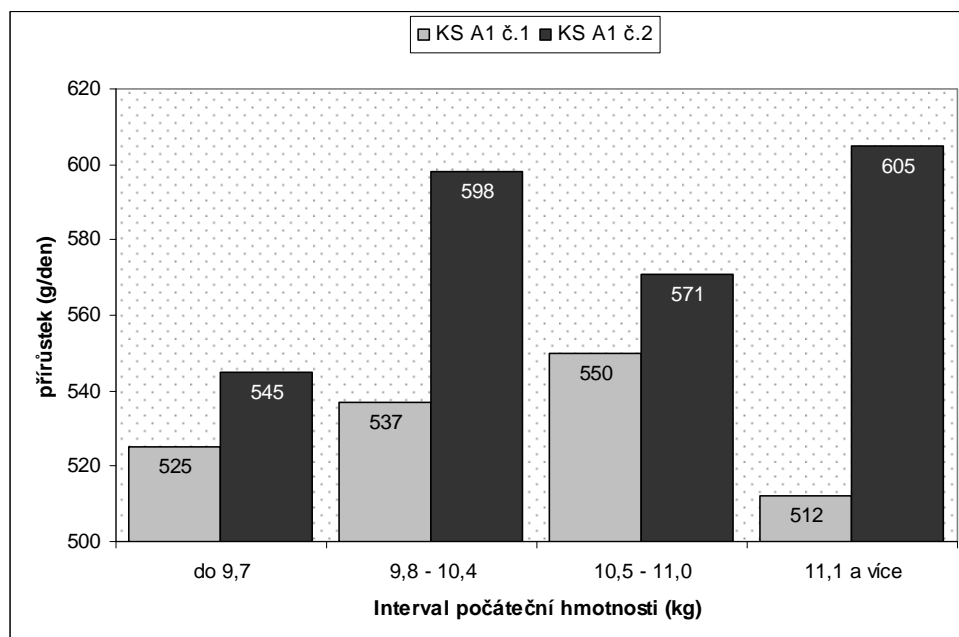
Pořadové číslo intervalu	Interval počáteční hmotnosti (kg)	Průměrná konečná hmotnost intervalu (kg)	Průměrný přírůstek v intervalu (g/den)	Intervalová četnost	
				absolutní	relativní
1	do 9,7	24,50	545	6	24,00
2	9,8 - 10,4	28,00	598	6	24,00
3	10,5 - 11,0	27,14	571	7	28,00
4	11,1 a více	30,67	605	6	24,00
celkem				25	100

Průměrný přírůstek skupiny selat krmené krmnou směsí A2 č.2 byl 580 g/den.

Průměrná hmotnost selat skupiny na konci pokusu byla 27,72 kg/sele. Směrodatná odchylka činila 3,77.

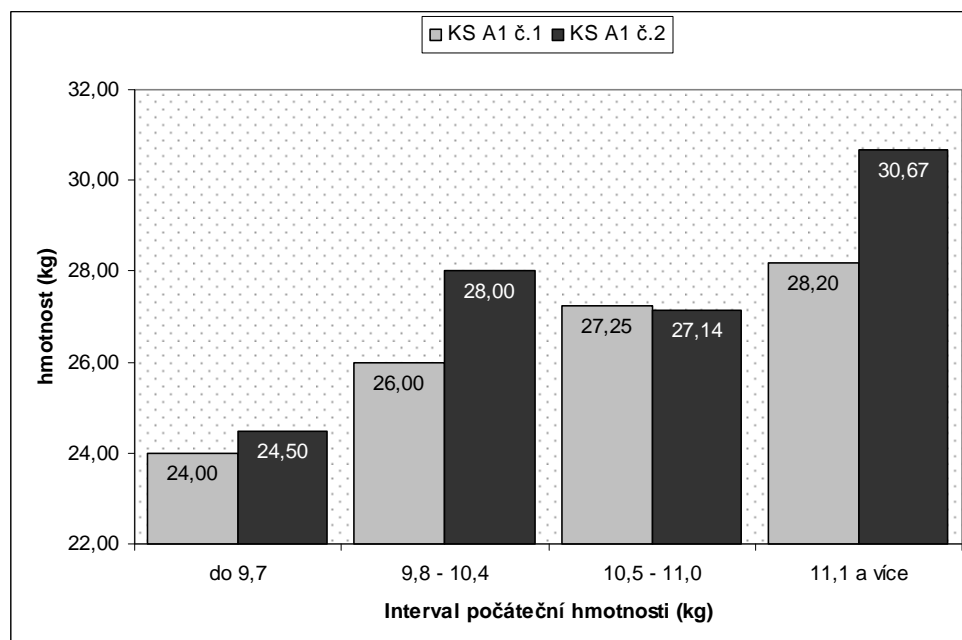
U vlastního pokusu zkrmování dvou krmných směsí byla skupina 50 selat hodnocena po dvojicích selat, která měla přibližně stejnou hmotnost na začátku pokusu, tedy při přestupu krmení z krmné směsi ČOS na jednotlivé krmné směsi A1. Hodnocené dvojice tvořily vždy selata krmená rozdílnou krmnou směsí. Z 25 dvojic selat bylo lepších výsledků dosaženo u krmné směsi A1 č.1 a to u 8 selat (32 %) a u krmné směsi A1 č.2 byly větší přírůstky a větší konečná hmotnost u 17 selat (68 %).

Graf. 4 Porovnání přírůstků u dvou krmných směsí



Z grafu 4 je zřejmé, že krmná směs A1 č.2 měla větší přírůstky než, krmná směs A1 č.1.

Graf. 5 Porovnání konečných hmotností v pokusu u dvou krmných směsí



Taktéž z grafu 5 vyplývá, že u krmné směsi A1 č.2 dosahovala selata vyšších konečných hmotností.

Vyhodnocení konverze krmiva u dvou krmných směsí v pokusu

Pokus skončil po 30 dnech, kdy se krmná směs č. 1 zkrmila celá a krmné směsi č. 2 zůstalo 165 kg. Lepší konverze krmiva dosáhla krmná směs A1 č.2 a to 1,92 kg KS/kg hmotnosti (viz tab.7).

Tab. 7 Konverze krmiva

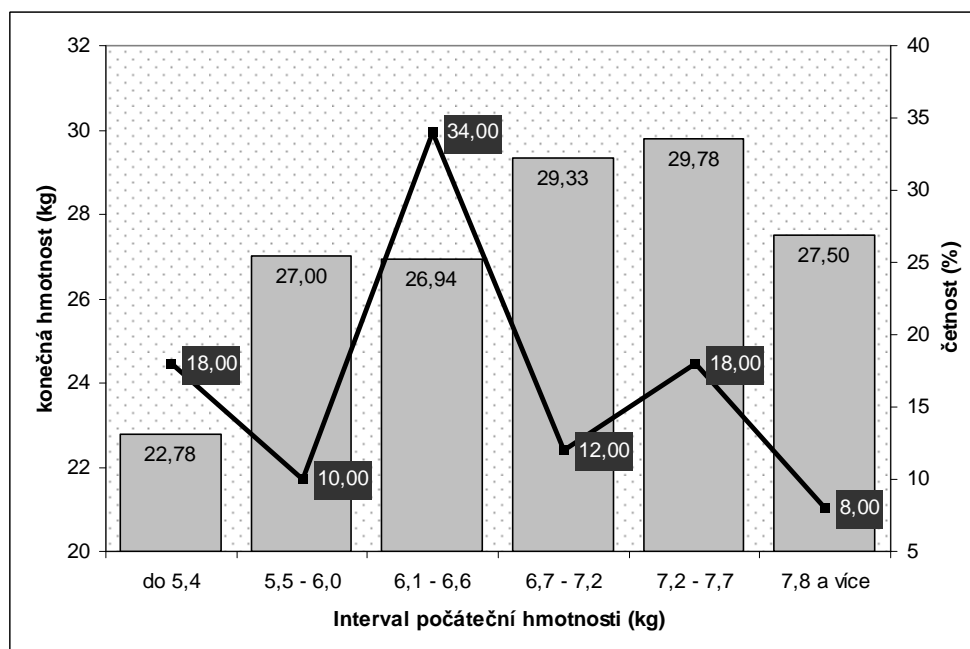
Krmná směs	Množství zkrmené směsi (kg)	Celkový přírůstek za skupinu (kg)	Konverze krmiva (kg KS/kg hmotnosti)
A1 č.1	1000	400	2,5
A2 č.2	835	434,5	1,92

Vyhodnocení přírůstku od odstavu po konec pokusu

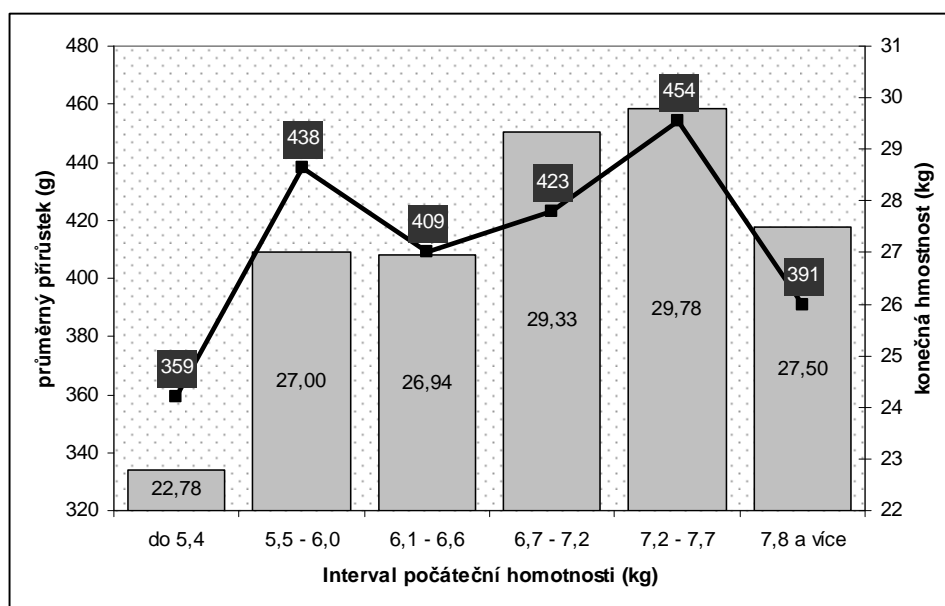
Tab. 8 Vyhodnocení přírůstku od odstavu po konec pokusu

Pořadové číslo intervalu	Interval hmotnosti při odstavu (kg)	Průměrná hmotnost intervalu při odstavu (kg)	Průměrná konečná hmotnost (kg)	Průměrný intervalový přírůstek (g/den)	Intervalová četnost		
					absolutní	relativní	
1	do 5,4	5,12	22,78	359	9	18,00	
2	5,5 - 6,0	5,68	27,00	438	5	10,00	
3	6,1 - 6,6	6,33	26,94	409	17	34,00	
4	6,7 - 7,2	6,93	29,33	423	6	12,00	
5	7,2 - 7,7	7,53	29,78	454	9	18,00	
6	7,8 a více	8,20	27,50	391	4	8,00	
celkem						50	100,00

Graf. 6 Porovnání konečné hmotnosti a četnosti v souboru



Graf. 7 Porovnání přírůstku a konečné hmotnosti



Z grafů č. 6 a 7 je zřejmé, že populace selat byla poměrně vyrovnaná. Největší zastoupení měla selata s hmotností při odstavu 6,1 – 6,6 kg. Dále lze říci, že selata s hmotností při odstavu do 5,4 kg a nad 7,7 kg měla menší přírůstky než-li ostatní selata. S přírůstky nad 400 g za den disponovalo 74 % selat z celé skupiny. Nejvyšší hmotnosti na konci pokusu dosahovala selata s hmotností při odstavu 7,2 – 7,7 kg, respektive 6,7 – 7,2 kg, což bylo dohromady 30 % celého souboru.

Za období sledování celé skupiny 50 ks selat od odstavu po konec pokusu byl zjištěn průměrný denní přírůstek 412 g za den a průměrná hmotnost selat na konci pokusu byla 27,04 kg.

ZÁVĚR

U selat je rozhodujícím vlivem hmotnost při odstavu na jejich další růstové schopnosti. Největší zastoupení v pokusu měla selata s hmotností při odstavu od 6,1 kg do 6,6 kg, ale největšího průměrného denního přírůstku v pokusu dosahovala selata s hmotností při odstavu od 7,2 kg do 7,7 kg. Na základě provedeného sledování a vyhodnocování je možné zkonstatovat, že testovaný finální hybrid dosáhl s hmotností při odstavu 6,47 kg do konečné hmotnosti v testu 27,04 kg s průměrným denním přírůstkem 412 g/den. Při hodnocení vlivu dvou testovaných krmných směsí bylo v pokusu lepších výsledků dosaženo u krmné směsi od obchodní firmy. Celkem se jí zkrmilo 835 kg při celkovém přírůstku skupiny 434,5 kg, konverzí krmiva 1,92 kg/kg přírůstku a průměrného přírůstku na sele 580 g/den. Krmné směsi vlastní výroby se zkrmilo celé množství, tedy 1000 kg, celkový přírůstek skupiny byl 400 kg, konverze krmiva 2,5 kg/kg přírůstku a průměrný přírůstek na sele byl 537 g/den. Uvedené výsledky budou využity pro další intenzifikaci chovu prasat v zemědělském provozu.

LITERATURA

ŠILER, R., KNÍŽE, B., KNÍŽETOVÁ, H.: Růst a produkce masa u hospodářských zvířat. SZN Praha, 1980, 276 s.

ČECHOVÁ, M., MIKULE, V., TVRDOŇ, Z.: Chov prasat. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Brno, první vydání, 2003, 123 s.

CHYBA D. : Studium vlivu zkrmování luskovin na užitkovost prasat, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Brno, 2008.

PULKRÁBEK, J., a kol.: Chov prasat, Profi Press, Praha, 2005, 160 s, ISBN : 80-86726-11-8.

THE EVALUATION OF CRITERIA OF YOUNG HORSES OF SPORT HORSES IN CZECH REPUBLIC

VYHODNOCENÍ KRITERIÍ MLADÝCH KONÍ U SPORTOVNÍCH KONÍ V ČR

Šarovská L., Walterová L., Krčová S., Jiskrová I.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: sarole@seznam.cz, walty@seznam.cz, sylvie.krcova@seznam.cz, jiskrova@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this study is to evaluate the results of breeding competition and work up a judgment of pedigree values. The breeding competitions are holded for four to six years old stallions and mares. The horses are evaluated by commisar. They have three marks for evaluation for jump, dexterity and readiness of horse. The horses are evaluated according to ten-point scale from 0 to 10. The general evaluation is sum total of these three marks. The commisar must take off negative point devide two from these three marks. There are compared some factors as sex, age, degree of difficultness, place and the date of compation, commisar and rider. The results are obtained from the Czech equestrian federation. The evaluated results are from the period of 1998 – 2007. We compared the factors of sex, country of origin of the horse, age, examiner, level of difficulty of the competition and year of the venue. In these competitions 1617 horses started. The results were evaluated using analysis of variance and subsequent tests. Statistically significant differences were detected for all the evaluated factors. In terms of the sex factor the evaluation of the stallions was highly significantly ($P<0.00$) higher than the mares. Comparisons of the country of origin revealed that the evaluation of imported horses was highly significantly ($P<0.00$) better than of horses of Czech breeders. When comparing the age we discovered that the rating of six and five-year-old horses was statistically significantly ($P<0.00$) higher than of the four-year-old horses. This factor is connected with the level of difficulty of the competition. Evaluations in the higher levels of difficulty were statistically highly significantly ($P<0.00$) better than in the lower levels of difficulty. Comparisons of the factor of the year of the competition showed that the quality of the starting horses is increasing.

Key words: breeding competition, czech warmblood horse, judgment of pedigree values

ÚVOD

V současné době se stále zvyšuje zájem o jezdecký sport a chov koní, který nutí chovatele zlepšovat kvalitu plemen koní chovaných pro jezdecký sport. Je potřebné uplatňovat moderní metody šlechtění koní a proto je nutné se věnovat odhadům plemenných hodnot a vybírat pouze kvalitní rodičovské páry.

Chovatelské soutěže jsou vypisovány pro čtyř- až šestileté hřebce a klisny v klasických disciplínách jezdeckého sportu (t.j. skokové soutěže, drezura a všestrannost). Jsou označovány jako Kriteria mladých koní (KMK). Účelem je testace výkonnostních vlastností mladých plemenných koní v průběhu sportovní sezóny a využití výsledků pro kontrolu dědičnosti v chovu sportovních plemen teplokrevných koní. Vyhlášovatelem KMK jsou uznána chovatelská sdružení Svaz chovatelů českého teplokrevníka, Svaz chovatelů slovenského teplokrevníka, Svaz chovatelů a příznivců moravského teplokrevníka a Svaz chovatelů koní Kinských ve spolupráci s Českou jezdeckou federací.

Tyto závody jsou určeny pro:

teplokrevné a plnokrevné klisny zapsané v plemenných knihách klisen pro plemena český teplokrevník, slovenský teplokrevník, moravský teplokrevník a kůň Kinský.

teplokrevné a plnokrevné hřebce s uděleným základním výběrem pro působení v chovu plemen český teplokrevník, slovenský teplokrevník, moravský teplokrevník a kůň Kinský.

Pro předvýběr hřebce platí tyto podmínky:

čtyřgenerační původ, KVH minimálně 161 cm, dobrý zdravotní stav (bez závažných exteriérových, dědičných a podmíněně dědičných vad)

ředvedení na ruce – posouzení typu, exteriéru a mechaniky pohybu

Koně jsou hodnoceni komisařem na kolbišti třemi známkami

ukazatel 1: za provedení skoku (skokový styl koně, skokanský luk, technika práce nohou, elastičnost, síla odrazu)

ukazatel 2: za obratnost (šikovnost koně, reakce, výbušnost, řešení improvizace)

ukazatel 3: za připravenost koně (proježděnost, klid, přijímání pomůcek)

Hodnotí se desetibodovou stupnicí: známka 10 výborně, 0 vlastnost neprojevena.

Celkové výsledné hodnocení

Celkové výsledné hodnocení pořadí koní ve skokových chovatelských závodech se provádí součtem známek udělených pomocí uvedené stupnice komisařem na kolbišti za tři sledované ukazatele, od kterého se odečte počet trestných bodů udělených podle pravidel jezdeckého sportu dělený dvěma. Vítězí kůň s nejvyšším výsledným bodovým hodnocením (www.cjf.cz/dokumenty/KMK/KMK_2007.pdf).

Hřebci českého teplokrevníka jsou zapsáni do plemenné knihy hřebců pokud:
- se umístili ve finále 5. a 6.letých KMK ve skoku do 2.místa nebo byli vítězi těchto ročníků v drezúře a všestrannosti (www.schct.cz/radpk.php3)

Hřebci slovenského teplokrevníka jsou zapsáni do plemenné knihy hřebců pokud:

- jejich umístění v kriteriích mladých koní bylo do 5. místa mezi hřebci daného ročníku (www.studbookcs.cz)

Plemenná hodnota je odhad genetického založení jedince, je výrazem aditivního působení genů. Jeho přesnost je dána metodou použitou pro zhodnocení. Metoda BLUP je v současné době významnou metodou pro odhad plemenné hodnoty. Základem je lineární model, který přesně popisuje naměřenou užitkovost a všechny nejdůležitější faktory, které ji ovlivňují (Šubrt, Hrouz 2000).

Zhodnocením výsledků Kriterií mladých koní se na Slovensku věnovala Monsbergerova (www.spu.sk/SKOLA/rvv/doc/ddiz/2005/lenka_monsbergerova.pdf). Autorka vyhodnotila úspěšnost otců koní ve finále v počtu 7 a víc potomků na plemeníka. Zjistila, že za nejúspěšnějšího lze považovat holštýnského hřebce Robinson z linie Ramiro, trakenského hřebce Chavtajm z linie Vychodec a bavorského teplokrevníka Lord Inci Tatus z linie Ladykiller xx. Při vyhodnocení otcovských linií, kteří potomci se kvalifikovali do finále KMK v počtu 13 a víc potomků lze za nejúspěšnější považovat linii Cor de la Bryere, Ladykiller xx a Ramiro.

MATERIÁL A METODIKA

Podkladová databáze byla vytvořena na základě výsledků z Kriterií mladých koní ve spolupráci s Českou jezdeckou federací.

Podkladová data zahrnují výsledky Kriterií mladých koní z let 1998 – 2007.

U každého ze startujících koní je v databázi uvedeno jméno, číslo licence sportovního koně, jméno jezdce, rok narození koně, pohlaví, věk v roce konání soutěže, původ koně (otec, matka, otec matky), chovatel, stupeň obtížnosti soutěže, místo a datum konání soutěže, hodnotící komisař, jednotlivé známky za ukazatele, počet trestných bodů a výsledný počet bodů. Konkrétní chovatelé importovaných koní specifikováni nebyli.

Hodnoceny byla pouze Kriteria mladých koní v parkurovém skákání.

Byla provedena analýza rozptylu a následné testování:

pro faktor pohlaví (hřebci n = 586, klisny n = 1031)

země původu (CZ n = 1292, Import n = 325)

věk (4 letí n = 4290, 5 letí n = 3385, 6 letí n = 2282)

komisař (finále n = 755, Hirka Petr n = 996, Hruška Vladimír n = 747, Jindra Jaroslav n = 2257, neznámý n = 1060, Pellar Jan n = 1345, semifinále n = 240, Starosta Alois n = 1373, Šíma Jan n = 1184)

stupeň obtížnosti (L n = 2616, S n = 945, Z n = 2620, ZL n = 3776)

rok konání soutěže (1998 n = 863, 1999 n = 1110, 2000 n = 984, 2001 n = 1182, 2002 n = 1087, 2003 n = 1071, 2004 n = 875, 2005 n = 787, 2006 n = 1054, 2007 n = 944)

Analýza rozptylu u všech faktorů byla počítána z celkového výsledného hodnocení. Pouze u faktoru komisař byla počítána ze součtu jednotlivých známek.

Pro zpracování databáze a statistické vyhodnocení byly použity programy Excel 2003 a Statistika verze 8.

Databázi budou tvořit výsledky z chovatelských soutěží v letech 1998 – 2008.

Podkladová data budou získána ve spolupráci a s podporou České jezdecké federace z výsledkových listin jednotlivých soutěží a z oficiálních internetových stránek ČJF.

Koně musí splňovat následující požadavky:

mají přidělené identifikační číslo pod kterým soutěží

mají potvrzený a známý oboustranný původ

jsou známy údaje o narození a pohlaví

Při zhodnocení se budou porovnávat faktory pohlaví, věk, jezdec, rok a místo konání soutěže, obtížnost a hodnotící komisař. Hodnoceny budou známky za jednotlivé ukazatele.

Při zpracování výsledků bude použit program Microsoft Excel. Dále budou údaje statisticky vyhodnocovány v programu Microsoft Access. Následovat bude podrobné statisticko-analytické zpracování.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Podkladovou databázi tvořily výsledky z Kriterií mladých koní z let 1998 – 2007. Těchto soutěží se zúčastnilo 1617 koní. Charakteristika hodnocené databáze je shrnuta v tabulce I.

Tab. I: Charakteristika podkladové databáze

Počet hodnocených výkonností	9957
Počet hodnocených koní	1617
Počet jezdců hodnocených koní	573
Počet otců hodnocených koní	538
Průměrný počet potomků na jednoho otce	3,01
Průměrný počet hodnocených výkonností na jednoho otce	18,5
Počet matek hodnocených koní	1245
Průměrný počet potomků na jednu matku	1,3
Počet otců matek hodnocených koní	674
Počet chovatelů hodnocených koní	571

Výsledky základní popisné statistiky jsou názorně vidět v tabulce II. I když hodnotící stupnice je desetibodová, jak ukazují následné výsledky, variabilita v hodnocení je velmi malá, jak ukazuje směrodatná odchylka v následující tabulce II.

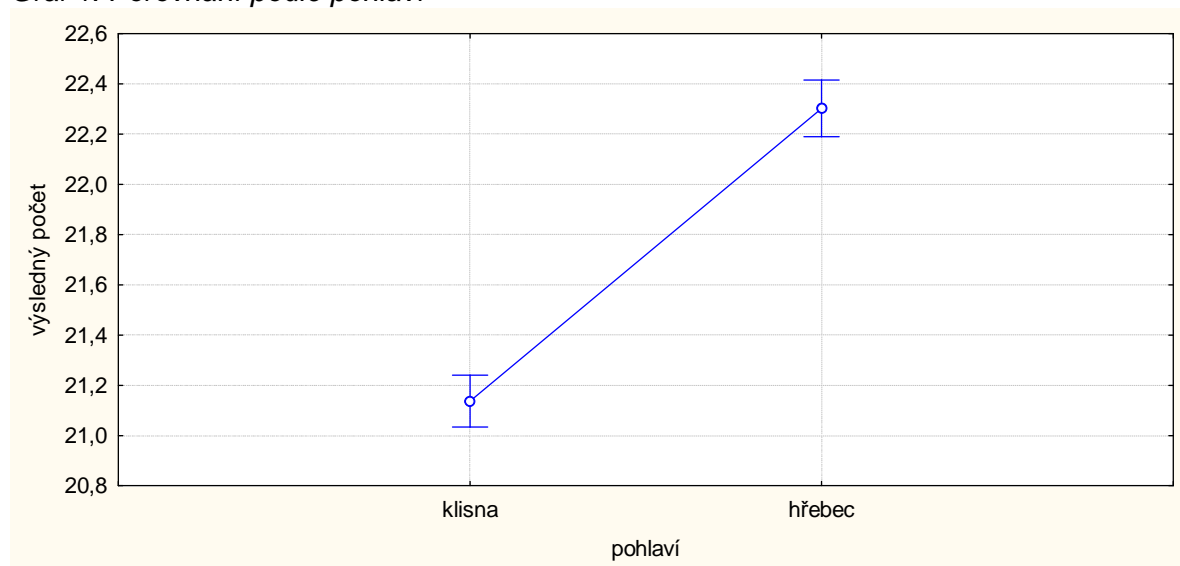
Tab. II: Základní popisná statistika u tří hodnocených ukazatelů

	Průměr	Minimum	Maximum	Směrodatná odchylka
ukazatel 1	7,99	3	10	0,74
ukazatel 2	7,87	2	9,81	0,78
ukazatel 3	7,69	2	9,80	0,79

Porovnání podle pohlaví

V těchto soutěžích startovalo 1031 klisen tj. 64%, a 586 hřebců tj. 36%. Mezi pohlavím je statisticky vysoce průkazný rozdíl ($P < 0,00$) viz graf 1.

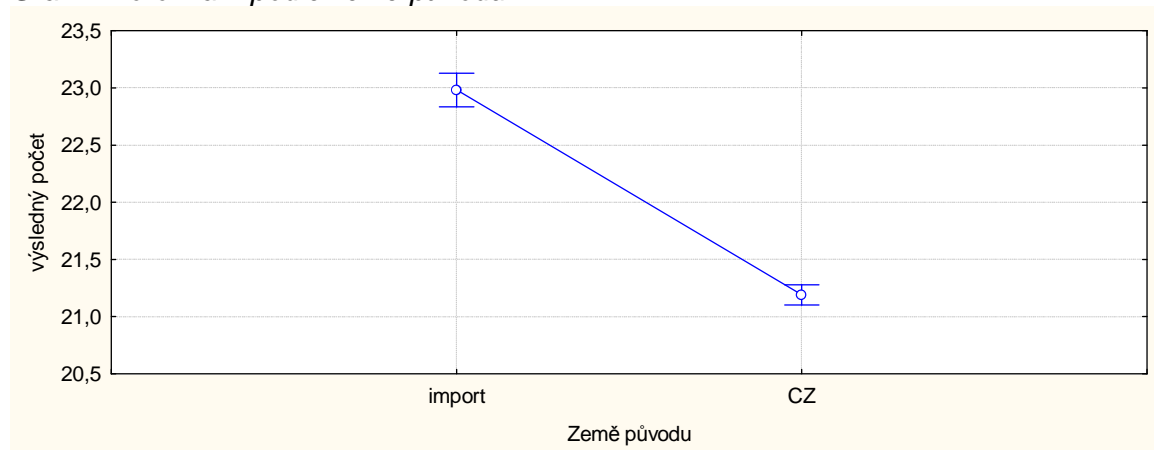
Graf 1: Porovnání podle pohlaví



Porovnání podle země původu

Soubor tvořilo 325 importovaných koní tj. 20%, a 1292 koní českého chovu tj. 80%. Importovaní koně se statisticky vysoce průkazně ($P < 0,00$) liší od koní českého chovu (viz graf 2). Tento výsledek může ukazovat na vyšší kvalitu importovaných koní. Lepší hodnocení importovaných koní může také souviset se zodpovědnějším výběrem koní v zahraničí, pro jejich případné použití ke šlechtění českého teplokrevníka a také s opatrnějším výběrem koní pro jejich vyšší cenu.

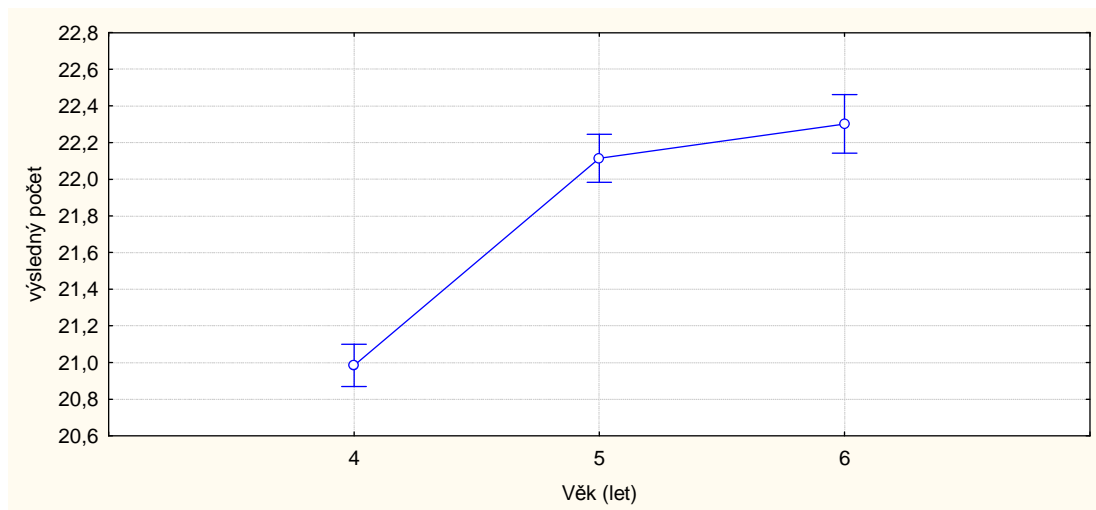
Graf 2: Porovnání podle země původu



Porovnání podle věku

Statisticky vysoce průkazně ($P < 0,00$) se liší čtyřletí koně od pětiletých a šestiletých (viz graf 3). Tyto výsledky potvrzují názor, že se zvyšujícím se věkem kůň získává zkušenosti a je lépe připraven. Do vyšších soutěží se také dostanou pouze kvalitnější koně. Největší počet koní startuje v kategorii čtyřletých a nejméně v kategorii šestiletých. Tyto výsledky názorně ukazují selekci chovatelských soutěží, kdy přestávají startovat méně výkonní jedinci.

Graf 3: Porovnání podle věku



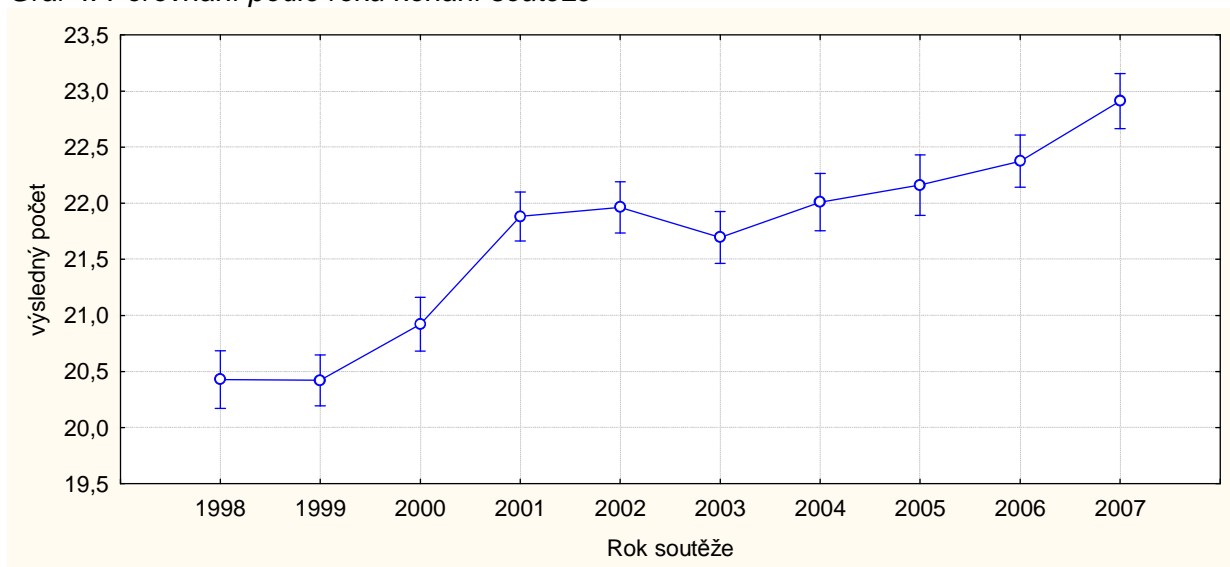
Porovnání podle komisařů

Při porovnání komisařů jsme zjistili statisticky vysoce průkazný rozdíl při udělování známek. V hodnocení Kriterií mladých koní vidíme největší problém v subjektivním hodnocení komisařů.

Porovnání podle roku konání soutěže

Vysoce statisticky průkazné rozdíly ($P < 0,00$) byly zjištěny také u faktoru rok konání soutěže. Tento faktor může ukazovat zvyšující se kvalitu koní chovaných na sportovní výkonnost (viz graf 4).

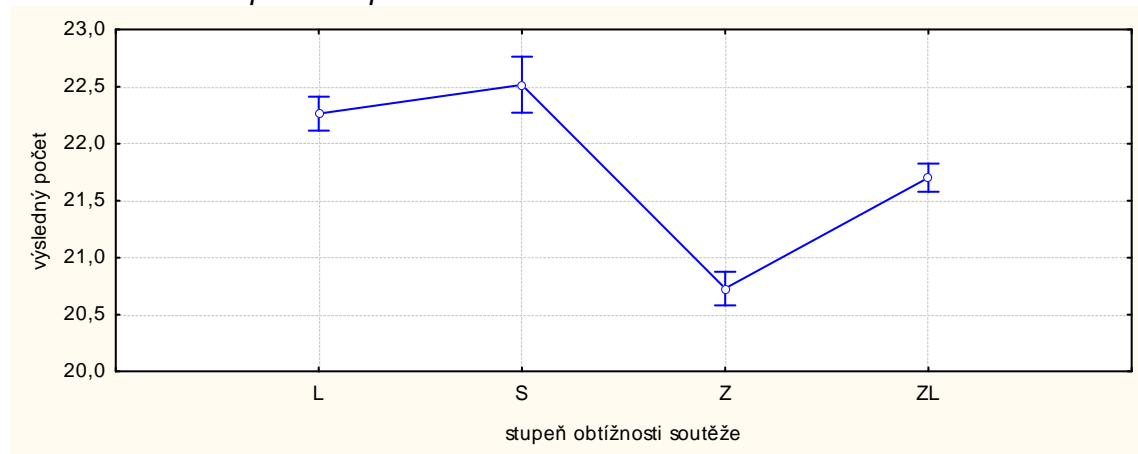
Graf 4: Porovnání podle roku konání soutěže



Porovnání podle stupně obtížnosti soutěže

U faktoru stupeň obtížnosti (viz graf 5) byly zjištěny vysoce statisticky průkazné rozdíly ($P < 0,00$). Mezi stupněm obtížnosti L a S byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl ($P = 0,04$). Tento faktor souvisí s faktorem věku. Se zvyšujícím se stupněm obtížnosti soutěže roste i věk koně. Zároveň se zlepšují i zkušenosti koně a jeho připravenost. Také se zvyšující se obtížností se zlepšuje i kvalita startujících koní.

Graf 5. Porovnání podle stupně obtížnosti soutěže



ZÁVĚR

Předložené výsledky a diskuse rozebírají velké množství statisticky průkazných rozdílů v hodnocených faktorech. Na základě těchto výsledků doporučujeme pro praxi tyto závěry:

- při hodnocení ukazatelů dochází k subjektivnímu hodnocení, k objektivizaci výsledků proto doporučujeme vícečlennou komisi. U tohoto doporučení vidíme největší problém ve větší finanční náročnosti.
- používat v rámci hodnocení širší rozpětí hodnotící stupnice
- přísnější selekci stáda klisen, jelikož vyrovnané a kvalitní stádo klisen je podmínkou genetického pokroku v populaci
- doporučujeme chovatelům více využívat prověřených plemeníků, jelikož jednotliví plemenci mají málo prověřených potomků v testaci. Pouze 34 plemeníků má v databázi 10 a více potomků. Zbytek tzn. 504 plemeníků má nedostatečný počet prověřených potomků v testaci.
- odhad plemenné hodnoty z výsledků v Kriteriach mladých koní považujeme za možný, ale z důvodu malého počtu prověřených potomků po jednotlivých plemenicích bude méně přesný.

Príspevek vznikl za podpory projektu IG280201 a výzkumného záměru MSM 6215648905.

LITERATURA

Hrouz J., Šubrt J., (2000): Obecná zootechnika. Ediční středisko MZLU, s 147 – 159

www.cjf.cz

www.schct.cz

www.studbookcs.cz

www.spu.sk/SKOLA/rvv/doc/ddiz/2005/lenka_monsbergerova.pdf

FOURIER ANALYSIS AS A TOOL FOR DESCRIPTION OF STALLION SPERM HEAD SHAPE VARIABILITY

VYUŽITÍ FOURIEROVY ANALÝZY PRO POPIS VARIABILITY TVARŮ HŘEBČÍCH SPERMIÍ

Švábová L.¹, Severa L.², Mamica O.¹, Máchal L.¹

¹ Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

² Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xsvabova@node.mendelu.cz, severa@mendelu.cz, xmamica@node.mendelu.cz, machal@mendelu.cz

ABSTRACT

Variability of stallion sperm head shape was quantified by use of elliptic Fourier descriptors. The image analysis software Shape was used for determination of closed contours of the sperm heads (obtained through binary images with appropriate thresholds) and chain-code description. Following parameters were considered: length to width ratio, position of the center of gravity, curvature, and degree of roundness. The scores of the components were used in subsequent analysis as sperm head shape characteristic. Inverse Fourier transformation was used for visualisation of shape variation and influence of individual components. The first four principal components provide a good summary of the data, accounting for almost 90 % of the total variance. Dominant importance and relevance of length to width ratio (with contribution of 50.73 % to the total variance) as a determining parameter of sperm head shape was quantitatively confirmed.

Key words: image analysis, sperm head, Fourier descriptors

Acknowledgments: The research has been supported by project of MSMT of the Czech Republic - MSM 6215648905.

ÚVOD

Tvary a rozměry spermií se liší u různých živočišných druhů (Downing-Meisner et al., 2005) a liší se též u jedinců stejného druhu (Roldan et al., 1998; Thurston et al., 2001). Přestože jsou tvary a relativní rozměry hlaviček spermií považovány za objektivní ukazatel kvality spermatu, jejich kvantifikace je ve většině případů prováděna technickými pracovníky – jedná se tedy o subjektivní hodnocení (Saravia et al., 2007). Z tohoto důvodu bylo vyvinuto několik automatizovaných softwarových metod a postupů (Esteso et al., 2006; Saravia et al., 2007). Postupy automatické morfometrie s vysokou mírou opakovatelnosti a přesnosti vyjádření tvarů a rozměrů spermií byly vypracovány pro různé živočišné druhy (Gravance et al., 1996; Sancho et al., 1998; Thurston et al., 2001; Buendía et al., 2002; Beletti et al., 2005; Hidalgo et al., 2006; Tuset et al., 2008), a to včetně hřebců (Ball and Mohammed, 1995; Hidalgo et al., 2005). Kromě toho byly pomocí automatizovaných systémů vyjádřeny rozdíly ve velikostech spermií normálních jedinců a mezi plodnými a neplodnými hřebci (Hidalgo et al., 2008). Ovšem příprava materiálu pro popsání typ hodnocení a omezení výskytu chyb v důsledku digitalizace dat vyžaduje náročnou přípravu vzorků (Davis and Gravance, 1993).

Morfologický popis ejakulátu byl použit jako kvalitativní kritérium a kritérium fertility u hřebců i jiných samců (Bielanski, 1982; Jasko, 1990; Voss, 1981; Phillips et al., 2004) a výskyt abnormálních morfologických jevů byl popsán ve vztahu k omezené fertilitě (Jasko, 1990). V řadě prací bylo konstatováno, že vysoká variabilita morfologie spermií je citlivým ukazatelem fertility (Hingst et al., 1995; Karabinus et al., 1997 a další).

Tato práce je zaměřena na kvantifikaci a hodnocení variability tvarů hřebčích spermií. Uvažován je poměr délka/šířka, poloha těžiště, zakřivení povrchu a stupeň kruhovitosti. Byla použita metoda založená na vyjádření eliptických Fourierových deskriptorů (EFDs) (Kuhl and Giardina, 1982). Podobný postup byl s úspěchem použit při popisu různých biologických tvarů (Toayohara et al., 2000; Iwata et al. 2002; Yoshioka et al., 2004; Yoshioka et al., 2006, a další), a to včetně hlaviček spermií (Thurston et al., 2001, Belletti et al., 2005).

MATERIÁL A METODIKA

Ejakulát byl získán v březnu 2008 od plemenného hřebce Arista Z, koně holštýnského plemene, který je umístěn v Zemském hřebčinci Tlumačov, s.p. Z odebraného ejakulátu byly zhotoveny nátěry na laboratorní sklíčka a preparáty byly obarveny metodou dle B.T. Fareillyho, využívanou pro morfologické vyšetření spermií. Z obarvených preparátů byly zhotoveny fotografie hřebčích spermií pomocí mikroskopu Olympus BX51 s digitální kamerou DP70. Pro fotografování spermií bylo zvoleno tisícinásobné zvětšení za použití olejové imerze. Zpracovávalo bylo postupně 100 spermií z různých fotografií. Původní obrazové soubory byly převedeny do formátu full color (24-bit) bitmap. Příklad originální fotografie je uveden na Obr. 1.



Obrázek 1:

Obrazové soubory byly dále převedeny do odstínů šedé. Následně byly vytvořeny binární obrázky, ve kterých je objekt reprezentován hodnotou 0 (bílá) a pozadí hodnotou 1 (černá). Další zpracování souborů bylo provedeno v prostředí programu Shape (Iwata and Ukai, 2002). Uzavřené obrysy hlaviček spermií byly odečteny z binárních obrazů a byly popsány formou chain-code (Freeman, 1974). Konkrétně byl obrys popsán jako posloupnost x a y souřadnic po sobě následujících bodů na obvodu objektu (hlavičky spermie). Uvažme lineární interpolaci mezi i -tým a $(i-1)$ bodem a to, že vzdálenost počátečního bodu a p -tého bodu je označena jako t_p a délka obvodu jako T . Eliptický Fourierův rozvoj souřadnic obvodu má potom následující formu:

$$x_p = A_0 + \sum_{n=1}^{\infty} \left(a_n \cos \frac{2n\pi p}{T} + b_n \sin \frac{2n\pi p}{T} \right), \quad (1)$$

a

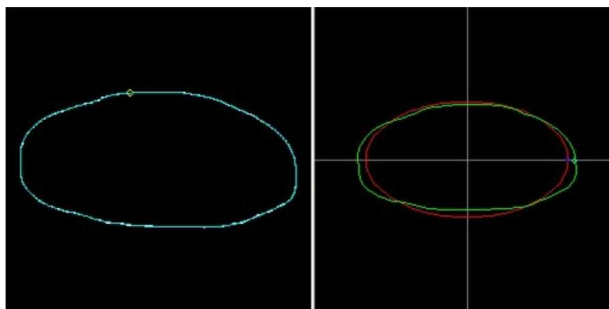
$$y_p = C_0 + \sum_{n=1}^{\infty} \left(c_n \cos \frac{2n\pi p}{T} + d_n \sin \frac{2n\pi p}{T} \right). \quad (2)$$

Podobný postup byl s úspěchem využit například při analýze variability tvarů okvětních lístků (Yoshioka et al., 2004). Pomocí metody chain-code a postupem založeným na proložení elipsou (Kuhl and Giardina, 1982) byly vypočteny koeficienty eliptických Fourierových deskriptorů. Ty byly následně normalizovány, aby byly omezeny odchylky způsobené rozdíly v rozměrech a odchylky způsobené natočením. Tímto postupem byly hlavičky spermií aproximovány pomocí prvních 20 harmonických složek, což odpovídá 77 koeficientům normalizovaných eliptických Fourierových deskriptorů. Dále byly sestaveny kovarianční matice a kvantifikovány hodnoty jednotlivých komponent. Hodnoty komponent byly dále použity při analýze variability tvaru spermií. Variabilita tvarů byla pro jednotlivé komponenty vizualizována prostřednictvím inverzní Fourierovy transformace (Rohlf and Archie, 1984; Furuta et al., 1995).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Obecně jsou při morfometrické analýze spermií používány čtyři hlavní parametry - délka (L , m), šířka (W , m), plocha (A , m^2) a délka obvodu (P , m). Kromě toho jsou používány čtyři odvozené parametry – eliptičnost (L/W), stupeň nerovnosti povrchu ($4\pi A/P^2$), příčné prodloužení ($(L-W)/(L+W)$) a stejnoměrnost ($\pi LW/4A$). Tato práce je zaměřena na detailnější a podrobnější popis variability tvarů spermií, který je založen na obrazové analýze a výpočtu eliptických Fourierových deskriptorů. Fourierovy deskriptory byly použity pro charakteristiku a hodnocení variability tvarů býčích spermií, kde byly pro popis použity především první Fourierovy komponenty (Costa and Cesar, 2001; Ostermeier et al., 2001a,b; Beletti and Costa, 2003; Beletti et al., 2005).

V této práci byly vypočteny a vykresleny tvary hřebčích spermií, a to pomocí průměrných hodnot standardizovaných Fourierových deskriptorů. Příklad vizualizace obrysu náhodně vybrané spermie je uveden na Obr. 2. Původní obrys, odečtený metodou chain-code, je zobrazen bílou čarou v levé části obrázku. Obrys zrekonstruovaný pomocí deskriptorů je naznačen modrou čarou. Obrys sestavený na základě normalizovaných Fourierových deskriptorů je zobrazen v pravé části obrázku, a to zeleně. Elipsa zobrazená vpravo (červeně) je první harmonická elipsa.



Obrázek 2

První čtyři hlavní komponenty mají dostatečně široký popisný potenciál a postihují téměř 90 % celkové variability tvarů. Nejvýznamnější je komponent první (poměr délky a šířky), který zahrnuje 50,73 % celkové variability.

Komponent	Podíl (%)	Celkem (%)	Popisný indikátor
1	50.73	50.73	délka/šířka
2	24.54	75.27	poloha těžiště
3	10.32	85.59	zakřivení
4	3.87	89.46	stupeň kruhovitosti

Tabulka 1

Použití eliptických Fourierových deskriptorů a analýza pomocí hlavních komponent má několik výhod. Především může tento postup postihnout i velmi malé variace v tvaru objektu. Podíl druhého, třetího a čtvrtého komponentu na celkové variabilitě tvaru představuje

24,54 % pro polohu těžiště, 10,32 % pro křivost a 3,87 % pro stupeň kruhovitosti (viz. Tabulka 1).

U zvířat, která jsou často využívána k umělé inseminaci (např. kanců), byl "normální" ejakulát popsán tak, že výskyt abnormalit v tvarech hlaviček spermií nepřesahuje 10 %, žádný z několika vedlejších parametrů nepřesahuje hranici 5 % (defektní akrozomy, bičíky apod.) nebo jejich součet 10-15 % (Rodriguez-Martinez and Barth, 2007). Kvantifikace variability tvarů hlaviček spermií může tedy do jisté míry popsat nebo postihnout přítomnost abnormalit. Morfologický popis ejakulátu jako kvalitativní kritérium, a to zvláště v těch případech, kdy mají defekty jasný vztah k fertilitě, je spolehlivý pouze v případě, kdy je zpracován velký počet vzorků (Barth et al, 1992). To klade vysoké nároky na práci a čas techniků, kteří (často manuálně) tato hodnocení provádí. Samotný výsledek je do značné míry závislý na zkušenostech a znalostech těchto techniků. Vyjádření variability tvarů spermií (a interpretace pomocí jednotlivých indikátorů – poměr délka/šířka, poloha těžiště, zakřivení, stupeň kruhovitosti) tedy může představovat účinný a spolehlivý nástroj při identifikaci problematického ejakulátu.

ZÁVĚR

Fenomén detailně popsané variability tvarů hřebčích spermií je aktuálním problémem a zasluhuje si výrazné pozornosti. Eliptické Fourierovy deskriptory a analýza tvarů pomocí hlavních komponent představují přesné a spolehlivé nástroje pro výpočet a vyjádření této variability. První čtyři hlavní komponenty postihují téměř 90 % celkové variability. Nejvýznamnější je komponent první – poměr délky a šířky hlavičky spermie (50,73 % celkové variability). Detekce drobných rozdílů v morfologii spermií může rozšířit možnosti predikční analýzy a hodnocení hřebčeho spermioqramu. Rozlišení drobných rozdílů ve tvarech jednotlivých spermií pouhým okem je velmi obtížné, ovšem snadno realizovatelné pomocí výpočtu hlavních komponent Fourierovou analýzou. Kromě toho prezentovaná analýza umožňuje hodnocení tvaru nezávisle na rozměrech studovaných objektů. Tato nezávislost představuje velkou výhodu, protože vizuální rozlišovací schopnost lidského oka je často omezena nebo ovlivněna faktorem rozměru. Popsaná obrazová analýza je tedy užitečnou a účinnou metodou pro objektivní popis tvarové a rozměrové variability hřebčích spermií.

LITERATURA

- Ball, B.A., Mohammed, A.O. (1995): Morphometry of stallion spermatozoa by computer-assisted image analysis. *Theriogenology* 44, 367-377.
- Barth, A. D., Oko, R. J. (1989): *Abnormal morphology of bovine spermatozoa*, 1st ed., Ames, IA: Iowa State University Press, p. 285.
- Beletti, M.E., Costa, L.F. (2003): A systematic approach to multispecies sperm morphometric characterization. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 25, 97–107.
- Beletti, M.E., da Fontoura Costa, L., Viana, M.P.(2005): A comparison of morphometric characteristics of sperm from fertile *Bos Taurus* and *Bos indicus* bulls in Brazil, *Animal Reproduction Science* 85, 105–116.
- Bielanski, W., Dudek, E., Bittmar, A., Kosiniak, K. (1982): Some characteristics of common abnormal forms of spermatozoa in highly fertile stallions. *J Reprod Fertil* 32, 21-26.
- Buendía, P., Soler, C., Paolicchi, F., Gago, C., Urquieta, B., Pérez-Sánchez, F., Bustos-Obregón, E. (2002): Morphometric characterization and classification of alpaca sperm heads using the Sperm-Class Analyzer[®] computer assisted system. *Theriogenology* 57, 1207–1218.
- Davis, R.O., Gravance, C. G. (1993): Standardization of specimen preparation, staining, and sampling methods improves automated sperm-head morphometry analysis. *Fertil Steril* 59, 412-417.
- Esteso, M.C., Soler, A.J., Fernandez-Santos, M.R., Quintero-Moreno, A.A., Garde, J.J. (2006): Functional significance of the sperm head morphometric size and shape for determining freezability in Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*) epididymal sperm samples. *Journal of Andrology* 5, 662-670.
- Freeman, H. (1974): Computer processing of line drawing images, *Computer Survey* 6, 57–97.
- Gravance, C.G., Vishwanath, R., Pitt, C., Casey, P.J. (1996): Computer automated morphometric analysis of bull sperm heads. *Theriogenology* 46, 1205–1215.
- Hidalgo, M., Rodríguez, I., Dorado, J., Sanz, J., Soler, C. (2005): Effect of sample size and staining methods on stallion sperm morphometry by the Sperm Class Analyzer. *Vet. Med. - Czech.* 50, 24–32.
- Hidalgo, M., Rodríguez, I., Dorado, J. (2006): Influence of staining and sampling procedures on goat sperm morphometry using the Sperm Class Analyzer. *Theriogenology* 66, 996–1003.
- Hidalgo, M., Rodríguez, I., Dorado, J., Soler, C. (2008): Morphometric classification of Spanish thoroughbred stallion sperm heads. *Animal Reproduction Science* 103, 374–378
- Hingst, O., Blottner, S., Franz, C. (1995): Chromatin condensation in cat spermatozoa during epididymal transit as studied by aniline blue and acridine orange staining. *Andrologia* 27, 275–279.

- Iwata, H., Ukai, Y. (2002): SHAPE: A computer program package for quantitative evaluation of biological shapes based on elliptic Fourier descriptors. *Journal of Heredity* 93, 384–385.
- Iwata, H., Nesumi, H., Ninomiya, S., Takano, Y., Ukai, Y. (2002): Diallel analysis of leaf shape variations of citrus varieties based on elliptic Fourier descriptors. *Breeding Science* 52, 89–94
- Jasko, D.J., Lein, D.H., Foote, R.H. (1990): Determination of the relationship between sperm morphologic classifications and fertility in stallions. *J Am Vet Med Assoc* 197, 389–394.
- Karabinus, D.S, Vogler, C.J., Saacke, R.G., Evenson, D.P. (1997): Chromatin structural changes in sperm after scrotal insulation of Holstein bulls. *J Androl* 18, 549–55.
- Kuhl, F.P., Giardina, C.R. (1982): Elliptic Fourier features of a closed contour. *Computer graphics Image Processing* 18, 236–258.
- Ostermeier, G.C., Sargeant, G.A., Yandell, B.S., Evenson, D.P., Parrish, J.J. (2001): Relationship of bull fertility to sperm nuclear shape. *J. Androl.* 22, 595–603.
- Ostermeier, G.C., Sargeant, G.A., Yandell, T.B.S., Parrish, J.J. (2001b): Measurement of bovine sperm nuclear shape using Fourier harmonic amplitudes. *J. Androl.* 22, 584–594.
- Phillips, N.J., McGowan, M.R., Johnston, S.D., Mayer, D.G. (2004): Relationship between thirty post-thaw spermatozoal characteristics and the field fertility of 11 high-use Australian dairy AI sires. *Anim Reprod Sci* 81, 47–61.
- Rodriguez-Martinez, H., Barth, A.D. (2007): In vitro evaluation of sperm quality related to in vivo function and fertility. *Soc Reprod Fertil Suppl* 64, 39–54.
- Roldan, E.R., Cassinello, J., Abaigar, T., Gomendio, M. (1998): Inbreeding, fluctuating asymmetry, and ejaculate quality in an endangered ungulate. *Proc Biol Sci* 265, 243–248.
- Sancho, M., Pérez-Sánchez, F., Tabaldo, L., de Monserrat, J.J., Soler, C. (1998): Computer assisted morphometric analysis of ram sperm heads: evaluation of different fixative techniques, *Theriogenology* 50, 27-37.
- Saravia, F., Nunez-Martinez, I., Moran, J.M., Soler, C., Muriel, A., Rodriguez-Martinez, H., Pena, F.J. (2007): Differences in boar sperm head shape and dimensions recorded by computer-assisted sperm morphometry are not related to chromatin integrity, *Theriogenology* 2, 196-203.
- Thurston, L.M., Watson, P.F., Mileham, A.J., Holt, W.V. (2001): Morphologically distinct sperm subpopulations defined by Fourier shape descriptors in fresh ejaculates correlate with variation in boar semen quality following cryopreservation. *J. Androl.* 22, 382–394.
- Toyohara, H., Irie, K., Ding, W., Iwata, H., Fujimaki, H., Kikuchi, F., Ukai, Y. (2000): Evaluation of tuber shape of yam (*Dioscorea alata* L.) cultivars by image analysis and elliptic Fourier descriptors. *J Breed. Genet.* 32, 31–37.

Tuset, V.M., Dietrich, G.J., Wojtczak, M., Słowinska, M., de Monserrat, J., Ciereszko, A. (2008): Comparison of three staining techniques for the morphometric study of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) spermatozoa, *Theriogenology* 69, 1033–1038.

Voss, J.L., Pickett, S.W., Squires, E.L. (1981): Stallion spermatozoal morphology and motility and their relationship to fertility. *J Am Vet Med Assoc* 178, 287–289.

Yoshioka, Y., Iwata, H., Ohsawa, R., Ninomiya, S. (2004): Analysis of Petal Shape Variation of *Primula sieboldii* by Elliptic Fourier Descriptors and Principal Component Analysis. *Annals of Botany* 94, 657–664.

Yoshioka, Y., Iwata, H., Hase, N., Matsuura, S., Ohsawa, R., Ninomiya, S. (2006): Genetic combining ability of petal shape in garden pansy (*Viola x Wittrockiana Gams*) based on image analysis. *Euphytica* 151, 311–319.

INFLUENCE OF FEEDING OF NATURALLY MOULDED DIETS ON LEVEL OF HEPATIC ENZYMES

VLIV ZKRMOVÁNÍ PŘIROZENĚ ZAPLESNIVĚLÝCH DIET NA HLADINU JATERNÍCH ENZYMŮ

Vašátková A., Křížová Š., Zeman L.

Department of Animal Nutrition and Forage Production, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: A.Vasatkova@seznam.cz, Zeman@mendelu.cz

ABSTRACT

In 28-days experiment we tested effect of naturally moulded diets on level of hepatic enzymes and on performance of Wistar albino rats. For this experiment were used four level naturally mouldy wheat – 0, 33, 66 and 100 %. This experiment was conducted to determine influence of moulded wheat in experimental mixtures on health condition, growth performance and feed conversion of rats. For testing were used selected male laboratory rats of Wistar Albino strain at age of 28 days. These were divided in four groups with seven rats each and passed plastic cages with slotted floor in vivarium. All rats were marked by zootechnical colour which make possible to individual monitoring and weighing. At the very end the animals were putted to death and blood were sampled. Alkaline phosphatase (ALP) and aspartate transaminase (AST) level was determined by differential biochemical analyses. The results of our experiment showed us, that weight of rats weren't significant differences between groups. Control group had the highest average weight gain from 1st till 28th day, which was 227.91 ± 22.24 g. The group fed mixture with 100 % mouldy wheat had the worst weight gain, which was 186.46 g. We found out that the control group had the best feed conversion, which was 2.7 and the worst feed conversion had the group fed mixture with 100 % mouldy wheat and it was 3.24. The results of biochemical analyses showed us, that level of hepatic enzymes from 1st till 28th day about control group it was 255.83 ± 57.61 U/I for ALP and 111.68 ± 69.23 U/I for AST. The group fed mixture with 33% mouldy wheat had the worst level of hepatic enzymes which was 278.25 ± 103.85 U/I for ALP. The group fed mixture with 100 % mouldy wheat had the level of AST which was 290.33 ± 78.47 U/I.

Keywords: hepatic enzymes, growth performance, aspartate transaminase, alkaline phosphatase

Acknowledgments: IG280091

ÚVOD

Růst plísní na obilovinách není v České republice ojedinělým jevem. Plísňová kultura může kontaminovat zrna jak na poli, tak při skladovacím procesu. Je velmi problematické kontrolovat růst plísní, zejména díky neschopnosti člověka ovlivnit počasí. Důležité je, že růst hub nemusí být vždy viditelný pouhým okem, protože první stádium růstu plísní je mikroskopické. Hlavními rody, které můžeme na obilninách detekovat jsou *Aspergillus*, *Claviceps*, *Penicillium* a *Fusarium* (Marquart, 1996). Tyto rody plísní jsou také zároveň v našich podmínkách označovány jako plísňově toxigenní, což znamená, že jejich sekundární metabolity (mykotoxiny), jsou látky, které nacházíme v krmivech jako kontaminanty.

Zaplísňená krmiva i s nízkými hladinami mykotoxinů mohou u hospodářských zvířat způsobovat různé dietetické poruchy, vyvolávat alergické reakce, negativně ovlivňovat imunitu zvířat a při silné kontaminaci může docházet i k poškození jaterního parenchymu. Už malé poškození hepatocytů způsobuje změnu aktivity ALT a AST.

MATERIÁL A METODIKA

Pokus byl proveden v experimentálním zařízení Ústavu výživy zvířat a pícninářství AF MZLU v Brně (v souladu se Zákonem na ochranu zvířat proti týrání č. 246/1992 Sb).

V laboratoři byly sledovány mikroklimatické podmínky, které jsou limitovány především teplotou, jež byla měřena „DATA LOGGEREM S 3120“ a byla udržována v rozmezí $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Dále byla stejným přístrojem monitorována stálá vlhkost vzduchu a udržována na hladině 60 % klimatizační jednotkou. Fotoperioda byla řízena uměle dle schématu 12hod. den a 12hod. noc o max. intenzitě 200 lx a konečně z podmínek chemických byl sledován obsah CO_2 ve stájovém vzduchu – max. 0,25 %, NH_3 max. 0,0025 %.

Jako experimentální model pro tento pokus byli použiti rostoucí samci laboratorního potkana outbredního kmene Wistar albino. Zvířata byla do pokusu zařazena ve věku 28 dní a skupiny jsme sestavily tak, aby bylo vše v souladu s normou požadující maximální rozdíly ve hmotnosti mezi pokusnými skupinami 5g (KACEROVSKÝ, 1990).

Pokusné sledování trvalo 28 dní a bylo rozděleno do 4 týdnů. Potkani byli ustájeni v plastových klecích po 4 skupinách a pro přehledné sledování barevně označeni. V každé skupině bylo ustájeno 7 samců.

Krmné směsi byly sestaveny z přirozeně zaplesnivělé pšenice, jež byla do diet přidávána v zastoupení 0 %, 33 %, 66 % a 100 % viz. schéma pokusných krmných směsí. Tato pšenice byla pošrotována a po dobu 14ti dní byla vlhčena pomocí rozprašovací techniky vodou v dávce 4litry / 100kg. Před vlastním mícháním pokusných diet byl u této pšenice proveden rozbor na zastoupení a hladin mykotoxinů. Poté byly kompletně sestaveny pokusné krmné směsi a byly odebrány vzorky krmiv a provedeny rozborů na obsah základních organických živin (NL, vlákniny, tuku, BNLV a popela). Analýzy a chemická stanovení byla provedena podle zásad, které uvádí KACEROVSKÝ a kol. (1990) a podle vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 124/2001 Sb., která stanovuje požadavky na odběr vzorků a principy metod laboratorního zkoušení krmiv, doplňkových látek a premixů a způsob

uchování vzorků podléhající zkáze. Vlhčené krmné směsi a zdravotně nezávadná voda byly podávány ad libitum, spotřeba směsí byla sledována skupinově.

V průběhu pokusu byly individuálně sledovány tyto ukazatele: čistý příjem pokusných krmných směsí, zdravotní stav zvířat, hmotnostní přírůstky, příjem a konverze krmiva.

Zvířata byla 1x týdně přestýlána. Zbytky nesežraných krmiv a výkaly byly skupinově odebírány, váženy a sušeny. Z nich byl stanoven: čistý příjem pokusných krmných směsí a výkaly pro stanovení koeficientů stravitelnosti organických živin (v % - sušiny, NL, vlákniny, BNLV, tuku a popela).

První den pokusu byla kontrolním zvířatům punkcí odebrána krev ze srdce, která byla podrobena biochemickému vyšetření na Ústavu morfologie fyziologie a genetiky zvířat naší univerzity. Pro potřeby biochemického vyšetření bylo odebráno 150 μ l krve do zkumavky bez antikoaguantní složky. Po sražení byla krev odstředěna a z krevního séra stanoveny hladiny aspartátaminotrasferázy (AST) a alkalické fosfatáza (ALP).

Po ukončení experimentu byla zvířata podrobena pitvě, při které jim byla vyjmuta játra a z nich odebrán vzorek 1 x 1 x 1 cm, který byl uložen po dobu 24h v 10% roztoku formaldehydu a po té přenesen do 5% roztoku formaldehydu. Takto fixovaný vzorek byl použit k tvorbě trvalého histologického preparátu, který bude vyfotografován a analyzován světelným mikroskopem s použitím imerzního oleje (Olympus BH2, Olympus optical Co., Ltd, Tokyo, Japan) při tisícinásobném zvětšení.

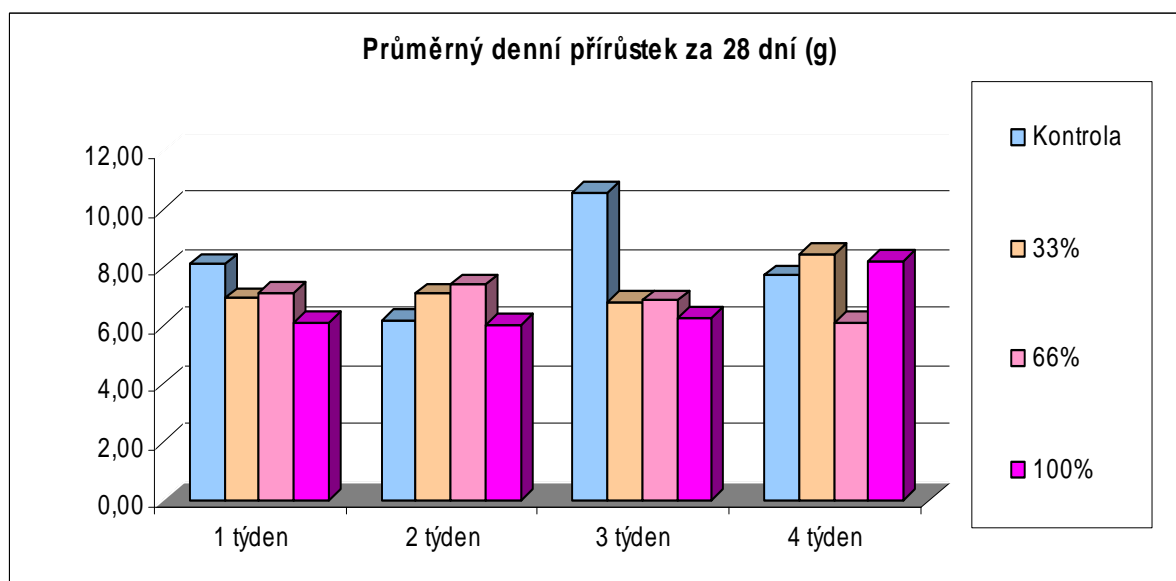
Tabulka č. 1: Složení pokusných krmných směsí

Ingredient (%)	Kontrola	33%	66%	100%
Pšenice	60	40,2	20,4	-
Pšenice zaplesnivělá	-	19,8	39,6	60
SEŠ 47,5 %	12	12	12	12
ŠKROB	22,14	22,14	22,14	22,14
Lysin 78%	0,46	0,46	0,46	0,46
MPK makro	3	3	3	3
Vitamíny	0,4	0,4	0,4	0,4
Slunečnicový olej	2	2	2	2
Suma	100	100	100	100

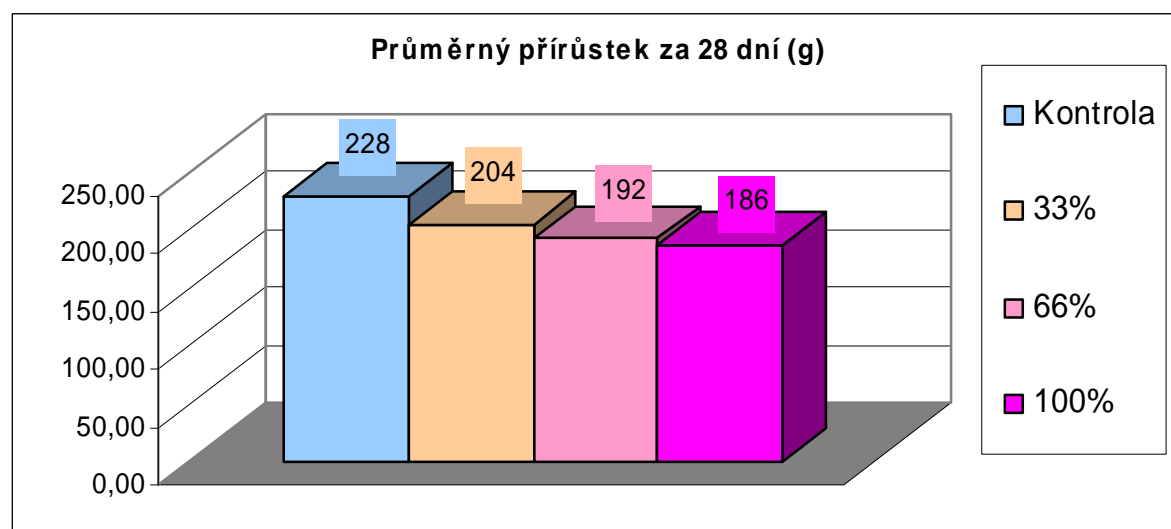
VÝSLEDKY A DISKUZE

Z hmotnostních měření vyplývá, že nejvyšší průměrné hmotnosti dosáhla skupina krmená kontrolní pokusnou krmnou směsí, která neobsahovala žádnou zaplesnivělou pšenici. Hmotnostní přírůstek u kontrolní skupiny byl $227,91 \pm 22,24$ g. Naopak, skupina krmená dietou sestavenou pouze z přirozeně zaplesnivělé pšenice, vykazovala nejnižší průměrný přírůstek, který byl $186,46 \pm 8,99$ g.

Graf č. 1: Průměrný denní přírůstek v průběhu pokusu

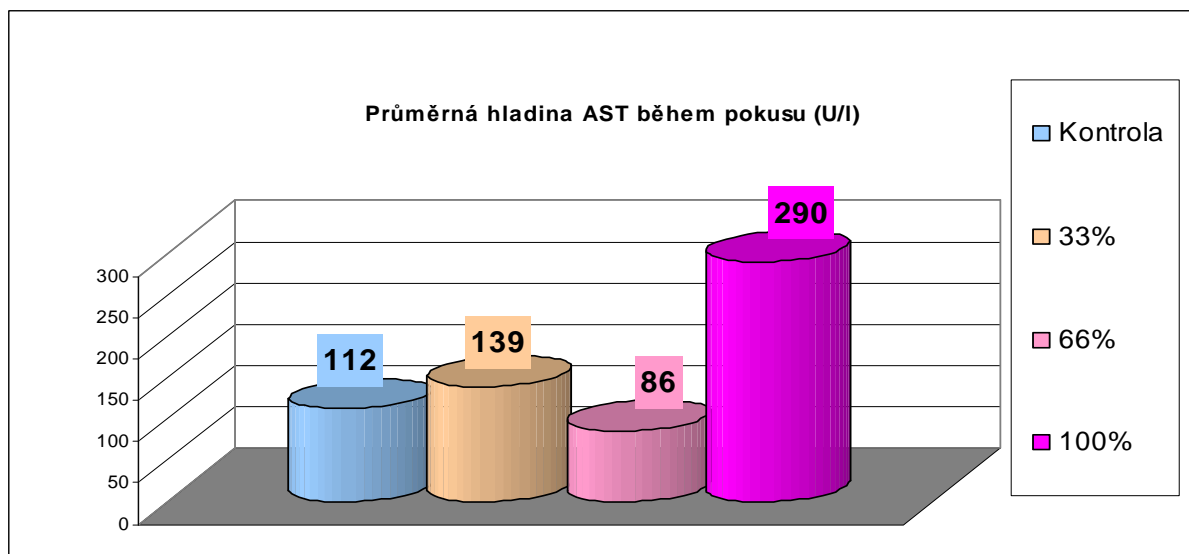


Graf č. 2: Průměrný hmotnostní přírůstek za 28 dní



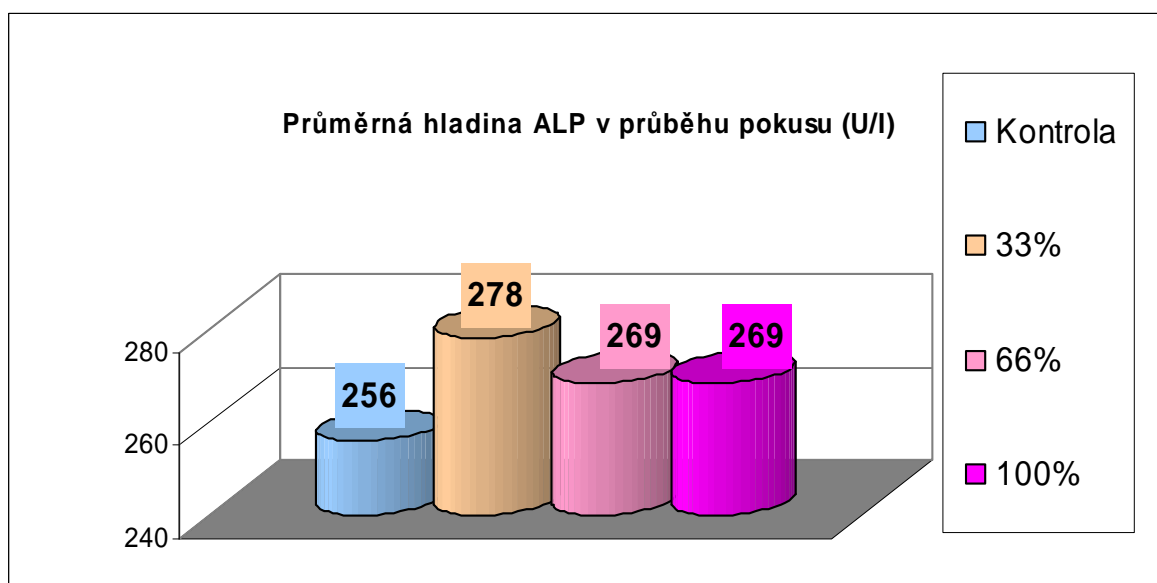
Z biochemického vyšetření krve laboratorních potkanů bylo zjištěno, že nejnižší průměrná hladina AST byla stanovena u skupiny kontrolní ($111,68 \pm 69,23$ U/I), naopak nejvyšší průměrná hladina AST byla detekována u skupiny 100%, a to ve výši $290,33 \pm 78,47$ U/I. Podle výsledků můžeme říci, že hladina AST u skupiny 100% je statisticky průkazně ($P < 0,05$) vyšší oproti skupině kontrolní a skupině 33%.

Graf č.3: Průměrná hladina aspartátaminotrasferázy v průběhu 28 dní



Při stanovování hladiny alkalické fosfatázy bylo zjištěno, že nejnižší průměrnou hladinu ALP vykazovala opět kontrolní skupina. U této skupiny byla hladina alkalické fosfatázy v krvi $255,83 \pm 57,61$ U/I. Velmi překvapivý vývoj byl zaznamenán u skupiny, která měla v krmné směsi zařazenu přirozeně zaplesnivělou pšenici v dávce 33 %. Tato skupina vykazovala v průběhu pokusu nejvyšší hladinu alkalické fosfatázy, která činila $278,25 \pm 103,85$ U/I.

Graf č.4: Průměrná hladina alkalické fosfatázy v průběhu 28 dní



ZÁVĚR

Cílem krmných pokusů na outbredním kmeni laboratorního potkana kmene Wistar albino bylo ověřit v praktických podmínkách změny hladin jaterních enzymů, v závislosti na podávané dávce přirozeně zaplesnivělé pšenice, jako indikátor možného prvopočátku patologického projevu jaterního parenchymu.

Bylo zjištěno, že různá hladina přirozeně zaplesnivělé pšenice v pokusných krmných směsích dokáže ovlivnit produkci jaterních enzymů v tom směru, že čím větší bylo procento zaplísněného krmiva ve směsi, tím vyšší byly hladiny AST a ALP. Do jaké míry došlo k viditelnému jaternímu poškození, ukáží až histologické preparáty, které prozatím čekají na vyhodnocení. Lze předpokládat, že změny hladin jaterních enzymů jsou prvním posouzením funkčnosti jaterního parenchymu.

LITERATURA

KACEROVSKÝ, O. et. al.: Zkoušení a posuzování krmiv. SNZ Praha 1990, 216s. ISBN 80-209-0098-5

MARQUARDT, R.R. 1996. Effect of koles and their toxins on livestock performance: A western Canadian perspective. Anim. Feed Sci. Tech. 58:77-89.

Zákon na ochranu zvířat proti týrání č. 246/1992 Sb.

HOOPER, C.S. et al: Biochemical profile sof rats wistar at laboratory animals breeding center, Dostupné:

[http://www.google.com/search?q=BIOCHEMICAL+PROFILES+OF+RATS+WISTAR+\(RATTUS+NORVEGICUS\)+AT+LABORATORY+ANIMAL+BREEDING+CENTER+&source=id=navclient-ff&ie=UTF-8&rlz=1B3GGGL_cs___CZ216](http://www.google.com/search?q=BIOCHEMICAL+PROFILES+OF+RATS+WISTAR+(RATTUS+NORVEGICUS)+AT+LABORATORY+ANIMAL+BREEDING+CENTER+&source=id=navclient-ff&ie=UTF-8&rlz=1B3GGGL_cs___CZ216)

THE INFLUENCE OF CHELATES ON SELECTED BLOOD PARAMETERS OF HORSES

VLIV ZKRMOVÁNÍ CHELÁTŮ NA VYBRANÉ UKAZATELE KREVNÍHO OBRAZU KONÍ

Večerek M., Vašátková A., Mareš P., Zeman L.

Department of Animal Nutrition and Forage Production, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: mvecerek@centrum.cz, zeman@mendelu.cz

ABSTRACT

The effect of microelements chelates supplementation (Zn, Mn) on blood parameters of horses was evaluated (number of erythrocytes and leukocytes, level of Cu and Fe in blood plasma). Six clinically healthy horses of University farm Zabcice were in the experiment. The level of blood parameters were compared in blood samples taken before and after experimental period. Before experimental period the horses were fed by standard mineral premix and during experimental period of 28 day they were fed by premix with chelates of Zn and Mn. The average hay intake was 10.37 kg of dry matter per horse and day. The average intake of concentrates was 2.87 kg of dry matter per horse and day. We could see the improving of erythrocytes number in blood (8.23 compared with 8.16 $10^6/\text{mm}^3$), lymphocytes (7,60 compared with 7,15 $10^3/\text{mm}^3$). The other monitored parameters were Cu content in blood plasma (15,18 respectively 16,00 $\mu\text{mol/l}$) and ferrum content (24,67 versus 29,30 $\mu\text{mol/l}$). The statistically significant difference was found out in case of ferrum content. In other part of experiment we evaluate the linseed supplementation on these parameters. – No significant differences were found out.

Key words: horse, chelate, minerals, zinc, manganese, blood, plasma, iron, copper

Acknowledgments: The work was supported by IGA of MZLU as project no. IG280081.

ÚVOD

Minerální prvky existují v buňkách a tkáních živočichů v nejrůznějších chemických a funkčních formách a kombinacích i v charakteristických koncentracích typických pro určitý prvek a tkáň. Jednotlivé minerální prvky nepůsobí v organismu samostatně, ale vždy ve vzájemných souvislostech. Pro fyziologickou funkci a strukturální integritu tkání musí být zachována optimální koncentrace a poměr minerálních látek.

K tomu, aby nároky zvířecího organismu na přísun minerálních látek byly správně pokryty, bývají krmné dávky tradičně doplňovány anorganickými sloučeninami, například oxidy, sírany a uhličitany. Ty jsou během trávení, v důsledku nízkého pH v žaludku, v různém stupni rozkládány na „volné ionty“, jež jsou pak následně absorbovány. Kromě toho však tyto ionty mohou vytvářet komplexy s jinými dietetickými molekulami, což může mít za následek buď značné zhoršení jejich stravitelnosti, nebo vytvoření nerozpustných komplexů, které jsou pro absorpci nedostupné a odcházejí výkaly ven z organismu. Také svými vazbami (komplexy) s vitamíny mohou ovlivnit celkový metabolismus živin (McDowell, 2000). Vzhledem k této skutečnosti bývají přídatky jednotlivých minerálií do krmné dávky dost často podstatně vyšší, což má za následek jejich zbytečně vysoký přísun do organismu a z něj vyplývající zbytečné zatěžování a znečišťování životního prostředí (Close, 1998). Chelátová forma prvků se považuje za lépe využitelnou v organismu a méně znečišťující životní prostředí (NRC, 2005).

MATERIÁL A METODIKA

Do našeho experimentu bylo zařazeno šest klinicky zdravých koní Školního zemědělského podniku v Žabčicích. Pokusným zásahem byl zkoumán vliv zkrmování chelátové formy zinku (Zn) a manganu (Mn) na změny obsahu červených, bílých krvinek v krvi a hladinu krvetvorných prvků železa (Fe) a mědi (Cu) v krevní plasmě koní. Od každého koně bylo odebráno 40 ml krve z *vena jugularis* a to do 4 zkumavek, z nichž 2 obsahovaly antikoagulant (K_3EDTA). Krevní vzorky byly též den zpracovány na přístroji MEDONIC CA 620 VET 16 pro stanovení množství červených a bílých krvinek a Konelab 20XT pro stanovení obsahu sledovaných prvků v krvi na Ústavu morfologie, fyziologie a genetiky zvířat MZLU v Brně. Byly provedeny tři odběry krevních vzorků a to v 0., 15. a 28. den. Důvodem odběru 15. den bylo zařazení tepelně ošetřeného semene lnu setého (v dávce 50 g/den) do krmné dávky pokusných koní.

Krmení koní probíhalo dvakrát denně objemným a jadrným krmivem. Jako objemné krmivo bylo použito luční seno v průměrném celkovém množství 10,37 kg/ks/den v sušině. Jadrné krmivo, v množství 2,87 kg/ks/den v sušině, bylo zastoupeno mačkaným 2,19 kg sušiny ječmene a 0,68 kg sušiny kukuřičného šrotu. Komerční minerální přísada MIKROS VDK (v množství 0,1 kg/ks/den) byla nahrazena pokusnou směsí chelátů Zn a Mn (v množství 0,03 kg/ks/den). Celkové změny krmné dávce jsou uvedeny v tabulce 1.

Tab. 1 Obsah živin v krmných dávkách koní

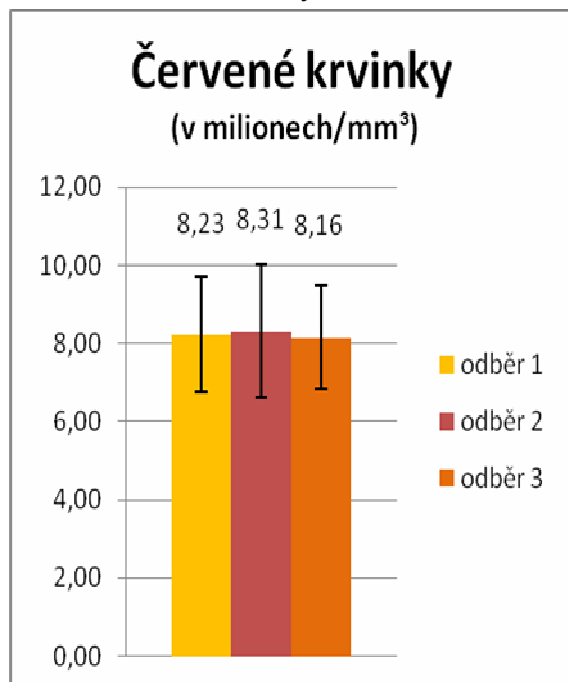
	den 0	den 15	den 28
Sušina	13336,32	13266,32	13313,50
NL g	1258,60	1257,46	1267,74
Tuk g	333,14	332,58	349,91
Vláknina g	3046,17	3042,88	3050,43
BNLV g	7733,71	7720,88	7733,80
Popel g	964,70	912,51	914,44
Fe mg	7004,87	6309,55	6316,69
Zn mg	654,19	927,30	930,45
Mn mg	834,79	1029,26	1030,06
Cu mg	80,84	47,42	48,12

VÝSLEDKY A DISKUZE

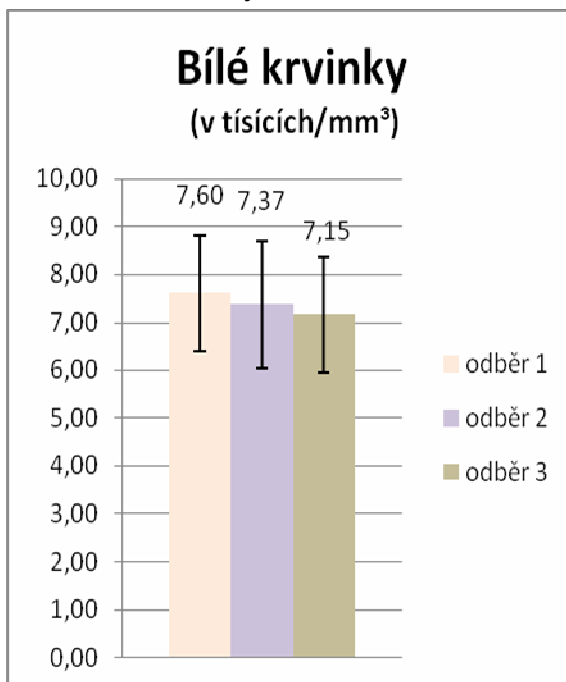
V pokusu jsme tedy zkrmovali 3 rozdílné hladiny živin v krmné dávce (úroveň vybraných živin viz tab. 1). Cílem našeho experimentu bylo sledování vlivu zkrmování chelátů zinku a manganu na hladinu červených a bílých krvinek a na změny hladiny krvetvorných stopových prvků mědi a železa v krevní plasmě koní. Z grafu 1 je patrné, že množství červených krvinek se změnou krmné dávky výrazně nezměnilo. Pozorovali jsme mírný statisticky neprůkazný nárůst po zahájení pokusu s organicky vázanými stopovými prvky. Naopak po přidavku 50g tepelně upraveného semene lnu setého do krmné dávky došlo k poklesu, který nepřesahuje fyziologické rozpětí. Naproti tomu postupný pokles množství bílých krvinek je zřetelný v grafu 2. Sledované hodnoty krevních elementů byly ve fyziologickém rozmezí.

Den 0 považujeme za kontrolní úroveň hladiny stopových prvků v krvi a den 15 a den 28 považujeme za pokusné odběry, protože před nimi byla minimálně 14 dnů stejná hladina přijímaných živin v krmné dávce. Předpokládali jsme, že vliv přidaných stopových prvků do krmné dávky se projeví v parametrech obsahu prvků v plasmě. Tento předpoklad se projevil překvapivě pouze u hladiny železa, kdy došlo k jeho zvýšení v krevní plasmě vlivem krmného zásahu (z 24,67 um na 32 respektive 29,6 um /litr plasmy). Při porovnání námi zjištěných výsledků s údaji, které popsali EWING a CHARLTON (2007) v kruhovém diagramu, jsme předpokládali vzájemné ovlivnění mezi těmito stopovými prvky v metabolismu zvířat. Naš pokus tedy naznačuje, že u koní po přidavku těchto dvou organických minerálních prvků dojde ke zvýšení hladiny železa v plasmě.

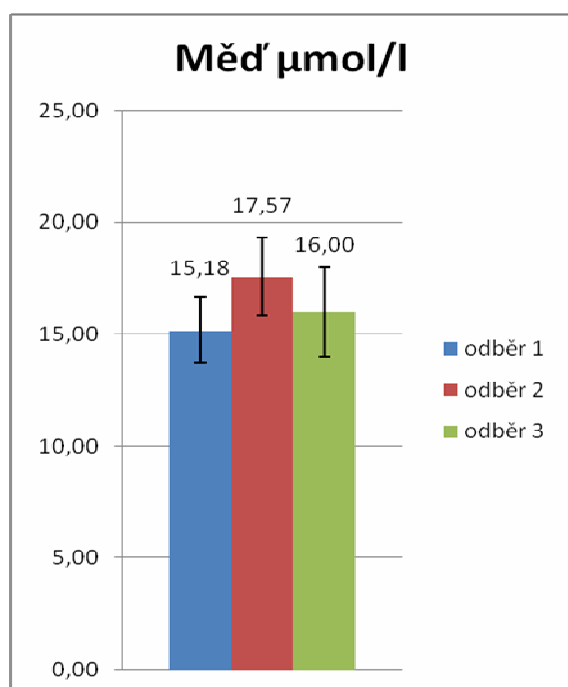
Graf 1: Hladina červených krvinek



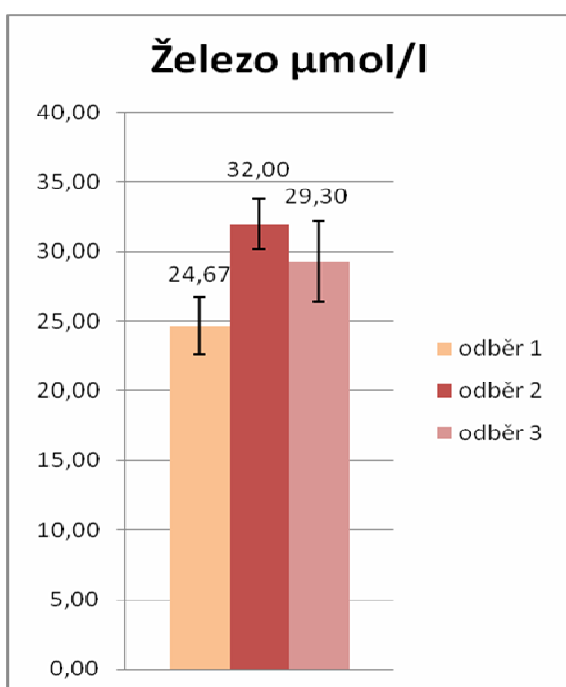
Graf 2: Hladina bílých krvinek



Graf 3: Obsah mědi v plasmě



Graf 4: Obsah železa v plasmě



Graf 3 a graf 4 znázorňuje počáteční nárůst obsahu mědi a železa v krevní plazmě s následným poklesem k 28. dni sledování. V druhém období sledování kromě chalátů zinku a manganu došlo také k mírné změně v příjmu živin, protože chovatel si přál zařadit do krmné dávky 47 gramu sušiny semen lnu setého (viz tab. 1). Tento nepatrný zásah pravděpodobně

neovlivnil sledované parametry tolik jako dlouhodobé (28 dnů trvající) snížení stopových prvků v krmné dávce. Pravděpodobně původní zásoba (pool) stopových prvků v organismu koně se za takovou dobu vyčerpala a to mělo za následek snížení těchto prvků v krevní plasmě. Toto zjištění však bude nutné ještě jednou ověřit ve speciálním pokusu.

ZÁVĚR

V našem experimentu bylo potvrzeno, že změnou hladiny stopových prvků (Zn, Mn) v krmné dávce lze ovlivnit hladinu železa a mědi v krevní plasmě. Paradoxně vypuštění anorganických stopových prvků (Zn a Mn) z krmné dávky a jednostranné zvýšení jejich ve formě organické vede ke zvýšenému vyplavování železa (možná i mědi) do krevní plasmy.

LITERATURA

- Close, W.,H. (1998): New Developments in the use of Trace Mineral Proteinates to Improve Pig Performance and Reduce Enviromental Impact, European Lecture Tour 1998, Alltech Brno, p 51-68
- Ewing, W. N., Charlton, S. (2007): The Minerals Directory. 2nd Edition, Context products Ltd., England, ISBN 978-1-899043-11-8
- McDowell, L.R. (2000): Vitamins in Animal and Human Nutrition, 2nd edition, Academic Press, Iowa State University Press, 793pp. ISBN 0-8138-2630-6
- NRC (2005): National Research Council of National Academies, Mineral Tolerance of Animals. 2nd Edition, The National Academies Press, Washington D.C., 496pp. ISBN 0-309-09654-5

REACTION OF HIGHER PRODUCING COWS ON SUMMER TEMPERATURES IN THE STABLE

REAKCE VYSOKOUŽITKOVÝCH DOJNIC NA LETNÍ TEPLoty VE STÁJI

Walterová L., Šarovská L., Chládek G.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: walty@seznam.cz, sarole@seznam.cz, chladek@mendelu.cz

ABSTRACT

Aim of this study was to evaluate from what range of temperature, relative humidity and THI will decrease milk production of high-producing Holstein cows on 2nd and higher lactation. Cows were placed on university farm in Zabcice (CZ) lies in lowland area (49°0'4"North, 16°36'East, 179 m of altitude). Cows were stabled together in same conditions in loose housing stable with bedding. As microclimatic factors were monitored air temperature –T (°C), relative humidity –RH (%) and counted temperature–humidity index –THI. The experiment was carried out from June to August (2007). There were recorded 12 summers and 1 tropical day in the stable. RH varied from 40 to 80 %, and THI were 18 days above 72. We have found that higher temperatures and THI in stable have negative impact on milk production. As a critical we have found temperature 22 °C of cows on 2nd lactation and 25 °C of cows on higher lactation. Critical THI value was 69 of cows on 2nd lactation and 73 of cows on higher lactation. We haven't found exact influence of relative humidity in stable on milk production.

Key words: milk yield, summer temperature, relative humidity, THI

Acknowledgments: This study was supported by the Research plan No. MSM6215648905 “Biological and technological aspects of sustainability of controlled ecosystems and their adaptability to climate change“, which is financed by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

ÚVOD

Ustájení skotu, resp. chovné prostředí patří mezi rozhodující faktory chovu. Významnými prvky, které hrají hlavní roli v chovném prostředí dojnic jsou teplota vzduchu spolu s relativní vlhkostí. V současné době je poukazováno na globálního oteplování a na jeho zřejmý negativní vliv na chovatelské prostředí hospodářských zvířat. Za poměrně specifický problém je možné považovat negativní působení vyšších teplot na skot. Cílem sledování bylo zjistit při jaké teplotě, vlhkosti a THI dochází k poklesu mléčné užitkovosti u vysokoužitkových dojnic na 2. a vyšší laktaci.

MATERIÁL A METODIKA

V experimentu byla sledována reakce vysokoužitkových dojnic na letní teploty ve stáji. Sledování proběhlo od 1.6. do 31.8. 2007 na školním zemědělském podniku v Žabčicích (49°0'4" s. š. a 16°36' v. d., 179 m.n.m.). Skupina 26 kusů holštýnských dojnic byla rozdělena do dvou skupin podle stádia laktace; 13 dojnic na 2. laktaci a 13 dojnic na vyšší laktaci. Dojnice byly krmeny shodnou krmnou dávkou a ustájeny ve stejné sekci ve volné, boxové a stelivové stáji na ŠZP Žabčice.

Teplota (°C) a relativní vlhkost (%) ve stáji byla měřena neustále v 15 minutových intervalech pomocí 6 čidel HOBO rozmístěných rovnoměrně ve stáji v kohoutkové výšce dojnic. Produkce mléka byla hodnocena na základě denní užitkovosti jednotlivých dojnic při dojení 2x denně, a to ve 4:00 a 16:00 hodin. Průměrná denní teplota a relativní vlhkost ve stáji byla spočtena jako aritmetický průměr všech hodnot v hodnocený den. Hodnoty THI byly vypočteny z uvedené rovnice (HAHN, 1999):

$$THI = 0,8 t_{db} + (t_{db} - 14,4) * RH / 100 + 46,4,$$

kde: t_{db} = teplota ve stáji a RH = relativní vlhkost ve stáji.

VÝSLEDKY

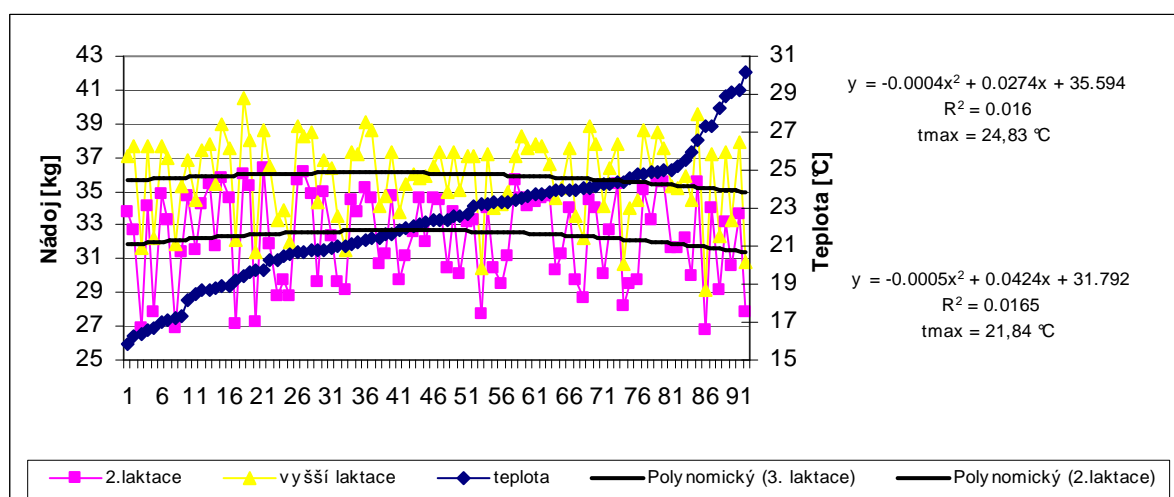
Průměrné, minimální a maximální hodnoty produkce mléka, teploty, vlhkosti a THI ve stáji včetně jejich variability jsou uvedeny v Tab. 1. Z tabulky je zřejmé, že průměrná denní užitkovost dojnic na 2. laktaci byla 32,3 kg mléka a pohybovala se od 26,8 do 36,4 kg. Variabilita (v_x) v nádoji během sledovaného období byla v průměru 8,2 %. U dojnic na vyšší laktaci byla průměrná užitkovost 35,8 kg a nacházela se v rozmezí od 29,1 do 40,5 kg, při průměrné variabilitě 6,7 %. Průměrná teplota ve stáji byla 22,2 °C a pohybovala se od 15,8 do 30,1 °C, variabilita dosahovala průměrné hodnoty 14 %. Relativní vlhkost ve stáji byla v průměru 61,5 % a kolísala od 41,7 do 89,6 %, při průměrné variabilitě 16,2 %. Během sledovaného období byla průměrná hodnota THI ve stáji 68,9 a nacházela se v intervalu od 41,7 do 78,9. Pokud se týká variability u THI, ta byla v průběhu letních měsíců v průměru 5,9 %.

Tab. 1 Souhrnné statistické charakteristiky sledovaných ukazatelů u skupiny dojnic na 2. a vyšší laktaci

	průměr	min.	max.	s _x	v _x (%)
2.laktace (kg)	32.3	26.8	36.4	2.7	8.2
vyšší laktace (kg)	35.8	29.1	40.5	2.4	6.7
teplota (°C)	22.2	15.8	30.1	3.1	14.0
vlhkost (%)	61.5	41.7	89.6	10.0	16.2
THI	68.9	60.2	78.9	4.1	5.9

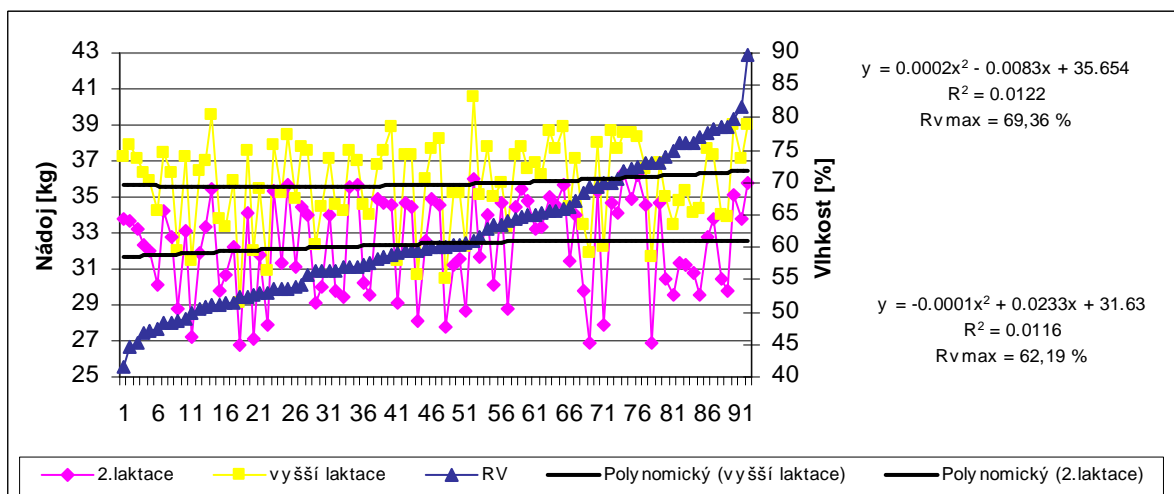
Reakce mléčné užitkovosti dojnic na 2. a vyšší laktaci při vzrůstající teplotě je patrná z Grafu 1. Hodnoty průměrných denních užitkovostí dojnic na 2. a vyšší laktaci byly seřazeny podle narůstající teploty a byly proloženy spojnicí trendu. V průběhu spojnice trendu je patrný stacionární bod, od kterého je zřejmý pokles průměrné mléčné užitkovosti při narůstající teplotě. Výpočtem stacionárního bodu z regresní rovnice spojnice trendu jsme získali hodnotu lokálního maxima. Které nastalo v případě mléčné užitkovosti dojnic na 2. laktaci při teplotě 21,84 °C. U dojnic na vyšší laktaci dochází k poklesu mléčné užitkovosti až při teplotě 24,83 °C.

Graf 1 Reakce mléčné užitkovosti dojnic na 2. a vyšší laktaci při vzrůstající teplotě



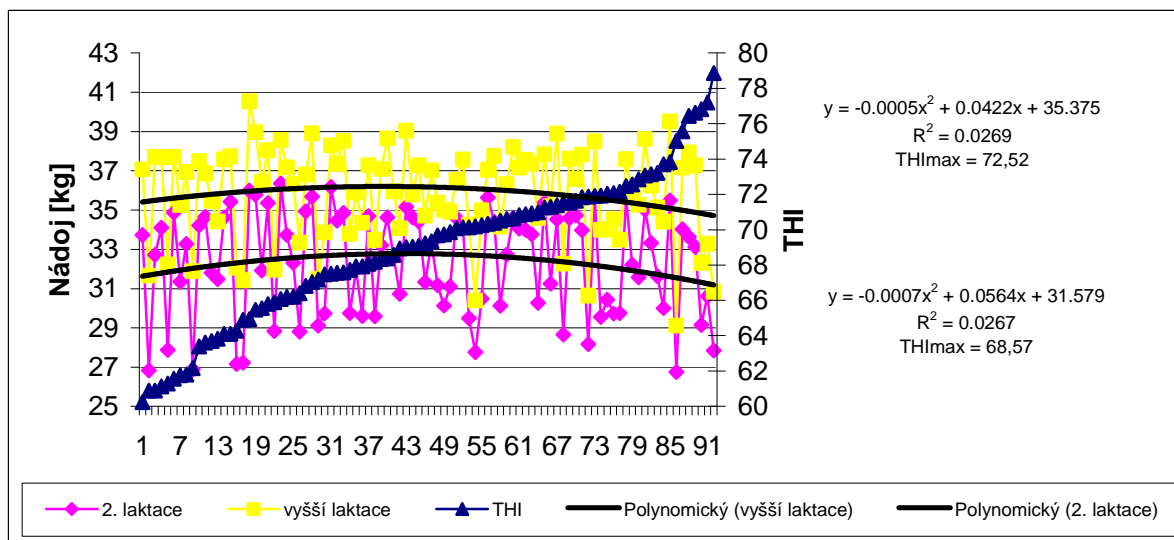
Jak reagovala mléčná užitkovost dojnic na 2. a vyšší laktaci při vzrůstající relativní vlhkosti je viditelné z Grafu 2. U dojnic na 2. laktaci je patrný pokles mléčné užitkovosti při hodnotách relativní vlhkosti přesahujících 62,19 %. V případě dojnic na vyšší laktaci je zobrazen opačný trend a minimum je zjištěno při 69,36 % relativní vlhkosti.

Graf 2 Reakce mléčné užitkovosti dojníc na 2. a vyšší laktaci při vzrůstající relativní vlhkosti



V Grafu 3 je zobrazen průběh mléčné užitkovosti dojníc na 2. a vyšší laktaci při vzrůstajících hodnotách THI. Průběh spojnic trendu proložený mléčnou užitkovostí při narůstajících hodnotách THI kopíruje průběh trendu teplot z Grafu 1. To lze přičítat tomu, že při výpočtu hodnoty THI je zřejmě větší důraz kladen na teplotu než relativní vlhkost. V případě dojníc na 2. laktaci dochází k poklesu mléčné užitkovosti při hodnotách THI přesahujících hodnotu 68,57, zatímco u dojníc na vyšší laktaci je zaznamenán pokles až od hodnot přesahujících hodnotu THI 72,52.

Graf 3 Reakce mléčné užitkovosti dojníc na 2. a vyšší laktaci při vzrůstajících hodnotách THI



DISKUZE

Průměrná užitkovost námi sledovaných dojnic na 2. laktaci byla 32 kg mléka a na vyšší laktaci 36 kg mléka což odpovídá užitkovosti za laktaci blížící se k 10 000 kg. To v podmínkách ČR znamená, že šlo o dojnice s vysokou užitkovostí.

Průměrná teplota ve stáji v průběhu sledování dosahovala 22,2 °C a v maximu 30,1 °C, přičemž jsme zaznamenali celkem dvanáct letních dní a jeden den tropický. Tyto hodnoty teplot se již jednoznačně považují za negativně ovlivňující produkci mléka, jak uvádějí autoři (DOLEJŠ et al., 2005; TOUFAR a DOLEJŠ, 1996).

Jak uvádí JOHNSON (1987) teplotní optimum pro dojnice se nachází v rozmezí od - 0,5 do 20 °C. V našem sledování jsme zjistili, že jako zlomová se nám jevila teplota 22 °C (přesně 21,84 °C) u dojnic na 2. laktaci, kdy překročení této teploty vedlo k negativnímu vlivu na mléčnou užitkovost, stejně jako v pracích DOLEJŠE et al. (2004), WALTEROVÁ et al. (2007) a VOKŘÁLOVÉ a NOVÁKA (2005). U dojnic na vyšší laktaci jsme dospěli ke zlomové teplotě 25 °C (přesně 24,83 °C), tu uvádí ve své práci BERMAN et al. (1985).

MIKŠÍK a ŽIŽLAVSKÝ (1999) uvádějí, že relativní vlhkost vzdušná je nejvhodnější v rozmezí 50 – 75 %. Z našich výsledků není patrný exaktní vliv relativní vzdušné vlhkosti na mléčnou užitkovost dojnic. Nic méně pro zhodnocení teplotního stresu je nezbytné počítat i s účinkem relativní vlhkosti, pro tento účel je používán teplotně vlhkostní index (THI).

Podle ARMSTRONGA (1994) je jako kritická označována hodnota THI překračující hodnotu 72. U dojnic na 2. laktaci jsme z našich výsledků zjistili, že jako zlomová se jevila hodnota THI přesahující hodnotu 69 (přesně 68,57). Zatímco u dojnic na vyšší laktaci byla jako zlomová hodnota THI vypočítána hodnota přesahující 73 (přesně 72,51) THI, která je popsána více autory např. i BOURAOUI (2002), WALTEROVÁ et al. (2008) a FALTA et al. (2008).

ZÁVĚR

Ze získaných výsledků v průběhu sledování je zřejmý obecný negativní dopad vysokých teplot a vysokých hodnot THI ve stáji na mléčnou užitkovost dojnic. Jako zlomová se jevila průměrná teplota ve stáji 22 °C u dojnic na 2. laktaci a 25 °C u dojnic na vyšší laktaci. V případě hodnot THI se nám jevila jako zlomová hodnota 69 u dojnic na 2. laktaci a hodnota 73 u dojnic na vyšší laktaci. U relativní vlhkosti jsme zjistili, že není patrný exaktní vliv na mléčnou užitkovost dojnic.

LITERATURA

- Armstrong D.V. (1994): Heat stress interaction with shade and cooling. *Journal of Dairy Science*, (77): 2044-2050, ISSN: 0022-0302.
- Berman A., Folman Y., Kaim M., Mamen M., Herz Z., Wolfenson D., Arieli A., Graber Y. (1985): Upper critical temperatures and forced ventilation effects for high-yielding dairy cows in a subtropical climate. *Journal of Dairy Science*, (68): 1488-1495, ISSN: 0022-0302.
- Bouraoui R., Lahmar M., Majdoub A., Djemali M., Belyea R. (2002): The relationship of temperature–humidity index with milk production of dairy cows in a Mediterranean climate. *Anim. Res.*, (51): 479-491, ISSN: 1627-3583.
- Dolejš J. et al. (2004): Kvantifikace tepelného stresu, *Farmář*, (8):50-51.
- Dolejš J. et al. (2005): Limity možností pro omezení tepelného stresu u dojnic, *Náš chov*, (7): P8–P12.
- Falta D., Walterová L., Skýpala M., Chládek G. (2008): Effect of stable microclimate on milk production of Holstein cows on the 2nd and 3rd lactation, [online] – www.Animalwelfare.szie.hu, 7 s.
- Hahn G. L. (1999): Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. *Journal of Animal Science*, ISSN: 0021-8812.
- Johnson H.D. (1987): *Bioclimatology and the Adaptation of Livestock*. World Animal Science, ISBN: 0444426906.
- Mikšík J., Žižlavský J. (1999): *Chov skotu - přednášky*. Skripta. s. 144.
- Toufar O. a Dolejš J., (1996): Odras vlivu extrémních stájových teplot na užitkovost dojnic chovaných v uzavřené stáji, *Sborník: Aktuální otázky bioklimatologie zvířat*, Vydavatelství NOEL 2000 s.r.o., Brno.
- Vokřálová J. a Novák P. (2005): Klimatické extrémy a laktace, *Náš chov*, (9):40-42.
- Walterová L., Šarovská L., Chládek G. (2007): Vliv teploty ve stáji na produkci mléka holštýnských dojnic na 2. laktaci, In *MendelNet'07 Agro*, s. 62.
- Walterová L., Skýpala M., Šarovská L., Chládek G. (2008): Rozdíly ve výši mléčné užitkovosti způsobené vysokými teplotami ve stáji u dospělých holštýnských dojnic, In *Sborník referátů z 11. mezinárodní konference Katedry speciální zootechniky České zemědělské univerzity v Praze*, s. 67-68.

RESEARCH OF POSSIBILITIES OF UTILIZATION OF SELECTED SORTS OF COMMUNAL WASTES FOCUSED ON WASTE TIRES

VÝZKUM MOŽNOSTÍ VYUŽITÍ VYBRANÝCH DRUHŮ KOMUNÁLNÍCH ODPADŮ SE ZAMĚŘENÍM NA ODPADNÍ PNEUMATIKY

Adamcová D., Kotovicová J.

Department of Applied and Landscape Ecology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: dana.adamcova@uake.cz, kotovicj@mendelu.cz

ABSTRACT

The worldwide production of waste tires (so called "end of life tires" - ELT) grows every year. The same situation is in the Czech Republic and in the countries of the European Union. The composition and energy characteristics of tires are a significant source of material, energy and also raw material. An assessment of tires' life cycle and other products and activities is an important information instrument of environmental policy. It is an voluntary instrument. The life cycle assessment (LCA) is system analysis focused on appraisal of possible environmental impacts of products or services in their entire life cycle. A description of particular phasis of tires' life cycle and their influence on environment is the main aim of the research. The phasis of life cycle of tires are: a raw material extraction, production of materials, transport of raw material, production of tires, transport - distribution, use of tires, transport of used up tires, retreading, disposal with ELT. There are a few possibilities how the tires can be safely and effectively utilized even after ending of first part of their life cycle. The aim of the research is focused on the second part of product life cycle - the tire at the end of lifetime. The main possibilities of utilization of used up tires after end of their life are as follows: retreading, recycling (production of granulate), energy and material utilization in a cement factory, pyrolysis (production of pyrolytic products) and formerly used waste storing. Another aim is to determine enviromental impacts in the particular phasis of life cycle of waste tire.

Key words: tire, life cycle, waste, recycling, LCA, environmental impact.

ÚVOD

Vlivem ekonomického rozvoje společnosti dochází ke zvyšování objemu produkce odpadních pneumatik. Pneumatiky jsou a budou významnou a sledovanou součástí běžného života společnosti. Produkce odpadních pneumatik ve světě, ale i v České republice, rok od roku stoupá. Růstová tendence je očekávána i v následujících letech.

Práce „Výzkum možností využití vybraných druhů komunálních odpadů se zaměřením na odpadní pneumatiky“ je zaměřena zejména na problematiku, která se týká životního cyklu pneumatiky. LCA představuje metodu posuzování environmentálních aspektů výrobku ve všech stádiích života. V našem případě se jedná o standardní pneumatiku pro osobní automobily.

Cílem je popsat jednotlivé fáze životního cyklu pneumatik a pokusit se definovat environmentální dopady jednotlivých fází tohoto cyklu. Práce je více zaměřena na tu část životního cyklu, kde se pneumatika stává odpadem. Výstupem bude porovnání různých způsobů nakládání s ELT (end of life tire – pneumatika na konci životnosti). Dalším cílem práce je zjistit jakou formou jsou odpadní pneumatiky nejčastěji získávány zpět, zda odevzdáním přes sběrné dvory nebo formou zpětného odběru v pneuservisech nebo u prodejců pneumatik.

MATERIÁL A METODIKA

Cílem této práce je popsání jednotlivých fází životního cyklu pneumatik a vyhodnocení environmentálních dopadů jednotlivých fází životního cyklu osobní pneumatiky.

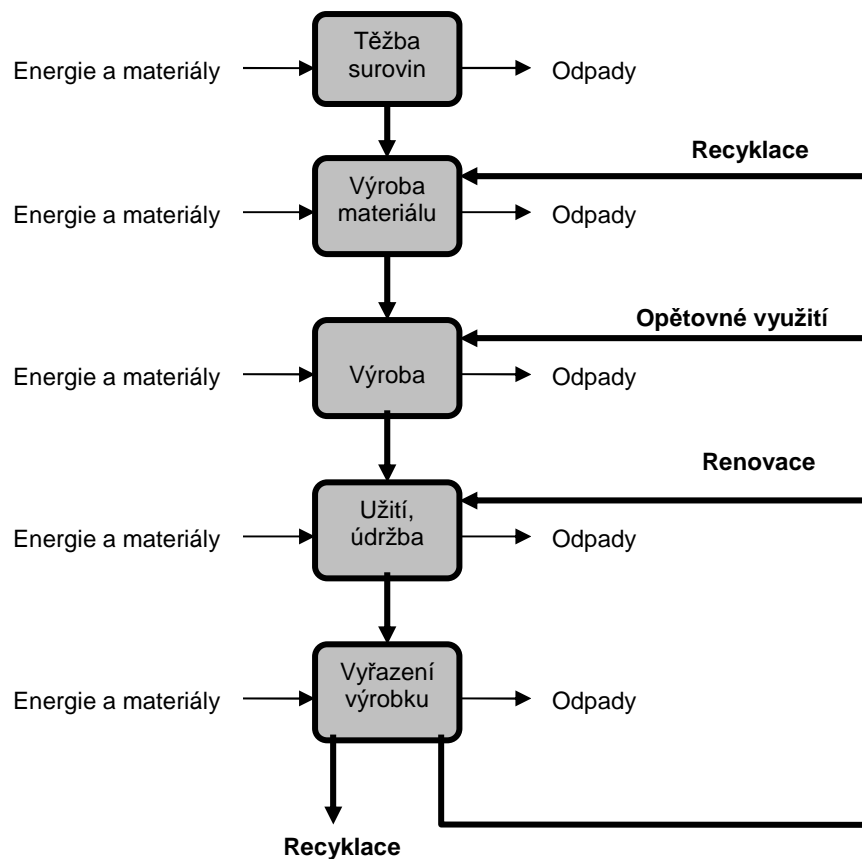
Metoda LCA

Metoda LCA nebo-li metoda posuzování životního cyklu (zkratka LCA je z anglického názvu Life-Cycle-Assessment) je jedním z nejdůležitějších informačních nástrojů environmentální politiky. Používá se k určení negativních vlivů libovolného systému (výrobku nebo služby) na životní prostředí. Informace, které metoda LCA poskytuje, pomáhají odborným pracovníkům nejen v ekodesignu a v podnikovém marketingu při výběru nového výrobku, ale také pracovníkům ve státní správě a v ekolabelingu při stanovování předpisů a kritérií na podporu ekologicky šetrných výrobků. V neposlední řadě jsou důležité pro další vědecko-technický rozvoj, neboť odhalují příčiny negativních vlivů na životní prostředí.

Posouzení životního cyklu výrobku je formálně upravena normami ISO řady 14 040. Jedná se o standardizovaný systematický postup, který umožňuje základní kontrolu kvality dat a porovnávání vlivů na životní prostředí. Význam metody LCA dokládá i normalizace jejího postupu obsažená v mezinárodních normách řady ISO 14 000. Normy:

- ČSN EN ISO 14 040 – Environmentální management – Posuzování životního cyklu – Zásady a osnova

- ČSN EN ISO 14 041 – Environmentální management – Posuzování životního cyklu – Stanovení cíle a rozsahu a inventarizační analýza
- ČSN EN ISO 14 042 - Environmentální management – Posuzování životního cyklu – Hodnocení dopadů
- ČSN EN ISO 14 043 - Environmentální management – Posuzování životního cyklu – Interpretace životního cyklu



Obr. 1. Životní cyklus výrobku a jeho fáze

Cílem LCA je definování, případně vyčíslení všech environmentálních dopadů spojených s výrobkem od těžby surovin, výroby, užívání, až po konec životnosti výrobku a jeho zneškodnění. Základní principy LCA jsou následující:

- Perspektiva životního cyklu
- Environmentální zaměření
- Transparentnost
- Komplexnost
- Vědecký přístup

Vznik metody LCA

Za základy metody LCA lze považovat metodu vyvíjenou v USA na přelomu 60. a 70. let. Metoda se nazývala „Zdroje a profilová analýza z hlediska životního prostředí“ („Resource and Environmental Profile Analysis“ zkráceně REPA) a zaměřovala se na hodnocení výrobku z hlediska spotřeby energie a surovin. Její vznik a rozvoj byl v přímé souvislosti s probíhající ropnou krizí, která zvýšila zájem o energetické a surovinové zdroje. Vliv výrobku na životní prostředí, na lidské zdraví a na přírodní ekosystémy zde ještě nebyl posuzován. Výsledné hodnocení bylo založeno na analýze nákladů a užitků.

V 80. letech 20. století došlo v Evropě k renesanci této americké metody, především ve Švýcarsku, Německu a Švédsku. Do celkových nároků se začala započítávat spotřeba surovin a energií v celém výrobním procesu, tj. získání suroviny z přírodního zdroje, výroba potřebného materiálu ze získané suroviny a výroba konečného produktu. Zároveň, vedle nároků na energetické a surovinové zdroje, začala být posuzovaná vhodnost výrobku z hlediska lidského zdraví.

Koncem 80. a začátkem 90. let 20. století se při posuzování výrobku věnovala stále větší pozornost nejen vlivu výrobku na lidské zdraví, ale i jeho negativním vlivům na životní prostředí vůbec. Do hodnocení spotřeby energie a surovin byla zahrnuta i poslední životní etapa výrobku, tj. jeho likvidace po použití a začal se používat pojem posuzování životního cyklu výrobku, popř. analýza životního cyklu výrobku. Metoda se rozšířila i do ostatních zemí, především do Dánska, Nizozemí a Belgie a byla dále intenzivně rozvíjena. V této době se zkratka metody uváděla jako PLCA z anglického názvu Product Life Cycle Analysis nebo Product Life Cycle Assessment (mezi analýzou a posuzováním se v té době nedělal rozdíl). K rozdílu došlo až později a dnes je analýza životního cyklu užším pojmem, je částí metody LCA. V poslední době se rozšířil i pojem produkt. Ve skandinávských zemích byl vypracovány studie, které pod pojem produkt řadí nejen výrobek a službu, ale i technologie, popř. výrobní systémy.

Použití LCA

Základní myšlenka metody LCA tj., posoudit produkt, činnost nebo nějaký systém od jeho vzniku až po jeho zánik z hlediska dopadu na životní prostředí, respektive i z jiného hlediska (dopad na zdraví člověka, na bezpečnost, na vznik rizika) je v praxi velmi užitečná. Dovoluje vybrat mezi alternativními výrobky ten výrobek, jehož životní cyklus bude nejméně poškozovat životní prostředí. Metodu LCA lze v praxi používat především při:

- Rozhodování týkajících se vývoje produktů a procesů v podniku
- Rozhodování o nákupu zboží
- Eco-labellingu (označování ekologicky šetrných výrobků)
- Rozhodnutí týkající se zákonných předpisů
- Podpoře legislativních rozhodnutí

V neposlední řadě je metoda LCA významným zdrojem informací, které jsou důležité pro další vědecko technický rozvoj zaměřený nejen na snižování negativních dopadů na životní prostředí, ale také na dosažení trvale udržitelného rozvoje.

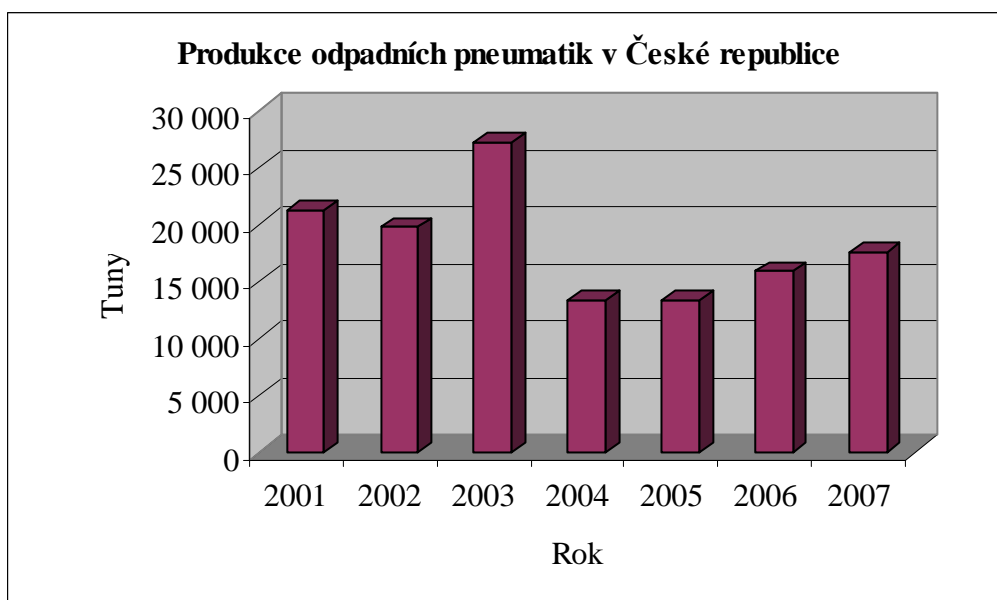
Co je to pneumatika

Pneumatiku lze charakterizovat tímto způsobem: Je to dutá pryžová obruč kol silničních vozidel. Slouží k tlumení nárazů a otřesů na nerovnostech vozovky a musí odolávat smyku za běžných povětrnostních podmínek a musí být odolná proti průrazům a oděru. Základní strukturní části pneumatik tvoří běhoun, bandáž, kostra, vnitřní guma, bočnice, jádro patky a patkové lano. Pneumatika se skládá z různých materiálů a strukturních složek. Složení závisí na typu pneumatik. Přibližně 80% celkové hmotnosti pneumatik osobních automobilů a 75% hmotnosti pneumatik nákladních tvoří směs pryže z vulkanizovaných přírodních a syntetických kaučuků (butadienstyrenový kaučuk, polybutadienový kaučuk, přírodní kaučuk, polyisoprenový kaučuk – analog přírodního), sazí, změkčovadel, antioxidantů a dalších minoritních přísad.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Produkce odpadních pneumatik

Množství vyřazených pneumatik neustále stoupá, souvisí to samozřejmě s každoročním nárůstem počtu pořízených osobních ale i nákladních automobilů. Odpad z pneumatik je uváděn v Katalogu odpadů pod Katalogovým číslem 16 01 03.



Graf 1. Produkce odpadních pneumatik v České republice

Životní cyklus pneumatik

Pro životní cyklus pneumatik byly stanoveny následující fáze:

- Výzkum

- Těžba surovin
- Doprava surovin
- Výroba pneumatik
- Doprava nové pneumatiky
- Užití pneumatiky
- Doprava použité pneumatiky
- Protektorování
- Nakládání s ELT (pneumatika na konci životnosti)
 - Recyklace – výroba granulátu
 - Energetické a materiálové využití v cementárně – využití pneumatik jako paliva
 - Pyrolýza

Vazby mezi jednotlivými fázemi životního cyklu pneumatik jsou také důležité, vazba může být reprezentována např. dopravou.

Vliv životního cyklu na životní prostředí

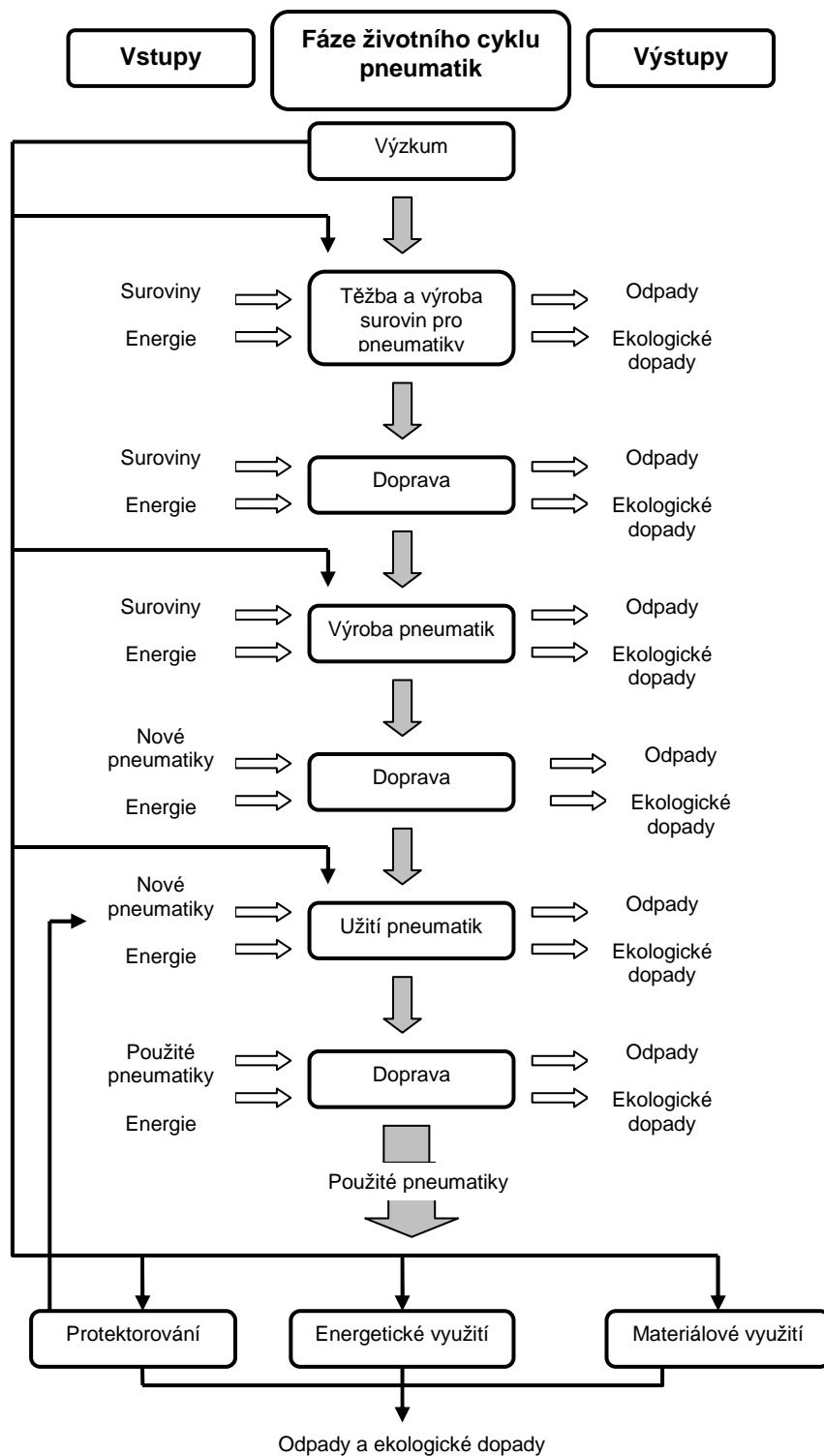
Životní cyklus představuje veškeré činnosti, které je nutné vykonat, aby člověk danou komoditu vyvinul, vyrobil, mohl užívat a správně s ní naložil po skončení její životnosti. Všechny tyto činnosti, tedy činnosti jednotlivých fází životního cyklu, mají vliv na životní prostředí.

Výzkum

Fáze výzkumu je první článek celého životního cyklu pneumatiky. Výzkum má nezanedbatelný vliv na jednotlivé fáze životního cyklu, např. na:

- Výrobu pneumatik (technické a technologické postupy šetrnější k životnímu prostředí – minimalizovat vznik odpadů, omezit využívání materiálu a surovin z neobnovitelných zdrojů, přednostně využívat materiály z obnovitelných zdrojů, atd.).
- Užití pneumatik (zvyšování životnosti pneumatik, zlepšování jejich vlastností – ovlivňuje spotřebu surovin na výrobu nových pneumatik, snižuje negativní dopady na životní prostředí, jedná se např. o snížení prašnosti či hlučnosti, atd.).
- Ukončení životnosti pneumatik (hledání nových technologií).

Fáze výzkumu nejvíce ovlivňuje a zmírňuje vznik potenciálních environmentálních dopadů životního cyklu pneumatik na životní prostředí.



Obr. 2. Schéma fází životního cyklu pneumatik

Těžba surovin a výroba pneumatik

- Těžba surovin (získávání surovin) – hlavní podnět k opětovnému využívání opotřebovaných pneumatik je snižování surovinových zdrojů k výrobě pneumatik, jedná se především o syntetický a přírodní kaučuk. Mezi environmentální dopady patří narušování

ekosystémů (zejména pralesů) a vlivy vyvolané dopravou suroviny do závadu na její následné zpracování (hlučnost, prašnost, emise), v případě přírodního kaučuku a u syntetického kaučuku jsou environmentální dopady tyto, narušení krajiny a ekosystému při těžbě ropy, následně při jejím zpracování a doprava (produkce odpadů, emise, hlučnost, kontaminace prostředí a vod).

- Výroba pneumatik – hlavní dopady na životní prostředí jsou znečištění ovzduší, produkce odpadů a hluk. Fáze výroby pneumatik, ze všech fází životního cyklu pneumatik, zatěžuje životní prostředí z hlediska environmentálních dopadů nejméně.

Užití pneumatik

Hlavním úkolem pneumatiky je tlumení nárazů a nerovností povrchu vozovky. Při užívání pneumatik dochází ke styku s vozovkou, při této činnosti dochází k obrušování a odstraňování jejího povrchu. Při tomto procesu dochází k uvolňování částic do okolí, tedy dochází k poškozování životního prostředí. Další environmentální dopady jsou hluk a spotřeba paliva, protože, když dojde ke snížení hloubky dezénu pneumatiky pod stanovený limit nebo když jsou nesprávně nahuštěné, zvyšuje se valivý odpor, tedy i spotřeba paliva i hluk, který pneumatika vytváří.

Ukončení životnosti

Tato fáze životního cyklu pneumatik je z hlediska environmentálních dopadů na životní prostředí stěžejní. Volí se zde způsob nakládání s opotřebenou (odpadní) pneumatikou, a volí se takový způsob, který má nejmenší negativní vlivy na životní prostředí.

V následující části se seznámíme s možnostmi využití odpadních pneumatik a s jejich environmentálními dopady.

Protektorování

Protektorování by představovalo z hlediska vlivů na životní prostředí nejvhodnější způsob recyklace, ale pouze v případě, že by nedocházelo ke stárnutí pneumatik. Jedná se o technologický proces obnovy běhounové části pneumatik, která ve fázi vulkanizace (je proces, při kterém za působení teploty a tlaku kaučuková směs přechází ze stavu převážně plastického do stavu převážně elastického) probíhá za teploty kolem 100°C, tedy nižší, než je běžná vulkanizační teplota gumárenských materiálů, která bývá cca 170°C. Touto technologií nedochází k tepelné degradaci materiálu pneumatik, aplikace vysoce kvalitních materiálů na výrobu dezénu umožňuje protektorům dosahovat výkonů na úrovni nových pneumatik, někdy i vyšších. Cena protektoru představuje zlomek ceny nové pneumatiky, lze říci, že protektor je ekonomicky vhodné řešení.

Opotřebené pneumatiky, které budou protektorovány, musí splňovat některé podmínky. Nelze protektorovat pneumatiky, které jsou mechanicky poškozené a nebo pneumatiky s narušenou strukturou chemického složení vulkanizační směsi. Protektorování lze u osobních pneumatik provádět 1 krát, u autobusových 3 krát, nákladních 3 až 4 krát a u leteckých 8 krát.

Environmentální dopady protektorování jsou následující: emise do ovzduší, produkce odpadů, energetická spotřeba a znečištění prostředí (znečištění vod). Přesto lze říci, že protektorování proti výrobě pneumatik přináší i klady, jako například úspora materiálu a surovin.

Materiálové využití

Pod pojem materiálové využití správně zařazujeme veškeré technologie, které vedou k získání recyklovaného materiálu, který lze následně uplatnit pro další využití. Nejpoužívanější způsob materiálového využití pneumatik (recyklace) je výroba pryžového granulátu. K získání pryžového granulátu z odpadních pneumatik se využívá mechanického drcení nebo kryogenní redukce. Cílem je získat drť o velikosti zrna od 0,2 mm až po 2,0 mm. Pryžový granulát má nízkou objemovou hmotnost a je trvanlivý a má řadu specifických (termomechanických, fyzikálních a chemických) vlastností.

- Mechanické drcení - hojně využívané je mechanické drcení. Ocelové části se oddělí magnetickými separátory nebo jinými způsoby separace. Před drcením jsou pneumatiky zbaveny lan (kvůli životnosti nožů). Drcení se opakuje několikrát na různých drtičích, až je dosaženo požadované velikosti zrna.
- Kryogenní proces - kryogenní proces drcení je založen na zmrazení částečně rozdrcených pneumatik na extrémně nízkou teplotu. Takto získaný materiál se velmi lehce rozpadá na drobné částice. Vlákna a ocel se z drti odstraní podobným způsobem jako při mechanickém drcení. Výhodou tohoto způsobu je rychlejší a čistější získávání velmi jemné frakce. Nevýhodou jsou zvýšené náklady na chladicí proces, kde se využívá tekutý dusík.

Produktem obou postupů drcení je pryžový granulát různé velikosti zrna, pryžový prášek, posekaný ocelový kord, podrcený textil a částice pryže spojené s textilem.

I v případě materiálového využití byly určeny environmentální dopady. Jedná se o tyto dopady na životní prostředí vzniklé ve fázi materiálového využití, přesněji o energetickou náročnost těchto procesů, dále se jedná o prašnost a hlučnost těchto procesů, hlavně v případě mechanického drcení odpadních pneumatik.

Energetické využití

Výhřevnost pryžového odpadu z pneumatik je poměrně vysoká (cca 30 MJ.kg⁻¹).

- Elektrárny a cementárny - v některých zemích elektrárny a teplárny využívají tento odpad jako palivo (např. Velká Británie, Německo). Nejčastěji se odpad využívá jako přídatné palivo v cementářských pecích (i v České republice). Obsah síry, je-li v rozsahu 1 - 2 %, nevadí, protože vzniklý SO₂ se váže na alkalické složky cementu.
- Pyrolýza - procesem pyrolýzy lze zpracovávat řadu organických materiálů. Produktem pyrolýzy je vždy tuhá fáze na bázi koksu, kapalná fáze (kapalná fáze pyrolýzy odpadních pneumatik má charakter surové motorové nafty), a plynná fáze, která obsahuje například vodu, oxid uhelnatý, vodík, nezkondenzované kapalné produkty popř. jednoduché organické látky jako metán. Plyn lze po vyčištění využít pro výrobu energie (tepelné nebo elektrické). Zásadní výhodou tohoto postupu je, že k rozkladu dochází při nedostatku

kyslíku a tím je omezena tvorba furanů. Z energetického hlediska je proces do jisté míry vyvážený a soběstačný. Tepelnou energii nutno dodat jen pro jeho iniciaci.

Při energetickém využití pneumatik se využívají jak celé pneumatiky tak i mechanicky upravené (čtvrtky pneumatik, nadrcené nebo kusy). Velkosti frakcí pneumatik jsou odvozeny od typu technologie použité k samotnému procesu spalování či na zařízení určeném k energetickému využití.

I pro energetické využití odpadních pneumatik byly určeny environmentální dopady této fáze na životní prostředí. Jedním z těchto dopadů je nahrazování fosilních paliv zdroji alternativními, dále nižší produkce některých emisí, jako např. CO₂, jeho produkce při spalování odpadních pneumatik je nižší než při spalování fosilních paliv, také vzniká méně popela. Ale v případě nehořlavých složek je zde nebezpečí, že v případě nekontrolovaného způsobu spalování a nevhodného čištění spalin může dojít k uvolňování dioxinů, NO_x, síry a furanů do ovzduší.

Výhřevnost odpadních pneumatik je sice velká, ale jelikož se při samotné výrobě pneumatik velké množství energie spotřebovává, nelze energetické využívání odpadních pneumatik považovat za ideální řešení.

Skládkování

Skládkování donedávna patřilo k hojně využívanému způsobu odstraňování odpadních pneumatik, ale vlivem legislativy došlo k redukci toho to způsobu nakládání s opotřebovanými pneumatikami. Skládkování odpadních pneumatik je v České republice zakázáno. Skládkování má velké negativní environmentální dopady na životní prostředí a vystihuje i negativní vztah člověka k přírodním surovinám. I když ekologická závadnost odpadních pneumatik je na jedné straně daná velkou chemickou odolností a nízkou biodegradabilitou, na druhé straně obsahem toxických látek, které se uvolňují v případě zapálení pneumatik. V neposlední řadě skládkováním přicházíme o celou řadu energetických a materiálových surovin.

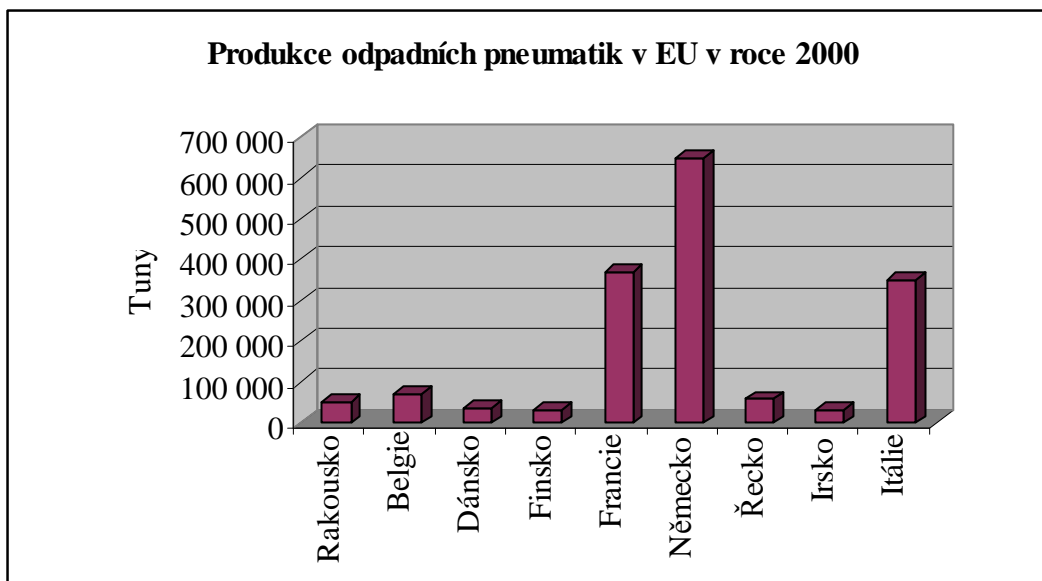
Doprava

Doprava je nezbytnou vazbou mezi jednotlivými fázemi životního cyklu pneumatik. Její environmentální dopady jsou zřejmé, jedná se o hlučnost, prašnost, spotřeba neobnovitelných zdrojů v podobě pohonných hmot, ale i narušování ekosystémů.

Způsoby nakládání s odpadními pneumatikami

Nakládání s odpadními pneumatikami v Evropské unii

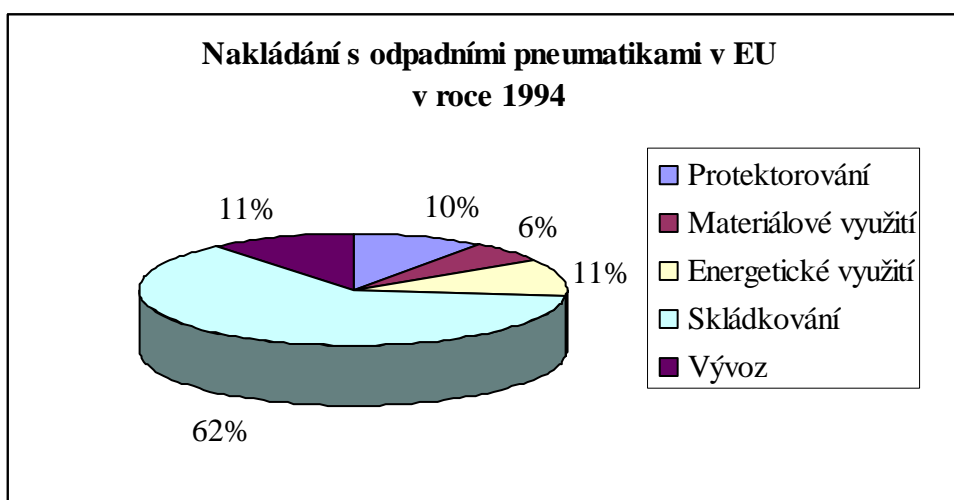
Produkce odpadních pneumatik se v jednotlivých zemích Evropské unie (dále jen EU) samozřejmě liší, souvisí to s výší životní úrovně a s počtem automobilů. V následujícím grafu je uvedena produkce použitých pneumatik v tunách v některých zemích EU v roce 2000. Celková produkce odpadních pneumatik v EU v tomto roce činila 2 500 750 tun.



Graf 2. Produkce odpadních pneumatik v EU v roce 2000

Následující graf popisuje procentuální vyjádření způsobů nakládání s pneumatikami v Evropské unii v roce 1994 a v roce 1999. V roce 1994 bylo pořadí způsobů nakládání s odpadními pneumatikami následující:

1. Skládkování
2. Vývoz a energetické využití
3. Protektorování
4. Materiálové využití

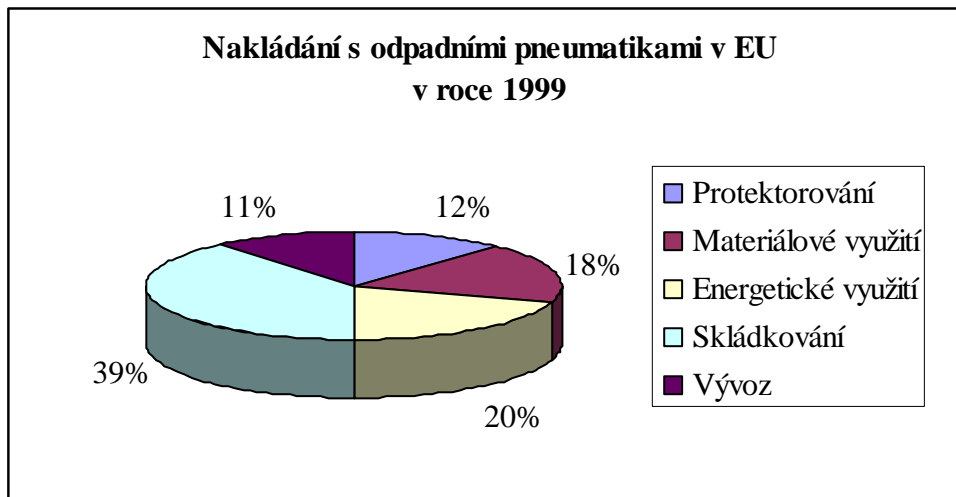


Graf 3. Nakládání s odpadními pneumatikami v EU v roce 1994

V roce 1999 bylo pořadí způsobů nakládání s odpadními pneumatikami následující:

1. Skládkování
2. Energetické využití

3. Materiálové využití
4. Protektorování
5. Vývoz

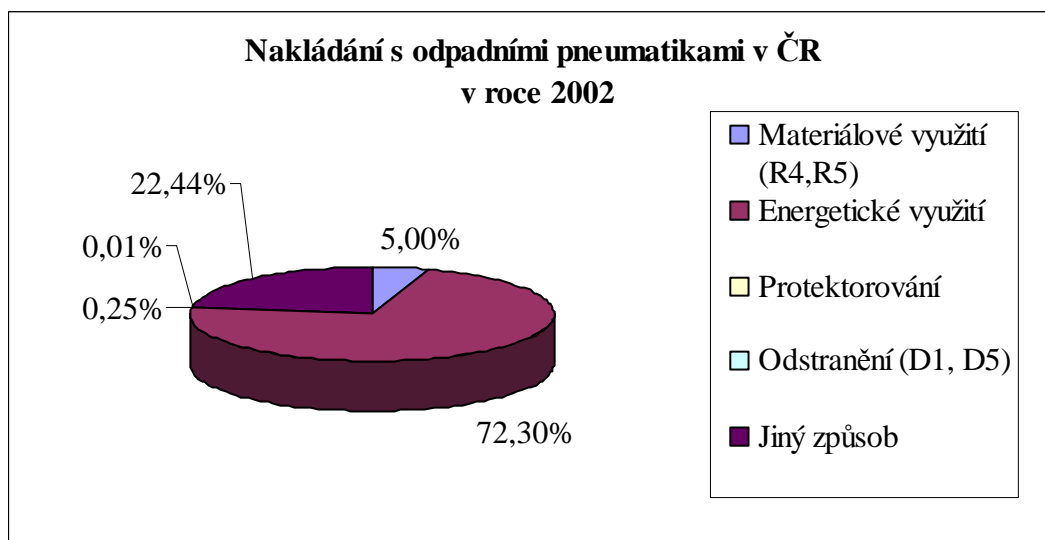


Graf 4. Nakládání s odpadními pneumatikami v EU v roce 1999

Jak vyplývá z předcházejících grafů, je zřejmé, že ve způsobech nakládání s odpadními pneumatikami dochází ke změnám. Snižuje se procentické zastoupení u skládkování a dochází k mírnému nárůstu u materiálového a energetického využívání.

Nakládání s odpadními pneumatikami v České republice

Nakládání s odpadními pneumatikami v České republice je zastoupeno energetickým využitím, materiálovým využitím, protektorováním, odstraněním či jinými způsoby. Tyto způsoby nakládání s odpadními pneumatikami jsou obdobné jako v zemích EU, ale procentické zastoupení se liší, jak je patrné z následujících grafů.



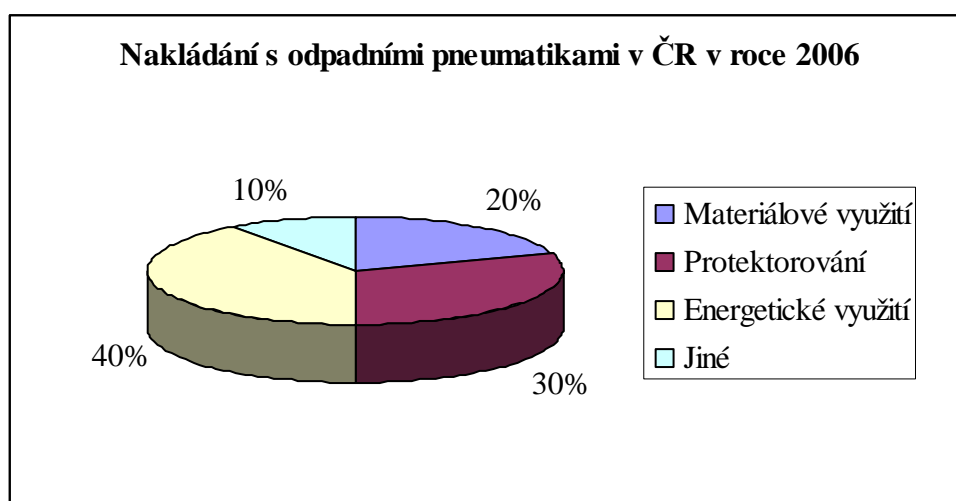
Graf 5. Nakládání s odpadními pneumatikami v ČR v roce 2002

Pořadí způsobů nakládání s odpadními pneumatikami v České republice v roce 2002 je následující:

1. Energetické využití
2. Jiný způsob
3. Materiálové využití
4. Protektorování
5. Odstranění

V roce 2006 došlo ke změně pořadí způsobů nakládání s odpadními pneumatikami v České republice a to následujícím způsobem, který je patrný i z následujícího grafu:

1. Energetické využití
2. Protektorování
3. Materiálové využití
4. Jiné



Graf 6. Nakládání s odpadními pneumatikami v ČR v roce 2006

Vlivem legislativy (Směrnice o skládkování (1999/31/ES)) se zakazuje skládkování pneumatik definitivně od roku 2006. Celé pneumatiky je zakázáno skládkovat od poloviny roku 2003, povoleno je jen prozatímní skládkování drcených pneumatik. Ale rozdrčené opotřebované pneumatiky nebudou přijímány do pěti let od ode dne nabytí účinnosti této směrnice, tedy v současnosti nelze skládkovat rozdrčené pneumatiky (s výjimkou pneumatik jízdních kol a pneumatik o vnějším průměru větším než 1400 mm). Vliv legislativy je patrný ve způsobech nakládání s odpadními pneumatikami v roce 2006 v České republice. Na rozdíl od roku 2002 se již v roce 2006 neobjevuje možnost odstranění odpadních pneumatik způsobem D1 a D5.

ZÁVĚR

Předmět dalšího výzkumu bude zaměřen na způsoby nakládání s odpadními pneumatikami v následujících letech a se zaměřením nejen na Evropskou unii, Českou republiku, ale i na menší oblasti (kraje) a dále také na konkrétní region.

Odpovědnost za nakládání s použitými pneumatikami v podmínkách ČR náleží jejich výrobcům. Pneumatiky patří k výrobkům, na které se v souladu se zákonem o odpadech (zákon č. 185/2001 Sb., o odpadech, ve znění pozdějších předpisů) vztahuje povinnost zpětného odběru (§ 38 zákona). Tato povinnost platí od 23. února 2002. Podíl zpětně odebraných pneumatik v roce 2002 činil 25% z celkového množství pneumatik uvedených v tomto roce na trh. Dalším cílem práce bude zjistit jakou formou jsou odpadní pneumatiky nejčastěji získávány zpět, zda odevzdáním přes sběrné dvory nebo formou zpětného odběru v pneuservisech nebo u prodejců pneumatik.

LITERATURA

Vyhláška MŽP č. 294/2005 Sb., o podmínkách ukládání odpadů na skládky a jejich využívání na povrchu terénu, ve znění pozdějších právních předpisů

Kotovicová, J. a kol.: Čistší produkce. MZLU v Brně 2003, ISBN 80-7157-675-1

Odpadové fórum , 02/2006, str. 13,14

Projekt VaV/720/4/03: Stanovení procenta recyklace pneumatik ve vazbě na technické a ekonomické možnosti získaných produktů, ECO trend s.r.o., listopad 2004

Studie IDSE-CNR 1999

3. ročník česko – slovenského sympózia – ODPADOVÉ FÓRUM 2008, Sborník přednášek
2. díl, Výzkum v oblasti LCA – analýza a hodnocení životního cyklu standardní osobní pneumatiky typu 175/70 R13

Zákon č. 185/2001 Sb., o odpadech, ve znění pozdějších právních předpisů

www.csu.cz

www.envi.cz

www.isoh.cz

<http://www.envicrack.cz/web/index.php?id=spolecneprojekty&jazyk=cz>

THE PEDOCOMPACTION OF TOPSOIL AND SUBSOIL ON CHOSEN LOCALITIES

UTUŽENÍ ORNIC A PODORNIČÍ VYBRANÝCH POZEMKŮ

Brtnický M., Vlček V., Pokorný E.

Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin, AF, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, Brno 61300, Česká republika

E-mail: Martin.Brtnický@seznam.cz, xvlcek1@mendelu.cz, xpokorny@mendelu.cz

ABSTRACT

Pedocompaction is known as one of the types of soil physical degradation. It causes crucial disturbances of biological activity in soil as well as of physical properties (like porosity, permeability, structure etc.). The pedocompaction can occur in topsoil as well as in subsoil at annually ploughed land. The pedocompaction is a type of soil degradation with cumulative character and eventually the hardened layer forms. This layer is caused by the heavy mechanics traversing. This layer is impermeable for plant roots as well as for water and oxygen so the soil functions are reduced. The survey proceeded at the localities in the surroundings of Lysice municipality. 38 measurements proceeded on total area of 174 ha (1 measurement per 5 ha on the average). The pedocompaction was measured down the depth 60 cm, while two layers were surveyed – topsoil (0–30 cm) and subsoil (30–60 cm).

Key words: soil degradation, pedocompaction, Bohemian and Moravian highland

Acknowledgments: The paper was prepared under the support of a research plan No. MSM6215648905 “Biological and technological aspects of the sustainability of controlled ecosystems and their adaptation to changes in climate” of the CR Ministry of Education.

The paper was prepared under the support of National Agency for Agriculture Research, project QH72275.

ÚVOD

Rozšířeným fenoménem fyzikálního poškození půdy, především zemědělské, je pedokompakce (zhutnění) půdy v důsledku těžké mechanizace s vysokým měrným tlakem nebo nadměrné pastvy, velkou roli hraje vlhkost a druh půdy. V některých půdách dochází ke genetickému zhutňování, které je dáno povahou půdotvorného substrátu - především zrnitostí. Je tedy přírodního charakteru.

Důsledkem utužení je zvyšování objemové hmotnosti půdy, což způsobuje nepříznivé podmínky pro růst rostlin. Dochází k degradaci půdní struktury, která s sebou nese potenciální ohrožení dalších půdních funkcí: půda má sníženou pórovitost a biologickou aktivitu. Zhutnělé půdy mají sníženou retenční schopnost pro vodu. Urychluje se tak povrchový odtok a zvyšuje se riziko vodní eroze a záplav a také vysušování půd. Na zemědělských půdách se snižuje rostlinná produkce o 10–20 %. Např. u obilovin dochází k menšímu odnožování, snižuje se počet klasů v ploše. U cukrovky dochází k nadměrnému větvení kořene, snižuje se cukernatost. Zhutnění půdy neznamenaá nevratnou degradaci. Přirozeně se ruší hlubokým promrznutím (alespoň 50–60 cm). Pedokompakce hlubších vrstev půdy je obtížně vratný proces. (URL 1, 3, 4)

Definice:

Fyzikální degradace, utužení je proces zásadního porušení fyzikálního stavu půdy, v kterém se redukuje celková a vzdušná pórovitost a propustnost, zvyšuje se pevnost a eviduje mnoho změn v půdní struktuře a v chování některých fyzikálních vlastností. Fyzikální degradace může modifikovat různé půdní vlastnosti, což vede k poškození jedné nebo více půdních funkcí. Utužení se vyskytuje tam, kde půda podléhá mechanickému tlaku používáním těžké techniky nebo pasením, hlavně ve vlhkých podmínkách. Výsledkem utužení půdy je redukce hrubého prostoru pórů mezi půdními částicemi, čímž se zvyšuje půdní objemová hmotnost a tím, že půdy částečně nebo zcela ztrácí schopnost absorbovat vodu. Výskyt utužení je nejčastěji v povrchovém horizontu, ale postihuje i podpovrchové vrstvy. Tato je velmi rozšířena na územích s nepřetržitou kultivací a je velmi těžké ji odstranit. Celkové zhoršení půdní struktury redukuje růst kořenů, vodní kapacitu, úrodnost i biologickou aktivitu. Pokud dojde ke srážkám, voda nemůže dále snadno infiltrovat do půdy (Sobocká, 2007).

Pokud voda při srážce pronikne vrchní kyprou vrstvou půdy, může se jí postavit do cesty další překážka. V důsledku pravidelného mechanizovaného obdělávání půdy se často v hloubce 30–60 cm vytváří utužená vrstva podorničí. Tato je mnohdy téměř nepropustná, nebo propouští vodu jen velmi málo. Účinná hloubka půdy a s ní také retenční kapacita se tak značně zmenšuje. Navíc voda po podorničí stéká podobně jako po povrchu, následně v terénních depresích vystupuje na povrch a přidává se k povrchovému odtoku. Na vznik zhutnělého podorničí mají vliv především přejezdy zemědělskou technikou po půdě a technologická doprava, například při svážení cukrové řepy nákladními automobily. V zhutnělé půdě se snižuje obsah organických látek na polovinu a její pórovitost klesá pod 45 % (Davies, et al 1993).

Faktory ohrožení fyzikální degradací (Sobocká, 2007)

Klima – teplota, srážky

Půda a půdotvorný substrát – vlastnosti povrchového a podpovrchového horizontu (textura, struktura, obsah org.hmoty, obsah vody v půdě apod.)

Využití krajiny – orná půda, TTP, les

Management půdy – agrotechnické postupy (frekvence pojezdů, typ operace, typ plodiny, váha strojů)

Topografie – vymezení míst kde není možné použít mechanizaci (svahy, apod.)

Identifikace půd ohrožených utužením

Hlavním faktorem, který vede k mechanickému porušení stavu půdy je využívání těžké techniky na povrchu půdy. Všeobecné půdy s vysokým obsahem jílu (nad 35 %) jsou náchylnější na deformace, než písčité půdy avšak i písčité půdy obsahují velké množství hrubých pórů, to může způsobit vyšší náchylnost půd k utužení. V minerálních půdách organická hmota snižuje náchylnost půd k utužení pro všechny zrnitostní třídy. Půdy se zrnitou či slabě vyvinutou polyedrickou strukturou vykazují silnou náchylnost na zhutnění (Sobocká, 2007).

Tab.1 Hodnoty vybraných půdních vlastností u zhutněných půd v ZPF

půdní vlastnost	půdní druh					
	JV	JH	H	PH	HP	P
objemová hmotnost [g/cm ³]	>1,25	>1,40	>1,45	>1,55	>1,60	>1,70
penetrometrický odpor [MPa]	2,8–3,2	3,2–3,7	3,7–4,2	4,5–5,0	5,5	6,0
půdní vlhkost [% hm.]	28–24	24–20	8–16	15–13	12	<10
pórovitost [% obj.]	<48	<47	<45	<42	<40	<38
min. vzdušnost [% obj.]	<10	<10	<10	<10	<10	<10
max. kapil.kapacita [% obj.]	>35	>35	>35	-	-	-

ju – jílovitá, jh – jílovitohlinitá, h – hlinitá, ph – písčitolhinitá, hp – hlinitopísčítá, p - písčítá

Při předpokládané klimatické změně způsobuje hlavně sucho změnu fyzikálních vlastností vedoucí k utužení a ztvrdnutí půdních vrstev. Tvorba kalcikových a uhličitánových ztvrdlých vrstev není v případě půd obohacených o soli vyloučena (chloridy, sulfáty, karbonáty apod.). Podobně můžeme zaznamenat tvorbu profilových trhlin u půd s vysokým obsahem sekundárních jílových minerálů. Tvorba agregátů může být zpomalena, či porušena v případě výskytu dlouhodobého sucha. Rovněž časté střídání klimatických jevů (střídání extrémního vlhka a sucha) vede k možným intenzivním procesům destrukce struktury půdy. Stupeň utužení kolísá v závislosti na půdní vlhkosti. Při nevhodném způsobu agrotechnických zásahů, kdy se nerespektují meteorologické jevy a zesiluje se antropická činnost (časté či nesprávně načasované pojezdy mechanismů apod.) dochází k intenzivní tvorbě podorničních ztvrdlých vrstev s výskytem pseudoagregátů. Pokud se obsah vody v půdě zvyšuje, zvyšuje se i zhutnění půdy až do obsahu blízcího se polní vodní kapacitě. Při vysokém obsahu vody se

půda stává nekompaktní, nasycená půda je vlastně plastický tok, který má za následek destrukci půdní struktury a makropórů (Sobocká, 2007).

Zhutněním je ohroženo kolem 30–50 % všech zemědělských půd, a to převážně zhutněním technogenním, způsobeným použitím nevhodné mechanizace (Anonym 1).

Pozornost věnovaná zlepšování retenční schopnosti zemědělských půd je dosud nedostatečná. Málo propustné a zhutnělé půdy přitom kromě svého nepříznivého vodohospodářského efektu poskytují i nižší výnosy a zvyšují až o 50 % spotřebu pohonných hmot při obdělávání půdy (Hůla, Abrham, Bauer, 1997). To potvrzují i další studie z různých zemí, kde se uvádí, že pedokompakce má důležitý vliv na výnosy a finanční náklady. Za všechny uveďme například studie Estonské univerzity v letech 2001–2005, která ukazuje pokles výnosu ječmene až o 70 % na lokalitách postižených utužením, oproti neutuženým lokalitám (Edesi, et al, 2007). Nebo pokusy Jugoslavií kdy v důsledku pedokompakce docházelo k růstu výrobních nákladů o 20–40 % a poklesu výnosů v průměru o 10–25 %, (Nikolic, 2001). To se týká zejména plodin jako jsou cukrovka, brambory a ječmen (Fulajtar, 2000), kde dochází k redukci výnosů o 10–20 %.

Návrhová opatření

Základními metodami předcházení zhutnění půdy a zejména podorničí jsou

- omezování přejezdů těžké mechanizace,
- využívání půdo-ochranných způsobů obdělávání,
- dostatečné organické hnojení,
- používání mechanizace s nízkou zátěžovými pneumatikami.

Pozemky s již zhutnělým podorničím lze jednorázově zlepšit melioračním kypřením nebo dlátovými kypřiči pracujícími v hloubce kolem 50 cm (Hůla, Abrham, Bauer, 1997).

Preventivními a nápravnými prostředky pro omezování degradace půd zhutněním jsou tato opatření:

- zpracování a půdy ve vhodném vlhkostním stavu,
- omezení pojezdů těžkých mechanismů, počtu pojezdů, pojezdů na jaře a po orbě, ježdění v těžké koleji, rozložení hmotnosti pojezdových vozidel,
- vhodná protierozní ochrana půd,
- dostatečné organické hnojení a vápnění, zlepšování podmínek pro biologické procesy v půdě,
- vhodné ovlivňování vodního režimu (infiltrace a akumulace vody v půdě – spojitost s protierozními opatřeními),
- vyvážené osevní postupy.(URL 1)

Nepřímo je možno objemovou hmotnost měřit penetračním odporem, který charakterizuje utuženost půd. (Tabulka 2).(URL 2)

Tab.2: Třídy penetračního odporu (Arshad et al., 1996)(URL 2).

třída	penetrační odpor (Mpa)
extrémně nízký	< 0,01
velmi nízký	0,01 -0,1
nízký	0,1 – 1
střední	1 – 2
vysoký	2 – 4
velmi vysoký	4 – 8
extrémně vysoký	> 8

Jak uvádí Benada, přílišné utužení a přemokření bude možné zjistit i pomocí měření redoxpotenciálu.(URL 5)

MATERIÁL A METODY

Metodika pro zjišťování zhutňování půdy je založena na určování míst vhodných pro konkrétní měření zhutnění penetrometrem.

Penetrometrická elektronická sonda (dále jen penetrometr) je elektronický přístroj pro měření zhutnění (utužení) půdy. Penetrometr se používá pro běžné praktické určení zhutnění půdy s ohledem na potřebu nápravného zásahu nebo na použití vhodné technologie následné plodiny a při zkoušení zemědělské techniky. V rámci projektu QH72275 je penetrometrické měření použito pro zjištění vlivu utužení půdy na výnosy plodin.

Samostatné terénní měření se provádí po ukončení přípravy půdy k setí nebo sázení nebo před sklizní s ohledem na vlhkost. V době měření musí být půdní profil rovnoměrně nasycen vodou. Pro kontrolu se provádí měření vlhkosti půdy.

Jednotlivé kontrolní body jsou od sebe vzdáleny na homogenních pozemcích 200–300 m, tj. cca 5 ha. Na každém kontrolním bodu se provádí 3–5 vpichů podle variability kontrolního bodu se vzdáleností od kontrolního bodu cca 5 m (jeden vpich uprostřed). V případě kontaktu hrotu s kamenem je nutno měření opakovat. Vyhodnocení zhutnění půdy se provádí po skončení polního měření. Při každém vpichu je potřeba dbát na to, aby jehla penetrometru vnikala do půdy plynule. Na velkou rychlost vpichu upozorní zvukový signál penetrometru, na který je třeba reagovat opakovaným měřením, provedeným o několik centimetrů dál, aby nebylo ovlivněné předchozím měřením. Stejně tak je třeba postupovat v situaci, kdy po zapíchnutí jehly do několika centimetrů nelze dále plynule pokračovat. To se stane zejména při nárazu jehly do kamene. Snížená hloubka podorničí se předpokládá tehdy, jestliže žádný z těchto vpichů nedosáhl výrazně větší hloubky.

Na každém pozemku se odeberou 2 vzorky půdy pro zjištění její vlhkosti, nebo se zjistí vlhkost půdy kalibrovaným vlhkoměrem. První vzorek je odebírán z ornice z hloubky 16–20 cm, druhý vzorek je odebírán z podorniční vrstvy, z hloubky 36–40 cm.

Na všech zkoumaných pozemcích jsou půdy spadající do referenční třídy luvisolů–hnědozem, šedozem (Němeček a kol. 2001).

Vyhodnocení výsledků penetračních měření

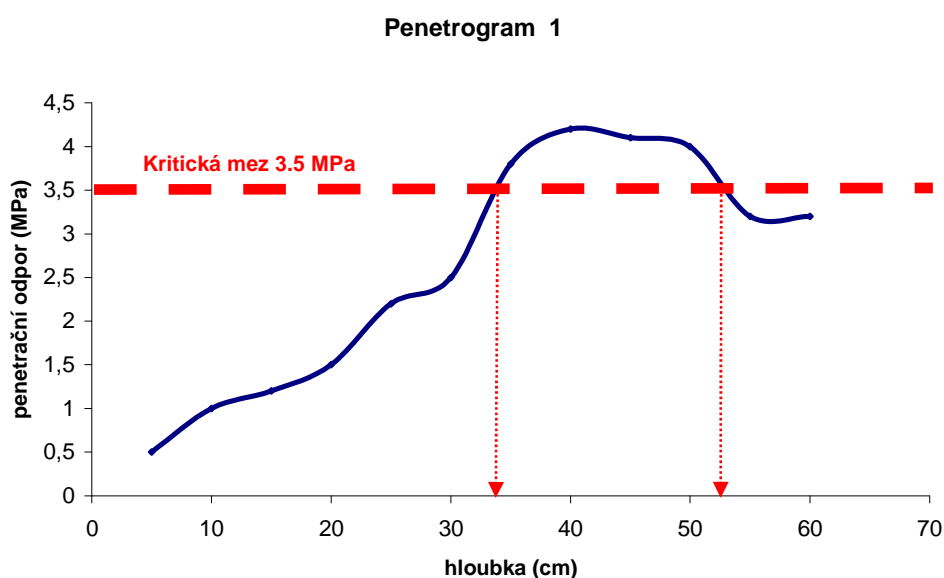
Vyhodnocení penetračních měření je prováděno z penetrometrických záznamů numericky nebo graficky. V další části textu je ukázka grafického hodnocení.

Za základ vyhodnocení slouží kritické hodnoty které publikoval Lhotský (1994). Pro střední (hlinitou) půdu je za kritickou hodnotu považována mez 3,5 MPa.

V zásadě mohou nastat tři případy:

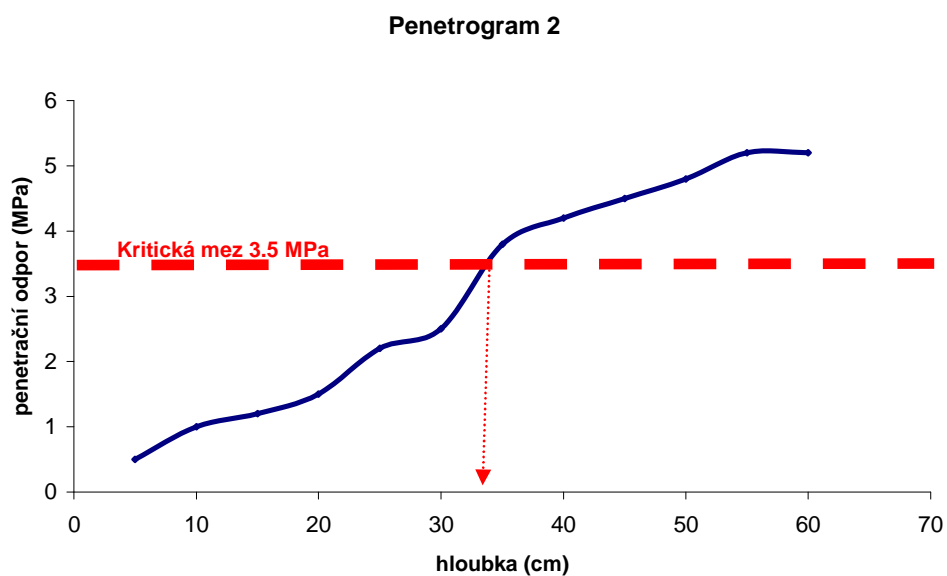
Půda je technogenně poškozená (viz graf 1), v našem případě je maximální utužení v hloubce 34 až 52 cm – utužené podorničí. Náprava bude spočívat v agromelioračních technologiích.

Graf 1: Možný případ utužení 1



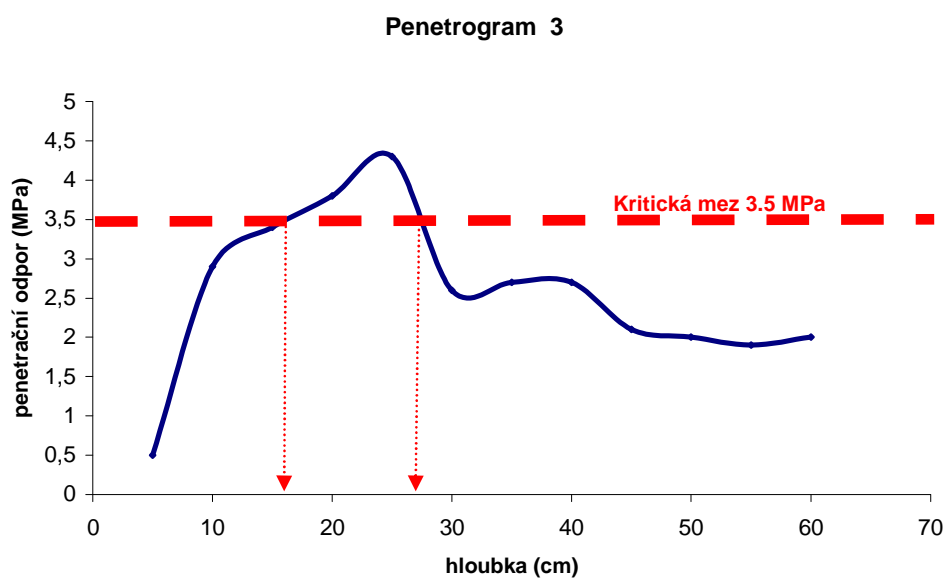
Utužení přibývá do hloubky (viz graf 2) – je přirozenou vlastností půdy (není technogenního původu) a hloubka překročení kritické meze (v našem případě 33 cm) vymezuje hloubku fyziologického profilu. Zlepšení je finančně a technicky náročné a běžně se neprovádí.

Graf 2: Možný případ utužení 2



Maximální utužení je v ornici (graf 3). Porucha je způsobena nevhodným způsobem hospodaření (agrotechnika, osevň postupy, hnojení, atd.). Náprava je možná běžnými agrotechnickými postupy. Problémem je ale často odstranění příčiny.

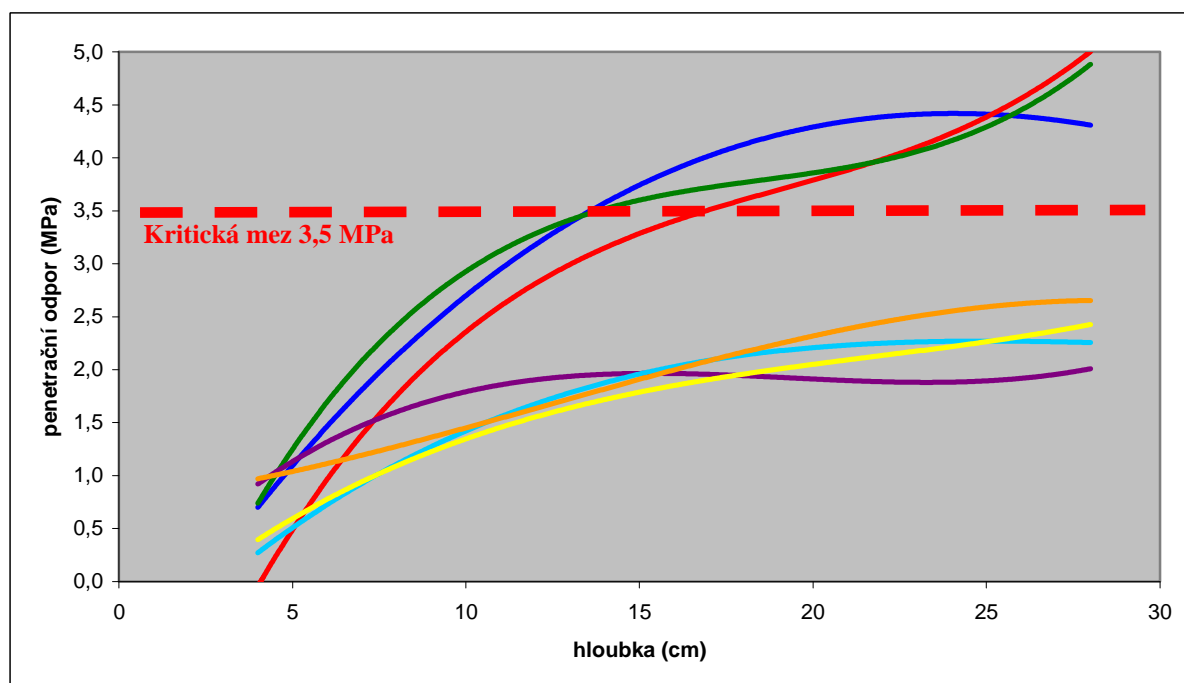
Graf 3: Možný případ utužení 3



VÝSLEDKY A DISKUZE

Získané výsledky jsou znázorněny na třech níže ležících grafech. Korekce na vlhkost nebylo nutné dělat, vlhkost byla v optimálním rozmezí.

Graf 4: Penetrační odpor ornic (0–30 cm), lokalita Lysice

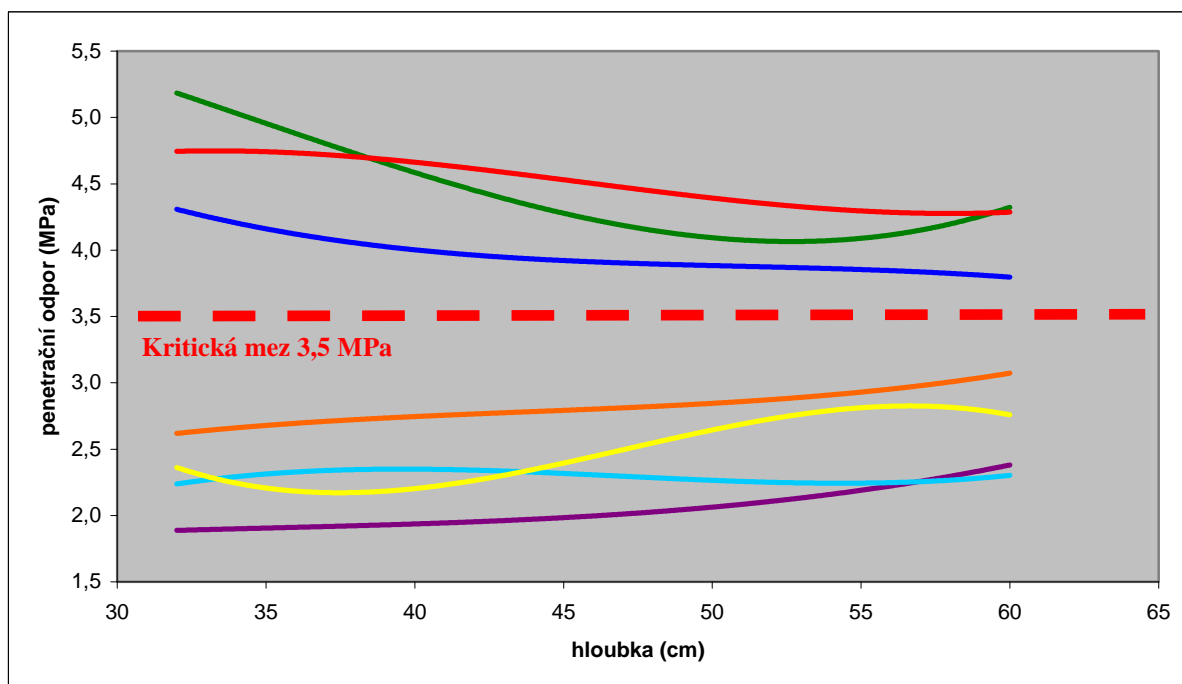


Tab. 3: Regresní rovnice a hodnoty spolehlivosti – ornice

Rovnice regrese	R	R ²
$y = 0,0008x^3 - 0,0439x^2 + 0,8557x - 2,0324$	0,9931	0,9862
$y = 0,0007x^3 - 0,0396x^2 + 0,847x - 2,8429$	0,9875	0,9751
$y = 9E-05x^3 - 0,014x^2 + 0,5152x - 1,1429$	0,9966	0,9933
$y = -0,0001x^3 + 0,0046x^2 + 0,0348x + 0,7656$	0,9896	0,9794
$y = 0,0002x^3 - 0,0115x^2 + 0,2924x - 0,6011$	0,9924	0,9848
$y = 0,0003x^3 - 0,0201x^2 + 0,3729x - 0,2714$	0,9968	0,9936
$y = 0,0001x^3 - 0,0113x^2 + 0,3307x - 0,8776$	0,9995	0,9990

Na penetračním odporu v ornici (Graf. 4) je patrný nárůst odporu s hloubkou na sledovaném území. Na třech ze sedmi lokalit je již v ornici přesažena kritická mez dle Lhotského 3,5 Mpa již kolem hloubky 15 cm.

Graf 5: Penetrační odpor podorničí (30–60 cm), lokalita Lysice

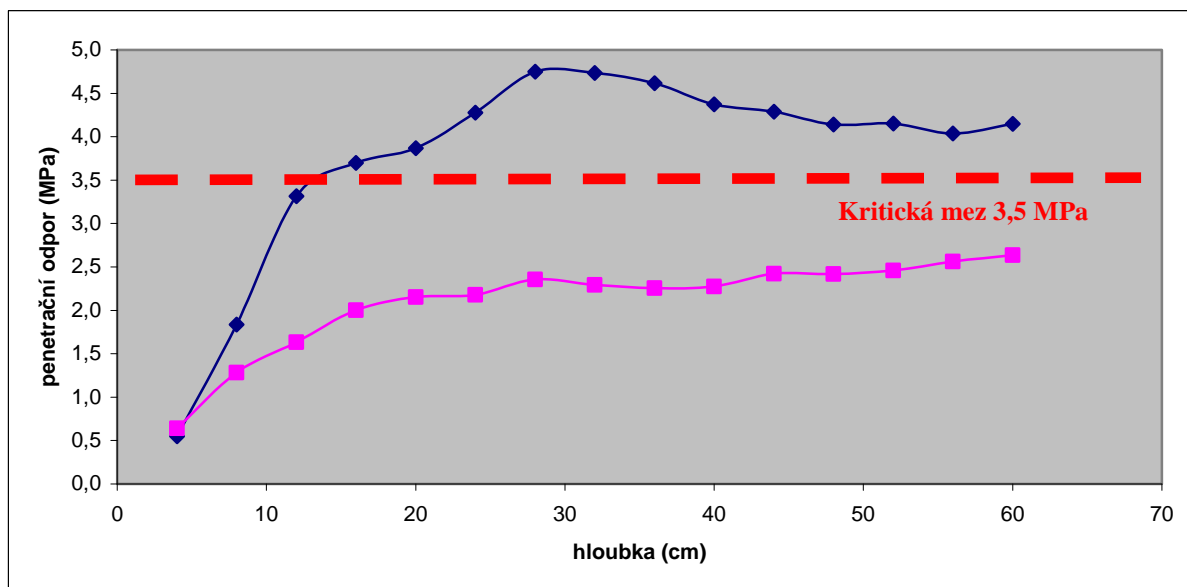


Tab. 4: Regresní rovnice a hodnoty spolehlivosti–podorničí

Rovnice regrese	R	R ²
$y = 6E-05x^3 - 0,0086x^2 + 0,362x - 0,122$	0,9657	0,9326
$y = 8E-05x^3 - 0,008x^2 + 0,2004x + 4,4525$	0,9732	0,9471
$y = -5E-05x^3 + 0,0072x^2 - 0,3718x + 10,397$	0,9633	0,9280
$y = 3E-05x^3 - 0,0045x^2 + 0,2075x - 0,5129$	0,9466	0,8961
$y = -0,0002x^3 + 0,0262x^2 - 1,1828x + 19,446$	0,9470	0,8968
$y = 7E-05x^3 - 0,0093x^2 + 0,4273x - 4,0497$	0,7503	0,5630
$y = 2E-05x^3 - 0,0022x^2 + 0,0824x + 0,8148$	0,9669	0,9348

Při pohledu na grafické vyhodnocení hodnot v podorničí je patrné, že u všech tří pozemků utužených již v ornici je kritický limit poměrně vysoce překročen i v podorničí. Z výsledků v Grafu 4 a 5 lze vytvořit dvě skupiny pozemků: první neutužené pozemky, kde ani v ornici ani v podorničí není překročena kritická mez 3,5 MPa. Druhou skupinu pozemků tvoří tři výše zmíněné pozemky u nichž je kritická hodnota 3,5 MPa překročena již v ornici, v podorničí dokonce nad hodnotu 4 MPa. Z těchto skupin proto lze vytvořit jakýsi průměrný penetrační odpor pro první a druhou skupinu: viz Graf 6.

Graf 6: Průměrný „skupinový“ penetrační odpor pozemků na lokalitě Lysice



Pokud srovnáme stav pozemků druhé skupiny na lokalitě Lysice s výše uvedenými potenciálními případy zhutnění (Grafy 1–3), blíží se možnosti první. Jedná se tedy o technogenně poškozenou půdu. Náprava je možná agro-melioračními opatřeními, respektive omezením pojezdů těžkými mechanismy. Při porovnání s Tab. 2, můžeme hodnoty penetračního odporu v podorniči zařadit do třídy vysoký až velmi vysoký.

ZÁVĚR

Na penetračním odporu v ornici (Graf. 4) je patrný nárůst odporu s hloubkou na sledovaném území. Na třech ze sedmi lokalit je již v ornici přesažena kritická mez dle Lhotského 3,5 Mpa již kolem hloubky 15 cm. Při pohledu na grafické vyhodnocení hodnot v podorniči je patrné, že u všech tří pozemků utužených již v ornici je kritický limit poměrně vysoce překročen i v podorniči. Z výsledků lze vytvořit dvě skupiny pozemků: první s neutuženými pozemky, a druhou s utuženými. U neutužených není ani v ornici ani v podorniči překročena kritická mez dle Lhotského (3,5 MPa). Druhou skupinu pozemků tvoří tři výše zmíněné pozemky u nichž je kritická hodnota 3,5 MPa překročena již v ornici (v hloubce 15 cm), v podorniči je penetrační odpor dokonce nad hodnotu 4 MPa.

Dle dříve publikovaných výsledků některých autorů se jedná u tří pozemků o technogenně poškozenou půdu, pravděpodobně vlivem častých pojezdů zemědělskou technikou. Náprava je možná agromelioračními opatřeními, respektive omezením pojezdů těchto mechanismů. Při porovnání s Tab. 2, můžeme hodnoty penetračního odporu v podorniči zařadit do třídy vysoký až velmi vysoký.

LITERATURA

Anonym 1 (2007): Přílohy Národního strategického plánu rozvoje venkova České republiky pro období 2007–2013. online (stav úprav z 10.9.2007):

http://kostelec.czu.cz/UAE/SEA/EAFRD/PriI_NSPRV_final.pdf.

Bulinski J., Niemczyk H. (2004): Changes in soil physical properties in a three-year experiment on sugar beet cultivation. *Annals of Warsaw Agricultural University, Agriculture Agricultural Engineering*. (45): 3-9

Davies B. et al (1993): *Soil management*, Farming Press, London.

Edesi L., Kuht J., Reintam E., Trukmann K. (2007): Influence of soil compaction on the grain yield of barley. *Agronomy-2007*. 9-12

Fulajtar E. (2000): Assessment and determination of the compacted soils in Slovakia. *Advances-in-Geoecology*. (32): 384-387

Hůla J., Abrham Z., Bauer F. (1997): *Zpracování půdy, Brázda*, Praha.

Lhotský J. (1994): *Kultivace a rekultivace půd*. VÚMOP Praha, 198 s .

Němeček J., a kol. (2001): *Taxonomický klasifikační systém půd ČR*. ČZU Praha.78 s.

Nikolic R., Savin L., Furman T., Gligoric R., Tomic M. (2001): Research of the problems of soil compaction. *Acta Technologica Agriculturae*. 4(4): 107-112

Nugis E., Kuht J. (2000): Subsoil compaction in Estonia. *Advances-in-Geoecology*. (32): 402-408

Sobocká J. (2007): Citlivost' a zranitelnost' poľnohospodárskych pôd SR vo vzťahu ku klimatickej zmene. *VUPOP Bratislava*, 28s.

Stenitzer E., Murer E. (2003): Impact of soil compaction upon soil water balance and maize yield estimated by the SIMWASER model. *Soil-and-Tillage-Research*. 73(1/2): 43-56

URL

1 [http://www.mzp.cz/AIS/web-pub.nsf/\\$pid/MZPKHFDS217N/\\$FILE/Popis.doc](http://www.mzp.cz/AIS/web-pub.nsf/$pid/MZPKHFDS217N/$FILE/Popis.doc) 28.8.2008

2 [http://www.env.cz/AIS/web-pub.nsf/\\$pid/MZPKHFDQGU6Z/\\$FILE/Microsoft%20Word%20-%20objemova_hmotnost.pdf](http://www.env.cz/AIS/web-pub.nsf/$pid/MZPKHFDQGU6Z/$FILE/Microsoft%20Word%20-%20objemova_hmotnost.pdf)

3 http://fle.czu.cz/~hejcman/Prednasky/Ochrana_pudy1.pdf

4 <http://ekologie.upol.cz/ku/pgsmp/Monit3.pdf>

5 http://www.vukrom.cz/www/benada/B_olom/MERENI_%20REDOXNIHO_POTENCIALU.htm

GROWTH PERFORMANCE AFTER 1ST COPPING ON FAST GROWING WOODY PLANTS

VYHODNOCENÍ OBRŮSTÁNÍ RYCHLE ROSTOUCÍCH DŘEVIN PO PRVNÍM OBMÝTÍ

Drlíková L., Fajman M., Fryc V.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: DrlikovaL@seznam.cz, fajman@mendelu.cz, ladafryc@volny.cz

ABSTRACT

Fast-growing woody plants serve as a potential source of renewable energy. In order to research a utilisability of these woody plants there was established a high density experimental field plantation including a range of available clones of *Populus sp.* and *Salix sp.* with total area of 1.5 ha in early 2001 in Domanínek (Czech Republic, 49°32' N, 16°15' E and altitude 530 m). The clone experiment included 6 clones of *Populus* and 6 clones of *Salix* allowing 4-replicate experiment. The plantation was established on agricultural land and planted in a double row design with a density of 10,000 trees/ha. The trial was weeded by mechanical methods, and no irrigation, fertilization, or herbicides were applied. The experiment was harvested at the end of 2006. In spring 2008, after 1st coppicing, it was determined, how many shoots clones of selected sorts created. It was found, that *Salix sp.* performed higher number of shoots, particularly the SVIM – 519, resp. VIMINALIS clone. The lowest number of shoots was observed by *Populus sp.*, namely the J 105 clone. All differences among sorts and clones were highly significant. Further, there is a hypothesis to approve, that number of shoots directly relates with yield of these woody plants. A theoretical correlation is negative, i.e. *Populus sp.* performing high yields, but relatively low number of shoots in comparison with *Salix sp.* Main factors to observe in the future are the same as studied: climate conditions, soil characteristic and a competition with weeds in a field.

Key words: fast growing woody plants, populus, salix, shoots

Acknowledgments:

Poděkování: Příspěvek byl zpracován s podporou Výzkumného záměru č. MSM6215648905 „Biologické a technologické aspekty udržitelnosti řízených ekosystémů a jejich adaptace na změnu klimatu“ uděleného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

ÚVOD

Biomasa je ve 3. tisíciletí považována za relativně dostupný a zejména bezprostředně využitelný zdroj obnovitelné energie, který by měl ve významné míře nahradit spotřebu fosilních paliv. Omezení růstu spotřeby fosilních paliv nebo přímo snížení jejich spotřeby je považováno za klíčový problém pro snižování koncentrace oxidu uhličitého v atmosféře Země, a tím zastavení předpokládaného jevu zvaného „skleníkový efekt“, který je považován za hlavního činitele, zodpovědného za současné oteplování zemského povrchu (Hrdlička, 2003).

Biomasa bývá definována jako hmota organického původu. V souvislosti s energetickým využíváním biomasy se rozumí rostlinnou biomasou především dřevo a různorodý dřevní odpad, respektive jiné energetické rostliny vhodné pro spalování, jako jsou zemědělské produkty a jejich zbytky nebo cíleně pěstované energetické rostliny (Celjak, 2008).

Z hlediska možností využití těchto zdrojů jsou v České republice rozsáhlé možnosti v podobě asi 1 milionu ha nevyužité nebo jen sporadicky využívané plochy. Vedle použití brukvovitých rostlin k výrobě olejů, bionafty apod., jsou v posledních letech v popředí zájmů dvě cesty. První z nich je využívání bylin s velkou schopností tvořit lignifikovanou, dobře spalitelnou biomasu, která navíc umožňuje technologické předzpracování – briketování, peletizace. Druhou cestou je využívání dřevin – převážně rychle rostoucích druhů, opět za účelem získání pevné, suché, lignifikované hmoty – dřevoviny za účelem spalování. K tomuto účelu je využíváno obecně druhů rodu *Salix sp.* (vrba) a *Populus sp.* (topol) (Weger, 2003). Níže uvedený text se zabývá zkušeností s pěstováním těchto druhů rychle rostoucích dřevin.

Topol (Populus L.)

Topol patří mezi dřeviny rychlého vzrůstu. Klimatické podmínky jsou jedním z rozhodujících činitelů ovlivňujících vegetaci topolů. Ve stejných půdních podmínkách u téhož klonu se dosahuje větších přírůstků v lokalitě s dlouhou vegetační dobou a s průměrnou denní teplotou v červnu, červenci a srpnu vyšší než 14° C. Dalším rozhodujícím faktorem je vodní režim v půdě. Vyhovující stanoviště jsou taková, kde průměrná hloubka podzemní vody je 0,6-1 m. Významný je výběr klonů s vysokým vzrůstem v mládí, výbornou obrůstací schopností pařízků po obmýtí, snášenlivostí a odolností proti chorobám a škůdcům. Sklizeň topolu se provádí v zimních měsících, kdy jsou stromy bez listů a sušina dřevin dosahuje 50 % hmotnosti. K energetickému využití je nutné dřevní hmotu štěpkovat. U plantáží rychle rostoucích dřevin podle délky obmýtí se v našich podmínkách nejvíce uplatní minirotace, tzn. že délka obrůstání obmýtí je 5-6 let, kdy se může docílit v příznivých podmínkách průměrný roční výnos až 10-20 t hmoty v absolutní sušině z plochy 1 ha. Pařezy se po sklizni nechávají obzrát a cyklus se opakuje 4-5 krát (Kovářová, 2002).

Vrba (Salix)

Rod vrba je komplikovaným rodem pro časté hybridizace i relativně velký počet zaměnitelných původních druhů. Vrby patří mezi dřeviny vlhkomilné, které snášejí i dlouhodobé zamokření. Dřevo mají měkké a lehké, větve křehké. Lze je zařadit mezi rychle rostoucí, jelikož jsou schopny dosahovat poměrně vysoké výnosy dřevní hmoty za relativně krátkou dobu. Rozmnožují se snadno dřevitými řízků i silnějšími větvemi. Vyznačují se velmi vysokou obrůstací schopností, zejména u některých typů klonů. Některé druhy vrb jsou poměrně náchylné k různým chorobám a bývají často napadány škůdci.

MATERIÁL A METODIKA

Charakteristika pokusného stanoviště

Pokus byl založen v dubnu roku 2001 jako experimentální plantáž vybraných klonů topolů (*Populus* sp.) a vrb (*Salix* sp.) na celkové ploše 1,5 ha. Pokusný pozemek byl umístěn na lokalitě Domanínec (49° 32' N, 16° 15' E a nadmořské výšce 530 m.n.m.). Plantáž byla založena na orné půdě, kde byly dříve pěstovány převážně obiloviny a brambory. Během posledního roku pěstování byla na pozemku vyseta směska ovsa a hrachu. Půdní podmínky na lokalitě klonového pokusu charakterizují hluboké luviské kambizemě s glejovými procesy. V Tab. 1 jsou uvedeny základní půdní a klimatické charakteristiky dané lokality. Použité meteorologické údaje byly získány z meteorologické stanice ČHMÚ Bystřice nad Pernštejnem, která se nachází asi 1 km od pokusné plochy.

Založení pokusu

Sadba byla provedena pomocí řízků, sázených do dvouřádku. Vzdálenost mezi jednotlivými řízků byla 0,7m a šířka meziřadí byla zvolena 2,6m. Hustota porostu tedy činila 10 000 jedinců/ha. Každý klon byl vysázen ve 4 opakováních. Seznam jednotlivých klonů je uveden v Tab. 2.

Sklizeň a následná péče o porost

Mezi 20. listopadem a 5. prosincem 2007 byla provedena ruční sklizeň s tím, že byla ponechána 20 cm pařezina. Získaná biomasa byla dále zpracována a byly vyhodnoceny výnosové parametry (viz Trnka a kol., 2008).

V rámci mechanické ochrany proti plevelům byla na pozemku po sklizni na jaře 2008 posečen travní porost v meziřadí a následně ponechán na místě jako mulč. Hnojení stanoviště organickými ani průmyslovými hnojivami se neprovádělo.

Sledované znaky

V rámci pokusu byly vyhodnocovány jednotlivé počty prýtů po prvním obmýtí a následné srovnání mezi jednotlivými druhy pěstovaných dřevin a dále také mezi vybranými

klony. Záměrem bylo zjistit, zda existuje mezi těmito druhy resp. klony statisticky významný rozdíl.

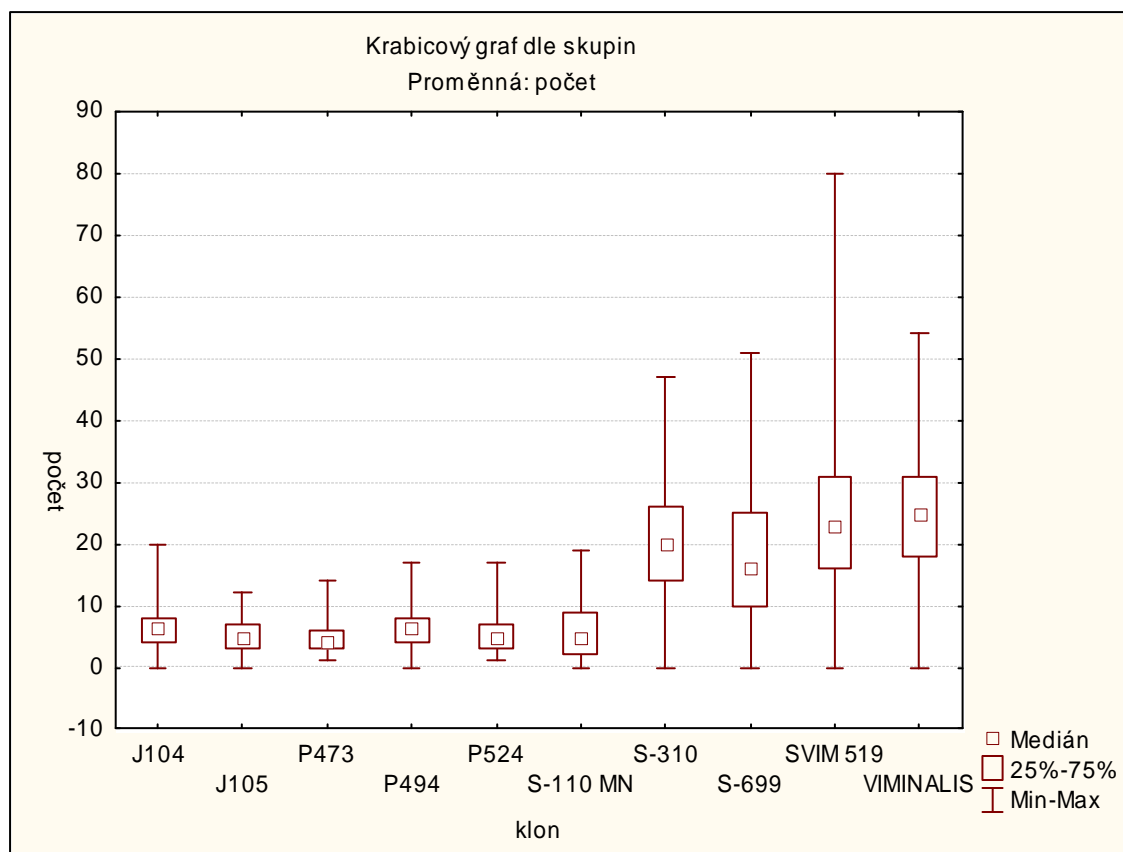
Pro zpracování tohoto typu dat se obvykle používá analýza rozptylu, ale v našem případě nebyla dosažena dostatečná homogenita rozptylů. Na základě doporučení jsme se rozhodli použít Kruskal - Wallisovu metodu (rozdílů mediánů). Na dílčí zpracování výsledků byl použit software Statistica 8.0.

VÝSLEDKY A DISKUZE

V porovnání mezi jednotlivými druhy bylo zjištěno, že rozdíly v počtu prýtů byly statisticky vysoce významné (nejvyšší střední hodnoty počtu prýtů byly dosaženy u vrb) – viz. Tab. 4. Toto zjištění nebylo překvapivé, vyšší obrůstavost vrb vychází z charakteristických vlastností tohoto druhu. Navíc na pozemku měly vrby ideální půdní podmínky pro jejich růst a obrůstací schopnost. Výbornou obrůstací schopnost vrb uvádí i Váňa (2004) ve svém klonovém pokusu. Tab. č. 3 uvádí celkovou charakteristiku všech zkoumaných klonů. Rozdíl v počtech prýtů mezi jednotlivými klony je zřejmý z Grafu č. 1.

Tab. 3 Obecná charakteristika všech zkoumaných klonů

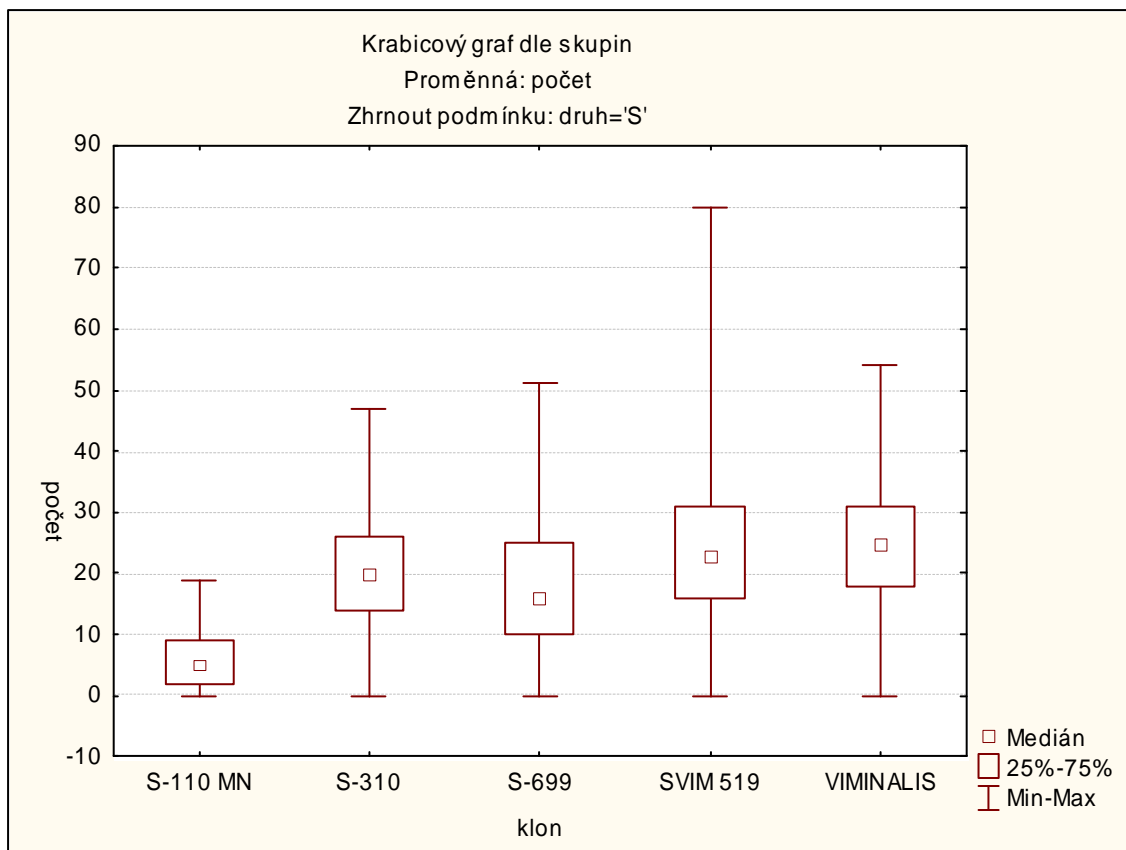
Klon	Počet platných	Průměr	Dolní mez	Horní mez	Medián	Směr. odch.	Směr. chyba průměru
J104	121	6,4710	5,8527	7,0894	6	3,4352	0,3122
J105	103	5,4660	4,9326	5,9993	5	2,7289	0,2688
P473	87	4,4942	3,9825	5,0059	4	2,4009	0,2574
P494	96	6,2812	5,6227	6,9397	6	3,2499	0,3316
P524	118	5,1864	4,6791	5,6937	5	2,7825	0,2561
S-110 MN	48	5,8125	4,3803	7,2446	5	4,9321	0,7118
S-310	145	20,820	19,286	22,355	20	9,3486	0,7763
S-699	151	18,231	16,295	20,168	16	12,0445	0,9801
SVIM 519	145	23,737	21,634	25,841	23	12,8155	1,0642
VIMINALIS	121	25,983	24,119	27,847	25	10,3545	0,9413



Graf. 1 Porovnání počtu prýtů všech klonů topolů i vrb.

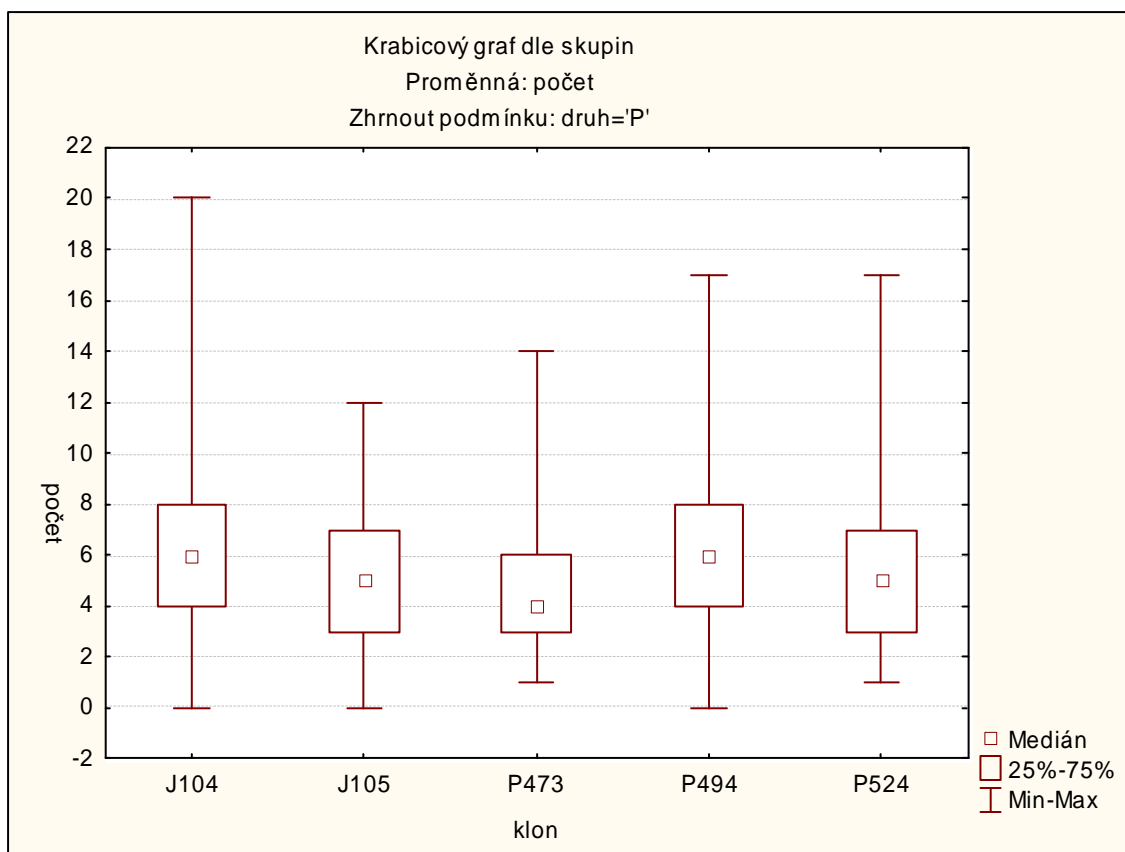
V rámci výzkumu byly porovnány i jednotlivé klony u obou druhů. Mezi vrbami dosahoval nejvyšší obrůstací schopnosti zejména klon SVIM – 519 a z pohledu maximálně pozorovaných hodnot, nejvyšší střední hodnoty (medián) bylo dosaženo u klon VIMINALIS a jako třetí v pořadí S – 310. Přičemž LABRECQUE (1999) uvádí klon VIMINALIS jako vysoce citlivý klon s malou obrůstací schopností, který je velice náchylný k chorobám způsobeným škůdci. Nejmenší obrůstací schopnost byla zjištěna u klonu S 110–MN. Rozdíly mezi jednotlivými klony byly statisticky vysoce významné (Tab. 5).

Jednotlivé počty prýtů a charakteristiky výběrových souborů u daných klonů rodu *Salix* znázorňuje Graf č.2.



Graf 2. Porovnání počtu prýtů u klonů vrb.

U topolů nejvyšší obrůstavost dosahoval klon J 104. Výborné zkušenosti s tímto klonem uvádí i Hovorka (2007). Nejnižší počet prýtů byl zjištěn u klonu J 105. Zde je zřejmé, že počet prýtů nemusí mít pozitivní souvislost s výnosem, jelikož tento klon je v mnoha vědeckých pracích uváděn jako velmi produktivní z hlediska výnosu dřevní hmoty (např. Weger, 2003). Rozdíly mezi jednotlivými klony u topolů byly opět vysoce statisticky významné (Tab. 6). Počty prýtů a charakteristiky výběrových souborů jsou názorně uvedeny v Grafu č.3.



Graf 3. Porovnání počtu prýtů u klonů topolů.

ZÁVĚR

Nejvyšší obrůstací schopnost byla zjištěna u vrb, konkrétně u klonu SVIM – 519 v rozsahu maximálních hodnot zatímco klon VIMINALIS dosáhl ještě mírně vyšší hodnoty mediánu počtu prýtů při nižší variabilitě výběrového souboru. Je ale potřeba si uvědomit, že tato schopnost nemusí být ve všech případech žádoucí, a že tento aspekt může mít i negativní vliv na celkový produkční potenciál.

Je také nutno podotknout, že zjištěné výsledky nelze brát jednoznačně jako výběrové kritérium pro případnou výsadbu, jelikož kromě typu klonu existují faktory, které obrůstací schopnost vrb a topolů z velké míry ovlivňují také. Zejména klimatický charakter oblasti, podmínky výsadbového stanoviště (výška hladiny podzemní vody, zátopová oblast plantáže) nebo stav zaplevelení pozemku. Ověření potenciální hypotézy o negativní korelaci mezi počtem prýtů při obrůstání a výnosem celkové hmoty po obmýtí bude předmětem dalšího zkoumání.

PŘÍLOHY

Tab. 1 Klimatické a půdní charakteristiky

KLIMATICKÉ CHARAKTERISTIKY					
Parametry	Jednotky	Leden- prosinec	Duben- září	Červen- Srpen	Prosinec- únor
Průměrná teplota vzduchu (°C) 1961-1990	°C	6.6	12.8	15.5	-2.7
Průměrná teplota vzduchu (°C) 2001-2006	°C	7.3	13.8	16.9	-2.3
Suma srážek (mm) 1961-1990	mm	580.6	359.6	208.3	113.0
Suma srážek (mm) 2001-2006	mm	590.6	358.6	208.3	124.7
PŮDNÍ CHARAKTERISTIKY					
Komponenty	Jednotky	Hloubka (cm)			
		0-24	24-66	66-94	94-130+
Písek	wt %	34.2	27.6	42.7	67.1
Jemný písek	wt %	50.0	46.1	38.7	19.6
Jíl	wt %	15.8	26.3	18.6	13.3
Objemová hustota	g/cm ³	1.55	1.64	1.59	1.64
Organické látky	wt %	2.65	0.28	0.14	0.14
Celkový dusík	wt %	0.16	<0.05	<0.05	<0.05
pH(KCl)		5.9	5.4	4.0	3.4
Dostupný P*	mg/kg	148	1.3	0.9	24
Dostupný K*	mg/kg	151	91	62	76
Dostupný Mg*	mg/kg	143	230	278	291
Dostupný Ca*	mg/kg	1230	1353	748	652

Tab. 2 Seznam použitých klonů a jejich stručná charakteristika

Klon	Taxonomické zařazení	Počet jedinců:
J-104	P.nigra x P. maximowiczii “Maxvier”	4x40 (n = 160)
J-105	P.nigra x P. maximowiczii “Maxfünf”	4x40 (n = 160)
P-494	P. maximowiczii x P. berolinensis “Oxford”	4x40 (n = 160)
P-524	P.balsamifera x P.tremula cf.balsamifera	4x40 (n = 160)
P-473	P. trichocarpa x P. koreana (cf. P. trichocarpa x P. deltoides)	4x40 (n = 160)
S-110 MN	S. viminalis L.	4x40 (n = 160)
S-310	S. viminalis L., autochtonní v ČR (f)	4x40 (n = 160)
S-699	S. viminalis L., autochtonní v ČR (f)	4x40 (n = 160)
SVIM 519	S. viminalis L., (f)	4x40 (n = 160)
VIMINALIS	<i>S. viminalis L.</i>	4x40 (n = 160)

Tab. 4 Kruskal-Wallisův a mediánový test pro všechny sledované klony

	J104	J105	P473	P494	P524	S-110 MN	S-310	S-699	SVIM 519	VIMIN.	Celkem
Medián pozorovaných	102,0000	93,0000	84,0000	82,0000	109,0000	39,0000	15,0000	37,0000	17,0000	3,0000	581,00
očekávaných	61,9392	52,7251	44,5348	49,1419	60,4035	24,5709	74,2247	77,2960	74,2247	61,9392	-
pozorovaných - očekávaných	40,0608	40,2749	39,4652	32,8581	48,5965	14,4291	-59,2247	-40,2960	-57,2247	-58,9392	-
Medián pozorovaných	19,0000	10,0000	3,0000	14,0000	9,0000	9,0000	130,0000	114,0000	128,0000	118,0000	554,000
očekávaných	59,0608	50,2749	42,4652	46,8581	57,5965	23,4291	70,7753	73,7040	70,7753	59,0608	-
pozorovaných - očekávaných	-40,0608	-40,2749	-39,4652	-32,8581	-48,5965	-14,4291	59,2247	40,2960	57,2247	58,9392	-
Celkem očekávaných	121,0000	103,0000	87,0000	96,0000	118,0000	48,0000	145,0000	151,0000	145,0000	121,0000	1135,000

H (9, N= 1135) =643,2532, p =0,000, $\chi^2 = 675,3752$, df = 9, p = 0,000

Tab. 5 Kruskal-Wallisův a mediánový test pro vrby

	S-110 MN	S-310	S-699	SVIM 519	VIMINALIS	Celkem
<= Medián pozorovaných	48,0000	74,0000	99,0000	57,0000	39,0000	317,0000
očekávaných	24,9443	75,3525	78,4705	75,3525	62,8803	-
pozorovaných - očekávaných	23,0557	-1,3525	20,5295	-18,3525	-23,8803	-
> Medián pozorovaných	0,0000	71,0000	52,0000	88,0000	82,0000	293,0000
očekávaných	23,0557	69,6475	72,5295	69,6475	58,1197	-
pozorovaných - očekávaných	-23,0557	1,3525	-20,5295	18,3525	23,8803	-
Celkem očekávaných	48,0000	145,0000	151,0000	145,0000	121,0000	610,0000

$$H(4, N=610) = 126,9091, p = 0,000, \chi^2 = 83,78522, df = 4, p = 0,0000$$

Tab. 6 Kruskal-Wallisův a mediánový test pro topoly

	J104	J105	P473	P494	P524	Celkem
<= Medián pozorovaných	48,0000	53,0000	61,0000	36,0000	73,0000	271,0000
očekávaných	62,4590	53,1676	44,9086	49,5543	60,9105	-
pozorovaných - očekávaných	-14,4590	-0,1676	16,0914	-13,5543	12,0895	-
> Medián pozorovaných	73,0000	50,0000	26,0000	60,0000	45,0000	254,0000
očekávaných	58,5410	49,8324	42,0914	46,4457	57,0895	-
pozorovaných - očekávaných	14,4590	0,1676	-16,0914	13,5543	-12,0895	-
Celkem očekávaných	121,0000	103,0000	87,0000	96,0000	118,0000	525,0000

$$H(4, N=525) = 33,46092, p = 0,0000, \chi^2 = 31,45971, df = 4, p = 0,0000$$

LITERATURA

CELJAK, I. Ekonomika produkce rostlin pro energetické využití. Praha: Profi Press, s.r.o., čas. Energie 21, 2/2008

HOVORKA, A. Suché jaro – nepřítel nových plantáží. *Biom.cz* [online]. 2007-07-15 [cit. 2008-10-29]. Dostupné z WWW: <<http://biom.cz/index.shtml?x=2016497>>. ISSN: 1801-2655.

HRDLIČKA, F. Biomasa – zdroje obnovitelné energie (profesorské přednášky). České technické vysoké učení (fakulta strojní), Praha, 2003, 28 stran. ISBN 80-01-02830-5

KOVÁŘOVÁ, M. a kol. Pěstování a využití energetických a průmyslových plodin. *Biom.cz* [online]. 2002-07-10 [cit. 2008-09-25]. Dostupné z WWW: <<http://biom.cz/index.shtml?x=95502>>. ISSN: 1801-2655.

LABRECQUE, M. Field performance and biomass production of 12 willow and poplar clones in short-rotation coppice in southern Quebec (Canada). Elsevier, Oxford, 2005. ISSN 0961-9534

TRNKA, M. a kol. Biomass production and survival rates of selected poplar clones grown with a short-rotation on formerly arable land. *Plant, Soil and Environment : rostlinná výroba*. 2008. ISSN 1214-1178.

WEGER, J. Biomasa – obnovitelných zdroj energie v krajině. Výzkumný ústav Silva Taroucy pro krajinu a okrasné zahradnictví. Informační středisko pro obnovitelné zdroje, Průhonice, 2003, 52 stran, ISBN: 80-85116-32-4

MONITORING OF WATER POLLUTION OF ŽELEČSKÝ STREAM UNDER ŽELEČ VILLAGE

SLEDOVÁNÍ ZNEČIŠTĚNÍ ŽELEČSKÉHO POTOKA POD OBCÍ ŽELEČ

¹Fialová P., ¹Hubačíková V., ²Rozkošný M.

¹ Department of Applied and Landscape Ecology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

²The T. G. Masaryk Water Research Institute, Mojžírovo náměstí 16, 612 00, Brno, Czech Republic

E-mail: petra_fialova@centrum.cz, verah@mendelu.cz, Milos_Rozkosny@vuv.cz

ABSTRACT

Paper deals with water quality monitoring of Želečský potok in Prostějov's village Želeč. Into that stream was lead waste water from the village. There is an accumulative reservoir about 25 km down the village, which is planned to be used for recreation, especially for swimming. Based on yearly monitoring and water samples from 5 profiles there are collected information about water quality thought the whole stream. One profile is located in the reservoir. Evaluation of the reservoir feasibility for the mentioned purposes will be undertaken after measurement is finished. Subsequently there will be also done a proposal how to clean the waste water in the village.

Key words: water quality, profile, waste water, recreation

Acknowledgments: Grant is connection to project MZP0002071101

ÚVOD

Řešením diplomové práce je studie znečištění povrchových vod v obci Želeč na Prostějovsku a návrh opatření. Vzhledem k tomu, že splašková voda z obce je zaústěna do Želečského potoka, je práce zaměřena na sledování „jakosti vody“ pravidelnými odběry vzorků z 6 profilů, u kterých se vyhodnocuje: koncentrace kyslíku, nasycení vody kyslíkem, množství amoniakálního dusíku (N-NH^{4+}) i bakteriální znečištění. Tyto ukazatele jsou stanoveny nařízením vlády č. 61/2003 Sb. o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod.

Z výsledků několikaměsíčního sledování těchto parametrů bude proveden návrh čistění odpadních vod této obce. Tento příspěvek je zaměřen pouze na vyhodnocení kyslíkových poměrů ve vodním prostředí, amoniakální dusík a bakteriální znečištění Želečského potoka.

Zájmové území

Obec Želeč se nachází přibližně 20 km jižně od Prostějova a 12 km od Vyškova. Rozkládá se v mělké terénní prohlubni protilehlých jižních a severních svahů a přirozeně kopíruje mírně zvlněný terén.



Obr.č. 1 Zájmové území

(zdroj: mapy.cz, 2008)

Historické jádro obce tvoří protáhlá široká ulicová náves s dominantou kostela sv.Bartoloměje. Náves je ukončena na severozápadě shlukem domků, na východní straně areálem statku s památkově chráněnou sýpkou a poklonou sv.J.Nepomuckého. Prostor návsi je vymezen řadovou zástavbou původních zemědělských usedlostí s nadměrnými zahradami a je vyplněn zelenými plochami s bohatou lipovou alejí. K dnešnímu dni čítá obec 542 obyvatel. Běží zde projekt vystavění 17 nových rodinných domů. Probíhají zde další části

projektu pozemkových úprav, jejíž součástí byla i rekonstrukce akumulční nádrže, vzdálená 2,5 km od obce, na které provádíme výzkum.



Obr.č.2 Akumulační nádrž

(foto: autorka, 2008)

METODIKA

Sledujeme zásadní ukazatele kvality vody, které se měří každý měsíc. Způsob odebrání vzorků vychází ze standardních postupů. Mezi sledované hodnoty patří: koncentrace kyslíku, nasycení vody kyslíkem, množství amoniakálního dusíku (N-NH^{4+}), ale také bakteriální znečištění. Jednotlivé hodnoty odebíráme z 6 profilů, rovnoměrně rozmístěných podél toku - od výustě až do akumulční nádrže. Naším cílem je získání informací o vlivu vypouštěných nečištěných vod.

Místa jednotlivých měrných profilů

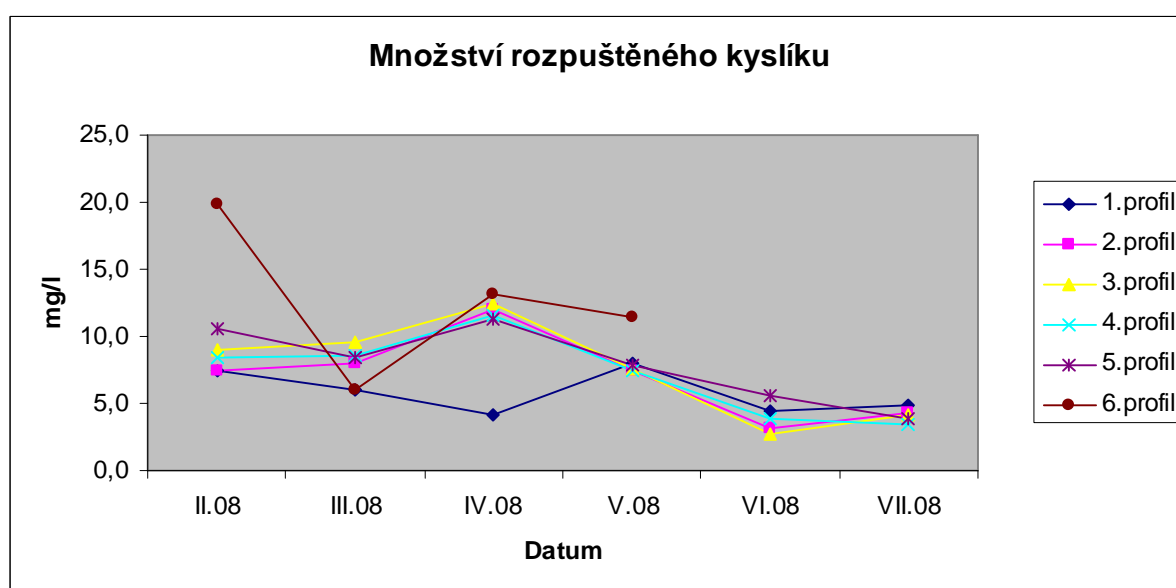


VÝSLEDKY A DISKUZE

Kyslíkové poměry ve vodním prostředí

Koncentrace kyslíku rozpuštěného ve vodě je významným indikátorem biologického znečištění povrchových vod a důležitý parametr, který určuje rozhodujícím způsobem efektivitu samočisticích procesů, zahrnujících nitrifikační i denitrifikační procesy ve vodách.

Měření se provádí přímo v terénu, za daných klimatických podmínek, pomocí oximetru (rozpustnost kyslíku ve vodě a i nasycení vody je úměrné teplotě vody a atmosférickému tlaku).



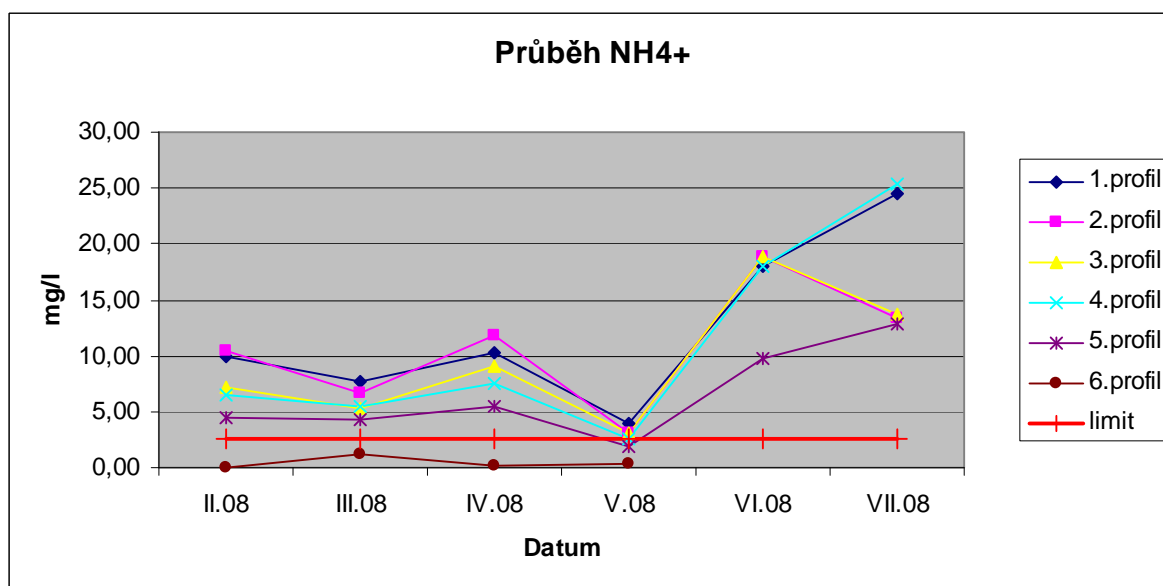
Graf 1 Množství rozpuštěného kyslíku

Průběh koncentrací kyslíku ve vodě, měřený v podélném profilu potoka, je mezi jednotlivými měsíci (měření) obdobný. Závisí také na aktuálním naředění vypouštěných splaškových vod. Postupně po toku dochází ke zvyšování koncentrace kyslíku ve vodě.

Obsah rozpuštěného kyslíku ve vodě se vyjadřuje hmotnostní koncentrací (mg.l^{-1}). Podle koncentrace rozpuštěného kyslíku řadíme povrchové vody do tříd čistoty. Voda v zájmovém území se řadí do II. třídy – mírně znečištěná voda: “stav povrchové vody, který byl ovlivněn lidskou činností tak, že ukazatele jakosti vody dosahují hodnot, které umožňují existenci bohatého, vyváženého a udržitelného ekosystému“.

Amoniakální dusík

Amoniakální dusík (N-NH^{4+}) se vyskytuje téměř ve všech typech vod. Je indikátorem splaškových vod. Velký podíl na výskytu tohoto ukazatele jsou splachy ze zemědělsky obhospodařované půdy (hnojené N-hnojivy). Je nezbytný pro tvorbu nové biomasy mikroorganismu.



Graf 2 Průběh NH⁴⁺

Se vzdáleností od výusti odpadní vody z obce se množství amoniakálního dusíku snižuje. Tato skutečnost právě souvisí s nitrifikací probíhající ve vodním prostředí, s provzdušňováním vody (proto i zvyšování koncentrace kyslíku ve vodě). V letních měsících se koncentrace zvyšovaly. Profily č.2 a č.3 dosahovaly v letních měsících stejných hodnot, podobně tak i první a čtvrtý profil. Množství N-NH⁴⁺ v nádrži vyhovuje platným předpisům.

Bakteriální znečištění

Mikrobiologický rozbor vody je založen na sledování možného výskytu bakterií s možným patogenním vlivem na člověka. Mezi základní stanovované organismy patří *Escherichia coli*, termotolerantní koliformní bakterie, enterokoky a klostridia.

Escherichia coli upřesňuje znečištění fekálního charakteru, koliformní bakterie signalizují nedostatečnou úpravu a její dodatečnou kontaminaci při distribuci, enterokoky jsou považovány za citlivý údaj, protože se ve vodě nemnoží a nejsou rezistentní a indikují tak čerstvé fekální znečištění.

Datum odběru	Označení vzorku	Enterokoky	Escherichia coli	Termot.kolif.b.
		KTJ/1 ml	KTJ/1 ml	KTJ/1 ml
14.4.2008	Želeč 1	30	100	300
14.4.2008	Želeč 5	40	2	2
15.7.2008	Želeč 1	100	4570	5030
15.7.2008	Želeč 5	370	440	530
16.7.2008	Želeč 6	2	1	2

Tab.č. 1 Bakteriální znečištění

Vzorky na bakterie se odebírají čtyřikrát do roka a to z profilu č.1, přímo pod výustí a z 5. profilu, což je profil přibližně 250 m nad nádrží. Vzorky z nádrže byly odebrány jen jednou, pro informaci, zda hodnoty vyhovují limitům koupacích vod.

Limit pro koupací vody u Enterokoků je 1 KTJ/ml. Dle našeho rozboru ze vzorku z nádrže byla zjištěna hodnota 2 KTJ/ml, což neodpovídá požadavkům u koupacích vod, nicméně v obecných požadavcích na odpadní vody ano, zde je hranice C_{90} 20 KTJ/ml.

Escherichia coli podle legislativy má kritickou hodnotu 3 KTJ/ml, náš výsledek je 1 KTJ/ml.

Obecný požadavek na tento ukazatel není.

Termotolerantní koliformní bakterie nemají požadavek pro užívání vody ke koupáním, ale v obecných požadavcích je C_{90} 40 KTJ/ml.

Tento požadavek naše vzorky splňují.

ZÁVĚR

Výzkum doposud prokázal, že znečištěná voda, která teče v Želečském potoku a ústí do akumulární nádrže splňuje podmínky pro koupací vody. Voda, která urazí necelých 2,5 km, má díky charakteru koryta, jež se projevuje poměrně vysokou samočisticí schopností, a díky tomu, že dále již nedochází k zaústění jiných znečištěných vod, poměrně vyhovující jakost a neoficiální využití nádrže pro koupací účely je možné. Do budoucna je však nutné řešit čištění vod například ČOV z obce Želeč, což sníží rizikovost využití nádrže pro koupání. Situace bude podrobně zhodnocena v diplomové práci až po provedení všech odběrů. Diplomová práce je zpracovávána ve spolupráci s VÚV T.G.Masaryka v.v.i v Brně, s podporou výzkumného záměru MZP0002071101

LITERATURA

Malý, J.: Chemie a technologie vody. 1. vyd., Brno: VUT Brno 1993, 140 s. ISBN: 80-214-0507-4.

Pitter, P.: Hydrochemie, Praha: Nakladatelství technické literatury, 1990, 565 s. ISBN: 80-03-00525-6

www.zelec.cz

ČSN 75 7221

Nařízení vlády č.229/2007 Sb.

Fotodokumentace (foto: autorka, 2008) :



Obr.č.4 Výust' kanalizace



Obr.č.5 Toaletní papír a zbytky ze
splaškové vody



Obr.č.6 Akumulační nádrž



Obr.č.7 Posezení u nádrže

WETLAND PLANTS AND THEIR USAGE IN CONSTRUCTED WETLANDS

MOČIARNE RASTLINY A ICH VYUŽITIE VO VEGETAČNÝCH ČISTIARŇACH

Fuska J., Húska D.

Department of Landscape Engineering, Horticulture and Landscape Engineering Faculty, Slovak University of Agriculture in Nitra, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

E-mail: fuska.jakub@gmail.com, dusan.huska@uniag.sk

ABSTRACT

The use of Constructed Wetlands to treat wastewater is a rapidly emerging as a viable alternative to common treatment facilities. They can be used for treatment of wastewater produced in households, citizen buildings, smaller villages, and for secondary treatment after primary treatment (mechanical or chemical). Treatment processes are similar to natural environment self-treatment processes. For treatment purposes in constructed wetland can be used a variety of wetland plants. In European condition the most used are *Schoenoplectus lacustris*, *Phragmites australis* and *Typha latifolia*. Constructed wetland systems offer several potential advantages as a wastewater treatment process. These advantages include simple operation and maintenance, process stability under varying environmental conditions, lower construction and operating costs. The study deals with the performance of the constructed wetland and also the effectiveness of plant species.

Key words: constructed wetland, wetland plants, bulrush, reed, cattail, *Schoenoplectus lacustris*, *Phragmites australis*, *Typha latifolia*, effectivity of constructed wetland

Acknowledgments: tento článok je napojený na projekt VEGA 1/0702/08 – Sedimenty v krajinnom prostredí.

ÚVOD

Tento článok bol vytvorený za účelom základného oboznámenia s koreňovými čistiarnami a rastlinami používanými v nich.

Vegetačné koreňové čistiarne nachádzajú uplatnenie hlavne pri:

- čistení splaškových odpadových vôd jednotlivých domov
- čistení splaškových odpadových vôd hotelov, rekreačných zariadení a letných táborov
- čistení a dočistení splaškových vôd menších obcí
- dočistení odpadových vôd pri ich situovaní za malými mechanicko-biologickými čistiarnami
- čistení odpadových vôd zo školských zariadení, rôznych sociálnych ústavov a pod.
- čistení odpadových vôd z malých priemyselných závodov
- dočistení znečistených povrchových vôd
- čistení filtrátu vody zo skládok komunálneho odpadu
- čistení organických nízkozaťažovaných poľnohospodárskych odpadových vôd

Podmienečne vhodné sú pre obce s počtom obyvateľov nad 1500 EO, v ktorých je zastúpená priemyselná a živnostenská sféra výrazne ovplyvňujúca skladbu odpadových vôd z obce.

Vegetačné koreňové čistiarne sú nevhodné resp. nepoužiteľné pri:

- vysokom obsahu organického znečistenia a zvýšenom výskyte amoniaku, tukov a olejov, toxických látok
- extrémne kyslých, zásaditých a silne mineralizovaných odpadových vodách
- nedostatku vhodných plôch a v klimatických nevhodných polohách
- čistení odpadových vôd zo stredných a veľkých obcí.

(Karvašová, 2008)

Princíp čistenia

Podľa Kouřila (2006) je princíp čistenia v koreňovej čistiarni veľmi pomalá filtrácia odpadovej vody priepustným štrkovým lôžkom, ktoré je osadené druhmi hlbokokoreniacich vodných rastlín. K čisteniu sú využívané prirodzené, bežne v prírode sa vyskytujúce samočistiace procesy, ktoré prebiehajú v pôdnom, vodnom a mokradňom prostredí. Vegetácia sa podieľa priamo na čistiacom procese hlavne tvorbou priaznivých podmienok pre rozvoj mikroorganizmov a súčasným využívaním uvoľnených rastlinných živín, predovšetkým dusíka, fosforu, a draslíka k tvorbe biomasy.

MATERIÁL A METODIKA

Použiteľné druhy

Rastliny používané vo vegetačných čistiarnach by mali vo všeobecnosti spĺňať nasledovné požiadavky:

- Vo všeobecnosti sa používajú rastliny brehové, ktoré odolávajú výške vodného stĺpca od 15 do 60cm
 - Koreňový systém rastlín by mal byť silný a zdravý, vyvíjajúci sa laterálne aj vertikálne. S rastúcou dĺžkou koreňovej sústavy vo vertikálnom smere sa zlepšuje prenikanie kyslíku do inak anaeróbnej koreňovej zóny
 - Rastliny by mali byť schopné rýchlej reprodukcie a vyplnenia priestoru
 - Rastliny by mali byť podľa možnosti dostupné z miestnych zdrojov
- (Campbell, 1999)

Repozičné rastliny

Podľa Karvašovej (2008) sú do skupiny repozičných rastlín zaradené rastliny, ktoré majú schopnosti upraviť vzťahy v životnom prostredí narušené antropickou činnosťou. Medzi ich schopnosti patria ochranné funkcie pobreží zabraňovaním erózie a zachytávaním sedimentov alebo retencia vody na väčších plochách. Repozičné rastliny aplikovateľné pre čistenie vôd sú močiarné rastliny (helofyty) a vodné rastliny (hydrofyty).

Repozičné rastliny sú byliny alebo dreviny, ktoré sa používajú na rekultiváciu alebo revitalizáciu. Pojem vznikol z latinského slova „reponere“ – znovu zriadiť. Sú krajiny, v ktorých sú uprednostňované dreviny pred bylinami (sever Poľska, juh Švédska, Fínska, Dánsko). Dôvodom uprednostnenia je možnosť využitia rastlín pre energetické účely ako palivo (požívaná napr. vrba)

Davis (1995) uvádza ako odporúčané druhy *Peltandra virginica*, *Sagittaria latifolia*, *Scirpus pungens*, *Scirpus validus*, *Iris versicolor*, *Typha latifolia*, *Typha angustifolia*, *Phalaris arundinocea*, *Saururus cernuus*, *Pontedaria cordata*, *Phragmites australis*, *Juncus effusus*, *Eleocharis palustris*, *Carex* spp., *Nuphar luteum*, *Acorus calamus* a *Zizania aquatica*

Škripinec jazerný — *Schoenoplectus lacustris*

Popis: Statná, vytrvalá rastlina s hrubým plazivým, článkovaným rizómom. Koncový kužeľ sa rozvetvuje, vajcovité zlatohnedé klásky sú v zväzkoch alebo jednotlivo. Kvitne od júna do októbra. (Hartman, 1998)

Rastliny sa vyskytujú vo vnútrozemí, ale aj v brehových porastoch mokradí. Škripince sú schopné odoberať dusík a tolerujú pomerne široké rozmedzie pH. Koreňový systém je schopný prenikať do hĺbky 75 až 100 cm. Dorastá do dĺžky 80-300cm.

Škripinec bol použitý v prvej vegetačnej čistiarni zostrojenej pre vedecké účely. Výsledky výskumu dokázali jeho schopnosť odstrániť fenoly, patogénne baktérie a iné polutanty. (Campbell, 1999)

Trstina obyčajná - *Phragmites australis*

Popis: Statná a vysoká vytrvalá šedo-zelená tráva, má plazivý dlhý rizóm s hrubými výhonkami. Steblá sú priame, pevné, hladké, listy široké, kopijovité, drsné sivozelené. Steblo je zakončené bohatou vetvenou metlinou hnedofialových kvetov. Produkcia semien je nepatrná. Kvitne od júna do októbra. Rozmnožuje sa prevažne plazivými rizómami. (Hartman, 1998)

Trstina je známa ako kozmopolitná rastlina. Sú známe viaceré druhy viaceré variety trstiny. Botanicky patrí trstina do čeľade Poaceae, podčeľade Arundinoideae. V prirodzených

podmienkach je mimoriadne úspešným druhom. Pri svojej výške až 4m, a na druhej strane hrúbke necelý centimeter, dosahuje fenomenálnu stabilitu vďaka obsahu kyseliny kremičitej. Táto vlastnosť je súčasne mimoriadne účinná ochrana pred nadmerným spásaním. Trstina, ktorá často tvorí v prirodzených podmienkach prednú líniu pobrežnej vegetácie, musí čeliť náporu vetra a vlnobitia. Zaťaženie stoniek je vysoké hlavne v neskorších letných mesiacoch v období dozrievania metlín so semenami. (Reichholf, 1998).

Porasty trstiny sú vo vegetačných čistiarniach v porovnaní s prirodzenými stanovišťami citlivejšie, pretože pri dobrom zásobovaní dusíkom veľmi rýchlo rastú a vytvárajú len nízku pevnosť stebľa. V apríli a máji by sa nemalo vôbec vstupovať do porastu, pretože nové výhonky po poškodení prestávajú rásť. Pri vysokej hladine vody v zariadení hrozí zahŕňvanie rizómov, spôsobené vnikaním vody cez ich poškodené stebľa do ich vzdušných pletív.

Trst' dokáže transportovať do koreňov také množstvo kyslíka, že časť z neho môže byť odovzdaná aj do blízkeho okolia. V minulosti sa predpokladalo, že prísun kyslíka do pôdy koreňmi helofytov je taký vysoký, že je schopný podstatne zlepšiť aeróbne rozkladacie procesy v koreňovej zóne. Pozorovania však preukázali, že prísun kyslíka koreňmi rastlín je druhoradý. Najdôležitejším prínosom rastlín je vytvorenie vhodných podmienok na činnosť baktérií eliminujúcich znečistenie. (Karvašová, 2008)

Existuje viacero názorov na rozsah prívodu kyslíka do substrátu prostredníctvom rizómov trstiny. Karvašová (2008) uvádza prísun kyslíka v rozmedzí $5-12\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$, pričom toto množstvo sa môže zvýšiť mechanickým pôsobením koreňov v substráte a zvýšeným príjmom vody.

Trstina je schopná vertikálnym a horizontálnym rastom rizómov prerastať substrátom až do hĺbky 1,5 metra. Pomer podzemnej biomasy k nadzemným orgánom (stebľám a listom) je 3:1. Úplné prerastanie celého profilu substrátu je možné len za predpokladu, že trstina je nútená dosahovať nasýtenú zónu substrátu. Z toho vyplýva, že voda udržiavaná na najvyšších úrovniach zabraňuje prerastaniu celého substrátu. (Bahlo, Wach, 1992).

Karvašová (2008) uvádza, že výskumy hustého porastu trstiny preukázali počas vegetačného obdobia hodnoty transpirácie $800-1000\text{ l m}^{-2}$. V našich zemepisných šírkach sú to hodnoty ležiace nad hodnotou ročných zrážok.

Pálka širokolistá – *Typha latifolia*

Popis: Vytrvalá bažinná rastlina s hrubým plazivým rizómom a oblou stonkou. Listy má šedozelené, široko čiarkovité. Kvetná palica je hnedočierna. Kvitne od júla do augusta. (Hartman, 1998)

Pálka je medzi helofytmi výnimkou pokiaľ hovoríme o bezproblémovom generatívnom rozmnožovaní aj v prirodzených podmienkach. Aj preto je bez námietok zaradovaná medzi pionierske druhy, avšak voči pôdnym podmienkam vykazuje len úzku ekologickú amplitúdu. Na vlhkých pôdach bez porastu sa dokáže vysemeniť až na tisíce, klíčiť a rýchlo rásť. Týmto spôsobom sa môžu pri dostatočnej vlhkosti tvoriť rýchlo zapojené porasty. Pri nízkej vlhkosti, ktorá je pri dočasnom suchu v ílovitých pôdach dosahovaná rýchlejšie ako v piesčitých, môže zasa celý porast zlyhať. V konkurencii s trstinami alebo so škripincom je plytko koreniaca pálka vytláčaná. (Wissing, 2002)

Karvašová (2008) uvádza, že pálka vykazuje vysoký prísun kyslíka do koreňovej zóny. Dlhé rizómy pálky bohaté na škrob, sú relatívne krátko žijúce a citlivé voči mechanickému tlaku a suchu. Opadnutie porastu po vegetačnom období môže viesť k sekundárnemu znečisteniu.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Gersberg a i. (1984) pojednáva o schopnostiach močiarnych rastlín. V roku 1983 bol realizovaný výskum schopností močiarnych druhov rastlín odčerpávať ťažké kovy z vôd. Pri druhu *Scirpus* boli zistené mimoriadne zaujímavé výsledky. V rámci výskumu boli dve plochy s výsadbou rastlín obohatené o dávky zinku a kadmia na úroveň $11,28\text{mg.l}^{-1}$ pre zinok a $0,532\text{ mg.l}^{-1}$ pre kadmium (prítok vody $4,7\text{cm/deň}$). Od začiatku výskumu v júni 1983 do júla roku 1984 poklesla úroveň zinku na úroveň $0,3728\text{mg.l}^{-1}$, čo predstavuje zníženie pôvodnej úrovne o 97% a kadmia na $0,00428\text{mg.l}^{-1}$, čo predstavuje zníženie pôvodnej úrovne o 99%.

Príklad koreňovej čistiarene: Koreňová čistiareň v Hontianskych Moravciach (okres Krupina, Banskobystrický kraj)

Čistiareň v súčasnosti vykazuje poškodenie a obmedzenú funkčnosť. Tento stav je zapríčinený nesprávnym prevádzkovaním a nedostatočnou starostlivosťou o porast hlavne v oblasti boja proti burinám. V dôsledku zlého stavu je v súčasnosti pole A mimo prevádzky a porast je poškodený vo veľkej miere, čo je badateľné na prvý pohľad na mieste aj zo satelitných snímok.

Tab. 1: Prehľad charakteristik čistiarene v Hontianskych Moravciach

priemerný denný prietok v l/s	podľa projektu $25,0\text{ m}^3/\text{deň} = 0,29\text{ l/s}$
látkové zloženie BSK ₅ v kg/deň	podľa projektu $13,5\text{ kg/deň}$
BSK ₅ na odtoku	$7,0\text{ mg/l}$
Stoková sieť	Tlaková stoková sieť v obci
počet EO podľa projektu /skutočnosť	500 EO /500 EO
počet filtračných polí	2
plocha jednotlivých filtračných polí v m ²	pole 1 – $24 \times 28\text{ m} = 672\text{ m}^2$ pole 2 – $24 \times 28\text{ m} = 672\text{ m}^2$
druh vegetácie	Trstina obyčajná
prevádzka	celoročná
nadmorská výška	156 m.n.m.
priemerná ročná teplota lokality	$8,5\text{ °C}$
druh a názov recipientu	Veperecký potok
účinnosť čistenia v %	90 %
stupeň čistenia	Sekundárny stupeň

výskyt chránených území v lokalite	nie
výskyt chránených vodohospodárskych území v lokalite	nie
výskyt pásiem hygienickej ochrany podzemných vôd a povrchových vôd v lokalite	nie
výskyt ochranných pásiem prírodných liečivých zdrojov a minerálnych stolových vôd	združené 2. a 3. pásmo, 1. ochr.pásmo – Dudince 3 km
existencia vodovodu v obci	áno
rok realizácie	1994
finančné náklady na realizáciu	1,2 mil Sk
spokojnosť užívateľa s VKČOV	užívateľ je spokojný, hlavne z hľadiska minimálnej obsluhy a minimálnej finančnej náročnosti, raz za dva roky vyberú usadeniny zo septika (veľkosť septika 160 m ³ , trojstupňový), uzáver na prepúšťanie vody zo septika na polia - v súčasnosti poškodený – púšťá iba na pole B, pole A je suché okrem dažďovej vody – následok: takmer vyhynutá trstina
zdroj informácií	OcÚ Hontianske Moravce

Obr. 1: Poškodené pole „A“ čistiarne Hontianske Moravce – fotografia zhotovená na mieste



Obr. 1: Poškodené pole „A“ čistiarne Hontianske Moravce – satelitná snímka



Poznámka: Červená – Pole „A“; Zelená – Pole „B“

ZÁVER

Koreňové čistiarne majú svoje opodstatnenie v procese čistenia vôd. Schopnosti močiarnych rastlín v kombinácii s ich prístupnosťou v mieste lokalizácie čistiarne poskytujú mimoriadne vysoké kapacity k odoberaniu látok z čistenej vody. Ich nízke zriaďovacie náklady, čistiace schopnosti a pomerne jednoduché prevádzkovanie a údržba robia z vegetačných čistiarní tvoria vhodnú alternatívu čistenia vody pre domácnosti a menšie obce. Ako vyplýva z praktického príkladu, aj vegetačné čistiarne vyžadujú starostlivosť pre ich správnu funkčnosť a efektívnu prevádzku.

LITERATURA

CAMPBELL, C. S. a i. (1999): Constructed wetlands in the sustainable Landscape. New York: John Wiley & sons 1999, 288 s. ISBN 0-471-10720-4

DAVIS, L. (1995): A handbook of constructed wetlands: a guide to creating wetlands for: agricultural wastewater, domestic wastewater, coal mine drainage, stormwater in the Mid-Atlantic Region, Volume 1. Washington DC: U.S. Govt. Print. Off. 1995. ISBN 16-052999-9

GERSBERG, R. M. a i. (1984): The removal of heavy metals by artificial wetlands. In Future of Water Reuse, Volume 2, Proceedings of Symposium III Water Reuse, AWWA Research Foundation, s. 641

HARTMAN, P. a i. (1998): Hydrobiologie. Praha: Informatorium 1998. 359 s. ISBN 80-86073-27-0

KARVAŠOVÁ, L. (2008): Riešenie extenzívneho čistenia odpadových vôd vo vidieckych oblastiach vegetačnými čistiarnami: diplomová práca. Nitra: SPU, 2008.

KOUŘIL, M. (2006): Kořenové čistírny : alternativní způsob nakládání s odpadními vodami (informační brožura pro obce, soukromníky a zemědělce). České Budějovice: Attavena 2006. 24 s. ISBN 80-86778-22-3 (brož.)

REICHHOLF, J. (1998): Mokrade - sprievodca prírodou. Bratislava: Ikar 1998. ISBN 80-7118-505-1

VYMAZAL, J. (1998): Constructed wetlands for wastewater treatment in europe. Leiden: Backhuys publishers 1998. 366 s. ISBN 90-73348-72-2

WISSING, F. (2002): Wasserreinigung mit Pflanzen, 2. vydanie. Stuttgart: Ulmer 2002. ISBN 978-3-8001-3211-9

EROSION MODEL IN THE WIND EROSION PREDICTION SYSTEM

ERÓZNY MODEL V SYSTÉME PROGNÓZY VETERNEJ ERÓZIE

Grešová L., Stred'anský J.

Department of Landscape Planning and Ground Design, Horticulture and Landscape Engineering Faculty, Slovak University of Agriculture in Nitra, Hospodárska 7, 94901 Nitra, Slovakia

E-mail: lenka.gresova@gmail.com, jozef.stredansky@uniag.sk

ABSTRACT

Wind erosion is a serious problem on agricultural lands throughout the Slovakia as well as the world. The ability to accurately predict soil loss by wind is essential for, among other things, conservation planning, natural resource inventories, and reducing air pollution from wind blown sources. The wind erosion prediction system is designed to simulate soil loss by wind from cultivated fields by simulating weather and field conditions (Wagner, 1997). WEPS is process / based, continuous, daily time step model that simulates weather, field conditions and erosion by wind. It has the capability of simulating spatial and temporal variability of a field's soil, crop, and residue conditions and soil loss/deposition within a field. The objective of this work was to description of EROSION submodel, which simulates the components of soil loss/deposition over a rectangular field in response to wind speed, wind direction, field orientation, and surface conditions, on a sub / hourly basis. The erosion submodel calculates total, suspension, and PM – 10 soil loss/deposition at each grid cell in the field. The grid cell data are summarized in other parts of WEPS and reported to users as averages over the field for selected periods. There latter outputs are useful for evaluating off-site impacts in any given direction from the eroding field. The work is the extract of the User manual for WEPS 1.0 published by USDA-ARS Wind Erosion Research Unit, Manhattan Kansas, USA, February 2008.

Key words: wind erosion, wind erosion prediction system, erosion model,

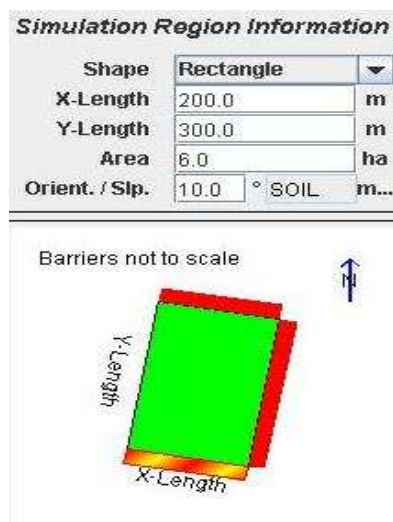
Acknowledgments: **napojenie príspevku na projekty VEGA (1/4412/07 – Integrované hodnotenie vybraných faktorov ovplyvňujúcich návrh všeobecných zásad funkčného usporiadania územia projektov komplexných pozemkových úprav 9, 1/4404/07 – Vplyv erózných procesov na zmenu organizácie poľnohospodárskej krajiny**

ÚVOD

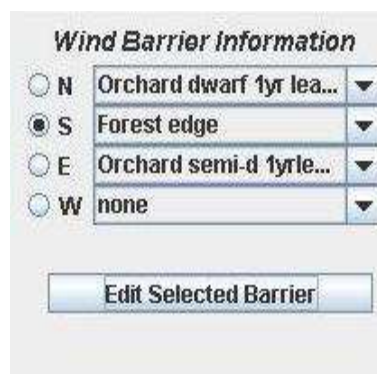
Veterná erózia je vážnym problémom na poľnohospodárskej pôde rovnako na Slovensku ako aj všade na svete. Schopnosť presne predvídať stratu pôdy vetrom je dôležité najmä z hľadiska plánovania ochrany krajiny, zásob prírodných zdrojov a redukcie znečistenia vzduchu z veterných zdrojov. USDA- Poľnohospodársky výskumný ústav (ARS) je vedúcou agentúrou na rozvoj WEPS modelu (Wind erosion prediction system – Systém prognózy veternej erózie) ARS je zodpovedný za vyvinutie vedeckého modelu. Systém prognózy veternej erózie (WEPS) je chod súvislých procesov, model časových krokov ktorý simuluje vietor, pôdne podmienky a eróziu. Má taktiež schopnosť simulovať časovú a priestorovú variabilitu pôdnych podmienok a straty pôdy na pôdnom celku. Dokáže simulovať komplexné pôdne tvary, bariéry, ktoré nie sú súčasťou hraníc pozemkov a komplexnej topografie. Saltácia, prevaľovanie, vznášanie a PM10 čiastočky erodovaných materiálov môžu byť individuálne zosumarizované v oblasti WEPS. WEPS je pôvodne navrhnutý na využitie v rôznych amerických podmienkach, ale jednoducho sa dá využiť aj v iných častiach sveta. WEPS dovoľuje užívateľovi vložiť vlastné dáta alebo použiť predtým pripravené databázové súbory. Systém prognózy veternej erózie (WEPS) je denným simulačným modelom, ktorého výstupom je priemerná strata pôdy a nánosy pôdy pre zvolené územie v čase. Je to aplikovateľné na jeden pôdny celok alebo sa dá aplikovať na niekoľko hraničiacich pôdnych celkov. Štruktúra WEPS pozostáva z prepojenia užívateľa, hlavného (MAIN) dohliadajúceho programu, siedmich submodelov a štyroch databáz. V tejto práci sa zaoberáme jedným zo siedmich submodelov a to Eróznym. Predmetom Erózneho submodelu je simulovať zložky pôdnej straty/zisku na obdĺžnikovom pôdnom celku účinkom rýchlosti vetra, smeru vetra, orientácie pôdneho celku a stavu povrchu na subhodinovej báze. Táto práca je výňatkou z užívateľského manuálu WEPS 1.0 (USDA-ARS, Wind Erosion Research Unit, Manhattan, Kansas, USA, február 2008).

MATERIÁL A METÓDY

Jednou z prvých úloh na začiatku novej simulácie je popísať simulovaný pôdny celok a všetky prítomné bariéry.



Obr. 1. Informácie o simulovanom pôdnom celku



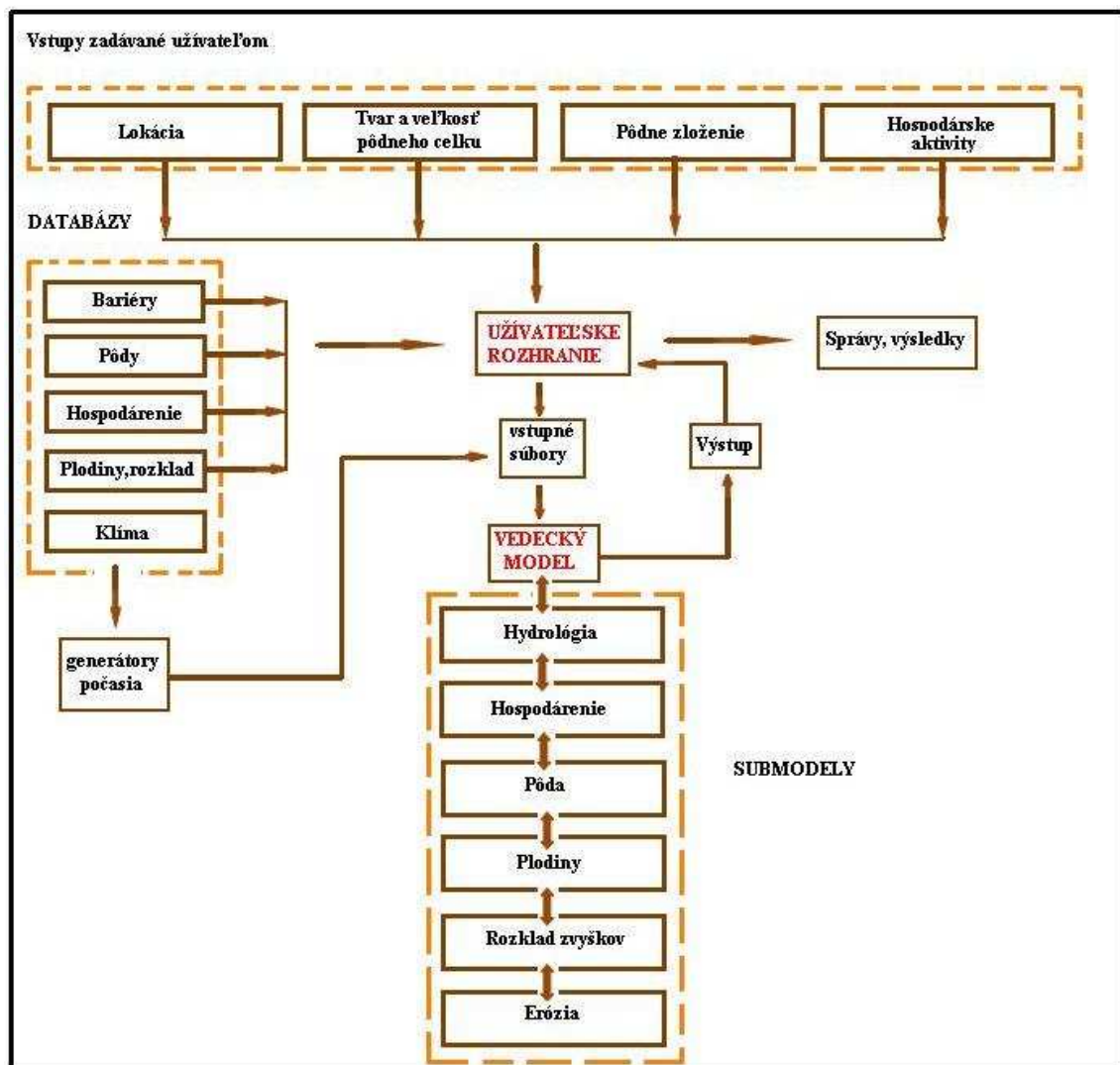
Obr. 2. Informácie o veterných bariérach

Štruktúra WEPS pozostáva z prepojenia užívateľa, hlavného(MAIN) dohliadajúceho programu, siedmych submodelov a štyroch databáz. Väčšina submodelov v rámci WEPS používajú denné meteorologické predpovede (zo submodelu klimatických podmienok) ako prírodnú hnaciu silu fyzikálnych procesov, ktoré menia pôdne podmienky. Sedem submodelov modelov WEPS, každý založený na základných procesov, ktoré sa objavujú na pôdnych celkoch sa využívajú na predpovede a odhady veternej erózie.

Submodely:

Klimatické podmienky, Rast plodín, Rozklad rastlinných zvyškov, Hydrológia, Pôde podmienky, Erózia (Sila vetra sa využíva na fungovanie erózneho submodelu), Hospodárenie

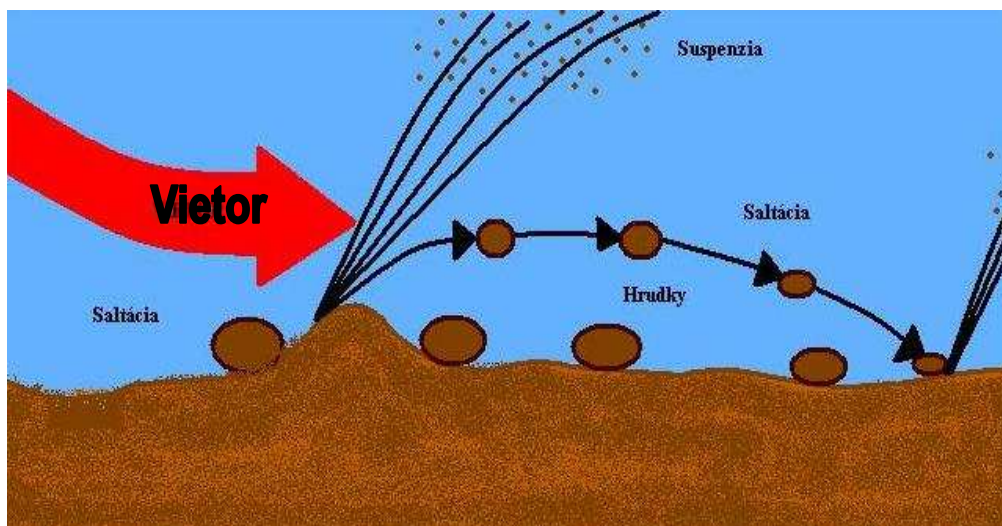
Digitálna Štruktúra WEPS



(USDA-ARS, 2008)

VÝSLEDKY A DISKUSIA

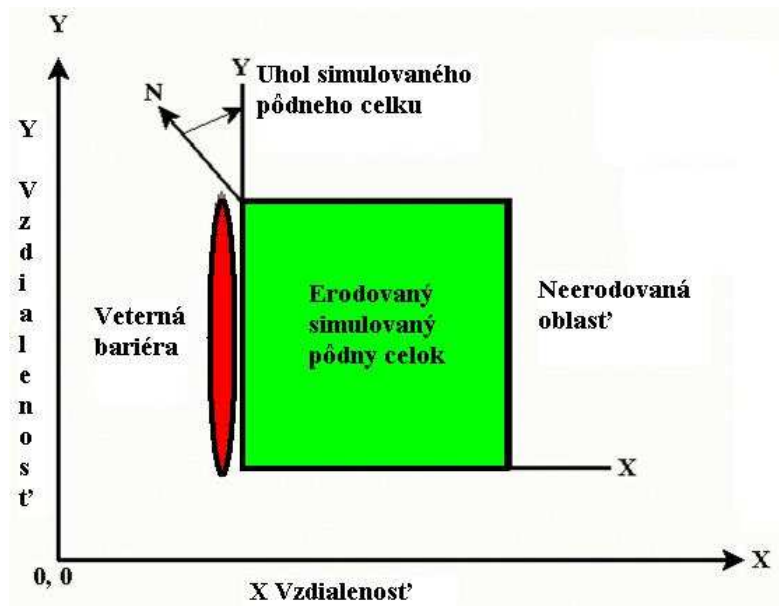
V skutočnosti pôdne celky nie sú homogénne, takže užívateľ si vyberie dominantný – kritický (spôsobujúci najväčšiu eróziu) stav pôdy alebo plodiny na simuláciu. Predmetom Erózneho submodelu je simulovať zložky pôdnej straty/zisku na obdĺžnikovom pôdnom celku účinkom rýchlosti vetra, smeru vetra, orientácie pôdneho celku a stavu povrchu, na subhodinovej báze. Bariéry môžu byť umiestnené na všetkých alebo na žiadnej z hraníc pôdneho celku. Ak sú bariéry prítomné, rýchlosť vetra sa znižuje v chránených častiach na oboch náveterných aj záveterných stranách bariér. Submodel predpokladá, že prah intenzity erózneho trenia môže začať pri akýchkoľvek povrchových podmienkach. Keď rýchlosť vetra presiahne prah, submodel ráta stratou alebo ziskom nános pôdy na skupine všetkých individuálnych rastrových buniek zastúpených na pôdnom celku. Strata pôdy je rozdelená podľa kategórií odosu váňaním, skokmi a vznášaním, pretože každá má osobitý transportný mód, ako aj mimo územný dopad.



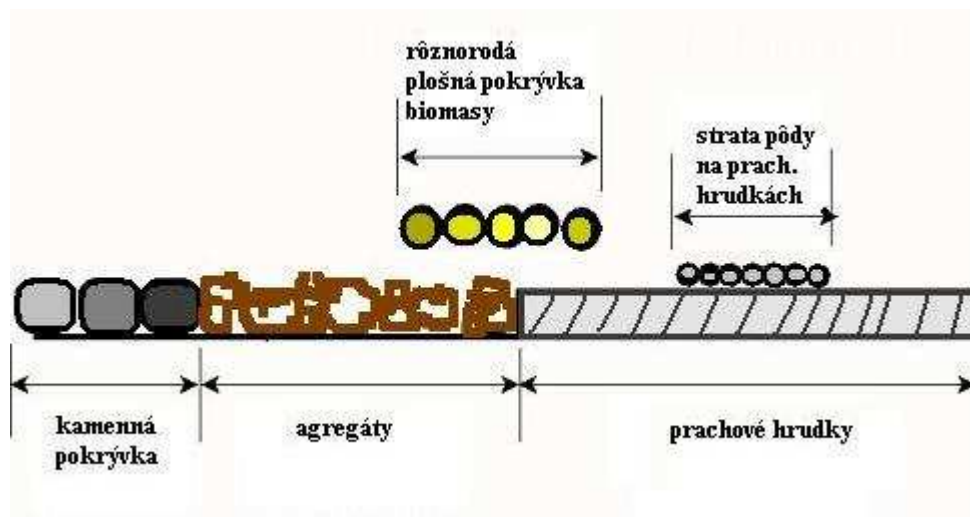
Obr. 4. Transportné módy veternej erózie: váľanie po povrchu, saltácia a suspensia. (USDA, SCS, 1989)

Povrch pôdneho celku je periodicky aktualizovaný počas erózneho javu na simulovanie povrchových zmien spôsobených eróziou. Aktualizácia povrchu počas erózneho javu zahŕňa zmeny distribúcie agregátnych zhlukov na povrchu, keďže najjemnejšie čiastočky sú odstraňované, drsné brázdy sú vyhladzované a ryhy sú vyplňané eróznym materiálom.

SUBMODEL ERÓZIE

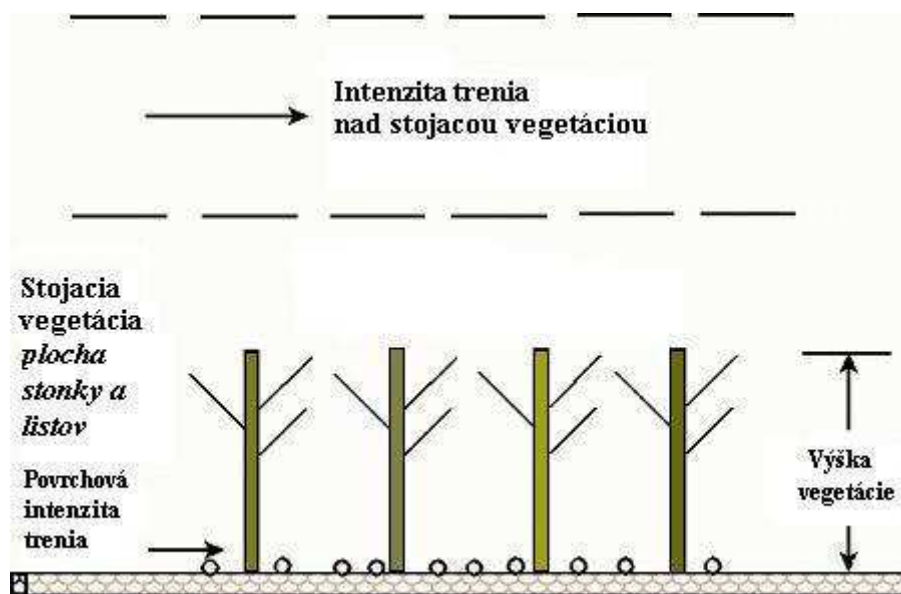


Obr. 5. Schematická konfigurácia simulovanej oblasti. Orientácia pôdneho celku, koncové body bariér, protiľahlé rohy obdĺžnikovej simulovanej oblasti sú vstupom do erózneho submodelu. (USDA-ARS, 2008)



Obr. 6. Parametre popisujúce pôdne podmienky na povrchu pôdy vstupujúce do erózneho submodelu. (USDA-ARS, 2008)

Povrchová drsnosť je zložená z cielenej a náhodnej drsnosti. Použité parametre sú štandardnou odchýlkou výšky povrchu pre náhodnú drsnosť a výšky, šírky vrcholu brázd a umiestnenia brázd pre cieľnú drsnosť. Povrchová pokrývka je znázornená v troch stupňoch. V prvom stupni, kamene, agregáty a hrudky zaberajú 100 percent povrchu. V druhom stupni, parametrom je frakcia hrudiek na povrchu pokrytá kyprou, erodovateľnou pôdou. Ak sa tam hrudky nenachádzajú tento parameter je vždy nulový. V treťom stupni, parametrom je frakcia celkového povrchu pokrytá plošnou, rôznorodou biomasou. Hustota a veľkosť agregátov sú pôdne parametre, ktoré udávajú pôdnu mobilitu. Suchá mechanická stabilita hrudiek je vstupným parametrom, ktorý indikuje ich odolnosť k abrázii vplyvom erodujúcej pôdy. Povrchová vlhkosť je tiež vstupom používaným na nárast prahu intenzity trenia, pri ktorom erózia začína.

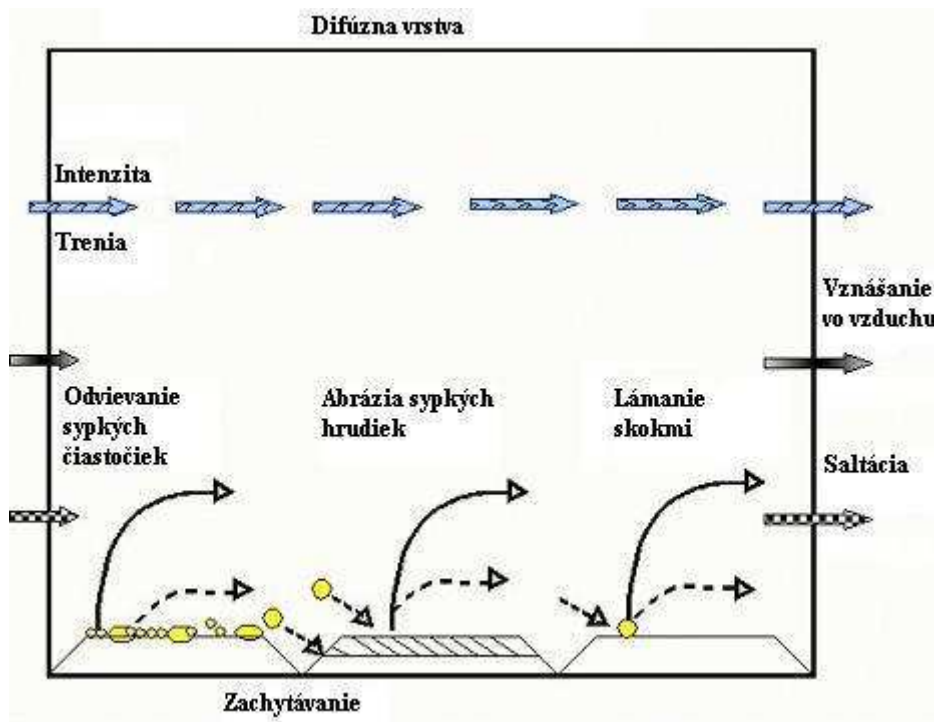


Obr. 7. Intenzita trenia nad stojacou vegetáciou, ktorá je redukovaná o intenzitu trenia pod stojacou vegetáciou. (USDA-ARS, 2008)

Rovnomerne usporiadaná stojacia vegetácia je 5 až 10 krát viac efektívnejšia v zamedzovaní veternej erózie ako plochá vegetácia, a preto stojacia vegetácia sa spracováva zvlášť. Intenzita trenia vetra nad stojacou vegetáciou je redukovaná o plochu listov a stoniek, aby získala intenzitu trenia na povrchu, ktorá je potrebná na spustenie erózie. (Obr. 5). Listy sú predstavované indexom listovej plochy a stonky indexom plochy stonkovej siluety.

Pôdny transport počas veternej erózie sa objavuje v troch režimoch: agregáty váľajúce sa na povrchu (0,80 – 2,0 mm v priemere), agregáty pohybujúce sa skokmi (0,1-0,80 mm) v priemere a agregáty vynášajúce sa vo vzduchu (s veľkosťou menej ako 0,01 mm) v priemere. Zmeny v intenzite trenia, hustoty agregátov a nanesených sedimentov samozrejme môžu zmeniť hmotu agregátov pohybujúcich sa v určitom režime. Saltácia a váľanie po povrchu sú simulované spoločne pretože majú limitovanú kapacitu transportu,

ktorá závisí najmä na intenzite trenia a povrchovej drsnosti. Vznášanie vo vzduchu je simulované tiež ako PM10 (roztrúsené čiastočky menšie ako 10 mikrometrov v priemere), ktoré predstavujú veľké zdravotné riziko.



Obr. 8. Procesy simulované submodelom veternej erózie na holom povrchu v jednotlivých rastrových bunkách. (USDA-ARS, 2008)

Viacnásobné fyzikálne procesy erózie sú simulované v eróznom submodeli, a tieto sú ilustrované v jednotlivých rastrových bunkách v obr. 7. Dva zdroje erodujúcej pôdy sú čiastočky kyprej pôdy a útržky pôdy oddelené z hrudiek. Tieto zdroje sú rozdelené medzi váľanie po povrchu a saltáciu na báze procesov a pôdných charakteristík.

Výstupy erózneho modelu

Erózný model kalkuluje celkovú suspéznú stratu a stratu PM10 v každej rastrovej bunke na pôdnom celku. Dáta v rastrovej bunke sú sumarizované v ostatných častiach WEPS a hlásia užívateľovi priemerné hodnoty na pôdnom celku počas zvoleného obdobia. Tieto neskoršie výstupy sú užitočné na hodnotenie dopadov mimo miesta vzniku v akomkoľvek smere pre erodovaný pôdny celok.

ZÁVER

WEPS je komplexný model veternej erózie s mnohými možnosťami pre vstupy a výstupy. Iba štyri typy informácií sa zadávajú na hlavnej obrazovke: 1) popis geometrie simulovaného regiónu definovaním rozmerov a orientácie pôdneho celku, 2) výberom lokality pre ktorú generujeme simulované poveternostné podmienky, 3) výberom pôdy, a 4) výberom manažmentu. Nové vstupné súbory sa zvyčajne vytvoria z predchádzajúcich vstupných súborov ako šablóna modifikovaná v užívateľskom rozhraní. Striedaním vstupov, osobitne pôdnym manažmentom, užívateľ môže porovnať viaceré alternatívy na kontrolu pôdných strát. Interpretácia výstupov WEPS je integrálnou súčasťou využívania WEPS ako nástroja na rozvoj plánov ochrany pôdy pred veternou eróziou. WEPS bol navrhnutý ako náhrada prevládajúcej empirickej Rovnice veternej erózie ako nástroj prognózy pre tých, ktorí vytvárajú systémy protieróznej ochrany, riadia environmentálne plánovanie alebo zisťujú dopady mimo miesta vzniku zapríčinené veternou eróziou. WEPS bol navrhnutý predovšetkým na vytvorenie presnejších a detailnejších odhadov straty pôdy vetrom z poľnohospodárskej pôdy. Narastaním podielu mimo oblastných vplyvov veternej erózie na pôdu, vodu, a kvality vzduchu je schopnosť WEPS poskytovať kontrolu pôdných strát veľmi užitočná. Napríklad, strata pôdy váľaním a saltáciou (skokmi) do cestných priekop alebo do odtokových kanálov ovplyvní kvalitu vody, takže pozornosť sa musí sústreďovať do týchto smerov straty pôdy. Podobne aj strata pôdy vznášaním vo vzduchu v oblastiach s vysokou populáciou sa dá simulovať pomocou WEPS a vytvárať kontrolné stratégie.

Schopnosť oddeliť pôdne straty váľaním po povrchu, skokmi, vznášaním vo vzduchu a čiastočky PM10 je ďalším pozitívnym prínosom WEPS. Každý z týchto komponentov má špecifické charakteristiky a účinok. Váľanie a saltácia sú typicky usadené lokálne kde ovplyvňujú kvalitu vody a pôdy, zasypávajú plodiny, cesty, závlahové kanály alebo sa zachytávajú v plotoch alebo vetrolamoch. Vznášaním vo vzduchu môžu byť častice zdvihnuté do vzduchu a prenášané na veľké vzdialenosti. Tým sa spôsobuje škoda na kvalite vzduchu, vzniká riziko zdravotných ťažkostí, redukuje sa viditeľnosť pozdĺž transportných systémov. Odhady pôdných strát každého z týchto komponentov pomáhajú v hodnotení životného prostredia.

LITERATÚRA

Hagen, L.J. 1995. WEPS technical documentation: Erosion submodel. SWCS WEPP/WEPS Symposium. Ankeny, IA.

Hagen, L.J., T.M Yobeck, E.L. Skidmore, and I. Elminyaw. 1995. WEPS technical documentation: Soil submodel. SWCS WEPP/WEPS Symposium. Ankeny, IA.

Toy T.J., Foster G.R., Renard K.G. 2002. Soil erosion: Processes, prediction, measurement, and control. John Wiley & Sons, Inc.. ISBN 0-471-38369-4

USDA – ARS Wind Erosion Research Unit. 2008. The Wind Erosion Prediction system, WEPS 1.0 User manual. Kansas USA.

Woodruff, N.P and F.H. Siddoway. 1965. A wind erosion equation. Soil Sci.Soc.Am. Proc. 29(5): 602-608

THE STUDY OF OPERATIONAL, TECHNOLOGICAL AND URBANISTIC FARM CONCEPTION IN ORGANIC FARMING

STUDIE PROVOZNÍHO, TECHNICKÉHO A URBANISTICKÉHO ŘEŠENÍ FARMY EKOLOGICKÉHO ZEMĚDĚLSTVÍ

Junga P., Mareček J.

Department of Agriculture, Food and Environmental Engineering, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xjunga@mendelu.cz, marecekj@mendelu.cz

ABSTRACT

This research work focuses on the study of optimized farm conception in conditions of organic farming. Solved conception is fit mainly for submontane and mountains areas, because model farm is situated in submontane region. There is realized analyses of current conditions in the area and design of variants. In the study are designed basic operational, technological and urbanistic solutions of farm conception. There are designed three different variants of farm conception. There is important to find optimal environmentally positive solutions for farm operating, waste management, water management and maximal application of energy, building construction, materials and technology from renewable resources. The results of the study indicated individual characteristics of particular variants with their advantages, disadvantages and opportunities. Variants are mutually compared. The study is useful source of information for practical farm realization in conditions of organic farming. This study also includes the technical drawings and pictures.

Key words: farm, conception, buildings, construction, technology, organic farming, waste management, water management

Klíčová slova: farma, koncepce, stavby, konstrukce, technika, ekologické zemědělství, odpadové hospodářství, vodní hospodářství

ÚVOD

Ekologické zemědělství je iniciálním stádiem vývoje zemědělského hospodaření na cestě k udržitelnému zemědělství. Ekologické zemědělství se nachází ve fázi vývoje a zdokonalování systémů. Lze očekávat, že v následujících letech bude pokračovat trend rozvoje ekologického zemědělství, zejména v oblasti zdokonalování produkčních systémů, standardů i dalšího růstu trhu s ekologickými výrobky. Ve své práci se snažím o zhodnocení získaných poznatků o koncepci stávajících ekologicky hospodařících farem ve vyšších výrobních oblastech ČR s následnou aplikací těchto poznatků. Cílem práce je návrh dvou až tří variant optimalizované koncepce základního provozně - technologického, urbanistického, dispozičního a technického řešení areálu modelové farmy ekologického zemědělství pro podhorské a horské oblasti, s důrazem na environmentálně příznivá řešení.

MATERIÁL A METODIKA

Jako vstupní materiál je využito informačních zdrojů o řešené problematice a technických a technologických podkladů o provozu řešené farmy. Vstupní materiál je analyzován a následně jsou získané skutečnosti aplikovány při návrhu jednotlivých variant optimalizované koncepce. Je navržena metodika řešení, skládající se z návrhu provozního řešení a technologických výpočtů, návrhu zastavovací situace, dispozičního a technického řešení, posouzení variant z hlediska vlivu na životní prostředí. Je provedeno vzájemné srovnání a zhodnocení jednotlivých variant.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Jsou určeny společné charakteristiky, které se uplatnily při návrhu všech tří variant. Jedná se o tyto charakteristiky:

- převládající kulturou jsou trvalé travní porosty, z čehož vyplývá i nejvhodnější způsob využití v rámci zemědělské výroby, a to realizací společné pastvy hospodářských zvířat (ovce a hovězí dobytek) se zatížením TTP max. do 0,5 krávy s telaty a 2 ovcí na jeden hektar (extenzivní pastva s protierozní organizací,
- orná půda zůstane využívána pouze na stanovištích s vhodnými podmínkami,
- koncepce areálu farmy bude realizována na místě původních objektů zemědělského družstva, kde budou demolovány objekty, u nichž by byla adaptace z různých důvodů nevhodná, nové objekty budou přímo navazovat na stávající areál,
- areál je dobře dopravně dostupný s přímou návazností na účelovou dopravní síť. Je zajištěno napojení na veřejnou elektrorozvodnou síť a na zdroj pitné vody. Areál je v dostatečné izolační vzdálenosti od obytných sídel (ochranné pásmo),
- k areálu přiléhá malý rybník, využitelný pro doplňkový chov ryb a pro vybudování malého kempu na upravené ploše v jeho blízkosti,

- pro vhodné začlenění areálu do okolní krajiny, jsou předběžně navrženy sadovnické úpravy (ochranný pás zeleně s návazností na ozelenění okolí rybníka, malého vodního toku a účelových komunikací,
- místní podmínky jsou vhodné pro provozování agroturistiky,
- při urbanistickém a technickém řešení objektů je kladen důraz zejména na environmentální aspekty (jednoduchost konstrukcí, použití zejména materiálů z obnovitelných zdrojů a recyklovaných materiálů, řešení problematiky odpadového a vodního hospodářství farmy).

Varianta „A“:

- tato varianta je produkčně zaměřena zejména na dojený skot. Bude realizován chov mléčného plemene skotu se základem stáda tvořeným 80 ks dojnic. Jako doplněk je realizován chov masného plemene ovcí pro produkci skopového masa (základ stáda tvořený 40 ks bahnic). Uzavřený oběh stád. Pro účely agroturistiky je navržen chov jezdeckých koní (8 ks),
- jsou navrženy hlavní objekty farmy – stáj pro skot STPM s výběhy a tandemovou dojárnou ($S=1401,04 \text{ m}^2$); sdružená stáj pro koně ($S=438,96 \text{ m}^2$); přístřešek pro ovce; objekt techniky a údržby ($S=398,56 \text{ m}^2$); sklad objemových píceňin ($S=401,76 \text{ m}^2$); faremní bioplynová stanice ($S=1111,22 \text{ m}^2$); objekt pro ubytování a sociální zázemí ($S=375 \text{ m}^2$),
- celková zastavěná plocha areálu $S=11300 \text{ m}^2$; poloměr ochranného pásma farmy $r_{op}=121,778 \text{ m}$,
- statková bioplynová stanice – zpracovávané množství faremních, biologický rozložitelných odpadů (keжда 1800 t/rok, chlévská mrva 589,5 t/rok). Navržena technologie průtočného systému s objemem bioreaktoru $V=200 \text{ m}^3$, celkový objem ostatních nádrží $V=981 \text{ m}^3$. Produkce bioplynu $75054 \text{ m}^3/\text{rok}$ s přepočteným obsahem energie $450329,7 \text{ kWh}$. El. proud dodaný do elektrorozvodné sítě $78582,42 \text{ kWh/rok}$ (zážehový agregát) nebo $123615,39 \text{ kWh/rok}$ (dieselagregát). Celkový výnos z el. proudu činí v přepočtu na DJ: $2087,20 \text{ Kč/DJ*rok}$ nebo $2999,87 \text{ Kč/DJ*rok}$.

Varianta „B“:

- tato varianta je produkčně zaměřena na masný skot. Bude realizován chov masného plemene skotu se základem stáda tvořeným 80 ks matek. Jako doplněk je realizován chov masného plemene ovcí pro produkci skopového masa (základ stáda tvořený 40 ks bahnic). Uzavřený oběh stád. Pro účely agroturistiky je také navržen chov jezdeckých koní (8 ks),
- jsou navrženy hlavní objekty farmy – stáj pro skot BTPM s výběhy ($S=1451,68 \text{ m}^2$); sdružená stáj pro koně ($S=438,96 \text{ m}^2$); přístřešek pro ovce; objekt techniky a údržby ($S=398,56 \text{ m}^2$); sklad objemových píceňin ($S=401,76 \text{ m}^2$); faremní kompostárna ($S=1641,50 \text{ m}^2$); objekt pro ubytování a sociální zázemí ($S=375 \text{ m}^2$),

- celková zastavěná plocha areálu $S=12800 \text{ m}^2$; poloměr ochranného pásma farmy $r_{op}=121,778 \text{ m}$,
- faremní kompostárna – aerobní, řízené kompostování na volné ploše $S=1100 \text{ m}^2$, v pásových trojúhelníkových zakládkách (2,5 x 40 x 1,5m), kompostovací cyklus $T=20$ týdnů, celkové roční množství zpracovávaných biologicky rozložitelných odpadů 1309,5t; odpadní voda z kompostování plochy skladována v samostatné jímce o objemu $471,23 \text{ m}^3$.

Varianta „C“:

- tato varianta je produkčně zaměřena na masný skot. Bude realizován chov masného plemene skotu se základem stáda tvořeným 40 ks matek. Jako hlavní zaměření živočišné produkce je realizován chov mléčného plemene ovcí pro produkci mléka a mléčných výrobků z vlastní výroby (základ stáda tvořený 80 ks bahnic). Uzavřený oběh stád. Pro účely agroturistiky je rovněž navržen chov jezdeckých koní (8 ks),
- jsou navrženy hlavní objekty farmy – stáj pro skot BTM s výběhy ($S=729,28 \text{ m}^2$); sdružená stáj pro koně ($S=338,96 \text{ m}^2$); stáj pro ovce a objekt rybinové dojírny a zpracování mléka ($S=574,70 \text{ m}^2$); objekt techniky a údržby ($S=398,56 \text{ m}^2$); sklad objemových píceň ($S=401,76 \text{ m}^2$); faremní kompostárna ($S=1349,00 \text{ m}^2$); objekt pro ubytování a sociální zázemí ($S=375 \text{ m}^2$),
- celková zastavěná plocha areálu $S=10500 \text{ m}^2$; poloměr ochranného pásma farmy $r_{op}=101,237 \text{ m}$,
- faremní kompostárna – aerobní, řízené kompostování na volné ploše $S=797,50 \text{ m}^2$, v pásových trojúhelníkových zakládkách (2,5 x 29 x 1,5m), kompostovací cyklus $T=20$ týdnů, celkové roční množství zpracovávaných biologicky rozložitelných odpadů 807t; odpadní voda z kompostování plochy skladována v samostatné jímce o objemu $353,43 \text{ m}^3$.

ZÁVĚR

Z výsledků studie vyplývá, že:

Všechny varianty poskytují možnost dalšího rozvoje areálu farmy na základě aktuálních potřeb podniku. Všechny varianty jsou technicky řešeny tak, aby použité materiály a konstrukce maximálně využívaly takových řešení, která jsou pokud možno energeticky co nejméně náročná a s minimálními negativními dopady na životní prostředí. Ve všech variantách je snaha o vhodné začlenění areálu farmy do okolního prostředí, včetně obnovy a doplnění zeleně, napojení na dopravní síť, úpravy okolí farmy a návaznost areálu na blízký rybník. Veškerá produkce farmy ve všech variantách je realizována v systému ekologického zemědělství v kvalitě „Bio“. Při návrhu všech variant je důležité vytvoření podmínek i pro mimoprodukční funkce. Z hlediska hospodaření s biologicky rozložitelnými odpady je u všech variant snaha o uzavřený cyklus - jejich zpracování ve faremních zařízeních a další využití v hospodářství jako cenného organického hnojiva. Důležitá je rovněž otázka vytvoření

vhodných podmínek pro provozování agroturistiky (zejména ubytování, možnost rekreačních aktivit, vlastní stáj pro jezdecké koně apod.), která je další možností pro rozšíření spektra poskytovaných služeb s ekonomickými i sociálními efekty.

Jednotlivé varianty se v rámci navržených koncepcí vzájemně liší. Lze je tedy charakterizovat:

- varianta „A“ je výrobně zaměřena na produkci kravského mléka a doplňkově na produkci skopového, resp. hovězího masa. Statkové biologicky rozložitelné odpady jsou zpracovávány ve faremní bioplynové stanici, která rovněž zajišťuje dodávky elektrické energie jednak pro provoz farmy a jednak pro prodej do elektrorozvodné sítě s následným ekonomickým efektem pro hospodaření podniku. Výsledný digestát je dále využíván jako organické hnojivo. Tato varianta má střední nároky na zastavěnou plochu areálu. Vzhledem k vyšší intenzitě živočišné výroby a existenci faremní bioplynové stanice je u této varianty vyšší požadavek na velikost ochranného pásma. Z hlediska technického a technologického řešení objektů se jedná o náročnější řešení. Investičně se jedná o variantu nákladnější, což je způsobeno zejména náročnější technologií bioplynové stanice a technologického zařízení stáje pro skot a dojírny. Lze však očekávat, že zvýšená investiční náročnost bude kompenzována zejména výnosy z produkce elektrické energie (s dobou návratnosti investice do bioplynové stanice 10 až 15 let – dle vývoje trhu s energiemi). Díky výnosům z provozu bioplynové stanice se jedná sice o investičně nejnákladnější, zároveň však o nejefektivnější řešení.
- varianta „B“ je výrobně zaměřena na produkci hovězího masa a doplňkově skopového masa. Statkové biologicky rozložitelné odpady jsou zpracovávány ve faremní kompostárně. Výsledný kompost je dále využit jako organické hnojivo. Tato varianta má nejvyšší nároky na zastavěnou plochu areálu, zejména díky objektu faremní kompostárny. Z hlediska velikosti ochranného pásma je zde vyšší požadavek. Z hlediska technického a technologického řešení objektů se jedná o středně náročné řešení. Investičně se jedná o středně náročnou variantu. Je zde nutnost pořízení speciální mechanizace pro faremní kompostárnu. Tato varianta je vhodná v případě orientace zejména na masnou produkci.
- varianta „C“ je výrobně zaměřena na produkci a zpracování ovčího mléka. Doplňkově bude realizována produkce hovězího, resp. skopového masa. Statkové biologicky rozložitelné odpady jsou zpracovávány ve faremní kompostárně. Kompostárna v této variantě má o třetinu menší rozsah oproti variantě „B“. Tato varianta má nejnižší nároky na zastavěnou plochu i na velikost ochranného pásma. Technické, technologické řešení i investiční náročnost této varianty je rovněž nejnižší. Tato varianta je vhodná v případě orientace zejména na chov ovcí s mléčnou produkcí a důrazu na nejnižší investiční náročnost.

LITERATURA

URBAN, J. ŠARAPATKA, B. a kol. Ekologické zemědělství I. díl. 1. vyd. Praha: MŽP ČR a PRO-BIO, 2003. 280 s. ISBN 80-7212-274-6.

ŠARAPATKA, B. URBAN J. a kol. Ekologické zemědělství II. díl. 1. vyd. Šumperk: PRO-BIO, 2005. 334 s. ISBN 80-903583-0-6.

FILIP, J. Odpadové hospodářství. 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2002. 116 s. ISBN 80-7157-608-5.

LIBRA, J. Stavby pro odpadové hospodářství. 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2005. 116 s. ISBN 80-7157-861-4.

SCHULZ, H. EDER, B. Bioplyn v praxi. 1. vyd. Ostrava: Nakladatelství HEL, 2004. 168 s. ISBN 80-86167-21-6.

PASTOREK, Z. KÁRA, J. JEVIČ, P. Biomasa, obnovitelný zdroj energie. 1. vyd. Praha: Nakladatelství FCC PUBLIC s.r.o, 2004. 288 s. ISBN 80-86534-06-5.

PŘIKRYL, M. a kol. Technologická zařízení staveb živočišné výroby. 1. vyd. Praha: Tempo press, 1997. 276 s. ISBN 80-901052-0-3.

SÝKORA, J. Územní plánování vesnic a krajiny: urbanismus 2. Praha: Vydavatelství ČVUT, 2002. 226 s. ISBN 80-01-02641-8.

PROPERTY LOSS CAUSED BY IMMISSIONS IN AGRICULTURAL PRODUCTION

NÁHRADA ŠKODY SPOSÔBENÁ IMISIAMI V POĽNOHOSPODÁRSKEJ VÝROBE

Kaufman P., Sklenár Š.

Department of Landscape Planning and Ground Design, Horticulture and Landscape Engineering Faculty, Slovak University of Agriculture in Nitra, Hospodárska 7, 94901 Nitra, Slovakia

E-mail: kaufman.peter@gmail.com, stefan.sklenar@uniag.sk

ABSTRACT

The evaluation base for air quality is quantity of pollutants. These pollutants are called emissions and immissions. The air pollution has negative effect for living organism and breaks its natural functions. This is the reason why industrial production decreased yield of agricultural products. In Slovakia, this relation is recompensed as detriment since 1963. For quantification of property loss, it is important to know immission situation in the studied region, main economic characteristics of agricultural subjects and consequently to numerate the property loss. In 90-ties of 20th century Slovakia successfully broke the connection between growth of industry production and environment pollution. In spite of long-term improving environment of given locality, property loss caused by industrial pollution is still relevant and there is a need to quantify it.

Key words: immissions, property loss, agriculture

Acknowledgments: 1/4426/07 stanovenie prahových koncentrácií znečistenia ovzdušia pri poškodzovaní poľnohospodárskych plodín

ÚVOD

Znečistenie ovzdušia pôsobí negatívne na živé organizmy. Poškodzovanie prirodzených a umelých ekosystémov imisiami je nesporný jav, ktorého intenzita závisí od intenzity imisného tlaku a vnímavosti jeho účinku vystaveným receptorom. Vplyv imisií u rastlín sa môže prejavovať fyziologickou záťažou alebo narušením harmónie rastu a vývoja formou rôzneho poškodenia.

V 20. storočí bol priemyselný, a teda aj ekonomický rast podmienený rastom environmentálnej záťaže krajiny. V roku 1963 sa preto po prvý krát objavila v legislatíve Slovenskej republiky náhrada škody spôsobená imisiami, ktorej účelom bola a dodnes zostala kompenzácia ušlého zisku v poľnohospodárskej výrobe, zapríčineného práve priemyselnou výrobou. V priebehu 90. rokov sa však imisné zaťaženie znížilo. Vygenerovala sa tým otázka oprávnenosti náhrady škody.

MATERIÁL A METODIKA

Materiál:

Nevyhnutnými podkladmi pre stanovenie imisnej situácie v lokalite Hornonitrianskej kotliny a pre výpočet náhrady škody je kvalitná údajová základňa opisujúca imisnú situáciu charakterizovanú stavom ovzdušia, ktorá je podmienená pravidelným lokálnym, regionálnym či globálnym monitoringom kvality ovzdušia. Táto poskytuje reálny obraz kvality ovzdušia v danom regióne.

Po stanovení koncentrácie imisií v riešenej lokalite poľnohospodárskeho podniku Čereňany a určení podielu záujmového priemyselného producenta znečistenia je pre výpočet nevyhnutné poznanie zníženia výnosov poľnohospodárskych plodín, resp. úžitkovosti hospodárskych zvierat vplyvom pôsobenia SO_2 .

Ďalej je nevyhnutná prvotná evidencia hospodárskeho subjektu: výkaz o plochách, úrodách a predaji poľnohospodárskych výrobkov, resp. súpiska zvierat, mesačné výpisy obratu zvierat, výkaz o predaji poľnohospodárskych výrobkov

Následne je možné prejsť priamo k výpočtu majetkovej ujmy, podľa inovovanej metodiky ÚVTEI Praha 12/1992 (Buday, Kalúz, 2003).

Metodika:

Metodický postup spĺňa podmienky uplatnenia náhrady škody spôsobenej imisiami ako stratu spôsobenú prevádzkovou činnosťou podľa § 420a zákona č. 509/1991 Zb., ktorým sa mení, dopĺňa a upravuje Občiansky zákonník č. 40/1964 ZB. v znení neskorších predpisov. Podľa § 442, ods. 1 a 2 uhrádza sa škoda a to, čo poškodenému ušlo (ušlý zisk) a to v peniazoch. Ak však o to poškodený požiada a ak je to možné a účelné, uhrádza sa škoda uvedením do pôvodného stavu.

Postup vyčíslenia škody pozostáva:

- a) z určenia imisnej situácie na záujmovej ploche,

- b) vyčíslenia výšky škody na rastlinnej a živočíšnej výrobe,
- c) odpočtu podielu na neidentifikované zdroje a požadované hodnoty prevládajúcej škodliviny, resp. stanovenie podielu zdroja na strate imisiami.

Metodika samotného výpočtu závisí od koncentrácie imisií v ovzduší:

- a) strata na rastlinnej výrobe

Inovovanou metodikou (Buday, Kalúz 2003) sa vypočítava strata spôsobená koncentráciou izolovaného pôsobenia SO_2 v rozsahu 8 - 39 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ a NO_x 19,5 - 36 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ a synergického pôsobenia SO_2 v rozmedzí 20 - 39 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ a NO_x 30 - 36 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$. Pri hodnotách imisnej koncentrácie SO_2 40 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ a viac a NO_x 37 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ a viac sa postupuje podľa metodiky ÚVTEI Praha 12/1992.

- b) Strata na živočíšnej výrobe

Stanovuje sa za rovnakých koncentračných podmienok SO_2 a NO_x ako v bode a)

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tab. 1 sú zachytené výpočty straty na rastlinnej výrobe v roku 2004. V tabuľke sa uvádzajú, pre jednotlivé plodiny, vstupné hodnoty výpočtu (úroda, zníženie úrody, realizačná cena), čiastkové výpočty (celková strata) a výsledný podiel Elektrárne Nováky na znížení výnosu spôsobeného imisiami (podiel ENO). Tento podiel je uvádzaný v slovenských korunách, a tiež sumarizovaný za všetky pestované plodiny, ako konečný výstup výpočtov. Obdobným spôsobom sú tabuľkovo uvedené aj straty na rastlinnej výrobe v rokoch 2005 a 2006. (tab. 3 a tab. 5)

Tab. 1 Straty na rastlinnej výrobe v roku 2004

Plodina (produkt)	Úroda (t)	Zníž.úrody (t)	Real. cena (Sk.t ⁻¹)	Celk. strata (Sk)	Podiel ENO (Sk)
Pšenica oz.	987,3	20,15	3 435,-	69 335,-	22 155,-
Jačmeň jar.	440,3	8,53	4 457,-	38 018,-	12 166,-
Cukrová repa	1 720,8	66,12	1 960,-	129 595,-	41 470,-
Repka oz.	241,7	2,20	8 963,-	19 719,-	6 310,-
Kukurica sil.	2 816,9	135,83	370,-	50 257,-	16 082,-
Lucerna	518,6	18,81	200,-	3 762,-	1 204,-
TTP*	571,2	6,94	150,-	1 041,-	333,-
Slama stel.	444,3	6,77	150,-	1 016,-	325,-
Slama kýmna	198,1	3,02	150,-	453,-	145,-
SPOLU					100 190,-

*trvalé trávne porasty

V tab. 2 sú zachytené výpočty straty na živočíšnej výrobe v roku 2004. V tabuľke sa uvádzajú, pre jednotlivé hospodárske zvieratá, vstupné hodnoty výpočtu (úžitkovosť), čiastkové výpočty (zníženie úžitkovosti) a výsledný podiel Elektrárne Nováky na znížení výnosu spôsobeného imisiami (podiel ENO). Tento podiel je uvádzaný v slovenských korunách, a tiež sumarizovaný za všetky hospodárske zvieratá, ako konečný výstup výpočtov. Obdobným spôsobom sú tabuľkovo uvedené aj straty na živočíšnej výrobe v rokoch 2005 a 2006. (tab. 4 a tab. 6)

Tab. 2 Zníženie úžitkovosti hospodárskych zvierat v roku 2004

Druh HZ – kat.	Úžitkovosť (Sk)	Zníž. úžitkovosti (Sk)	Podiel ENO (Sk)
Dojnice – mlieko	13 480 522,-	233 132,-	74 602,-
Teľatá 3 m.	732 354,-	11 908,-	3 811,-
Teľatá 6 m.	568 266,-	9 240,-	2 957,-
MHD*	857 660,-	13 946,-	4 463,-
VTJ**	66 760,-	1 155,-	369,-
Maštal'ný hnoj	347 220,-	6 005,-	1 922,-
Močovka	44 800,-	775,-	248,-
SPOLU			88 372,-

*mladý hovädzí dobytok, **vysoko teľné jalovic

Tab. 3 Strata na rastlinnej výrobe v roku 2005

Plodina (produkt)	Úroda (t)	Zníž.úrody (t)	Real. cena (Sk.t ⁻¹)	Celk.strata (Sk)	Podiel ENO (Sk)
Pšenica oz.	357,5	7,30	4 031,-	29 426,-	9 416,-
Jačmeň jar.	461,7	8,94	4 793,-	42 849,-	13 712,-
Cukrová repa	2 275,0	87,41	1 343,-	117 392,-	37 565,-
Repka oz.	95,2	0,86	8 101,-	6 967,-	2 229,-
Kukurica sil.	2 665,9	128,54	420,-	53 987,-	17 276,-
Lucerna	345,5	12,53	200,-	2 506,-	802,-
TTP	1 453,0	17,65	160,-	2 824,-	904,-
Slama stel.	190,6	2,90	150,-	435,-	139,-
Slama kfmna	207,8	3,16	150,-	474,-	152,-
Pšenica jar.	66,1	1,35	3 416,-	4 612,-	1 456,-
Kukurica zrno	71,2	3,43	4 100,-	14 063,-	4 500,-
SPOLU					100 190,-

Tab. 4 Zníženie úžitkovosti hospodárskych zvierat v roku 2005

Druh HZ – kat.	Úžitkovosť (Sk)	Zníž. úžitkovosti (Sk)	Podiel ENO (Sk)
Dojnice – mlieko	11 940 968,-	206 502,-	66 081,-
Teľatá 3 m.	713 184,-	11 569,-	3 711,-
Teľatá 6 m.	657 432,-	10 690,-	3 421,-
MHD	674 210,-	10 963,-	3 508,-
VOŠ*	1 236 216,-	22 660,-	7 251,-
VTJ	160 300,-	2 772,-	887,-
Maštal'ný hnoj	434 400,-	7 513,-	2 404,-
Močovka	69 400,-	1 200,-	384,-
SPOLU			95 156,-

*výkrmné ošípané

Tab.5 Strata na rastlinnej výrobe v roku 2006

Plodina (produkt)	Úroda (t)	Zníž. úrody (t)	Real. cena (Sk.t ⁻¹)	Celk. strata (Sk)	Podiel ENO (Sk)
Pšenica oz.	854,8	19,23	3 734,-	71 805,-	24 844,-
Jačmeň jar.	307,1	63,59	4 261,-	28 080,-	9 716,-
Cukrová repa	2 900,3	120,85	1 050,-	126 893,-	43 905,-
Repka oz.	188,5	1,90	7 444,-	14 144,-	4 894,-
Kukurica sil.	2 177,1	114,58	300,-	34 374,-	11 893,-
Lucerna	562,4	22,22	150,-	3 333,-	1 153,-
TTP	478,0	6,30	175,-	1 103,-	381,-
Slama stel.	384,7	6,26	150,-	939,-	325,-
Slama kfmna	138,2	2,25	150,-	338,-	117,-
SPOLU					97 228,-

Tab. 6 Zníženie úžitkovosti hospodárskych zvierat v roku 2006

Druh HZ – kat.	Úžitkovosť (Sk)	Zníž. úžitkovosti (Sk)	Podiel ENO (Sk)
Dojnice – mlieko	9 864 000,-	191 045,-	66 102,-
Teľatá 3 m.	671 950,-	12 317,-	4 262,-
Teľatá 6 m.	742 568,-	13 611,-	4 709,-
MHD	1 685 457,-	38 894,-	10 689,-
P VOŠ	1 730 540,-	35 217,-	12 220,-
VOŠ	2 621 070,-	53 491,-	18 508,-
VTJ	148 280,-	2 718,-	940,-
Maštalný hnoj	418 980,-	7 680,-	2 657,-
Močovka	107 600,-	1 972,-	682,-
SPOLU			120 769,-

Majetková ujma spôsobená imisiami sa v podniku každoročne mení. A to ako v rastlinnej, tak aj v živočíšnej výrobe. V rastlinnej výrobe sa hodnota náhrady škody medziročne mení v rozmedzí 10%. Nedá sa však hovoriť o rastúcej, či klesajúcej tendencii. Rastlinná výroba v podniku je totiž len druhotnou výrobou, ktorá je zameraná ako doplnková k primárnej živočíšnej výrobe a tiež na tvorbu vstupných materiálov pre živočíšnu výrobu. V živočíšnej výrobe sa hodnota náhrady škody každoročne zvyšuje, a to v rozmedzí 10 –

20%. To však nesvedčí o zhoršujúcej sa imisnej situácii v záujmovom území. Zmenu ovplyvňuje predovšetkým stav hospodárskych zvierat ako aj úžitkovosť hospodárskych zvierat v jednotlivých rokoch. V neposlednom rade ovplyvňuje výšku náhrady škody aj realizačná cena poľnohospodárskych produktov, a to v rastlinnej, ako aj živočíšnej výrobe.

Napriek uvedenému dosahuje hodnota majetkovej ujmy na poľnohospodárskej výrobe každoročne cca 200 000,- Sk, čo predstavuje pre podnikateľský subjekt pôsobiaci v poľnohospodárstve nielen zvýšenie návratnosti investície, ale aj zlepšenie finančnej bilancie v poľnohospodárskej výrobe podniku.

Výpočet náhrady škody spôsobenej imisiami má preto aj naďalej opodstatnenie v regiónoch s výrazne zníženou kvalitou ovzdušia.

ZÁVER

Okres Prievidza je zaťažené územie, v ktorom sa vyskytuje také znečistenie ovzdušia, ktoré vysokou koncentráciou znečisťujúcich látok, trvaním, frekvenciou výskytu, alebo spoločným účinkom viacerých znečisťujúcich látok môže vyvolať vo zvýšenej miere škodlivé účinky na zdravie obyvateľstva a životné prostredie. Nosným zdrojom znečistenia v regióne je tepelná elektrárňa ENO, Zemianske Kostolany. Táto v roku 2003 vyprodukovala cez 40 000 t emisií SO_2 a tiež nezanedbateľné množstvo NO_x . Na základe týchto znečisťujúcich látok bola vypočítaná náhrada škody spôsobená imisiami v poľnohospodárskom podniku. Majetková ujma na rastlinnej výrobe, v rozmedzí rokov 2004 – 2006, bola 88 151,- až 100 190,- Sk. Majetková ujma vyvolaná emisiami bola zaznamenaná aj v živočíšnej výrobe. Táto bola vyčíslená, v rozmedzí rokov 2004 – 2006, na 88 371,- až 120 769,- Sk. V dlhšom časovom horizonte sa však nedá hovoriť o rastúcej, či klesajúcej tendencii majetkovej ujmy, pretože je výrazne ovplyvňovaná intenzitou jednotlivých poľnohospodárskych aktivít. Napriek, v dlhšom časovom horizonte, zlepšujúcemu sa stavu životného prostredia v danej lokalite, je ujma spôsobená imisiami stále relevantná a je preto aj naďalej opodstatnené zaoberať sa vyčíslovaním jej výšky.

LITERATÚRA

BUDAY, Š., KALÚZ, K., 2003: Oceňovanie náhrad škôd spôsobených imisiami na poľnohospodárskej pôde a v poľnohospodárskej výrobe, metodika VÚEPP Bratislava, SPU Nitra, rkp. 2003, 12 s.

KALÚZ, K., 2003: Poškodzovanie poľnohospodárskych plodín v aktuálnych imisných podmienkach, Zb. Udržateľné poľnohospodárstvo a rozvoj vidieka, SPU Nitra, 2003, s.367, ISBN 80 – 8069 – 246 – 7

KÚ ŽP Trenčín, 2004: Integrovaný program na zlepšenie kvality ovzdušia v oblasti riadenia kvality ovzdušia – územie okresu Prievidza, 2004

Němec, J. a kol., 1992: Oceňování náhrad škod způsobených imisemi na zemědělské výrobě, ÚVTEI, ISSN 0231-9470

Ročenky klimatických pozorovaní SHMÚ 2000-2004, SHMÚ, Bratislava

RONCHETTI, L., 2006: Kvalita ovzdušia na Slovensku, Enviromagazín, č. 2/2006, ročník 11, s. 24 – 27

STREĎANSKÝ, J., 2002: Hodnotenie kvality ovzdušia, SPU Nitra, Nitra, 2002, 117 s. ISBN 80 – 8069 – 000 – 6

ŠPÁNIK, F., TOMLAIN, J., 1997: Klimatické zmeny a ich dopad na poľnohospodárstvo, SPU Nitra, Nitra, 1997, 154 s. ISBN 80 – 7137 – 345 – 1

Vyhláška MŽP SR č. 112/1993 Z.z. o vymedzení oblastí vyžadujúcich osobitnú ochranu ovzdušia a o prevádzke smogových varovných a regulačných systémov

Vyhláška MŽP SR č. 705/2002 Z.z. o kvalite ovzdušia

Zákon č. 478/2002 Z.z. o ochrane ovzdušia

PERSPEKTIVES OF WEGETABLE WASTE COMPOSTING

PERSPEKTIVY KOMPOSTOVÁNÍ ZELENINOVÉHO ODPADU

Mach P., Tesařová M., Mareček J.

Department of Agriculture, Food and Environmental Engineering, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xmach1@mendelu.cz, tesarova@mendelu.cz, marecekj@mendelu.cz

ABSTRACT

The goal of this study was to gain knowledge about effect of compost from waste produced at vegetable-working facility, and mineral structure of grow on plants. Followed in relation to this subject, also exanimate effects of compost, mineral fertilizer and mycorhiza. The lettuce (*Lactuca sativa*) was grown as an experimental plant. Results of nitrogen and phosphorus analyses in shoot biomass of lettuce in different variants, shows good assimilation of phosphorus in lettuce grown on soil with compost, or compost with mycorhized fungi. The highest content from the total amount of nitrogen substance was noticed at lettuce grown only on soil with mineral fertilizer adjunct. It can be submitted, that composting of vegetal waste from vegetable-working facilities is very perspective and the produced compost presents quality fertilizer for plant cultivation.

Key words: compost, minerals, vegetable, plant, lettuce

ÚVOD

V roce 2009 vstoupí v platnost nové znění zákona o odpadech, kterým vzniknou obcím a podnikům řady nových možností a povinností při třídění a likvidaci odpadů, především bioodpadů. Budeme-li uvažovat ekologicky i ekonomicky, pak dojdeme k závěru, že nezbývá jiná možnost, než plnit základní motto zákona, které přikazuje předcházet vzniku odpadů a omezovat jejich množství.

Jedním z nepřírozanějších a neekologičtějších způsobů využívání biodegradabilních odpadů je jejich kompostování. Kompost je nejpřírozanějším prostředkem ke zlepšení půdy. Jeho příprava je založena na využití organických odpadů z domácnosti a ze zahrady. Kompost je významný nejen pro zlepšování půdy, ale i pro výživu rostlin.

Cílem této studie bylo kompostování a jeho perspektivy při využití odpadů vznikajících při zpracování zeleniny. Především bylo sledováno praktické využití kompostu vyrobeného z odpadů ze zpracování zeleniny a jeho vliv na růst a minerální složení pěstovaného hlávkového salátu (*Lactuca sativa*). V této souvislosti byl porovnáván vliv přidavku dalších komponent ovlivňujících kvalitu půdy a růst rostlin, a to vše s ohledem na životní prostředí.

MATERIÁL A METODIKA

Složení zakládky kompostu bylo vypočteno z celkového množství získaného zeleninového odpadu, ke kterému byla přidána pšeničná sláma pro korekci poměru C:N a sušiny. Při kompostování byla použita metoda rychlokompostování v malém kompostéru při výšce zakládky přibližně 1 m. Kompostér byl zakryt stínidlem, aby nedošlo k ovlivnění kompostu slunečními paprsky v průběhu kompostovacího procesu.

Surovinová skladba kompostu byla: 100kg slámy, 210kg ledového salátu, 200kg brambor, 160kg mrkve, 70kg zelí bílého, 25kg petržele, 25kg celeru, 20kg rajčat, 20kg zelí červeného, 10kg řepy červené, 10kg okurek, 100kg zeminy. Celková surovinová skladba tedy činila 950kg.

Suroviny byly na sebe navrstveny ve výše uvedeném pořadí a následně byla provedena první homogenizační překopávka, čímž došlo k zahájení kompostovacího procesu o době trvání 6 týdnů. Další překopávky byly prováděny ve dvoudenních intervalech až do 12. dne stáří kompostu. Následující překopávky již byly prováděny jednou týdně až do ukončení kompostovacího procesu. Hotový kompost byl využit k pěstování salátu a porovnání s dalšími způsoby jeho pěstování.

Celkem bylo k rozboru pro stanovení obsahu minerálních látek (fosforu, draslíku a dusíku) v nadzemní části hlávkového salátu, odrůdy Major, a porovnání vlivu kompostu s aplikací minerálních hnojiv a efektu mykorhizy, použito šest variant salátu vypěstovaných na půdách s různými způsoby hnojení (Tab. 1).

Tab. 1 Skladba jednotlivých variant substrátu pro pěstování hlávkového salátu

var.	popis varianty
1.	půda (kambizem pseudoglejová, zjištěný obsah celkového dusíku 1,35 g/kg)
2.	1 kg půdy + 64,5 g kompostu (celkem 0,33 g N)
3.	1 kg půdy + 0,97 g ledku amonného s obsahem dusíku 34,0% (celkem 0,33 g N)
4.	1 kg půdy + 15,0 g přípravku BEG 25 (inokulum mykorhizní houby <i>Glomus m.</i>)
5.	1 kg půdy + 64,5 g kompostu + 15 g přípravku BEG 25
6.	1 kg půdy + 15,0 g přípravku BEG 25 + zálivka roztokem s 0,97 g ledku amonného

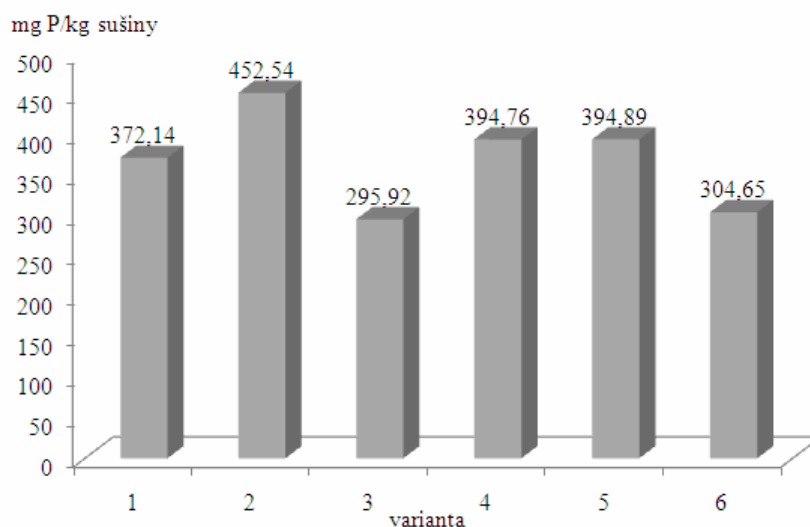
Pokus byl založen metodou přímého výsevu do plastových květináčů. Pokusné květináče byly umístěny do skleníku s regulovanou teplotou a osvětlením. Zálivka byla prováděna u všech variant stejným způsobem. Ve stáří 1 měsíce byl salát vyjednocen na jednu rostlinu v květináči. Celá fáze růstu salátu byla ukončena odříznutím tvořící se hlávky v oblasti kořenového krčku v době 50 dní od výsevu semen. Odříznutá hlávka salátu byla usušena v sušárně při 55°C a připravena pro následující analýzu na stanovení obsahu minerálních prvků (dusík, fosfor, draslík).

Stanovení fosforu bylo provedeno kolorimetricky vanadičnanovou metodou, draslíku metodou atomové absorpce a dusíku Kjaldahlovou metodou.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Stanovením obsahu fosforu ve zkoumaných vzorcích vypěstovaného hlávkového salátu (Obr. 1) bylo zjištěno, že salát pěstovaný pouze na použité půdě jako kontrolní vzorek, obsahoval fosfor v průměrném množství 372,14 mg/kg sušiny, kterážto hodnota odpovídá hodnotám uváděných v tabulce (Tab. 2) sestavené podle Veliška (1999).

Obr. 1 Obsah fosforu v nadzemní hmotě hlávkového salátu



Přídavek připraveného kompostu k půdě způsobil vyšší příjem minerálních látek rostlinou, a tak nashromáždění většího množství fosforu v nadzemní části salátu, kde dosahovala hodnoty 452,54 mg/kg sušiny. Salát vypěstovaný na půdě s přídavkem ledku amonného, vykazoval nejnižší obsah fosforu v salátu v množství 295,92 mg/kg sušiny.

Tab. 2 Skladba jednotlivých variant substrátu pro pěstování hlávkového salátu

Obsah v mg.kg ⁻¹ sušiny						
Na	K	Cl	Mg	Ca	P	S
30-100	2200	400	150-290	400-800	300-390	120-190

Na půdě s přídavkem mykorrhizních hub a na půdě s přídavkem mykorrhizních hub v kombinaci s kompostem vykazoval salát obdobný příjem fosforu, který jen nepatrně přesahoval uváděnou horní hranici 390 mg P/kg sušiny. Tato skutečnost poukazuje, že přídavek mykorrhizních hub do substrátu je pro pěstovanou rostlinu přínosný a symbiotický vztah jí zajišťuje rovnoměrný příjem minerálních látek z prostředí, dle jejích potřeb.

Ke stejnému závěru dochází Tesařová a Stroblová (2006), které konstatují, že podle současných poznatků zlepšuje arbuskulární mykorrhiza (AM) růst, výnosy i zdraví rostlin a to hlavně díky zvýšení příjmu některých živin rostlinou, zlepšení vodního režimu rostliny, zvýšení odolnosti proti houbovým onemocněním a zvýšení odolnosti rostliny vůči abiotickým environmentálním stresům.

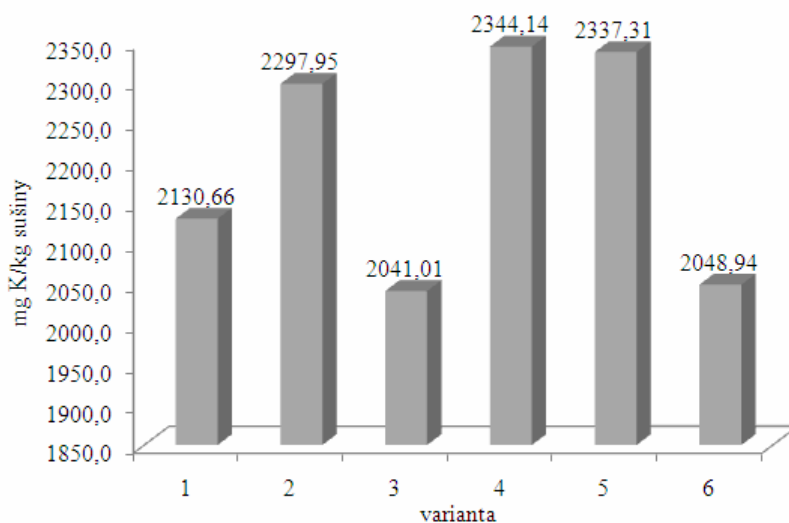
Salát pěstovaný na půdě s přídavkem ledku amonného a mykorrhizních hub vykazoval příjem fosforu v množství nepatrně nad dolní hranici uváděného rozmezí (Tab. 2).

Porovnáním salátu pěstovaného na půdách s přídavkem minerálního hnojiva s ostatními variantami vypěstovaného salátu, lze usuzovat, že přídavek minerálního hnojiva výrazně snižoval příjem fosforu. Naopak přídavek mykorrhizních hub a jejich symbióza s kořeny rostlin, zajišťoval vyrovnanější příjem minerálních látek rostlinou a je příkladem vhodnosti využívání mykorrhizy v zahradnické praxi.

Podpora arbuskulární mykorrhizy (AM) je rovněž dle Tesařové a Stroblové (2006) pro zahradnictví perspektivní z ekonomického i ekologického hlediska. Využití přirozené zásoby propagulí AM hub v půdě a nalezení způsobů stimulujících jejich rozvoj může v budoucnu ušetřit agrochemikálie a zlepšit zdraví půd i rostlin.

Hodnoty obsahu draslíku zjištěné v salátu (Obr. 2) se u všech variant blížily k hodnotám uváděných literaturou, která podle Velíška (1999), a rovněž tak podle Kopeckého (1998) tabulek nutričních hodnot ovoce a zeleniny činí 2200 mg K/kg sušiny.

Obr. 2 Obsah draslíku v nadzemní hmotě hlávkového salátu

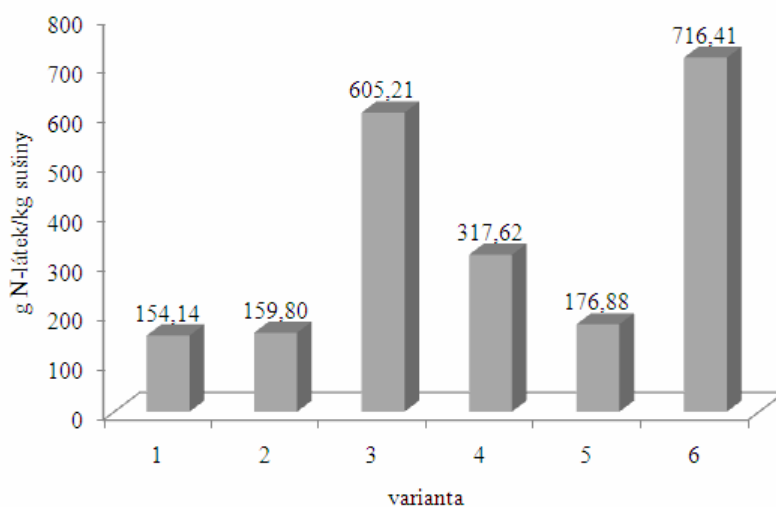


Z hlediska stanoveného obsahu draslíku byla stanovena nejnižší hodnota obsahu u salátu pěstovaného v půdě s přidavkem minerálního hnojiva a v půdě s přidavkem minerálního hnojiva a mykorhizních hub. Naopak nejvyšších hodnot obsahu draslíku dosahovaly rostliny, kde byly k půdě přidány mykorhizní houby a připravený kompost.

V porovnání s kontrolní variantou, kde byl salát pěstován pouze v půdě, lze konstatovat, že přidavek kompostu a mykorhizních hub měl za následek zvýšený příjem draslíku z kompostu, kde již kompostovaná zelenina mohla obsahovat ve zvýšeném množství draslík. Naopak u variant s přidavkem minerálního hnojiva byl příjem draslíku nižší v porovnání s kontrolou, kdy jeho příjem mohla brzdit aplikace ledku amonného.

Procentický obsah dusíku a veškerých dusíkatých látek (Obr. 3) byl stanoven jako obsahově nejnižší u kontrolní varianty pěstovaného salátu, kde v nadzemní hmotě jeho hodnota činila 154,14 g N-látek/kg sušiny. U salátu, kde byl aplikován k půdě připravený kompost a mykorhizní houby, byly stanovené hodnoty nepatrně vyšší v porovnání s kontrolní variantou.

Obr. 3 Obsah dusíku v nadzemní hmotě hlávkového salátu



Salát, u kterého byl do půdy aplikován ledek amonný v kombinaci s mykorhizními houbami, vykazoval nejvyšší množství veškerých dusíkatých látek ze všech sledovaných variant, a to v hodnotě 716,41 g N-látek/kg sušiny. Rovněž vysoká hodnota byla stanovena u salátu pěstovaného na půdě s aplikací pouze ledu amonného. Varianta salátu s přidavkem pouze mykorhizních hub do půdy vykazovala v porovnání s ostatními variantami vyrovnanou střední hodnotu obsahu veškerých dusíkatých látek.

Hodnota nitrátového dusíku, který je ze zdravotního hlediska v zelenině sledován, nelze Kjeldahlovou metodou plně kvantitativně stanovit, protože zejména v rostlinných produktech je podíl nitrátového dusíku ve srovnání s dusíkem organickým velmi malý, a proto stanovený dusík je pokládán za veškerý.

Nadzemní biomasa salátu byla ze všech sledovaných variant nejvíce ovlivněna přidavkem kompostu. Byl-li salát pěstován v půdě obohacené kompostem, vzrostla hmotnost jeho nadzemní části oproti kontrole o 16%. Pokud byl kompost použit v kombinaci s AM houbami, vzrostla biomasa nadzemní části o 75% v porovnání s kontrolou.

Obsah veškerých dusíkatých látek se v nadzemní biomase zvýšil nepatrně. Totéž platí i pro obsah fosforu a draslíku. Je třeba poznamenat, že nejvyšší hodnoty celkových dusíkatých látek v nadzemní hmotě byly zjištěny ve variantách, kde bylo aplikováno minerální hnojivo (ledk amonný).

ZÁVĚR

Kompost vyrobený ze zbytků zeleniny vznikajících v podniku Beskyd Fryčovice, a.s. (producent sortimentu chlazených zeleninových salátů, zeleninových polévkových směsí) byl využit k pěstování salátu (*Lactuca sativa*) v kombinaci s minerálním hnojivem (ledek amonný) a mykorhizními houbami. U vypěstovaného salátu jednotlivých variant bylo provedeno stanovení obsahu dusíku, fosforu a draslíku.

Výsledky analýz nadzemní biomase salátu jednotlivých variant poukazují, že:

- salát pěstovaný v půdě s přidavkem kompostu nebo kompostu v kombinaci s mykorhizními houbami velice dobře přijímal fosfor,
- pro příjem fosforu rostlinou byl zaznamenán rovněž významný vliv pouze přidavku mykorhizních hub,
- salát pěstovaný pouze v půdě bez přidavku hnojiva a také v půdě s přidavkem kompostu měl obsah dusíku v porovnání s dalšími variantami nízký,
- nejvyšší obsah celkového dusíku v rostlinné hmotě byl zaznamenán u variant s přidavkem ledku amonného,
- kompost a případný přídavek mykorhizních hub zabezpečil rostlinám dostatečný přísun sledovaných živin.

Závěrem lze tedy konstatovat, že kompostování rostlinného odpadu ze zpracování zeleniny je velice perspektivní. Vzniká tak kvalitní kompost, představující kvalitní hnojivo pro pěstování rostlin.

LITERATURA

Gryndler, M. a kol. (2004): *Mykorhizní symbióza - O soužití hub s kořeny rostlin*. ACADEMIA, Praha. ISBN 80-200-1240-0

Kalina, M. (1999): *Kompostování a péče o půdu*. Grada Publishing, Praha. ISBN 80-7169-697-8

Kopec, K. (1998): *Tabulky nutričních hodnot ovoce a zeleniny*. ÚZPI, Praha. ISBN 80-86153-64-9

Tesařová, M., Stroblová, M. (2006): *Mykorhiza v zahradnické praxi*. Zahradnictví 5/2006, s. 56, vydal Profi Press, Praha.

Velíšek, J. (1999): *Chemie potravin 1*. OSSIS, Tábor. ISBN 80-902391-3-7

Velíšek, J. (1999): *Chemie potravin 2*. OSSIS, Tábor. ISBN 80-902391-4-5

THE LEVEL OF ORGANIC POLLUTION OF MIDDLE COURSE OF THE JIHLAVA RIVER ACCORDING TO SAPROBIC INDEX AND TROPHIC POTENTIAL

ÚROVEŇ ORGANICKÉ ZÁTĚŽE STŘEDNÍHO TOKU ŘEKY JIHLAVY DLE INDEXU SAPROBITY A TROFICKÉHO POTENCIÁLU

Makovský J.¹, Krčová S.², Spurný P.¹

1 – Department of Zoology, Fisheries, Hydrobiology and Apiculture, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

2 – Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: j.makovsky@seznam.cz, xkrcova@node.mendelu.cz, fishery@mendelu.cz

ABSTRACT

In the vegetation season during the year 2008, on the two locations middle course of the Jihlava River - above and below water reservoirs Dalešice and Mohelno, the samples of water and macrozoobenthos were taken for the assessment of the level of organic pollution and evaluation of importance of the water reservoirs impact on the level of organic pollution, at monthly intervals. The pollution was evaluated by the trophic potential and the saprobic index. The trophic potential from the samples of water, the saprobic index was determined from the macrozoobenthos samples. On the Vladislav location, above the water reservoirs, the trophic potential was determined $220,16 \pm 36,97 \text{ mg.l}^{-1}$ it means the mezo-eutrophic class. The saprobic index was determined $2,19 \pm 0,09$ to β it means the mezosaprobic class. On the Biskoupky location, below the water reservoirs, the trophic potential was determined $213,5 \pm 28,79 \text{ mg.l}^{-1}$ it means mezo-eutrophic class. The saprobic index was determined $1,67 \pm 0,18$ to β it means mezosaprobic class. Statistically decisive wasn't the difference of the trophic potential between the locations. Values of the saprobic index were statistically decisive lower on the Biskoupky locality than the values of the locality Vladislav.

Keywords: water, pollution, river

Acknowledgments: This study was supported by the IGA No. IG280111 and the research plan No. MSM6215648905

ÚVOD

Jako nejdůležitější zdroje znečištění povrchových vod je v současné době uváděno bodové znečištění, tj. města, obce, průmyslové závody a objekty soustředěné zemědělské živočišné výroby (Zpráva o stavu ochrany vod v České republice 2006, MZP ČR). Na toku řeky Jihlavy se vyskytuje několik významných aglomerací, jako jsou například Jihlava, Třebíč..aj, ke kterým povětšinou náleží i rozvinutá průmyslová činnost a s tím spojená vyšší míra vypouštění odpadních vod do biotopu řeky Jihlavy.

Pravidelné sledování organické zátěže na řece Jihlavě metodou vyhodnocení trofického potenciálu a saprobního indexu se provádí již od poloviny minulého století. Zvýšená pozornost střednímu toku této řeky se věnuje od dostavby soustavy vodních děl

Dalešice – Mohelno a jaderné elektrárny Dukovany. Již dříve zde byla uváděna vyšší míra trofie ve vodě řeky Jihlavy pod městem Třebíč (Kočková et al. 1960, Kočková 1961, Kočková, Žáková 1983, Kočková et al. 1995). Jako příčiny vyššího zatížení tohoto toku organickými látkami autoři uvádějí především urbanizační vlivy, zemědělství a splach z přiléhajících pozemků a komunikací a od uvedení jaderné elektrárny Dukovany do provozu i zkoncentrování živin při odběru chladicí vody a vypouštění odpadní oteplené vody z chladících okruhů zpět do recipientu.

Dle Zprávy o stavu ochrany vod v České republice 2006, Ministerstva Životního prostředí České republiky, jež kvalitu vody v tocích kategorizuje kvalitu vody v povrchových tocích do stupňů I až V dle normy ČSN 75 7221, je řeka Jihlava z hlediska stavu celkového fosforu, dusičnanového dusíku, sušiny dusíkatých látek ($NL\ 105\ ^0\ C$) $CHSK_{MN}$ a $CHSK_{CR}$ zařazena ve všech sledovaných profilech do IV až V třídy, to znamená silně zatížených vod.

Cílem tohoto sledování bylo stanovit míru organického zatížení středního toku řeky Jihlavy na základě stanovení trofického potenciálu a saprobního indexu a porovnat hodnoty mezi lokalitami za účelem zjištění vlivu vodních děl Dalešice a Mohelno na míru organické zátěže v tomto toku.

METODIKA

Vzorky vody pro stanovení úrovně trofického potenciálu a saprobního indexu byly odebírány v měsíčních intervalech v průběhu vegetačního období roku 2008 na dvou lokalitách středního toku řeky Jihlavy. První lokalita byly vybrána nad vzdušným vodním dílem Dalešice, v k.ú. obce Vladislav, GPS location Loc: 9°12'49.36"N,15°55'50.71"E. Druhá lokalita byla vybrána pod vodními díly Dalešice a Mohelno, v k.ú. obce Biskoupky, GPS location Loc: 9°5'43.93"N,16°16'27.55"E Odběry byly prováděny v proudnici do předem připravených, uzavíratelných polyetylenových nádob, tak aby v nádobě po odebrání vzorku nezůstaly vzduchové bubliny. Okamžitě po odběru byly vzorky vody uloženy do tmavého chladicího boxu a následně po převezení na Oddělení rybářství MZLU zamrazeny. Zamražené vzorky vody byly předány na Výzkumný ústav vodohospodářský, pobočka Brno k stanovení trofického potenciálu jednorázovou suspenzní metodou (Žáková et al., 1981). Vzorky byly po přefiltrování kultivovány při $25\pm 1\ ^0C$, promýchané vzduchem. Jako testovací inokulum byla použita řasa *Desmodesmus communis* (*Scenedesmus quadricauda*).

Na konci testu byla stanovena sušina řas, přírůstky byly stanovovány nefelometricky. Jako parametr trofického potenciálu byla zvolena koncentrace sušiny řas v $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ (ISO 8692)

Tabulka č. 1 Stupnice hodnocení trofického potenciálu

Stupeň trofie	Trofický potenciál $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$
Ultra- oligotrofie	<5
Oligotrofie	5 - 50
Oligomezotrofie	50 - 100
Mezotrofie	100 - 200
Mezo – eutrofie	200 - 350
Eutrofie	350 - 500
Polytrofie	500 - 1000
Hypertrofie	>1000

Vzorky zoobentosu k vyhodnocení saprobního indexu byly prováděny dle EN 25 667 – 2, EN ISO 27 828 a EN 25 667 – 3, za pomoci bentické odběrné sítě Surber a bentické odběrné sítě Kick Sampler. Odebraný zoobentos byl zakonzervován v 4% roztoku formaldehydu a převezen na Oddělení rybářství a hydrobiologie, kde byly determinovány a na základě druhového spektra a kvantitativních charakteristiky byl stanoven saprobní index lokality v čase odběru.

Pro stanovení saprobního indexu byl použit vzorec dle ČSN 75 7716

Tabulka č.2 Stupně saprobity

Saprobity	Sap. index	Zarybnění	Třída čistoty vody	Charakteristika	$\text{O}_2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$
Xenosaprobity	do 0,5	pstruhové pásmo	Ia - velmi čistá voda	nejvyšší možná čistota, minimum rozkladných procesů	9,5
Oligosaprobity	0,5 - 1,5	pstruhové, lipanové pásmo	Ia	mírné organické zatížení	9,5
β -mezosaprobity	1,5 - 2,5	parmové, cejnové pásmo	Ib - voda čistá	relativně vysoká diverzita, hnilobné procesy již výrazné,	8
α -mezosaprobity	2,5 - 3,5	odolné druhy ryb	II - znečištěná voda, III - silně znečištěná voda	velký pokles kyslíku, snížená diverzita	6
polysaprobity	3,5 a více	bez ryb	III,IV - velmi silně znečištěná voda	velmi výrazný pokles kyslíku, anaerobní zony	do 3,5

Při odběru vzorků byly zároveň sledovány základní chemické parametry vody, a to : teplota, pH , obsah rozpuštěného kyslíku a vodivost měřícími přístroji WTW Multi 3400i a HANNA Combo HI 98129

VÝSLEDKY A DISKUSE

Tabulka č.3 Hodnoty trofického potenciálu na řece Jihlavě v roce 2008

	duben	květen	červen	červenec	srpen	září
Biskoupky	170	196	220	245	243	207
Vladislav	201	183	210	265	268	194

Na lokalitě Vladislav se hodnoty trofického potenciálu pohybovaly během vegetačního období v rozmezí hodnot 183 – 268 mg.l⁻¹ (viz. tabulka č.3) s průměrem 220,16±36,97 mg.l⁻¹.

Po porovnání se stupnicí trofice vod dle Žáková (1986) byla voda z lokality Vladislav vyhodnocena jako stupeň mezotrofní až mezo-eutrofní. Tyto stupně vypovídají o vyšším organickém zatížení těchto lokalit. Při porovnání s prací Žáková (2002), která tuto řeku sledovala dlouhodobě v minulosti jsou výsledky získané při tomto sledování velmi podobné a není mezi nimi statisticky průkazný rozdíl. Autorka ve své práci uvádí postupnou klesající tendenci hodnot trofického potenciálu na řece Jihlavě od roku 1990 do současnosti.

Na lokalitě Biskoupky trofický potenciál dosahoval hodnot 170 – 245 mg.l⁻¹ (viz. tabulka č.3) s průměrem 213,5±28,79.mg.l⁻¹ Ve stupnici hodnocení trofice dle Žáková (1986) byla tato lokalita zařazena do stupně mezotrofnie až mezo-eutrofnie. Mezo-eutrofnie je již stupeň s vyšší hodnotou organického zatížení. Po porovnání s prací Žáková (2002) není mezi výsledky patrný rozdíl. Hodnoty trofického potenciálu v tomto sledování a ve sledování Žákové jsou si velmi podobné. Autorka hodnotí vodu pod vodním dílem Mohelno jako mezotrofní až mezo-eutrofní, tudíž ve stejném stupni, jako v tomto sledování.

Mlejnková et al. (2005) hodnotila chemické a biologické parametry vody v řece Vltavě pod nádrží Kořensko a na údolní nádrží Orlík. Trofický potenciál na lokalitě Kořensko a na lokalitách situovaných na nádrží Orlík byl vyhodnocen v rozmezí 50 – 80 mg.l⁻¹, což je výrazně méně, než na řece Jihlavě. Autorka uvádí výrazné zkoncentrování živin (až 5,3x) a tím i nárůst trofického potenciálu v odpadní oteplené vodě vypouštěné z jaderné elektrárny Temelín, kde hodnoty v průběhu let 2003 – 2005 kolísaly v rozpětí 280 – 300 mg.l⁻¹ ve stupni eutrofních vod. Takovýto poznatek uvádí i Žáková (2002) na řece Jihlavě pod vodními nádrží Mohelno, která slouží jako rezervoár chladící vody pro jadernou elektrárnu Dukovany. V Skryjském potoce byly hodnoty organické zátěže oproti toky velmi zvýšené, až na hranici polytrofnie, s následným naředěním ve vodní nádrží Mohelno a snížení na stupeň mezo-eutrofní.

Při statistickém vyhodnocení získaných hodnot trofického potenciálu nebyly mezi lokalitami Vladislav a Biskoupky zjištěny statisticky průkazné rozdíly. Vliv vodních děl na hodnotu saprobního indexu se při tomto sledování nepodařilo prokázat. Tato skutečnost může být dána vypouštěním odpadní oteplené vody do vodní nádrže Mohelno, kde je organická zátěž silně zkoncentrována průchodem chladícími okruhy jaderné elektrárny Dukovany (Žáková 2002)

Tabulka č.4 Hodnoty saprobního indexu na řece Jihlavě v roce 2008

	duben	květen	červen	červenec	srpen	září
Biskoupky	1,62	1,59	1,82	1,45	1,93	1,59
Vladislav	2,22	2,16	2,35	2,09	2,14	2,2

Saprobity na lokalitě Vladislav byla stanovena na hodnotu $2,19 \pm 0,09$, což znamená β -mezosaprobní stupeň dle hodnocení trofie vod (Hrbáček 1972). Tyto hodnoty nejsou na našich tocích nijak vyjímečné, ale již ukazují na zvýšenou organickou zátěž. Hodnoty saprobního indexu během sledovaného období jsou uvedeny v tabulce č.4.

V porovnání s výsledky z pozorování autorů, jež tuto lokalitu sledovali v minulosti je patrný mírný pokles indexu saprobity v průběhu času. Spurný et al. (2002) uvádí na lokalitě Vladislav v roce 1999 saprobní index 2,26 (β -mezosaprobity). Další autor, Losos (1984) uvádí saprobní index na této lokalitě roku 1984 v rozmezí hodnot 2,5 – 3,5 (α -mezosaprobní stupeň). Tato hodnota je již dosti vysoká a svědčí o silně zatíženém toku.

Saprobní index lokality Biskoupky byl stanoven na hodnotu $1,67 \pm 0,18$

β -mezosaprobní stupeň, ale spíše při jeho dolní hranici. Tyto hodnoty vypovídají o velmi mírném organickém zatížení této lokality, hodnoceném dle hodnoty saprobního indexu. Hodnoty saprobního indexu během sledovaného období jsou uvedeny v tabulce č.4.

Při porovnání s jinou řekou Jižní Moravy na jejímž toku se nacházejí významná vodní díla a protéká zemědělsky a aglomeračně exponovanou krajinou, řekou Dyjí pod vodními díly Nové Mlýny, kde je hodnota saprobity udávaná $1,96 \pm 0,24$ (Makovský 2006), 2,09 (Brychta 1999) až 3,55 (Sukop 1990), je zřejmé, že jsou si toky podobné v organické zátěži dle hodnoty saprobního indexu. Z udávaných hodnot saprobity řeky Dyje je patrný i podobný trend poklesu saprobního indexu v čase.

Po statistickém vyhodnocení získaných dat saprobního indexu z průběhu roku 2008, s hladinou pravděpodobnosti $P < 0,01$, byl zaznamenány statisticky průkazně nižší hodnoty saprobního indexu na lokalitě v k.ú. Biskoupky pod vodními díly Dalešice a Mohelno.

ZÁVĚR

Dle trofického potenciálu byla řeka Jihlava na obou lokalitách zařazena do mezo-eutrofních vod. Rozdíly mezi lokalitou nad vodními nádržemi Dalešice a Mohelno a lokalitou pod nimi nebyly zjištěny. Na základě výsledků tohoto pozorování nelze usuzovat na výraznější vliv vodních nádrží na hodnotu trofického potenciálu.

Dle indexu saprobity byla řeka Jihlava na lokalitě Vladislav zhodnocena jako β -mezosaprobní, což odpovídá stupni Ib dle klasifikace třídy jakosti povrchových vod, tedy voda čistá. Na lokalitě Biskoupky byla vyhodnocena rovněž ve stupni β -mezosaprobity, ale na spodní hranici tohoto stupně. Byly prokázány statisticky průkazně nižší hodnoty saprobního indexu na lokalitě Biskoupky, pod vodními nádržemi Dalešice a Mohelno a tudíž jejich prokazatelný vliv na míru organického zatížení tohoto toku. Rozdíl je dán s největší pravděpodobností změnou charakteru toku na sekundární pstruhové pásmo vlivem vypouštění spodní ochazené vody z nádrží a akumulací organických látek v těchto vodních nádržích.

Rozdíly v hodnocení vlivu vodních nádrží na míru organické zátěže tohoto toku jsou dány rozdílným přístupem obou metod k hodnocení organické zátěže. Saprobni index vypovídá o zatížení vod organickými sloučeninami (tuky, bílkoviny..atd.), které v nádržích sedimentují a rozkládají se, kdežto trofický potenciál hodnotí obsah elementárních prvků,sloužících jako stavební části těl rostlin, které se naopak z vodních nádrží a jejich sedimentů mohou vyplavovat.

Na základě výsledků získaných z vyhodnocení trofického potenciálu a indexu saprobity v průběhu vegetačního období roku 2008 byl střední tok řeky Jihlavy vyhodnocen jako tok se středně vysokým organickým zatížením.

LITERATURA

- BRYCHTA, M. *Fauna dolního toku Dyje a přilehlých říčních ramen.*, 1999. MZLU Brno. Diplomová práce. . 50 s
- ČSN 75 7051 (EN ISO 27 828) *Pokyny pro odběr vzorků makrozoobentosu ruční sítkou.*
- ČSN 75 7051 (EN 25 667 – 3) *Pokyny pro konzervaci vzorků a manipulaci s nimi*
- ČSN 75 7716 *Jakost vod – Biologický rozbor – stanovení saprobního indexu.*
- ČSN 75 7720 (EN ISO 86 89 – 1) *Biologická klasifikace vodních toků – část 1: Pokyny pro interpretaci údajů o biologickém stavu toků na základě sledování makrozoobentosu.*
- KOČKOVÁ, E., ŽÁKOVÁ, Z., (1983): *Vliv přečerpávání vody na chemické a biologické poměry v soustavě nádrží Dalešice – Mohelno.* In: Sborník „Voda–životné prostredie – viacúčelové zvyžitie vodných nádrží“ Košice, : 19
- KOČKOVÁ, E., et al. (1995): *Jakost vody pro vodní dílo dalešice. Kvalita vody v nádrži Mohelno ve vztahu k JE Dukovany.* Výzkumná zpráva VUV T.G.M., pobočka Brno
- KOČKOVÁ, E., ŽÁKOVÁ, Z., MLEJNKOVÁ, H., BERÁNKOVÁ, D., (1998): *Influence of River Basin, Hydro- and Nuclear power Plants on Water Quality Changes in Dalešice-Mohelno Reservoirs System.*, Internat.Rev.Hydrobiol. 83, 331 – 338.
- KOKEŠ, J., NĚMEJCOVÁ, D. (2006), *Metodika odběru a zpracování vzorků makrozoobentosu tekoucích vod metodou PERLA.*,
- MAKOVSKÝ, J., SUKOP, I., (2006): *Dynamika zoobentosu řeky Dyje.* In MendelNet'06 Agro – sborník., MZLU v Brně: Ediční středisko MZLU v Brně, 2006, s. 131. ISBN 80-7157-999-8
- MARŠÁLEK, B., LUKAVSKÝ, J. (2006), *Řasové testy trofie a toxicity*, 10 s. Dostupný z WWW: <http://www.recetox.muni.cz>
- MINISTERSTVO ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ, (2007),: *Zpráva o stavu ochrany vod České republiky za rok 2006*
- MLEJNKOVÁ, H., KOČKOVÁ, E., PAVLOVIČ, M., ŽÁKOVÁ, Z., (2005) *Chemický a biologický monitoring vlivu odpadních a dešťových vod JE Temelín : Závěrečná zpráva VÚV T.G.M., pobočka Brno.*, 125 s.
- POVODÍ MORAVY s.p. (2006), *Souhrnná zpráva o vývoji jakosti povrchových vod v povodí Moravy ve dvouletí 2005/2006.* 135 s. Dostupný z WWW: <<http://www.pmo.cz>>.
- PUNČOCHÁR P., DESORTOVÁ, B., (2003), *Informace o stavu trofie našich vodních zdrojů* In. SOVAK no 5/2003, 1-3
- SPURNÝ, P., MAREŠ, J., HEDBÁVNÝ, J., SUKOP, I., (2002): *Heavy metals distribution in the ecosystems of the upper course of the Jihlava River.* In.: Czech J. Anim. Sci., 47, 160 – 167

SUKOP, I. (1990): *Influence of the water works at Nové Mlýny on macrozoobenthos of the Dyje River in the vicinity of biosphere reserve Pálava (southern Moravia)*. *Ekológia*, (ČSSR), 9, 1 :73-86.

ŽÁKOVÁ, Z. (2002): *Změny trofického potenciálu a koncentrace chlorofylu a v řece Jihlavě a v nádržích Dalešice a Mohelno od jejich napuštění (Changes of the trophic potential and chlorophyll a content in the River Jihlava, and Dalešice-Mohelno Reservoirs since the infilling)*. *Czech Phycology* 2: 115-124, ISSN 1802-5439

PROPERTIES OF A RE-EVALUATED AGRICULTURAL SOILS IN MORAVSKÝ PÍSEK LAND REGISTER

VLASTNOSTI REBONITOVANÝCH ZEMĚDĚLSKÝCH PŮD V KATASTRU OBCE MORAVSKÝ PÍSEK

Náplavová M., Hybler V.

Department of Agrochemistry, Soil Science, Microbiology and Plant Nutrition, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: miloslava.naplavova@uake.cz, hybler@node.mendelu.cz

ABSTRACT

These work's goal is to specify and examine four randomly selected localities and their soil properties. There are two example sets, first was taken from Complex Soil Exploration (KPP) (1963) and second set is my own (2008). Both were from Moravský Písek land register, where re-evaluation in 2004 was made. The main land user in this area is the agro-enterprise Svornost Těmice Inc. This thesis compares changes at topsoil and under-topsoil properties since 1963 (KPP) to 2004 (re-evaluation). Changes are expressed by bonitation codes (BPEJ) and supplied by my own laboratory analysis results. Biggest changes are apparently at granular constitution in topsoil and under-topsoil layer. I suppose that acidity wasn't analysed completely at KPP, because in all probes and strata was measured the same value. These soil feature changes were significant at re-evaluation localities in 2004, when locality V9 was excluded from ZPF, at V10 was code changed to BPEJ 07001, at V5 stayed BPEJ 02110 without changes and V6 was also changed to BPEJ 02110. My own analyses confirmed these changes and complemented it by particular measured data. Only at place V5, I suppose, BPEJ code change should be made, in consequence of large elements content changes.

Keywords: soil properties, re-evaluation, BPEJ, evaluation

ABSTRAKT

Cílem této práce je zpřesnění a posouzení čtyř náhodně vybraných výběrových sond, a jejich půdních vlastností na základě půdních vzorků odebraných při KPP z r. 1963 a vlastních vzorků z r. 2008 na katastrálním území Moravský Písek, kde proběhla v r.2004 rebonitace. Na daném katastrálním území hospodaří zemědělský podnik Svornost Těmice a.s.. Práce porovnává změny vlastností půd v orniční a podorniční vrstvě od roku 1963 (KPP) do rebonitací v r. 2004 vyjádřené změnou kódu BPEJ a doplňuje vlastními výsledky laboratorních rozborů vzorků odebraných v terénu na daném katastrálním území. K největším změnám došlo u zrnitostního složení v orniční a podorniční vrstvě. U srovnání acidity se lze domnívat, že rozborů nebyly provedeny přesně při KPP, protože u všech sond a vrstev bylo naměřeno jedno číslo. Tyto změny půdních vlastností se promítly při rebonitaci pozemků v r. 2004, kdy pozemek V9 byl vyjmut z ZPF, u V10 došlo ke změně kódu na BPEJ 07001, V5 zůstala BPEJ 02110 beze změny a u sondy V6 došlo také ke změně na BPEJ 02110. Vlastní rozborů tyto změny potvrdily a zpřesnily je konkrétními naměřenými údaji. Jen u sondy V5 se domnívám, že by měla nastat změna kódu BPEJ, v důsledku velké změny obsahu částic.

Klíčová slova:BPEJ, bonitace, vlastnosti půd, rebonitace

ÚVOD

Tato práce porovnává změny vlastností půd v orniční a podorniční vrstvě naměřených v r. 1963 (KPP) a vlastních rozborů z r.2008, které jsou porovnávány s údaji z r.2004, kdy na daném katastru proběhla rebonitace.

Půda je základním předpokladem života na Zemi. Na půdu je třeba vždy pohlížet jako na dynamický přírodní útvar, který se tvoří, vyvíjí a udržuje pod vlivem okolního prostředí. Studují-li se půdní vlastnosti, předmětem studia je vždy jednotlivý půdní horizont.

Kvalita zemědělské půdy v České republice se hodnotí prostřednictvím bonitace (bonita = dobrá jakost, hodnota). Bonitační klasifikace byla zpracována pro veškerou zemědělskou půdu bez rozlišení druhů pozemků (kultur). Bonitace zemědělské půdy formou dalšího přeshňování (rebonitace) probíhá i v současnosti.

Bonitační klasifikace zemědělské půdy a její ekonomické ocenění umožňují diferencovat produkční schopnost půd v rámci katastrálních území a uvnitř jednotlivých zemědělských podniků. Po zavedení BPEJ do katastrů nemovitostí je možné hodnotit a oceňovat produkční schopnosti i u jednotlivých zemědělských pozemků každého vlastníka půdy. V důsledku rebonitace může dojít k nárůstu, nebo poklesu jednotkové ceny půdy (kč/m²), což se následně promítá do daňového zatížení podniku.

Za uplynulých asi 20 let došlo v mnoha případech z důvodu necitlivého velkoplošného hospodaření vlivem vodní a větrné eroze k devastaci zemědělských půd.

CÍL

Cílem práce je zpřesnění a posouzení čtyř náhodně vybraných výběrových sond a jejich půdních vlastností na základě půdních vzorků odebraných při KPP (Komplexní průzkum půd) z r. 1963 a vlastních vzorků z r. 2008 na katastrálním území Moravský Písek, kde proběhla v r. 2004 rebonitace. Na daném katastrálním území hospodaří zemědělský podnik Svornost Těmice, a. s. Práce porovnává změny vlastností půd v orniční a podorniční vrstvě z r. 1963 (KPP) a rebonitací z r. 2004 vyjádřené změnou kódu BPEJ a doplňuje vlastními výsledky laboratorních rozborů vzorků odebraných v terénu na daném katastrálním území. K práci poskytl materiály a konzultace Pozemkový úřad Hodonín (Ing. Michal Vachek), který spolupracoval na rebonitaci daného území s VÚMOP (Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy) Brno.

METODIKA A MATERIÁL

Na základě materiálů z KPP, které poskytl Pozemkový úřad Hodonín, byly vybrány čtyři výběrové sondy.

Vzorky byly odebrány 16.4.2008 na třech vybraných stanovištích na k.ú Moravský Písek. Původně měly být odebrány vzorky ze čtyř stanovišť, ale na stanovišti V9 byla provedena navážka zeminy. Vzorky nebyly odebrány, protože by neměly vypovídací charakter původního stanoviště.

Odběr vzorků byl proveden pomocí pedologické sondovací tyče s komorovou hlavicí. U každé sondy byly vzorky odebírány z několika horizontů do hloubky 105 cm.

Provedené laboratorní rozbory

Zrnitostní složení půdy

Zrnitostní rozbor půdy podává údaje o poměrném (%) zastoupení částic určité velikosti a je základem klasifikace půdy podle druhu nebo zrnitostní třídy. Třídění zrn pro pedologické účely se provádí pomocí vody, v níž je vzorek rozptýlen (půdní hydrosuspenze). Byla využita pipetovací metoda, která patří do skupiny neopakovatelné sedimentace.

Půdní organická hmota

Organický uhlík v půdě se zkoumá z hlediska kvantitativního a kvalitativního. Často je hledisko kvality humusu významnější charakteristikou než jeho kvantita. V práci bylo využito stanovení kvantitativní spalováním za mokra – oxidometricky „metoda Walkley – Black, modif. Novák – Pelíšek“.

Reakce půdy

Jednou ze základních charakteristik půdních vlastností je její reakce.

- ***Stanovení aktivní půdní reakce potenciometricky*** - hodnota aktivní reakce se stanoví změřením pH vodní suspenze zeminy pomocí kombinované elektrody.
- ***Stanovení výměnné půdní reakce*** - ionty vodíku, poutané půdními koloidy, se vytěsní draselnými ionty a elektrometricky se změří výměnná reakce půdy (pH/KCl).

Stanovení hydrolytické acidity podle Kappena

Na vzorek zeminy se působí roztokem octanu sodného a uvolněná kyselina octová se titruje roztokem hydroxidu sodného.

Stanovení zdánlivé hustoty tuhé fáze vzorku (měrné hmotnosti)

Pro rozbor dále potřebujeme znát hmotnost jednotky objemu tuhé fáze půdy, tzn. specifickou (měrnou) hmotnost čili hustotu ρ_s ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$). Je to stav uměle vytvořený, bez pórů, který se u sypkých materiálů zjišťuje pomocí pyknometru.

Výběrové sondy z KPP r. 1963 v k.ú Moravský Písek – JZD v Moravský Písek – okres Hodonín

Polní půdní záznamy:Sonda číslo: **V9**

Sekce: Uherské Hradiště 9-4

Poloha: mírný svah

Místní název: Padělky

Nadmořská výška: 179 m

Matečná hornina (uložení zvětraliny): 72

Označení půdy: DA

Horizonty (označení indexy)	hor	(h) P	P ₁	P ₂	P ₃
	1	2	3	4	5
Vzorek z hloubky v cm	5-15	26-36	41-51	65-75	115-125
Zrnitostní složení (obsah frakcí v %)					
< 0,01 mm	3,5	2,1	1,4	0,8	9,4
< 0,001 mm	∅	∅	∅	∅	5,5
0,001 - 0,01 mm	3,5	2,1	1,4	0,8	3,9
0,01 - 0,05 mm	3,2	1,9	2	0,5	0,5
0,05 - 0,25 mm	26,6	12,1	25,2	40,3	34,4
0,25 - 2 mm	68,7	83,9	71,4	58,4	55,7
org.uhlík v % (Ct)	1,06	0,3	0,13	0,09	0,12
Humus v % (Ct*1,724)	1,82	0,51	0,22	0,15	0,2
pH akt. (H₂O)	7	7,1	7	6,7	6,9
pH vým. (KCl)	7	6,7	6,5	6	6,5
Titrační acidita mval/100g	-	0,6	0,6	0,6	0,6

Sonda číslo: **V5**

Sekce: Uherské Hradiště 9-4

Poloha: rovina

Místní název: Díly u dědiny

Nadmořská výška: 181 m

Matečná hornina (uložení zvětraliny): 72

Označení půdy: DA

Horizonty (označení indexy)	hor	(h) P	P ₁	P ₂
	1	2	3	4
Vzorek z hloubky v cm	5-15	45-55	80-90	110-120
Zrnitostní složení (obsah frakcí v %)				
< 0,01 mm	8,4	3,2	0,9	2,7
< 0,001 mm	4,1	0,6	0,1	0,9
0,001 - 0,01 mm	4,3	2,6	0,8	1,8
0,01 - 0,05 mm	9,0	2,1	10,2	0,5
0,05 - 0,25 mm	36,2	26	18,6	2,9
0,25 - 2 mm	46,4	68,7	80,3	93,9
org.uhlík v % (Ct)	1,08	0,12	0,05	0,01
Humus v % (Ct*1,724)	1,86	0,2	0,08	0,01
pH akt. (H₂O)	6,1	6,2	6,6	6,4
pH vým. (KCl)	6	6,1	6,5	6,3
Titrační acidita mval/100g	0,6	0,6	0,6	0,6

Sonda číslo: V6
 Sekce: Uherské Hradiště 9-4
 Poloha: rovina
 Místní název: Pod Zadní hory
 Nadmořská výška: 183,5 m
 Matečná hornina (uložení zvětraliny): 72
 Označení půdy: ČM

Horizonty (označení indexy)	hor	h/ P	h/P	(h)P ₂	P ₂
	1	2	3	4	5
Vzorek z hloubky v cm	5-15	45-55	75-85	100-110	125-135
Zrnitostní složení (obsah frakcí v %)					
< 0,01 mm	36,2	33,8	45,3	16,9	10,9
< 0,001 mm	16,9	15,8	22,1	5	2
0,001 - 0,01 mm	19,3	18	25,2	11,9	8,9
0,01 - 0,05 mm	26,5	29,3	27,4	8,7	12,3
0,05 - 0,25 mm	23,3	20,3	15,3	48,3	44,3
0,25 - 2 mm	14	16,6	12	26,1	32,5
org.uhlík v % (Ct)	1,22	0,93	0,74	0,66	0,38
Humus v % (Ct*1,724)	2,1	1,6	1,27	1,13	0,65
pH akt. (H₂O)	2	3	1	1	1
pH vým. (KCl)	7,4	7,3	7,3	7,5	7,4
Titrační acidita mval/100g	7	7,1	7	7	7

Sonda číslo: V10
 Sekce: Uherské Hradiště 9-4
 Poloha: rovina
 Místní název: Dolní rybník
 Nadmořská výška: 171 m
 Matečná hornina (uložení zvětraliny): 62
 Označení půdy: LPg

Horizonty (označení indexy)	h ₁	h ₂	hP (g)	P _{1g}	P _{2g}
	1	2	3	4	5
Vzorek z hloubky v cm	5-15	18-28	35-45	55-65	110-120
Zrnitostní složení (obsah frakcí v %)					
< 0,01 mm	40	49,2	56	58	60,7
< 0,001 mm	14,1	25,1	27,5	33,6	38,4
0,001 - 0,01 mm	25,9	24,1	28,5	24,4	22,3
0,01 - 0,05 mm	25,2	30,5	32,3	31,5	27,5
0,05 - 0,25 mm	27,5	15,3	9,5	9,7	10,7
0,25 - 2 mm	7,3	5	2,2	0,8	1,1
org.uhlík v % (Ct)	2,88	1,57	1,32	0,54	0,51
Humus v % (Ct*1,724)	4,96	2,7	2,27	0,93	0,87
pH akt. (H₂O)	6,7	7	6,9	7	6,8
pH vým. (KCl)	6,6	6,9	6,5	6,4	6,7
Titrační acidita mval/100g	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6

VÝSLEDKY A DISKUSE

Na území katastru Moravský Písek byly dohledány tři náhodně vybrané výběrové sondy dle pracovní mapy KPP z r. 1963, z nichž byly odebrány vlastní vzorky 16.4.2008 a provedené laboratorní rozborů. Na základě poskytnutých výsledků rozborů, které byly vyhotoveny při KPP v dané lokalitě, porovnáváme a zpřesňujeme pH, obsah humusu, zrnitost a titrační (hydrolytickou) aciditu. Práce byla zaměřena na orníční a podorníční vrstvu, kde dochází obvykle k největším změnám.

Tab. 1: Výsledky vlastních rozborů (r. 2008)

sonda	hloubka	pH/KCl	pH/H ₂ O	organický uhlík v (%)	humus v (%)	titrační acidita mmol*100g
V5	0-30	4,92	5,65	1,02	1,76	2,45
V5	30-60	5,69	6,45	0,31	0,54	1,53
V5	60-90	5,85	6,66	-	-	0,92
V5	90-105	5,78	6,69	-	-	1,23
V6	0-30	6,9	7,64	1,24	2,14	0,92
V6	30-60	7,08	7,92	0,69	1,19	0,92
V6	60-90	7,2	7,96	-	-	0,61
V6	90-105	7,22	7,94	-	-	0,77
V10	0-30	5,8	6,7	2,36	4,07	2,61
V10	30-60	6,03	7,29	0,63	1,08	1,84
V10	60-90	6,16	7,58	-	-	1,53
V10	90-105	6,26	7,75	-	-	1,23

Výběrové sondy

V9:

Z této sondy jsem vzorky neodebírala z důvodu navážky zeminy před několika lety. Vlastnosti půdy by neměly vypovídající charakter a porovnání s výsledky by proto nemělo cenu. V důsledku rozrůstající se zástavby na daném území se zde předpokládá výstavba nových domů. Při KPP zde byla BPEJ 00401 [velmi teplý klimatický a suchý region, HPJ – DA - drnová půda (Geneticko–agronomická klasifikace půd ČSSR 1967), dnes označována jako RG – regozem (Taxonomický klasifikační systém půd ČR 2001), bezskeletovitá, mírný sklon]. Dle ČÚZK je daná parcela bez BPEJ, protože byla vyjmuta ze ZPF, je označena jako ostatní plocha a způsob využití dobývací prostor.

V10:

Sonda se nachází v místní trati Dolní rybník. Jedná se o rovinu s mírným sklonem, na které se nacházejí TTP. Při KPP byla BPEJ 06200 [velmi teplý klimatický a suchý region, HPJ – LPg – lužní půda glejová (Geneticko – agronomická klasifikace půd ČSSR 1967), dnes označována jako CCq – černice glejová (Klasifikační systém půd ČR 2001), bezskeletovitá, rovina]. Dle ČÚZK je parcela na, které byla sonda vrtána rebonitována na BPEJ 07001 [velmi

teplý klimatický a suchý region, HPJ – GL –glej (Klasifikační systém půd ČR 2001), bezskeletovitá, mírný sklon].

U daného pozemku došlo ke změně BPEJ. Jedná se o půdy slabě kyselé v orniční i podorniční vrstvě. Obsah humusu zůstává také nezměněn v orniční vrstvě je vysoký a v podorniční vrstvě nízký. Větší změna nastala u hydrolytické acidity původně byla velmi slabá dnes je slabá. Došlo k nárůstu obsahu částic < 0,001 mm, jinak zrnitostní složení zůstalo skoro nezměněné.

Závěrem lze konstatovat, že půdní vlastnosti u daného pozemku zůstaly stejné. Byly zde jen menší změny. Je to dáno i charakterem využívání daného pozemku, protože se jedná o TTP porosty, které nejsou intenzivně využívány.

Schéma změny HPJ:

*Zvýšený vliv podzemní vody (nefunkční odvodnění, povodně) v údolní nivě řeky Moravy
(jižní část katastru)*

původní půdní horizont

HPJ 62



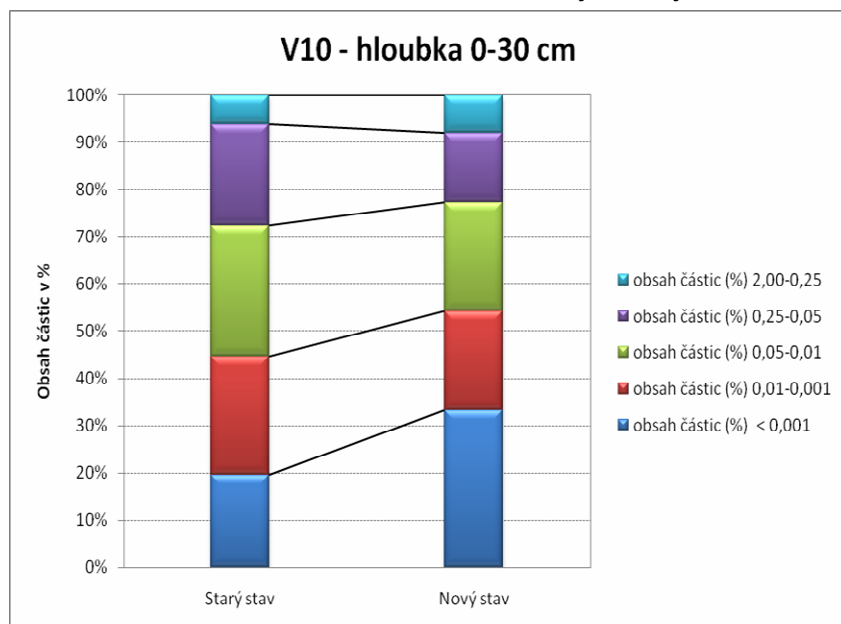
při zvyšujícím se hydromorfismu půd (glejový proces) se změnila HPJ na

HPJ 70

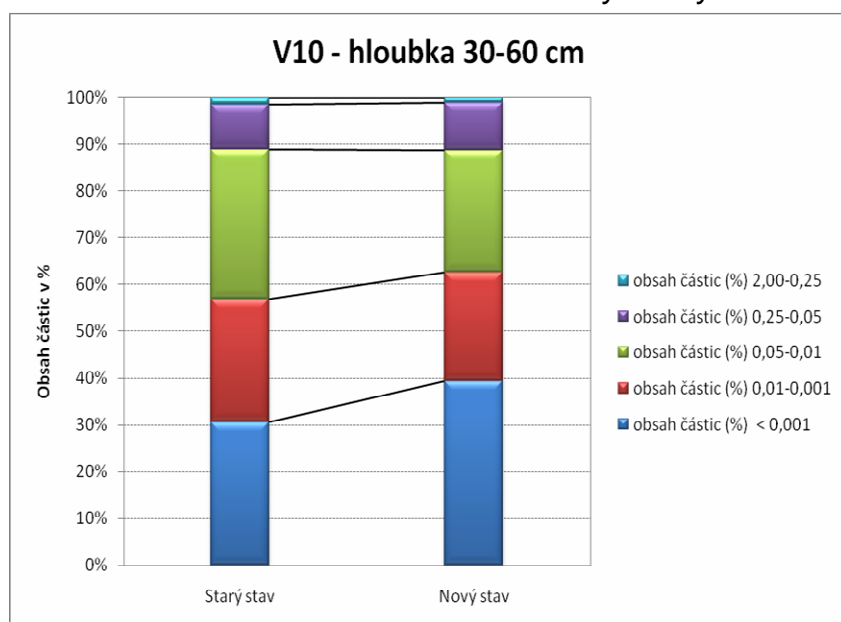
Tab. 2: Zrnitostní složení nový stav V10

číslo sondy	hloubka cm	obsah částic (%)					
		2,00-0,25	0,25-0,05	0,05-0,01	0,01-0,001	< 0,001	< 0,01
V10	0-30	8,01	14,71	22,96	21	33,32	54,32
V10	30-60	1,03	10,25	26,04	23,2	39,48	62,68
V10	60-90	0,98	11,42	17	28,8	41,8	70,6
V10	90-105	1,71	13,73	20,56	20,08	43,92	64

Graf 1: Zrnitostní složení V10 - 0-30 cm starý a nový stav



Graf 2: Zrnitostní složení V10 – 30-60 cm starý a nový stav



V5:

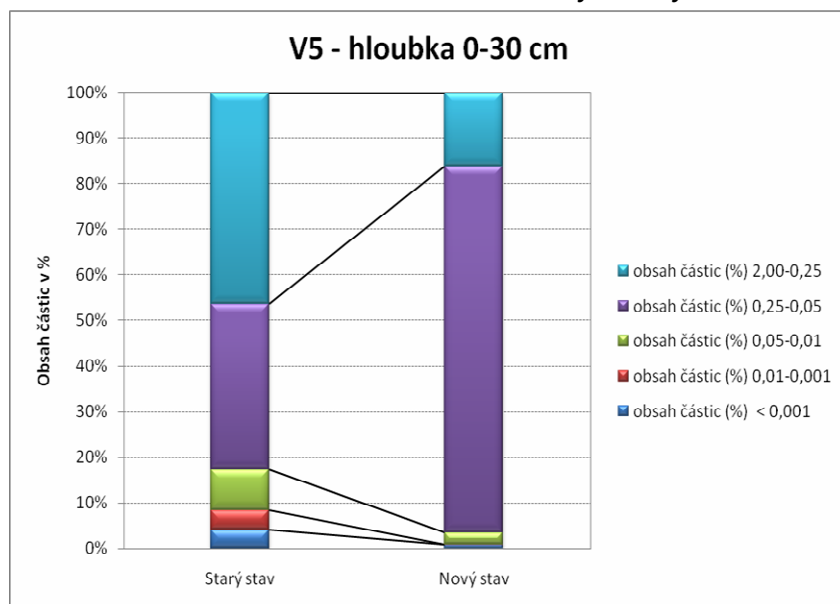
Sonda se nachází v místní trati Díly u dědiny a jedná se o ornou půdu. Při KPP byla BPEJ 02110 [velmi teplý klimatický a suchý region, HPJ –DA –drnová půda (Geneticko – agronomická klasifikace půd ČSSR 1967), dnes označována jako RG – regozem (Klasifikační systém půd ČR 2001), bezskeletovitá až slabě skeletovitá, rovina]. Nedošlo zde po rebonitaci v r.2004 ke změně BPEJ.

U daného pozemku došlo ke změně pH u orniční vrstvy z původní slabě kyselé na kyselou. V podorničí žádná změna nenastala. Obsah humusu zůstal také nezměněn. V orniční vrstvě je obsah humusu nízký a v podorničí je velmi nízký. Hydrolytická acidita v orniční vrstvě je slabá a v podorničí velmi slabá. V orniční i podorniční vrstvě došlo k velkému nárůstu částic 0,25-0,05 mm a snížení částic 2,00-0,25 mm.

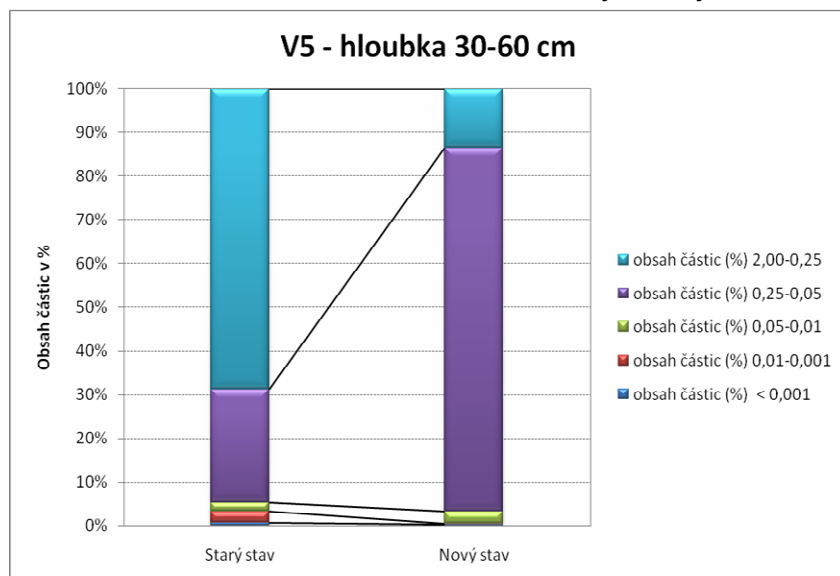
Tab.3: Zrnitostní složení nový stav V5

číslo sondy	hloubka cm	obsah částic (%)					
		2,00-0,25	0,25-0,05	0,05-0,01	0,01-0,001	< 0,001	< 0,01
V5	0-30	16,18	80,34	2,65	0,07	0,76	0,83
V5	30-60	13,53	83,16	2,79	0,19	0,33	0,52
V5	60-90	16,77	82,87	0,64	0,39	0,11	0,28
V5	90-105	16,38	83,83	0,65	0,59	0,28	0,87

Graf 3: Zrnitostní složení V5 – 0-30 cm starý a nový stav



Graf 4: Zrnitostní složení V5 – 30-60 cm starý a nový stav



V6:

Sonda se nachází v místní trati Nivky. Na povrchu půdy byla vojtěška setá, jinak se půda využívá jako půda orná. Při KPP byla BPEJ 00401 [velmi teplý a suchý region, HPJ –

ČM drnové půdy (DA) černozemní, (Geneticko – agronomická klasifikace půd ČSSR 1967), dnes označována jako CE – černozem, bezskeletovitá, mírný sklon] po rebonitaci došlo ke změně na BPEJ 02110 [velmi teplý a suchý region, HPJ – DA – drnová půda (Geneticko – agronomická klasifikace půd ČSSR 1967), dnes označována jako RG – regozem (Klasifikační systém půd ČR 2001), bezskeletovitá až slabě skeletovitá, rovina].

U daného pozemku je pH v orniční i podorniční vrstvě neutrální, při KPP bylo pH u orniční vrstvy alkalické. U humusu, došlo k malé změně. V orniční vrstvě je obsah humusu střední a v podorničí nízký. Hydrolytická acidita nebyla u této sondy při KPP určena, ale můžeme se domnívat dle předchozích sond, že nenastala žádná výrazná změna. Nyní byla naměřena hodnota je 0,92 mmol*100g, což znamená, že je velmi slabá. Výrazně se zvýšil v orniční i podorniční vrstvě podíl částic 0,25-0,05 mm. Dále došlo k významnému poklesu ostatních částic (2,00-0,25; 0,05-0,01; 0,01-0,0001 a < 0,001 mm).

Schéma změny HPJ:

Eroze v území vátých písků (střední, mírně svažité část katastru)

původní zachovaný půdní horizont

HPJ 04



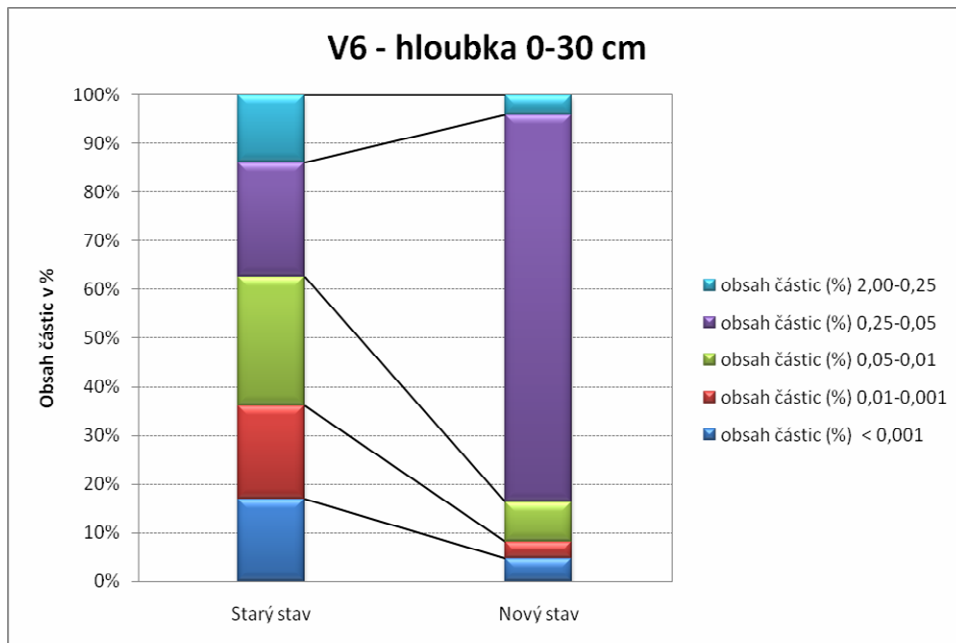
kde nastal částečný nebo úplný odnos humusového horizontu, případně pohřbení půdního horizontu pod recentními vátými písky (větrná eroze) se změnila HPJ na

HPJ 21

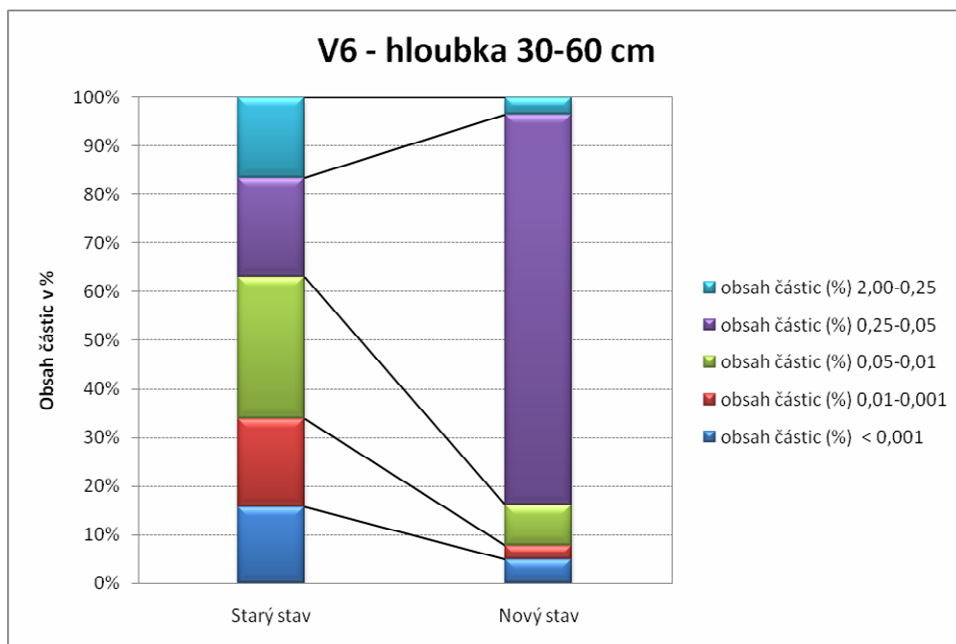
Tab. 4: Zrnitostní složení nový stav V6

číslo sondy	hloubka cm	obsah částic (%)					< 0,01
		2,00-0,25	0,25-0,05	0,05-0,01	0,01-0,001	< 0,001	
V6	0-30	4,05	79,69	8,11	3,33	4,81	8,15
V6	30-60	3,53	80,39	8,29	2,81	4,97	7,79
V6	60-90	5,97	78,82	7,52	2,47	5,23	7,69
V6	90-105	12,26	81,59	3,61	0,27	2,27	2,53

Graf 5: Zrnitostní složení V6 – 0-30 cm starý a nový stav



Graf 6: Zrnitostní složení V6 – 30-60 cm starý a nový stav



ZÁVĚR

Výběrová sonda V9 měla BPEJ 00401, nyní je daná parcela vyjmuta ze ZPF a označena jako ostatní plocha. Z této sondy jsem vzorky neodebírala z důvodu navážky zeminy před několika lety. Vlastnosti půdy by neměly vypovídající charakter.

Výběrová sonda V10 se nachází v místní trati Dolní rybník, kde je TTP. Došlo zde ke změně z BPEJ 06200 na BPEJ 07001. Jde o půdu slabě kyselou v orniční i podorniční vrstvě. U obsahu humusu nedošlo k významné změně. V orniční vrstvě je obsah vysoký a v podorniční vrstvě nízký. Změna nastala u hydrolytické acidity: původně byla velmi slabá, dnes je slabá. Došlo k významnému nárůstu obsahu částic <0,001 mm, jinak zrnitostní složení zůstalo skoro nezměněno. Významným půdotvorným činitelem na daném pozemku je glejový proces.

Výběrová sonda V5 se nachází v místní trati Díly u dědiny a jedná se o ornou půdu. BPEJ 02110 zůstala i po rebonitaci stejná. Došlo zde ke změně pH u orniční vrstvy z původní slabě kyselé na kyselou. V podorničí žádná významná změna nenastala. Obsah humusu zůstal také nezměněn. V orniční vrstvě je obsah humusu nízký a v podorničí je velmi nízký. Hydrolytická acidita v orniční vrstvě je slabá a v podorničí velmi slabá. V orniční i podorniční vrstvě došlo k velkému nárůstu částic 0,25-0,05 mm a snížení množství částic 2,00-0,25 mm. Je to dané z určité části větrnou erozí, při níž dochází k odnášení menších částic. Dále předpokládám, že je to do jisté míry způsobené i intenzivním obděláváním půdy (rotační kypřiče, atd.).

Výběrová sonda V6 se nachází v místní trati Nivky. Jedná se o zemědělskou půdu. Došlo zde ke změně kódu z BPEJ 00401 na BPEJ 02110. U daného pozemku je pH v orniční i podorniční vrstvě neutrální, při KPP bylo pH u orniční vrstvy alkalické. U humusu došlo k malé změně. V orniční vrstvě je obsah humusu střední a v podorničí nízký. Hydrolytická acidita nebyla u této sondy při KPP určena, ale můžeme se domnívat dle předchozích sond, že nenastala žádná výrazná změna. Byla naměřena hodnota $0,92 \text{ mmol} \cdot 100\text{g}^{-1}$, což znamená, že je velmi slabá. Výrazně se zvýšil v orniční i podorniční vrstvě podíl částic 0,25-0,05 mm. Můžeme se domnívat, že je to dané jako u předchozí sondy v důsledku větrné eroze, kdy dochází k odnesení menších půdních částic.

K největším změnám došlo u zrnitostního složení v orniční a podorniční vrstvě. U srovnání hydrolytické (titrační) acidity se lze domnívat, že rozborů nebyly provedeny přesně při KPP, protože u všech sond a vrstev bylo stanovena stejná hodnota. U V10 došlo oproti KPP k mírnému snížení pH u hloubky 30-60 cm, dále se zde obsah humusu nepatrně zvýšil u hloubky 0-30 cm a snížil u hloubky 30-60 cm. U sondy V5 došlo ke zvýšení obsahu humusu v hloubce 30-60 cm, pH zůstalo skoro beze změny jen s nepatrným poklesem. U sondy V6 došlo k mírnému poklesu obsahu humusu v hloubce 30-60 cm.

Tyto změny půdních vlastností se promítly do rebonitací pozemků v r. 2004, kdy pozemek V9 byl vyjmut z ZPF, u V10 došlo ke změně kódu na BPEJ 07001, V5 zůstala BPEJ 02110 beze změny a u sondy V6 došlo také ke změně na BPEJ 02110. Vlastní rozborů tyto změny potvrdily a zpřesnily je konkrétními naměřenými údaji. Jen u sondy V5 se domnívám,

že by měla nastat změna kódu BPEJ v důsledku velké změny poměru zastoupení různě velkých částic.

LITERATURA

Šimek, M.: Základy nauky o půdě, 1. Neživé složky půdy. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Biologická fakulta, 131s., ISBN 80-7040-629-1

Šimek, M.: Základy nauky o půdě, 3. Biologické procesy a cykly prvků. České Budějovice, 2003, 151s., ISBN 80-7040-630-5

Šarapatka, B., Dlapa, P., Bedrna, Z.: Kvalita a degradace půdy. Olomouc, 2002, 246s., ISBN 80-244-0584-9

Šarapatka, B., Urban, J. a kol.: Ekologické zemědělství v praxi. PRO-BIO Šumperk, 2006, ISBN 978-80-903583-0-0

Jandák, J. a kol.: Cvičení z půdoznalství. Ediční středisko MZLU v Brně, 2003, 92s., ISBN 80-7157-733-2

Jandák, J.: Cvičení z půdoznalství. Ediční středisko VŠZ v Brně, 1989, 213s., ISBN 55-926-89

Jandák, J., Prax, A., Pokorný, E. : Půdoznalství. Ediční středisko MZLU v Brně, 2001 (2004), 140s., ISBN 80-7157-559-3

Mašát, K.: Metodika vymezení a mapování bonitovaných půdně ekologických jednotek. VÚMOP Praha, 2002, str.7-10, str. 15-43, ISBN 80-238-9095-6

Němec, J.: Pozemkové právo a trh půdy. Vydal Výzkumný ústav zemědělské ekonomiky Praha, 2004, str. 8, 17 – 18 a 81 – 82, ISBN 80-86671-12-7

Němec, J.: Bonitace a oceňování zemědělské půdy České republiky. Vydal Výzkumný ústav zemědělské ekonomiky Praha, 2001, str. 15 – 31 a 57 – 65, ISBN 80-85898-90-X

Němeček, J. a kol.: Taxonomický klasifikační systém půd České Republiky. Praha, 2001, 78s., ISBN 80-238-8061-6

Němeček, J. a kol.: Průzkum zemědělských půd ČSSR, 1.díl. Praha, 1967, 200s.

Damaška, J. a kol.: Průzkum zemědělských půd ČSSR, 2.díl. Praha, 1966, 132s.

Tomášek, M.: Půdy České Republiky. Praha, 2003, 67s., ISBN 80-7075-607-1

Kusyn, V.: Komplexní průzkum půd ČSSR, okres Hodonín, (Expediční skupina pro průzkum půd – Brno), 1963

Dostupné na WWW:

- Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta [cit. 2006-3-3]

- <<http://www2.zf.jcu.cz/~tomasm00/Methodick%FD%20n%E1vod%20P%DA%202000>>
- Stavební fakulty ČVUT v Praze, katedra mapování a kartografie, Historie mapovacích prací v ČR [cit. 2006-15-3] <<http://gama.fsv.cvut.cz/%7Ekatmap/mapovani/historie/index.html>>
- Land Management [cit. 2006-15-3] <<http://www.la-ma.cz/pozupr/pu.php?co=9>> Land Management
- Výzkumný ústav zemědělské ekonomiky 2006 [cit. 2006-15-3] <www.vuze.cz/CZ/Main/EAFRD/Regio/Zranitelne_oblasti.doc>
- Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy Praha <http://www.vumop.cz/odd_gis.html>
- Ministerstvo zemědělství, 2006 [cit. 2006-23-3] <<http://www.mze.cz/default.asp?typ=2&ch=72&ids=2105&val=2105>>
- Český hydrometeorologický ústav, 2005 [cit. 2006-2-4] <<http://www.chmi.cz/meteo/ok/okdat51.html>>
- Český hydrometeorologický ústav, 2005 [cit. 2006-2-4] <<http://www.chmi.cz/meteo/ok/okdata12.html>>
- Poradenský server pro podporu malých a středních podnikatelů,2000 [cit. 2006-6-4] <<http://www.podnikame.cz/zakony98/index.php3?co=Z1998327>>
- Český ústav zeměměřičský a katastrální, 2008 [cit. 2008-3-4] <<http://www.cuzk.cz>>

Obr. 1: Výběrové sondy (autor, 2008)



AMOUNT OF PROPERTY DAMAGE TO ANIMAL PRODUCTION CAUSED BY IMMISSIONS

VÝŠKA ŠKÔD SPÔSOBENÁ IMISIAMI NA ŽIVOČÍŠNEJ VÝROBE

Paulovičová J., Kalúz K.

Department of Landscape Engineering, Horticulture and Landscape Engineering Faculty, Slovak University of Agriculture in Nitra, Hospodárska 7, Nitra, Slovakia

E-mail: jozefina.paulovicova@uniag.sk, karol.kaluz@uniag.sk

ABSTRACT

Immission situation has changed during the last century. Level of emission has dropped, and that is reflected on charging of environment with immisions. Although the immision level has dropped, property damage they do is still inconsiderable high. That is why it is necessary to concern at calculation of economic damage caused by immissions, but also correctness of used methodology of calculation. Average values of utility of livestock near heat powerplant were used for solution of this work. Four species of animals were chosen: milkers (dairy cow), young cattle, beef cattle and vealers. Calculation of economic damage caused by immissions is done in accordance to methodology of valuation of restitution of economic damage caused by immissions in agricultural production created by Němec (1992). Two calculations were done. First one was done for livestock exposed to immisions, second one was done for livestock exposed to immisions and affected by contaminated food. Total value of economic damage for livestock exposed to immisions in long time period in first degree of pollution is almost 3034500,- Sk. Evaluation of calculation for livestock exposed to immisions in long time period and affected by contaminated food in first degree of pollution is almost 2691500,- Sk. These calculations were theoretical and in them we contemplated that concentrations of immissions don't occur in that range as they are included to categories. That is why we want to notice that in low concentrations (lower than $40 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$) are caused economic damage of utility of livestock.

Key words: economic damage, utility of livestock, damage caused by immissions, immission concentrations, utility dropping

Acknowledgments: 1/4426/07 Assessment of dust concentrations of air pollution by damaging of agricultural crops

ÚVOD

Imisná situácia sa v priebehu ostatného storočia zmenila. Došlo k výraznému zníženiu emisií, a tým sa to odrazilo aj na zaťažovaní prostredia imisiami. Napriek zmene výrobných technológií viacerých priemyselných podnikov, sa naďalej v prostredí prejavujú záťaže spôsobené staršími výrobnými prostriedkami používanými vo výrobe v predchádzajúcom období, ale i súčasná produkcia emisií. I keď nastalo zníženie imisií, škody, ktoré spôsobujú, stále tvoria nezanedbateľnú položku rozpočtu (nákladov) poľnohospodárskych podnikov. Preto je stále nutné zaoberať sa výpočtom výšky ekonomickej škody spôsobenej imisiami, ale aj správnosťou používanej metodiky na ich stanovenie.

MATERIÁL A METODIKA

Na riešenie práce boli použité priemerné hodnoty úžitkovosti hospodárskych zvierat v okolí tepelnej elektrárne Nováky. Boli vybrané štyri druhy hospodárskych zvierat, a to dojnice, mladý hovädzí dobytok, výkrmný hovädzí dobytok a teľatá. Výpočet ekonomickej škody spôsobenej imisiami na živočíšnej výrobe sa robil podľa metodiky Oceňovania náhrad škôd spôsobených imisiami na poľnohospodárskej výrobe zostavenej Němcem (1992).

Výška ekonomickej škody (Eš) na úžitkovosti hospodárskych zvierat sa vypočíta pomocou vzorca:

$$Eš = \frac{A_1}{100 - B_1} * B_1 \text{ [Sk]},$$

kde: A_1 – hrubá produkcia konkrétnej úžitkovosti hospodárskych zvierat dosiahnutá v danom kalendárnom roku [Sk],

B_1 – zníženie výnosu príslušnej úžitkovosti hospodárskych zvierat [%].

V práci sme urobili dva výpočty. Prvý výpočet podľa Němca (1992) bol určený pre hospodárske zvieratá vystavené pôsobeniu imisií. Zníženie úžitkovosti týchto zvierat podľa jednotlivých stupňov znečistenia je uvedené v tabuľke 1. V druhom prípade, podľa Ráčka a Preiningerovej (1988) boli zvieratá vystavené nielen samotnému pôsobeniu imisií, ale dostávali aj kontaminované krmivo. Percentuálna výška škôd dosahovaná v tomto prípade je napísaná v tabuľke 2. V tomto prípade sme pri vyčíslení ekonomickej škody výslednú hodnotu redukovali o 50 % z dôvodu možnosti nákupu náhradných (nekontaminovaných) krmív. Pre príklad výpočtu sme zvolili v oboch prípadoch prvý stupeň, resp. zónu znečistenia prostredia.

Tab. 1: Zníženie úžitkovosti hospodárskych zvierat vplyvom dlhodobého pôsobenia imisíí v jednotlivých stupňoch znečistenia v % (Němec, 1992)

Kategória hospodárskych zvierat	Stupeň znečistenia			
	I.	II.	III.	IV.
Dojnice	3,3	5,1	8,3	13,5
VHD*	5,1	8,3	13,5	22,2
Teľatá	5,9	9,4	15,4	24,0
Jalovice (MHD**)	5,1	8,2	13,3	21,6

*VHD – výkrm hovädzieho dobytky

**MHD – mladý hovädzí dobytok

Tab. 2: Zníženie úžitkovosti hospodárskych zvierat vplyvom dlhodobého pôsobenia imisíí a kŕmením hospodárskych zvierat kontaminovaným krmivom v % (Ráček, Preiningerová, 1986)

Kategória zvierat	Zníženie úžitkovosti (%) v imisných zónach podľa priemernej ročnej koncentrácie SO ₂ (v µg.m ⁻³)			
	I. Zóna	II. Zóna		III. Zóna
	41 - 50	51 - 70	71 - 100	101 - 150
Dojnice	6,0	9,5	15,4	24,9
VHD*	10,4	16,7	27,0	44,5
Teľatá	5,9	9,3	15,4	25,2
Jalovice (MHD**)	8,2	13,2	21,4	34,7

*VHD – výkrm hovädzieho dobytky

**MHD – mladý hovädzí dobytok

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pri modelových výpočtoch sme spracovali priemerné hodnoty úžitkovosti hospodárskych zvierat v Sk. Tabuľka 3 vyjadruje výšku ekonomickej škody u hospodárskych zvierat z prostredia s pôsobením imisií.

Tab. 3: Zníženie úžitkovosti hospodárskych zvierat vplyvom dlhodobého pôsobenia imisií v prvom stupni znečistenia

Kategória zvierat	Úžitkovosť (Sk)	Zníženie úžitkovosti (%)	Zníženie úžitkovosti (Sk)
Teľce	5414700	5,9	339497,7
MHD**	4878600	5,1	262179,8
VHD*	3691800	5,1	198400,2
Dojnice	65473239	3,3	2234350,5
Spolu			3034428,1

*VHD – výkrm hovädzieho dobytká

**MHD – mladý hovädzí dobytok

Celková výška ekonomickej škody u zvierat vystavených dlhodobému vplyvu pôsobenia imisií v prvom stupni znečistenia je takmer 3034500,- Sk.

Vyhodnotenie výpočtu v prípade hospodárskych zvierat pod dlhodobým vplyvom pôsobiacich imisií a kŕmených kontaminovaným krmivom v prvom stupni znečistenia je uvedené v tab. 4. V tabuľke sú výsledné hodnoty zredukované na 50 % z dôvodu možnosti nakúpenia čistého nekontaminovaného krmiva. Celková výška ekonomickej škody v tomto prípade je necelých 2691500,- Sk.

Tab. 4: Zníženie úžitkovosti hospodárskych zvierat vplyvom dlhodobého pôsobenia imisií a konzumáciou kontaminovaného krmiva v prvom stupni znečistenia

Kategória zvierat	Úžitkovosť (Sk)	Zníženie úžitkovosti (%)	Zníženie úžitkovosti (Sk)	Redukovaná znížená úžitkovosť (Sk)
Teľce	5414700	5,9	339497,7	169748,8
MHD**	4878600	8,2	435779,1	217889,5
VHD*	3691800	10,4	428512,5	214256,3
Dojnice	65473239	6,0	4179142,9	2089571,5
Spolu			5382932,2	2691466,1

*VHD – výkrm hovädzieho dobytká

**MHD – mladý hovädzí dobytok

V prípade prvého výpočtu tvorí ekonomická škoda 3,82 % z celkovej úžitkovosti, v druhom prípade je to 3,39 %. Podľa jednotlivých kategórií zvierat je to pre teľatá vystavené imisnému vplyvu 6,27 % a pre 50 % redukciiu kontaminovaného krmiva len 3,13 %, čo v korunovom vyjadrení predstavuje 339498 Sk, resp. 169749 Sk. Obdobne pre mladý hovädzí dobytok vystavený imisnému vplyvu ide o 5,37 % a pre redukciiu kontaminovaného krmiva len 4,47 %, resp. v kategórií dojnice 3,41 % a 3,19 % z celkovej úžitkovosti. Podstatný rozdiel je v kategórii výkrm hovädzieho dobytku, kde v prípade vystavenia zvierat imisnému vplyvu škoda tvorí 5,37 % (198400,2 Sk), v prípade redukcie kontaminovaného krmiva dosahuje až 5,80 % (214256,3 Sk), čo je viac ako v ostatných kategóriách.

ZÁVER

Tieto výpočty boli modelové a rátať sa s tým, že sa už koncentrácie imisí nevyskytujú v takom rozsahu ako sú v definovaných kategóriách. Preto chceme upozorniť, že aj pri nízkych koncentráciách, teda menších ako $40,0 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$, sú spôsobované škody na úžitkovosti hospodárskych zvierat. Z toho dôvodu je potrebné, aby sa navrhla nová taxácia výpočtu výšky ekonomickej škody spôsobenej imisiami.

LITERATÚRA

- Kalúz K. (2003): Poškodzovanie poľnohospodárskych plodín v aktuálnych imisných podmienkach, Zb. Udržateľné poľnohospodárstvo a rozvoj vidieka, SPU Nitra, ISBN 80-8069-246-7.
- Kalúz K. (2004): Dopad zmeny imisnej situácie na poľnohospodársku výrobu, Acta horticulturae et regiecturae 2/2004, s. 42-44, ISSN 1335-2563.
- Kalúz K. (2004): Kvalita ovzdušia na Slovensku a poškodzovanie ekosystémov, Zb. 19. konf. Ochrana ovzdušia, DT ZSVTS Bratislava, ISBN 80-233-0500-X.
- Němec J. a kol. (1992): Oceňování náhrad škod způsobených imisemi na zemědělské výrobě, EV. ÚVTEI, ISSN 0231 – 9470.
- Ráček A., Preiningerová E. (1988): Zásady hospodaření v imisních oblastech, Metodiky ÚVTIZ č. 3.

INTERESTS OF DEVELOPMENT OF RURAL REGIONS IN MORAVIAN - SLOVAK BORDER (FOR INSTANCE OF MICRO – REGION KAROLINKA)

ROZVOJOVÉ ZÁJMY RURÁLNÍHO REGIONU V MORAVSKO – SLOVENSKÉM POHRANIČÍ (NA PŘÍKLADĚ MIKROREGIONU KAROLINKY)

Pekařová K.

Department of Applied and Landscape Ecology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xpekaro0 @ node.mendelu.cz

ABSTRACT

To gain and evaluate available data of micro-region and particular sites – Halenkov, Nový Hrozenkov, Karolinka and Velké Karlovice was the aim of this work. Several sociologic methods were used to obtain particular information – questionnaires, interviews, the SWOT analysis and the literature review as well. The micro-region under study is situated in border part of the Czech Republic as well as in PLA Beskydy. This is the reason why there are some restrictions here. On the other hand, the fact described above is positive for the development of this area. Mayors of the regions are obviously aware of this fact. They consider supporting tourism as the main factor for permanently sustainable growth. Many people, who live in micro-region Karolinka, would like to see development of infrastructure, culture and sports, which, in their opinion, can help to the tourism too. The SWOT analysis leads to the same conclusion – to support tourism. To support tourism is neither cheap nor easy. Therefore, it is necessary for the communes in the micro-region Karolinka to cooperate with each other. This would help to create close unit, which would offer complete upcountry for all year tourism.

Key words: microregion, development, border, nature, cooperate

ABSTRAKT

Záměrem této práce je získat a zhodnotit dostupná data o mikroregionu i o jednotlivých sídlech – Halenkově, Novém Hrozenkově, Karolince a Velkých Karlovicích. Pro získání daných informací je použito několika sociologických metod - dotazníkového šetření, rozhovorů, SWOT analýzy, ale i studium literatury. Mikroregion je situován nejen do pohraniční oblasti, ale také do CHKO Beskydy a to do všech stupňů ochrany. Odtud sice pramení jistá omezení, ale i naopak klady, pro rozvoj tohoto území. Starostové či místostarostové, dotčených oblastí, si jsou tohoto jevu samozřejmě vědomi a rozhodujícím faktorem pro trvale udržitelný rozvoj je, dle jejich názoru, podpora turismu. Většina dotazovaných obyvatel mikroregionu si žádá, aby byla nadále rozvíjena infrastruktura a podporovány kulturní či sportovní akce, což může druhotně vést také k rozvoji turismu. Rovněž ze SWOT analýzy docházím ke stejným závěrům. Podpora turistického ruchu není levnou ani jednoduchou záležitostí, proto je nutné,

aby jednotlivá sídla mikroregionu Karolinka spolupracovala. Vytvořila tak kompaktní celek, jenž by nabídl kompletní zázemí pro celoroční turistiku.

Klíčová slova: mikroregion, rozvoj, pohraničí, příroda, spolupráce

ÚVOD

Pohraniční oblasti trpěly vždy jistými problémy – nedostatkem pracovních příležitostí, nedostačující infrastrukturou či neochotou investorů přicházet do těchto lokalit. Jaká je však situace v nejmladší pohraniční oblasti České republiky?

V současné době si stále více obcí začíná uvědomovat nutnost spolupráce s ostatními obcemi pro perspektivní rozvoj svých sídel. Toho si je vědoma jak evropská, tak česká legislativa a rozhodla se tuto spolupráci podporovat. Díky tomu za několik posledních let vznikly desítky mikroregionů. V čem jsou pozitiva takovéto spolupráce případně, kde jsou její úskalí a rezervy?

CÍL

Cílem práce je získat a zhodnotit dostupná data i literaturu o mikroregionu Karolinka a jednotlivých sídlech – Halenkově, Novém Hrozenkově, Karolince, Velkých Karlovicích a následně vyhodnotit vlastní terénní šetření. Závěrem shrnout získané poznatky o mikroregionu, rozpoznat jeho slabá i silná místa, rovněž hrozby a příležitosti a graficky je zdokumentovat.

METODIKA A MATERIÁLY

Na počátku mého výzkumu, na území mikroregionu Karolinka, byly rozhovory se starosty. Záměrem bylo zjistit plány vedení obcí, městyse a města a konfrontovat je s přáním občanů mikroregionu.

Následovalo vlastní dotazníkové šetření. Dotazníky byly rozdány v základních školách mikroregionu. Odpovídajícími jsou tedy především lidé ve věku mezi 25. – 40. lety. Na návratnost dotazníků byla 60 %.

Významným zdrojem informací byl Český statistický úřad.

VÝSLEDKY

SOCIÁLNÍ A EKONOMICKÁ ANALÝZA

Ve sčítání k 31. 12. 2006 měl mikroregion Karolinka 10 548 trvale bydlících obyvatel. Z toho bydlelo v Halenkově 2385, kde 50 % (1193) tvořili muži a 50 % (1192) ženy. V Novém Hrozenkově 2730 obyvatel s 51 % (1385) muži a 49 % (1345) žen. V Karolince pak 2833 trvale žijících obyvatel, populaci tvořili z 50 % (1421) muži a 50 % (1412) ženy. Ve Velkých Karlovicích žilo 2600 lidí, s 49 % (1279) mužů a 51 % (1321) žen.

Průměrný věk mikroregionu byl 39,9 let, z čehož nejnižší věkový průměr měl Nový Hrozenkov – 38,8 let a naopak nejvyšší byly Velké Karlovice 41,0 let.

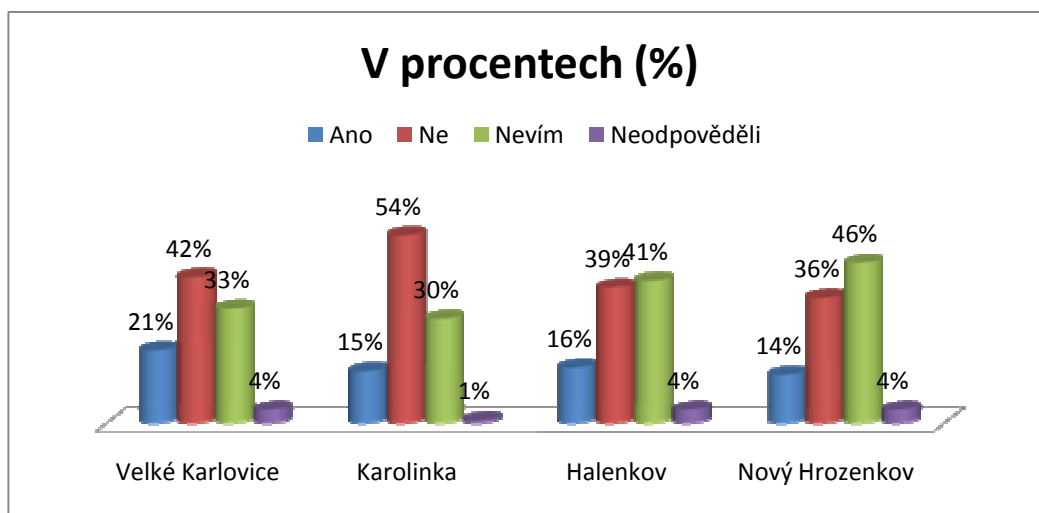
Dle sčítání obyvatel v roce 2001 žilo na území mikroregionu 10 680 lidí, z toho celých 83 % tvoří obyvatelstvo 15leté a starší. Z této vrstvy obyvatel má největší procento (41 %) obyvatel vzdělání odborné bez maturity či jsou vyučení, poté základní včetně neukončeného (31 %), úplné střední s maturitou (21 %), vysokoškolské (4 %), vyšší odborné a nadstavbové (2 %) a necelé procento tvoří obyvatelé bez vzdělání.

VYHODNOCENÍ DOTAZNÍKŮ

Před samotným vyhodnocením dotazníků ještě jednou zdůrazňuji, že věková skupina respondentů je v především v intervalu od 25. do 45. let, jelikož byly dotazníky rozdány v základních školách a odpovídajícími jsou tedy především mladí rodiče.

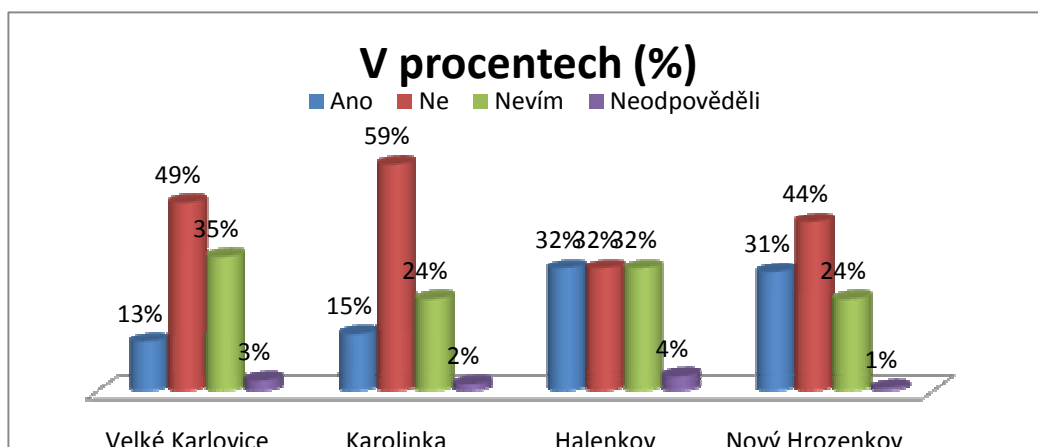
MÁTE V MIKROREGIONU PERSPEKTIVU?

Dle grafu je patrné, že většina obyvatel mikroregionu neočekává svou perspektivu v daném místě. Důvod je nasnadě, špatné pracovní podmínky. Markantní je rozhodnost obyvatel města Karolinky, kde více než 50 % obyvatel nevidí svou budoucnost v tomto místě. To můžeme na vrub přičíst především velkému propouštění ve sklárnách Crystalex. Pouze 20 % obyvatel očekává, že má v tomto mikroregionu perspektivu.



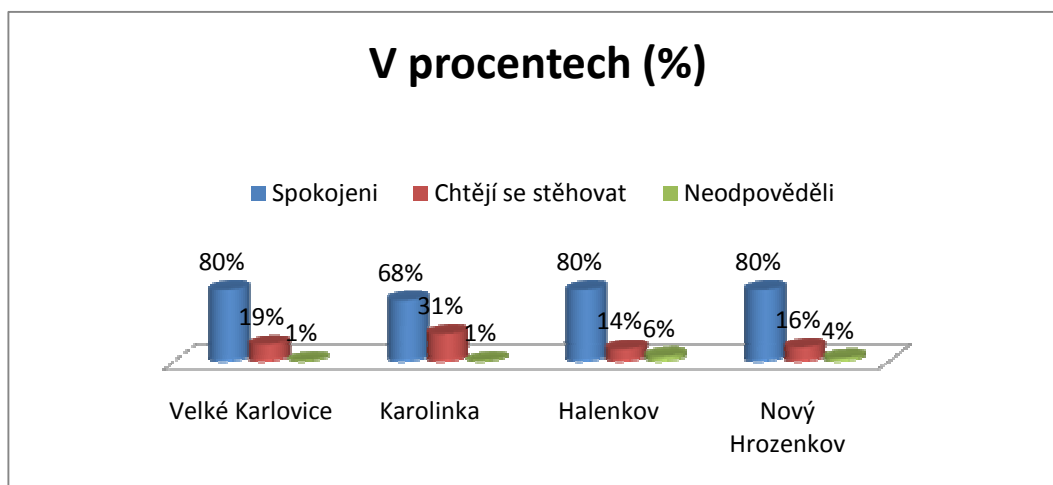
MAJÍ V MIKROREGIONU BUDOUCNOST VAŠE DĚTI?

I z toho grafu je patrná skepse obyvatel, nejvíce pak v Karolince. Opět můžeme předpokládat, že důvodem je velmi výrazné omezování provozu skláren a s tím spjatý nedostatek pracovních příležitostí. Kladně pomýšlí na budoucnost svých dětí v tomto území především obyvatelé Nového Hrozenkova a Halenkova (více než 30 %). Důvodem může být slibně se rozvíjející firma Zamet (Nový Hrozenkov), která nabízí dostatek pracovních míst, či rozvoj technické i občanské infrastruktury.



PŘEMÝŠLÍTE NAD PŘESTĚHOVÁNÍM?

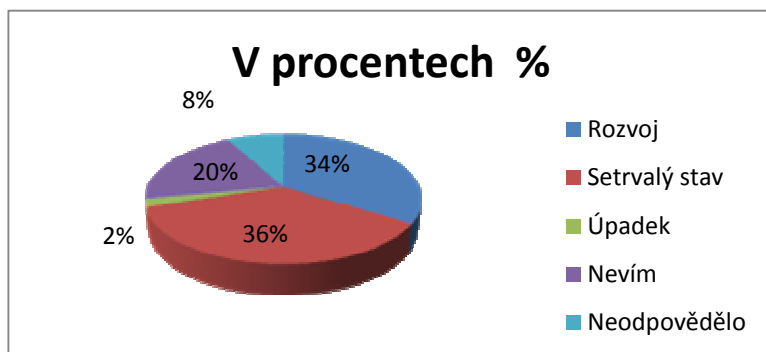
Přestože většina obyvatel neodpověděla kladně na otázku, zda vidí budoucnost svou a svých dětí v místě, kde právě žijí, nepřemýšlejí nad odstěhováním. Dokonce 80 % respondentů, s výjimkou Karolinky, je přímo spokojeno. Příčinou tohoto stavu jsou patrně dobré mezilidské vztahy, rodina, krásná okolní krajina, ale především neochota něco měnit - stěhovat se.



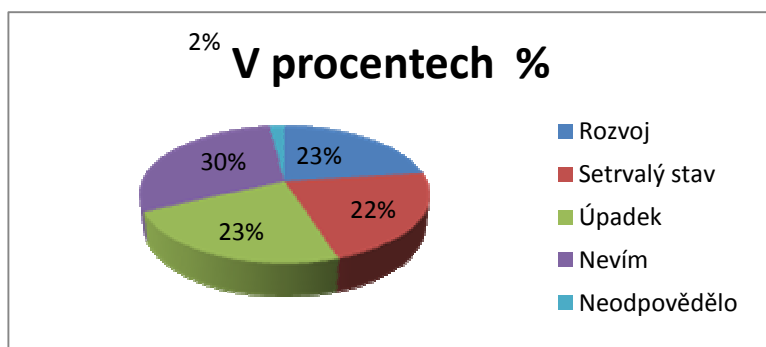
JAKÁ JE BUDOUCNOST JEDNOTLIVÝCH SÍDEL MIKROREGIONU?

V Halenkově, Novém Hrozenkově a Velkých Karlovicích jsou obyvatelé velmi optimističtí a věří v setrvalý stav, popřípadě rozvoj svých sídel. Výjimku v celém mikroregionu tvoří Karolinka. I zde se projevuje velký pesimismus v rozvoji, popřípadě udržení současné úrovně života. Příčinu opět můžeme hledat v nedostatečném pracovním zázemí, souvisejícím s úpadkem karolínských skláren.

HALENKOV



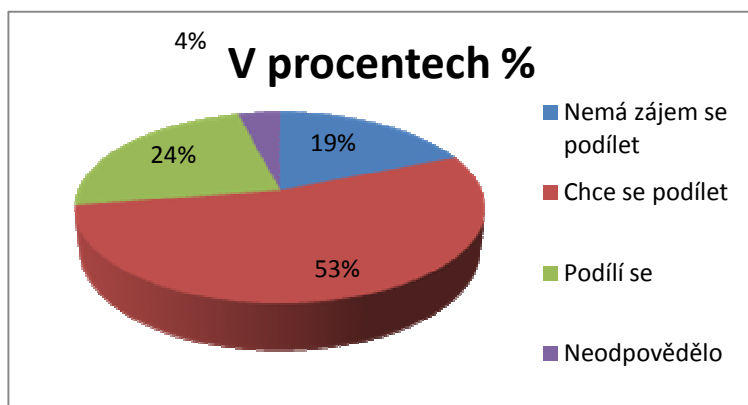
KAROLINKA



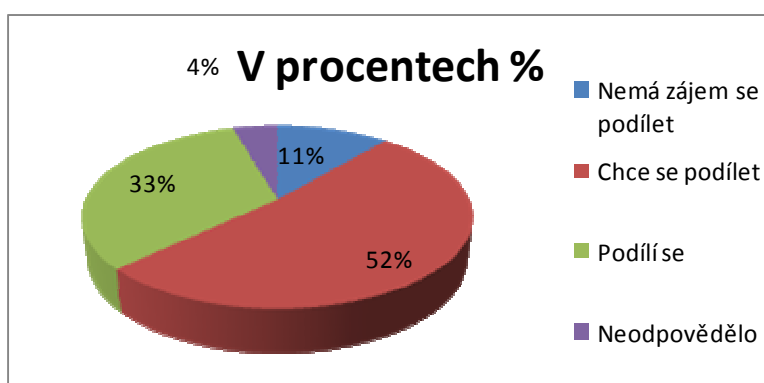
PODÍLÍTE SE NA ROZVOJI SVÉHO BYDLIŠTĚ?

Výsledky odpovědí na tuto otázku poukazují na možný potenciál pro rozvoj mikroregionu. Více než 70 % obyvatel se již podílí nebo by se chtěli podílet na dalším rozvoji svých bydlišť (předpoklad vzniku okrašlovacích či folklorních spolků, udržování tradic).

NOVÝ HROZENKOV



VELKÉ KARLOVICE



DISKUSE

Z rozhovorů se starosty a místostarosty jednotlivých sídel mikroregionu Karolinka vyplývá, že přání zastupitelstev je v téměř naprosté shodě s přáním obyvatel, která jsem zjistila v rámci dotazníkového šetření. Obě složky si na prvním místě přejí úpravu a rozvoj infrastruktury, ať tím myslí rozvoj plynofikace, kanalizace či úpravu cestní sítě. Následuje kulturní rozvoj a podpora turismu. To, že existuje snaha o úpravu technické infrastruktury, může nepřímo vést k podpoře drobného podnikání a tím i vzniku nových pracovních příležitostí. Velkým potenciálem je zdejší malebná krajina, tradice a kulturní památky. Toho jsou si vědomi, dle dotazníkového šetření i z rozhovorů, jak obyvatelé tak vedení obcí, městyse i města. Proto byla velmi častá odpověď při položení otázky: „Na co by se mělo vedení obce zaměřit?“ podpora turismu a kulturních akcí. Vybudování zázemí pro prosperující turistický ruch (kvalitní ubytování, volnočasové aktivity, upravenost mikroregionu, popřípadě propagace zdejšího kraje) je finančně náročné, proto je nezbytné vytvořit dobře fungující spolupráci s okolními obcemi.

Spolupráce, jako klíčového faktoru, si je vědomo nejen vedení zdejších sídel, ale i obyvatelé. Jedním z možných způsobů spolupráce je sdružování se do mikroregionů. To bylo také jedním z důvodů pro vznik mikroregionu Valašsko-horní Vsacko, kterého je mikroregion Karolinka součástí. Každý z členů mikroregionu má specifický charakter, vždy se najde něco

neobvyklého, co po spojení se sousední obcí vytvoří stabilnější celek. Mikroregion Valašsko-horní Vsacko má jako podtitulek „Region sportu a volnočasových aktivit“, z toho je tedy patrné jaká je jeho hlavní priorita – cestovní ruch a s ním spojené aktivity a infrastruktura. Veškeré nabízené aktivity se odehrávají v panensky čisté přírodě, jsou zaměřeny na zdravý životní styl. Region má potenciál stát se sportovním a rekreačním centrem vysoké úrovně celé jihovýchodní Moravy.

ZÁVĚR

Území mikroregionu Karolinka se nachází v CHKO Beskydy. Tím je dána celá řada omezení. Není možné, aby docházelo k masivní bytové zástavbě či rozvoji těžkého průmyslu. I charakter zástavby musí dodržovat jistý rámec, jenž je vhodný pro tuto část Valašska. Díky zmíněným omezením se tu však zachovala téměř panensky čistá příroda, historická zástavba a specifická kultura. Je jen málo míst, kde se krajina nachází v tak unikátní podobě. Proto je pro budoucí vývoj česko – slovenského pohraničí, v lokalitě mikroregionu Karolinka rozhodující, jak využije tohoto bohatství. Velmi významným odvětvím se jeví turismus. Rozvoj kvalitního a cílého turistického ruchu je však velmi nákladná záležitost. Proto je nutné, aby sídla daného mikroregionu navázala úzkou spoluprací, díky níž by byla celá tato oblast prezentována jako kompaktní celek, jenž by nabídl kompletní zázemí pro celoroční turistiku.

LITERATURA

OKRES VSETÍN: Vlastivěda moravská. Hvězdárna Valašské Meziříčí, Muzejní a vlastivědná společnost v Brně, Okresní úřad Vsetín. 2002, 923 s.

Český statistický úřad. Dostupné z: <http://www.czso.cz/>. 18. 8. 2007

Mikroregion Valašsko – horní Vsacko. Dostupné z: <http://www.valassko-hornovsacko.cz/>. 25. 4. 2008

PEKAŘOVÁ, K.: Rozvojové zájmy rurálního regionu v moravsko - slovenském pohraničí (na příkladě mikroregionu Karolinky). *Diplomová práce*. Brno. 2008, 84 s.

VAISHAR, A., HALAŠTOVÁ, K., PEKAŘOVÁ, K.: Rozvojové možnosti venkovských mikroregionů valašské části moravsko-slovenské hranice. In *Ochrana a manažment polnohospodárskej krajiny*. 1. vyd. Bratislava: Ústav krajinej ekológie SAV, 2008, s. 267--272.

REGISTRATION OF SIGNIFICANT TREES IN STŘÍTEŽ NAD LUDINOU

EVIDENCE VÝZNAMNÝCH STROMŮ V OBCI STŘÍTEŽ NAD LUDINOU

Škrdla J., Kupec P.

Faculty of Forestry and Wood Technology, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

Ústav tvorby a ochrany krajiny, Lesnický a dřevařská fakulta, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 613 00 Brno, Zemědělská 1, Česká republika

E-mail: janskrdla@seznam.cz, pkupec@seznam.cz

ABSTRACT

Article presents results reached in frame of registration of significant trees in the village Střítež nad Ludinou project. Register was elaborated for municipality Střítež nad Ludinou. Goals of the project were to choose the most significant trees, to locate them, measure and evaluate their vitality, health and stability. The second important task of the project was elaboration of the significant trees valuation method proposal. Article includes text, maps, database and card index. Text contents methodology and characteristics of the survey area. There are registered trees in the maps, the database includes data of trees and in the card index there are data and photos of trees in winter and in growing season. The register serves as summary of significant trees and as basis of management.

Key words: significant tree, registration of significant trees, Střítež nad Ludinou

ÚVOD

Dle současné legislativy (§7 zákona č. 114/1992 Sb.) jsou stromy rostoucí mimo pozemky určené k plnění lesa chráněny jako dřeviny rostoucí mimo les. Přísnější ochrana se dle §46 výše uvedeného zákona vztahuje na památné stromy, které je zakázáno rušit v přirozeném vývoji. Navíc je kolem těchto jedinců vymezeno ochranné pásmo, a dále jsou tyto stromy označeny a evidovány. Evidence stromů spadajících do kategorie dřevin rostoucích mimo les není v současnosti legislativně řešena.

Tento článek prezentuje výsledky obdržené při evidenci významných stromů (spadajících do kategorie dřevin rostoucích mimo les) v katastrálním území (dále jen KÚ) Střítež nad Ludinou, které bylo provedeno na základě žádosti obecního úřadu.

Předmětem práce bylo posouzení stanovištních poměrů, určení taxonu, zjištění dendrometrických veličin, vitality, zdravotního stavu a provozní bezpečnosti stromů. Náplní bylo také prostorové zaměření vybraného souboru stromů.

Cílem práce bylo vytvoření metodiky použitelné pro mapování a hodnocení a evidenci významných stromů. Tato metodika má aplikovat znalosti dendrologie, dendrometrie, provozní bezpečnosti stromů a geoinformačních systémů.

MATERIÁL A METODY

Lokalita

Evidence byla provedena v KÚ Střítež nad Ludinou, která leží v Olomouckém kraji. Nachází se v jeho východní části, severně od města Hranice. Zájmové území má charakter pahorkatiny. Jeho osou protéká potok Ludina, ke kterému se svažuje reliéf. V horní a střední části vesnice je svah na levém břehu (se západní expozicí) strmější než na břehu pravém. Území se nachází v rozmezí nadmořských výšek 290 - 514 m. Nenižším bodem je potok Ludina na hranici katastru a nejvyšším bodem je kopec v severní části území. Geologickým podložím území jsou především jílové břidlice, kterými prostupuje kulmská droba. Vyskytují se i pískovce a slepence, v jižním okraji území potom ve zlomcích spraše a sprašové hlíny. (Štipl, 1995) Převažujícími půdními typy jsou mezotrofní hnědozemě a kambizemě různé skeletnatosti. Ve spodních částech svahů a na plošinách se vyvinuly pseudogleje, gleje a jejich přechody ke kambizemím. V nivách toků se potom nachází fluvizemě. (Štipl, 1995) Severní část zájmového území spadá do klimatické oblasti MT7, střední část do oblasti MT9 a jižní potom do MT10.

Území se nachází na rozmezí 3. vegetačního stupně (dubobukového) a 4. stupně (bukového). Převažuje trofická řada B (mezotrofní) a 3. hydrická řada (normální). V zájmovém území převažuje skupina typů geobiocénů (dále STG) **typické bučiny (Fageta typica - 4B3a)**, na náhorní plošině východně od obce se vyskytují jedlové doubravy s bukem (*Abieti-*qerceta* roboris* - 4B4) a na východě katastru jedlodubové bučiny (*Fageta prcino-abietina* - 4AB3a). V dolní části řešeného území převažují typické dubové bučiny (*Qerci-fageta typica* - 3B3a) a lipové doubravy s bukem (*Tili-*qerceta* roboris fagi* - 3B4).

Ostrůvkovitě se vyskytují bučiny s javorem (*Fageta aceris* - 3BC3). V nivě Ludiny převažuje STG jasanové olšiny nižšího stupně (*Fraxineti-alneta inferiora* - 3BC4) a v blízkosti toku potom olšové vrbiny vyššího stupně (*Alni glutinosae-saliceta superiora* - 3BC5b).

Nejvíce jsou zastoupeným taxonem je rod lípa (*Tilia L.*), dále druh jírovec maďal (*Aesculus hippocastanum L.*) a dub letní (*Qercus robur L.*) nacházející se převážně v intravilánu obce v různém stádiu vývoje a různého zdravotního stavu.

Metodika

Práce metodicky vychází z publikace J. Kolařík a kol.: Péče o dřeviny rostoucí mimo les. Vypracování evidence zahrnovalo výběr stromů, zaměření a zhodnocení stanovištních podmínek, určení taxonu, odhad věku a fyziologického stáří a zjištění základních dendrometrických veličin. Stromy byly dále zhodnoceny z hlediska vitality, zdravotního stavu, stability a provozní bezpečnosti a také vyfoceny.

Výběr stromů a lokalizace

Stromy byly vybrány na základě požadavku starosty obce, údajů z předchozí evidence a terénní pochůzky. Zaměření bylo provedeno pomocí přístroje GPS (turistické s přesností 5 m), souřadnice převedeny ze systému WGS-84 do S-JTSK. Údaje byly vloženy jako body do programu TopoL a poloha stromů upřesněna nad ortofotomapou zájmového území. Dále bylo zjištěno parcelní číslo pozemku, na kterém se nachází.

Stanovištní poměry a postavení jedince

Stanovištní poměry jsou určeny pomocí skupiny typů geobiocénů (STG) a zhodnocení antropického ovlivnění stanoviště (jedná se především o jedince rostoucí v intravilánu).

Sociální postavení jedince určuje v jakém vztahu je daný jedinec k ostatním stromům. Pro potřeby evidence byla použita následující stupnice:

- S - solitéry (samostatně rostoucí stromy)
- Sk - skupiny stromů
- St - aleje nebo stromořadí
- Pk – strom na kraji porostu

Určení taxonu

U každého stromu byl zjištěn rod a druh, popřípadě poddruh nebo varieta. Taxonomie vychází z publikace: HROUDA, L., CHRTEK, J., KUBÁT, K.: Klíč ke květeně České republiky. Praha: Academia, 2002.

Věk, stáří stromu a perspektiva

Věk byl určen na základě publikace Chráněné stromy okrese Přerov - Hranicko (Ing. Foukal L., Navrátilová D.), pro stromy nezahrnuté v této publikaci byl věk určen odhadem.

Kromě věku bylo také určeno fyziologické stáří dřeviny. Fyziologické stáří je vývojové stádium, ve kterém se daný strom nachází. Hodnoceno bylo pomocí stupnice převzaté z publikace Kolařík, J. a kol.: Péče o dřeviny rostoucí mimo les.

1) nově vysazený neaklimatizovaný jedinec

- 2) mladý aklimatizovaný strom ve fázi dynamického růstu
- 3) dospívající jedinec, dorůstající do velikosti dospělého stromu
- 4) dospělý jedinec, u kterého se začíná projevovat stagnace růstu
- 5) starý jedinec, u kterého se projevuje ústup koruny
- 6) senescentní jedinec – strom s postupně odumírající primární korunou

Vedle stáří stromu byla hodnocena perspektiva existence stromu. Jedná se o předpokládanou dobu, kterou je jedinec schopen přežít, danou vitalitou, zdravotním stavem a taxonem (jeho dlouhověkostí a vhodností pro dané stanovištní podmínky stromu).

Perspektiva byla hodnocena 3 stupni:

- A. dlouhodobá (více než 50 let)
- B. střednědobá (10-50 let)
- C. krátkodobá (do 10 let)

V databázi a tabulce stromu potom byla uvedena kombinace fyziologického stáří a perspektivy, např. 4.A – dospělý jedinec s dlouhodobou perspektivou.

Zjišťování dendromentrických veličin

Měřena byla výška, průměr kmene, výška nasazení koruny a rozměry koruny.

Výška stromu je rozdíl mezi úrovní terminálního výhonu a paty kmene. V daném případě byla změřena výškoměrem blume-leiss.

Tloušťka a údaje z ní odvozené (obvod, kruhová plocha stromu) se zjišťují ve výčetní výšce. Ta je standardně 130 cm od povrchu země. Tloušťka byla určena dvouramennou průměrkou s rozsahem do 100 cm, a to 2x kolmo na sebe. Z měřených hodnot tlouštěk byl po té spočítán aritmetický průměr. Pro stromy s větší tloušťkou byl měřen pouze obvod, ze kterého byl vypočítán průměr ($d = o/\pi$).

Výška nasazení koruny byla určena jako výška, ve které vyrůstají spodní větve (ne výmladky) nebo ve které se rozděluje kmen. Zjištěna byla pomocí latě (v případě nižšího nasazení) nebo pomocí výškoměru. **Výška koruny** byla vypočtena jako rozdíl výšky stromu a spodního okraje koruny (nejnižších větví, ne výmladků). **Šířka koruny** byla měřena jako její průmět na zemský povrch a to 2x kolmo na sebe a po té byl vypočítán průměr.

Pro potřeby evidence byly zjišťovány také další skutečnosti jako způsob větvení nebo výskyt výmladků na patě stromu nebo na kmeni.

Hodnocení stromů

V případě evidovaných stromů je hodnocena vitalita, zdravotní stav a stabilita (provozní bezpečnost). Všechny výše uvedené parametry jsou hodnoceny stupnicí od 1 do 5. Stupeň 1 označuje optimální stav, 5 potom nejhorší.

Fyziologická vitalita stromu je chápána jako jeho schopnost kompenzovat vnější a vnitřní vlivy výrazného a trvalého narušení funkčnosti jeho jednotlivých složek. Hlavními projevy snížené vitality jsou defoliace, malformace větevních struktur, prosychání koruny a tvorba sekundárních výhonů.

Defoliací se rozumí ztráta asimilačního aparátu v porovnání s pomyslnou představou relativně zdravého jedince rostoucího ve stejných podmínkách (Uhlířová et al., 1996). Do

hodnocení se přitom nezahrnuje ztráta způsobená mechanickým poškozením. Při hodnocení vitality na základě malformace vrcholového výhonu je sledován poměr mezi dlouhými výhony (makroblasty) a krátkými výhony (brachyblasty). Nejvyšší stupeň vitality je charakterizován tvorbou makroblastů, brachyblasty mohou být projevem snížené vitality. Prosychání koruny je sledováno na obvodovém plášti. V případě nejzdravějších jedinců prosychání není zjištěno, se snižující se vitalitou pak dochází k prosychání jednoletých až dvouletých výhonů, a po té silnějších větví. Tvorba sekundárních výhonů může být způsobena změnou podmínek prostředí nebo je projevem snížené vitality. V druhém případě se strom snaží eliminovat ztrátu asimilačního aparátu založením výhonů v nižších partiích koruny.

Zdravotní stav stromu odráží stupeň mechanického oslabení a poškození jedince. Lze jej označit jako biomechanickou vitalitu. Při posuzování je strom hodnocen z hlediska mechanického narušení, stupně kolonizace dřevokaznými houbami, existence dutin, růstových defektů a umístění těžiště.

Defekty habitu vznikají při růstu stromu. Patří mezi ně přeštíhlení stromu, tlakové větvení, sekundární výhony, excentrická koruna a tlakové větvení.

Přeštíhlení kmene je stav, kdy je narušen poměr mezi výškou a průměrem kmene stromu (Kolařík a kol., 2005). Jeho důsledkem je nedostatečný nosný profil. Sekundární koruna je stav, kdy dojde k vytvoření větší části koruny ze spících či adventivních pupenů. Mezi nepříznivé vlivy tohoto jevu patří riziko vylamování větví, infekce kosterních větví a tvorba tlakového větvení. Při tlakovém větvení není kůra vytlačována ven, ale zarůstá mezi větvemi nebo kmenem a větví. Obě části jsou od sebe odděleny a nedochází k vytváření společného letokruhu a klesá pevnost spojení. Výraznější excentricita koruny je způsobena poškozením koruny nebo fototropním růstem. Tato vada je riziková především pro namáhání stromu v krutu (při náporu bočního větru).

Poškození stromu vzniká působením vnějších vlivů, narušujících kompaktnost stavby dřeva. O vlivu rozhoduje jednak rozsah, ale také lokalizace. Nejnebezpečnější jsou poranění v místě sbíhání sil a vodivých cest (větvení nebo báze kmene). Poškození zahrnuje trhliny, dutiny a přítomnost reakčního dřeva.

Trhliny narušují celistvost kmene a větví. To má vliv na mechanické chování, především při namáhání krutem. Vlivem trhlin jsou špatně přenášena napětí, která mohou způsobit jejich nekontrolované rozšíření. Trhliny jsou také branou pro vstup infekce, a jejich izolací strom ztrácí velkou část zásobní kapacity kmene a vodivých drah. Dutiny vznikají následkem rozkladu dřeva působením dřevokazných hub. Jejich vliv na mechanické vlastnosti je dán rozsahem a lokalizací. Z hlediska celistvosti zbytkové stěny (na obvodu dutiny) rozlišujeme dutiny otevřené a uzavřené. Uzavřené dutiny s dostatečně silnou zbytkovou stěnou, nepředstavují pro strom velké nebezpečí, na rozdíl od dutin otevřených, kdy je snížena kapacita pro přenos napětí.

Pro zdravotní stav stromu je také důležitá **stabilita kořenového systému**. Ta je dána jeho morfologií, defekty a fyzikálními vlastnostmi půdy. Stav kořenového systému je hodnocen nepřímo, v rámci vizuálních posudků. Mezi hlavní problémy pro jeho rozvoj patří nedostatečný prokeřňovací prostor, stavební činnost v okolí stromu a houbové infekce.

Symptomem poškození kořenového systému je také náklon kmene. Ten se na rozdíl od náklonu v důsledku fototropního růstu vyznačuje absencí reakčního dřeva a absencí záporně geotropního růstu horní části koruny.

Z hlediska mechaniky stromu je **stabilita** chápána jako stav, kdy působením vnějších a vnitřních faktorů nehrozí selhání. Selháním se rozumí situace kdy dojde k vyvrácení stromu, zlomení kmene nebo ulomení větví. Riziko selhání je pravděpodobnost (vyjádřená v procentech), že k selhání dojde. V potaz je brán zdravotní stav stromu, péče o něj a pravděpodobnost příchodu silných větrů.

Provozní bezpečnost je míra stability stromu aplikována na konkrétní stanovištní podmínky, cíl pádů a jejich důležitost. Cílem pádu se rozumí živý nebo neživý objekt, který může být ohrožen selháním stromu.

Stejně jako vitalita a zdravotní stav, byla stabilita a provozní bezpečnost hodnocena stupnicí od 1 do 5. V případě stability byla brána v potaz vitalita (přítomnost suchých větví), zdravotní stav (poškození, růstové defekty) a rizikové faktory stanoviště (pravděpodobnost silných větrů). V případě provozní bezpečnosti bylo navíc hodnoceno stanoviště z hlediska přítomnosti cílů pádu a jejich důležitosti. V praxi to znamená rozdílný přístup při hodnocení „exponovaných jedinců“ z hlediska cílů pádu, např. v centru obce, a stromů rostoucích v extravilánu, kde je nebezpečí vzniku škody (i při velmi nízké stabilitě) minimální.

VÝSLEDKY

Výsledkem práce je výše popsaná **metodika** a zpracované údaje týkající se jednotlivých významných stromů v zájmovém území. Praktickými výstupy práce jsou textová část, mapy s vyznačením evidovaných stromů, databáze a kartotéka.

V textové části jsou uvedeny základní údaje vztahující se k zájmovému území, metodika práce a shrnutí výsledků. Základní údaje obsahují lokalizaci, správní určení a přírodní podmínky dané oblasti.

Součástí evidence jsou **mapy**. Hlavní mapa byla vytvořena v programu Topol nad ortofotomapou obce Střítež nad Ludinou v měřítku 1:20 000 a stromy v ní byly zakresleny jako body pomocí souřadnic S-JTSK. Slouží hlavně k lokalizaci stromů nacházejících se v extravilánu.

Pro lokalizaci stromů nacházejících se v intravilánu byly vypracovány 2 mapy v měřítku 1:5 000 a jedna mapa v měřítku 1: 2 000. Jedná se o ortofotomapy v souřadném systému JTSK, do kterých byly zakresleny jednotlivé stromy a očíslována stanoviště. Stejně jako v předchozím případě jsou jednotlivé taxony rozlišeny barevně.

Podrobná **databáze** byla zpracována v programu MS Excel. Zjednodušená, obsahující pouze základní údaje také v programu TopoL, ve kterém byla vytvořena mapa. Každý evidovaný strom má přiděleno číslo, pod kterým je veden v evidenci. Solitéry a skupiny stromů jsou navíc očíslovány v mapě, skupiny stromů jsou určeny číslem, které je v mapě společné pro všechny jedince skupiny. Lokalizace stromů ve skupině je pak řešena pomocí podrobného plánu, který je vypracován pro každou skupinu (nebo více skupin rostoucích

blízko sebe dohromady). Obsahem databáze jsou údaje o lokalizaci stromů, hodnocení stanovištních poměrů, určení taxonu, dendrometrické veličiny, slovní popis daného jedince, dále pak hodnocení vitality, zdravotního stavu, stability a provozní bezpečnosti stromu.

Kartotéka byla vytvořena pro všechny evidované solitéry a skupiny stromů. Obsahuje fotografii, údaje o lokalizaci, stanovištních poměrech, základních dendrometrických veličinách, zhodnocení zdravotního stavu a provozní bezpečnosti a slovní popis daného stromu. Fotografie jedince nebo skupiny je pořízena takovým způsobem, aby byli viditelní všichni evidovaní jedinci, kteří jsou navíc na (nebo pod) fotografií očíslováni.

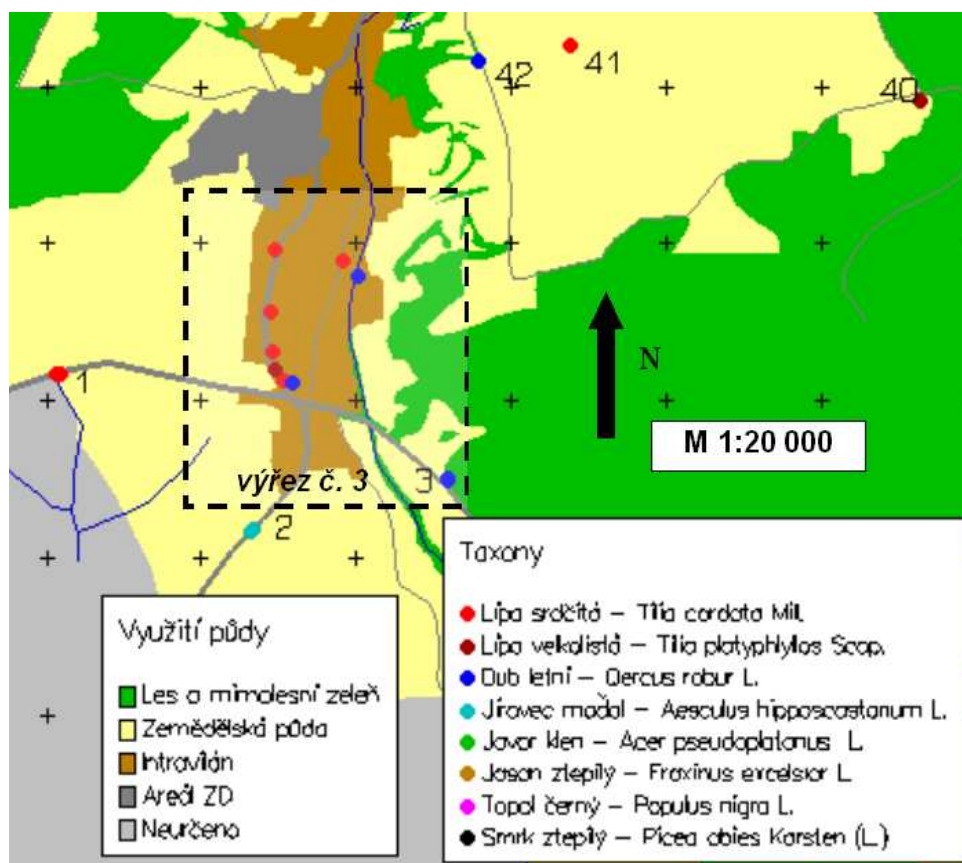
Obecné zhodnocení evidovaných stromů

V KÚ Střítež nad Ludinou je evidováno 62 významných stromů, z toho 46 v intravilánu obce a 16 v extravilánu. Jako solitéry roste 26 jedinců, ve skupinách 28 a ve stromořadích 5 jedinců. 3 evidované stromy jsou součástí porostů, nachází se hlavně na jejich okraji.

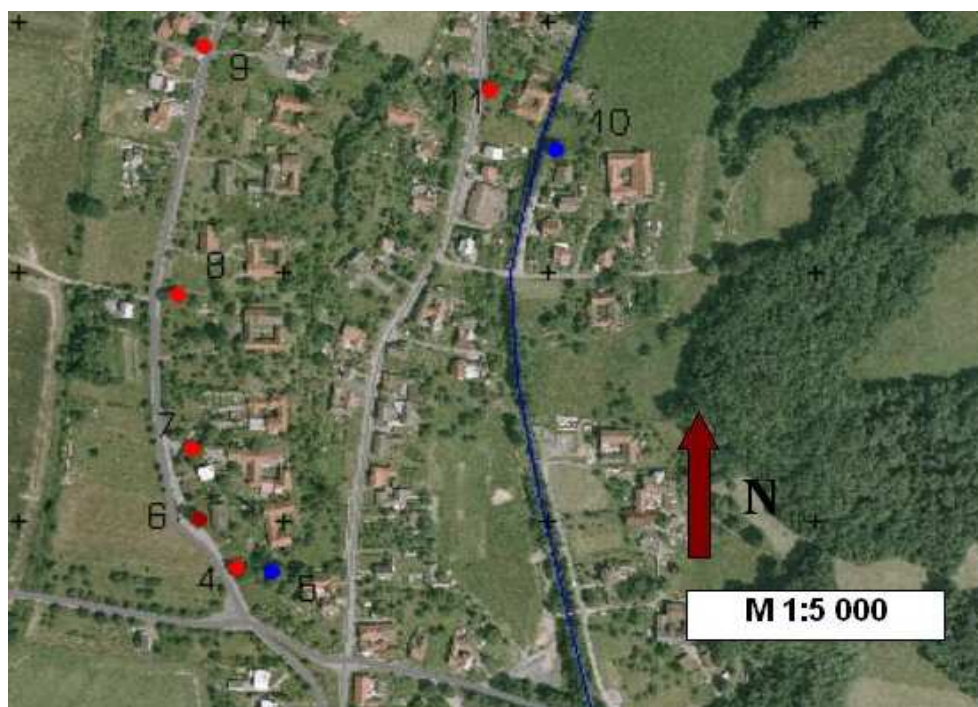
Nejvíce jsou zastoupeny lípy (*Tilia L.*), evidováno je 29 lip malolistých (*Tilia cordata Mill.*) a 4 velkolisté (*Tilia platyphyllos Scop.*). Mezi další významné taxony patří jírovec maďal (*Aesculus hippocastanum L.*) s 12 jedinci a dub letní (*Qercus robur L.*) s 10 evidovanými stromy. Dále byli evidováni zástupci javoru klenu (*Acer pseudoplatanus L.*), jasanu ztepilého (*Fraxinus excelsior L.*), topolu černého (*Populus nigra L.*) a smrku ztepilého (*Picea abies Karsten*).

Nejvýznamnější jedinci se naopak vyskytují převážně v extravilánu. Z hlediska fyziologického stáří se jedná o staré (5) a senescentní stromy (6). Taxonomicky je zastoupena lípa velkolistá (*Tilia platyphyllos Scop.*), lípa srdčitá (*Tilia cordata Mill.*) a dub letní (*Qercus robur L.*). 5 evidovaných jedinců je přitom vhodných na vyhlášení památným stromem. Před vyhlášením je třeba vyřešit vlastnické vztahy k daným stromům.

Jedinci potenciálně nebezpeční se nachází v intravilánu. Hlavními důvody snížené stability jsou kombinace tlakového větvení a trhliny ve kmeni a výskyt suchých větví v koruně.



Obr. č. 1: Mapa v měřítku 1:20 000



Obr. č. 3: Mapa v měřítku 1:5 000

Č. 1	Č. 2	STG	Antrop. ovlivnění	TYP	Charak. skupiny	LOKALIZACE
1	1, 2	3B4	silnice (solení v zimě), zeměděl. hosp. (orba, hnojení)	Sk	2 lípy srdčité - <i>Tilia cordata</i> Mill.	u kříže z roku 1924, u silnice ze Stříteže do Olšovce
2	2, 4	3B3a	silnice (solení v zimě), zemědělské hospodaření	Sk	2 jírovce maďaly - <i>Aesculus Hippocastanum</i> L.	u kříže u silnice ze Stříteže do do Velké (Hranic)
3	5, 6	3BC3	silnice	Sk	2 duby letní - <i>Qercus robur</i> L.	na kraji lesa u silnice ze Stříteže do Bělotína
4	7	3B4	osvětlení, elektrické vedení, silnice	S	Lípa srdčitá - <i>Tilia cordata</i> Mill.	u křižovatky v jižní části vesnice

tabulka č. 1: Databáze stanovišť

Č. 1	Č. 2	katastrální území	parcelní číslo	Souř. S-JTSK y	Souř. S-JTSK x	Sociální postav.	vědecký název	český název
1	1	Střítež n. L.	423/1	512 958	1 124 411	Sk	<i>Tilia cordata</i> Mill.	Lípa srdčitá
1	2	Střítež n. L.	423/1	512 968	1 124 413	Sk	<i>Tilia cordata</i> Mill.	Lípa srdčitá
2	3	Střítež n. L.	2855	512 331	1 124 907	Sk	<i>Aesculus hippocastanum</i> L.	Jírovec maďal
2	4	Střítež n. L.	2855	512 338	1 124 915	Sk	<i>Aesculus hippocastanum</i> L.	Jírovec maďal
3	5	Střítež n. L.	726/2	511 708	1 124 754	Sk	<i>Qercus robur</i> L.	Dub letní
3	6	Střítež n. L.	726/2	511 706	1 124 747	Sk	<i>Qercus robur</i> L.	Dub letní
4	7	Střítež n. L.	400/2 - 407/1	512 235	1 124 436	S	<i>Tilia cordata</i> Mill.	Lípa srdčitá

tabulka č. 2: Databáze stromů 1

Č. 1	Č. 2	věk (let)	stád	výška (m)	Měřený průměr 2x (cm)	Vypoč prům (cm)	obvod (cm)	nasaz kor. (m)	výška kor. (m)	rozměry koruny, měř. 2x (m)	šířka kor. (m)	vit.	zdr. stav	stab	prov bezp	
1	1	100	4A	23	94	88	91,0	2,5	21	11	11	11	2	3	3	2-
2	1	100	4A	23	76	74	75,0	5,5	18	10	10	10	2	2	2	2+
3	2	100	4B	15	88	74	81,0	3	12	15	13	14	2	2	3	2
4	2	100	4B	15	84	68	76,0	3,5	12	13	10	11,5	2	2	3	2
5	3	200	4A	30	x	x	126,5	4,5	25	21	14	17,5	2	2	2	1-
6	3	150	4A	26	97	92	94,5	5,5	20	18	11	14,5	2	3	3	2
7	4	150	4A	20	>100	88	96,0	2,5	18	12	12	12	2-3	3	3	2-
8	5	200	5A	21	>100	97	103,0	6	18	14	14	14	3	2	3	3

tabulka č.3: Databáze stromů 2

Č. 1	Č. 2	popis	výskyt vad	vhodná opatření
3	5	větvi ve výšce 4-5 m	suché větve v koruně	-
3	6	větvi ve výšce 5-6 m, koruna výrazně ovlivněna sousedním stromem a posunuta na SV	výrazně excentrická koruna	-
4	7	větvi ve výšce 2 -2,5 m, kmen je mírně nakloněný na východ, průmět koruny má eliptický tvar	naklonění kmene, ojedinělý výskyt suchých větví, výskyt jmelí v koruně	provést zdravotní řez: odstranit suché větve a jmelí v koruně
5	8	na kmeni má od výšky 2,5 m výmladky	v koruně se ojediněle vyskytují suché větve	provést bezpečnostní řez: ořezat suché větve
6	9	kmen se rozdvouje ve výšce cca 4 m, průřez kmene má eliptický tvar	výskyt suchých větví v koruně	provést bezpečnostní řez: ořezat suché větve
7	10	kmen se rozdvouje ve výšce 5 m	-	-

tabulka č.4: Databáze stromů 3

Vysvětlivky zkratk použitých v databázi:

Č. 1 – číslo stanoviště

Č. 2 – stromy na stanovišti (číslo v databázi)

Stád – vývojové stádium a perspektiva

Vypoč. prům. – vypočtený průměr

Nasaz. kor. – nasazení koruny

Vit. – vitalita

Zdr. stav – zdravotní stav

Stab. – stabilita

Prov. bezp. – provozní bezpečnost

X (v údajích měřený průměr) – hodnota neměřena

>100 (v údajích měřený průměr) – hodnota je vyšší než 100 cm



Čís. v mapě	6	Typ	S
Charakter.	Lípa velkolistá – Tilia platyphyllos Scop.		
lokalizace	u zastávky autobusu		
STG	4B3	Antrop. vliv	osvětlení, silnice

Číslo v dbf	9				
Druh čes.	Lípa velkolistá				
Druh věd.	Tilia platyphyllos Scop.				
K.Ú.	Střítež n. L.	souřad.	JTSK-Y	512 294	
parcelní čís.:	125	S-JTSK	JTSK-X	1 124 398	
Věk (let)	120	Fyziolog. Stáří	4A		
Dendrometrické veličiny	Výška stromu (m)	Výčetní tloušťka (cm)			Obvod (cm)
		d _{max}	d _{min}	d	
	19	>100	94	110	345
	Nasaz. koruny (m)	Rozměry koruny (m)			
Výška		Šíř _{max}	Šíř _{min}	Šíř _{prům}	
3	18	15	13	14	
		vitalita	zdrav.	stabil	P bezp.
		3	2-3	2	3
POPIS	kmen se rozděluje ve výšce 4 m, průřez kmene má eliptický tvar				
VÝSKYT VAD	suché větve v koruně				
NAVRŽENÉ ZÁSAHY	ořezat suché větve v koruně				

Obrázek č. 4: Karta evidovaného stromu (pro stanoviště)

DISKUZE

Úkolem práce bylo vybrat nejvýznamnější stromy v zájmovém území, změřit je, zhodnotit a získaná data zpracovat. Cílem práce bylo zlepšit metodiku a použitelnost výstupů.

Kromě měření dendrometrických veličin bylo provedeno zhodnocení vitality, zdravotního stavu a provozní bezpečnosti. Stromy byly také zaměřeny a lokalizovány pomocí geografických souřadnic.

Použita byla turistická GPS, údaje byly upřesněny v ortofotomapě. Určeny byly i souřadnice v systému JTSK. Dále bylo zjištěno, na které parcele (nebo hranici parcel se nachází). Výhodou zpracování je snadná identifikace stromu v mapě a v terénu. Jednotlivé taxony jsou navíc barevně rozlišeny. Údaje o evidovaných stromech jsou navíc uvedeny v databázi, která je propojena s kartotékou. Aktualizací databáze zároveň dochází k aktualizaci kartotéky.

Měřením pomocí turistické GPS, stejně jako lokalizací nad ortofotomapou, kde přesně nelze určit polohu kmene, bylo dosaženo jisté nepřesnosti. Exaktnější výsledky by byly získány měřením geodetické GPS. Identifikaci parcely by potom bylo vhodné provádět v digitální mapě. Také by bylo vhodné propojit mapu s databází.

Vzhledem k tomu, že v daném KÚ probíhá pozemková úprava, je nutné po jejím ukončení znovu překontrolovat čísla parcel, na kterých se stromy nachází.

ZÁVĚR

Použitím výše popsané metodiky byla provedena evidence významných stromů v KÚ Střítež nad Ludinou. Všechny evidované stromy jsou zakresleny do mapy (v souřadném systému S-JTSK) a očíslovány. Údaje týkající se těchto jedinců jsou uvedeny v databázi. Každý strom, skupina nebo stromořadí má potom i kartu, která navíc obsahuje fotografii ve vegetační době a mimo vegetaci. V databázi a v kartotéce jsou uvedena možná opatření vedoucí ke zvýšení vitality a zdravotního stavu a tím snížení rizika selhání.

Výsledky evidence významných stromů budou archivovány a poslouží jako přehled o těchto jedincích a spolu s metodikou se stanou podkladem pro management. Pokud v budoucnu vznikne požadavek na provedení nové evidence nebo revize stávající databáze, poslouží tyto údaje jako podkladový materiál.

Danou metodiku lze, s přihlédnutím k lokálním podmínkám, aplikovat při evidenci zeleně v jiné obci na úrovni katastrálního území.

LITERATURA

cs.wikipedia.org/wiki/St%C5%99%C3%ADte%C5%BE_nad_Ludinou

Foukal L., Navrátilová D.: Chráněné stromy okrese Přerov - Hranicko, 1980

HROUDA, L.; CHRTEK, J.; KUBÁT, K. (2002): Klíč ke květeně České republiky, Academia, Praha.

KOLAŘÍK, J. (2003): Péče o dřeviny rostoucí mimo les, ČSOP, Vlašim.

KOLAŘÍK, J. a kol. (2005): Péče o dřeviny rostoucí mimo les II. 1. vyd., Český svaz ochránců přírody, Vlašim.

Quitt, E. (1975): Klimatické oblasti ČSR, Geografický ústav ČSAV Brno, Brno, 1975.

ŠMELKO, Š. (2000): Dendrometria. 1. vyd. Zvolen, Technická univerzita vo Zvolene.

supermapy.centrum.cz/

Štipl, P. (1995): Generel územního systému ekologické stability, KÚ: Střítež n. L, Jindřichov a Partutovice, Hranice.

Sadovnictví a krajinářství

www.ibot.cas.cz/personal/wild/frame/gps_cz.html

www.mapy.cz

ANALYSIS OF VOLUNTARY ENVIRONMENTAL POLICY IN AGRICULTURE

ANALÝZA DOBROVOĽNÝCH NÁSTROJOV ENVIRONMENTÁLNEJ POLITIKY V POĽNOHOSPODÁRSTVE

Švikruhová V., Stred'anský J.

Department of Landscape Planning and Ground Design, Horticulture and Landscape Engineering Faculty, Slovak University of Agriculture in Nitra, Hospodárska 7, 949 01 Nitra, Slovakia

E-mail: veronika.svikruhova@uniag.sk, jozef.stredansky@uniag.sk

ABSTRACT

The analysis of benefits of environmental management systems is the right part of applying environmental policy in Slovakia. Object of work is develop problems of environmental management systems implementation in sector of agriculture. We realize that the common but often used Deming's model is again the best way of application in organization of this type.

Implementation was universalized to these constituent parts:

- Analysis of environmental situation
- Assessment
- Planning
- Implementation and performance
- Inspection
- Certifying SEM

Assessment is focused in regulation and organization level and state of authorities in organization, including dates about qualified growing and education of employees in the course of study. And if you focus in assess of economic indicators in connection with the environment, we can guarantee the success. The same applies, when you analyze the used, prevent and repressive economic instruments, which are sometimes spring of assets, sometimes spring of liabilities in organization.

Key words: impact, aspect, environment, policy

Acknowledgments: Napojenie príspevku na projekt VEGA 1/4412/07 – Integrované hodnotenie vybraných faktorov ovplyvňujúcich návrh všeobecných zásad funkčného usporiadania územia projektov komplexných pozemkových úprav 9

ÚVOD

Problém životného prostredia existuje, ak:

- prebieha aktivita, ktorej aspekty majú dopad na životné prostredie
- tento dopad predstavuje pre životné prostredie takú záťaž, ktorá má vplyv na naše potreby (bezpečie, zdravá klíma, uchovanie prírodných hodnôt, a pod.)
- naše hodnotenie týchto vplyvov je negatívne

Mnohé problémy sa v súčasnosti snažia firmy riešiť zavedením a udržiavaním takého systému, ktorý by vrcholovému vedeniu poskytol objektívny dôkaz o tom, že procesy, ktoré majú vplyv na životné prostredie sú riadené, monitorované a vyhodnocované. Z pohľadu odborníkov, ktorí s touto problematikou prichádzajú najužšie do styku, sa ako najčastejšími nedostatkami vo firmách javia problémy pri zostavovaní registra významných environmentálnych aspektov a vplyvov, registra právnych a iných požiadaviek a ich hodnotením.

Snahou každej organizácie je, aby jej zákazníci (v širšom význame zainteresovaní účastníci) boli spokojní. Jednou z ciest ako to dosiahnuť, je zaviesť systém environmentálneho manažerstva podľa normy STN EN ISO 14001: 2005. Spoločným menovateľom je snaha o zavedenie poriadku do organizácie a optimalizácia všetkých procesov a vydanie/dodržiavanie príslušných smerníc. Ide o relatívne zložitý proces, ktorého úspešné fungovanie si vyžaduje nielen pochopenie manažmentu a jeho aktívnu podporu vrátane zabezpečovania príslušných zdrojov, ale aj systematické preverovanie správnosti jeho chodu a dosahovaných výsledkov. Preto sa kladie dôraz na interné audity ako manažérskeho nástroja na monitorovanie a overovanie efektívneho zavedenia politiky kvality. Vrcholový manažment musí definovať EP (environmentálnu politiku), a to tak, aby bola primeraná organizácii, aby obsahovala záväzok na sústavné zlepšovanie a prevenciu, aby obsahovala záväzok na dodržiavanie príslušných právnych a iných požiadaviek, aby poskytovala možnosť na rozpracovanie dlhodobých a krátkodobých environmentálnych cieľov, aby bola zdokumentovaná, pochopená v organizácii aj smerom von z organizácie, aby bola prístupná verejnosti.

Nedostatky:

- neposkytuje podklad pre dlhodobé a krátkodobé environmentálne ciele
- organizácie pracujúce v rámci subdodávok nie sú oboznámení s prijatou EP
- neobsahuje záväzok k zlepšovaniu

Dnešné ministerstvo životného prostredia je stále ministerstvom koncových technológií, niekým, kto prichádza ex-post napravovať škody. Iní si robia sektorovú politiku a minister životného prostredia pridáva na koniec malý filter uznania pre životné prostredie. Toto je a zostáva až druhým najlepším scenárom, lepšie by bolo zahrnúť otázku životného prostredia už do základných politík prostredia.

MATERIÁLY A METODIKA

Systém environmentálneho manažérstva (EMS) patrí medzi najznámejšie a najlepšie nástroje pre všetky typy organizácií umožňujúce integrovať environmentálne aspekty do ich aktivít. EMS pritom môže mať viac foriem, ktoré v princípe delíme na formálne a menej formálne. Ako formálne sa označujú dve medzinárodne uznávané formy európska EMAS (Eco-Management and Audit Scheme) a medzinárodná ISO 14001. Pod pojmom registrácia organizácií v EMAS je definované začlenenie organizácie do schémy európskeho spoločenstva pre environmentálne manažérstvo a audit (EMAS). Zahŕňa preskúmanie, či organizácia spĺňa požiadavky zákona a nariadenia a zapísanie organizácie do registra EMAS. V Slovenskej republike registráciu organizácií v EMAS vykonáva Ministerstvo životného prostredia SR na základe žiadosti o registráciu v EMAS. Okrem toho je tu však viac typov menej formálnych EMS používaných v Európe aj mimo nej. Je ťažké tvrdiť, a to hlavne v prípade MSP, že niektorá z týchto foriem by bola jedine vhodná pre všetkých. Menej formálne prístupy k EMS možno považovať za prvý krok k zavedeniu formálnych EMS. Je potrebné si uvedomiť, že EMS je len prostriedok k dosiahnutiu cieľa a nie vlastný cieľ. Pretože viaceré organizácie vyčítajú normám ISO radu 14000 i Nariadeniu o environmentálnom manažérstve a audite (EMAS) prílišnú formálnosť a často i príliš vysokú náročnosť a cenu, hlavne z hľadiska malých a stredných podnikov, vzniklo v snahe odstrániť prekážky k ich zavádzaniu v Európe v priebehu posledných rokov viacero „menej formálnych“ systémov environmentálneho manažérstva. Sú orientované na určitú ekonomickú aktivitu (činnosti, výrobky, služby) a sú prispôsobené špecifickým oblastiam a technickým podmienkam, čo vo viacerých prípadoch zvyšuje ich účinnosť.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

ANALÝZA STAVU ŽIVOTNÉHO PROSTREDIA V PODNIKU

Je veľa postupov na identifikáciu a kvantifikáciu environmentálnych aspektov a environmentálnych vplyvov v poľnohospodárskom podniku. Výber najvhodnejšieho postupu determinujú rozličné faktory, ako sú napr. druh činnosti organizácie, výsledky činností, dostupnosť údajov, obmedzujúce ekonomické, právne a iné okolnosti a pod.

V rámci organizácie je nutné počas vstupnej analýzy spravidla uskutočniť tieto všeobecne platné kroky:

- určiť kľúčové miesta podniku z hľadiska jeho hlavných činností (určenie špecifických environmentálnych aspektov),
- vychádzať z perspektívy stavu životného prostredia (ako vplyvu priamych a nepriamych faktorov na zložky životného prostredia),
- kvantifikovať údaje, uskutočniť ich analýzu a na základe zhodnotenia rizika identifikovať prioritné environmentálne aspekty,
- hľadať procesy, ktoré možno hodnotiť ako procesy „čistejšej produkcie“ a procesy zamerané na optimálne využitie materiálových a energetických vstupov so zameraním na úsporu surovín a prírodných zdrojov. Tento prístup je vhodné orientovať na materiálové a energetické bilancie v podniku a finančno-ekonomickú analýzu,
- spracovať celkový prehľad o environmentálnych aspektoch spolu s ich analýzou vo vzťahu k limitným hodnotám a ich plneniu a navrhnúť súbor kritérií na hodnotenie ich významnosti,

- nakoniec identifikovať kľúčové environmentálne aspekty z hľadiska celého reprodukčného procesu a cyklu životnosti produktov.

Bez ohľadu na postup a výber metodiky sú identifikácia a poznanie funkcií podniku a jeho vplyvov na zložky životného prostredia základom na určenie príslušných environmentálnych cieľov a programov SEM a rozumných ukazovateľov environmentálneho profilu organizácie. Proces hodnotenia environmentálneho profilu musí vychádzať zo záväzku vedenia. Treba ho vyhodnocovať dôsledne so sústredením sa na hlavné činnosti a aktivity a ich významné environmentálne vplyvy. Musí zodpovedať požiadavkám vedenia a podporovať environmentálnu politiku firmy, cieľové hodnoty, dobrovoľné iniciatívy a súlad legislatívno-právnych požiadaviek a noriem. Hodnotenie musí byť založené na presných, objektívnych a overiteľných informáciách tak, aby proces zabezpečoval kompaktnosť s riadiacimi štruktúrami, informačnými a komunikačnými systémami a ich spätnú väzbu. Jeho úlohou je zohľadniť aj očakávania zainteresovaných strán, požiadavky miestnych, regionálnych a globálnych environmentálnych požiadaviek a prístupy založené na koncepcii trvalo udržateľného rastu pri všetkých antropogénnych činnostiach a koncepciách životného cyklu produktu.

Cieľom analýzy stavu životného prostredia v podniku by malo byť zistiť skutočný stav v oblasti ochrany a tvorby životného prostredia vo všetkých častiach hodnotového reťazca so zameraním na overenie:

- súladu procesov, činností a ich výsledkov s platnou legislatívou
- stavu prevádzkovej dokumentácie
- stavu komunikácie vo vnútornom prostredí firmy a s jej okolím
- rozdelenia zodpovednosti, spolupráce a informovanosti v rámci právomocí
- horizontálnych a vertikálnych väzieb medzi útvarmi pracovísk a ich pracovníkmi

HODNOTENIE STAVU ZLOŽIEK ŽIVOTNÉHO PROSTREDIA Z HĽADISKA LEGISLATÍVNO-PRÁVNÝCH ASPEKTOV V PODNIKU

Táto etapa prípravy podniku na zavedenie SEM spočívala v preverovaní stavu rozhodnutí orgánov štátnej správy, právoplatnosti vydaných rozhodnutí v požadovanom rozsahu, skutkovom stave v podniku pre oblasti vodného hospodárstva, odpadového hospodárstva, ochrany ovzdušia, pracovného prostredia a pod.

Jej súčasťou bolo hodnotenie interných nariadení a predpisov v rámci podniku zameraných na hodnotenie úrovne ich spracovania podľa platnej legislatívy a jej obsahového zamerania, adresnej zodpovednosti a pod.

Priebežné interné hodnotenie stavu jednotlivých oblastí podniku - vodného hospodárstva, odpadového hospodárstva, ochrany ovzdušia a ich zdokumentovanie.

Súčasťou hodnotenia je posúdenie skutočného stavu jednotlivých zložiek životného prostredia, environmentálnych aspektov a organizačnej štruktúry podniku. Deklarovanie stavu hodnotenia uvedených oblastí podniku je zamerané na podrobné preskúmanie jednotlivých aspektov s dôrazom na personálnu zodpovednosť v danej oblasti, inventarizáciu údajov a rozhodnutí v nadväznosti na vstupy a výstupy v podniku. Hodnotí sa stav energetiky, surovín a materiálov, nebezpečných, škodlivých a jedovatých látok používaných v podniku, adresnej zodpovednosti v personálnej oblasti, výberu dodávateľov, vo vzťahu k sledovaniu kvality a množstva, spôsobu skladovania, vstupnej logistiky v hodnototvornom reťazci podniku, ďalejpri výrobných procesoch, procesoch služieb, výstupnej logistiky a pod. Hodnotenie je zamerané na celý životný cyklus produktu. Hodnotenie sa zameriava na riadiacu a organizačnú úroveň a stav právomocí v podniku, vrátane údajov o kvalifikačnom raste a vzdelávaní pracovníkov v danej oblasti. Odporúča sa zamerať sa na hodnotenie vzťahu

ekonomických ukazovateľov k životnému prostrediu, analyzovať používané preventívne a represívne ekonomické nástroje, ktoré sú buď zdrojom aktív, alebo pasív v podniku. Je vhodné zbilancovať platby a poplatky, prípadne pokuty alebo príjmy z predaja druhotných surovín, úspory z používania druhotných surovín a pod. Platby, poplatky a pokuty, ktoré súvisia s odberom zložiek životného prostredia alebo zaťažovaním zložiek životného prostredia do prípustných limitov alebo nad tieto limity.

PLÁNOVANIE

Táto etapa budovania SEM v podniku je charakterizovaná určením environmentálnej politiky organizácie, environmentálnych cieľov, zodpovednosti a koncepcií útvarov v jednotlivých oblastiach ochrany životného prostredia. Organizácia má začať tam, kde je zrejmy prínos, napr. zamerať sa na dodržiavanie právnych a iných predpisov, na obmedzovanie príčin, z ktorých vyplývajú povinnosti náhrady za škodu alebo na čo najúčelnejšie využívanie materiálov, energií a na recykláciu odpadov a pod. Ako sa organizácia stáva skúsenejšou v oblasti budovania a zavádzania SEM, možno zavádzať postupy, programy a technológie na ďalšie zlepšenie environmentálneho správania. Táto etapa je plne delegovaná na vrcholové vedenie organizácie. Vrcholové vedenie má za úlohu nielen určiť environmentálnu politiku, ale predovšetkým garantovať, že bude zavedená v celom priebehu činností organizácie, to znamená, že bude pochopená, uskutočňovaná a udržiavaná všetkými zložkami a zamestnancami. Ťažisko práce vedenia je v iniciovaní zvýšenia environmentálneho povedomia v organizácii a prístupe zamestnancov k práci, poriadku, disciplíne a plneniu ostatných povinností. Ako sa organizácia stáva skúsenejšou v oblasti budovania a zavádzania SEM, možno zavádzať postupy, programy a technológie na ďalšie zlepšenie environmentálneho správania.

ZAVEDENIE A VYKONÁVANIE

Činnosť v rámci tejto etapy sa zameriava na tvorbu dokumentácie SEM, a to predovšetkým na smernice a postupy, určujúce zabezpečenie činnosti podľa jednotlivých článkov normy STN EN ISO 14001. Postupne s vydávaním príslušných smerníc a postupov má vrcholové vedenie realizovať ich zavedenie do pracovných procesov a overovať ich dodržiavanie. Pri príprave dokumentácie SEM je vhodné si uvedomiť skutočnosť, že táto dokumentácia veľmi úzko súvisí s dokumentáciou systému manažérstva kvality (SMK) a tento poznatok je výhodné uplatniť pri príprave smerníc a postupov. V prípade obdobných prvkov oboch systémov stačí len doplniť schválenú dokumentáciu SMK o požiadavky SEM v súlade normou, a nie je potrebné vytvárať nové smernice a postupy. Túto možnosť však možno s úspechom využiť len tam, kde je SMK vybudovaný. Na druhej strane vybudovaný SMK však nie je podmienkou budovania SEM. Kľúčovú úlohu v tejto etape zohráva pracovný tím na čele s predstaviteľom vedenia pre oblasť SEM (spravidla túto funkciu zastáva zmocnenec pre kvalitu a SEM) a ich neustála podpora vrcholovým manažmentom, ako aj pochopenie a spolupráca ostatných zamestnancov organizácie v tomto procese. Je len samozrejmé, že výsledky možno očakávať iba vtedy, keď súčasťou celého diania v organizácii je sústavná osvetová a informačná činnosť, ktorú by mala poskytovať predovšetkým poradenská firma podieľajúca sa na príprave k certifikácii SEM. Završením práce zameranej na tvorbu, vydávanie a realizáciu smerníc a postupov je celkový popis SEM v Príručke systému environmentálneho manažérstva, ktorá zahŕňa aj popis metód a ciest jeho zdokonaľovania. Príručka SEM je základným dokumentom certifikačného procesu a vizitkou, ktorou sa organizácia predstavuje zainteresovaným stranám a zákazníkom.

PREVEROVANIE

Vedenie organizácie musí kontrolovať a ustavične zlepšovať SEM s cieľom zlepšovať svoj environmentálny profil cestou určenia rozhodujúcich príčin alebo nedostatkov a utvorením predpokladov realizácie nápravných a preventívnych činností na ich odstránenie. Nevyhnutnosťou je overenie efektívnosti prijatých opatrení v nadväznosti na ich preukázanie v podobe zlepšených environmentálnych cieľov.

Cieľom je neprestajné zlepšovanie environmentálnej politiky v podniku uskutočňovaním pravidelných previerok (auditov) či systém environmentálneho manažérstva vyhovuje plánovaným oblastiam a či bol správne realizovaný a udržiavaný. Audit SEM sa môže vykonať na úrovni interných subjektov, t. j. audítormi podniku kvalifikovanými pre túto oblasť, alebo externými subjektmi, objektívnymi, nestrannými akvalifikovanými na túto činnosť. Cieľom previerky SEM je zisťovanie, či systém spĺňa účel a ciele, jeho vhodnosť, funkčnosť a efektívnosť. Frekvencia auditov závisí od potenciálu poškodzovania zložiek životného prostredia organizáciou. Všetky časti organizácie majú byť preverované najmenej raz za tri roky. V prípade výrazného potenciálu organizácie alebo jej častí poškodzovať zložky životného prostredia je nevyhnutné audit vykonávať najmenej raz za rok. Hlavnou funkciou auditov je vyhodnotenie a posúdenie zhody a nezhody s požiadavkami, hodnotenie efektívnosti nápravných opatrení a opis problémov s určením zodpovednosti za zavedenie vhodného riešenia. Zavedenie a pôsobenie systému environmentálneho manažérstva nebude mať automaticky za následok okamžitú redukciu nepriaznivých environmentálnych vplyvov, ale môže viesť ku kontinuálnemu zlepšovaniu. Preventívne a nápravné opatrenia sú výsledky odporúčaní zo sledovania procesov vzniku produktu vykonávané na základe auditu a iných kontrol SEM. Záznamy o stave SEM sú súčasťou udržiavania systému a týkajú sa legislatívno-právnych noriem, nariadení a zákonov, environmentálnych aspektov a environmentálnych vplyvov, ďalej sledovania zhôd a nezhôd, chýb, sťažností, havárií a pod. Kľúčovými znakmi dobrého a účinného spôsobu riadenia je systém identifikačných prostriedkov a signálov včasného varovania na kritických miestach hodnotového reťazca firmy.

CERTIFIKÁCIA SEM

Cieľ tohto kroku tkvie v tom, aby sa vedenie organizácie presvedčilo o pripravenosti a certifikovateľnosti SEM ešte pred vlastným pozvaním certifikačných audítorov. Pozostáva z preskúmania zhody dokumentácie SEM s požiadavkami normy STN EN ISO 14001 a overenia, či daná dokumentácia je dôsledne uplatňovaná vo všetkých organizačných útvaroch a činnostiach organizácie.

ZÁVER

Po splnení všetkých podmienok pre certifikačný audit môže napokon organizácia, ktorá sa úspešne dopracovala až k tejto záverečnej etape, pozvať na základe uzavretej zmluvy audítorov certifikačnej organizácie k nezávislej previerke pripraveného SEM formou preaudit. V niektorých poradenských organizáciách spolupracujúcich s inšpekčnými organizáciami je ešte obvyklé (ale nepovinné), pozvať na určitý vyšší stupeň preverovania (predcertifikácie) niektorého audítora tejto organizácie, aby sa dosiahol vyšší stupeň istoty pred odštartovaním samotného certifikačného procesu. Po splnení všetkých podmienok pre certifikačný audit môže napokon organizácia, ktorá sa úspešne dopracovala až k tejto záverečnej etape, pozvať na základe uzavretej zmluvy audítorov certifikačnej organizácie k

nezávislej previerke pripraveného SEM a v prípade pozitívneho výsledku získať medzinárodne platný certifikát SEM.

Organizáciou vybraná certifikačná spoločnosť na základe zmluvného vzťahu zabezpečuje celý certifikačný proces. Po preštudovaní dokumentácie vykoná predcertifikačný audit SEM, ktorý však nie je podmienkou. Tento je zameraný spravidla na preverovanie súladu dokumentácie SEM s požiadavkami normy STN EN ISO 14001. Na základe výsledkov predcertifikačného auditu (odstránenie prípadných nezhôd, zapracovanie pripomienok do dokumentácie) je vykonaný certifikačný audit a v prípade úspešnosti je vydaný certifikát na systém environmentálneho manažérstva organizácie. Získaný certifikát má spravidla 3-ročnú platnosť a jeho udelenie je evidované v databázach Európskej únie v Bruseli. Po uplynutí tejto doby možno platnosť certifikátu obnoviť na základe výsledkov obnovovacieho auditu.

V rámci tohto trojročného obdobia certifikačné organizácie vykonávajú tzv. kontrolné audity (v ročných, resp. polročných cykloch) v rámci ktorých sa preveruje neustále zlepšovanie SEM organizácie. Počas týchto auditov už nie sú preverované všetky články normy a činnosti organizácie. Preverované oblasti sú určené na základe schválených postupov príslušnej certifikačnej organizácie.

LITERATÚRA

KOLLÁR V. – BROKEŠ P.: The Barriers for Implementation of Environmental Management System to Small and Medium Enterprises and Possibilities how to Overcome them, Business review, volume IV., Number 7, Year 2005

LIBERKOVÁ, L. - BADIDA, M.: Environmentálny benchmarking. In: Trendy v systémoch riadenia podnikov: 9. medzinárodná vedecká konferencia : Zborník príspevkov: Herľany, 26.-27. október 2006. Košice: Sjf-TU, 2006. 8 s. ISBN 80-8073-660-X.

LIBERKOVÁ, Lucia - HRICOVÁ, Beata - BADIDA, Miroslav: Environmentálne účtovníctvo a environmentálne náklady. In: SI 2005 : Strojné inžinierstvo 2005 : Zborník príspevkov : Bratislava, November 16th 2005. Bratislava : TU, 2005. s. 695-699. ISBN 80-227-2314-2.

MAJERNÍK, M. - BADIDA, M. - LUMNITZER, E. - CHOVANCOVÁ, J.- ROMÁNOVÁ, M.: Prehľad dobrovoľných nástrojov na zlepšovanie environmentálneho správania na podnikovej úrovni. Bratislava: ASPEK, 2007. 85 s. ISBN 978-80-88995-08-1.

MAŇKO, Michal - LIBERKOVÁ, Lucia - HRICOVÁ, Beáta: The basic access into the integration management systems. In: Engineering sciences: 5th international conference of PhD students, University of Miskolc, Hungary: 2005. s. 129-132. ISBN 963-661-673-6.

RUSKO, M. – PIATRIK, M. – KOTOVICOVÁ, J.: Environmentálne manažérstvo,

STRIX, n.r., Žilina, 2004

RUSKO, M. - KORAUŠ, A., 2004. Ecolabelling, LCA, Ecodesign and Green Marketing. - Bratislava, 2004, Životné prostredie, Vol. 38, No.4, ISSN 0044-4863, p. 178-181

<http://www.emas.org.uk>

<http://www.europa.eu.int/comm/environment/emas>

STN EN ISO 14001:2005 Systém environmentálneho manažérstva. Špecifikácia s návodom na použitie.

STN EN ISO 19011 STN EN ISO 19011. Návod na auditovanie systému STU, 2001. 111 s. ISBN 80-968449-4-6.

RUSKO, M., PIATRIK, M., KOTOVICOVÁ, J.: Environmentálne manažérstvo. Žilina: manažérstva kvality a/alebo systému environmentálneho manažérstva.

VIČÍKOVÁ, E., PALFY, P. Environmentálne manažérstvo – teória a metodika. Košice: Štroffek, 2001. 267 s. ISBN 80-88896-15-0.

PIATRIK, M., KOLLÁR, V., VINCÍKOVÁ, S., RUSKO, M.: Environmentálny manažment II. Banská Bystrica : FPV UMB, 2003, 127 s. ISBN 80-8055-861-2.

KOLLÁR, V., BROKEŠ, P., PIATRIK, M., RUIZ, J.M., OSANNA, P.H.: Budovanie a certifikácia systému environmentálneho manažérstva. Bratislava : Vydavateľstvo

STRIX, n.f., 2001. 175 s. ISBN 80-969257-0-9.

POSSIBILITIES OF APPLICATION OF BIOINDICATORS AT KLATOVY - ŠTĚPÁNOVICE LANDFILL

MOŽNOSTI VYUŽITÍ BIOINDIKÁTORŮ V OKOLÍ SKLÁDKY V KLATOVECH - ŠTĚPÁNOVICÍCH

Vaverková M., Kotvicová J.

Department of Applied and Landscape Ecology, Faculty of Agronomy, Mendel University of
Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: magda.vaverkova@uake.cz , kotovicj@node.mendelu.cz

ABSTRAKT

The study “Possibilities of application of bioindicators at Klatovy – Štěpánovice landfill” is focused on examination and determination of bioindicators, mainly phytoindicators. From their existence, condition or behaviour judgements might be carried out on existence of specific environmental indicators and on environmental condition and changes. The goal of this study is to examine the conditions of ecological load (forest and meadow ecosystems) of Klatovy – Štěpánovice landfill.

Key words: phytoindicators, landfill, waste, bioindicators

ÚVOD

Práce „Možnosti využití bioindikátorů v okolí skládky v Klatovech - Štěpánovicích“ je zaměřena na posouzení a stanovení bioindikátorů, zejména fytoindikátorů. Z jejich existence, stavu nebo chování je možno usuzovat na přítomnost určitého činitele v prostředí a na stav a změny v prostředí. Cílem práce je posoudit stav zatížení okolí (lesních a lučních ekosystémů) skládky v Klatovech – Štěpánovicích.

V průběhu letních a podzimních měsíců roku 2007 - 2008 byly sebrány a identifikovány vzorky vybraných bioindikátorů (fytoindikátorů) v nejbližším okolí skládky. Tento sběr bude proveden dvakrát ročně i v následujících letech.

Vzhledem k tomu, že bioindikátory (fytoindikátoru) podávají nejpřesnější obraz o stavu území a ve své podstatě informují o příčinách případných změn stavu, a to 3 až 5 let zpětně, navíc ukazují i tendenci vývoje (sukcese) – tedy prognózu, k jakému stavu území směřuje – zda dochází ke zhoršování, či zlepšování místních podmínek, bude možné sledovat vliv skládky v Klatovech - Štěpánovicích na okolí.

MATERIÁL A METODIKA

Cílem studie možnosti využití bioindikátorů v okolí skládky v Klatovech – Štěpánovicích je posouzení a stanovení rostlinných bioindikátorů - druhů (společenstev) se známou tolerancí k určitému ekologickému faktoru a mapování stavu prostředí a jeho změn podle jejich výskytu.

Metodika biomonitoringu

Biomonitoring je systém prokazování stavu prostředí a jeho změn v čase a prostoru s využitím kumulačních a indikačních vlastností živých organismů. Bioakumulace je schopnost organismu kumulovat v různých částech svého těla polutanty z okolního prostředí. Bioindikace je schopnost organismů, populací a společenstev reagovat na vlastnosti prostředí a jejich kvantitativní a kvantitativní změny .

Biomonitoring:

- podchycuje působení faktorů v prvních fázích jejich vlivu a umožňuje poznat škodlivé účinky už při minimálních dávkách škodlivin a tím snížit finanční náklady,
- poskytuje informace o dlouhodobém stavu dané lokality.

Výběr a popis lokality

Skládka v Klatovech - Štěpánovicích je umístěna v severní části široce otevřeného údolí, je orientované ve směru Z-V. Spodní okraj pozemku je lemován stálou bezejmennou vodotečí, která je levostranným přítokem Točnického potoka, ten je pravostranným přítokem řeky Úhlavy. Horní okraj pozemku navazuje na lesní porost s převahou borovice lesní (*Pinus sylvestris*). Jižní svah je zemědělsky využíván. Skládka je situována na svahu severním směrem od osy údolí. Původní plocha byla obhospodařována jako louka.

Klimatické poměry

Zájmové území se podle klimatické rajonizace nachází v mírně teplé oblasti MT 10 charakterizované dlouhým teplým suchým létem, přechodným obdobím s mírně teplým jarem a mírně teplým podzimem. Zima je krátká, mírně teplá a velmi suchá, s krátkým trváním sněhové pokrývky. Pro klimatickou charakteristiku zájmového území byly použity údaje Českého hydrometeorologického ústavu z let 1901 - 1950.

Tab. 1 Klimatické charakteristiky oblasti MT 10

Počet letních dnů	40 - 50
Počet dnů s průměrnou teplotou 10 °C a více	140 - 160
Počet mrazových dnů	110 - 130
Počet ledových dnů	30 - 40
Průměrná teplota v lednu	-2 až -3 °C
Průměrná teplota v červenci	17 - 18 °C
Průměrná teplota v dubnu	7 - 8 °C
Průměrná teplota v říjnu	7 - 8 °C
Průměrný roční potenciální výpar z povrchu půdy	652 mm
Průměrné roční srážky	746 mm
Průměrný počet dnů se srážkami 1 mm a více	100 - 120
Srážkový úhrn ve vegetačním období	400 - 450 mm
Srážkový úhrn ve zimním období	200 - 250 mm
Počet dnů se sněhovou pokrývkou	50 - 60
Počet dnů zamračených	120 - 150
Počet dnů jasných	40 - 50

Průměrná roční teplota na Klatovsku je zhruba 8,0 °C, nejchladnějším měsícem je leden, nejteplejším červenec (tab.2).

Dlouhodobý roční srážkový průměr činí 582 mm. Srážky jsou celkově rovnoměrně rozděleny po celý rok s maximy v letních měsících a minimy v zimě (tab.3). Průměrná vlhkost vzduchu je poměrně vysoká. Relativní vlhkost vzduchu jen málokdy v denním průměru klesá pod 70 %, celoroční průměr je 75 %.

Tab. 2 Průměrná měsíční teplota vzduchu ve °C (Klatovy)

Měsíc	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.
°C	-2,1	-0,9	3,1	7,3	12,4	15,3	17,1	16,4	12,9	7,7	2,6	-0,6

Tab. 3 Průměrný měsíční úhrn srážek v mm (Klatovy)

Měsíc	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.
mm	30	27	28	46	65	76	82	70	51	42	32	33

Klimatická stanice I. řádu Klatovy.

Nadmořská výška:

421 m.n.m.

Průměrná teplota:

7,6 °C.

Průměrný úhrn srážek

582 mm.

Hydrologické poměry

Území skládky (okolí) leží v soutokovém úhlu řeky Úhlavy a Točnického potoka. Z vodohospodářského hlediska patří lokalita do povodí řeky Úhlavy (h.č.p. 10–03–001) Plocha povodí činí 919,4 km², délka toku 108,5 km. Jedná se o významný vodohospodářský tok, který je tvořen pstruhovou vodou od Dolní Lhoty, vodní nádrží Nýrsko, chráněným úsekem v horním toku v CHKO Šumava a ochranným vodárenským pásmem pro odběr v Plzni. Čistota vody horního toku spadá do I.-II. třídy, dále do III. a IV. třídy. Průtok v ústí je 5,69 m³/s. Největší průtok Úhlavou ve stanici Klatovy za období 1951-1960 byl zaznamenán dne 9.7.1954 v hodnotě 163 m³/s a minimální dne 12.7.1934 v hodnotě 0,42 m³/s (Traksmandl, V. 1985).

Geomorfologické poměry

Lokalita se nachází v západní oblasti Čech v bývalém okrese Klatovy. Z hlediska regionálního členění reliéfu České republiky spadá oblast do celku Švihovská vrchovina (I5B-3), okrsku Bolešinská kotlina (označení I5B-3D-b). Následující tabulka zobrazuje zařazení území do geomorfologického systému ČR.

Tab. 4 Zařazení území do geomorfologického systému

Provincie	I	Česká vysočina
Subprovincie	I5	Poberounská soustava
Oblast	I5B	Plzeňská pahorkatina
Celek	I5B-3	Švihovská vrchovina
Podcelek	I5B-3D	Klatovská kotlina
Okrsek	I5B-3D-b	Bolešinská kotlina

Území je tvořeno pahorkatinou na převážně kyselých břidlicích s buližníky a na extrémně kyselých permských sedimentech.

Klatovská kotlina, součást Švihovské vrchoviny, je úzká tektonická sníženina o rozloze 157 km² se střední výškou 449,5 m, tvořená pozdně variskými granitoidy a moldanubickými rulami, které se šíří v barrandienském směru v délce 32 km. Je tvořena pahorkatinným povrchem granitoidových vrchů, rulových suků, zarovnaných povrchů a mělkých široce rozevřených údolí Úhlavy a jejích přítoků.

Vlastní území Bolešinské kotliny je součástí středočeského algonkia, které je v této oblasti v kontaktu s klatovským výběžkem středočeského žulového plutonu, jenž svým jihozápadním výběžkem vyplňuje složité poruchové pásmo. Tvoří hranici mezi dvěma geologickými útvary – severozápadně ležícím mladším algonkiem a jihozápadně rozloženým moldanubikem. Základní horniny tohoto útvaru jsou biotický až amfiboliticko - biotický granit a granodiorit, výrazně jsou zde zastoupeny i žilve.

Geologické poměry

Podle regionálního členění reliéfu ČR se lokalita nalézá v Švihovské vrchovině v oblasti převážně různě odolných hornin spilitového stupně barrandienského protezoika a pozdně variskými magmatiky, poskrovněji se objevují horniny staršího paleozoika a místy i karbonské sedimenty, které vytváří strukturně denundační reliéf na okrajích výrazněji neotektonicky porušený, s rozsáhlými sukly a strukturními hřbety barrandienského směru s široce rozevřenými údolními (převážně v povodí Úhlavy).

Základními horninami v zájmové lokalitě jsou břidlice, drobové břidlice a nepřeměněné až mírně přeměněné droby. Droby vytváří slabší lavice a vložky v břidlicích. Je zde i výskyt rohovců. Převážná část území má denundační charakter. Nejrozšířenější jsou uloženiny deluviální, jílovitohlinitého charakteru s příměsí úlomků buližníků, břidlic a drobů.

Biogeografické a geobiocenologické členění

Podle biogeografického členění České republiky lokalita náleží do přírodní lesní oblasti 6 Západočeská pahorkatina. Z hlediska biogeografického je lokalita začleněna následovně:

Bigeografická provincie:	středoevropské listnaté lesy.
Biogeografická podprovincie:	Hercynská.
Biogeografický region:	1,28 Plzeňský.

Na východní, jižní a západní straně okolí skládky pokračuje původní zatravnění. Na severní straně navazuje porost s dřevinami jako je borovice lesní (*Pinus sylvestris*), dub letní (*Quercus robur*), smrk ztepilý (*Picea abies*), javor klen (*Acer pseudoplatanus*), vtroušeně bříza bělokorá (*Betula pendula*).

Podle této charakteristiky lze uvedené území vymezit lesním typem 3S2 – svěží dubová bučina se svízelem drsným. Charakteristika tohoto lesního typu vychází z popisu uvedeného v publikaci Fytocenológia a lesnická typológia od autorů Randušky, Plívy a Vorla:

- Lesní typ 3S2 – svěží dubová bučina se svízelem drsným.
- Rozšíření: svahy a plošiny v rámci lokality.
- Půdy: hluboké, čerstvě vlhké, hlinitopísčité, půdní typ kambiem, typická dle podloží mezotrofní.
- Významné druhy rostlin: *Rubus idaeus*, *Rubus fruticosus*.
- Nepatrně zastoupené druhy rostlin: *Carex sylvatica*, *Mycelis muralis*.
- Přírozená skladba: BK6, DB3, LP1, JD, HB.
- Cílová skladba – SM6, JD1, BK2, MD1 (PRŮŠA, 2001).

Lesní typ 3S2 se řadí do geobiocenologického systému Querci-fageta aceris Qfac 3 BC3 javorové dubové bučiny. Nachází se v reliéfu členitých pahorkatin a nižších vrchovin v nadmořských výškách 300-500 m n. m. Je vázána na půdy obohacené humusem ve vydutých částech svahů a na jejich bázích. Půdy středně hluboké s vyrovnaným vlhkostním režimem, dobře zásobené. Z půdních typů převládají eutrofní kambizemě typické a kambizemě rankrové, humusová forma moder. K převládajícím dřevinám buku (*Fagus sylvatica*) se pravidelně přidružují habr (*Carpinus betulus*), javory (*Acer pseudoplatanus*). Z keřů se roztroušeně vyskytuje bez černý (*Sambucus nigra*). V synuzii podrostu by se měl mimo jiných významně vyskytovat kaprad' samec (*Dryopteris filix-mas*), ale je zde zastoupen řídce.

Popis skládky tuhého komunálního odpadu Klatovy - Štěpánovice

Na okrese Klatovy je produkováno ročně cca 45 tis. tun TKO. Tento odpad je zneškodňován na zabezpečených skládkách buď přímo na území okresu nebo na skládkách okresů sousedních. Na území okresu Klatovy jsou v současné době v provozu 3 zabezpečené skládky TKO, z nichž lokalita Klatovy - Štěpánovice je nejvýznamnější. Skládka Klatovy - Štěpánovice - na k.ú. Štěpánovice a Dehtín (vpravo při silnici ve směru od Přeštic na Klatovy) se nachází 1 km severně od obce Štěpánovice a 1 km jižně od obce Dehtín. Jedná se o široce otevřené údolí orientované ve směru Z-V. Skládka je vybavena těsněním minerálního původu. Skládkování bude prováděno po etapách, celková kapacita (teoretická životnost) je 17 let, event. déle. Celkový zábor představuje 7,4 ha. Provoz na této lokalitě byl zahájen v dubnu 1996, provozovatelem je město Klatovy (organizace Odpadové hospodářství města Klatov). Skládka tuhého komunálního odpadu Klatovy – Štěpánovice je určena skupinou S-OO – pro ukládku odpadů kategorie ostatní odpad, jejichž vodný výluh nepřekračuje v žádném z ukazatelů limitní hodnoty výluhové třídy číslo III dle vyhlášky č. 383/2001 Sb., přílohy č.6, tabulky č. 6.3, pro odpady kategorie ostatní odpad.

Činnosti prováděné na skládce Klatovy - Štěpánovice

Organizace provozu skládky je prováděna dle provozního řádu, zabývá se příjmem a evidencí odpadů. Odpady přijaté na skládku se hutní pomocí kompaktoru. Průsakové vody se jímají do zabezpečené jímky a odváží se na ČOV. Odplynění skládky je prováděno odplyňovacím systémem.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Bioindikátory

Bioindikátorem mohou být vyšší rostliny, mechorosty, lišejníky, houby, řasy a sinice, suchozemští obratlovci, ryby nebo hmyz a ostatní bezobratlí. Bioindikátor je tedy živý organismus nebo společenstvo organismů, z jejichž přítomnosti, kondice či chování je možno usuzovat na přítomnost určitého faktoru prostředí i na stav a změnu prostředí.

Bioindikátory dělíme na:

- hlídky (sentinely) – citlivé organismy, které do prostředí zavádíme úmyslně, aby ukazovaly jeho okamžité změny,
- detektory – organismy, které se vyskytují přirozeně a reagují na změny prostředí,
- exploátory (vykořisťovatelé) – organismy, jejichž přítomnost signalizuje narušení a znečištění prostředí,
- akumulátory – organismy, které hromadí chemické látky.

Fytoindikace - indikační geobotanický průzkum

Fytoindikace je průzkumná a indikační geobotanická metoda, vycházející ze dvou základních poznatků:

- vegetace citlivě reaguje na změny chemismu půdy, způsobené např. kontaminacemi a změnami druhového složení,
- určité typy kontaminací se projevují specifickým poškozením rostlin (chlorózy, nekrózy, nanismy).

Výsledky terénní inventarizace druhového složení a zdravotního stavu vegetace pak umožňují posoudit stav lokality z hlediska kontaminace. Dosažené výsledky jsou při podstatně nižších nákladech plně srovnatelné s klasickými technickými metodami.

Fytoindikace umožňuje:

- stanovit zdroje kontaminací,
- určit charakter kontaminantů (ropné uhlovodíky, těžké kovy, plynné emise),
- zjistit směry a způsoby šíření kontaminací (povrchové splachy, podpovrchové průsaky),
- posoudit ovlivnění složek životního prostředí (půda, voda, vzduch).

Výhody proti obvyklým metodám:

- poskytuje přímo celoplošnou informaci, bez zásahů do zkoumaných pozemků,
- výsledky jsou k dispozici prakticky okamžitě, bez čekání na laboratorní zpracování vzorků,
- má podstatně příznivější poměr informace/cena.

Oblasti využití:

- posouzení aktuálního rizika starých ekologických zátěží (skládky, kontaminace),
- zhodnocení rozsahu kontaminací v průmyslových a zemědělských areálech,

- posouzení funkčnosti pásem hygienické ochrany vodních zdrojů,
- hodnocení vlivu zimní údržby komunikací (solení) na kontaktní ekosystémy,
- posouzení intenzity plošné eroze půd a splachů z polí,
- biomonitoring ekologicky rizikových objektů,
- podklady pro studie revitalizací, rekultivací, ÚSES, EIA a pro ekologické audity.

Některé ze stanovených fytoindikátorů skládky v Klatovech - Štěpánovicích

Tab.1 Třezalka skvrnitá

Název	Třezalka skvrnitá (<i>Hypericum maculatum</i>)
Popis	Mapování ovzduší
Jednotka měření	Podíl jedinců s nekrózou na m ²

Tab.2 Vřes obecný

Název	Vřes obecný (<i>Calluna vulgarit</i>)
Popis	Ukazatel nepříznivé formy humusu - indikace kyselých půd
Jednotka měření	Podíl jedinců jetele na m ²

Tab.3 Kručinka barvířská

Název	Kručinka barvířská (<i>Genista tinctoria</i> L.)
Popis	Půdy chudé na dusík
Jednotka měření	Podíl výskytu kručinky na m ²

Tab.4 Bez černý

Název	Bez černý (<i>Sambucus nigra</i>)
Popis	Krátkodobý i dlouhodobý nepřímý monitoring znečištění prostředí rizikovými prvky.
Jednotka měření	Podíl výskytu bezu na m ²

Tab.5 Vrbovka úzkolistá

Název	Vrbovka úzkolistá (vrbka úzkolistá) <i>(Epilobium angustifolium)</i>
Popis	Indikuje narušené půdní poměry
Jednotka měření	Podíl výskytu vrbovky úzkolisté na m ²

Tab.6 Borovice lesní

Název	Borovice lesní (<i>Pinus sylvestris</i>)
Popis	Kontaminace sírou, chlorem a fluorem
Jednotka měření	Obsahu síry, chloru a fluoru v jehlicích

Tab.7 Jitrocel větší

Název	Jitrocel větší (<i>Plantago major</i>)
Popis	Sešlapávané půdy
Jednotka měření	Podíl výskytu jitrocele většího na m ²

Tab.8 Dutohlávka lesní

Název	Dutohlávka lesní (<i>Cladonia arbuscula</i>)
Popis	Citlivá na oxidy dusíku, síry, těžké kovy
Jednotka měření	Podíl lišejníků s hnědou stélkou na m ²

Vybrané fytoindikátory skládky v Klatovech - Štěpánovicích

Z řady identifikovaných bioindikátorů (viz Tab.1 - 8) pro posouzení zátěže okolí skládky v Klatovech – Štěpánovicích mohou být významné lišejníky. Ačkoli lišejníky jsou odolné vůči rozličným přírodním extrémům, většina z nich je velmi citlivá na znečištění životního prostředí. Stavba stélky, která není krytá žádnými ochrannými strukturami a jejíž obě složky jsou v křehké rovnováze snadno porušitelné změnami prostředí, ale také pomalý růst a dlouhověkost jsou významnými vlastnostmi z hlediska využití lišejníků jako bioindikátorů. Určité druhy lišejníků jsou zejména citlivé na oxidy dusíku a síry a na těžké kovy, které se v lišejníkových stélkách kumulují. V důsledku působení uvedených látek znečišťujících životní prostředí, stélky lišejníků hnědnou a postupně odumírají.

V okolí skládky v Klatovech-Štěpánovicích byla identifikována dutohlávka lesní (*Cladonia arbuscula*).

ZÁVĚR

Výstavbou a provozováním skládky v Klatovech - Štěpánovicích došlo ke změně přírodních podmínek zdejšího mikroregionu, byla přerušena návaznost biologické skladby s okolním prostředím.

Vliv této skládky na životní prostředí může být při nedodržení technických a provozních podmínek negativní zejména případným vlivem prosakující skládkové vody do podzemních vod a nekontrolovanou tvorbou skládkového plynu bez řešení problematiky.

V případě poškození těsnicího systému tělesa skládky je nejdůležitějším faktorem ovlivňujícím zdraví a životní prostředí nebezpečí vyluhování solí a stopových prvků ze skládky. Velikost rizika pro životní prostředí je určena množstvím polutantů obsažených v průsacích skládky. I menší množství těžkých kovů v prostředí může představovat zdravotní riziko nebo ohrožení životního prostředí. Těžké kovy se mohou navíc koncentrovat např. na znech zemin a také akumulovat v organizmech. Přenos těchto kovů může vzrůst i vlivem okyselení prostředí a dalším nárůstem koncentrace škodlivin vedoucím k následnému uvolňování polutantů do prostředí.

V práci, která se zabývá vlivem skládky na její okolí, je řešena otázka využití bioindikátorů (fytoindikátorů) pro hodnocení zátěží okolí skládky. Tato otázka je aktuální

především proto, že tyto zátěže mohou obsahovat různorodé kontaminující cizorodé látky, tj. nejen rizikové prvky, ale také organokovové sloučeniny a prioritní organické polutanty.

V práci je zmíněna otázka bioindikace a fytoindikace, včetně různých možností použití bioindikačních systémů. Popsáno bylo několik druhů bioindikátorů (fytoindikátorů) vyskytujících se v okolí skládky, včetně lišejníků, které se mohou zvláště osvědčit při hodnocení kontaminace rizikovými prvky.

Práce bude pokračovat výzkumem možných znečišťujících látek, které mohou unikat do okolí skládky v Klatovech – Štěpánovicích, zejména rozptylováním prachu a roznosem lehkých frakcí odpadu větrem. Dále se bude práce zabývat identifikací dalších vhodných rostlinných bioindikátorů ve vztahu k tomuto možnému a předpokládanému znečištění.

LITERATURA

Absolon, K., 1994: Metodika sběru dat pro biomonitoring v chráněných územích. Český ústav ochrany přírody a krajiny, Praha

Culek, M., 1995: Biogeografické členění ČR. Enigma, Praha,

Hruška, B., Jelínek J., 1998: Lesnická geologie. MZLU, Brno,

Chmelař, J., 1990: Dendrologie s ekologií lesních dřevin 1. a 2. část. VŠZ, Brno,

Kotovicová, J. a kol.: Čistší produkce. MZLU v Brně 2003, ISBN 80-7157-675-1

Kotovicová, J., Podhrázská, J.: Možnosti využití indikátorů čistší produkce pro ochranu zranitelných oblastí. Soil and Water, 4/2005, s. 51-59. VÚMOP Praha. ISSN 1213-8673.

Straalen, N. M., Krivolutsky D. A., 1996: Bioindicator Systems for Soil Pollution.

Spellerberg, I. F., 1995: Monitorování ekologických změn. Český ústav ochrany přírody, Brno.

Král, V., 2005 Studie lesnické rekultivace skládky odpadů, MZLU, Brno, Lesnická a dřevařská fakulta

Kramer, K. J., Botterweg J., 1991: Aquatic Biological Early Warning Systems. An Overview. In Jeffrey, D. W., Madden, B. (eds): Bioindicators of Environmental Management. Academic Press, London, San Diego, N. York, etc.,

<http://www.geovision.cz/>

POSSIBILITIES OF ULTRASOUND AND PRESSURE SENSORS USAGE FOR FLOW RATE MEASUREMENT OF SMALL FOREST STREAMS - DEFINITION OF USAGE LIMITS

MOŽNOSTI VYUŽITÍ ULTRAZVUKOVÝCH A TLAKOVÝCH SOND PRO MĚŘENÍ PRŮTOKŮ NA LESNÍCH TOCÍCH A STANOVENÍ PODMÍNEK POUŽITÍ

Datinský J., Kupec P.

Department of Landscape Management, Faculty of Forestry and Wood Technology, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: DatinskyJiri@seznam.cz

ABSTRACT

One of the main goals of water management measurements in river (stream) basins is realisation of measurements with minimal influence to ecosystem relationships or relationships within the ecosystems. Realisation of described measurements is possible only in case of having accurate data measured on concrete site. Accuracy and long-termination of measured data are the presumption of carefully and appropriate realisation of water management measurements with minimal negative impact to environment. In case of torrent and water management constructions building on small forest streams is necessary to know accurate values of flow rate for correct dimensioning of mentioned construction. Over-dimensioned torrent and water management constructions may have negative influence to water ecosystems and also economic aspects of those constructions may not be generally acceptable. Given article presents method and the first results of flow rate measurement on small forest stream in University Forest Enterprise Masaryk Forest Křtiny area. The method of usage of ultrasound and pressure sensors implemented to condition of small forest stream by using Thompson spillway panels was applied for presented results obtaining.

Key words: flow rate measurement, ultrasound sensor, pressure sensor, small forest stream

ÚVOD

Výstavba melioračně-vodohospodářských staveb na lesních tocích je v poslední době velmi diskutovanou otázkou, jak z hlediska ekologického, tak ekonomického. Při výstavbách se mnohdy nepočítá se skutečnými hodnotami průtoků, které jsou směrodatné pro nadimenzování velikostně vhodné stavby. Důsledkem toho jsou stavby, které pro svou velikost v letních měsících zcela zastaví tok nebo stavby neplní svůj účel.

Účelem této práce je předložit lesnické veřejnosti a stavebním firmám zabývajícím se výstavbou vodních děl metodu, která spolehlivě a přesně stanoví průtoky v dané lokalitě jako podklady pro technické stavební výpočty. Tímto nástrojem lze docílit šetrnějších zásahů na životním prostředí, nižší nákladovosti a zvýšení účinnosti staveb.

Tato práce, zabývající se elektronickým měřením průtoků lesních toků pomocí přístroje Fiedler – Magr M 4016 (tlakovými a ultrazvukovými sondami), má za úkol objasnit možnosti využití tohoto způsobu měření v lesních ekosystémech a stanovit podmínky, za kterých je možno tento přístroj použít.

MATERIÁL A METODY

Lokalita

Lokalita „Babice – křižovatka“ se nachází 15 km severně od Brna mezi obcemi Babice nad Svitavou a Kanice. Rozkládá se v údolí procházející od obce Kanice směrem k železniční trati Česká Třebová – Brno. Oba svahy údolí tvoří exponované stráně bučin a smrčín všech věkových tříd. Podél toku se vyskytují olšiny. Samotný tok nad místem měření prochází lesními porosty v délce cca 1,5 km. Koryto potoka je tvořeno dvěma pevnými břehy s hlinito-písčítým dnem s občasným výskytem větších valounů. Průměrný průtok se pohybuje od 0,2 – 0,5 l/s. Spád toku - 0,5 až 1,5%. Volba tohoto toku je odůvodněna trvalostí a vyrovnaností průtoku během celého roku.

Obr. č. 1: Měrný profil v lokalitě „Babice – křižovatka“



Metoda

Měření průtoků je realizováno sestavou složenou z řídicí jednotky – datalogeru M4016, ultrazvukové a tlakové sondy, mobilní masky Thomsonova přelivu a kabeláže a adjustačních prvků.

Záznamová a řídicí jednotka typu M4016 vznikla na základě dlouholetého vývoje firmy Fiedler-Mágr a dvou významných vodárenských společností. Přístroj má široké uplatnění v celé řadě aplikací. Využívá se například pro řízení a monitoring malých ČOV a malých úpraven vody a ČS. Uplatňuje se v limnigrafických stanicích a meteostanicích nebo při měření a registraci průtoků a hladin v kanalizačních sítích.

Jednotka M4016 představuje programovatelný řídicí automat a ve spojení s ultrazvukovými nebo tlakovými snímači hladiny i vícenásobný průtokoměr. Pracovní teplotní rozsah je stanoven na -30 až +60 °C, hmotnost přístroje je 3,5 kg včetně akumulátoru. K dispozici je 16 dynamicky obsazovaných záznamových kanálů pro měření a archivaci průtoků, hladin, tlaků a mnoha dalších veličin.

Zdroj napětí představuje vestavěný gelový akumulátor 12/9Ah (alt. 6V/12Ah). Výdrž baterie se pohybuje podle typu a počtu od jednoho týdne do jednoho roku (použití 3Vtechnologie).

Přípojná deska jednotky je pevně zabudována ve spodní části řídicí jednotky a zalita nepříznivému prostředí odolnou těsnící hmotou. Elektronika jednotky je uzavřena a utěsněna v hliníkovém odlitku a je ošetřena speciálním lakem proti vlhkosti. Tyto úpravy zvyšují odolnost jednotky, takže je možné ji bez obav nasadit i v nevytápěných prostorách, či přímo v terénu (viz obr.č.2).

Vlastní nastavení parametrů jednotky a základní zpracování změřených dat se uskutečňuje prostřednictvím programu Most. Změřená a uložená data se stahují ručně pomocí notebooku. Program umožňuje tabulkové a grafické zobrazení naměřených hodnot, průměrování, stanovení mezních hodnot, výpočty proteklého množství, tisk naměřených dat ve formě zprávy, či export do textového souboru nebo přes SQL server. Lze nadefinovat také několik složených logických a časových podmínek spínání přístroje.

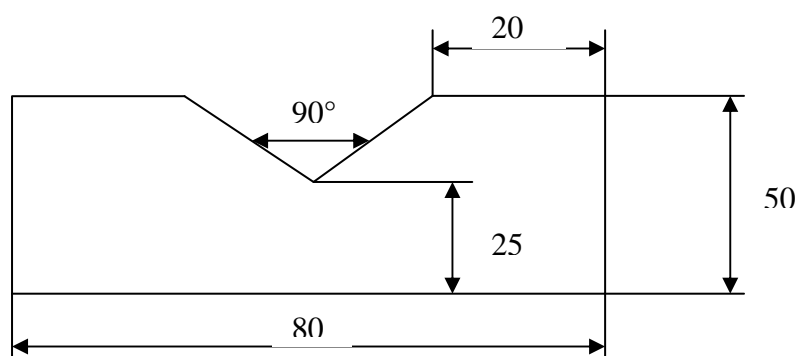
Obr. č. 2: Řídicí jednotka Fiedler-Mágr M 4016



Mobilní masky Thomsonova přelivu jsou vyrobeny z válcovaného 3mm silného plechu s nerezovou povrchovou úpravou – rozměry masky použité pro měření lokality „Babice – křižovatka“ - viz obr.č.3.

Tyto rozměry lze použít na tok o šířce do 60 cm za podmínky nezvýšeného průtoku. V případě větší šíře toku se musí použít maska delších rozměrů, aby došlo k úplnému zachycení vody (požadavek nepropustnosti). Je-li průtok, např. vlivem vyššího úhrnu srážek, zvýšen, doporučuje se použití větší tloušťky plechu v kombinaci s vyšším počtem opěr. Měříme-li průtoky velmi malých hodnot, instalujeme masku se 60° výřezem.

Obr. č. 3: Rozměry masky Thompsonova přelivu použitého pro měření lokality „Babice – křižovatka“ (kóty v cm)



Instalace přelivu se provádí nejlépe v místech oboustranného zaříznutí toku. Je-li tok rozlitý, bez výraznějších břehů, je instalace náročnější na boční utěsnění. Důležitým předpokladem pro kvalitní utěsnění je i materiál tvořící dno. Nejlépe se jeví hlinito-písčité dno. Přeliv instalujeme kolmo na směr toku. V místě umístění prokopeme rýhu pomocí krumpáče, do které masku umístíme. Důležité je dodržet horizontální i vertikální kolmost (použití vodováhy). Proti vychýlení se používá ocelových opěr (viz obr. č. 4). Přeliv se snažíme co nejvíce zarazit pomocí kladiva do dna (rýha). Samotné utěsnění provedeme pomocí hlíny (nikoliv drnů). Těsnost přelivu se kontroluje v průběhu celého měření. Místo dopadu vodního paprsku je nutné podložit kamenem tak, aby nedocházelo k vymílání dna za přelivem (zamezení podemílání masky).

Obr. č. 4: Ocelové opěry sloužící ke stabilizaci masky přelivu



Ultrazvuková sonda typu US1200 je založena na principu měření časové prodlevy mezi vyslaným a přijatým ultrazvukovým impulsem. Sonda jsou vhodné pro měření výšky hladiny a okamžitého průtoku na otevřených měrných profilech a vodních tocích nebo pro měření výšky hladiny a objemu v nádržích apod.

Obr. č. 5: Ultrazvuková sonda US 1200



Ultrazvuková sonda US1200 má měřicí rozsah 0,15 - 1,2m, a dlouhodobá chyba měření nepřesahuje 1% z rozsahu. Teplotní kompenzace minimalizuje možnost chyby vzniklé rychlými výkyvy teplot. Napájecí napětí pro ultrazvukovou sondu je přivedeno kabelem společně se signálovými vodiči z řídicí jednotky.

Ponorný tlakový snímač hladiny snímač (tlaková sonda) slouží ke kontinuálnímu měření výšky hladiny. Existuje široká škála variant, které umožňují měření jak v prostředí čisté vody, tak i silně znečištěné kapaliny. Měřicí rozsahy jsou od 0,6 do 50m, je možné si zvolit přesnost od 0,1 do 5%. Pro měření výšek hladin v lokalitě „Babice – křižovatka“ byla zvolena sonda z rozsahem měření 0,6 – 1,5 m (viz obr.č.6).

Obr. č. 6: Ponorný tlakový snímač hladiny (tlaková sonda)



Ultrazvuková sonda se zavěšuje na ocelovou konstrukci (viz obr.č.7), která je umístěna v břehu toku v místě přelivu. Sonda se instaluje kolmo nad hladinu (použití vodováhy). Minimální vzdálenost sondy od hladiny musí splňovat předepsanou kalibrační hodnotu sondy.

Ponorný tlakový snímač hladiny se připevňuje pomocí elektrikářského stahovacího pásku k ocelové tyči. Snímač se pokládá na dno co nejbliže k masce. Během měření se sonda čistí od nánosů.

Obr. č. 7: Nainstalovaná UV sonda připravená k měření



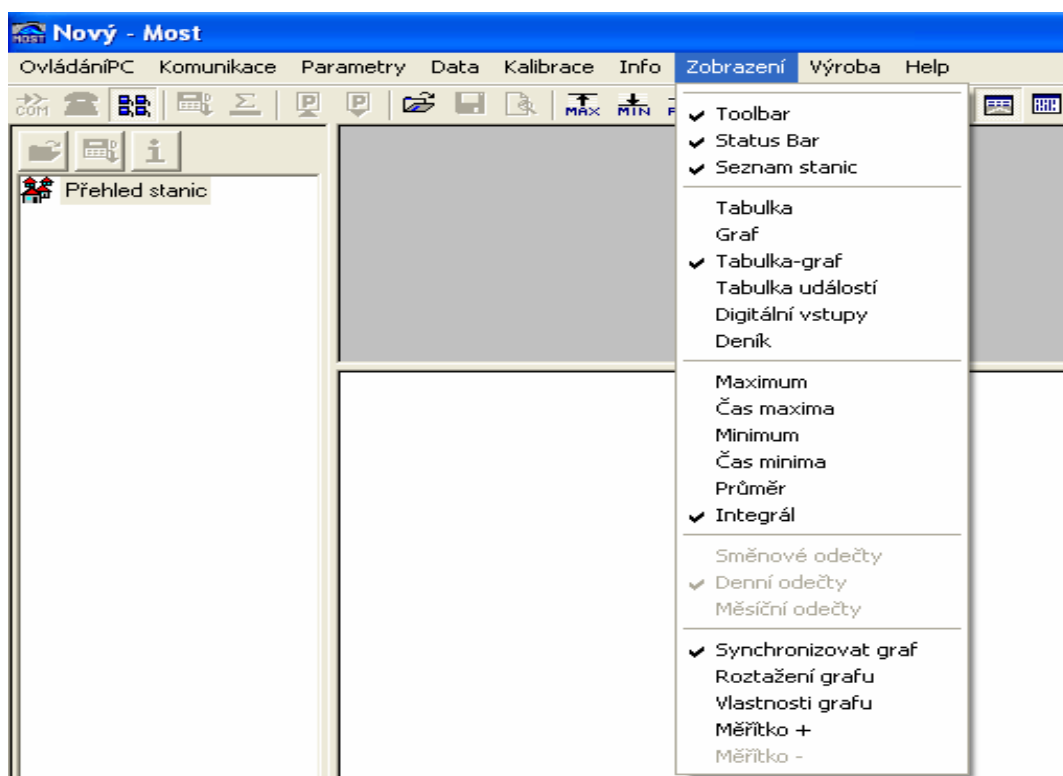
Samotné měření lze zahájit v době po úplném napuštění masky.

Pro nakonfigurování software řídicí jednotky a realizaci přepočtu výšek hladin na průtoky je nezbytné zaměřit výšku vodního paprsku nad Thompsonovým přelivem. Měříme s přesností na 1 mm pomocí posuvného měřítka.

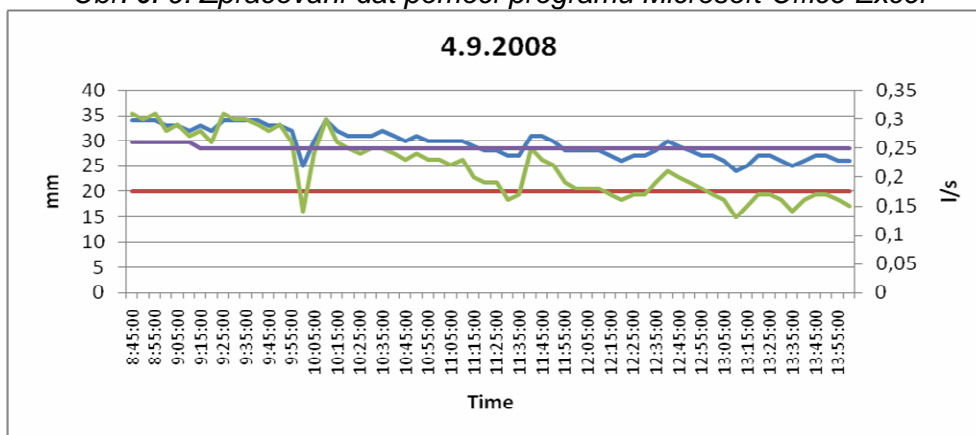
Připojení sond k přístroji se provádí pomocí kabelů, které se zapojují do bočních vstupů typu DAV (datové vstupy) na datalogeru. Jsou-li kabely připojeny, začne měření ihned po zapojení datalogeru ke zdroji napětí. Před samotným měřením je třeba nastavit přesnost měření a zápisový interval.

Změřená a uložená data se stahují ručně pomocí notebooku. Stanice si sama zapamatuje, kdy byla data naposledy stahována, a toto datum (a čas) uživateli automaticky nabídne. V programu Most lze data zpracovávat dle základní nabídky (viz obr. č. 8). Data lze exportovat pro ostatní úpravy do prostředí Microsoft Office Excel (viz obr. č. 9).

Obr. č. 8: Základní nabídka datových úprav (Most)



Obr. č. 9: Zpracování dat pomocí programu Microsoft Office Excel

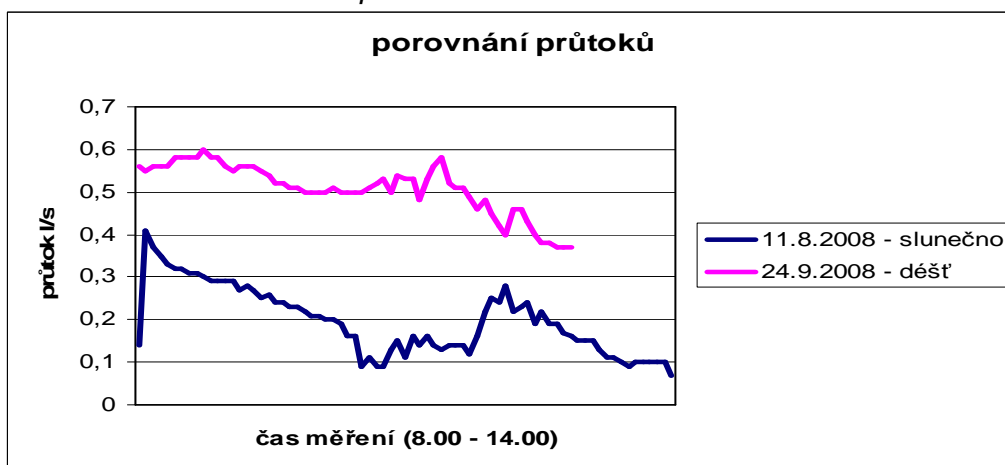


VÝSLEDKY

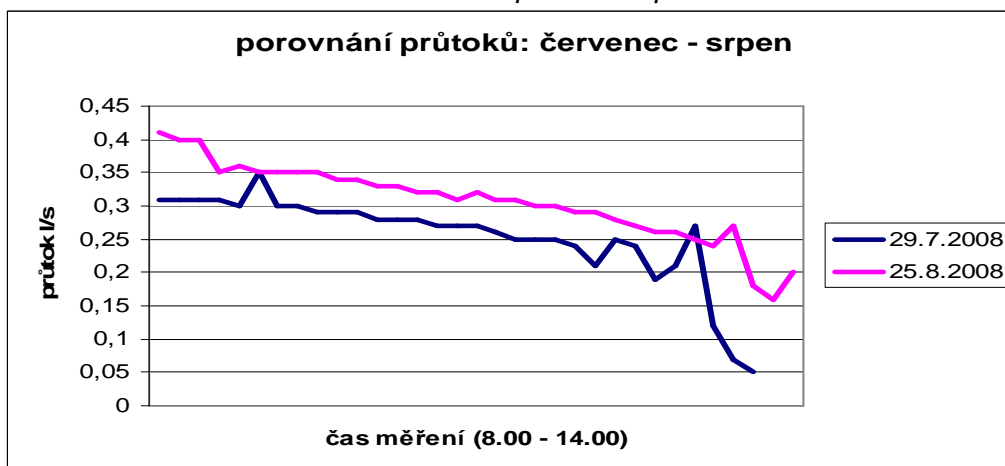
Měření v terénu se provádí na ŠLP ML Křtiny od počátku června roku 2008. Každý týden se zaměřuje 5-6 hodinová sekvence. Výsledkem každého měření je graf (viz obr. č. 9), který znázorňuje průběh kolísání průtoku na sledované lokalitě. Součástí každého měření je terénní zápisník a fotodokumentace.

Dosud zpracovaná data vypovídají o poklesu průtoku v časovém rozmezí od 8.00 do 14.00 hod a rozdílu hodnot měřených průtoků v období beze srážek a období se srážkami (viz graf č. 1). Z hlediska delšího časového horizontu je patrné, že průtok se mění při srovnatelném počasí i v rámci jednotlivých měsíců (viz graf č. 2), kdy měsíce červenec a srpen byly srážkově relativně vyrovnané. V měsíci červenci byl naměřený průměrný průtok 0,24 l/s, zatímco v měsíci srpnu 0,31 l/s. Závislost průtoku na počasí je prokazatelná. Za deštivého počasí činil průměrný průtok 0,51 l/s, slunečný den vykazoval jen 0,20 l/s. První měření uskutečněné v měsíci červenci vykazují na tlakové sondě výkyvy opakující se přibližně ve stejný časový úsek. Příčinou těchto výkyvů bylo zanášení sondy sedimenty. Při samotném měření je proto třeba sondu čistit, aby nedocházelo ke zkreslování výsledků.

Graf č. 1: Porovnání průtoků ve dnech se srážkami a beze srážek



Graf č. 2: Měsíční porovnání průtoků



ZÁVĚR

Dosud naměřené výsledky přístrojem Fiedler – Mágr M 4016 vypovídají o možnosti použití tohoto přístroje na malých tocích. Při dodržení výše uvedeného postupu a zásad měření jsme schopni dosáhnout velmi přesných výsledků. Předností je především možnost měření průtoků v delším časovém horizontu a měření okamžitých průtoků za specifických podmínek. Tímto měřením získáváme přesné informace o daném stanovišti, které lze účelně použít v mnoha případech. Mobilnost, snadné použití, lehká ovladatelnost a přesnost přístroje dává předpoklad pro všestranné využití nejen v oblasti ekologie.

LITERATURA

Štulík, K.: Elektroanalytická měření v proudících kapalinách. 1. vyd. Praha. Státní nakladatelství technické literatury, 1989, 305 s.

Staněk, V.: Fixed Bed Operations: Flow Distribution and Efficiency. 1. vyd. Praha, Academia, 1994, 267 s., ISBN 80-200-0413-0

Spencer, E. A.: Flow measurement : Proceedings of FLOMEKO 1983 : IMEKO conference on flow measurement : Budapest, Hungary, September 20-22, 1983. Budapest, Akadémiai Kiadó, 1984, 327 s.

Miller, Richard W.: Flow measurement engineering handbook. 2nd ed. New York, McGraw-Hill, 1989

Cedergren, Harry R.: Seepage, Drainage and Flow Nets. 2. edit., New York, John Wiley & Sons, 1977, 534 s.

www.fiedler-magr.cz

www.ekotechnika.cz

IMPLEMENTING SPC IN INDUSTRIAL PROCESS

ZAVÁDĚNÍ SPC VE VÝROBNÍM PROCESU

Dostál P., Černý M.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: pet.d@seznam.cz, michalc@mendelu.cz

ABSTRACT

The article is engaged in implementing of statistical process control on machines into the mechanic production, therefore in suggestion of suitable statistical instruments for the operating of the processes. In this article is tried to find a solution to the statistical stability of the processes, their regulation and the improvement. One part of the article deals with the statistically gained data evaluation and the correctional precautions at the demonstration of the process' instability. As a result is implementing measuring station from where will be the process data transferred to a server, where will became to data evaluation. If is all system correctly installed, the reason is production costs reduction owing to scrap reduction.

Key words: statistical process control, SPC, quality improvement, stability, qualification, control charts, quality control.

ÚVOD

Jakost výrobku je dnes důležitější, než tomu bylo kdykoli předtím. Proto by měla být jakost výrobku prvořadým zájmem každé výrobní společnosti. V současné době vysoké konkurence na trhu je existenční nutností firem uspokojovat potřeby zákazníka, snižovat náklady na výrobu, zvyšovat produktivitu a zlepšovat kvalitu nabízených výrobků či služeb. V minulosti se výrobky, které neprošly výstupní kontrolou, vracely zpět do výroby na přepracování nebo v horším případě skončily jako odpad. Vhodný systém řízení kvality zajišťuje, že výrobek se v požadované kvalitě vyrobí napoprvé. To má za následek zvýšení produktivity a samozřejmě snížení nákladů na výrobu. Požadavky zákazníka resp. uživatele jsou naplněny pouze tehdy, když jsou výrobky dodávány s minimálními odchylkami v rámci dodržení funkčnosti a zaměnitelnosti.

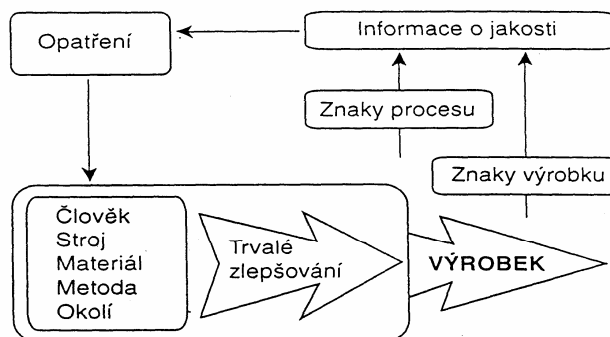
Pro označení statistického přístupu k řízení procesů se používá zkratka SPC (Statistical Process Control), což je primární nástroj pro statistické řízení kvality (SQC – Statistical Quality Control). Využívání SPC ve výrobě přispívá ke zvýšení kvality vyráběného produktu, umožňuje včas identifikovat změny v kvalitě a minimalizuje počet nekvalitních výrobků. Podle odborných studií je návratnost investice do SPC velmi rychlá, řádově několik měsíců.

Lze říci, že statistická metoda SPC má největší přínos při:

- hromadné sériové výrobě
- velkém objemu výroby s malým ziskem na vyrobenou jednotku, výrobě produktů s vysokými nároky na přesnost

Základním cílem statistické regulace (SPC) je:

- Zlepšování jakosti (předcházení výroby neshodných výrobků, dříve zmetků).
- Uvedení výrobního procesu dlouhodobě do stabilního stavu.



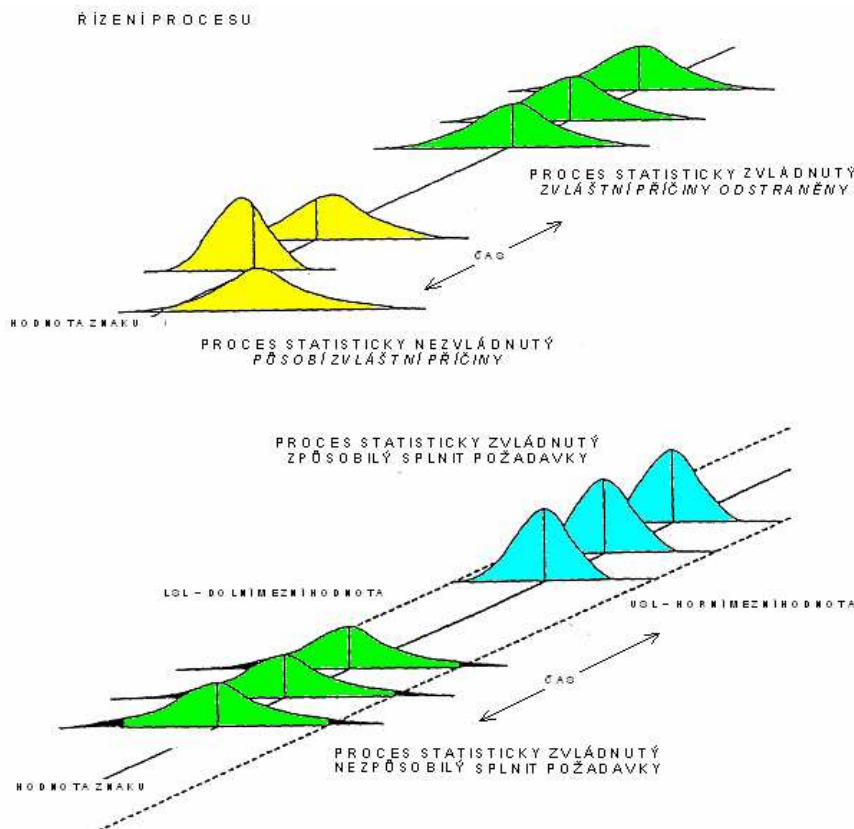
Obrázek 1. Zpětnovazební regulační okruh SPC [3]

METODIKA

1.1 Variabilita

Každý výrobní proces vykazuje variabilitu. I když je velkosériová výroba velmi přesná, každý výrobek je originál. Měříme-li vždy stejný znak jakosti (rozměr) na velkém počtu shodných výrobků, vždy se budou naměřené hodnoty lišit. Vlivem nepřesnosti výroby, měřením, změnou okolních výrobních a měřicích podmínek atd. se hodnota měřeného rozměru pohybuje v určitých mezích, je variabilní. Tato variabilita je způsobena příčinami, které lze rozdělit do 2 skupin:

1. Náhodné příčiny – vztahují se k mnoha zdrojům kolísání, které jsou zahrnuty v procesu, který má stabilní a opakující se rozdělení v průběhu času. Je-li proces ovlivňován pouze systémem náhodných příčin, má charakter “statisticky zvládnutého procesu” a lze jeho průběh předpovídat.
2. Vymezené (zvláštní) příčiny – vztahují se ke zdrojům kolísání, které v procesu nepůsobí trvale a vyvolávají neočekávané změny. Ty mohou být:
 - škodlivé – ty je nutno identifikovat, odstranit a zabránit jejich opětovnému nastání.
 - prospěšné – ty je třeba rovněž identifikovat, ale využít ke zlepšení procesu a měly by se stát pevnou součástí procesu.

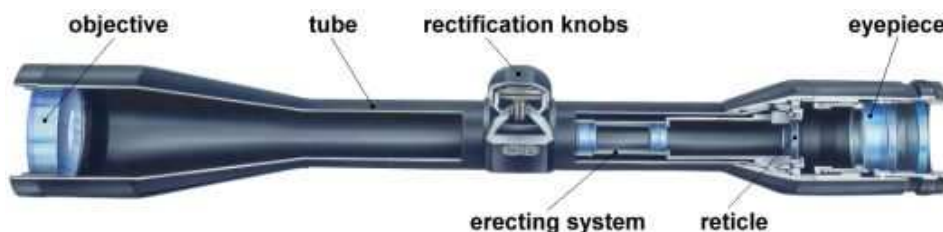


Obrázek 2. Příčiny variability [4]

1.2 Postup zavádění SPC

Poznámka:

Příklady zavádění SPC jsou čerpány z praxe v reálné společnosti, která se zabývá mimo jiné výrobou sportovních puškohledů [Obrázek 3].



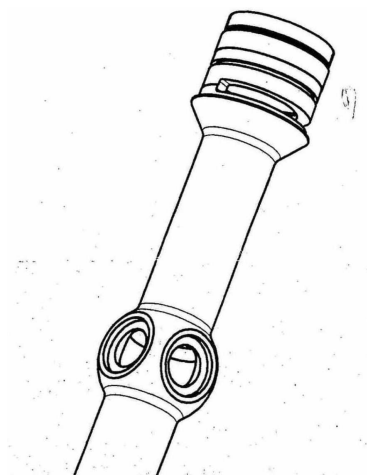
Obrázek 3. Stavba puškohledu

1.2.1 Identifikace potřeb zákazníků

V současném konkurenčním prostředí, kdy stoupají požadavky zákazníků a zároveň klesá jejich loajalita ke značce, je nezbytným předpokladem pro přežití každého podniku získání a udržení zákazníků. Jediným způsobem jak toho dosáhnout je rozpoznat tyto zákazníky, navázat s nimi komunikaci, identifikovat jejich potřeby a se ziskem je uspokojit.

Praktickým příkladem je zavádění SPC na CNC stroji, kde se obrábí tzv. tělo puškohledu [Obrázek 4], což je hlavní mechanická část celého přístroje.

Zavést SPC na výrobu tohoto dílu je nejen požadavkem managementu podniku, ale i požadavkem zákazníka.



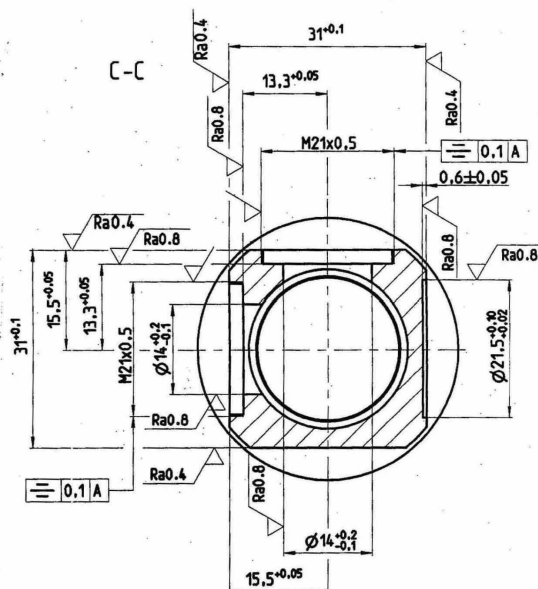
Obrázek 4. Část puškohledu prostorově

1.2.2 Volba znaků jakosti

Na základě požadavků zákazníka je nutno zvolit vhodný znak jakosti výrobku, který nejlépe vypovídá o jakosti výrobku v dané výrobní fázi.

Příklad:

V našem konkrétním případě se zabýváme výrobou mechanické části puškohledu. Firma vyrábí celkem 27 variant puškohledů. Jisté znaky jsou ale pro všechny shodné. Na základě požadavků zákazníka je zvolen jako vhodný znak jakosti výrobku středová kostka [Obrázek 5], která je na všech typech puškohledů shodná. Měří se výška této středové kostky, což je dle zákazníka hodnota, která nejlépe vypovídá o jakosti výrobku v dané výrobní fázi.



Obrázek 5. Středová kostka puškohledu

1.2.3 Statistické pozorování – sběr dat

Sběr dat je systematicky prováděné pozorování určených prvků procesu, zaznamenávání výsledků pozorování a jejich uchování pro další použití.

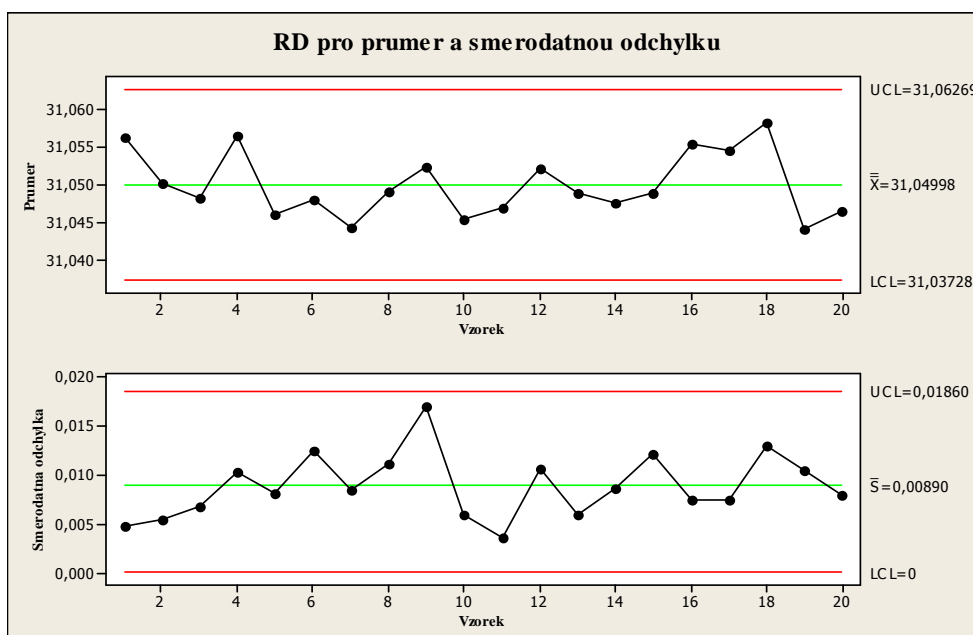
V praxi je sběr dat většinou realizován automaticky, data jsou tedy přenášena datovým kabelem z měřidla přímo do počítače. Tam jsou zaznamenávána do programu, kde jsou statisticky vyhodnocována a archivována. Naměřená data jsou zpřístupněna manažerům kvality a jiným osobám, pro které jsou výsledky přínosné. Data mohou v programu tvořit „nekonečnou řadu“. To znamená, že se zpravidla využívá jediný soubor, do kterého jsou data zaznamenávána. Postupně je tedy k dispozici stále rozsáhlejší soubor naměřených hodnot.

1.2.4 Stabilizace procesu

Při zavádění statistické regulace se nejprve analyzuje, zda je variabilita procesu vyvolána pouze náhodnými příčinami nebo i působením vymežitelných příčin. K odhalení vlivu vymežitelných příčin se využívají regulační diagramy (RD) [Graf 1].

Tyto RD jsou velmi cennými nástroji kontroly kvality. Jejich význam spočívá hlavně v získání potřebných informací o chování procesu. RD má obecně sloužit jako diagnostický nástroj k posouzení, zda se sledovaný proces chová tak, jak očekáváme. Na základě analýzy RD můžeme včas odhalit významné odchylky procesu od předem stanovené úrovně, najít a

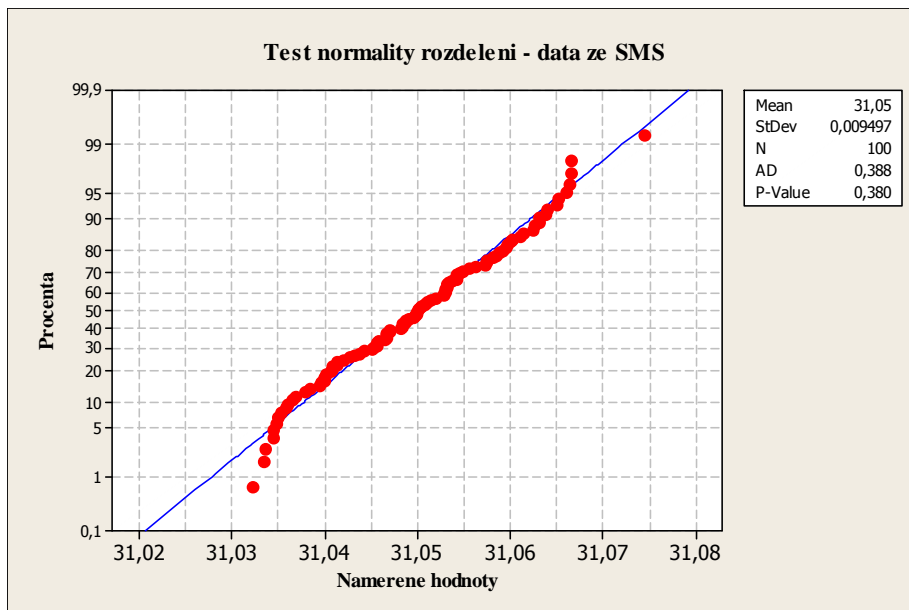
vysvětlit příčinu a případně přistoupit k zásahu. Pro statisticky stabilní proces musí být všechny body regulačního diagramu ve stanovených mezích.



Graf 1. RD pro průměr a směrodatnou odchylku [minitab]

V případě, že jsou zjištěny signály působení vymezipitelných příčin, je potřeba tyto příčiny identifikovat a odstranit (je-li to možné) tak, aby se proces dostal do stavu, ve kterém jeho variabilitu vyvolávají pouze náhodné příčiny. Takový proces, který je ovlivňován pouze náhodnými příčinami, se označuje jako statisticky stabilní proces (statisticky zvládnutý proces, proces pod kontrolou) a jeho rozhodující výhodou je předvídatelnost rozdělení sledovaného znaku jakosti výstupu z procesu.

Aby RD správně plnil svoji funkci, je nutno mít k dispozici data, která vykazují normální (Gaussovo) rozdělení hodnot. Pro zjištění, zda mají data normální rozdělení, používáme test normality [Graf 2].



Graf 2. Test normality [minitab]

1.2.5 Určení způsobilosti procesu

Statistická zvládnutelnost procesu (stabilita procesu) však nezajišťuje, že procesem budou vznikat pouze shodné výrobky. To je potřeba posoudit hodnocením způsobilosti procesu. Způsobilost procesu vyjadřuje, s jakou rezervou leží regulační meze uvnitř pásma vymezeného specifikacemi (technickými mezemi). Lze říci, že způsobilý proces, je takový proces, který vyhovuje požadavkům zákazníka. K hodnocení způsobilosti procesu se používají indexy způsobilosti C_p, C_{pk} .

Index způsobilosti C_p je mírou potenciální schopnosti procesu zajistit, aby hodnota sledovaného znaku jakosti ležela uvnitř tolerančních mezí.

$$C_p = \frac{USL - LSL}{6\sigma}$$

kde: LSL - dolní toleranční mez
USL - horní toleranční mez
 σ - směrodatná odchylka

Skutečná variabilita sledovaného znaku jakosti je vyjádřena hodnotou 6σ , která v případě normálního rozdělení vymezuje oblast, v níž s 99,73% pravděpodobností leží všechny hodnoty. Hodnota $C_p = 1$ tedy například poskytuje informaci, že dosažitelná pravděpodobnost neshodných jednotek na výstupu z procesu činí 0,27%.

Na rozdíl od indexu C_p zohledňuje index C_{pk} nejen variabilitu sledovaného znaku jakosti, ale i jeho polohu vůči tolerančním mezím. Index C_{pk} tedy charakterizuje skutečnou způsobilost procesu dodržovat předepsané toleranční meze.

$$C_{pk} = \frac{USL - \mu}{3\sigma}$$

μ - střední hodnota sledovaného znaku jakosti

U většiny společností je za způsobilý proces považován ten, který vykazuje hodnotu C_{pk} vyšší, než 1,33.

1.2.6 Statistická regulace procesu

U procesu, který je statisticky zvládnutý a způsobilý, se pak aplikuje vlastní statistická regulace. Z procesu se v kontrolních intervalech získávají údaje o sledovaném znaku jakosti, které se pak vyhodnocují v regulačním diagramu. V případě zjištění signálů působení vymezených příčin se tyto příčiny identifikují a odstraňují tak, aby se proces udržel ve statisticky zvládnutém stavu.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Výsledkem verifikace předkládané metody SPC je měřicí a vyhodnocovací stanice pro SPC, která je prostředkem pro sběr dat, a jejich statistické zpracování. Vedení organizace je pak informováno o klíčových nedostatcích při procesu výroby určitého produktu. Data jsou přenášena z měřidla do PC, kde jsou statisticky vyhodnocována. Průběžně je hodnocena stabilita i způsobilost procesu, proto je možné kdykoli v případě náznaku nestability provést zásah takovým způsobem, aby nemusela být zastavena výroba a aby se nevyráběly neshodné výrobky. Tím se zvyšuje produktivita a snižují se náklady na výrobu, což je dané minimalizací výroby neshodných kusů.

Jednou z alternativ, jak vyhodnotit způsobilost procesu, je zpracovat program s využitím MS Excel, který z naměřených hodnot přímo počítá indexy způsobilosti ze zadaných vzorců.

Tabulka výsledků [Tabulka 1] z naměřených hodnot obsahuje tyto vypočtené údaje: horní a dolní regulační mez, průměr, směrodatná odchylka a indexy způsobilosti. Tato tabulka je zpracovaná programem v MS Excel.

Pro jednoznačnost lze využít možnost vložení obrázku, který svým aktuálním ztvárněním vypovídá o stavu procesu. Operátor tedy není subjektivně zatížen vypočtenými hodnotami, ale orientuje se obrázkem.

Tabulka 1. Hodnocení způsobilosti

Předpis (requirements):	
USL	31,1
LSL	31
Střední hodnota	31,05
Výpočet (results):	
UCL	31,0627
LCL	31,0373
μ	31,0499
σ	0,0041
C_p	2,2277
C_{pk}	1,7242
Počet hodnot (number of samples)	100

**Hodnocení procesu
(proces capability):**



.....proces je způsobilý, index $C_{pk} > 1,33$



.....proces je na hranici způsobilosti, index $C_{PK} = 1,33 \pm 0,05$



.....proces není způsobilý, index $C_{pk} < 1,33$

ZÁVĚR

Metoda SPC je optimálním nástrojem pro posuzování stavu procesu v reálném čase. Díky SPC dokážeme včas identifikovat vliv vymezených příčin působících na výrobní proces a tím proces řídit, snížit počet neshodných výrobků, zvýšit produktivitu a co je hlavním cílem každé organizace - zvýšit zisk.

Z RD jasně poznáme, jak se proces výroby chová a kam se vychyluje například vlivem opotřebením nástroje, změny teploty, rozladění stroje atd. a díky této informaci o aktuálním stavu procesu jsme schopni provést opatření v tak krátkém čase, že nebude muset být zastavena výroba a proces bude v ideálním případě stále vykazovat výrobu shodných výrobků. Minimalizace výroby neshodných kusů je z praktických zkušeností až 80%, což představuje obrovskou úsporu nákladů. Pro největší efekt metody SPC je důležité seznámit operátory se stanicí SPC, proškolení je a ujistit v tom, že SPC je skutečným přínosem jak pro podnik a zákazníka, tak i pro samotné operátory.

Nevýhodou SPC je malá pravděpodobnost zjištění výskytu izolovaného defektu, tedy vady snižující jakost výrobku, která není rozpoznána, není tedy v místě sledovaných znaků jakosti. SPC používá stále více podniků jako prostředek rozvoje. Firma, která má zaveden systém SPC, má jistou konkurenční výhodu před ostatními konkurenty na trhu.

LITERATURA

ČECH, J.: *Statistické řízení jakosti*. VUT v Brně. 1993. ISBN 80-214-0528-7

BRATKOVÁ, E. *Metody citování literatury a strukturování bibliografických záznamů podle mezinárodních norem ČSN ISO 690 a ČSN ISO 690 – 2. 1.0 verze, duben 2006. 24s. ISBN 80-255-1105-3*

FIALA, A. *Statistické řízení procesů*. VUT v Brně. 1995, 96s. ISBN 80-238-1818-3

FIALA, A. *Statistické řízení jakosti: Prostředky a nástroje pro řízení a zlepšování procesů. 2. vydání. VUT v Brně. 1997, 93s. ISBN 80-244-1562-3*

HORÁLEK, V. *QS-9000: Statistické řízení procesů (SPC)*. ČSJ, Praha, 1999, 154s. ISBN 80-02-01343-3

MLČOCH, L. *Řízení kvality a strojírenská metrologie*. Státní nakladatelství technické literatury, Praha, 1987, 330s. ISBN 80-314-0833-8

NOSKIEVIČOVÁ, D. *Statistické metody v řízení jakosti*. Vysoká škola báňská, Ostrava, 1997, 80s. ISBN 80-7078-318-4

THE USING OF GEOGRAPHICAL INFORMATION SYSTEMS IN WRECKED CARS TREATMENT

VYUŽITÍ GEOGRAFICKÝCH INFORMAČNÍCH SYSTÉMŮ V RÁMCI NAKLÁDÁNÍ S AUTOVRAKY

Konrád Z., Fryč, J.

Department of Agriculture, Food and Environmental Engineering, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xkonrad@node.mendelu.cz, fryc@mendelu.cz

ABSTRACT

The number of new cars produced in Czech republic and the number of worn-out cars imported to Czech republic is increasing. In connection with this the amount of service life ending cars is increasing too. This fact in conjunction with the deficient legal enactments for their effective processing means a big environmental problem. The legal enactments which direct all processes about wrecked cars treatment appear from European guide no. 2000/53/ES. The main law in Czech republic is waste testament no. 185/2001 including its processing norms. The building of information system of service life ending cars is very important to granting of complex information about waste flow by processing of wrecked cars or location of places with its treatment. But this system cannot be used for displaying geographical data, for example location of processor of wrecked cars right on map, which it can be very good information for people when they must disposal wrecked car with respect for environment as it is assigned by the waste testament. Wherefore the other possibility is using of geographic information systems for building information system includes graphic information in term of maps including positions of processor of wrecked cars and more other information. This project may be included in the websites of state administration bodies by the equivalent software moduls. It is possible to use the project (or the system) in quite a number of administrative and planning activities as well as for giving information to people as it is noted above.

Key words: wrecked-car, information system, waste flow

ÚVOD

Z hlediska poskytování informací v oblasti nakládání s autovraky se jeví jako účelné vybudování uživatelsky triviálního informačního systému o umístění jednotlivých zařízení s oprávněním ke sběru, výkupu a zpracování autovraků. V okamžiku vzniku autovraku jakožto odpadu u jeho původce slouží takový projekt jako velice jednoduchý nástroj poskytování informací o umístění takových zařízení na úrovni nejširší veřejnosti.

Vhodnou modifikací takového projektu je možno zadávat různé dotazy a provádět analýzy toku odpadů ze zpracování autovraků pro potřeby orgánů státní správy při řešení nejrůznějších problémů v této oblasti.

Ve smyslu tvorby metodického postupu využitelného i v dalším území, stejně jako s ohledem na objem datových podkladů, bylo jako vzorové vybráno území Olomouckého kraje.

MATERIÁL A METODIKA

Výchozím softwarem pro splnění cílu práce je geografický informační systém ArcView GIS 8.3 a geografická data ArcČR 500, z nichž byla klasifikací zobrazení dat vybráno území Olomouckého kraje. Na toto území byla vytvořena nová sada prvků, tzv. shapefile, která znázorňuje bodovým označením umístění jednotlivých provozoven zpracovatelů autovraků. Každému takovému prvku náleží atributy, souhrnně uváděné v atributové tabulce prvků vrstvy. V této tabulce může být uvedena celá řada informací, nad kterými je následně prováděna analýza. Pro splnění prvního cíle práce byla v rámci atributů prvku zaznamenána pouze adresa provozovny.

Pro zjednodušení vyhledávání jednotlivých provozoven (předpokladem práce s tímto projektem ze strany široké veřejnosti je pouze základní znalost práce na PC) byl každý prvek interaktivně propojen s již existujícím *Portálem pro vyřazené automobily ISVA*:

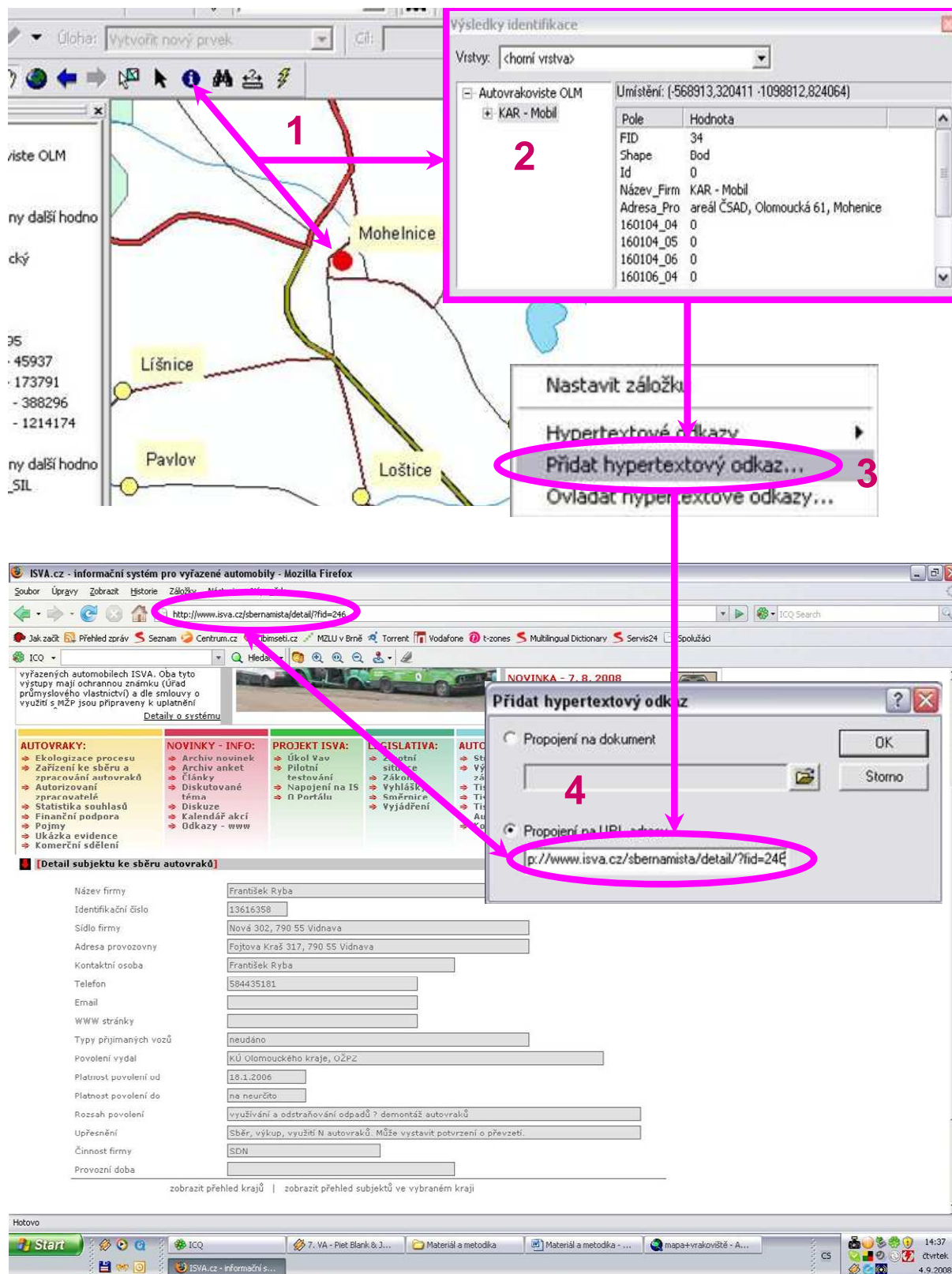
- 1) identifikaci prvku příslušnou funkcí
- 2) výběr prvku, ke kterému má být přiřazeno propojení
- 3) výběr nabídky „Přidat hypertextový odkaz“
- 4) vložení příslušného URL odkazu dle portálu ISVA

Vyvoláním tohoto propojení dojde k detailnímu zobrazení daného zařízení formou webové stránky portálu ISVA (obr. č. 1).

Z hlediska využití tohoto projektu pro účely státní správy byla sledována výtěžnost odpadu ze zpracování autovraků. Předpokladem účelného a komplexního zpracování autovraku je jednoduchý fakt založený na porovnání hmotnosti autovraků před jeho zpracováním a produkci jednotlivých druhů odpadů v jejich celkovém součtu po zpracování autovraku.

$$\frac{\text{množství odpadu po zpracování [t]}}{\text{převzetí nebo vlastní produkce odpadů [t]}} \times 100 = \text{výtěžnost odpadu [\%]}$$

Tato veličina byla nazvána *výtěžností odpadu* a byla přiřazena jednotlivým prvkům vrstvy v rámci jejich atributů. Slouží jako jasný signál o případných problémech či nedostatecích v jednotlivých zpracovatelských zařízeních.

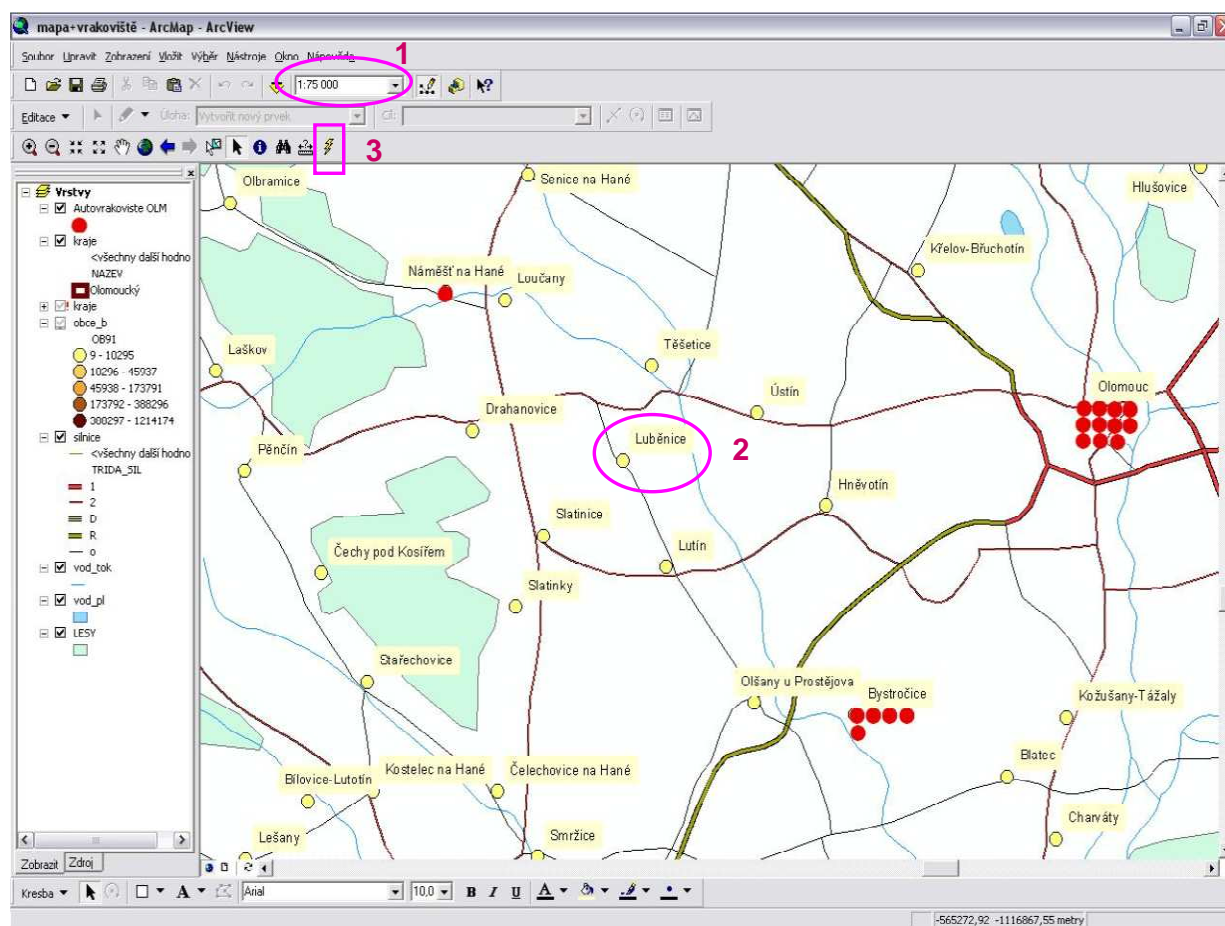


Obr. č. 1 Metodický postup propojení prvků tématu vytvořeného v rámci projektu v ArcView GIS 8.3 s daty portálu ISVA

VÝSLEDKY A DISKUZE

Občan obce na území Olomouckého kraje vlastní automobil, kterému však již skončila životnost. Tento automobil se stává odpadem, tedy jeho původci nastává povinnost jej odstranit. Pro informace o tom, kde a jak může autovrak odstranit, si otevře projekt (umístěný např. na webu Olomouckého kraje) dle obr. č.2 :

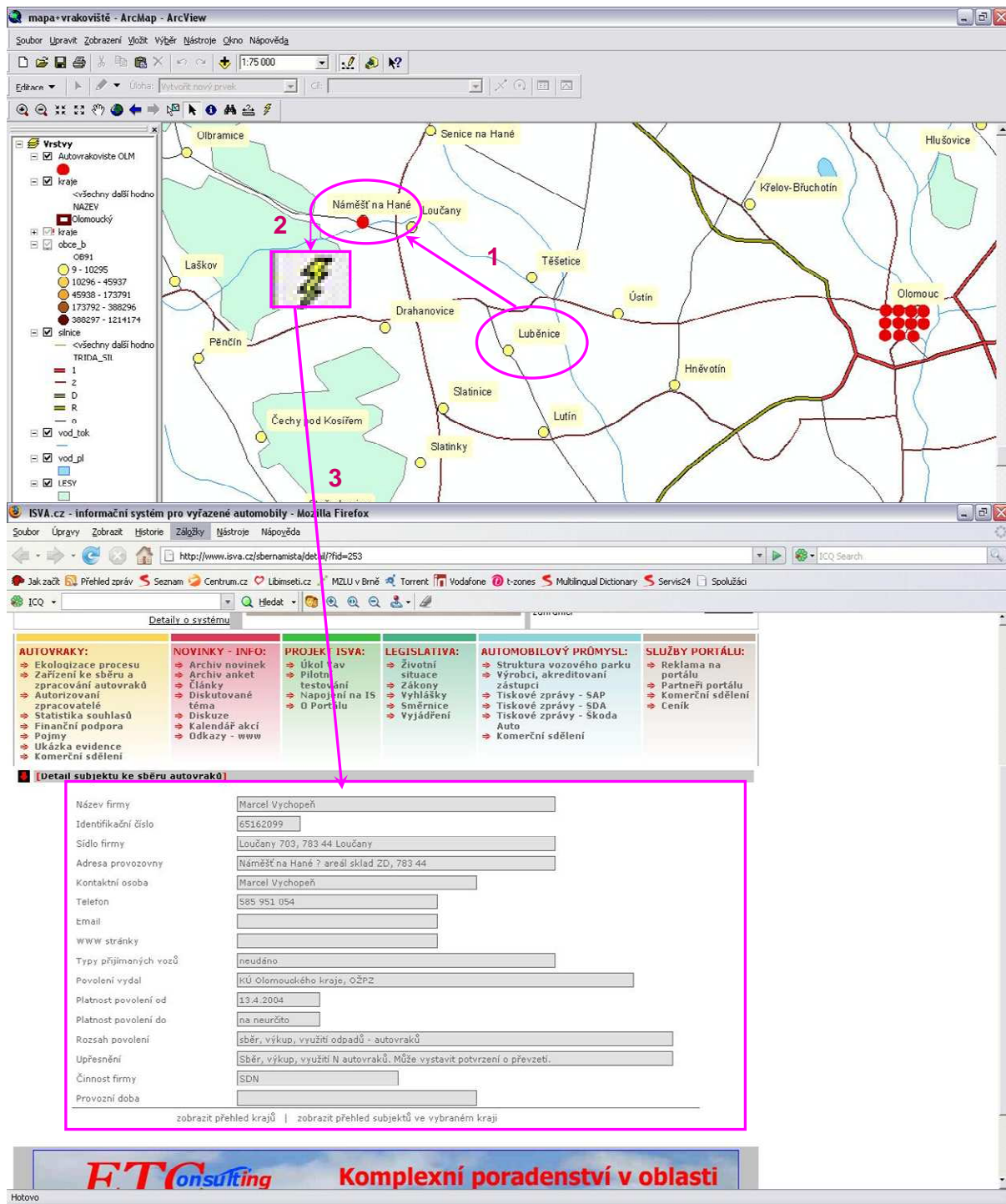
1. nastavení zobrazení projektu v měřítku 1:75 000
2. místo výskytu autovraku. V tomto zobrazení projekt udává informace o umístění nejbližších zařízení ke sběru, výkupu, zneškodnění a odstranění autovraků (znázorněno červenými body)
3. ikona přepnutí projektu do režimu „hyperlink“, tedy pro propojení bodů s databází ISVA.



Obr. č. 2 Postup práce s informačním projektem

Výběrem je tedy několik zařízení ke zpracování autovraků, a následuje vyvolání propojení projektu s portálem ISVA dle obr. č. 3.

1. občan v obci Luběnice se rozhodne odevzdat autogram ve zpracovatelském zařízení v Náměšti na Hané.
2. pomocí ikony „blesku“ vyvolá propojení bodu s portálem ISVA.
3. zobrazení detailních informací o zpracovatelském zařízení v portálu ISVA.



Obr. č. 3 Zobrazení detailu zpracovatelského zřízení (informací v portálu ISVA) pomocí funkce „hyperlink“.

Tímto uživatelsky velmi triviálním způsobem lze informační projekt využít k získání informací o nejbližším zařízení ke sběru, výkupu, zpracování a odstranění autovraku a odpadu z autovraků.

Při sledování výtěžnosti odpadu byla zjištěna celá řada nesrovnalostí. Legislativně není zcela podložena povinnost ve smyslu evidence odpadů. Řada zařízení kromě činností při zpracování autovraků provádí ještě činnosti jiné, v rámci kterých vznikají druhově totožné odpady, které následně zařízení vykazuje společně s odpady ze zpracování autovraků. Tudíž dle metodického postupu výše uvedeného byla zjištěna výtěžnost odpadu vyšší než 100%.

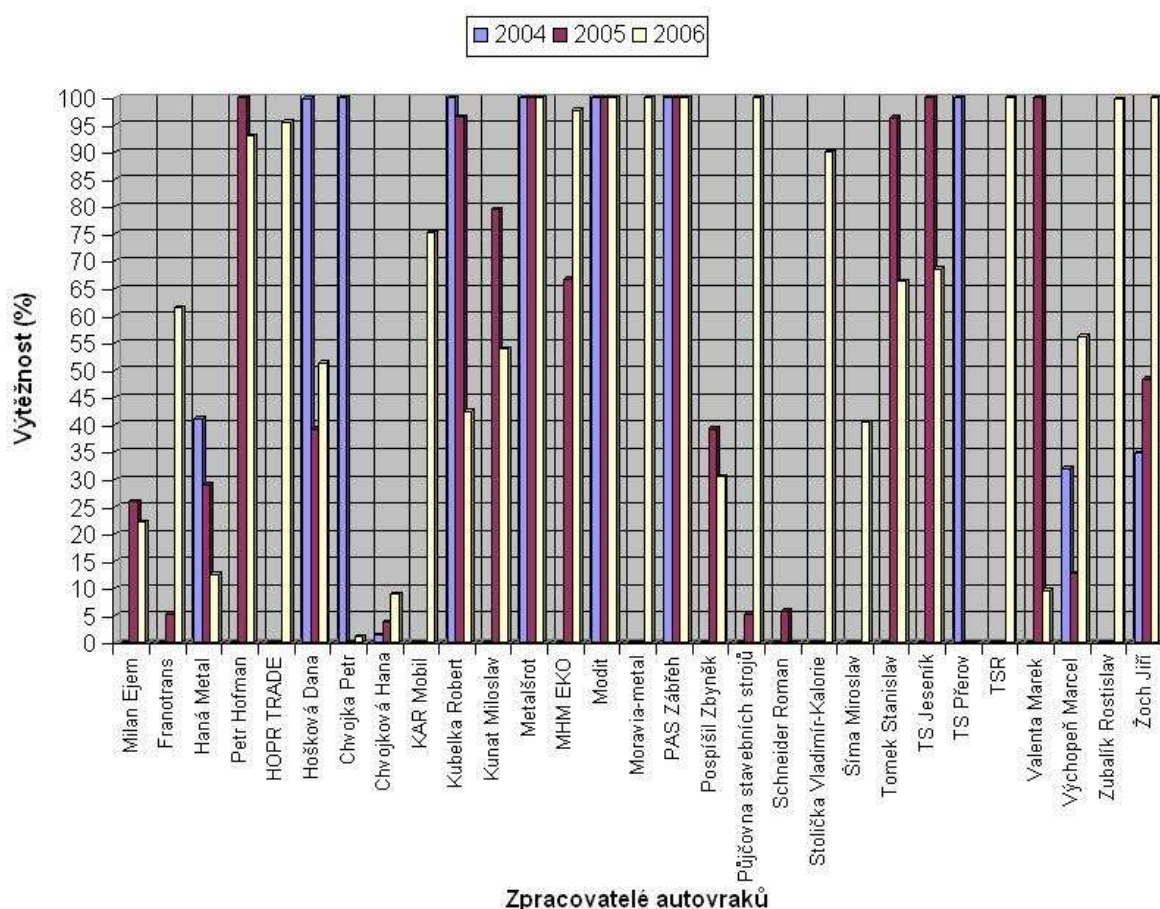
Jiným případem je situace, kdy zpracovatelé rozprodávají náhradní díly z demontáže autovraků bez jakékoli evidence (povinnost evidence náhradních dílů není legislativně jasně stanovena). V tomto případě byla zjištěna výtěžnost mnohem menší než 100%. Souhrnné údaje uvádí tab. č. 1.

Výtěžnost odpadu %

Subjekt	2004	2005	2006
Milan Ejem	0	26	22
Franotrans	0	5	61
Haná Metal	41	29	13
Petr Hofman	0	112	93
HOPR TRADE	0	0	96
Hošková Dana	100	39	51
Chvojka Petr	100	0	1
Chvojková Hana	1	4	9
KAR Mobil	0	0	75
Kubelka Robert	114	96	43
Kunat Miloslav	0	79	54
Metalšrot	100	100	100
MHM EKO	0	67	98
Modit	100	100	104
Moravia-metal	0	0	120
PAS Zábřeh	342	3898	175
Pospíšil Zbyněk	0	39	30
Půjčovna stavebních strojů	0	5	100
Schneider Roman	0	6	0
Stolička Vladimír-Kalorie	0	0	90
Šíma Miroslav	0	0	40
Tomek Stanislav	0	96	66
TS Jeseník	0	124	69
TS Přerov	100	0	0
TSR	0	0	100
Valenta Marek	0	106	10
Výchopeň Marcel	32	13	56
Zubalík Rostislav	0	0	100
Žoch Jiří	35	48	100

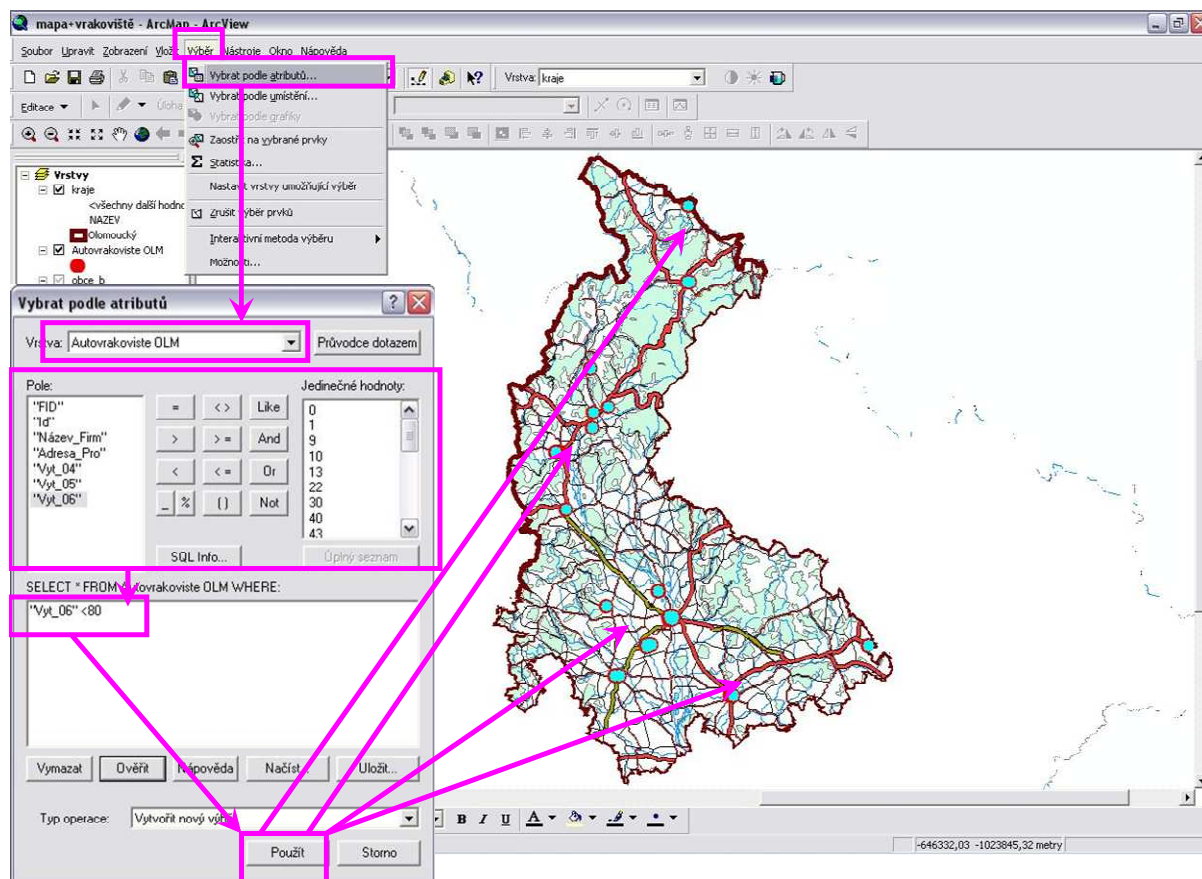
Tab. č. 1 Výtěžnost odpadů v rámci jednotlivých provozovatelů [%]

Výtěžnost odpadů ze zpracování autovraků v letech 2004 - 2006



Obr. č. 4 Graf výtěžnosti odpadů jednotlivých provozovatelů v letech 2004-2006

Zadáním těchto hodnot a příslušnou formulací dotazů v rámci nástroje obsaženého v použitém geografickém informačním systému jsou na základě požadavků a kritérií stanovených při řešení určitého problému prováděny analýzy zařízení s výskytem určitých nesrovnalostí při procesu zpracování autovraků. Úkolem obsluhy projektu v jeho základním zobrazení je zjistit ta zařízení, ve kterých byla analýzou toku odpadu zjištěna v roce 2006 výtěžnost odpadů menší než 80%. Tedy ve výběru prvků podle atributů označí příslušnou vrstvu prvků se kterými bude pracovat, tedy *Autovrakoviště OLM* a následně jednoduchým způsobem vybere při sestavování dotazu pole hodnot *Vyt_O6* a s využitím logických operátorů sestaví dotaz. Dotaz se v tomto okamžiku stává kritériem analýzy výtěžnosti odpadů. Tlačítkem „ověřit“ má obsluha možnost provést kontrolu správnosti zadaného dotazu a poté již tlačítkem „Použít“ dotaz vykoná. Modrou signální barvou jsou následně zvýrazněna zařízení, resp. jejich body, které odpovídají zadanému dotazu. Toto zobrazení je však značně nepřehledné. Pro další práci je doporučeno upravit zobrazení projektu v měřítku 1:75000. V takto provedeném zobrazení je poté provedena identifikace jednotlivých subjektů dle výše uvedeného postupu. Postup analýzy výtěžnosti odpadů dle výše uvedených kritérií je znázorněn na obr. č. 5.



Obr. č. 5 Zobrazení zařízení jako výsledku analýzy toku odpadů dle výtěžnosti odpadu

ZÁVĚR

Vytvořením uživatelsky triviálního informačního projektu o umístění zařízení ke sběru, výkupu a zpracování autovraků je původcům autovraků ve smyslu odpadů ulehčena situace při řešení problému jeho legálního odstranění. Analýzou toku odpadů v zařízeních ke sběru, výkupu a zpracování autovraků byla zjištěna celá řada nesrovnalostí vyplývajících z legislativního podložení celé problematiky. Absence povinnosti evidence náhradních dílů z demontáže autovraků, stejně jako absence povinnosti oddělené evidence množství a druhu odpadu vznikajícího při zpracování autovraku, značně komplikuje sledování toku odpadů z autovraků. Připravovaná novela zákona, resp. její část zabývající se problematikou nakládání s autovraky, je naprosto nedostačující. Chybějící povinnost evidence náhradních dílů skýtá značné možnosti na poli kriminality a obchodování s náhradními díly pocházejícími z trestné činnosti. Neopomenutelným problémem je však nedostatečná možnost sledování toku odpadů ve smyslu zátěže na životní prostředí. Pokud totiž jasně nebudou stanoveny podmínky, práva, povinnosti a odpovědnosti jednotlivých činitelů při zpracování autovraků, nebude možné ani v budoucnosti jasně určit způsob odstranění všech druhů odpadů vznikajících při zpracování autovraků.

LITERATURA

<http://www.mvcr.cz/clanek/centralni-registr-vozidel.aspx>

Zákon č. 56/2001 Sb. o podmínkách provozu vozidel na pozemních komunikacích, ve znění pozdějších předpisů, přílohy A a B

§14 zákona č. 114/1992 Sb. o ochraně přírody a krajiny, ve znění pozdějších předpisů

Vyhláška č. 381/2001 Sb. ve znění pozdějších předpisů, Příloha č. 1.

Vyhláška č. 381/2001 Sb. ve znění pozdějších předpisů

Zákon č. 185/2001 Sb. o odpadech, ve znění pozdějších předpisů

<http://www.isva.cz/Show.php?STyp=30>

TEMPERATURE MEASUREMENT BY MEANS MODERN AUTOMATIZATION

MĚŘENÍ TEPLoty PROSTŘEDKY MODERNÍ AUTOMATIZACE

Křenovský R.

Department of Agriculture, Food and Environmental Engineering, Faculty of Agronomy, Mendel
University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

Email: vmille@centrum.cz

ABSTRACT

This article is conversant problems temperature measurement by various methods, their use in practice, processing measured values and interpretation. Is noted several example measurement contacts end infrared method, their outputs may be number data end picture type. As a result is improving technological process, detection problems and defect.

Key words: temperature, measurement, infrared camera

ABSTRAKT

Příspěvek se zabývá problematikou měření teplot různými metodami, jejich využití v praxi, zpracováním naměřených hodnot a vyhodnocením. Je uvedeno několik příkladů měření bezkontaktní a kontaktní metodou, jejichž výstupy mohou být datové nebo obrazové. Výsledkem je zlepšování technologických procesů, odhalování problémů a závad.

Klíčová slova: teplota, měření, termokamera

ÚVOD

Teplota je jedna z nejdůležitějších termodynamických vlastností, které určují stav hmoty a objevuje se v mnoha fyzikálních zákonech. Existuje jen velmi málo vlastností látek, které by nebyly teplotně závislé. Ve své podstatě je teplota mírou kinetické energie pohybu molekul a atomů, přičemž molekuly na sebe navzájem narážejí a rychlost jejich pohybu se stále mění v čase. V pevném skupenství molekuly neuspořádaně kmitají kolem rovnovážné polohy, v tekutém skupenství je pohyb molekul neuspořádaný v celém objemu. Pokud na hmotu nepůsobí okolní prostředí, průměrná rychlost pohybu molekul je konstantní. Tato průměrná rychlost je závislá na teplotě a termodynamická teplota libovolného tělesa je přímo měrná kinetické energii molekul neboli přímo úměrná jejich hmotnosti a kvadrátu rychlosti pohybu.

Znalost teploty je nutná ve všech oblastech lidské činnosti. Jednou z prvních byl lékařský teploměr. Diagnostika ale není jen lékařská disciplína, ale také základní prostředek ke zjišťování technického stavu neživých objektů. Základem bezpečnosti, spolehlivosti v energetice, v letectví, železniční a automobilové dopravě a ve veškeré průmyslové výrobě elektrospotřebičů, výpočetní a telekomunikační techniky je technická diagnostika, přičemž měření teploty patří mezi základní diagnostické veličiny. Měření a regulace teploty jsou základem pro zajištění hospodárného vytápění a současně tepelné pohody obytných a pracovních prostor.

Každý měřicí přístroj nebo měřicí systém pro měření libovolné fyzikální veličiny má stanovený rozsah teploty, v němž je zajištěna mezní hodnota nejistoty přístroje nebo nejistoty ovlivňující nejistotu měření jiných veličin.

Teplota je stavová veličina určující stav termodynamické rovnováhy tj. stav, kdy v izolované soustavě těles od okolního prostředí neprobíhají žádné makroskopické změny a všechny fyzikální veličiny, jimiž je stav soustavy popsán nezávisí na čase. Stav termodynamické rovnováhy bývá charakterizován termodynamickou teplotou, která musí být stejná pro všechny části izolované soustavy. Fyzikální veličina teplota se nesmí zaměňovat za fyzikální veličinu teplo, neboť teplo je forma energie související s pohybem částic dané soustavy těles, ale není stavovou veličinou, neboť nezávisí na přítomném stavu soustavy, ale na celé minulosti vývoje této soustavy. Teplota je jedna z mála veličin, která se nedá měřit přímo, ale pouze prostřednictvím jiných fyzikálních veličin. Měření teploty je tedy měření nepřímé.

Senzor teploty je funkční prvek tvořící vstupní blok měřicího řetězce tj. blok, který jev přímém styku s měřeným prostředím. Pojem senzor teploty je ekvivalentní pojmu snímač teploty (samostatná konstrukční součást teploměrového zařízení, která obsahuje teplotní čidlo), ale také pojmu čidlo teploty (část snímače převádějící teplotu na jinou vhodnou fyzikální veličinu). Stejně tak se jako senzor označuje detektor tepelného zařízení nebo teploměr (zařízení k měření teploty).

Dle fyzikálního principu se senzory teploty dělí na odporové, termoelektrické, polovodičové s PN přechodem, dilatační, optické, radiační, chemické, šumové, akustické, magnetické, a na další jako jsou např. kapacitní, aerodynamické.

MĚŘENÍ TEPLOTY

V laboratorních podmínkách i v praxi používáme dvě základní metody měření teploty:

- Přímé
- Nepřímé

Přímé měření využíváme v laboratorních podmínkách jak pro monitorování zkoumaných teplotních dějů tak pro kontrolu technologických linek, stávajících senzorů, jejich kalibraci a zlepšování technologických procesů. Na potravinářských linkách používáme hlaviceové odporové senzory jejichž výhodou je snadná a pevná instalace. Výstupem je proud 4-20 mA závislý na sledované teplotě, tento proud dále vyhodnocujeme moderními prvky automatizace. Jedná se zařízení určená pro sběr dat do PC které komunikují po sériové lince (RS-232, USB).

Naměřené hodnoty z jednotlivých senzorů softwarově zpracováváme, přepočítáváme a zobrazujeme na vytvořeném čelním panelu na monitoru nebo zaznamenáváme na médium. Na základě jejich vyhodnocení můžeme pomocí akčních členů ovládat technologický proces.

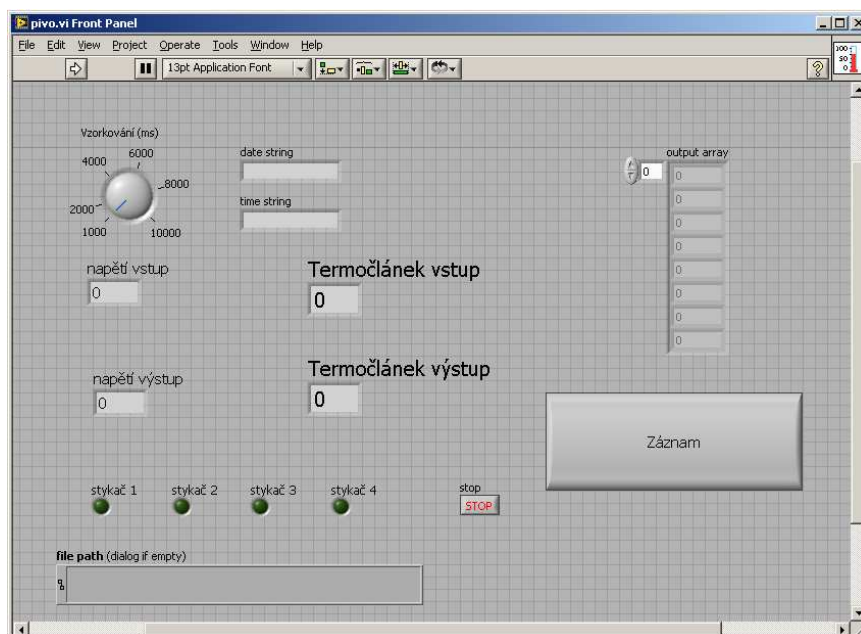
Aplikace č.1: Kontrola ohřevu a teplot varné pánve

Z důvodu potřeby dodržování teplot při technologii výroby piva vznikla aplikace která si kladla za úkol:

- Monitorování teploty sladu ve varné pánvi
- Monitorování teploty topného oleje (vstupu a výstup pánve)
- Monitorování teploty topného oleje v topeništi
- Stav akčních členu topných spirál (spínání jednotlivých stykačů)

Teplota ve varné pánvi a v topeništi byla měřena ze stávajících odporových snímačů, vstupní a výstupní teplota topného oleje byla měřena termočlánky připevněnými na potrubí, z rozvaděče byli vyvedeny výstupy ze stykačů. Pro sběr dat jsme využili USB zařízení ADVANTECH USB-4718 s využitím 2 analogových vstupů, 2 termočládkových vstupů a 4 digitálních vstupů.

Byla vytvořena softwarová aplikace která zobrazovala naměřené údaje a zaznamenávala je do souboru s nastavitelnou frekvencí zápisu.



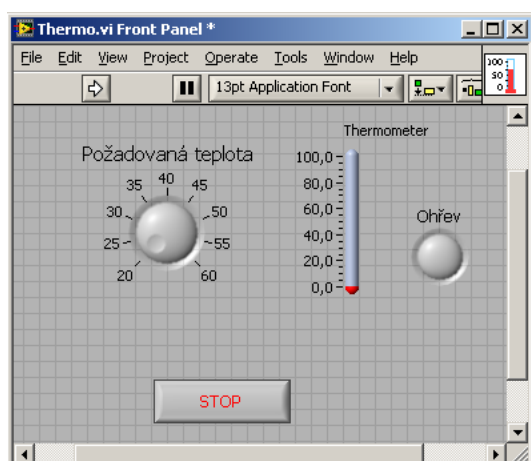
Obrázek č.1 Čelní panel pro monitorování teplot varné pánve pivovaru

Aplikace č.2: Regulace ohřevu kapaliny

Ve snaze přiblížit studentů praktickou výuku byla navržena aplikace jejíž úkolem aby si studenti udělali základní představu o návrhu regulované soustavy.

Model se sestává z kádinky s ohřívanou vodou ve které je ponořena topná spirála a termočlánek, jako akční člen pro spínání spirály je použito relé které je připojeno spolu s termočlánekem k USB vstupně-výstupnímu zařízení ADVANTECH USB-4718.

Studenti sami vytvářejí softwarovou aplikaci kde na základě měření teploty ovládají akční člen, rozsvěcují varovnou kontrolu při překročení určité teploty.



Obrázek č.2 Čelní panel pro regulaci ohřevu vody

Nepřímé měření doznalo v poslední době značného pokroku a rozšíření díky pokroku v elektronice a optice. Přístroje byly původně označovány jako radiační pyrometry nebo radiační teploměry, nyní často jako IČ-teploměry. Radiační pyrometry nacházely původně

uplatnění v takových provozech a aplikacích, kde bylo třeba měřit vysoké teploty často v malém prostoru, kde nebylo možno použít dotykový teploměr. Jednalo se zejména o aplikace v metalurgii, chemickém a zejména silikátovém průmyslu (sklářství, cementárny, vápenky, keramický průmysl). V průběhu posledních let se aplikace IČ-teploměrů posunula k nižším teplotám, včetně měření teplot nižších než 0 °C, takže se s nimi setkáváme v potravinářství, elektronice, průmyslu papírenském, farmaceutickém, textilním, gumárenském, při zpracování plastických hmot apod. Přenosné IČ-teploměry nacházejí široké uplatnění při detekci tepelných ztrát a poruch, při kontrole potrubních systémů, nádrží apod.

Teoretické základy bezdotykové pyrometrie

Měření teploty bezdotykovými teploměry je založeno na vyhodnocování tepelného záření těles. Část tepelné energie látek se neustále přeměňuje v energii, kterou tyto látky vysílají ve formě elektromagnetického záření. Při rovnováze mezi energií přijímanou a vysílanou může být stav zářiče charakterizován určitou teplotou. Vysílané záření se nazývá tepelné a je složeno z různých vlnových délek. Intenzita vyzařování H ($W m^{-2}$) je závislá na zářivém toku Φ (W) a ploše povrchu zdroje záření S (m^2). Dokonale černé těleso maximálně vyzařuje i maximálně pohlcuje záření. Je-li teplota tělesa větší než teplota okolí, převažuje intenzita vyzařování nad pohltivostí.

Emisivita je definována jako poměr energie vyzařované objektem při dané teplotě k energii ideálně černého tělesa při stejné teplotě. Emisivita černého tělesa je rovna 1,0. Emisivita je velmi důležitým faktorem IČ-termometrie a její vliv není možno zanedbávat. Emisivita závisí na materiálu, úpravě povrchu, oxidaci povrchu.

Nepřímé měření teplot v praxi

Pro laboratorní a terénní měření používáme termovizy FLIR ThermaCam E320, která disponuje teplotním rozsahem -20 až 120 °C, 80 až 500°C, 300 až 1200°C, rozlišením 320x240 pixelů.

Termo kamera byla použita při diagnostice v těchto případech:

Pásová sušárna zeleniny

Byli zjišťovány tepelné ztráty, poruchy izolace, přehřívání součástí, kontrola elektrické rozvodné sítě, rozložení teplot na pásu se sušeným materiálem.

Povrchová teplota zvířat

Na termosnímku zvířete zle vidět rozložení teplot, ty jsou zapříčiněny různou emisivitou různého zbarvení srsti nebo mohou pomoci ve vyhledání zánětů.

Zahřívání pneumatik

Monitorování zahřívání pneumatik na vozidlové zkušebně v různých jízdních režimech, při různém zatížení, při různém nahuštění.

VYHODNOCENÍ

Kontrola ohřevu a teplot varné pánve

Z naměřených dat byla ověřena přesnost teplotních senzorů, funkce regulace teploty. Na základě výsledků byl regulátor pánve nastaven pro přesnější dodržování teplot.

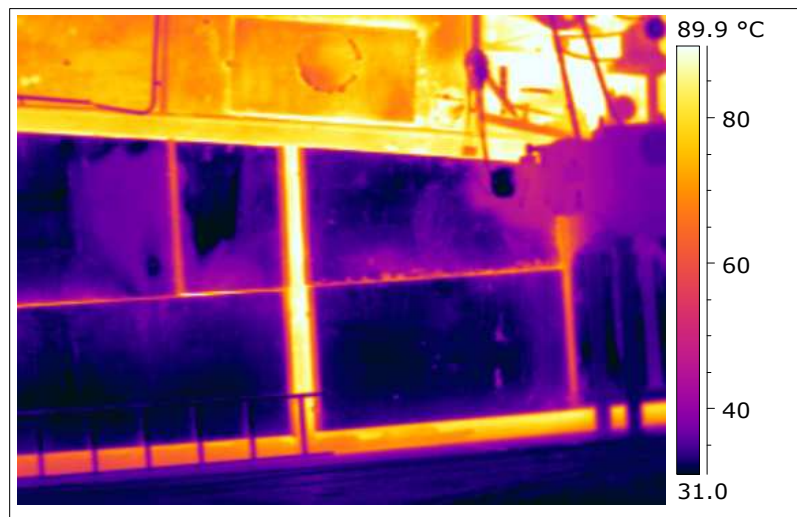
Regulace ohřevu kapaliny

Názorně přiblížilo studentům problematiku regulace v praxi.

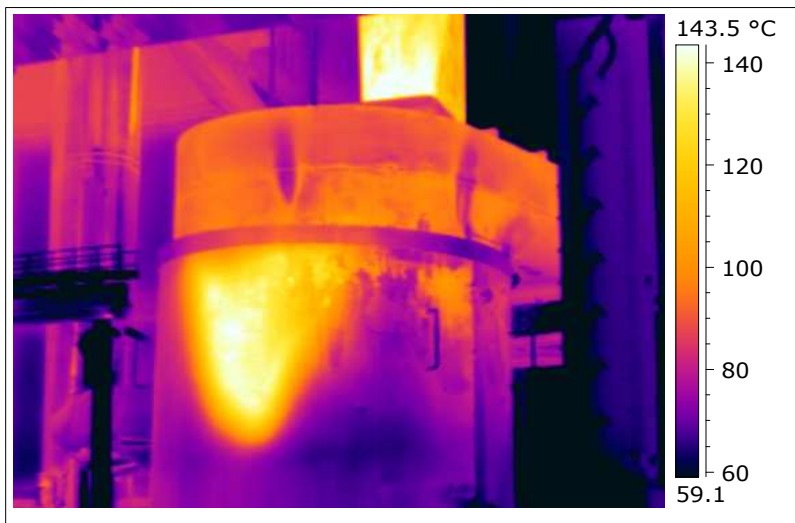
Pásová sušárna zeleniny

Bylo zjištěno několik nedostatků a krizových míst:

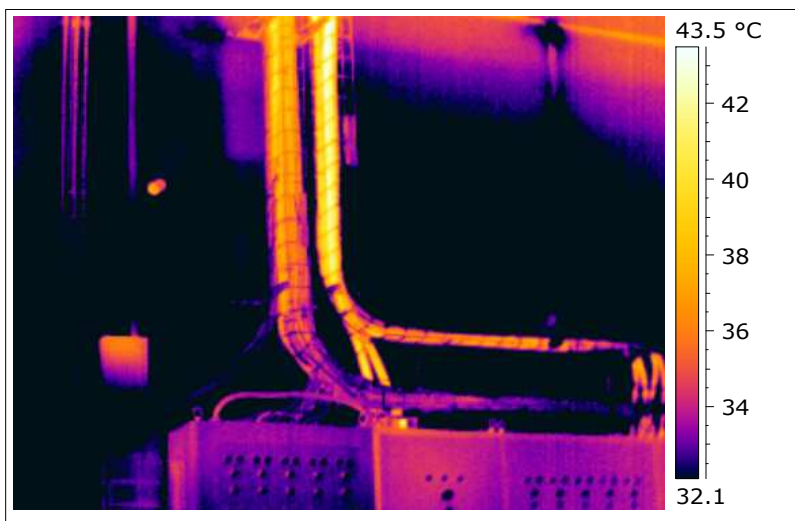
- Velké tepelné ztráty vlivem chybějící izolace



- Přehřívání části výměníku vzduch-vzduch

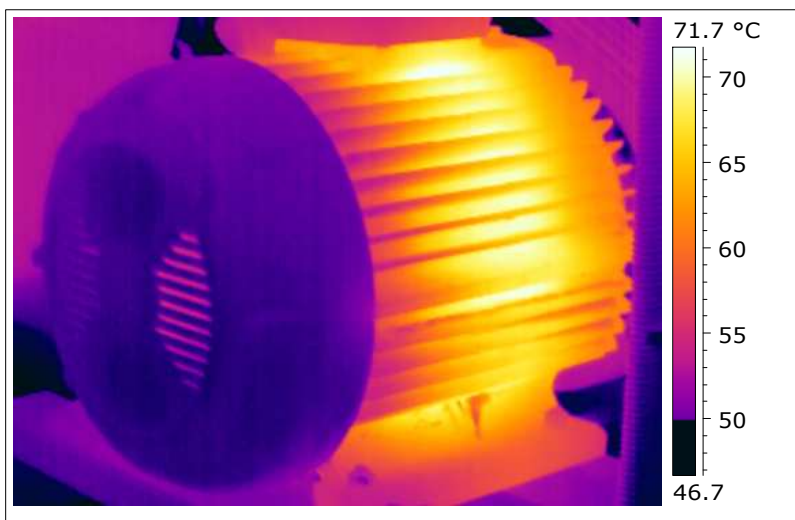


- Přehřívání kabeláže elektroinstalace

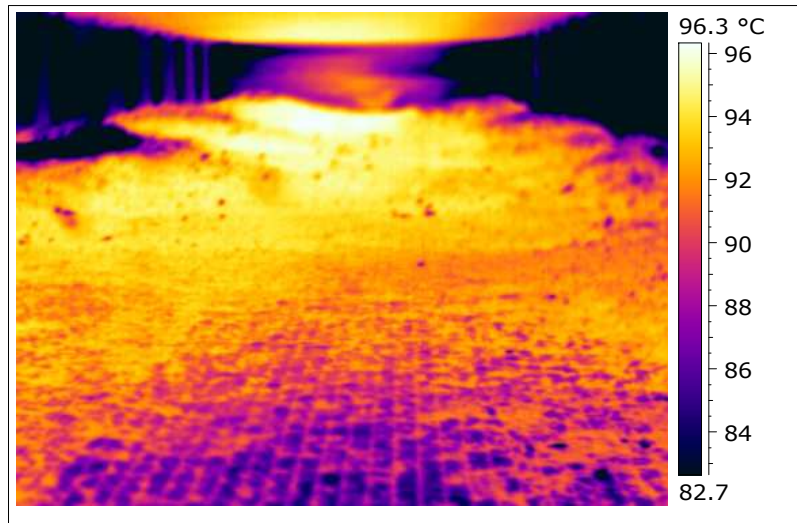


Byla monitorována funkce:

- Elektromotoru



- Rozložení teploty pasu se sušeným materiálem



ZÁVĚR

Měření teploty je velmi důležité odvětví, v mnoha případech odhalíme skutečnosti které nejdou pouhým okem odhalit, obzvláště pak bezdotykové měření které je v současné době v největším rozmachu.

Z této práce vyplívá, že pomocí bezdotykového termovizního měření můžeme odhalit problém dříve než nastanou katastrofické scénáře např. v podobě propálené izolace nebo můžeme snižovat ztráty odhalením tepelných úniků.

Využitím kontaktního měření teploty v praxi můžeme zlepšovat kvalitu technologických procesu kde nedodržení přesné teploty má za následek zhoršování kvality výrobků.

LITERATURA

KREIDL, M. *Měření Teploty* BEN – technická literatura Praha 2005, 230 s.

ISBN 80-7300-145-4

LYSENKO, V. *Detektory teplot* BEN – technická literatura Praha 2005, 153 s.

ISBN 80-7300-180-2

OMEGA *The Temperature Handbook*, OMEGA ENGINEERING 2004

Bezdotykové teploměry, www.vscht.cz/ufmt/kadleck.html

FLIR, www.flir.com

APPLICATION FIELD NANOTEXTILES IN AGRICULTURE

OBLASTI VYUŽITÍ NANOTEXTILÍ V ZEMĚDĚLSTVÍ

Lev J., Černý M., Nasadil P.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xlev@mendelu.cz, michalc@mendelu.cz, nasadil@tzu.cz

ABSTRACT

The entry deals with the question of how to utilize nanotextiles in the agriculture. It outlines possible fields where nanotextile materials could be used in packing technology, plant medicine and technical filtration. It describes the testing of fungi throughput through a layer of nanotextile, carried out in the cooperation with TZU in Brno. The testing led off from the norm ČSN EN ISO 846. Two types of materials were tested – nanotextile Chitosan with PEO (93,6%) on matrix PP, and PA612 on matrix viscose. The assumption of food protection against the fungi spore activity by nanotextiles was not proved at contact protections. Recently, possible modifications of the layer, preventing the mould spores throughput, are considered.

Key words: nanotextiles, fungi

Acknowledgements: A thankyou for cooperation and specialist help to Elmarco company, Katerina Rubackova and TZU Brno, Petr Nasadil and Marketa Hudcova.

ÚVOD

První pokusy o výrobu nanovlákná byly realizovány v letech 1934 až 1944. Společnost Formaldas v tu dobu publikovala řadu patentů popisujících experimentální instalaci pro výrobu polymerových vláken při použití elektrostatické síly. V roce 1952 uměli Vonnegut a Neubauer vyrobit proud vysoce elektrifikovaných uniformních kapiček o průměru 0,1 mm a o tři roky později vyzkoumal Drozin rozptylování řad tekutin do aerosolů při vysokém elektrickém potenciálu.

Další krok učinil v roce 1966 Simon, jenž patentoval přístroj na výrobu ultratenkých a ultralehkých nanovláknenných tkanin s různými vzorky při použití elektrického zvlákňování. Zjistil, že vlákna z nízkoviskózních roztoků měla tendenci se zkracovat a zjemňovat, zatímco vlákna z vysoceviskózních roztoků byla poměrně stále spojitá.

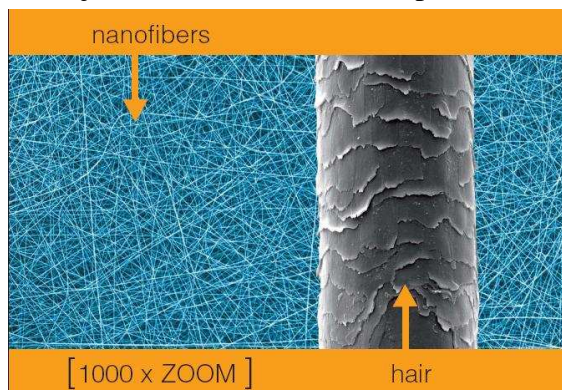
V roce 1971 Baumgarten zhotovil přístroj k elektrovlákňování akrylických vláken s průměrem v rozmezí 0,05 – 1,1 mikronů. Zvlákňovaná kapka se uvolňovala z kapilárové trubky z nerezové oceli a její stálá velikost byla udržována úpravou příváděcí rychlosti infúzní pumpy. Kapilárová trubka byla spojena s elektrodou o vysokém napětí, zatímco vlákna byla zachycována na uzemněné kovové cloně.

Na tyto badatele a především na jejich následníky ve firmách Reneker a Chun a Larronda a Manley navázal výzkumnou činnost tým profesora Oldřicha Jirsáka z Technické univerzity v Liberci. [1]

Prof. Jirsák ve spolupráci s firmou Elmarco dovedl výzkum výroby nanotextilií k funkčnímu prototypu stroje, který je schopen vyrábět nanovlákná v průmyslové výrobě. V současnosti jsou nanotextilie používány v průmyslu především jako filtrační materiály, nebo v biomedicíně jako obvazový materiál či dýchací masky.

Na MZLU je prováděn základní výzkum využití nanotextilií v zemědělství. Výzkum se zaměřuje na možné aplikace především v obalové technice, rostlinolékařství a filtraci paliv a maziv.

Ve spolupráci s TZU (textilní zkušební ústav) v Brně byly ověřovány schopnosti nanotextilií zabránit průniku spor plísní do potravin. V případě dobrých výsledků, by se dalo uvažovat o využití nanotextilií jako obalového materiálu potravin.



Obr. 1 Porovnání průměru nanovláken s průměrem vlasu [2]

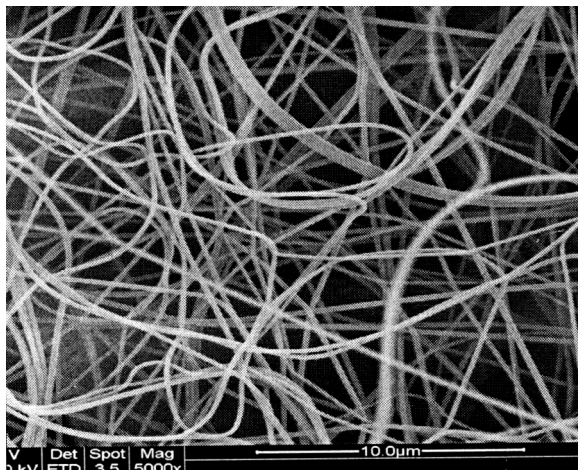
MATERIÁL A METODIKA

V experimentu byly použity dva vzorky nanotextilních materiálů o rozměrech 50x50mm s následujícími parametry:

Chitosan s PEO (Polyethylene oxid) (93,6%) na matrici PP (Polyethylene)

Plošná hmotnost 0,92gsm

Průměr vláken 100-400nm

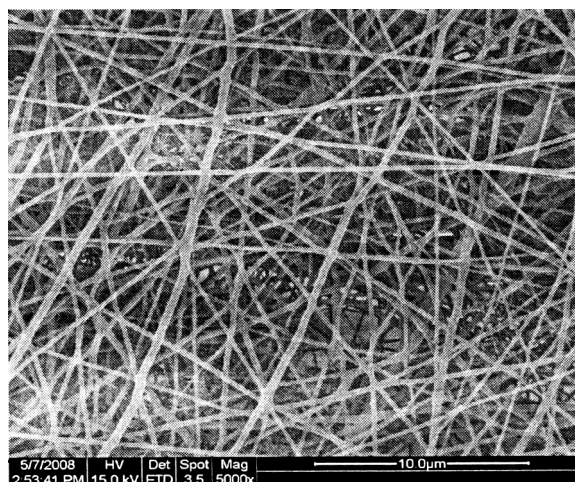


Obr. 2 Nanovlákná chitosanu, zvětšeno 5000x [2]

PA 612 na matrici z viskózy (Polyamide)

Plošná hmotnost 0,70gsm

Průměr vláken 100-200nm



Obr. 3 Nanovlákná PA612, zvětšeno 5000x [2]

Charakteristika materiálů:

Chitosan (vzniká deacetylací chitinu) je polysacharid vyskytující se u koryšů. Chitosan má vůči jiným neutrálním nebo záporně nabitým polysacharidům povahu kationtu. Chitosan je netoxický přírodní polysacharid a je kompatibilní s živou tkání. Nachází proto široké uplatnění při hojení ran, výrobě umělé kůže, konzervování potravin, v kosmetice a ošetřování odpadních vod. Hydrofilní povaha chitosanu a v důsledku toho špatné mechanické vlastnosti v přítomnosti vody a vlhkosti omezují jeho použití. Na rozdíl od toho fólie chitosanu obsahující exfoliované vrstvy hydroxyapatitu jsou funkční ve vlhkém prostředí, mají dobré mechanické a barierové vlastnosti i antimikrobiální účinky.

PA612 - výchozí materiál pro výrobu polyamidu je ropa. Polyamidy jsou velmi pružné a mají vysokou pevnost v tahu a v oděru. Poměrně nepatrné přijímání vlhkosti způsobuje, že výrobky z polyamidu se nesrážejí, za mokra ztrácejí poměrně málo pevnosti a rychle schnou. Polyamid přijímá téměř všechny druhy textilních barviv. Nevýhodou je malá odolnost proti vlivům světla a povětrnosti (žloutnutí) a snadné nabíjení statickou elektřinou.

Podstata zkoušky:

Metodika vychází z normy ČSN EN ISO 846 Plasty – Hodnocení působení mikroorganismů. Zkouška zahrnuje vystavení zkušebních těles účinku vybraných zkušebních kmenů plísní po specifikované době při specifikované teplotě a vlhkosti. Na konci expozice se u zkušebních těles provádí hodnocení vzhledu. [4]

Pro zkoušku odolnosti vůči plísním existují dvě metody, zde použita metoda A:

Metoda A: zkouška růstu plísní

Zkušební tělesa jsou vystavena směsi spor plísní v přítomnosti neúplného živného prostředí (bez zdroje uhlíku). Plíseň může růst pouze na úkor materiálu. Pokud zkušební tělesa neobsahují složky živného prostředí, nemůže plíseň vyvinout mycelium a nedochází k poškození plastů.

Metoda A je vhodná ke stanovení přirozené odolnosti plastů vůči působení plísní bez přítomnosti jiné organické hmoty. [4]

Pro zkoušky byly použity kultury plísní dle tab.1

Jméno	Kmen
Aspergillus niger	CCM 8155
Chaetomium globosum	CCM 8156
Penicillium funiculosum	CCMF-161
Paecilomyces variotii	CCMF-566
Gliocladium virens	CCM 8042

Tab. 1 Kmeny použitých plísní

Živné prostředí:

Chloramphenicol Agar

Složení roztoku g/l v destilované vodě :

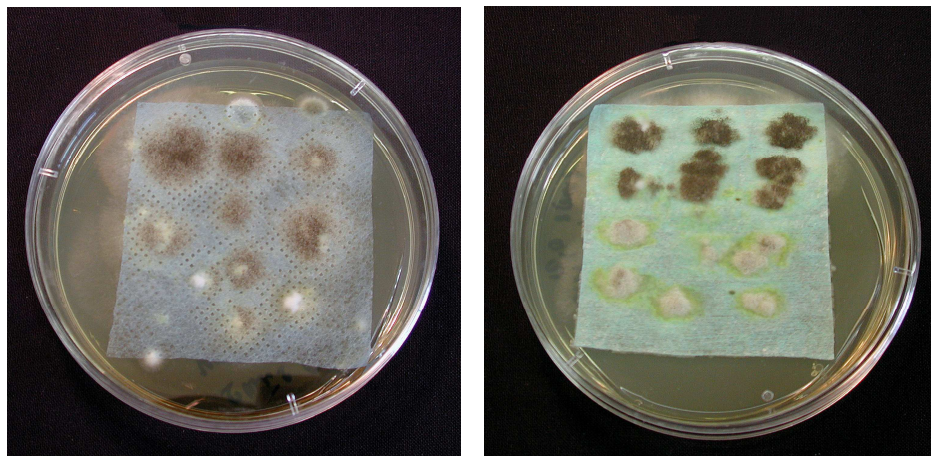
Extrakt z kvasnic	5,0
Glukóza	20,0
Chloramfenikol	0,1
Agar	15,0

Inkubace

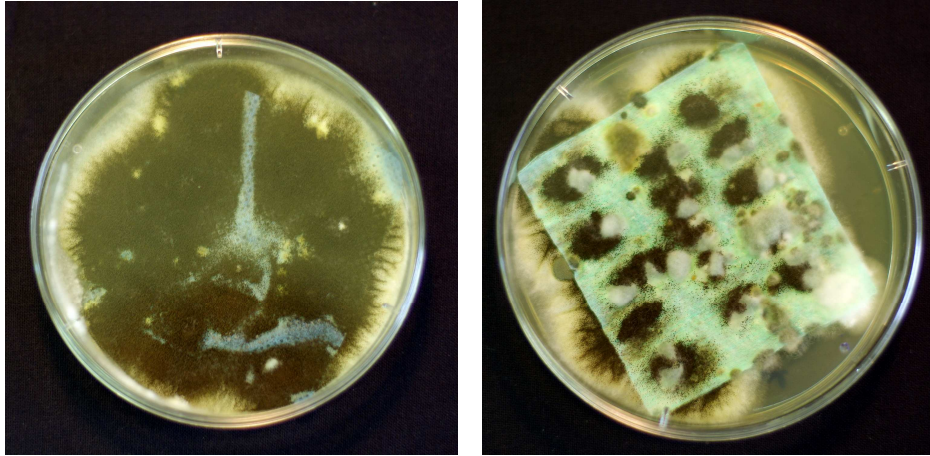
Zkušební tělesa byla inkubována 4 týdny v prostředí o teplotě 29°C a relativní vlhkosti 95%.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Po čtyřech týdnech v inkubační komoře bylo provedeno vyhodnocení daných vzorků. Hodnocení bylo provedeno vizuálně podle normy ČSN EN ISO 846. Na nanotextiliích byly patrné kolonie plísní pouhým okem. Odolnost materiálu proti růstu plísní byla ohodnocena stupněm 3 z pětistupňové stupnice, přičemž 5 stupeň je nejhorší odolnost. Na vzorku s vrstvou chitosanu byl po 4 týdnech inkubace pozorován mírně lepší výsledek, avšak po inkubační době 5-ti týdnů vzorek plíseň zcela obalila a oproti PA612 byl výsledek horší. Porovnávací vzorky, pod kterými nebylo živné prostředí, nevykázaly žádné změny.



Obr. 4 Vzorky po 4 týdnech inkubace, vlevo s vrstvou chitosanu, vpravo PA 612



Obr. 5 Vzorky po 5 týdnech inkubace, vlevo s vrstvou chitosanu, vpravo PA 612

Výsledky testu jsou do jisté míry překvapující. Bylo předpokládáno, že mezery mezi nanovláknými jsou tak malé, že zabrání průniku sporu plísně, navíc u chitosanu byla očekávána fungicidní aktivita.

Použité vzorky byly z textilií, které nebyly nikterak speciálně upravovány proti plísním. Vystává otázka, zda by úprava vrstvy nanovláken, neprokázala lepší výsledky. Variant se naskytuje hned několik. Modifikovat vrstvu nanotextilie - zvětšení vrstvy, použití menších průměrů nanovláken, použít jiné polymery. Další možností je napustit nanotextilii fungicidní látkou, která by zabraňovala růstu plísní na nanotextilií.

ZÁVĚR

Laboratorní testy prokázaly, že plísně prorostou testovanými nanotextiliemi. Využití testovaných materiálů jako ochranný obal potravin proti plísním tedy nelze zatím doporučit. Tento výsledek však nelze sumarizovat na nanotextilie obecně. Modifikace vrstvy nanotextilie, či použití jiných polymerů, může mít odlišné výsledky. Na dalším výzkumu se v současnosti již pracuje.

LITERATURA

<http://cs.wikipedia.org/wiki>, cit.2008

Snímky fy. Elmarco

Institute of Food Technologists - <http://www.ift.org/> , cit. 2007

ČSN EN ISO 846 Plasty – Hodnocení působení mikroorganismů, 1998

THE COMPARISON OF DRAWBAR PERFORMANCE OF TRACTORS WITH DIFFERENT CHASSIS CONSTRUCTION

POROVNÁNÍ TAHOVÝCH VLASTNOSTÍ TRAKTORŮ S RŮZNOU KONSTRUKCÍ PODVOZKU

Preč M., Sedlák P., Bauer F., Čupera J., Šmerda T.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xprec@node.mendelu.cz, sedlakp@mendelu.cz

ABSTRACT

A purpose of crosscountry measurement was find out an influence of different tractor support frame construction solution on drawbar characteristics. The crucial comparative characteristic was drawbar force, drawbar power, slippage and drawbar consumption. To reach comparative output was necessary apply machines with the same characteristics influencing rates of wanted values. The most important is total weight of the tractor and engine power. This is the reason why were used tractors Challenger. First with tracked chassis type MT875B and second with wheel-chassis type MT975B. For getting data was employed own tractors network CAN-Bus, tensiometer sensor HBM Z4, radar RDS TGSS model SR168-6-010 and sensor of wheel speed from LARM Company. Measurement was on the surface with continuing grass growth and on concrete. Measured traktor was braked with two other tractors on positive drawbar force value. During transit in measurement section were all surveyed values continually recorded and for every surveyed speed were measured several points, which were put into graph. The other values were counted and it was put together drawbar characteristics. From measurement answers was sure the wheel tractor with dual tires extended on concrete surface better drawbar forces then the tracked tractor. On the grass surface it was reversely. In confrontation of drawbar powers was better in either cases the wheel tractor.

Key words: tractor, drawbar performance, drawbar pull, drawbar power, slip, chassis

Acknowledgments: This study was supported by the Research plan No. MSM6215648905 “Biological and technological aspects of sustainability of controlled ecosystems and their adaptability to climate change“, which is financed by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic and by the COST 356 – EST project “Transport in agriculture and its impact on the environment”.

ÚVOD

Zjišťování tahových vlastností traktoru je důležité zejména pro určení kvality přenosu energie získané v jeho motoru. To ovlivňuje mnoho faktorů, z nichž nejdůležitější jsou podmínky styku hnacích kol s povrchem terénu, které rozhodují o schopnosti využití výkonu motoru připojeným pracovním strojem. Velikostí síly přenesitelné na podložku je dána míra využití energie akumulované v palivu na vykonanou práci traktorovou soupravou při tahových operacích. K výkonovým ztrátám dochází především v převodovém ústrojí traktoru, vlivem prokluzu a valení. Podvozek traktoru má vliv především na velikost prokluzu a valivého odporu, a tím tedy i na tahovou účinnost, která je dána poměrem tahového výkonu traktoru k efektivnímu výkonu motoru. Dalším důležitým parametrem ovlivňujícím tahové vlastnosti traktoru je zatížení hnacích kol, které by nemělo způsobovat vysoký měrný tlak na půdu, aby nedocházelo k nadměrnému utužování půdy. Stejně, jak roste tahová síla při zvyšování zatížení, tak roste i při zvětšování styčné plochy mezi pneumatikou a povrchem, tj. při stejném zatížení je možno vyvinout vyšší tahovou sílu při nízkém měrném tlaku na půdu.⁵ Zvětšení kontaktní plochy lze realizovat dvojitou montáží pneumatik u kolového podvozku, nebo použitím podvozku pásového. Obě konstrukce mají své výhody i nevýhody. Zjišťování trakčních schopností traktorů s různými typy podvozků se zabývalo v minulosti již několik autorů.^{2,3,5} V našem měření však bylo použito traktorů nejvyšší hmotnostní a výkonnostní třídy se zcela rozdílným typem podvozku. Běžně používaný kolový podvozek v konfrontaci s pásovým. K dosažení porovnatelných výsledků bylo nutné použít stroje se stejnými parametry ovlivňujícími hodnoty hledaných veličin. Jedná se především o celkovou hmotnost traktoru a výkon motoru. Proto se k měření použily srovnatelné traktory Caterpillar Challenger. První s pásovým podvozkem typ MT875B a druhý s kolovým podvozkem typ MT975B. Pro objektivní porovnání se změřily tahové vlastnosti na dvou rozdílných površích, na betonu a na trvalém travním porostu.

MATERIÁL A METODIKA

Pro měření byly použity čtyři traktory, dva měřené a dva brzdící. Aby byla zajištěna výše zmiňovaná porovnatelnost výsledků, byly použity traktory se stejnými motory a kolový dotížen na hmotnost pásového. Rozdíl činil pouhých 180 kg. Pásový traktor MT 875 B je na obr. 1 a kolový MT 975 B na obr. 2. Na obr. 3 je zobrazena celá brzdící souprava s dvěma traktory FENDT 936 Vario. V tabulce 1 jsou uvedeny základní technické údaje srovnávaných traktorů.

Tab. 1 – Technické parametry traktorů

Charakteristika měřeného traktoru Challenger MT875B (pásový podvozek)

Výrobce	CATERPILLAR
Typ	Challenger MT 875 B
Rok výroby	2008
Motor	CAT C18 Vznětový s vysokotlakým plně elektronickým vstřikovacím systémem MEUI-ADEM 4, přeplňovaný turbodmychadlem s mezichladičem stlačeného vzduchu
Objem válců	18,1 dm ³
Počet válců	6
Max. výkon	425 kW / 1800 min ⁻¹
Navýšení výkonu motoru	8 % při 1800 min ⁻¹
Jmenovité otáčky	2100 min ⁻¹
Převýšení točivého momentu	42 %
Počet motohodin	20
Převodovka	CAT Powershift, 16F/4R, pohon pojezdu mechanický
Pásový podvozek	Šířka pásu 700 mm, rozvor 3 000 mm
Příslušenství	Čelní radlice, bez PTO

Charakteristika měřeného traktoru Challenger MT975B (kolový podvozek)

Výrobce	CATERPILLAR
Typ	Challenger MT 975 B
Rok výroby	2008
Motor	CAT C18 Vznětový s vysokotlakým plně elektronickým vstřikovacím systémem MEUI-ADEM 4, přeplňovaný turbodmychadlem s mezichladičem stlačeného vzduchu
Objem válců	18,1 dm ³
Počet válců	6
Max. výkon	425 kW / 1800 min ⁻¹
Navýšení výkonu motoru	8 % / 1800 min ⁻¹
Jmenovité otáčky	2100 min ⁻¹
Převýšení točivého momentu	42 %
Počet motohodin	135
Převodovka	CAT Powershift, 16F/4R, pohon pojezdu mechanický
Přední pneumatiky	Michelin 800/70 R38
Zadní pneumatiky	Michelin 800/70 R38
Rozvor	3 950 mm
Příslušenství	TBZ, bez PTO, dvoumontáž na obě nápravy, závaží v kolech 4 x 227 kg, čelní závaží 20 x 45 kg

Měření tahových vlastností probíhalo na dvou površích, na betonu a na trvalém travnatém porostu, v areálu letiště ve Vyškově, které se nachází severovýchodně od města. Letištní plocha tvořila betonovou dráhu a přilehlé pozemky s trvalým travnatým porostem (TTP) byly využity pro polní tahové zkoušky.



Obr. 1 - Pásový traktor Challenger MT 875 B



Obr. 2 - Kolový traktor Challenger MT 975 B

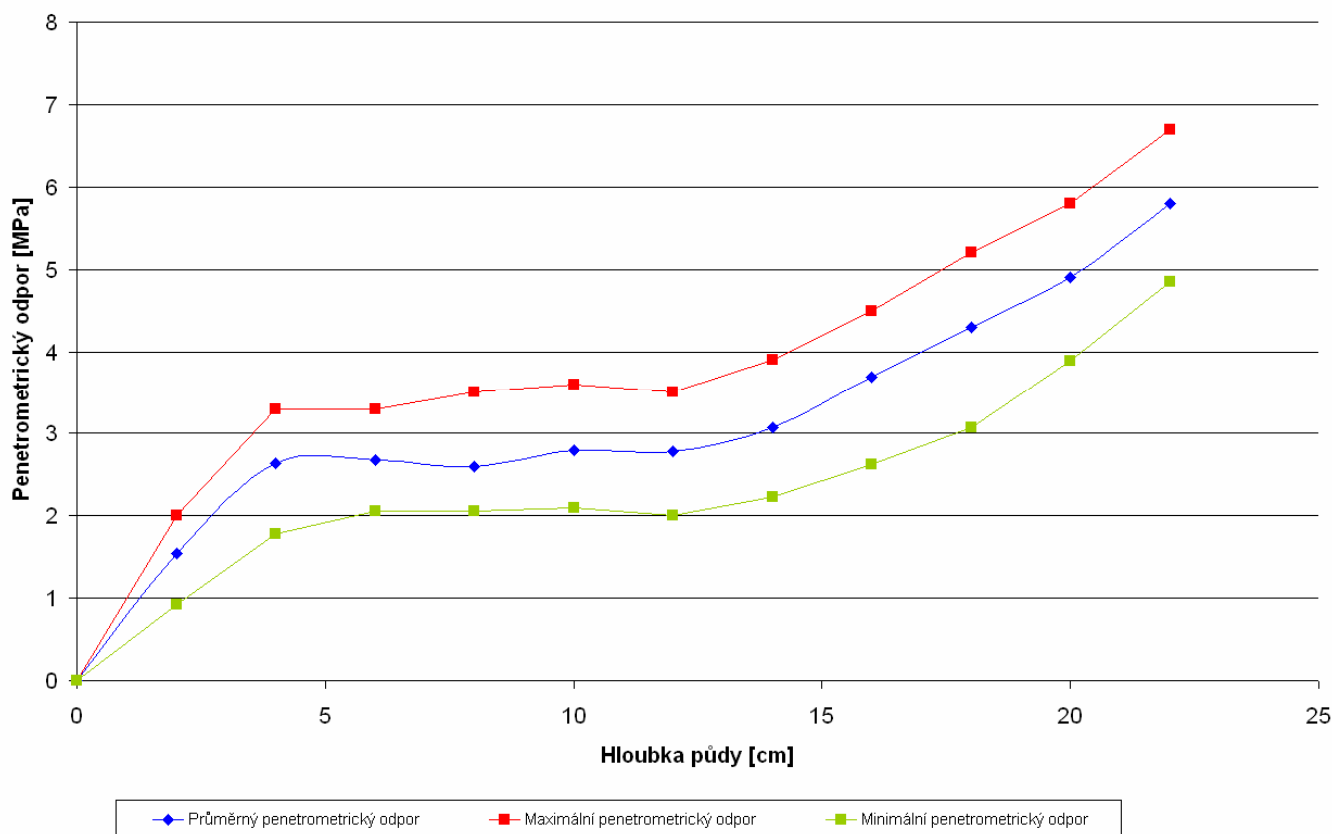
Tahové zkoušky probíhaly vždy při ustálených podmínkách v celém měřicím úseku a bylo dbáno, aby kolísání tahové síly bylo co nejmenší. Při zkouškách na travnatém porostu byla každá jízda provedena v nové stopě. Z měřicích úseků na pozemcích byly odebrány vzorky půdy v hloubce 5 cm pro stanovení základních fyzikálních vlastností a během zkoušek byla měřena relativní vlhkost vzduchu a teplota. Zrnitostní složení půdy je příznivé a jedná se o hlinitou půdu, ovšem současně o půdu extrémně zhutnělou.



Obr. 3 - Brzdící souprava složená z měřeného traktoru a dvou brzdících traktorů Fendt 936 Vario

Průběh penetrometrického odporu trvalého travního porostu je zobrazen na obr. 4. Zrnitostní třída, podle taxonomického klasifikačního systému půd České republiky, je hlína. Půdní hmotnostní vlhkost se v době měření pásového traktoru pohybovala kolem 19% a při měření kolového traktoru okolo 12%.

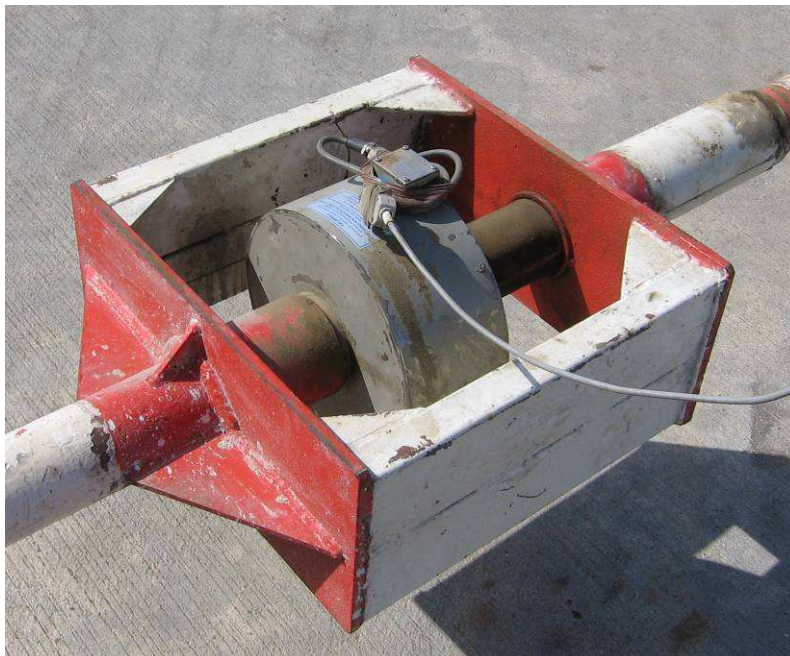
Penetrometrický odpor v závislosti na hloubce



Obr. 4 – Průběh penetrometrického odporu trvalého travnatého porostu

Pro odpovídající průběh charakteristik tahového výkonu, spotřeby paliva a otáček v závislosti na tahové síle se pro každý rychlostní stupeň realizoval dostatečný počet měření, kdy každému z nich odpovídá jeden bod. Měřící úseky byly na betonové dráze 100 m a na travnatém porostu 50 m. Před každým úsekem byla ponechána dostatečná dráha pro ustálení měřených parametrů. Zatěžovací soupravu tvořily dva traktory Fendt spojené ocelovým lanem. Při všech zkouškách byla u měřených traktorů nastavena plná dodávka paliva. V průběhu celého měření byla zapnuta klimatizace. U kolového traktoru vybaveného nápravovými uzávěrkami diferenciálů, byly tyto při měření vždy sepnuty a zařazen pohon všech náprav. Během měření se zaznamenávala data z externích snímačů doplněná daty z vnitřní sítě traktoru (CAN-Bus). K měření tahových sil byl použit tenzometrický snímač HBM Z4 (viz obr. 5) s rozsahem 500 kN vložený do ochranného rámu tažné tyče, která byla umístěna mezi zkoušeným a prvním zatěžovacím traktorem. Tenzometr má výrobní číslo B38612 a byl kalibrován akreditovanou kalibrační laboratoří č. 2230. K indikaci počátku a konce měřicího úseku bylo využito reflexní optické závory IFM electronic s reléovým výstupem (12V). Za účelem stanovení prokluzu byly měřeny skutečné rychlosti soupravy pomocí radaru RDS TGSS model SR 168-6-010 s nominální frekvencí 24,125 GHz (viz obr. 6) namontovaného na rámu zkoumaného traktoru a vypočteny teoretické rychlosti z hodnot získaných ze snímače otáček firmy LARM Netolice a.s. přišroubovaného na ose hnacího kola. Jedná se o inkrementální optický snímač s 360 body na jednu otáčku a jeho umístění na

traktoru je ukázáno na obr. 7. Ostatní požadované hodnoty, jako otáčky motoru, hodinová spotřeba, teplota paliva, točivý moment a další, byly získány z CAN-Bus sítě traktoru. Na začátku zkoušek byly traktory přesně zváženy a bylo provedeno cejchovní měření radaru a snímače otáček kola na předem vytyčené dráze.



Obr. 5 - Tenzometrický snímač HBM Z4



Obr. 6 – Radar RDS TGSS model SR 168-6-010 s reflexní optickou závorou IFM



Obr. 7 – Inkrementální optický snímač otáček kola LARM

Údaje z jednotlivých externích snímačů byly kontinuálně ukládány s frekvencí 20 Hz na pevný disk měřícího počítače. Data snímaná ze sítě CAN-Bus byla ukládána s využitím diagnostického software do servisního počítače výrobce traktoru.

Při zkouškách byly dodržovány podmínky a požadavky dané normami OECD Code 2 a ISO 789-1.

Z naměřených údajů byly dopočítány hodnoty tahového výkonu, prokluzu a měrných tahových spotřeb dle následujících vztahů a sestrojeny tahové charakteristiky.

Tahový výkon

$$P_t = F_t \cdot v_s \quad [\text{kW}]$$

kde F_t – tahová síla [kN]

v_s – skutečná rychlost [m.s⁻¹]

Prokluz

$$\delta = \left(\frac{v_t - v_s}{v_t} \right) \cdot 100 \quad [\%]$$

kde v_t – teoretická rychlost [m.s⁻¹]

v_s – skutečná rychlost [m.s⁻¹]

Měrná tahová spotřeba

$$m_{pt} = \frac{M_p}{P_t} \cdot 1000 \quad [\text{g.kW}^{-1}.\text{h}^{-1}]$$

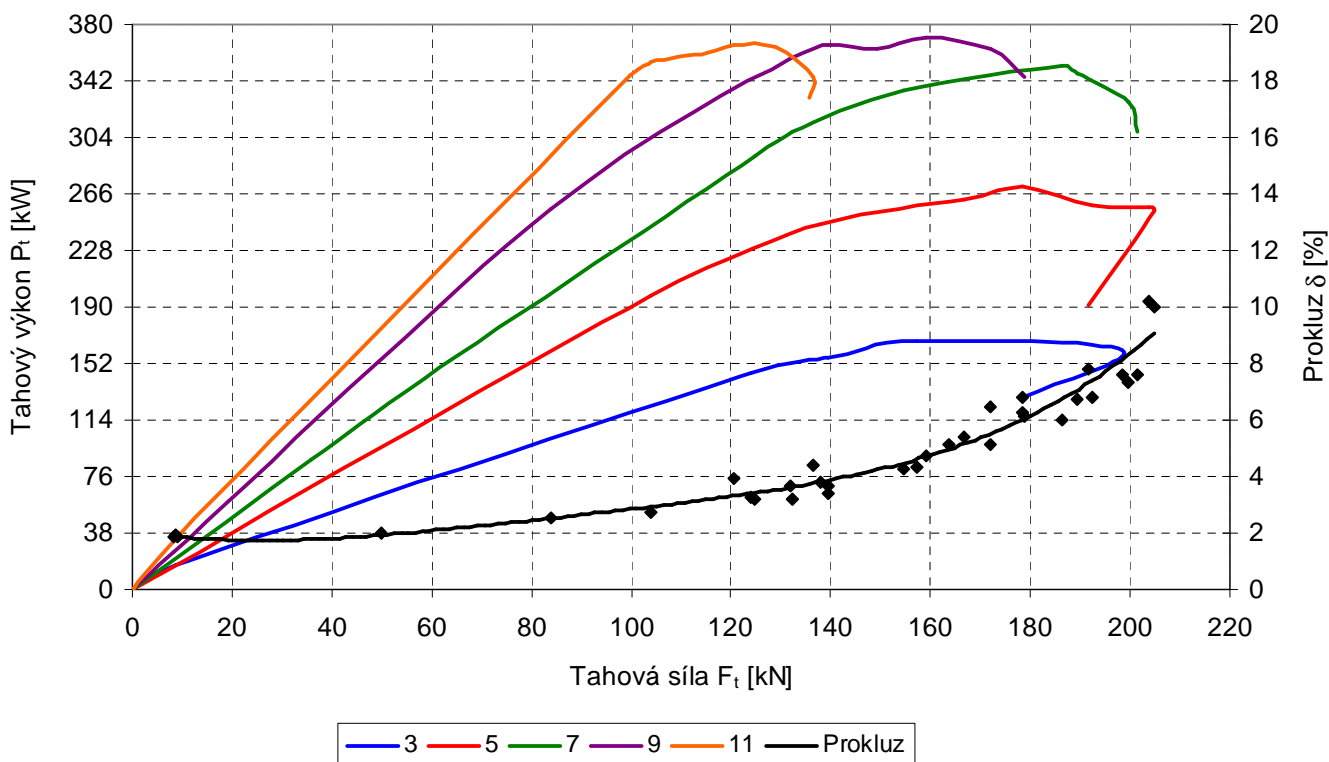
kde M_p – hodinová spotřeba $[\text{kg.h}^{-1}]$

P_t – tahový výkon $[\text{kW}]$

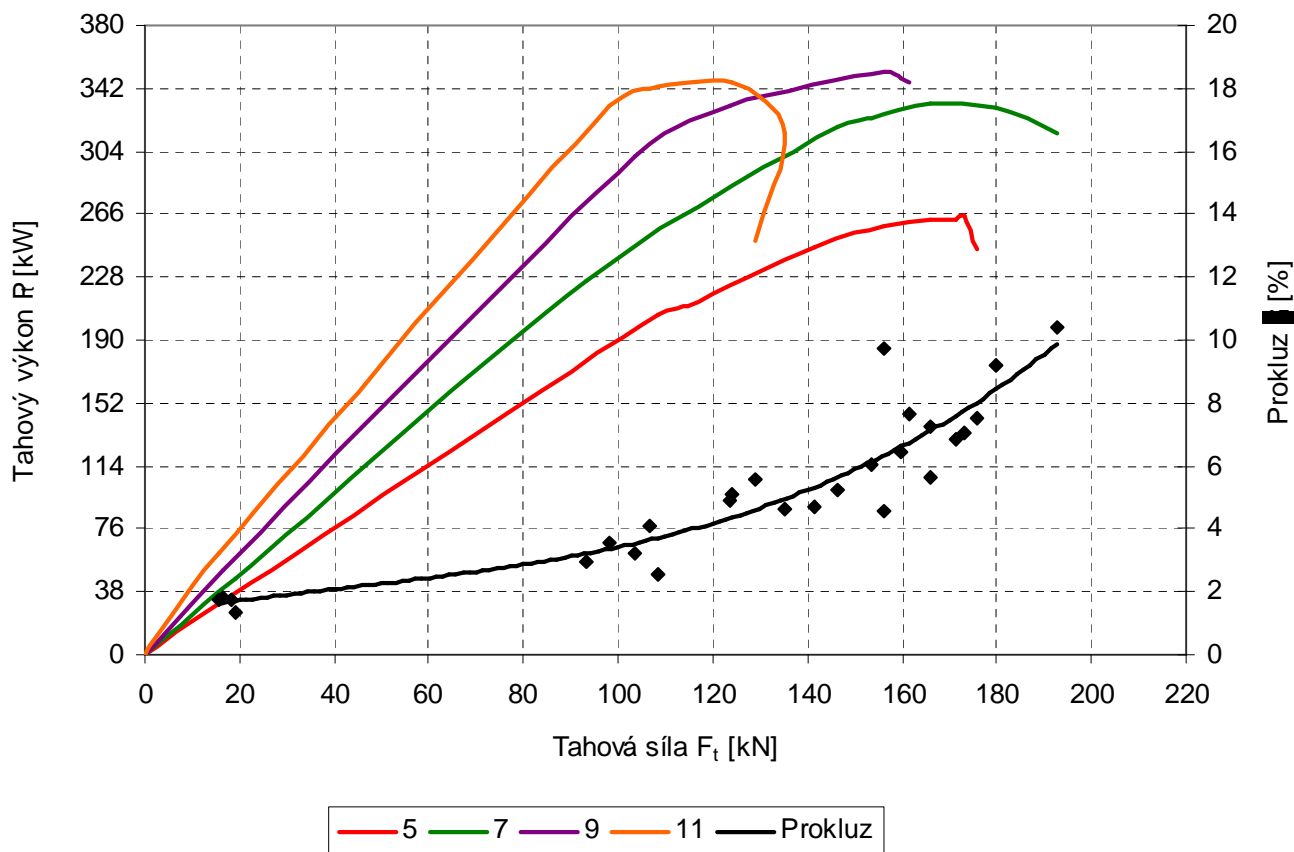
VÝSLEDKY A DISKUZE

Naměřené a vypočítané hodnoty byly vyneseny do příslušných grafů. S ohledem na velkou četnost těchto charakteristik jsou v článku uvedeny pouze závislosti tahového výkonu a prokluzu na tahových silách při vybraných převodových stupních pro každou variantu a jejich vzájemné porovnání.

Traktor Challenger MT 875 B byl zkoušen na trvalém travním porostu pro převodové stupně 5, 7, 9, 11 a na betonovém povrchu pro stupně 3, 5, 7, 9 a 11. Před zahájením zkoušek byl traktor zvážen a zjištěna hmotnost 24 520 kg. Při všech měřeních byla nastavena plná dodávka paliva. Traktor byl ovládán proškolenou obsluhou a bylo realizováno celkem 53 měření. Výsledné tahové charakteristiky jsou uvedeny na obr. 8 a 9 a hodnoty při maximálním tahovém výkonu a tahové síle v tabulce 2.



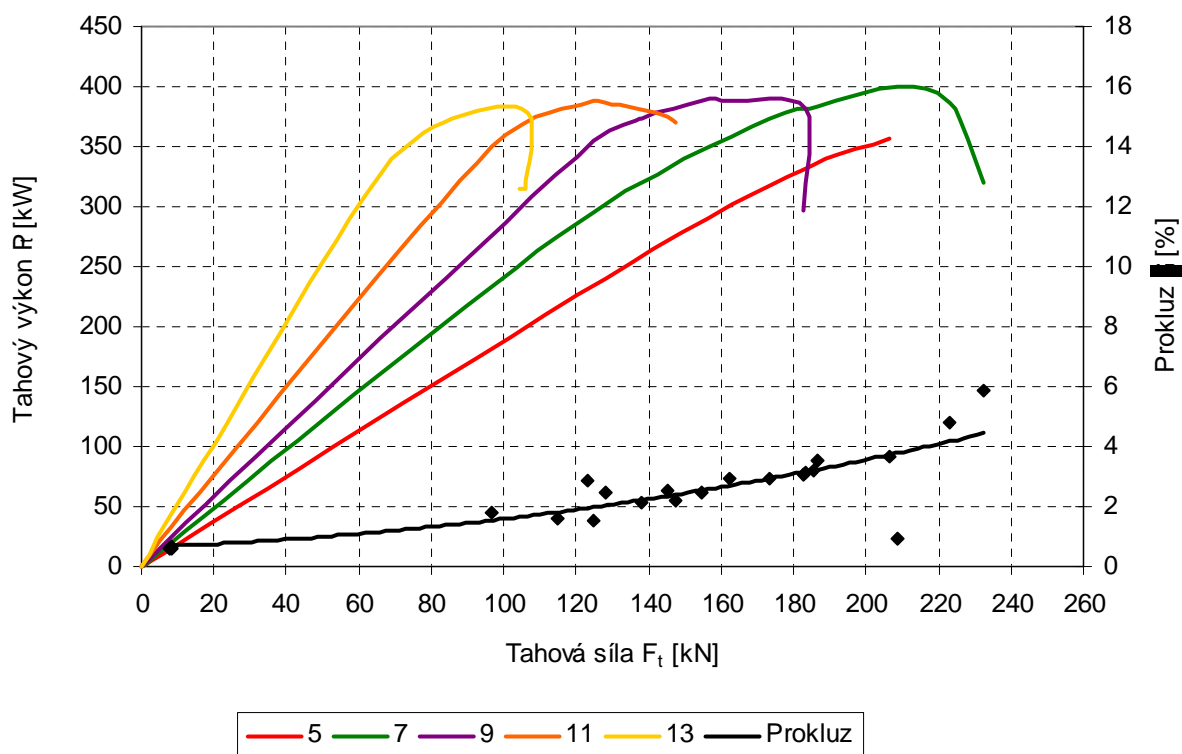
Obr. 8 – Tahová charakteristika traktoru Challenger MT 875 B na betonu



Obr. 9 – Tahová charakteristika traktoru Challenger MT 875 B na trvalém travním porostu

Z charakteristik na obr. 8 a 9 je patrné, že u pásového traktoru byly naměřeny jen nepatrné rozdíly maximálních tahových sil mezi použitými povrchy. Rozdíl činil pouze 6,22 %. Na betonu byla naměřena maximální tahová síla 204,8 kN při prokluzu 10 %, zatímco na trvalém travním porostu 192,8 kN s prokluzem 10,4 %. Maximálního tahového výkonu 370,6 kW na betonu bylo dosaženo při jezdové rychlosti 8,28 km/h a na trvalém travním porostu 352 kW při totožné jezdové rychlosti 8,28 km/h. Rychlost traktoru se při zkouškách na betonovém povrchu pohybovala v rozmezí 2,52 – 14,04 km/h a na trvalém travním porostu 5,04 – 14,04 km/h.

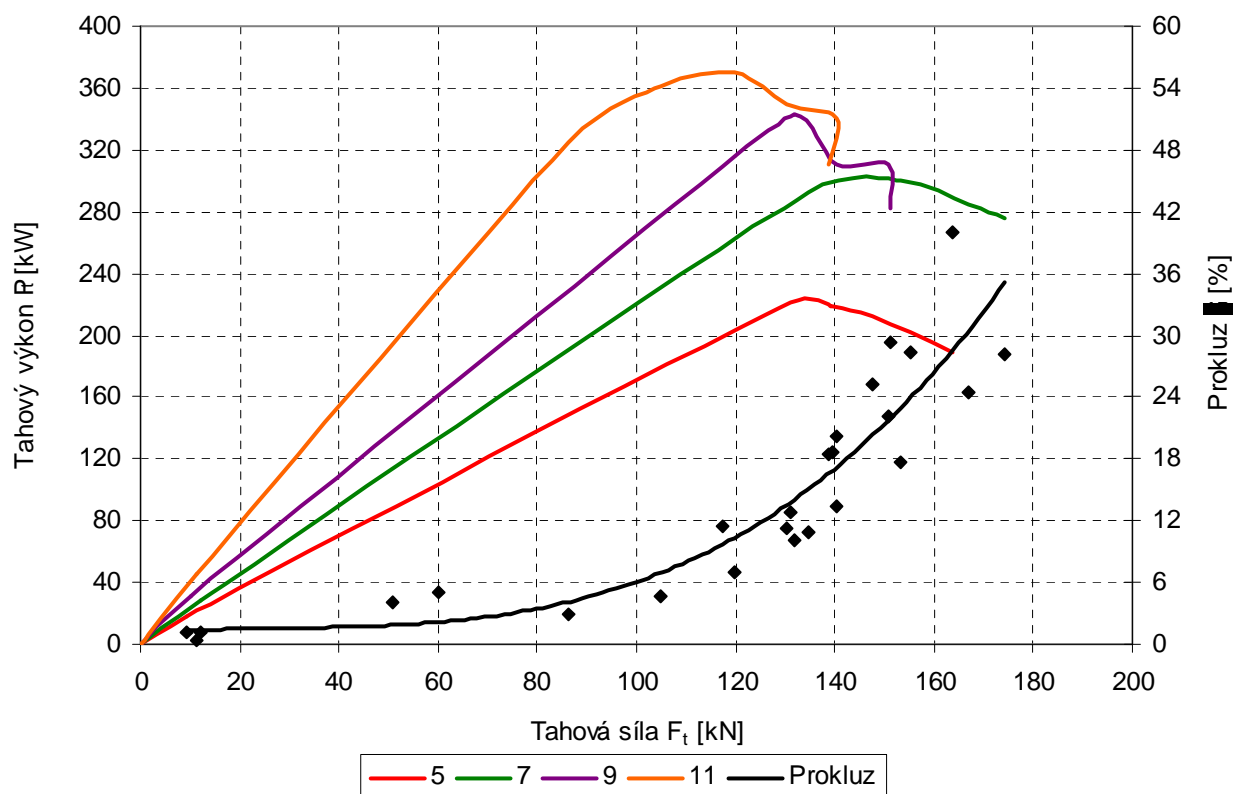
Kolový traktor Challenger MT 975 B byl zkoušen na travnaté dráze pro převodové stupně 5, 7, 9 a 11 a na betonovém povrchu pro stupně 5, 7, 9, 11 a 13. U traktoru byla zjištěna celková hmotnost 24 340 kg. Při všech měřeních byla nastavena plná dodávka paliva, zapnuty uzávěrky a pohony obou náprav a pneumatiky použity ve dvojitě montáži. Přední pneumatiky byly nahuštěny na tlak 0,6 bar a zadní na tlak 0,45 bar. Traktor byl ovládán proškolenou obsluhou a bylo realizováno celkem 61 měření. Výsledné tahové charakteristiky jsou uvedeny na obr. 10 a 11 a hodnoty při maximálním tahovém výkonu a tahové síle v tabulce 2.



Obr. 10 – Tahová charakteristika traktoru Challenger MT 975 B na betonu

Charakteristiky na obr. 10 a 11 ukazují, že kolový traktor dosáhl na betonu vyšší maximální tahové síly než na trvalém travním porostu o 33,31%. Na betonu byla naměřena maximální tahová síla 232,5 kN při prokluzu 5,8 %, zatímco na travnaté dráze 174,4 kN s prokluzem 28,1 %. Maximálního tahového výkonu 400,4 kW na betonu bylo dosaženo při jezdové rychlosti 6,84 km/h a na trvalém travním porostu 370,1 kW při jezdové rychlosti 11,16 km/h. Rychlost traktoru se při zkouškách na betonovém povrchu pohybovala v rozmezí 4,93 – 18,68 km/h a na travnatém povrchu 4,18 – 14,26 km/h.

Pro porovnání závislostí tahových výkonů na tahových silách srovnávaných traktorů je výhodné pro každý povrch vynést hodnoty zkoumaných veličin do jednoho grafu. Na obr. 12 je porovnání tahových veličin obou traktorů na betonovém povrchu a na obr. 13 na trvalém travním porostu. Křivky vykreslené plnou čarou charakterizují pásový traktor MT 875 B a čárkovanou čarou kolový traktor MT 975 B.

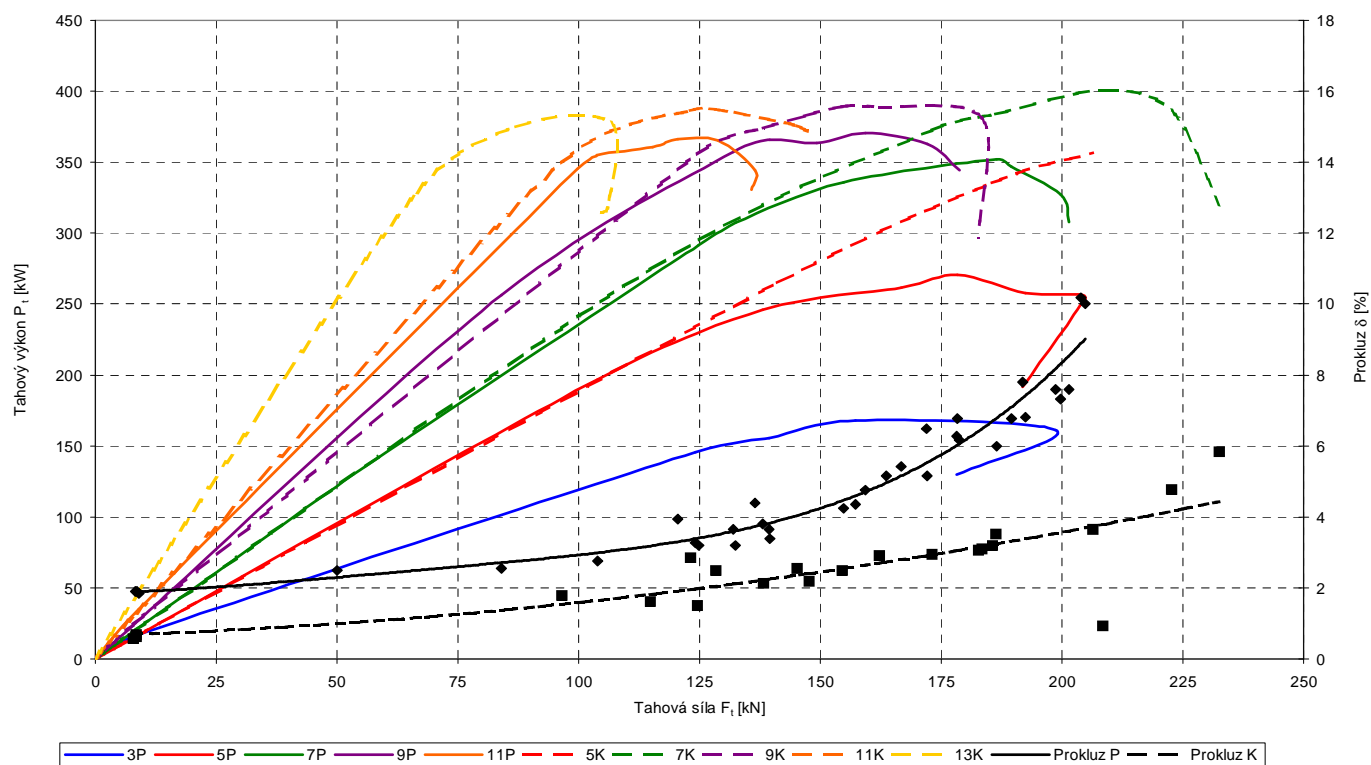


Obr. 11 – Tahová charakteristika traktoru Challenger MT 975 B na trvalém travním porostu

Tab. 2 – Výsledky při nejvyšší tahové síle a tahovém výkonu

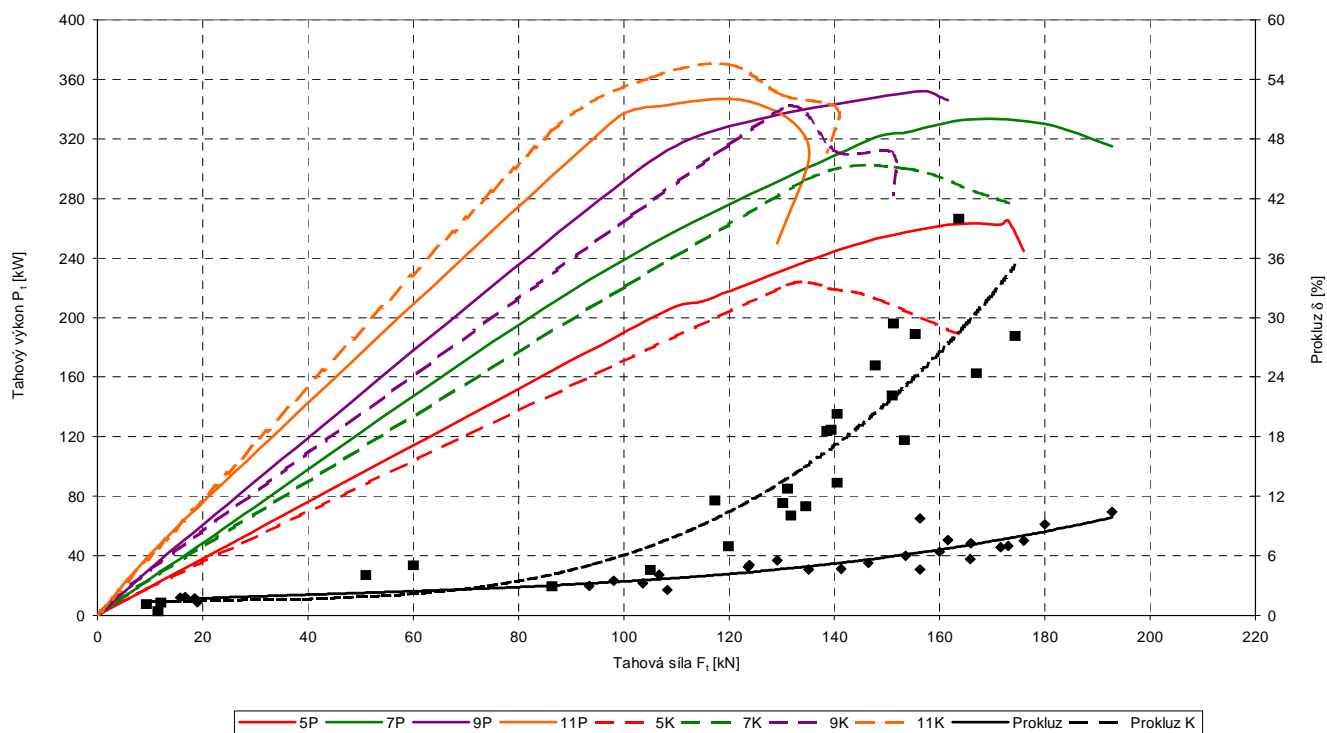
			Hodnoty při maximální tahové síle				Hodnoty při max. tahovém výkonu			
			MT 875 B		MT 975 B		MT 875 B		MT 975 B	
			Trvalý travní porost	Beton	Trvalý travní porost	Beton	Trvalý travní porost	Beton	Trvalý travní porost	Beton
Převodový stupeň			7	5	7	7	9	9	11	7
Tahová síla	F_t	[kN]	192,8	204,8	174,4	232,5	156,3	159,3	119,8	208,5
Tahový výkon	P_t	[kW]	314,9	254,1	275,4	319,5	352	370,6	370,1	400,4
Prokluz	δ	[%]	10,4	10	28,1	5,8	9,7	4,8	6,9	0,9
Skutečná rychlost	v_s	[m.s ⁻¹]	1,6	1,2	1,6	1,4	2,3	2,3	3,1	1,9
Otáčky motoru	n	[min ⁻¹]	1649,9	1526,1	1989,3	1320,7	1678,6	1714,4	1838,7	1755,3
Hodinová spotřeba	Q	[l.h ⁻¹]	111,4	86,8	121,7	93,8	118,7	119,6	125,4	126,1
Měrná tahová spotřeba	m_{pt}	[g.kW ⁻¹ .h ⁻¹]	290,2	280	362,8	238,7	276,4	263,2	277,6	256,2

Porovnání tahových charakteristik traktorů MT 875 B a MT 975 B na betonovém povrchu



Obr. 12 – Porovnání tahových výkonů traktorů Challenger MT 875 B a MT 975 B na betonu

Porovnání tahových charakteristik traktorů MT 875 B a MT 975 B na trvalém travnatém povrchu



Obr. 13 – Porovnání tahových výkonů traktorů Challenger MT 875 B a MT 975 B na trvalém travním porostu

Jak je zřejmé z porovnávacích tahových charakteristik, dosahuje pásový traktor na trávě poměrně ve velkém rozmezí tahových sil od 90 kN do 190 kN pro praxi využitelný tahový výkon. Traktor v tomto případě pracoval s nejvyšším využitím výkonu motoru. Pro tahovou sílu 190 kN se pohybuje prokluz kolem 10 %. Kolový Challenger má na stejném povrchu nejvyšší využití výkonu motoru v rozmezí tahových sil 85 kN až 150 kN, ale dosahuje na jedenáctý rychlostní stupeň vyššího tahového výkonu než traktor pásový. Maximálních tahových sil, jak je zřejmé z obr. 13, však nedosahuje takových, jako pásový traktor, a navíc se čtyřnásobným prokluzem. Hodnoty prokluzu jsou při tahových silách do 80 kN srovnatelné, s dalším zatěžováním u kolového traktoru prudce narůstají.

Co se týče betonového povrchu, viz obr. 12, vychází ve všech parametrech lépe kolový traktor. Pro praxi je využitelný tahový výkon, vyšší než 350 kW, dosahován v rozmezí tahových sil od 70 kN až do 230 kN, přičemž při naměřených maximálních silách vykazuje prokluz hodnot 4,8 %. Maximální tahový výkon i maximální tahová síla byla naměřena na sedmý rychlostní stupeň. Pásový traktor na tomto povrchu dosáhl maximální tahové síly nižší, 204,8 kN, při více jak dvojnásobném prokluzu a na pátý zařazený rychlostní stupeň. Hodnoty tahových výkonů se při nejvyšším využití výkonu motoru pohybují v rozmezí 100 kN až 190 kN. Maximálního tahového výkonu traktor dosáhl při devátém rychlostním stupni s prokluzem 4,8 %.

Jelikož přenos síly z kola na podložku ovlivňuje styčná plocha pásu (či pneumatiky) s povrchem terénu, lze uvedenou vyšší tahovou sílu pásového traktoru změřenou na trvalém travnatém porostu při srovnatelné tíze obou traktorů odůvodnit větší styčnou plochou pryžového pásu oproti styčné ploše kol traktoru MT 975 B. O velikosti síly přenesené na povrch pozemku rozhodují také vlastnosti půdy, jež však byly totožné pro oba sledované traktory, a proto i smyková pevnost půdy byla stejná.

Na betonu zákony teramechaniky neplatí, protože betonový povrch je dostatečně pevný a musí bez trvalé deformace umožnit přenos tangenciálních sil všech dopravních prostředků, které ho využívají. Nezáleží tedy na kontaktním tlaku a přenos sil je závislý pouze na vlastnostech použitého traktoru. Jedná se především o konstrukci, kvalitu a nahuštění pneumatik, hmotnost, motor a celý systém trakce traktoru. Na betonovém povrchu dosáhl vyšších tahových sil kolový traktor, protože nebyl omezen půdními vlastnostmi. U pásového traktoru při nižších převodových stupních docházelo po dosažení tahových sil 200 kN ke snížení točivého momentu a výkonu motoru. Ke stejnému zjištění dospěli na univerzitní traktorové zkušebně v Nebrasce „Nebraska Tractor Test Laboratory“, kde byl pásový traktor Challenger MT 875 B změřen. Výrobce traktoru při vysokém zatížení motoru a nízkých převodových stupních záměrně omezuje točivý moment motoru, aby ochránil hnací nápravy i celé převodné ústrojí před vysokým namáháním, které je dáno velkým točivým momentem motoru a velkým převodovým poměrem. Poklesem točivého momentu byla snížena i dosažitelná tahová síla.

ZÁVĚR

Na základě výsledků provedených měření tahových charakteristik obou porovnávaných traktorů na betonu a na travnatém povrchu je možno konstatovat, že pásový traktor Challenger MT 875 B dosahuje vyšších tahových sil při použití na travnatém povrchu, zatímco na betonu vyvinul vyšší tahovou sílu i vyšší tahový výkon kolový traktor Challenger MT 975 B.

Z uvedených výsledků vyplývá, že i přes dvojitou montáž pneumatik na kolovém traktoru je účelnější použití pásového traktoru, který dokáže vyvinout vyšší tahové síly při relativně nízkém prokluzu (do 10 %). Další výhodou je vliv vyšší styčné plochy a tím nižšího měrného tlaku na půdu, který snižuje riziko nežádoucího zhutnění půdy. Na betonovém povrchu dosahoval nižších hodnot tahové síly a tahového výkonu, protože má pro nižší převodové stupně omezen točivý moment za účelem vyšší životnosti hnací nápravy a převodných ústrojí.

LITERATURA

- Bauer, F., Sedlák, P., Šmerda, T.: Traktory. Nakladatelství Profi Press, s.r.o., Praha 2006
- Grečenko, A.: Kolové a pásové traktory. SZN Praha 1963, 402 s
- Grečenko, A.: Vlastnosti terénních vozidel. Praha: VŠZ, 1994, 118 s
- Semetko, J., a kol.: Mobilné energetické prostriedky 3. Bratislava 1986, Príroda, SZN, 457 s
- Sedlák, P., Bauer, F.: Vliv styčné plochy pneumatik na tahové vlastnosti traktoru. Acta Univ. agric. et silvic. Mendel. Brun (Brno) 2004. 52,1,209 216 ISSN 1211 8516
- Bauer a kol.: Výsledky měření tahových vlastností traktorů, Brno 2008, 68 s
- Bauer a kol.: Analýza výsledků tahových zkoušek, Brno 2008, 44 s

MONITORING PROCESS OF BIOMETHANIZATION

SLEDOVÁNÍ PRŮBĚHU BIOMATHANIZACE

Šinkora M., Havlíček M.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: milan.sinkora@seznam.cz, havlicek@node.mendelu.cz

ABSTRACT

A methodology of the essential biogas analysis and of substances which are entering this process is presented in this paper. The aim is to demonstrate running and grading gas quality and quantity stabilisation on a small model. Researched materials are farm wastes, containing various adulterans and samples from different functional parts of the biogas station. The basic monitored assesment is quantity and quality of the gas, content of organic acids and dry matter. The process of biogas creation has been successfully demonstrated, the biological activity and stability of the sample has been determined and effectively compared, eventually optimized, the process of combustion of dissimilar matters.

Key words: Biogas, biomathanization, process of biogas kreation

ÚVOD

Obnovitelné zdroje energií jsou velkým tématem dneška. Nemalou součástí z těchto zdrojů tvoří biomasa a nabízí mnoho cest, jak ji energeticky využít. Na pracovišti laboratoře Agrarfakultät Universität Rostock již třetím rokem úspěšně probíhá výzkum týkající se anaerobní digesce biomateriálů, a který se snaží optimalizovat proces biomethanizace v daných podmínkách, resp. popsat jeho průběh. Tím je míněna snaha o vytvoření nejvhodnějšího poměru kosubstrátů, které se nabízí pro konkrétní bioplynovou stanici (dále BPS), lokalitu nebo klimatické podmínky.

S pojmem biomethanizace, též anaerobní digesce neboli vyhnívání se setkáváme v odborné literatuře čím dál častěji, v souvislosti s již zmíněnými obnovitelnými zdroji energií. Znamená to proces, kdy za nepřístupu vzduchu, tedy za podmínek anaerobních, dochází k rozkladu hmoty organického charakteru na jednoduché látky až na zbytkový stabilní substrát a bioplyn. Procesu se nejprve účastní široká škála aerobních mikroorganismů a přes skupinu fakultativních anaerobů až po bakterie striktně vyžadující nepřítomnost kyslíku, které produkují methan, jež je jednou ze dvou základních složek bioplynu. Seběmenší dávka O_2 má za následek jejich úhyn a ztroskotání tak procesu anaerobní stabilizace (STRAKA, 2006).

V závislosti na teplotní toleranci MO se nejčastěji používají mezofilní bakterie, pro které je teplota okolo $35\text{ }^\circ\text{C}$ životním optimem, stejně jako pro jejich rozmnožování. Požadavek na hodnotu pH se pohybuje nejčastěji v rozmezí 6,5 až 7,5.

Jsou prokázány i mikroorganismy, které jsou schopné života i při extrémních teplotách nebo nízkém pH, avšak takové druhy nemají v širším spektru praktické uplatnění (KANSWOHL 2007).

Jak již bylo naznačeno, hlavní a nejpodstatnější složkou bioplynu je methan, který se v optimálním procesu methanizace pohybuje okolo 60 % podílu. Zbytek směsi tvoří oxid uhličitý. Minoritní složky zastupují dusík, nepatrné množství zbytkového kyslíku, vodík, sirovodík nebo oxid dusný. Při nízkém podílu methanu se provádí tzv. čištění plynu, jehož účelem je právě zvýšit podíl na min. 60 %. Bioplynové stanice, které mají problémy se zvládnutím procesu výroby bioplynu, se potýkají s nízkou produkcí methanu, což má za následek špatný chod spalovacího zařízení a ztrátu výkonu.

Vyjmenujme si tedy hlavní faktory, které ovlivňují průběh methanizace:

- zamezení přístupu světla a kyslíku
- teplota - nejčastěji kolem $35\text{ }^\circ\text{C}$ (oblast mezofilních MO)
- živiny a jejich přívod
- míchání substrátu a jeho intenzita - při suché fermentaci nemícháme (sušina nad 15 - 20%) – odlišný technologický postup
- hodnota pH – optimum při 6,5 – 7,5
- negativní vliv přítomnosti inhibujících látek

Cílem této práce je především zjištění stupně stabilizace daného vzorku vstupujícího do BPS nebo již podléhajícího rozkladu a stanovení tak jeho aktivity potažmo schopnosti produkovat bioplyn. Tato aktivita může být dána např. parametry :

- procentuálním obsahem organických látek
- denní produkcí bioplynu
- obsahem mast. kyselin, lipidů, apod.

Jednotný ukazatel, kterým lze bezpečně stanovit míru stabilizace látky však ale neexistuje (STRAKA, 2006). Obracíme se tedy na níže popsání metody prováděné po určitých intervalech.

MATERIÁL A METODIKA

V experimentu bylo použito vzorků z různých procesních částí BPS. Stanovení organických kyselin (celk.) se provádělo destilační metodou, TS a oTS palivářskou analýzou, objem vzniklého plynu a jeho kvalita se měřily vizuálně a přístrojově.

Tab.1 Výčet vzorků

I	předkvašovací, přípravná nádrž I.	(VG I.)
II	předkvašovací, přípravná nádrž II.	(VG II.)
III	nádrž stabilizovaného kalu	(NGB)
IV	prasečí kejda	(Gülle)

Sledované parametry :

- obsah sušiny TS – stanovený při vysušení vzorku při 105 °C
- obsah organické sušiny oTS a popeloviny (muflová pec při 600 °C)
- stanovení organických kyselin celkem – destilační metoda
- množství vzniklého plynu a jeho kvalita
 - obsah methanu
 - podíl oxidu uhličitého
 - obsah zbytkového kyslíku a sirovodíku
- teplota – nepřetržitá kontrola
- hodnota pH

Doba průběhu pokusu byla stanovena na jeden měsíc. Je tedy podobná jako obvyklá doba zdržení substrátu v BPS. Po tuto dobu totiž materiál vyvíjí biologickou aktivitu až do úplné stabilizace. Ta se vyznačuje mimo jiné absencí nepříjemného zápachu. Cítíme li však zápach připomínající zkažená vejce, nakyslý zápach apod., svědčí to o nekvalitním průběhu procesu popř. neúplné stabilizaci.

Pokus se dělí na několik částí. První částí je příprava tzv. Batch testu, ve kterém dochází k vzniku bioplynu v litrových nádobách s odvodem plynu, umístěných ve vytemperované nádobě. Samotný odečet množství a kvality bioplynu se provádí v odměrných válcích naplněných speciální kapalinou, která zabraňuje úniku plynu. Samotná kvalita je měřena analytickým přístrojem Gasanalyseur GA 45. Měření je prováděno denně.

Druhou částí je stanovení TS a oTS. To se provádí v tomto případě jednou na počátku pokusu vysušením v sušárně a následným spálením organické hmoty v muflové peci. Společně s tím se určí i obsah nespalitelné popeloviny. (Postup podle RICHTILINE DIN EN 12880, Trockensubstanzbestimmung a RICHTLINIE DIN EN 12879, organische Trockensubstanzbestimmung). Tzv. palivářská metoda (STRAKA, 2006)

Třetí částí je stanovení množství organických kyselin celkem v objemu vzorku. To bylo provedeno destilační metodou. Zjištěním spotřeby indikačního činidla při titraci se podle jednoduchého vzorce spočítá množství obsažených organických kyselin a tak porovná míra stabilizace substrátu.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Při sledování průběhu procesu biomethanizace bylo již vizuálně patrné, která z látek má větší biologickou aktivitu a která je více stabilizovaná. Z vyhodnocených údajů experimentu je možné odvodit optimální míchání kosubstrátů a předpovídat průběh procesu.

Níže uvedené tabulky znázorňují jednotlivé naměřené hodnoty TS, oTS, org.kyselin.

Tab.2 Stanovení TS při 105 °C

Pr.Nr.:	Tiegel Nr.	Tara g	Einwaage g TS 60	Einwaage + Tara g	Auswaage + Tara g	Auswaage g TS 105	TS - gehalt % TS 105
VG I.	44	54,0787	10,025	64,1037	54,9647	0,886	8,83790524
VG I.	43	49,0386	10,005	59,0436	49,9456	0,907	9,06546727
							8,95168625
NGB	9	54,537	10,017	64,554	55,0224	0,4854	4,8457622
NGB	39	57,5529	10,0439	67,5968	58,0278	0,4749	4,72824301
							4,78700261
VG II.	48	51,0607	10,107	61,1677	51,8849	0,8242	8,15474424
VG II.	40	68,027	10,075	78,102	68,8713	0,8443	8,38014888
							8,26744656
Gülle	82	52,9904	10,01	63,0004	53,3941	0,4037	4,03296703
Gülle	90	57,1704	10,0781	67,2485	57,5713	0,4009	3,97793235
							4,00544969

Z tabulky je patrné, že sušina v materiálech vstupujících do procesu je vyšší než u stabilizovaného substrátu a prasečí kejdy. To je způsobeno složením kosubstrátů BPS. Kejda prasat sama o sobě vysoký podíl TS nemá, resp. sušina kolem 8 % se považuje za nadprůměrnou. Stanovení se provádí vysušením vzorku a následným odečtením z původní hmotnosti. Uvádí se v procentech.

Tab. 3 Stanovené oTS a popeloviny (Aschegehalt) při 600 °C

Pr.Nr.:	Tiegel Nr.	Tara g	Einwaage + Tara g	Einwaage g TS	Auswaage + Tara g	Auswaage g Asche	Aschegehalt % TS	oTS - gehalt % TS
VG I.	44	54,0787	54,9647	0,886	54,2247	0,146	16,4785553	83,5214447
VG I.	43	49,0386	49,9456	0,907	49,1912	0,1526	16,8246968	83,1753032
							16,6516261	83,3483739
NGB	9	54,537	55,0224	0,4854	54,668	0,131	26,9880511	73,0119489
NGB	39	57,5529	58,0278	0,4749	57,6895	0,1366	28,7639503	71,2360497
							27,8760007	72,1239993
VG II.	48	51,0607	51,8849	0,8242	51,2313	0,1706	20,6988595	79,3011405
VG II.	40	68,027	68,8713	0,8443	68,1969	0,1699	20,123179	79,876821
							20,4110192	79,5889808
Gülle	82	52,9904	53,3941	0,4037	53,1285	0,1381	34,2085707	65,7914293
Gülle	90	57,1704	57,5713	0,4009	57,292	0,1216	30,3317536	69,6682464
							32,2701621	67,7298379

Palivářská metoda, neboli stanovení organické sušiny a popeloviny spálením zbytkové organické sušiny, se provádí v muflové peci o teplotě 600 °C. Po vypočtení popeloviny z rozdílů navážky se do 100 % dopočítá obsah oTS. Z výsledků je patrná klesající tendence od materiálů z přípravné nádrže s vysokou organickou sušinou, až po kejdu prasat s průměrnou oTS 68 %.

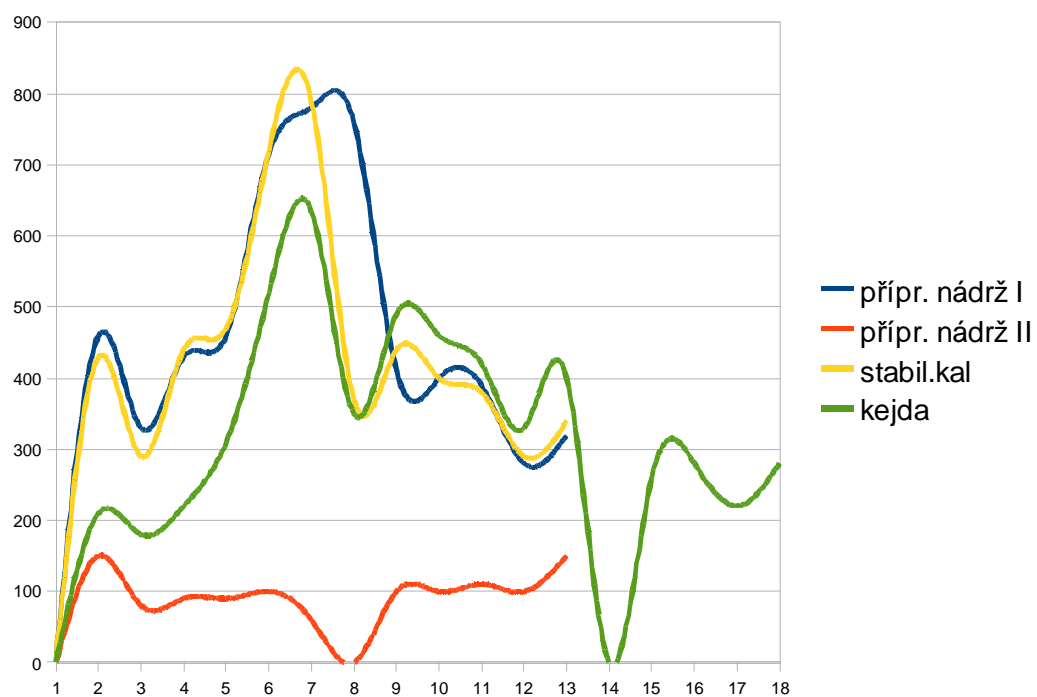
Tab. 4 Stanovení organických kyselin celkem (organischen Säuren)

Pr.Nr.:	Tiegel Nr.	TS - gehalt % TS 105	oTS - gehalt % TS	oTS % FM	oTS in g/ kg FM	organ. Säuren g/kg FM	oS=oTS+Sr %FM
VG I.	44	8,83790524	83,5214447	7,381546	73,8154613	7,112602193	8,09280635
VG I.	43	9,06546727	83,1753032	7,54023	75,4022989	7,055576541	8,24578754
VG I.	arithm. Mittel	8,952	83,348	7,461	74,609	7,084	8,169
NGB	9	4,8457622	73,0119489	3,537985	35,3798542	0,844172483	3,62240267
NGB	39	4,72824301	71,2360497	3,368214	33,6821354	0,848532609	3,4530668
NGB	arithm. Mittel	4,787	72,124	3,453	34,531	0,846	3,538
VG II.	48	8,15474424	79,3011405	6,466805	64,6680518	5,7894666	7,04575184
VG II.	40	8,38014888	79,876821	6,693797	66,9379653	5,874456522	7,28124218
VG II.	arithm. Mittel	8,267	79,589	6,580	65,803	5,832	7,163
Gülle	82	4,03296703	65,7914293	2,653347	26,5334665	1,58308226	2,81165488
Gülle	90	3,97793235	69,6682464	2,771356	27,7135571	1,675675273	2,93892324
Gülle	arithm. Mittel	4,005	67,730	2,712	27,124	1,629	2,875

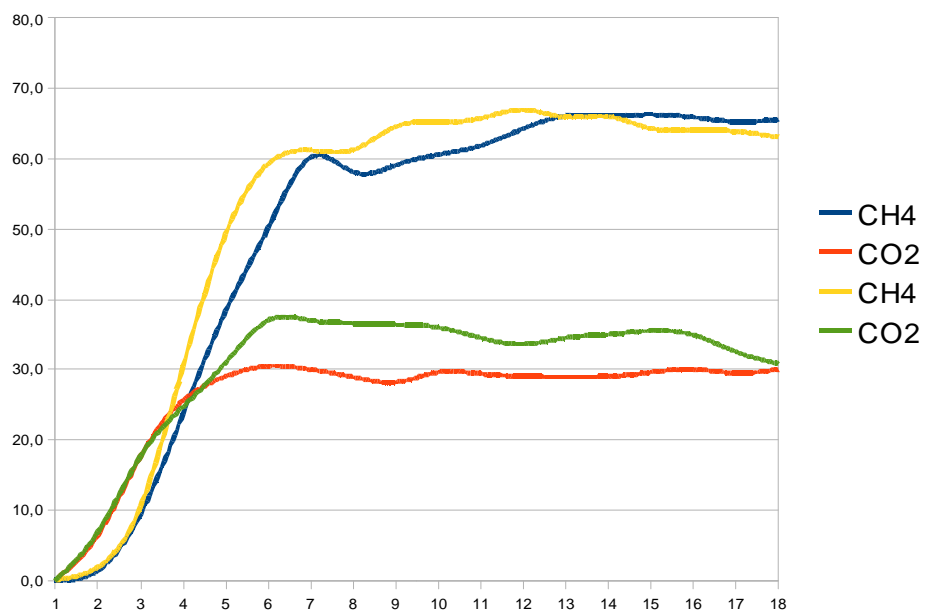
Také obsah organických kyselin znázorňuje míru stability substrátu. Proto je z tabulky 4. patrné poměrně vysoké množství org. kyselin obsažených ve vstupních kosubstrátech. Naopak v stabilizovaném vzorku NGB jsou org. kys. zanedbatelné.

Z níže uvedených grafů 1. a 2. lze názorně demonstrovat okamžitý nárůst vývinu plynu, přičemž graf 2. vypovídá o prvotní částečně ještě aerobní fázi s převahou oxidu uhličitého, který ihned střídá strmý nárůst methanu produkovaný striktně anaerobními methanogenními bakteriemi.

Graf 1 Množství vzniklého plynu [ml]



Graf 2 Množství vzniklého methanu a oxidu uhličitého [ml]



ZÁVĚR

Jednoduchou metodou lze názorně demonstrovat a provést základní analýzu procesu vzniku bioplynu z široké škály biomateriálů. V tomto pokusu byl uskutečněn analytický rozbor vstupních kosubstrátů, který určuje míru stabilizace těchto látek. Tento model poskytuje možnost optimalizace složení substrátu před vstupem do BPS.

Za dobu tří let výzkumu bylo prokázána poměrně vysoká spolehlivost stanovení biologické stability organických materiálů. Velkou výhodou tohoto pokusu je poměrně velký počet vzorků a jejich kombinací, které se dá za relativně krátký časový úsek ověřit. Nevýhodou je však malý objem reaktorů, který za reálných podmínek nemusí stoprocentně odpovídat. Nabízí se tu však další možnosti pro výzkum bimechanizace a to například vliv přístupu světla na množství a kvalitu bioplynu.

LITERATURA

RICHTLINIE VDI 4630, Biomethanizierung des biologisches Substraten

RICHTLINIE DIN EN 12879, organische Trockensubstanzbestimmung

RICHTLINIE DIN EN 12880, Trockensubstanzbestimmung

KANSWOHL, N., 2007, Fach Nachwachsende Rohstoffe, Universität Rostock, Agrarfakultät, studijní materiál

EICHLER-LOEBERMAN, B., 2007, NAWARO, Biogasproduktion, Universität Rostock, Agrarfakultät, studijní materiál

STRAKA, F. a kol., Bioplyn, Praha, 2006, Gas, s.r.o.

LECHNER, P., Kommunale Abfallentsorgung, 2004, Facultas UTB, ISBN 3-8252-2114-8

MATHEMATICAL MODEL OF THE HAY AGGREGATOR FELLA TS 1602

MATEMATICKÝ MODEL DYNAMIKY SHRNOVAČE PÍCE
FELLA TS 1602

Šmíd V., Bartoň S.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: vlasmi@centrum.cz, barton@mendelu.cz

ABSTRACT

The work presents construction of mathematical model of the hay aggregator. Analytical model is based on the programme Maple 11 and enables evaluation of the influence of the dimensions of constructional parts on the kinematics and dynamics of the whole machine. This approach enables creation of precise animations showing movement of the key constructional parts, computation and drawing of precise graphical dependencies showing dynamic stress or consumption of energy. Study of the model enables detection of the constructional imperfections and demonstrates possibility of improvements.

Key words: Maple 11, mathematical modelling, analytical description, animation, construction, quality evaluation

Acknowledgments: Authors would like to express their grateful thanks to the company TOKO-AGRO a.s. Rudice u Luhačovic for kind lending of the constructional parts of the hay aggregator.

ÚVOD

Píce jsou velmi důležitou plodinou z hlediska zajištění krmivové základny hospodářských zvířat a základním zdrojem objemných krmiv. Tvoří je travní porosty z luk a pastvin, dále víceleté pícniny – jeteloviny (vojtěška, jetel), pícní trávy a jednoleté pícniny (zvláště kukuřice a směsky) pěstované na orné půdě.

Sklizeň pícnin probíhá téměř pro celé vegetační období se špičkami v době prvních sečí – senoseče a sklizně silážních plodin. Hlavním problémem při sklizni je zmenšit riziko počasí a tím snížit sklizňové a konzervační ztráty. Při špatném počasí a nevhodném způsobu sklizně, odrolem, nesebráním, nevhodnou konzervací mohou činit ztráty sušiny na hmotě 15 až 35 %, ztráty živin až 50 % a vitamínů až 100 %. Vhodným sklizňovým pracovním postupem a konzervací lze snížit riziko počasí a zabránit znehodnocení píce v průběhu uskladnění.

Základními články technologické linky pro sklizeň píce jsou žací stroj s případnou úpravou pokosu – obraceč dle potřeby – shrnovač – sběrací vůz, lis, nebo řezačka.

I když se to zdá jako samozřejmost, tak v rámci sklizňových prací je shrnování zavadlé hmoty na řádek důležitým krokem. Pro maximální využití optimálního obsahu sušiny musí práce probíhat s velkou výkonností umožňující souběžný provoz shrnovače a řezačky (nebo jiného sklizňového stroje). Rozhodující faktory pro práci shrnovače jsou šířka záběru a s tím spojené množství hmoty spolu s charakterem ukládaného řádku. Shrnování píce do objemných řádků umožňuje i při nižší pojezdové rychlosti optimálně využít instalovaného výkonu moderních lisů, senážních návěsů a řezaček. Menší počet řádků s větším množstvím píce snižuje počet přejezdů těchto strojů na pozemku a podíl ztrátových časů pro otáčení.

Řádek s rovnoměrným ukládáním hmoty snižuje nárazová zatížení sklizňových strojů a jejich výkon je vyšší. Ideální řádek není okrouhlý, nýbrž téměř pravouhlý a na okrajích je větší množství hmoty než ve středu. V průřezu má tvar písmene M.

Je zřejmé, že šířka odkládaného řádku by měla odpovídat záběru sběrače následného stroje. Méně známé je ale to, že šířka řádku by měla být v tomto intervalu co největší, aby se dosáhlo rovnoměrného zatížení plnicího ústrojí.

U shrnovačů by mělo být účinné kopírování terénu podvozky rotorů a precizní nastavení výšky by mělo sloužit především k tomu, aby nedocházelo k poškozování travního drnu a zvýšenému znečišťování píce. Kvalitního kopírování terénu je dosaženo kardanovým zavěšením rotorů. Každý rotor se přizpůsobí terénu nezávisle jak v podélném, tak i příčném směru.

Dvourotorové shrnovače se středovým ukládáním hmoty jsou známé tím, že vytvářejí velmi rovnoměrné řádky s nízkým znečištěním díky krátké vzdálenosti příčného posunu hmoty. Se dvěma rotory se je možné dosáhnout záběru jen něco přes 8 metrů, takže podmínkou využití výkonu řezačky je dostatečný výnos hmoty. Naproti tomu dvourotorové shrnovače s bočním ukládáním řádků dovolují dvě nebo více jízd složit do jednoho řádku. V tomto případě lze v jednotlivých sečích formovat řádky adekvátní sklizňové technice bez přímé závislosti na výnosu hmoty.

Úspěšnou kombinaci vysoké výkonnosti s ideálním formováním řádku představují čtyřrotorové shrnovače se středovým ukládáním. Plynule nastavitelná šířka záběru až 13,5 m vytváří předpoklady pro vysoký výkon 8 až 10 ha.h⁻¹ při nízkém počtu přejezdů s minimem ztrátových časů při obracení. Časový náskok, s nímž musí vyrazit do práce, je minimální a tím lze využít poslední cenné hodiny pro zavádání shrnované hmoty. Výjimkou nejsou ani situace, kdy tento shrnovač pracuje těsně před lisem nebo řezačkou. Čas pro zavádání je maximálně využitý a dosahuje se velmi rovnoměrného obsahu sušiny. Ohlasy z praxe potvrzují zvýšení výkonu řezačky až o 30 % díky rovnoměrnosti formovaných řádků v porovnání s malými shrnovači. Ze stejného důvodu tyto shrnovače dobře zpracují hmotu i pro lisy či senážní návěsy. V některých případech se možnost náhrady dvojice menších shrnovačů se záběrem až 7 m ukázala jako výhodná z důvodu omezení počtu přejezdů na citlivých pozemcích.

Tyto shrnovače se prosadily nejprve na velkých pozemcích, ale nyní se objevují i v kopcovitých oblastech s členitými pozemky. A to proto, že s nástupem moderních senážních návěsů se stávající dvurotorové shrnovače staly nejslabším místem sklizně. Bylo často nutné zároveň povolat ještě druhý stroj a začínat se shrnováním s více než půldenním předstihem před startem sběru hmoty. Čtyřrotorový shrnovač dovoluje téměř souběžný začátek práce celé linky. Při blížící se změně počasí je možné píci rychle shrnout a nařezat, což je důležité v regionech s častými dešti a pěti sečemi do roka.

Při velkém výnosu hmoty na pozemku jsou ovšem formované řádky příliš vysoké, takže činí problémy sběrači senážních návěsů. Za této situace je vhodnější využití dvojrotorového provedení. To samé platí i pro sklizeň luk s přerostlou trávou ke krmení koní.

Proto se v podnicích zatím nejvíce prosadily univerzálnější vysoko záběrové dvojrotorové shrnovače s bočním nahrnováním, které umožňují při malém výnosu hmoty ve dvou protiběžných jízdách nahrnout 2 řádky na sebe a tím dostatečně vytížit odvozový prostředek. Při vysokých výnosech zase nevytvářejí příliš vysoký řádek

Proto se ve své práci zabývám matematickým modelem dynamiky jednoho ramene shrnovače píce FELLA TS 1602 Hydro, typického zástupce této kategorie.



Obr. 1 Shrnovač Fella TS 1602 Hydro



Obr. 2 Detail shrnovacího rotoru

MATERIÁL A METODIKA

Fella TS 1602

Jedná se o výrobek firmy FELLA – Werke GmbH & Co. KG, Feucht, Deutschland. Je to tažený dvourotorový stranový shrnovač s nastavitelným záběrem 7,0 – 8,4 m umožňující shrnování do jednoho nebo dvou řádků. Rotory mají průměr 4,2 m, první rotor je vybaven 10 shrnovacími rameny, druhý 12 rameny, shrnovací výška je nezávisle nastavitelná mechanicky klikou. Každý rotor má vlastní čtyřkolový podvozek. Natáčení shrnovacích ramen do a z pracovní polohy je zajištěno pohybem vodících roln v křivkové dráze – *vedení vačky*, ze

zušlechtěné a otěruvzdorné litiny. Stroj je v zadní části vybaven tandemovou nápravou řízenou od výkyvné ojové hlavy prostřednictvím otočného hřídele uloženého v hlavním nosníku. Potřebný výkon tažného prostředku 30 kW, otáčky vývodového hřídele 540 min^{-1} celková hmotnost 1950 kg.

Souřadný systém pro tvorbu modelu

Tvorba matematického modelu bude nejjednodušší v systému kartézských souřadnic *E3*. Počátek souřadného systému je umístěn do středu vodící dráhy ramene vačky tak, že *Z* je totožná s osou rotace zařízení. Osa *Y* je orientovaná ve směru pojezdu sběrače a osa *X* bude na osy *Z* a *Y* kolmá, kladný směr je vpravo ve směru pojezdu.

Pro výpočet byl použit matematický program MAPLE 11. Z důvodů zvýšení přehlednosti budou uváděny pouze nejdůležitější výstupy výpočtů – odpovědi programu MAPLE na zadávané příkazy.

Základy matematického modelu

Zavedeme funkční substitute za *z* souřadnici vedení vačky, jejich použití zvyšuje přehlednost výpočtu, protože *z* souřadnice bude složitou, po částech definovanou funkcí.

```
> restart;
> with(plots):>
DSu:=[diff(z(t),t)=Zt,diff(z(t),t,t)=Ztt,z(t)=Z];
```

$$DSu := \left[\frac{d}{dt} z(t) = Zt, \frac{d^2}{dt^2} z(t) = Ztt, z(t) = Z \right]$$

Nyní zavedeme konstrukční substitute:

- r* = délka vačky – 0,1 m
- R* = základní poloměr vodící křivkové dráhy – 0,5 m
- T* = perioda rotace – 1 s^{-1}
- L* = délka shrnovacího ramene – 1,5 m
- l* = délka shrnovacího prstu – 0,4 m
- V* = pojezdová rychlost soupravy – $10 \text{ km} \cdot \text{h}^{-1}$
- Mt* = hmotnost shrnovacího ramene – 5 kg
- Mp* = hmotnost shrnovacího prstu – 1 kg
- dp* = vzájemná rozteč shrnovacích prstů – 0,1 m
- n* = počet shrnovacích prstů - 4

```
> KSu:=[r=1/10,R=1/2,T=1,L=3/2,l=4/10,V=120/36,Mt=5,Mp=1,dp=1/10,n=4];
```

$$KSu := \left[r = \frac{1}{10}, R = \frac{1}{2}, T = 1, L = \frac{3}{2}, l = \frac{4}{10}, V = \frac{10}{3}, Mt = 5, Mp = 1, dp = \frac{1}{10}, n = 4 \right]$$

Pracovní rameno se otáčí o $\pm 45^\circ$ z neutrální polohy, proto $\alpha = 45^\circ$; ω je úhlová rychlost otáčení nosné tyče okolo vertikální osy.

```
> alpha:=Pi/4; omega:=2*Pi/T;
```

$$\alpha := \frac{\pi}{4} \qquad \omega := \frac{2\pi}{T}$$

Vertikální souřadnice vedení vačky – *z* je po částech definovaná funkce v závislosti na úhlu pootočení nosné tyče. Tento úhel je funkcí času, proto je *z* přímo definovaná jako periodická funkce času s periodou *T*.

```
> Z:=simplify(r*sin(alpha)*
piecewise(t-floor(t/T)*T<T/4,-1,
```

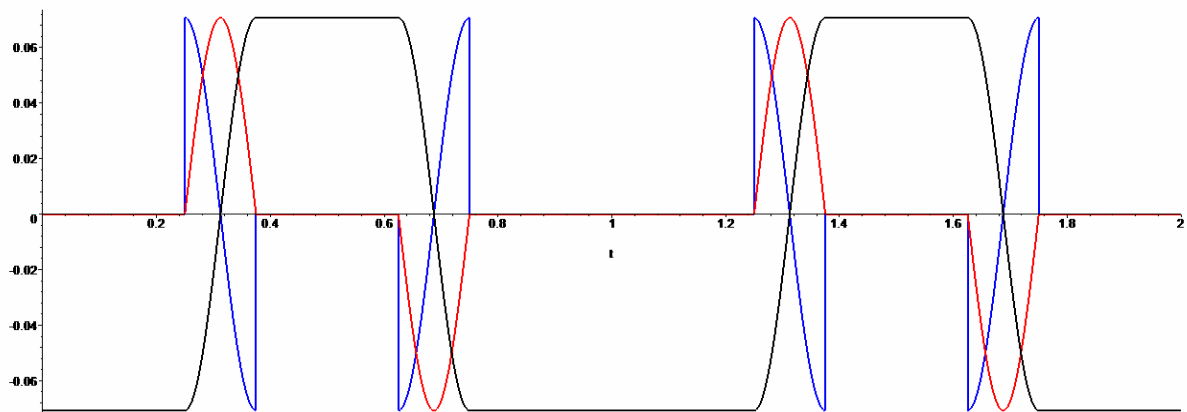
```
t-floor(t/T)*T<3*T/8,sin((t+7*T/16)*4*omega),
t-floor(t/T)*T<5/8*T,1,
t-floor(t/T)*T<3*T/4,sin((t-1*T/16)*4*omega),
t-floor(t/T)*T<T,-1));
```

```
> Zt:=simplify(diff(Z,t)): Ztt:=simplify(diff(Z,t,t)):
```

$$Z = \frac{1}{2} r \sqrt{2} \begin{cases} -1 & t - \text{floor}\left(\frac{t}{T}\right) T < \frac{T}{4} \\ \sin\left(\frac{(16t+7T)\pi}{2T}\right) & t - \text{floor}\left(\frac{t}{T}\right) T < \frac{3T}{8} \\ 1 & t - \text{floor}\left(\frac{t}{T}\right) T < \frac{5T}{8} \\ \sin\left(\frac{(16t-T)\pi}{2T}\right) & t - \text{floor}\left(\frac{t}{T}\right) T < \frac{3T}{4} \\ -1 & t - \text{floor}\left(\frac{t}{T}\right) T < T \end{cases}$$

Pro názornost je možné vykreslit průběh souřadnice z i jejích derivací podle času.

```
> plot(subs(DSu,KSu,[z(t),diff(z(t),t)/8/Pi,
diff(z(t),t,t)/64/Pi^2]),t=0..2,color=[black,red,blue],
thickness=2,numpoints=1000,
title="Prubeh suradnice z a jejich derivaci podle casu");
```



Obr. 3 Průběh souřadnice z a jejích derivací podle času

Vzhledem k tomu, že opěrné rameno tyče se musí pohybovat po kružnici o poloměru R , musí být ρ – vzdálenost vedení vačky od osy rotace proměnlivá, Tato proměnná může být využita pro výpočet x a y souřadnice vedení vačky.

```
> rho:=simplify(R+r-sqrt(r^2-z(t)^2),symbolic):
```

```
> x:=rho*cos(omega*t); y:=rho*sin(omega*t);
```

$$x := (R + r - \sqrt{r^2 - z(t)^2}) \cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right) \quad y := (R + r - \sqrt{r^2 - z(t)^2}) \sin\left(\frac{2\pi t}{T}\right)$$

Nyní je nutné vytvořit proměnnou, která bude popisovat tvar vodicí dráhy vačky a vedení ramene vačky.

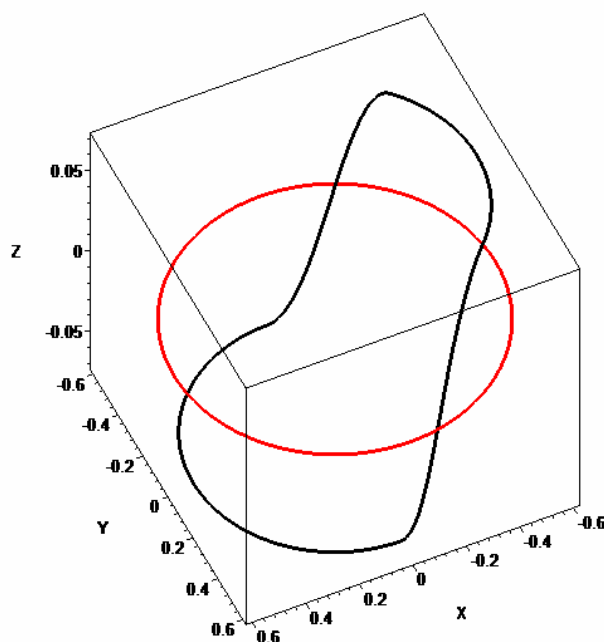
```
> Vacka:=[x,y,z(t)]:
```

```
> Vedeni:=[(R+r)*cos(omega*t),(R+r)*sin(omega*t),0];
```

$$\text{Vedeni} := \left[(R+r) \cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right), (R+r) \sin\left(\frac{2\pi t}{T}\right), 0 \right]$$

Výsledky výpočtů je pro dané konstrukční parametry možné znázornit graficky – jako prostorové křivky

```
> P1:=plots[spacecurve](subs(DSu,KSu,Vacka),
  t=0..1,color=black,thickness=3,numpoints=500):
> P2:=plots[spacecurve](subs(DSu,KSu,Vedeni),t=0..1,
  color=red,thickness=3,numpoints=500):
> plots[display]({P1,P2}, title="Trajektorie vacky a ramene",
  axes=boxed,orientation=[65,40],labels=["X","Y","Z"]);
```



Obr. 4 Trajektorie vacky a ramene: černě - prostorová křivka po níž běhá vačka, červeně - křivka po níž běží rameno vačky

Úhel stoupání vedení vačky, který je důležitým parametrem určujícím dynamické namáhání, je možné vypočítat z úhlu, který svírá tečný vektor k vedení vačky $T\mathbf{v}$ s osou Z . Pro výpočet bude nutné dále znát absolutní velikost vektoru – $AT\mathbf{v}$ a definovat jednotkový vektor ve směru osy – $V\mathbf{v}$. Úhel je přepočten na úhlové stupně a výsledek znázorněn graficky.

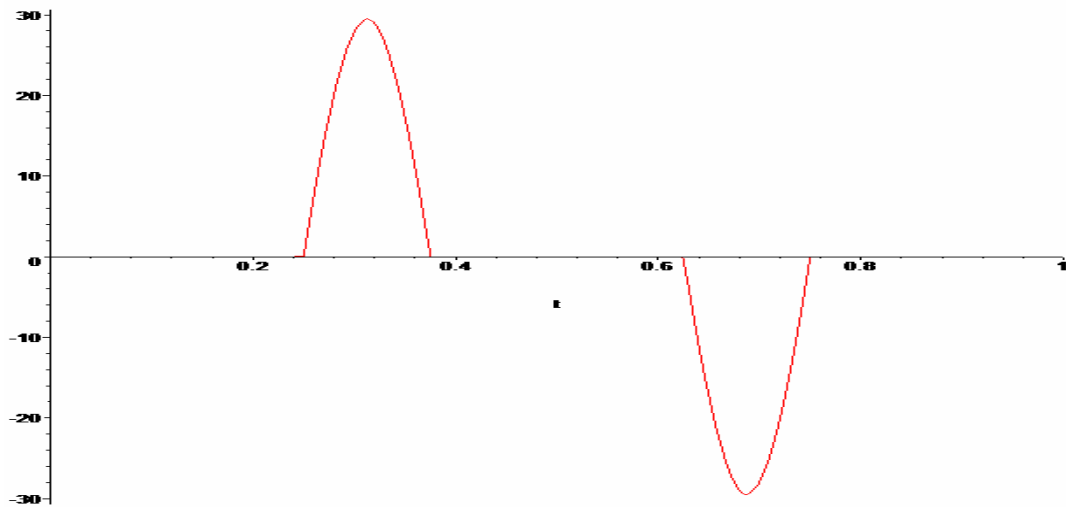
```
> Tv:=factor(diff(Vacka,t));
```

$$\begin{aligned} T\mathbf{v} := & \left[\left(z(t) \left(\frac{d}{dt} z(t) \right) \cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right) T - 2 \sin\left(\frac{2\pi t}{T}\right) \pi \sqrt{(r-z(t))(r+z(t))} R \right. \right. \\ & - 2 \sin\left(\frac{2\pi t}{T}\right) \pi \sqrt{(r-z(t))(r+z(t))} r + 2 \sin\left(\frac{2\pi t}{T}\right) \pi r^2 - 2 \sin\left(\frac{2\pi t}{T}\right) \pi z(t)^2 \Big) \\ & / \left(\sqrt{(r-z(t))(r+z(t))} T \right), - \left(-z(t) \left(\frac{d}{dt} z(t) \right) \sin\left(\frac{2\pi t}{T}\right) T \right. \\ & - 2 \cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right) \pi \sqrt{(r-z(t))(r+z(t))} R - 2 \cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right) \pi \sqrt{(r-z(t))(r+z(t))} r \\ & \left. \left. + 2 \cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right) \pi r^2 - 2 \cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right) \pi z(t)^2 \right) / \left(\sqrt{(r-z(t))(r+z(t))} T \right), \frac{d}{dt} z(t) \right] \end{aligned}$$


```

> ATv:=sqrt(sum(Tv[i]^2,i=1..3)): Vv:=[0,0,1];
> Stoupani:=convert(Pi/2-arccos(Tv[3]/ATv),degrees)/degrees:
> plot(subs(DSu,KSu,Stoupani),t=0..1,title="Uhel stoupani ve
stupnich");

```



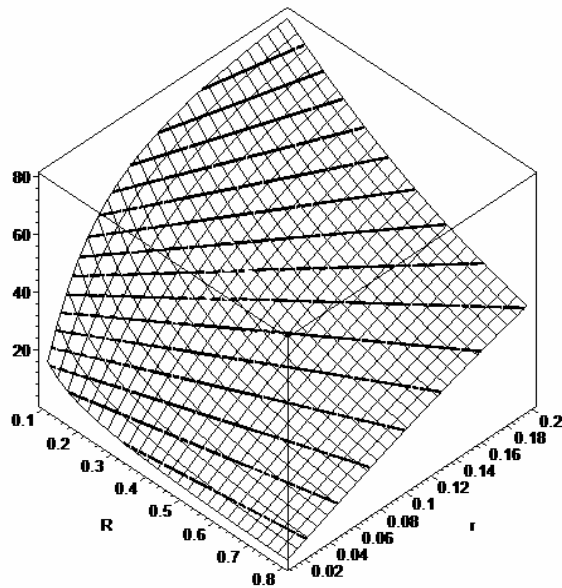
Obr. 5 Průběh úhlu stoupaní vedení vačky

Maximální stoupaní je pro $5/16$ periody, pro zajímavost je možné znázornit, jak závisí tento úhel na konstrukčních parametrech r a R . Toto zobrazení vyžaduje provedení dvou pomocných substitucí.

```

> Su2:=[z(t)='Z',alpha=Pi/4,omega=2*Pi,T=1]: Su3:=t=5/16:
> P31:=plot3d(subs(Su3,eval(subs(Su2[],Stoupani))),R=0.1..0.8,
r=0.01..0.2,color=black,style=hidden):
> P32:=contourplot3d(subs(Su3,eval(subs(Su2[],Stoupani))),
R=0.1..0.8,r=0.01..0.2,contours=5*[$1..15],color=black,
thickness=3,grid=[30,30]):
> display({P31,P32},axes=boxed,orientation=[-45,45],
title="Uhel maximalniho stoupani v zavislosti na r a R \n
Isolinie po 5 deg");

```



Obr. 6 Úhel maximálního stoupání v závislosti na délce vačky a poloměru vodící křivkové dráhy. Silnou čarou znázorněny isolinie stoupání s krokem 5 stupňů

Model kinematiky

Nejprve je nutné vytvořit proměnné *Pojezd* – vektor popisující směr pojezdu, dále proměnnou *Tyc* – udávající polohu volného konce nosného ramene a *A* – úhel pootočení nosné tyče okolo její podélné osy, tedy úhel naklonění pracovních konců prstů.

```
> Pojezd := [0, V*t, 0]; Alpha := arccos(z(t)/r) - Pi/4;
> Tyc := Vedeni + [L*sin(omega*t), -L*cos(omega*t), 0];
```

$$Pojezd := [0, Vt, 0] \quad A := \arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) - \frac{\pi}{4}$$

$$Tyc := \left[L \sin\left(\frac{2\pi t}{T}\right) + (R+r) \cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right), -L \cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right) + (R+r) \sin\left(\frac{2\pi t}{T}\right), 0 \right]$$

Nejprve se provede znázornění pracovního cyklu jedné nosné tyče se čtyřmi pracovními prsty. Tyč bude vykreslena v 18ti polohách. Proto je nutné vytvořit proměnnou *T*, která rozdělí periodu oběhu na odpovídající časové okamžiky.

```
> Nf := 18;
> Tau := subs(KSu, T) / Nf * [$0..Nf];
```

Nyní je nutné dopočítat polohy horních i dolních konců pracovních prstů, provést dosazení za obecnou funkci *z* a jejich derivací podle času a na závěr dosadit konkrétní časové hodnoty.

```
> for j from 1 to n do;
  Tyc[j] := Vedeni + [(L-dp*(j-1))*sin(omega*t),
    -(L-dp*(j-1))*cos(omega*t), 0];
  Prst[j] := Tyc[j] - [l*cos(omega*t)*cos(Alpha),
    l*sin(omega*t)*cos(Alpha), l*sin(Alpha)];
  atyc[j] := subs(DSu, KSu, [Vedeni, Tyc[j]]);
  aprst[j] := subs(DSu, KSu, [Tyc[j], Prst[j]]);
  rtyc[j] := evalf([seq(atyc[j], t=Tau)], 5);
  rprst[j] := evalf([seq(aprst[j], t=Tau)], 5);
end do;
```

Pro názornost je možné vypsát souřadnice konců 1. prstu – horní konec – Tyc_1 , dolní konec – $prst_1$

```
> 'Tyc[1]'=Tyc[1];'Prst[1]'=Prst[1];
```

$$Tyc_1 = \left[L \sin\left(\frac{2\pi t}{T}\right) + (R+r) \cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right), -L \cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right) + (R+r) \sin\left(\frac{2\pi t}{T}\right), 0 \right]$$

$$Prst_1 = \left[-l \cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right) \sin\left(\arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) + \frac{\pi}{4}\right) + L \sin\left(\frac{2\pi t}{T}\right) + (R+r) \cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right), \right. \\ \left. -l \sin\left(\frac{2\pi t}{T}\right) \sin\left(\arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) + \frac{\pi}{4}\right) - L \cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right) + (R+r) \sin\left(\frac{2\pi t}{T}\right), \right. \\ \left. l \cos\left(\arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) + \frac{\pi}{4}\right) \right]$$

Stejné operace je nutné provést i s vedením vačky a trajektorií ramene vačky a spojit vypočtené polohy prstů v jeden celek,

```
> avacka:=subs(DSu,KSu,[Vacka,Vedeni]):
```

```
> rvacka:=[seq(avacka,t=Tau)]:
```

```
> P3v:=spacecurve({rvacka[]},color=blue,thickness=3):
```

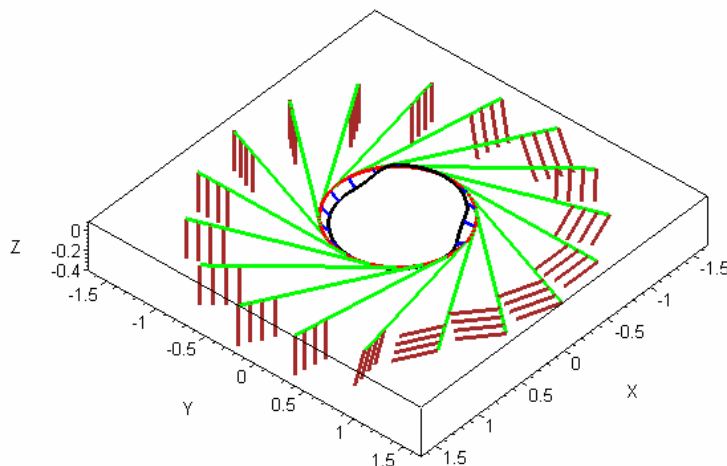
```
> P3t:=spacecurve({rtyc[1][]},color=green,thickness=3):
```

```
> P3p:=spacecurve({seq(rprst[j][],j=1..n)},color=brown,thickness=3):
```

```
> P3:=display({P3v,P3t,P3p}):
```

Na závěr je již možné vykreslit celkové oběhové schéma.

```
> display({P1,P2,P3},scaling=constrained, title="Schema pracovniho cyklu", axes=boxed,labels=["X","Y","Z"]);
```



Obr. 7 Schéma pracovního cyklu

Animace

Tvorba animace se v podstatě neliší od vytvoření oběhového schématu. Pouze je nutné vzít v úvahu pohyb celé soustavy vlivem pohybu za traktorem, který popisuje proměnná *Pojezd*. Části, které se pohybují pouze vlivem pojezdu, budou vykresleny jako statické prostorové křivky ve 100 bodech a poté se vlivem pojezdu budou posouvat vpřed bez dalších změn. Animace bude znázorňovat dva pracovní cykly složené z 240 dílčích obrázků.

```

> asnek:=subs(DSu,KSu,Vacka):
  avedeni:=subs(DSu,KSu,Vedeni):
  avacka:=subs(DSu,KSu,[Vacka+Pojezd,Vedeni+Pojezd]):
> Np:=100:
> Tau:=subs(KSu,T)/Np*[$0..Np]:
> csnek:=[evalf(seq(asnek,t=Tau))]:
> cvedeni:=[evalf(seq(avedeni,t=Tau))]:
> Tau:=subs(KSu,T)/Nf*[$0..2*Nf]:
> rpojezd:=[seq(subs(KSu,Pojezd),t=Tau)]:
> rsnek:=map(u->map(v->u+v,csnek),rpojezd):
> rvedeni:=map(u->map(v->u+v,cvedeni),rpojezd):
> rvacka:=[seq(avacka,t=Tau)]:
> for j from 1 to n do;
  atyc[j]:=subs(DSu,KSu,[Vedeni+Pojezd,Tyc[j]+Pojezd]):
  aprst[j]:=subs(DSu,KSu,[Tyc[j]+Pojezd,Prst[j]+Pojezd]):
  rtyc[j]:=evalf([seq(atyc[j],t=Tau)],5):
  rprst[j]:=evalf([seq(aprst[j],t=Tau)],5):
  tprst[j]:=subs(DSu,KSu,Prst[j]+Pojezd):
  Trprst[j]:=[evalf(seq(tprst[j],t=Tau),5)]:
  Trprst[j]:=[Trprst[j][1],Trprst[j][]]:
end do:

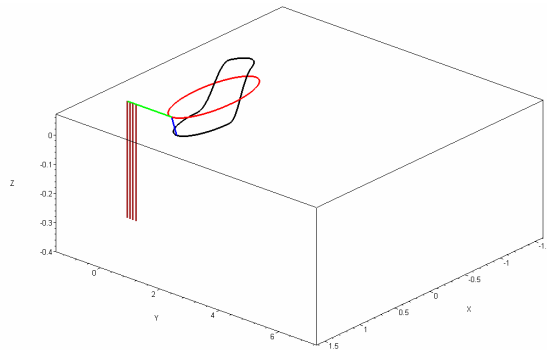
```

Nyní je možné vytvořit animaci jednotlivých konstrukčních částí, které po vykreslení pohromadě vytvoří finální animaci celého zařízení.

```

> A_vacka:=display([seq(spacecurve(G,color=blue,thickness=3),
  G=rvacka)],insequence=true):
> A_tyc:=display([seq(spacecurve(G,color=green,thickness=3),
  G=rtyc[1])],insequence=true):
> A_prst:=display([seq(spacecurve({seq(rprst[i][j],i=1..n)},
  color=brown,thickness=3),j=1..2*Nf+1)],insequence=true):
> A_snek:=display([seq(spacecurve(G,color=black,thickness=3),
  G=rsnek)],insequence=true):
> A_vedeni:=display([seq(spacecurve(G,color=red,thickness=3),
  G=rvedeni)],insequence=true):
> A_Trprst:=display([seq(spacecurve({seq(Trprst[i][1..j+1],
  i=1..n)},color=red),j=1..2*Nf+1)],insequence=true
> display({A_vacka,A_tyc,A_prst,A_snek,A_vedeni,A_Trprst},
  axes=boxed,labels=["X","Y","Z"],title="Animace cinnosti");

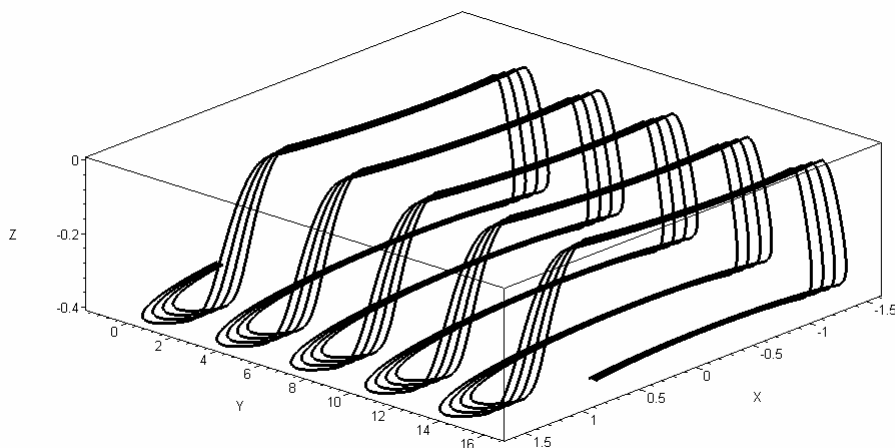
```



Obr. 8 Animace činnosti shrnovače – odkaz na externí přehrávač animací

Pro názornost je možné vykreslit prostorovou křivku znázorňující trajektorii pracovních konců všech 4 prstů v časovém intervalu 5ti period.

```
> spacecurve({seq(tprst[j],j=1..n)},t=0..5,color=black,
  thickness=3,numpoints=1000,axes=boxed,labels=["X","Y","Z"]);
```

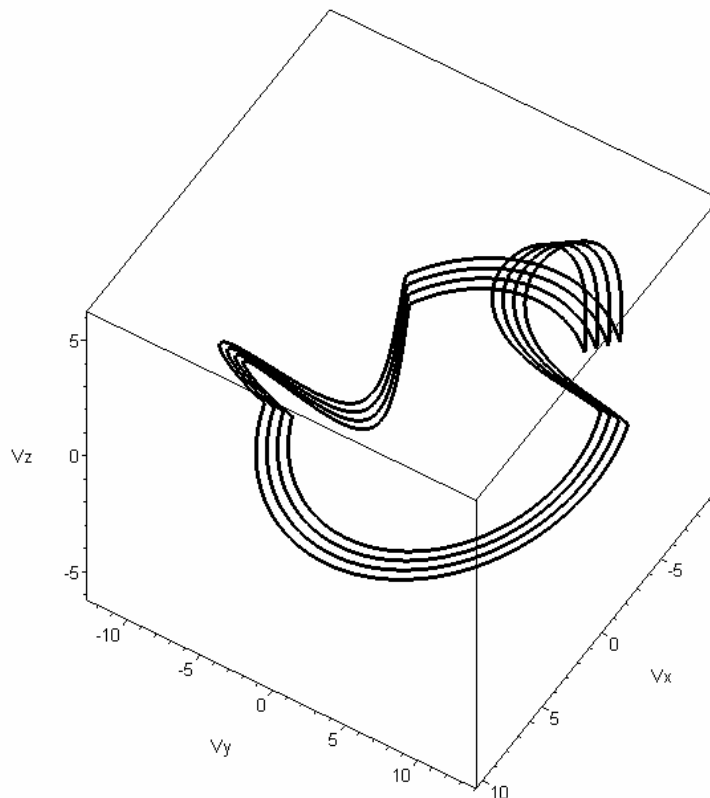


Obr.9 Trajektorie pohybu konců shrnovacích prstů

Dynamika

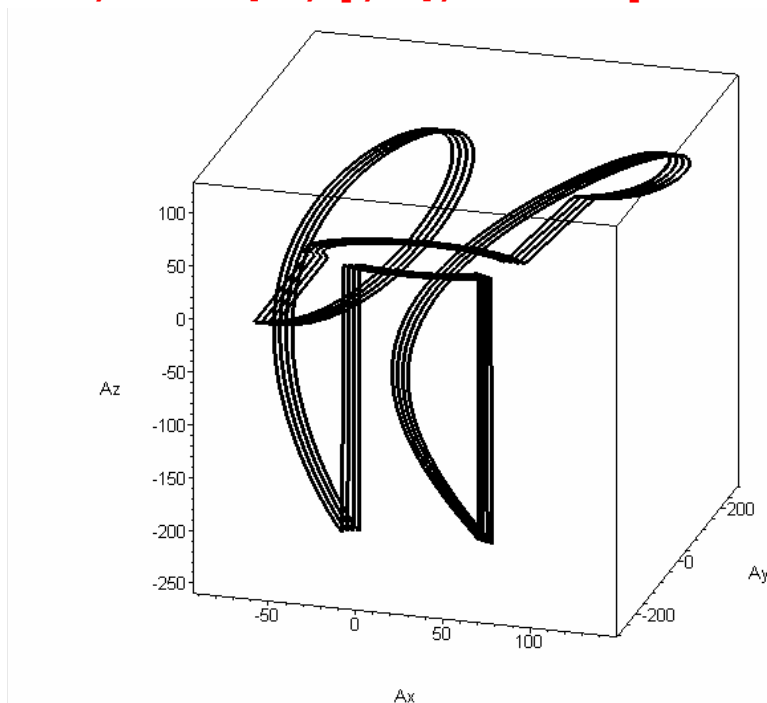
Konkrétní výpočty dynamiky je nutné provádět pro zadané konstrukční parametry a pro určité časové okamžiky. Proto bude jedna pracovní perioda rozdělena na 500 časových kroků. Nejprve se vypočtou a graficky znázorní v odpovídajících vektorových prostorech vektory rychlostí a zrychlení pracovních konců prstů.

```
> Np:=500:
Tau:=1/Np*[$0..Np]:
> for j from 1 to n do;
  V_prst[j]:=diff(Prst[j],t)+[0,V,0];
  V_Ps[j]:=subs(DSu[],KSu,V_prst[j]):
  V_P[j]:=[seq(evalf(V_Ps[j]),t=Tau)]:
  A_prst[j]:=diff(Prst[j],t,t);
  A_Ps[j]:=subs(DSu,KSu,A_prst[j]):
  A_P[j]:=[seq(evalf(A_Ps[j]),t=Tau)]:
end do:
> spacecurve({seq(V_P[j],j=1..n)},color=black,thickness=3,
  axes=boxed,labels=[Vx,Vy,Vz],title="Rychlost koncu prstu");
```



Obr. 10 Velikost rychlosti konců prstů v jednotlivých osách

```
> spacecurve({seq(A_P[j], j=1..n)}, color=black, thickness=3,
  axes=boxed, labels=[Ax, Ay, Az], title="Zrychlení koncu prstu");
```



Obr. 11 Velikost zrychlení konců prstů v jednotlivých osách

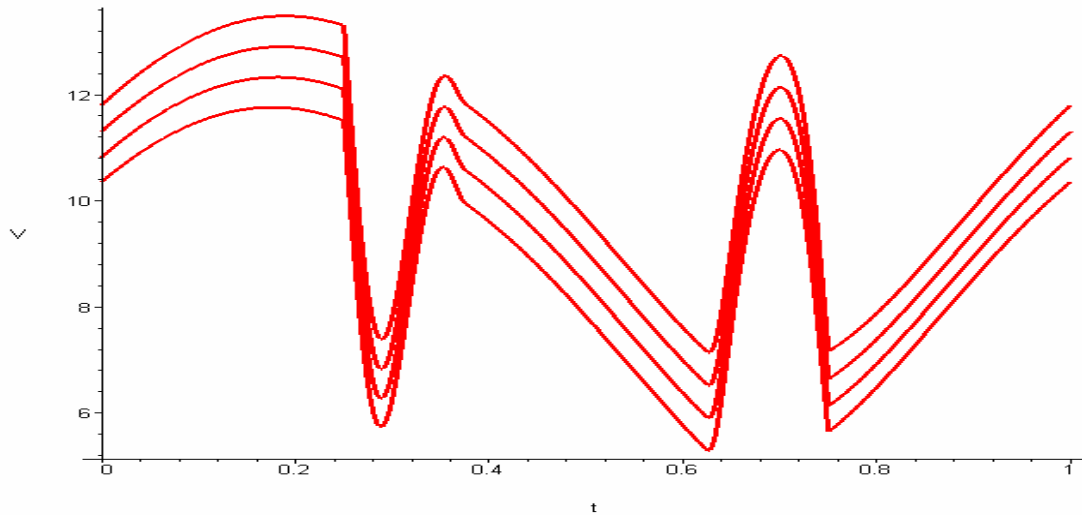
Pro názornost je zde uveden výstup programu MAPLE udávající vektor rychlosti a zrychlení 1. pracovního prstu. Z důvodů úspory místa je velikost výstupu redukována.

> 'V_prst[1]'=V_prst[1]; 'A_prst[1]'=A_prst[1];

$$\begin{aligned}
 V_{prst_1} = & \left[\frac{2 l \sin\left(\frac{2 \pi t}{T}\right) \pi \sin\left(\arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) + \frac{\pi}{4}\right)}{T} + \frac{l \cos\left(\frac{2 \pi t}{T}\right) \cos\left(\arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) + \frac{\pi}{4}\right) \left(\frac{d}{dt} z(t)\right)}{r \sqrt{1 - \frac{z(t)^2}{r^2}}} + \frac{2 L \cos\left(\frac{2 \pi t}{T}\right) \pi}{T} \right. \\
 & - \frac{2 (R+r) \sin\left(\frac{2 \pi t}{T}\right) \pi}{T}, V - \frac{2 l \cos\left(\frac{2 \pi t}{T}\right) \pi \sin\left(\arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) + \frac{\pi}{4}\right)}{T} + \frac{l \sin\left(\frac{2 \pi t}{T}\right) \cos\left(\arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) + \frac{\pi}{4}\right) \left(\frac{d}{dt} z(t)\right)}{r \sqrt{1 - \frac{z(t)^2}{r^2}}} + \frac{2 L \sin\left(\frac{2 \pi t}{T}\right) \pi}{T} \\
 & \left. + \frac{2 (R+r) \cos\left(\frac{2 \pi t}{T}\right) \pi}{T}, \frac{l \sin\left(\arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) + \frac{\pi}{4}\right) \left(\frac{d}{dt} z(t)\right)}{r \sqrt{1 - \frac{z(t)^2}{r^2}}} \right] \\
 A_{prst_1} = & \left[\frac{4 l \cos\left(\frac{2 \pi t}{T}\right) \pi^2 \sin\left(\arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) + \frac{\pi}{4}\right)}{T^2} - \frac{4 l \sin\left(\frac{2 \pi t}{T}\right) \pi \cos\left(\arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) + \frac{\pi}{4}\right) \left(\frac{d}{dt} z(t)\right)}{T r \sqrt{1 - \frac{z(t)^2}{r^2}}} \right. \\
 & + \frac{l \cos\left(\frac{2 \pi t}{T}\right) \sin\left(\arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) + \frac{\pi}{4}\right) \left(\frac{d}{dt} z(t)\right)^2}{r^2 \left(1 - \frac{z(t)^2}{r^2}\right)} + \frac{l \cos\left(\frac{2 \pi t}{T}\right) \cos\left(\arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) + \frac{\pi}{4}\right) \left(\frac{d^2}{dt^2} z(t)\right)}{r \sqrt{1 - \frac{z(t)^2}{r^2}}} \\
 & + \frac{l \cos\left(\frac{2 \pi t}{T}\right) \cos\left(\arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) + \frac{\pi}{4}\right) \left(\frac{d}{dt} z(t)\right)^2 z(t)}{r^3 \left(1 - \frac{z(t)^2}{r^2}\right)^{(3/2)}} - \frac{4 L \sin\left(\frac{2 \pi t}{T}\right) \pi^2}{T^2} - \frac{4 (R+r) \cos\left(\frac{2 \pi t}{T}\right) \pi^2}{T^2}, \frac{4 l \sin\left(\frac{2 \pi t}{T}\right) \pi^2 \sin\left(\arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) + \frac{\pi}{4}\right)}{T^2} \\
 & + \frac{4 l \cos\left(\frac{2 \pi t}{T}\right) \pi \cos\left(\arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) + \frac{\pi}{4}\right) \left(\frac{d}{dt} z(t)\right)}{T r \sqrt{1 - \frac{z(t)^2}{r^2}}} + \frac{l \sin\left(\frac{2 \pi t}{T}\right) \sin\left(\arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) + \frac{\pi}{4}\right) \left(\frac{d}{dt} z(t)\right)^2}{r^2 \left(1 - \frac{z(t)^2}{r^2}\right)} \\
 & + \frac{l \sin\left(\frac{2 \pi t}{T}\right) \cos\left(\arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) + \frac{\pi}{4}\right) \left(\frac{d^2}{dt^2} z(t)\right)}{r \sqrt{1 - \frac{z(t)^2}{r^2}}} + \frac{l \sin\left(\frac{2 \pi t}{T}\right) \cos\left(\arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) + \frac{\pi}{4}\right) \left(\frac{d}{dt} z(t)\right)^2 z(t)}{r^3 \left(1 - \frac{z(t)^2}{r^2}\right)^{(3/2)}} + \frac{4 L \cos\left(\frac{2 \pi t}{T}\right) \pi^2}{T^2} \\
 & - \frac{4 (R+r) \sin\left(\frac{2 \pi t}{T}\right) \pi^2}{T^2}, \frac{l \cos\left(\arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) + \frac{\pi}{4}\right) \left(\frac{d}{dt} z(t)\right)}{r^2 \left(1 - \frac{z(t)^2}{r^2}\right)} + \frac{l \sin\left(\arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) + \frac{\pi}{4}\right) \left(\frac{d^2}{dt^2} z(t)\right)}{r \sqrt{1 - \frac{z(t)^2}{r^2}}} + \frac{l \sin\left(\arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) + \frac{\pi}{4}\right) \left(\frac{d}{dt} z(t)\right)^2 z(t)}{r^3 \left(1 - \frac{z(t)^2}{r^2}\right)^{(3/2)}} \left. \right]
 \end{aligned}$$

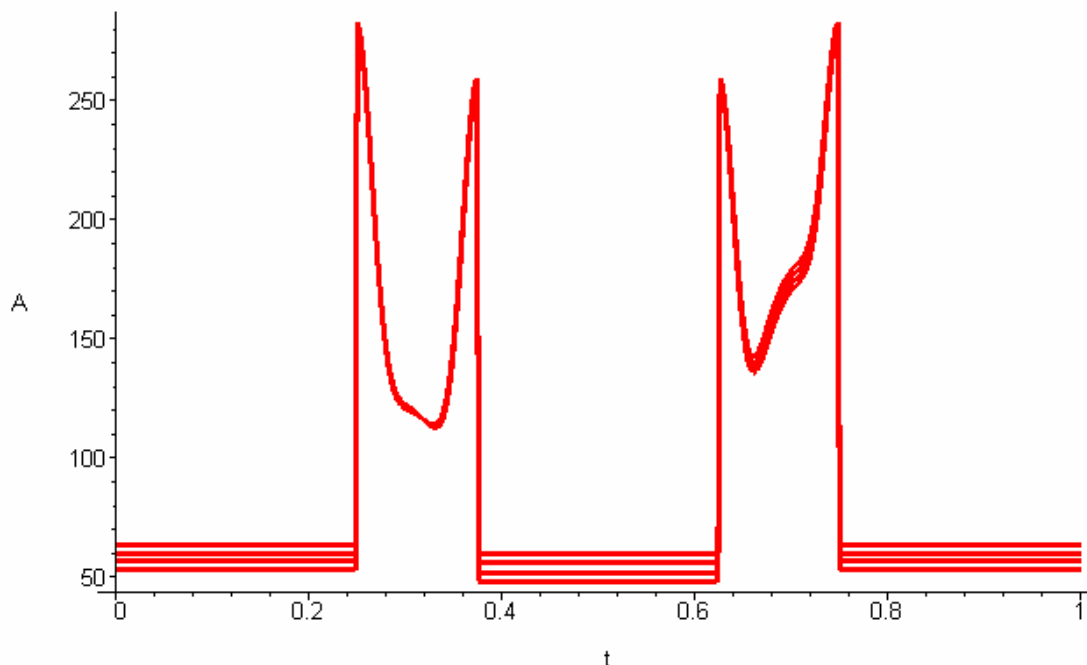
Dále je možné vykreslit závislost absolutní velikosti vektoru rychlosti a zrychlení pracovních prstů na čase.

```
> plot({seq(zip((u,v)->[u,sqrt(v[1]^2+v[2]^2+v[3]^2)],
  Tau,V_P[j]),j=1..n)},thickness=3,color=red,
  title="Absolutni velikost rychlosti koncu prstu",
  labels=["t","v"]);
```



Obr. 12 Absolutní velikost rychlosti konců prstů v průběhu jedné otáčky

```
> plot({seq(zip((u,v)->[u,sqrt(v[1]^2+v[2]^2+v[3]^2)],
  Tau,A_P[j]),j=1..n)},thickness=3,color=red,
  title="Absolutni velikost zrychleni koncu prstu",
  labels=["t","A"]);
```



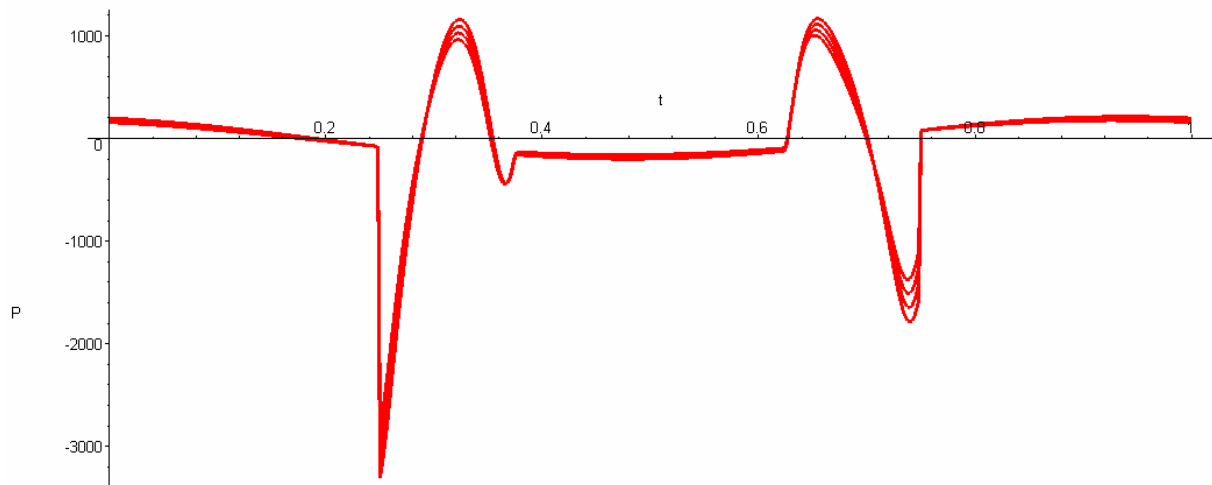
Obr. 13 Absolutní velikost zrychlení konců prstů v průběhu jedné otáčky

Výkon je možné vypočítat jako skalární součin vektorů síly a zrychlení. V tomto případě by síla závisela na hmotnosti nabraného materiálu a hmotnostech pohybujících se částí, tzn. že výkon – příkon bude přímo úměrný velikosti skalárního součinu vektorů rychlosti a zrychlení.


```

> Vykon:=[seq(zip((u,v)->u[1]*v[1]+u[2]*v[2]+u[3]*v[3],
  V_P[j],A_P[j]),j=1..n)];
> plot([seq(zip((u,v)->[u,v],Tau,Vykon[j]),j=1..n)],
  labels=["t","P"],thickness=3,color=red);

```



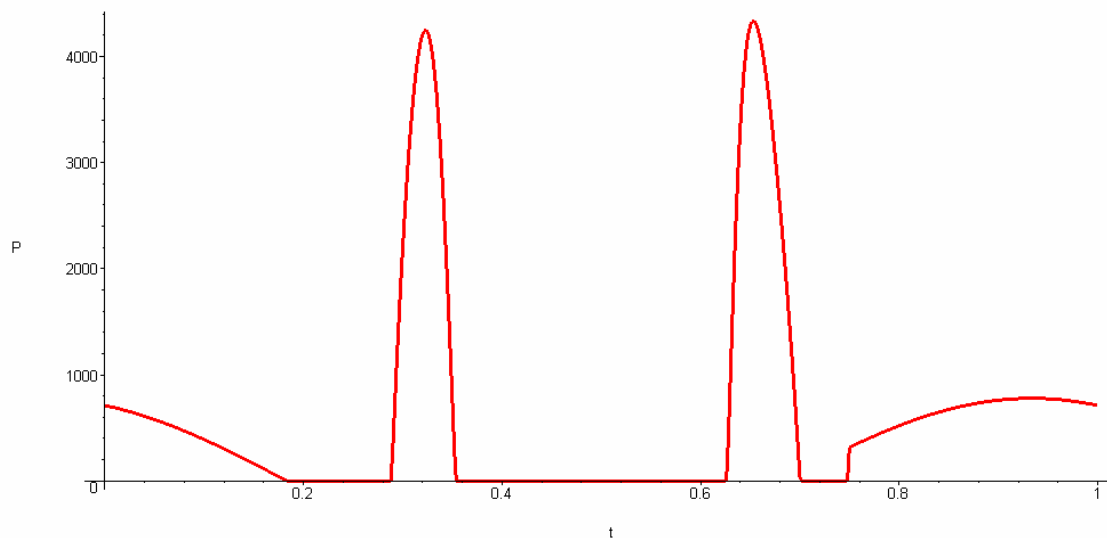
Obr. 14 Průběh velikosti potřebného příkonu k pohybu shrnovacího ramene na konci jednotlivých prstů v průběhu jedné otáčky

Vezmou se v úvahu pouze kladné hodnoty příkonu, záporné hodnoty se spotřebovávají vlivem tření. Finální graf znázorní celkový potřebný příkon na všech prstech dohromady.

```

> VYKON:=[seq(sum(Vykon[i][j],i=1..n),j=1..Np+1)];
> plot(zip((u,v)->[u,v],Tau,map(u->`if`(u<0,0,u),VYKON)),
  thickness=3,title="Celkový vykon na tyči",labels=["t","P"]);

```



Obr. 15 Pouze kladný příkon potřebný k pohonu shrnovacího ramene

Na závěr se vypočtou délky pracovních drah jednotlivých prstů, které jsou nutné pro stanovení práce třecí síly, která brání přesunu řádkovaného materiálu. Z důvodů přehlednosti je uveden zmenšený analytický výstup programu MAPLE pro 1. prst a numerické hodnoty pro všechny pracovní prsty.

```
> for j from 1 to n do;
  s[j]:=Int(((sqrt(V_prst[j][1]^2+V_prst[j][2]^2+
  V_prst[j][3]^2))),t=t1..t2);
  S[j]:=evalf(subs(DSu,KSu,floor(t)=0,t1=0,t2=1/4,s[j]))+
  evalf(subs(DSu,KSu,floor(t)=0,t1=3/4,t2=1,s[j]));
end do;

> 's[1]'=s[1];
'S[1]'=S[1]; 'S[2]'=S[2]; 'S[3]'=S[3]; 'S[4]'=S[4];
```

$$s_1 = \int_{t_1}^{t_2} \left(\frac{2l \sin\left(\frac{2\pi t}{T}\right) \pi \sin\left(\arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) + \frac{\pi}{4}\right)}{T} + \frac{l \cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right) \cos\left(\arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) + \frac{\pi}{4}\right) \left(\frac{d}{dt} z(t)\right)}{r \sqrt{1 - \frac{z(t)^2}{r^2}}} + \frac{2L \cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right) \pi}{T} \right. \\ \left. - \frac{2(R+r) \sin\left(\frac{2\pi t}{T}\right) \pi}{T} \right)^2 + \left(v - \frac{2l \cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right) \pi \sin\left(\arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) + \frac{\pi}{4}\right)}{T} + \frac{l \sin\left(\frac{2\pi t}{T}\right) \cos\left(\arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) + \frac{\pi}{4}\right) \left(\frac{d}{dt} z(t)\right)}{r \sqrt{1 - \frac{z(t)^2}{r^2}}} + \frac{2L \sin\left(\frac{2\pi t}{T}\right) \pi}{T} \right. \\ \left. + \frac{2(R+r) \cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right) \pi}{T} \right)^2 + \frac{l^2 \sin^2\left(\arccos\left(\frac{z(t)}{r}\right) + \frac{\pi}{4}\right) \left(\frac{d}{dt} z(t)\right)^2}{r^2 \left(1 - \frac{z(t)^2}{r^2}\right)} dt^{(12)}$$

$$S_1 = 5.606154700 \quad S_2 = 5.347896084 \quad S_3 = 5.096462525 \quad S_4 = 4.853020686$$

VÝSLEDKY A DISKUZE

Popisovaný výpočet matematického modelu shrnovače píce Fella TS 1602 není rozsáhlý, je poměrně jednoduchý, ale přesto umožňuje zjistit základní dynamické parametry.

Jak je možné zjistit z obrázku 12 - Absolutní velikost rychlosti konců prstů v průběhu jedné otáčky – tak rychlost shrnovacích prstů se dost výrazně mění. Nejsou zde sice vidět ostré hroty skokových změn, ovšem zde znázorněný průběh velikosti rychlosti se jim velmi blíží. Z tohoto průběhu je možné odvodit, že nosník shrnovacích prstů - shrnovací tyč bude namáhána na krut a díky tomu, že celý shrnovací rotor se při práci otáčí a nahrnuje materiál, bude toto namáhání kombinováno s ohybem.

Z obrázku 13 - Absolutní velikost zrychlení konců prstů v průběhu jedné otáčky je možné vypořadovat skokové změny velikosti zrychlení konců prstů. Takto velké skokové

změny velikosti zrychlení – $<200 \text{ ms}^{-2} \sim 20g$ kladou extrémní nároky na uchycení odnímatelných shrnovacích ramen k vlastnímu rotoru.

Z těchto výsledků je možné odvodit, že nejnamáhanějšími částmi bude spojení odnímatelných shrnovacích ramen s vlastním rotorem, nebo uchycení vedení řídicí vačky. Odpovídají tomu i zkušenosti získané provozem shrnovače píce Fella TS 1602 v zemědělských podnicích. Z nejčastějších poruch vyplývá, že konstrukce stroje je v klíčových místech, jako je uchycení snímatelných ramen k vlastnímu rotoru nebo uložení vedení řídicí vačky, velmi poddimenzována. Při provozu dochází k praskání hliníkového odlitku vedení řídicí vačky, zlomení uchycení snímatelných ramen nebo k protahování a vytloukání zajišťovacího otvoru a protilehlého třmenu.

Předložený výpočet nám umožňuje zjistit a upozornit na slabá konstrukční místa tohoto stroje, zároveň jej lze použít pro konstrukční výpočty potřebných úprav.

ZÁVĚR

Výše uvedený postup umožňuje provést všechny výpočty potřebné ke stanovení jak kinematických, tak dynamických charakteristik základních pracovních částí stroje. Z důvodů úspory místa a zvýšení přehlednosti nebyly uvedeny všechny výstupy programu. Nicméně je zcela zřejmé, že použitím uvedených postupů je možné výrazně zefektivnit vývojové a konstrukční práce spojené s projektováním nových typů zemědělských mechanismů.

LITERATURA

ŠMÍD, V. *Žací stroje s úpravou pokosu*. Brno : MZLU Brno, 2007. Vedoucí diplomové práce doc. Ing. Jan Červinka, CSc.

HAKL, Z. Matematické modelování biologických a technologických procesů v zemědělství. Disertační práce. MZLU: MZLU Brno, 2005. 95 s.

BARTOŇ, S. *The Kinematics of Agricultural Machines*.

<http://www.mapleapps.com/categories/engineering/mechanical/html/agriculture.html>

JAVOREK, F. Technika pro senážování, In. *Zemědělec*, březen 2008, č. 11, s. 24 – 30

ČERVINKA, J. *Stroje pro sklizeň píce na seno*. 2. upravené vyd. Praha : ÚZPI, 2002. ISBN 80-7105-054-7

MAPLESOFT. *Maple10 – User Manual*. Waterloo Maple, 2005, ISBN 1-894511-75-1

Propagační materiály firmy FELLA

CORROSION OF AUSTENITIC STEELS

KOROZE AUSTENITICKÝCH OCELÍ

Šoch Z., Černý M., Fajman M.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xsoch@node.mendelu.cz, michalc@mendelu.cz

ABSTRACT

The article is engaged in corroding process of stainless steel which are applied to processing industry. Work of basic research was engaged in milk contamination hazard in pasteurization column. During this problem solving was found out the pipeline degradation which exhaust or brings the milk to pasteurization column. Running down of corrosive products was found in locations which are not only forming deformed but also is occurred here the welds. Deformation passage and thermal cycles represent activation of sensitization stainless steel. Next unknown is activity of wash out and disinfection means which are used for antibacterial treatment of internal pasteurization column quarter.

Key words: corrosion, austenitic steel, food industry

Acknowledgments:

This study was supported by the Research plan No. MSM6215648905 “Biological and technological aspects of sustainability of controlled ecosystems and their adaptability to climate change“, which is financed by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

ÚVOD

Korozivzdorné oceli austenitického charakteru tvoří rozsáhlou skupinu materiálů, jejichž potřebný výběr a dostatečné množství jsou důležitými podmínkami rozvoje průmyslu farmaceutického, potravinářského, chemického a dalších průmyslových odvětví. Jejich široké použití je však omezeno např. cenou (cca 6 až 12 x dražší než konstrukční oceli tř.11).

Zásluhou vývoje některých vědních oborů (řádovací elektronová mikroskopie) se podařilo podrobněji vysvětlit mnohé příčiny mezikrystalové koroze a byly položeny teoretické základy ke studiu, zkoušení a odstraňování tohoto významného škodlivého jevu. Širší rozvinutí poznatků o pasivitě, transpasivitě a legování, stejně tak jako o struktuře korozivzdorných ocelí a slitin je neobyčejně důležité nejen pro pochopení mechanismu tohoto druhu koroze, ale i hledání cest, jak ji zabránit, nebo alespoň kontrolovat /1/.

Korozní prostředí ve zpracovatelském průmyslu

Látky způsobující různé druhy korozního napadení můžeme ve zpracovatelském průmyslu rozdělit do dvou základních skupin.

Do první skupiny můžeme zařadit potraviny (např. cukr, sirupy, kečup apod.) a látky, které jsou součástí potravin tzn. především organické kyseliny (citrónová, mléčná, olejová, vinná apod.).

Druhou skupinu tvoří čisticí a dezinfekční prostředky. Ty se dělí na kyselé (HCl, H₂SO₄, HNO₃,) a alkalické (NaOH.....) roztoky. Přesto, že této skupině látek bývají materiály vystaveny po daleko kratší časy než jsou vystaveny působení potravin a organických kyselin, procesy čištění bývají z hlediska korozního působení mnohem nebezpečnější. Z tohoto důvodu je nutné brát při navrhování materiálů ohled především na agresivní látky, jejichž působení na různé druhy ocelí je zpracováno v tabulkách korozní odolnosti /2/.

Oblast mlékárenství

Používané materiály v soustavě mléčného potrubí jsou korozivzdorná ocel, akrylové sklo a guma. Při desinfekci se používá alkalický desinfekční roztok 1,5% NaOH + 1,5% HNO₃ + 2 % fosforečnanu sodného nebo draselného (NaPO₃, KPO₃) + 0,5 % roztok HNO₃ + tenzidy + peroxid vodíku (H₂O₂) při teplotě 85 – 105° C.

Používané korozivzdorné oceli

Nejčastěji používané typy ocelí v mlékárenském průmyslu, zvláště vhodné pro mléčné tanky, jsou 17 240 a 17 346.

Tyto se ukázaly po korozních zkouškách /1/ jako nejodolnější proti působení mléka a mléčných výrobků, ve kterých je hlavním korozním činitelem poměrně vysoký obsah Cl. Značné nebezpečí představuje biologická koroze v dojárnách. Dochází zde k silnému napadení nedostatečně chráněných ocelí anaerobními bakteriemi.

MATERIÁL A METODIKA

Pro experiment byla zvolena ocel 17 240, která se běžně používá ve zpracovatelském průmyslu. Byl použit plech o síle 1 mm. Ten se následně rozstříhal na tři části. První část byla ponechána bez dalších úprav a rozstříhána na vzorky o obdélníkovém tvaru (200 x 20 x 1mm).

Na druhé části byl vytvořen návar elektrickým obloukem. Kolem svaru by mělo dojít ke změnám struktury na hranicích zrn z důvodu tepelného cyklu. Poté byl vzorek opět rozstříhán na vzorky o obdélníkovém tvaru.

Na poslední – třetí části se provedla kritická deformace. Zde by se také mělo projevit zcitlivění materiálu. Deformované vzorky pro tahovou zkoušku byly opět vyrovnány.

Použité čisticí a desinfekční prostředky

Přípravek 1: NaOH – 1,5 %ní roztok. Vzorky v roztoku byly zahřívány na elektrickém vařiči na teplotu 105 °C. Doba působení byla 60 minut.

Přípravek 2: HNO₃ – 1,5 %ní roztok. Zahřátí na teplotu 95 °C s dobou výdrže 60 minut

Přípravek 3: 2 %ní roztok na bázi fosforečnanu sodného a draselného – zahřátí na teplotu 95 °C s dobou výdrže 60 minut

Přípravek 4: 0,3 %ní roztok hydroxidu sodného nebo draselného - zahřátí na teplotu 95 °C s dobou výdrže 50 minut

Přípravek 5: 0,5 %ní roztok HNO₃ + tenzidy + peroxid vodíku (H₂O₂). Zahřátí na teplotu 60 °C s dobou výdrže 50 minut

Působení čisticích prostředků

Odmaštěné a čisté vzorky byly dvakrát týdně vystaveny působení čisticích prostředků.

Přípravek 1 - vzorky v roztoku byly zahřívány na elektrickém vařiči na teplotu 105 °C. Doba působení byla 60 minut.

Přípravek 2 - zahřátí na teplotu 95 °C s dobou výdrže 60 minut

Přípravek 3 - zahřátí na teplotu 95 °C s dobou výdrže 60 minut

Přípravek 4 - zahřátí na teplotu 95 °C s dobou výdrže 50 minut

Přípravek 5 - Zahřátí na teplotu 60 °C s dobou výdrže 50 minut

Poté následoval oplach v teplé destilované vodě po dobu deseti minut a ve studené destilované vodě po dobu tří minut. Po oplachu byly vzorky vloženy do kádinek, kde byly ponořeny do 7 procentního roztoku kyseliny mléčné a 0,5 procentního roztoku NaCl (aproximace mléka) při teplotě asi 40 °C.

Metalografický rozbor

Rozbor byl prováděn na vzorcích z posledního odběru, tj. po dvanácti měsících cyklického působení pěti druhů desinfekčních roztoků a speciálních antibakteriálních látek.

Odběr byl proveden na korundové pile (MTH) při vydatném chlazení. Odebrané fragmenty byly pod tlakem zalisovány do plastické hmoty RESIN 5 firmy STRUERS a poté mechanicko – chemickým způsobem odbroušeny a odleštěny. Tento způsob byl zvolen z důvodu uchování trhlin, dutin apod., které by při mechanickém nebo elektrochemickém pochodu mohly zaniknout, respektive vytvořit artefakty. Korozní poškození bylo vyhledáno ve vyleštěném stavu a až poté byla chemicky vyvolána struktura.

Změna mechanických vlastností

Patří mezi základní zkoušky při vyhodnocování mezikrystalické koroze. V našem případě pro zkoušky jednoosým tahem byla určena sada vzorků ve tvaru pásu o rozměrech dle ČSN 420321. Vzorky obsahovaly skupinu hladkých plechů, plechy s centrálním ohybem opět narovnané a s návarem umístěným uprostřed délky kolmo k ose vzorku. Vzorky byly odzkoušeny po upnutí do samosvorných čelistí na stroji ZWICK 1005 (50 kN). Deformace byla snímána třmenovým snímačem deformace s břity firmy MTS.

Vybrané rozstříhané vzorky byly dále podrobeny fraktografickému pozorování.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Vizuální vyhodnocení

Vizuální vyhodnocení bylo prováděno srovnávací metodou. Po každém odběru byly vzorky roztříděny podle čistícího prostředku. Následovalo roztřídění podle druhu vzorku (hladký, svařovaný, deformovaný) a srovnání s etalonem (Tab A, B, C).

Z tabulek je zřejmé, že u všech prostředků nebyla pozorována žádná změna první tři měsíce. Výjimkou je pouze NaOH, kde se již ve třetím měsíci začal objevovat matný povrch.

Z hlediska korozního napadení se jeví jako nejagresivnější přípravky označeny číslem 1 a 5.

Odběr	Přípravek 1	Přípravek 2	Přípravek 3	Přípravek 4	Přípravek 5
1	bezezměn	bezezměn	bezezměn	bezezměn	bezezměn
2	bezezměn	bezezměn	bezezměn	bezezměn	bezezměn
3	matný povrch	bezezměn	bezezměn	bezezměn	bezezměn
4	matný povrch	bezezměn	matný povrch	bezezměn	bezezměn
5	matný povrch	matný povrch	matný povrch	slabý zákal	slabá duha
6	slabý zákal	matný povrch	matný povrch	slabý zákal	slabá duha
7	slabý zákal	matný povrch	lehce křídový	slabý zákal	slabá duha
8	slabý zákal	slabý zákal	lehce křídový	duhový povrch	slabá duha
9	střední zákal	slabý zákal	lehce křídový	duhový povrch	slabá duha
10	střední zákal	střední zákal	lehce křídový	duhový povrch	stopy koroze
11	silný zákal	střední zákal	křídový povrch	duhový povrch	stopy koroze
12	silný zákal	střední zákal	křídový povrch	duha + křída	stopy koroze

Tab A: Hladký vzorek

Odběr	Přípravek 1	Přípravek 2	Přípravek 3	Přípravek 4	Přípravek 5
1	bezezměn	bezezměn	bezezměn	bezezměn	bezezměn
2	kolem svaru matný povrch	bezezměn	bezezměn	bezezměn	bezezměn
3	matný povrch	bezezměn	bezezměn	bezezměn	bezezměn
4	matný povrch	kolem svaru matný povrch	matný povrch	bezezměn	bezezměn
5	matný povrch	matný povrch	matný povrch	slabý zákal	slabá duha
6	slabý zákal, na svaru tmavý povrch	matný povrch	matný povrch, svar tmavší	slabý zákal	slabá duha, tmavý svar
7	slabý zákal, na svaru tmavý povrch	matný povrch	lehce křídový, svar tmavší	slabý zákal	slabá duha, tmavý svar
8	slabý zákal, na svaru tmavý povrch	slabý zákal	lehce křídový, svar tmavší	duhový povrch	slabá duha, na svaru stopy koroze
9	skřední zákal, na svaru stopy koroze	slabý zákal	lehce křídový, svar tmavší	duhový povrch, tmavý svar	slabá duha, na svaru stopy koroze
10	skřední zákal, na svaru stopy koroze	střední zákal, kolem svaru matný povrch	lehce křídový, svar tmavší	duhový povrch, tmavý svar	stopy koroze na povrchu i svaru
11	silný zákal, na svaru stopy koroze	střední zákal, kolem svaru matný povrch	křídový povrch, černý svar	duhový povrch, tmavý svar	stopy koroze na povrchu i svaru
12	silný zákal, na svaru stopy koroze	střední zákal, kolem svaru matný povrch	křídový povrch, černý svar	duha + křída, svar tmavý	stopy koroze na povrchu i svaru

Tab B: Vzorek s návarem

Odběr	Přípravek 1	Přípravek 2	Přípravek 3	Přípravek 4	Přípravek 5
1	bezezměn	bezezměn	bezezměn	bezezměn	bezezměn
2	bezezměn	bezezměn	bezezměn	bezezměn	bezezměn
3	matný povrch	bezezměn	bezezměn	bezezměn	bezezměn
4	matný povrch	bezezměn	matný povrch	bezezměn	bezezměn
5	matný povrch	matný povrch	matný povrch	slabý zákal	slabá duha
6	slabý zákal, v místě ohybu tmavý povrch	matný povrch	matný povrch	slabý zákal	slabá duha, na ohybu stopy koroze
7	slabý zákal, v místě ohybu tmavý povrch	matný povrch	lehce křídový, ohyb tmavší	slabý zákal	slabá duha, na ohybu stopy koroze
8	slabý zákal, v místě ohybu tmavý povrch	slabý zákal	lehce křídový, ohyb tmavší	duhový povrch	slabá duha, na ohybu stopy koroze
9	střední zákal, v místě ohybu tmavý povrch	slabý zákal, v místě ohybu slabý zákal	lehce křídový, ohyb tmavší	duhový povrch, tmavý ohyb	slabá duha, na ohybu stopy koroze
10	střední zákal, v místě ohybu tmavý povrch	střední zákal, v místě ohybu slabý zákal	lehce křídový, ohyb tmavě hnědý	duhový povrch, tmavý ohyb	stopy koroze na povrchu i kolem ohybu
11	silný zákal, v místě ohybu stopy koroze	střední zákal, v místě ohybu slabý zákal	křídový povrch, ohyb tmavě hnědý	duhový povrch, kolem ohybu tmavý povrch	stopy koroze na povrchu i kolem ohybu
12	silný zákal, v místě ohybu stopy koroze	střední zákal, v místě ohybu slabý zákal	křídový povrch, ohyb tmavě hnědý	duha + křída, kolem ohybu tmavý povrch	stopy koroze na povrchu i kolem ohybu

Tab C: Deformovaný vzorek

Metalografické vyhodnocení

Metalografické snímky (pořízené při zvětšení 50, 100, 200 a 500 krát) dokumentují přítomnost a rozsah mezikrystalového napadení. Vybrané snímky pro jednotlivá prostředí jsou seřazené stejně, jak u vizuálního vyhodnocení.

Přípravek 1 – povrch vzorku vedle svaru (tepelně ovlivněná oblast) je napaden plošně.

Snímek (obr. 1) ukazuje zřetelný reliéf již při zvětšení 100x.

Zviditelnění struktury dokazuje mezikrystalové napadení pod povrchem (obr. 2)

V deformačně zpevněném vzorku (obr. 7) je vidět postup koroze, v oblasti tlakové deformace, po hranici zdeformovaných zrn.

U nezcitlivěných vzorků (hladkých – bez deformace, resp. svaru) je reliéf málo výrazný i při zvětšení 500x (obr. 4).

Přípravek 2 – vzorek se svarem vykazuje nepatrný reliéf. Je zde mírný nárůst karbidických částic, a to přednostně na hranicích zrn.

Při deformaci dochází k jasnému pohybu hranic, jsou – li tyto hranice ochuzeny o Cr, nastává rozvoj mezikrystalové koroze (obr. 8). Hladký vzorek

korozí nevykazoval.

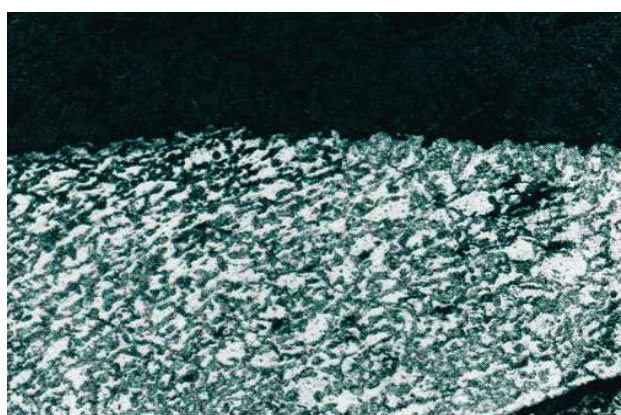
Přípravek 3 – průnik mezikrystalové koroze v tepelně ovlivněné oblasti je sporadický (obr. 6). Ojedinelý nález koroze je i v okraji deformované oblasti. Rozmístění karbidů a jejich velikost je spíše materiálovou vadou (válcováním) (obr. 3).

Přípravek 4 – snímek zvětšený 500x vykazuje růst karbidů vlivem dobrých difusních podmínek po svařování (obr. 5). Vliv přípravku 4 jako korozního média se neprojevuje. Jen nepatrné stopy korozního napadení jsou v trhlině po deformaci – tahová deformace.

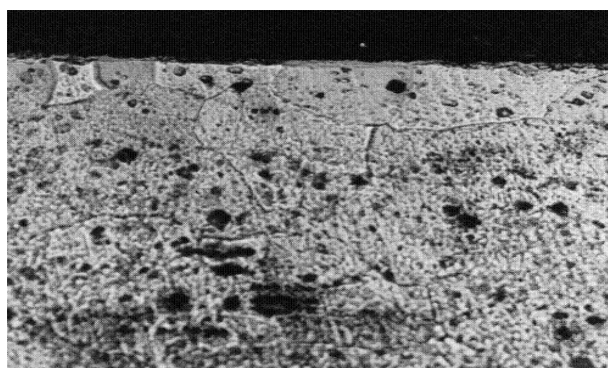
Přípravek 5 – je nejagresivnější korozní prostředí. Zcela zjevné je rozsáhlé korozní napadení v tepelně ovlivněné oblasti (obr. 9) i v oblasti kritických deformací (obr. 10).



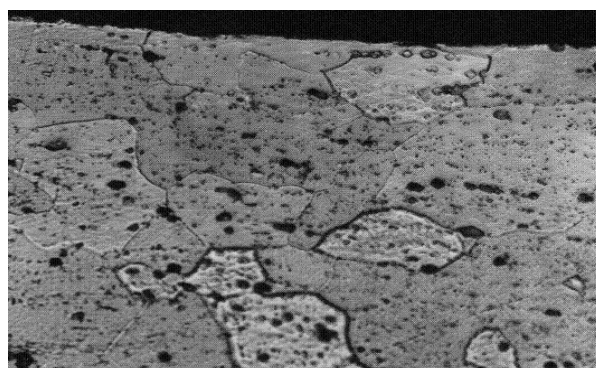
Obr. 1 Povrch navařeného vzorku (100 x Zvětšeno)



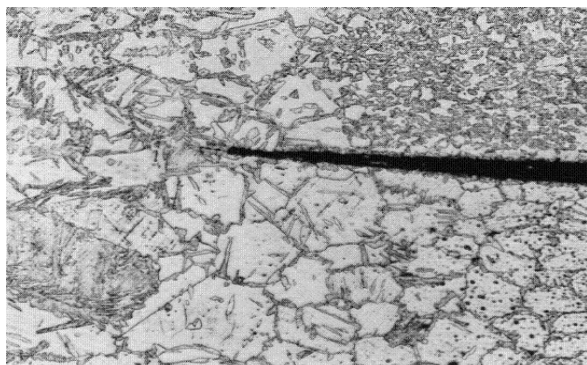
Obr. 2 Mezikrystalické napadení pod povrchem



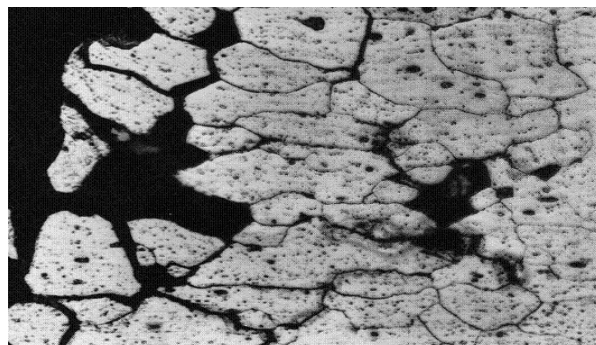
Obr.3 Mikrostruktura po expozici přípravkem 4



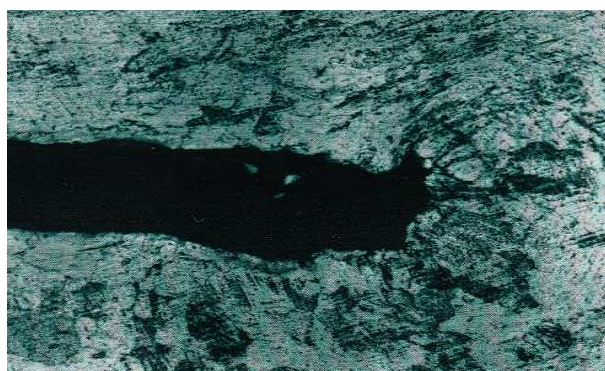
Obr. 4 Mikrostruktura vzorku zvětšeno 500 x



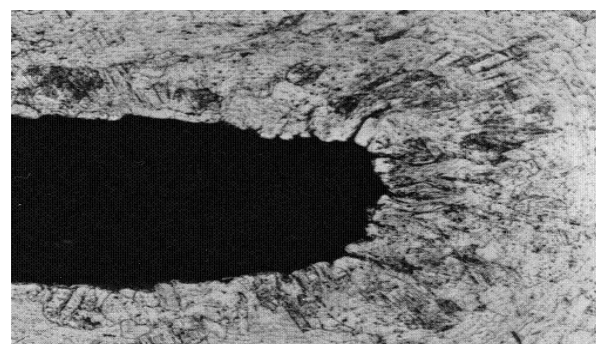
Obr. 5 Čelo trhliny s rozvojem mezikr. koroze



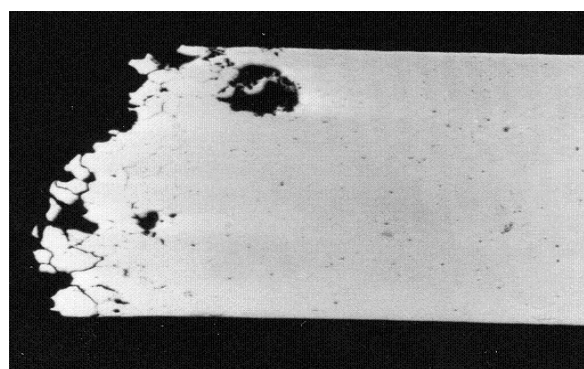
Obr. 6 Mezikrystalická koroze v TOO



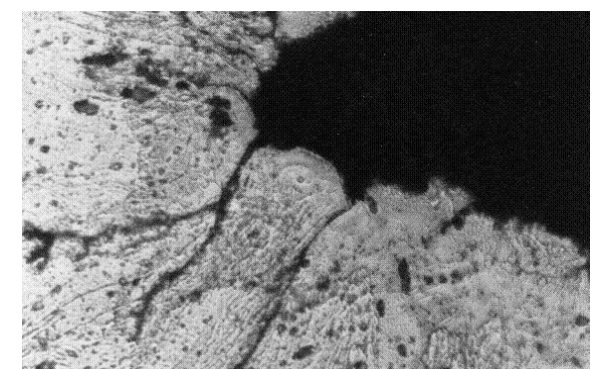
Obr. 7 Nadkritická deformace



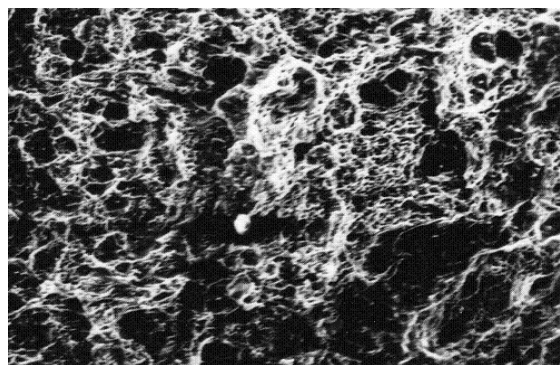
Obr. 8 Rozvoj mezikrystalické koroze



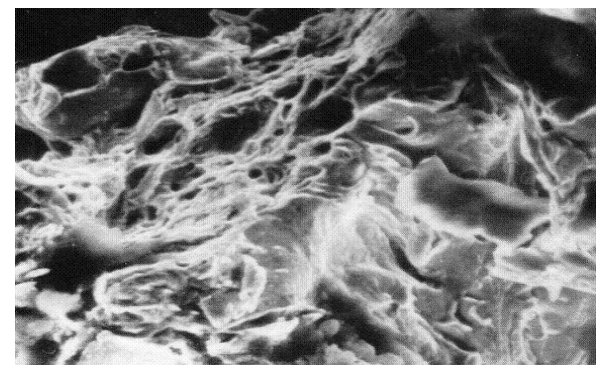
Obr. 9 TOO – přípravek 5



Obr.10 Oblast kritických deformací –přípravek 5



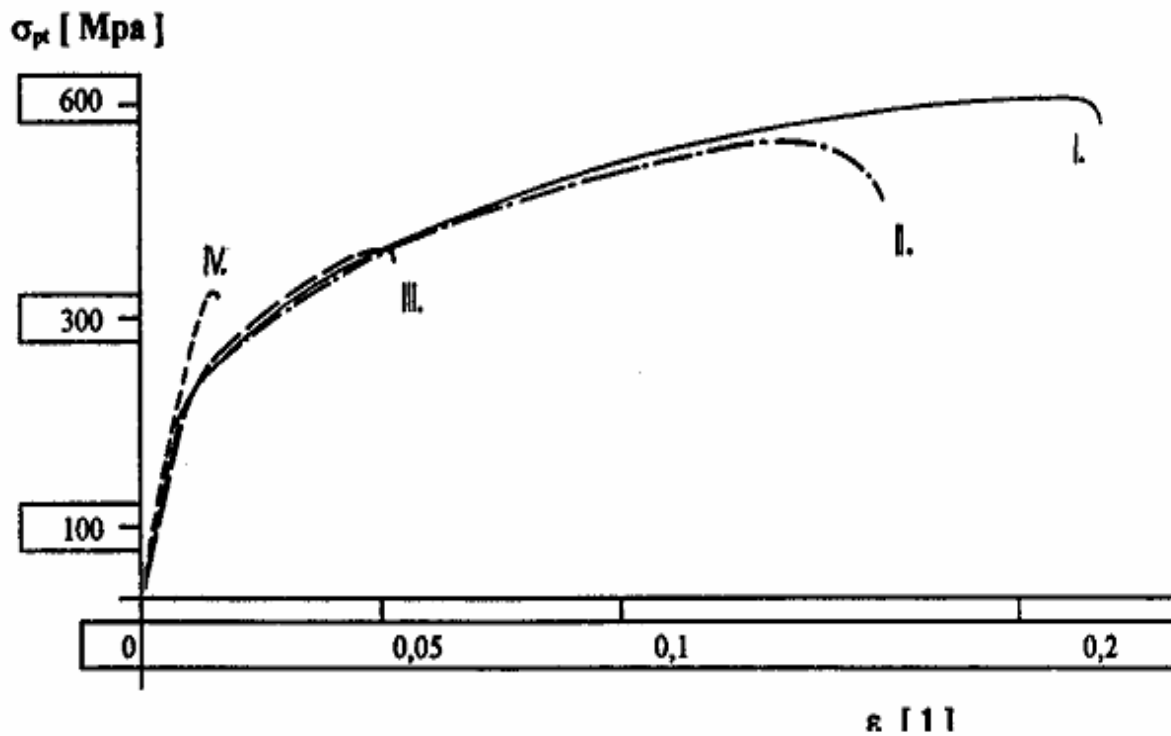
Obr.11 Lomová plocha s korozními zplodinami



Obr.12 Lomová plocha v REM

Fraktografické vyhodnocení

Před vložení do řádkovacího elektronového mikroskopu je velmi pozoruhodné chování vzorků při tahové zkoušce (obr 13). Z diagramu, který byl pořízen na zapisovači tahového stroje jsou překresleny závislosti $\sigma - \epsilon$ pro nejkritičtější (nejmarkantněji se lišící) vzorky umístěné u přípravku 5. Velmi tvárný etalon (křivka I.) kontrastuje s poklesem tažnosti jak hladkého pásu (II.), tak vzorku s kritickým stupněm deformace (III.), ale hlavně se vzorkem, který byl opatřen příčným návarem (IV.). Tento vzorek má minimální plasticitu, chová se „pseudokřehce“. Pevnost vzorku poklesla o 217 MPa. Odpověď na toto chování dává fraktografické pozorování lomové plochy, která na ploše tvárné morfologie vykazuje výrazné pleny korozních zplodin (obr. 11, 12).



Obr.13 Tahový diagram oceli třídy 17 240

ZÁVĚR

Z uvedených výsledků je zřejmé, že všechny výplachové – čistící roztoky se chovají k oceli 17 240 agresivně. Podle rozsahu exploatace je jednoznačně nejagresivnější přípravek 5 (důvod agresivnosti lze spatřovat v obsahu peroxidu vodíku), potom přípravek 1, kde se jedná patrně o spolupůsobení několika korozních dějů (i vliv OH skupiny). Přípravek 3 a kyselina dusičná jsou z hlediska korozního poškození ocelí 17 240 hodnoceny na stejné úrovni.

Nejodolněji se chovala austenitická ocel v desinfekčním roztoku přípravku 4.

LITERATURA

Číhal, V. Korozivzdorné oceli a slitiny. Díl II, část 1. Skriptum VŠB FMMI Ostrava, 1992.

CAB ABSTRACTS 1987 – 1/1999. AGRIS 1986 – 11/1989. Food Science and Technology Abstracts 1970 – 12/1998: Preserving the quality of stainless steel. Protecting stainless steel dairy equipment from corrosion.

Priessnitz, V. Diplomová práce: Volba korozivzdorného materiálu ve zpracovatelském průmyslu. MZLU Brno, 1995.

Číhal, V. Mezikrystalové koroze, nožová – incisive. Ve sborníku: Problémy protikorozní ochrany. VŠB FMMI Ostrava, 1994, p. 115.

ESTIMATION SEASONAL EFFICIENCY PICKING THRESHING - MACHINES AND ECONOMY RUNNIG

ZHODNOCENÍ SEZÓNŇÍ VÝKONNOSTI SKLÍZECÍCH MLÁTIČEK A EKONOMIKA PROVOZU

Švec M.

Department of Agriculture, Food and Environmental Engineering, Faculty of Agronomy, Mendel
University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: svecmiro@seznam.cz

ABSTRACT

The parameters of the harvesters were examined by the operation in the service trades. I determined some facts. The reliability of the measuring values of the harvesters is influenced by technical and functional implications and also by human agents.

Key words: harvesters, parameters, fuel consumption

ÚVOD

Obiloviny se v ČR pěstují téměř ve všech výrobních oblastech, v nichž jsou různé klimatické i půdní podmínky ovlivňující dobu sklizně. Sklízňové období začíná v jednotlivých oblastech postupně od konce června do září. To umožňuje přesouvání a vhodné soustředování sklízňové techniky do těchto oblastí. Sklizeň začíná při dosažení tzv. technologické zralosti. Celková výměra orné půdy v ČR k 15.7.2008 byla 2 568 582 ha, z toho obilniny pokrývaly plochu o výměře 1 434 925 ha, což tvořilo 55,9 % z celkové rozlohy orné půdy. Celková produkce této plochy činila 7 387 170 tun obilí, což je v průměru představuje $5,2 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$. Výkonost a cena stroje jsou hlavními faktory co vedly k trendu nasazení sklízecích mlátiček ve službách. Sezónní využitelnost stroje musí být co nejvyšší, proto se sklízecí mlátičky používají jako službové stroje.

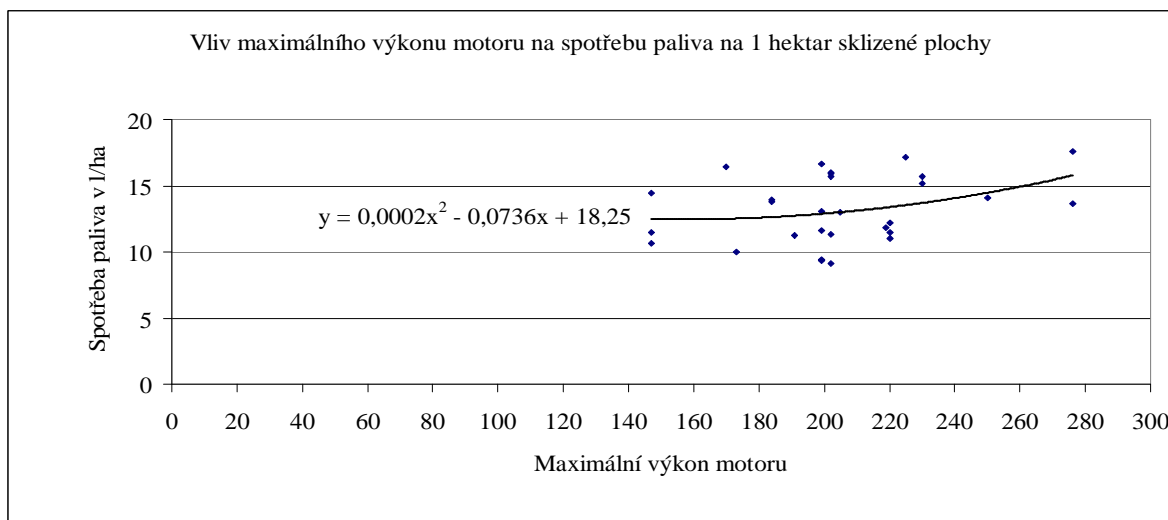
MATERIÁL A METODIKA

Bylo sledováno celkem 29 sklízecích mlátiček různých typů a v různých časových intervalech tak aby bylo pokryto variabilní nasazení jednotlivých stojů v podmínkách fungujícího podniků. Měřené hodnoty, spotřeba, výkonost a doba nasazení byly získány od osádek sklízecích mlátiček v písemné dokumentaci. Při tomto jsem vycházel především z naměřených hodnot a zkušeností s nasazením sklízecích mlátiček v zemědělství. U sklízecích mlátiček bylo sledováno počet sklizených ha, počet hodin výmlatu, počet hodin údržby a počet hodin oprav.

Naměřené hodnoty byly statisticky zpracovány a byla z nich vypočítána spotřeba nafty na jeden ha, počet ha za hodinu výmlatu W_{02} – je operativní výkonost, počet hodin údržby na počet hodin výmlatu, počet hodin oprav na počet hodin výmlatu a časové rozvržení 24 hodin na prostoje, čas na opravy a čas na údržbu.

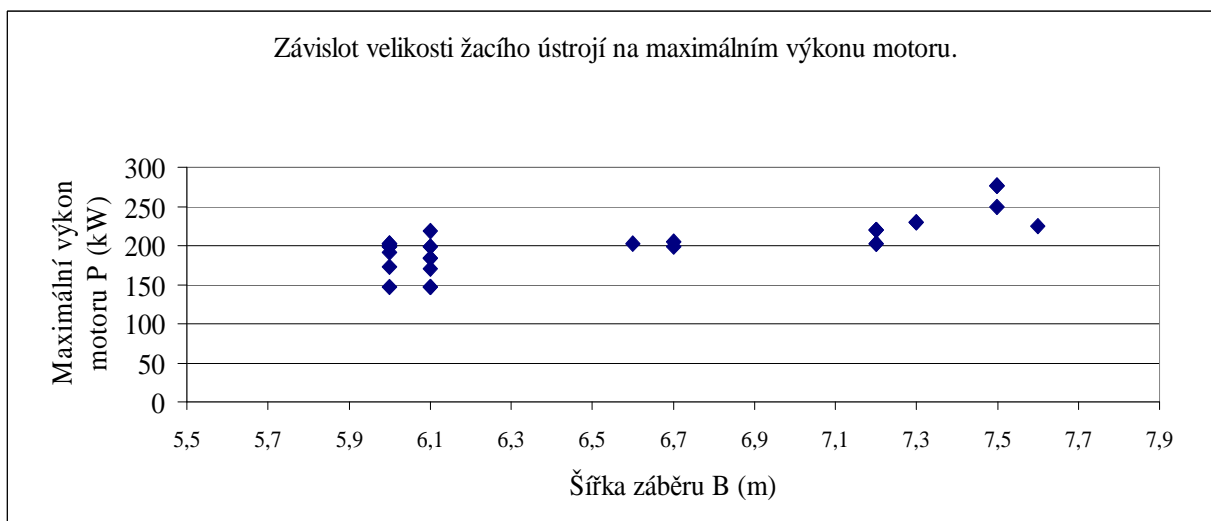
VÝSLEDKY A DISKUZE

V průběhu variabilního nasazení 29 sklízecích mlátiček byla měřena spotřeba paliva na jeden hektar sklizené plochy. Naměřené hodnoty byly statisticky vyhodnoceny a jsou uvedeny na obr.1. U tohoto grafu je znázorněna spotřeba paliva v závislosti na výkon motoru. Spotřeba paliva je velikostně roztríděna. Výkon motoru zde není limitující hodnotou pro spotřebu paliva na hektar sklizené plochy. Průměrná spotřeba paliva na hektar je 13,2 l/ha, odchylky od této hranice jsou způsobeny samotným pozemkem, jeho porostem a lidským faktorem. Nejnižší hodnota spotřeby paliva byla 9,12 l/ha a nejvyšší hodnota byla 17,61 l/ha.



Obr 1: Vliv maximálního výkonu motoru na spotřebu paliva

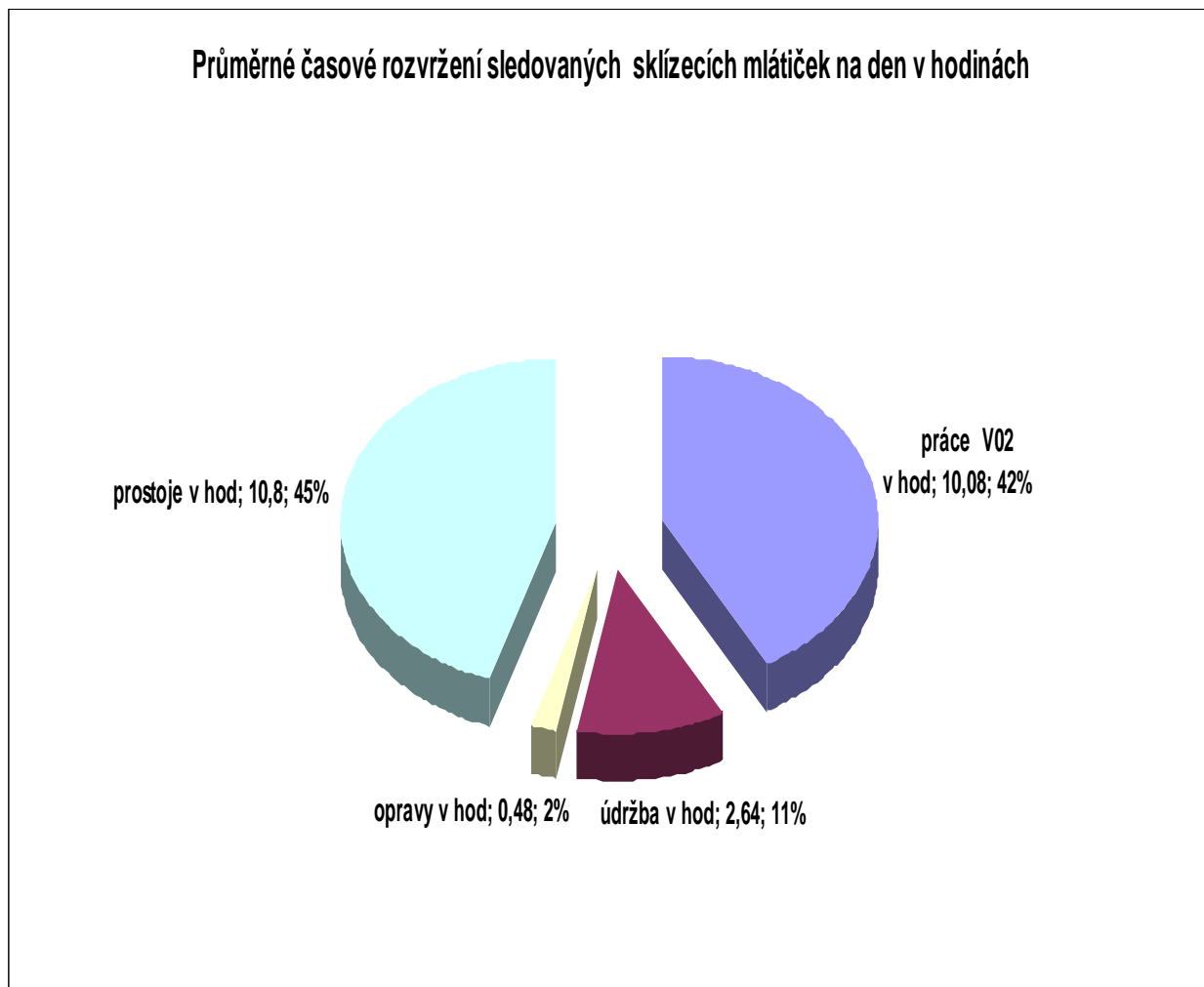
Při sledování 29 sklízecích mlátiček bylo měřeno žací ústrojí. Naměřené hodnoty byly statisticky vyhodnoceny a následně vyneseny do grafu na obr.2, který znázorňuje šířku záběru žacího ústrojí v závislosti na maximálním výkonu motoru. Po znázornění bylo zjištěno, že sklízecí mlátičky s maximálním výkonem motoru do 200 kW jsou vybaveny žacím ústrojím o záběru 6 – 6,7 m, nejčastěji však v rozmezí 6 a 6.1 m. U mlátiček s maximálním výkonem motoru nad 200 kW je zřejmé, že jsou nejčastěji vybavovány žacím ústrojím v rozmezí 7.2 – 7,6 m. Žací ústrojí o velikosti 6,6 - 6,8 m je nejméně používaná velikost.



Obr 2: Závislost velikosti žacího ústrojí na maximálním výkonu motoru

Graf na obr.3 znázorňuje čas rozvržení za 24 hodin. Tyto hodnoty byly získány statistickým vyhodnocením hodnot měřených sklízecích mlátiček za 24 hodin. Čtyřicet hodin se rozdělilo do čtyř úseků, přičemž v prvním úseku se hodnotil výmlat, ve druhém údržba, třetí úsek byl zaměřen na opravy a poslední úsek připadl na stání v hodinách. Z těchto hodnot je zřejmé, že největší časový úsek zahrnuje stání stroje, a to 45 % = 10,8 hodin dne kdy rozhodující je stání strojů v noci. V tomto časovém úseku je zahrnut čas na

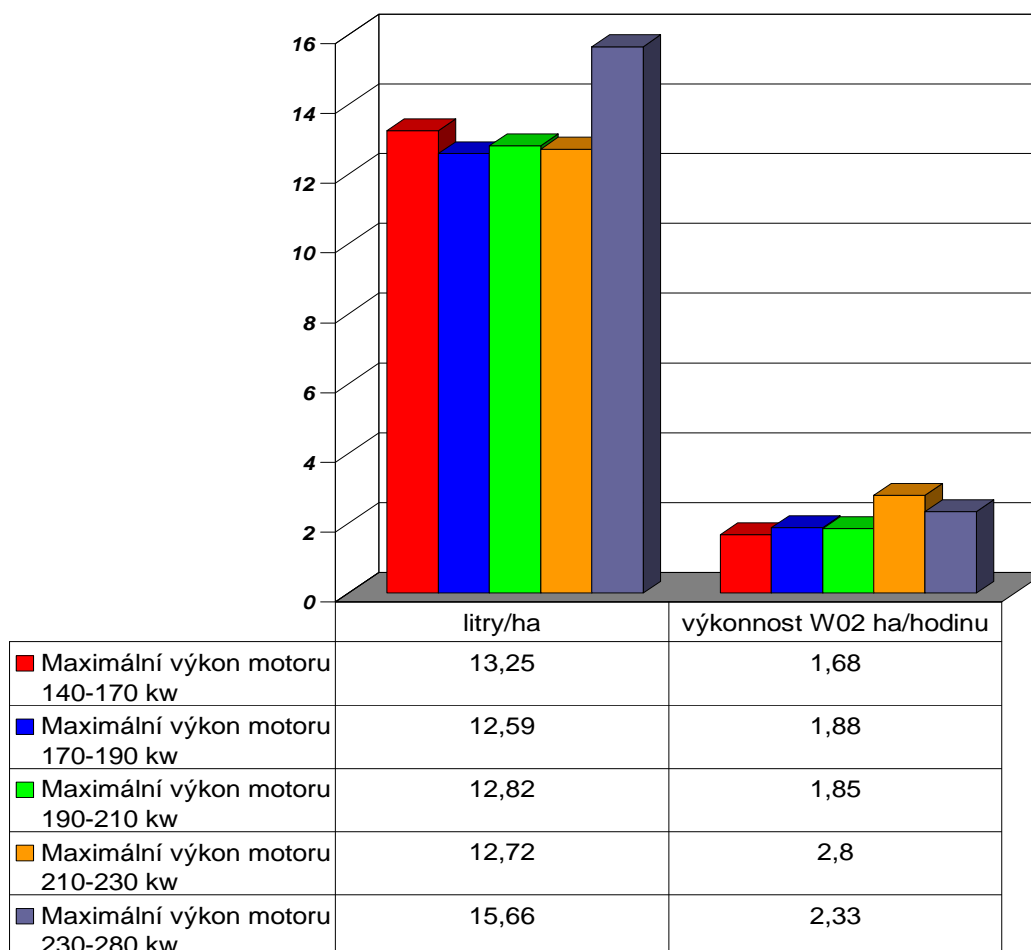
spánek obsluhy a nutné stání stroje zapříčiněné vlhkostí sklizené plodiny. Druhým velkým zástupcem časového rozvržení dne je výmlat, jenž zaujímá 42 % = 10,08 hodin. Třetím sledovaným časovým úsekem je údržba stroje 11 % = 2,64 hodin dne a posledním, a to zároveň nejmenším časovým úsekem, je čas na opravy a to 2 % = 0,48 hodin dne.



Obr 3: Průměrné časové rozvržení sledovaných sklízecích mlátiček na den v hodinách

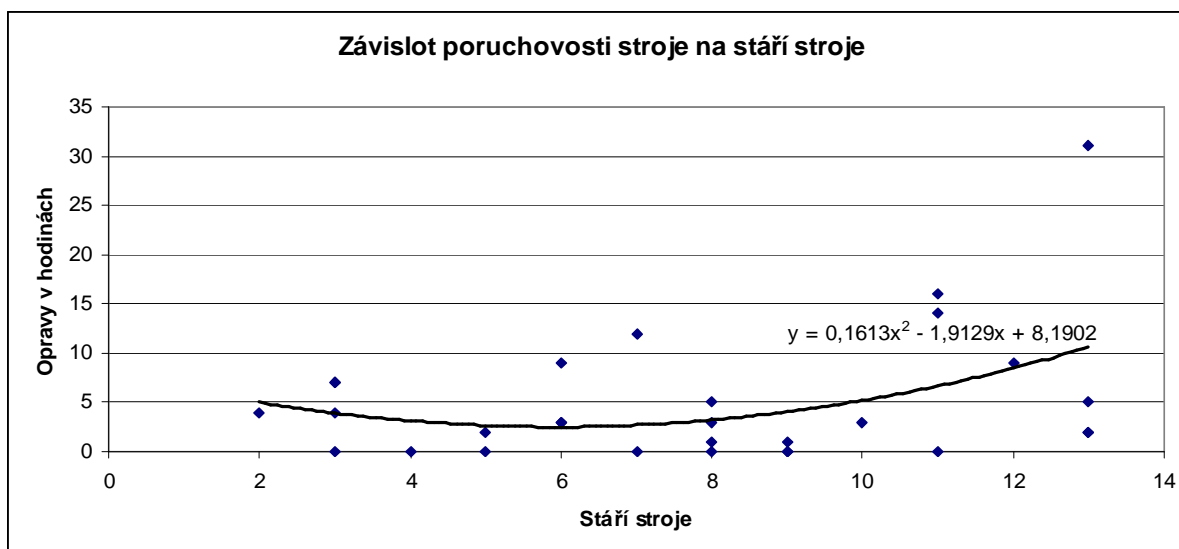
Stroje byli rozděleny do 5 skupin podle výkonu motoru. První skupinou jsou stroje s maximálním výkonem motoru 140-170 kW. Druhou skupinou jsou stroje s maximálním výkonem motoru 170 -190 kW. Třetí skupinou jsou sklízecí mlátičky s maximálním výkonem motoru 190-210 kW. Čtvrtou skupinou jsou stroje s maximálním výkonem motoru 210-230 kW. Poslední skupinou jsou sklízecí mlátičky s maximálním výkonem motoru 230-280 kW. Naměřené hodnoty byly zprůměrovány a vyneseny do grafu. Zde je zřejmé, že první skupina má větší spotřebu paliva na jeden hektar sklizené plochy než skupiny 2,3 a 4. Příčinou toho je, že stroje o výkonu do 170 kW jsou vybavovány kratším žacím ústrojím. Dalším důvodem vysoké spotřeby paliva je 100 % zatížení motoru.

Průměrná spotřeba paliva a výkonnost W02 u 5 výkonnostních tříd sklízecích mlátiček



Obr 4: Průměrná spotřeba paliva a výkonnost W02 u 5 výkonnostních tříd sklízecích mlátiček

Z grafu na obr 5. vyplývá, že nejméně poruchovou skupinou strojů jsou stroje ve stáří od 5 do 7 let, nejvíce poruchovými stroji jsou sklízecí mlátičky od 10. roku provozu. Graf je proložen spojnicí trendů - polynomem 2. stupně.



Obr 5: Závislost poruchovosti na stáří stroje

ZÁVĚR

Sklízecí mlátičky nasazené ve službách používají nejčastěji motory s maximálním výkonem od 140 do 300 kW. Sklízecí mlátičky s výkonem od 140 do 200 kW jsou nejčastěji vybaveny žacím ústrojím o celkové délce 6 - 6,1 m a mlátičky s maximálním výkonem motoru od 200 do 300 kW jsou nejčastěji vybavovány žacím ústrojím o celkové délce 7,2 – 7,6 m. Jedním z hlavních ukazatelů efektivity nasazení sklízecích mlátiček ve službách je spotřeba paliva na 1 sklizený hektar plochy. Průměrná spotřeba paliva u celého souboru mnou sledovaných sklízecích mlátiček je 13,2 l na hektar. Ovšem u mlátiček s maximálním výkonem motoru od 140 do 210 kw se spotřeba paliva na hektar se liší v rozmezí desetin litru. U mlátiček s maximálním výkonem motoru od 210 do 300 kW se spotřeba paliva liší v litech paliva. Dalším faktorem efektivity při nasazení sklízecích mlátiček ve službách je počet sklizených hektarů za hodinu. Průměrná hodnota tohoto faktoru je 2,1 sklizených hektarů za hodinu na jednu sledovanou mlátičku. Z výsledků měření vyplývá, že celková denní doba nasazení sklízecích mlátiček je rozdělena do 4 časových úseků a to prostoje, práce W_{02} , údržby a opravy. Největší část teoreticky možného denního nasazení však tvoří prostoje, a to 45 % (kdy rozhodující je stání strojů v noci).

Operativní výkonnost stroje W_{02} je 42 % z celkového dne. Čas na údržbu zde tvoří 11 % dne. Opravy tvoří z celkového počtu hodin za den 2 %.

Posledním sledovaným ukazatelem je poruchovost mlátičky v závislosti na stáří stroje. Nejméně poruchovou skupinou sklízecích mlátiček jsou mlátičky ve stáří 5 - 7 let.

Dle mnou sledovaného souboru strojů je zřejmé, že nejvhodnější skupinou sklízecích mlátiček pro nasazení ve službách jsou mlátičky s maximálním výkonem motoru od 210 do 230 kW, žacím ústrojím 6 - 7 m a stářím 5 let. Z vysoké variability naměřených hodnot – výsledků u jednotlivých strojů vyplývá, že velmi významným faktorem efektivity nasazení je lidský činitel, klimatické a povětrnostní podmínky.

DETECTION AND MONITORING OF PROBIOTIC MICROORGANISMS IN FERMENTED MILK PRODUCTS

STANOVENÍ A SLEDOVÁNÍ POČTU PROBIOTICKÝCH MIKROORGANISMŮ VE FERMENTOVANÝCH MLÉČNÝCH VÝROBCÍCH

Burešová K., Burdychová R.

Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xburesov@node.mendelu.cz, burdycho@node.mendelu.cz

ABSTRACT

Probiotics are defined as live microorganisms present at food which have a positive effect on structure of intestinal microflora and thus also for men's health. These days, we can see on market mainly fermented milk products with addition of these microorganisms, especially containing strains of the genus *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. For reaching positive effect on men's health, it is suggested to consume at least 100 grams of fermented milk products with minimal concentration of 10^6 CFU/g of probiotics daily. Five kinds of fermented milk products REVITAL ACTIVE with different flavour (natur, aloe vera, strawberry, raspberry – vanilla, apricot) were analyzed for quality and quantity level of probiotics at the day of production and during the whole expiration period (28 days). The producer of these products is guaranting presence of three probiotics strains: *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* and *Bifidobacterium sp.* The presence of those three species were proved at each of tested products during the whole expiration period in total amount greater than 10^6 CFU/g.

Key words: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium sp.*, probiotic bacteria

ÚVOD

Probiotika jsou definována jako živé mikroorganismy přítomné v potravě, které po požití v určitém množství příznivě ovlivňují složení a rovnováhu střevní mikroflóry, a tak i zdraví člověka. Kultury těchto bakterií musí být humánního původu, musí být schopné přežít průchod trávicím traktem (odolat kyselému prostředí žaludku), musí se v místě působení (v tlustém střevě) množit a nesmí být toxické či patogenní. Výběr vhodných probiotických kultur závisí i na jejich schopnosti vytvořit příznivé organoleptické vlastnosti (tj. chuť, vůni apod.) potraviny (BURDYCHOVÁ, 2007).

V současné době se do popředí zájmu spotřebitelů dostávají probiotické potraviny, mezi nimiž dominují kysané mléčné výrobky s přidavkem probiotických bakterií. Jedná se především o bakterie rodu *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*, které mají celou řadu pozitivních účinků na lidský organismus (NECIDOVÁ a kol., 2002).

Potraviny s přidavkem probiotických kultur jsou zařazovány mezi tzv. funkční potraviny (ŠPELINA, 2006). Obecně se funkční potravina definuje jako každá potravina, která má kromě své nutriční hodnoty kladný vliv na zdraví, fyzickou výkonnost nebo duševní stav konzumenta. Jde tedy o potravinu, která má v porovnání s běžnými potravinami zvýšený fyziologický účinek (SHALABY a kol., 1996). V současné době patří v oblasti lidské výživy problematika funkčních potravin mezi nejsledovanější témata.

Pro dosažení příznivých účinků pro lidské zdraví je spotřebitelům doporučována denní konzumace alespoň 100 g mléčného výrobku s minimálním obsahem 10 miliard (10⁶) probiotických bakterií v 1 g nebo 1 ml výrobku (BURDYCHOVÁ, 2008).

Cílem této práce bylo ověřit, zda se ve fermentovaných mléčných nápojích REVITAL ACTIVE s výrobcem deklarovanou probiotickou kulturou, vyskytuje probiotická kultura v požadovaném množství, tedy minimálně 10⁶ v 1 ml výrobku.

MATERIÁL A METODIKA

Bakteriální kmeny a jejich růstové podmínky

Startovací kultury byly dodány výrobcem fermentovaných mléčných nápojů s probiotickou kulturou v lyofilizovaném stavu. Kultura YP-MIXTM 101 FRO 500 (Danisco, Dánsko) obsahovala bakteriální druhy *S. thermophilus*, *L. acidophilus* a *Bifidobacterium sp.*, v kultuře HOLDBACTM LC FRO 750 (Danisco, Dánsko) byl přítomen bakteriální druh *L. rhamnosus*. Kultury byly použity jako pozitivní kontroly pro růst na selektivních médiích.

Příprava médií

Fyziologický roztok (Noack, Francie) byl připraven dle návodu výrobce. MRS agar (Noack, Francie) byl připraven dle návodu výrobce (pH = 6,5). MRS – vankomycin agar byl připraven přidavkem vankomycinu (2 mg/l, Sigma-Aldrich, Německo) po autoklávování MRS média, MRS – clindamycin přidavkem 0,5 mg/l clindamycinu (Sigma-Aldrich, Německo). BSM (Bifidus selektivní agar, Fluka, USA) byl připraven dle návodu výrobce.

Mikrobiologický rozbor mléčných výrobků

V experimentu bylo použito pět druhů zakysaných mléčných nápojů REVITAL ACTIVE s různou příchutí. Označení vzorků je uvedeno v Tab. 1. Analyzovány byly vždy tři stejné výrobky jedné šarže u každé příchuti. Analýza probíhala po celou dobu trvanlivosti (28 dní), po sedmi dnech, a to na přítomnost a počet kolonie tvořících jednotek na gram výrobku (KTJ/ml). Mikrobiologický rozbor byl proveden dle ČSN EN ISO 8261. Stupeň ředění byl volen tak, aby výsledný počet kolonií na jedné plotně byl 15 až 300. Stanovení počtu mezofilních bakterií mléčného kvašení bylo provedeno dle ČSN ISO 15214. Selektivní stanovení *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* a *Bifidobacterium sp.* bylo provedeno dle Burdychové (2007). Petriho misky se vzorky byly kultivovány při 30°C a 37 °C po dobu 72 hodin, dle stanovovaného bakteriálního druhu.

Tab. 1 Označení vzorků

Název výrobku	Označení vzorku
Revital active, natur bílý	Vzorek č.1
Revital active, aloe vera	Vzorek č.2
Revital active, jahoda	Vzorek č.3
Revital active, malina-vanilka	Vzorek č.4
Revital active, meruňka	Vzorek č.5

VÝSLEDKY A DISKUZE

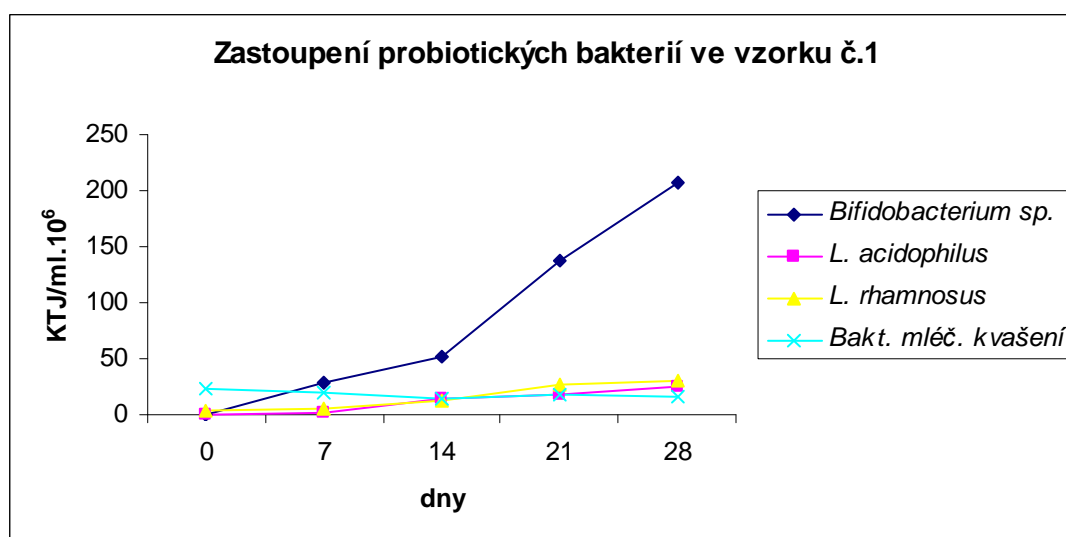
V prvním kroku byly na selektivních médiích testovány komerční startovací a probiotické kultury dodané výrobcem mléčných výrobků. Na MRS médiu v mikroaerofilních podmínkách dobře rostly všechny komerční startovací a probiotické kultury bakterií kromě *Bifidobacterium sp.* MRS médium s vankomycinem je selektivním médiem pro *L. rhamnosus* (SHAH, 2000), a to při anaerobní kultivaci při 43°C po dobu 24 hodin. Bakterie tvořily bílé vypouklé kolonie o velikosti 2 mm. Popsané podmínky inhibovaly růst kmenů *S. thermophilus*, *L. acidophilus* i *Bifidobacterium sp.* MRS médium s clindamycinem bylo popsáno jako selektivní médium pro bakteriální druh *L. acidophilus* při anaerobní kultivaci při 37°C po dobu 72 hodin (BAILLON a kol., 2004). *L. acidophilus* tvořil na tomto médiu drobné bílé nepravidelné kolonie. Na MRS médiu s clindamycinem nerostly kromě *L. acidophilus* žádné jiné startovací ani probiotické bakterie. Pro selektivní kultivaci *Bifidobacterium sp.* byl použit BSM agar. Počítány byly fialově zbarvené kolonie.

Ve druhém kroku bylo analyzováno pět druhů zakysaných mléčných výrobků REVITAL ACTIVE na kvalitativní a kvantitativní zastoupení probiotických mikroorganismů. Výrobce na obalu těchto produktů deklaruje přítomnost tří probiotických druhů, a to *Bifidobacterium sp.*, *L. acidophilus* a *L. rhamnosus*. Počty *Bifidobacterium sp.* byly stanoveny na médiu BSM při anaerobní kultivaci při 37°C 72 hodin. Počty *L. acidophilus* byly stanoveny na médiu MRS – clindamycin při anaerobní kultivaci při 37°C 72 hodin. Na

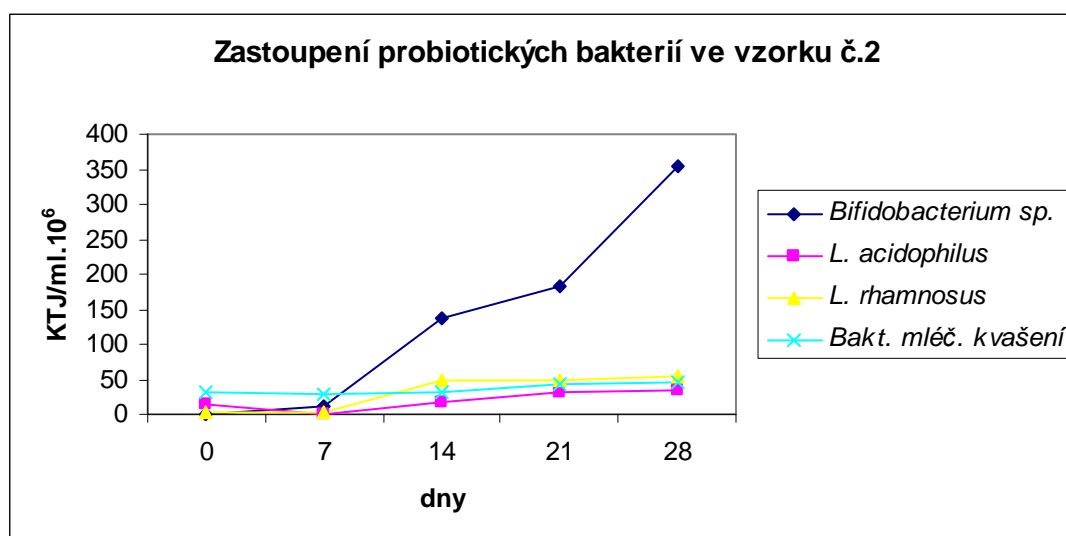
médiu MRS – vankomycin byly při anaerobní kultivaci při 37°C 72 hodin stanoveny počty *L. rhamnosus*. Celkový počet bakterií mléčného kvašení byl stanoven na médiu MRS.

Celkové počty bakterií mléčného kvašení byly měřeny v průběhu celé doby trvanlivosti. V žádném měření neklesly pod minimální hodnotu požadovanou vyhláškou č.77/2003 Sb. Počet všech probiotických mikroorganismů na konci analýzy vzrostl oproti počátečnímu počtu. Největší kvantitativní nárůst (o tři řády) byl zaznamenán u *Bifidobacterium sp.* V případě probiotických bakterií *L. acidophilus* a *L. rhamnosus* docházelo ve většině případů k mírnému poklesu počtů těchto bakterií po prvním týdnu. Jednalo se pravděpodobně o adaptaci těchto mikroorganismů na vnější podmínky. V dalších dnech jejich počet stoupal. Výrobky ochucené ovocnou složkou nevykazovaly vyšší počty probiotických mikroorganismů než výrobky neochucené.

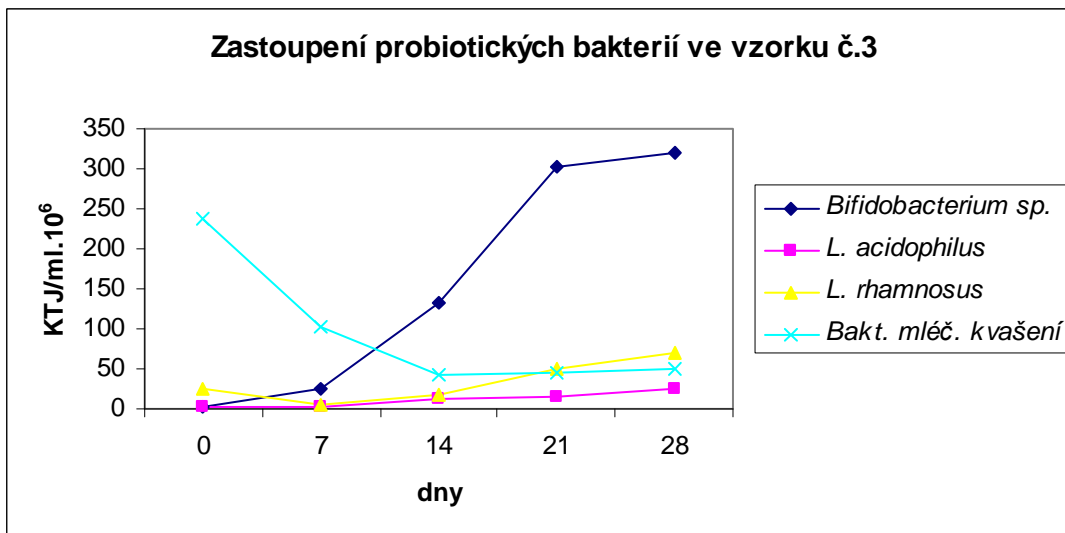
Zastoupení probiotických mikroorganismů ve vzorcích uvádí Graf č.1 – Graf č.5



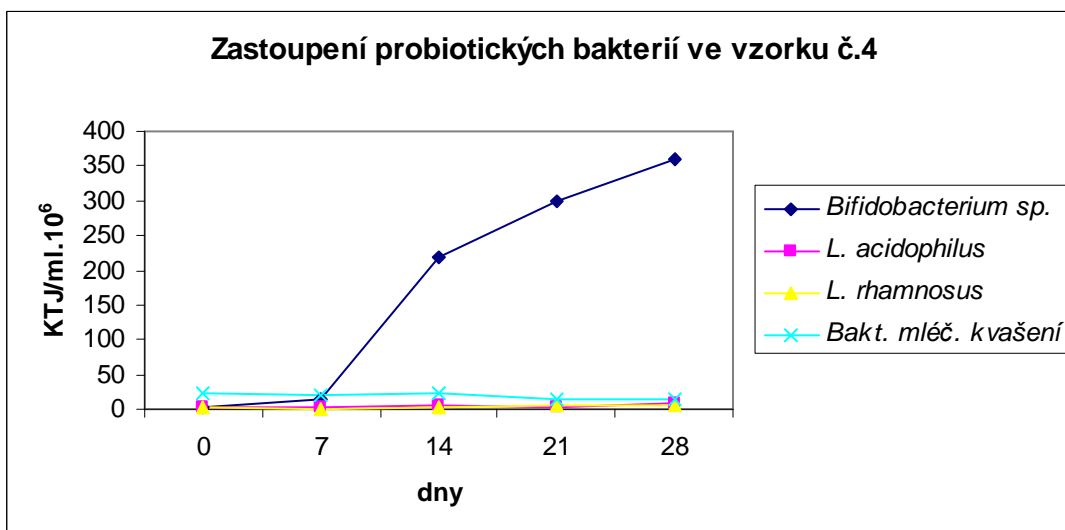
Graf č.1 Zastoupení probiotických bakterií ve vzorku č.1



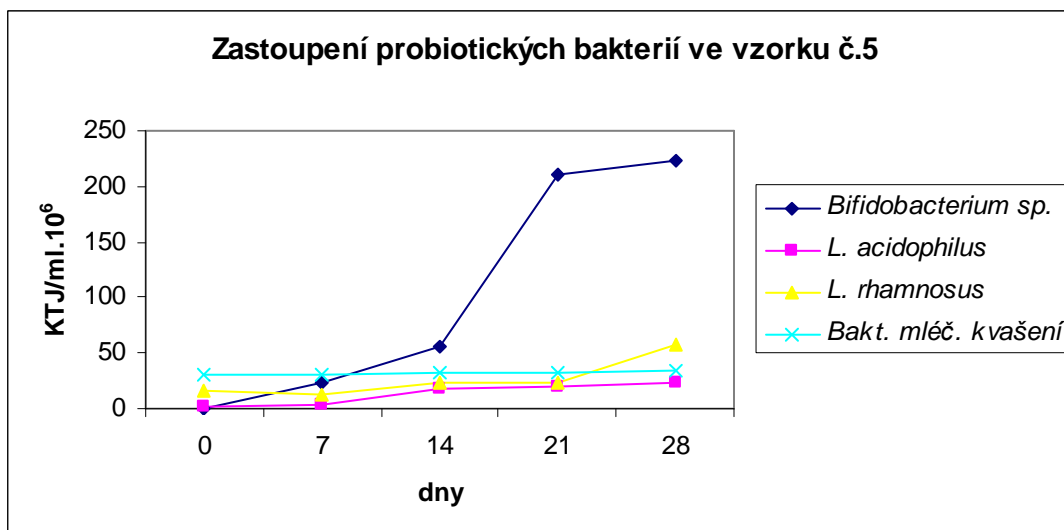
Graf č.2 Zastoupení probiotických bakterií ve vzorku č.2



Graf č.3 Zastoupení probiotických bakterií ve vzorku č.3



Graf č.4 Zastoupení probiotických bakterií ve vzorku č.4



Graf č.5 Zastoupení probiotických bakterií ve vzorku č.5

ZÁVĚR

V experimentu bylo potvrzeno, že údaje deklarované výrobcem jsou pravdivé. Počty všech probiotických bakterií byly zastoupeny ve větším množství, než je stanoveno vyhláškou č. 77/2003 Sb. Výrobek byl příznivým prostředím pro množení probiotických mikroorganismů, po dobu analýzy docházelo ke zvýšení jejich počtu. Tyto výrobky mohou být doporučeny spotřebitelům pro pravidelnou konzumaci, a to v množství alespoň 100 ml výrobku denně.

LITERATURA

- BAILLON, M. A. MARSHALL-JONES, Z. V., BUTTERWICK, R. V. (2004): Effects of probiotic *Lactobacillus acidophilus* strain DSM13241 in healthy adult dogs. *Am J Vet Res.* 2004, 65, 3: 338–343.
- BURDYCHOVÁ, R. (2007): Microbiological detection of probiotic microorganisms in fermented milk products. *Acta univ. Agric. Et silvic. Mendel. Brun.*, 2007, LV, No. 2, pp. 15-20.
- BURDYCHOVÁ, R. (2008): Sledování počtu probiotických mikroorganismů ve fermentovaných mléčných výrobcích. In *Sborník přednášek semináře Mléko a sýry, Praha 2008*. 1. vyd. VŠCHT Praha: VŠCHT Praha, 2008, s. 15--18.
- NECIDOVÁ, L., CUPÁKOVÁ, Š., JANŠTOVÁ B., NAVRÁTILOVÁ, P. (2002): Úloha probiotik v kysaných mléčných výrobcích. *Veterinářství* 2002;52:66-68
- SHAH, N. P. (2000): Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. *J. Dairy Sci.* 2000, 83: 894–907.
- SHALABY, A. R. (1996): Significance of biogenetic amines in food safety and human health. *Food res. Int.* 1996, 29, 675-690
- ŠPELINA, V. (2006): *Vědecký výbor pro potraviny* [online]. 2003 , 28.12.2006 [cit. 2008-10-15]. Dostupný z WWW: <http://www.chpr.szu.cz/vedvybor/dokumenty/informace/Info_2006_16_deklas_Probio_SK.pdf>.

SOME MICROORGANISMS FORMING BIOGENIC AMINES IN DUTCH-TYPE SEMI-HARD CHEESE

MIKROORGANISMY PODÍLEJÍCÍ SE NA TVORBĚ BIOGENNÍCH AMINŮ V SÝRECH EIDAMSKÉHO TYPU

Cwiková O., Komprda T., Dohnal V.

Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: cwikova@node.mendelu.cz, komprda@mendelu.cz, dohnal@node.mendelu.cz

ABSTRACT

Counts of lactic acid bacteria (LAB), total anaerobes and enterococci were determined in the course of ripening in the edge part (E) and the core part (C) of Dutch-type semi-hard cheese produced with different fat content (30 and 45 %) by two different producers (H and R) using two different starter cultures (L and Y). Counts of LAB at the beginning of ripening (day 0) in H producer's samples were higher ($P < 0,01$) in comparison with the R producer's ones. Count of enterococci was the highest ($P < 0,05$) at the end of the ripening (176th day) in sample R30YE. Higher ($P < 0,01$) enterococci counts were in R producer's cheeses (in comparison with the H producer's ones). Enterococci contamination was higher ($P < 0,05$) in E-samples than C-samples. Content of the sum of all BA in cheese was negatively correlated ($P < 0,05$) with counts of lactic acid bacteria ($r = -0,24$) and counts of total anaerobes ($r = -0,23$). No correlation between the sum of BA content and enterococci counts was found.

Key words: biogenic amines, cheese, enterococci, lactic acid bacteria, total anaerobic microorganisms

ÚVOD

Biogenní aminy jsou skupinou alifatických, aromatických nebo heterocyklických bází odvozených od aminokyselin, která má různé biologické účinky. Některé z nich jsou tkáňovými hormony, stavebními látkami pro syntézu dalších hormonů, fytohormonů, alkaloidů a dalších sekundárních metabolitů rostlin. Biogenní aminy jsou v nízkých koncentracích přirozenou součástí řady potravin (Velíšek, 2002). V potravinách většina z nich vzniká dekarboxylací volných aminokyselin působením bakteriálních enzymů (dekarboxylas) (Křížek, Kalač, 1998). Nejčastěji se dekarboxylasy aminokyselin vyskytují u rodů *Bacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Lactobacillus*, *Pediococcus* a *Streptococcus*. Kromě fyziologických funkcí mohou BA při nadměrném příjmu potravou vyvolávat v organismu projevy otravy. Některé BA, jako histamin a tyramin, vykazují vasoaktivní a psychoaktivní účinky, a proto může jejich přítomnost v potravinách ohrozit zdraví konzumenta (Roig-Sagués et al., 2002). Projevy intoxikace organismu se dělí na nervové a kožní. Jde zejména o nucení ke zvracení, dýchací potíže, bušení srdce, bolesti hlavy, zrudnutí v obličeji, pálení v ústech a červenou vyrážku na kůži (Křížek, Kalač, 1998). V sýrech bývají hlavními BA histamin, kadaverin, putrescin a tyramin (Novella-Rodríguez et al., 2003). K tvorbě těchto aminů dochází u sýrů zejména při zrání vlivem kontaminující mikroflóry, a to v provozech s nedostatečnou úrovní hygieny. Nejčastěji jsou v této souvislosti zmiňovány enterokoky, *Enterobacteriaceae* a laktobacily (Martuscelli et al., 2005). Předpokládá se, že na vzniku a hromadění BA v sýrech mají podíl i bakterie mléčného kvašení (LAB) ze startovacích kultur. Peptidázy, uvolněné rozpadem buněk startovacích LAB, mohou být pro vznik aminokyselin, které jsou prekurzory BA, nezbytné (Martuscelli et al., 2005). Vysoká koncentrace BA může být použita jako indikátor hygienické kvality sýrů (Novella-Rodríguez et al., 2003). Mezi faktory ovlivňující výskyt a hromadění BA v sýrech patří druh sýru (Martuscelli et al., 2005), teplota sýřeniny, pasterace mléka, doba zrání, startovací kultury (Schneller et al., 1997; Kalač, Krausová, 2005), hygiena při zpracování a část sýru (Novella-Rodríguez et al., 2004). Cílem pokusu bylo posoudit vliv výrobce a dalších faktorů na počty mikroorganismů v průběhu zrání sýru eidamského typu a zjistit, zda existuje vztah mezi obsahem biogenních aminů (BA) a počtem bakterií mléčného kvašení, enterokoků a anaerobů.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky sýrů eidamského typu byly odebírány v měsíčních intervalech a pocházely od dvou výrobců (H, R). Každý z výrobců vyprodukoval sýry o dvou tučnostech (30 a 45 %) při použití dvou startovacích kultur, označených jako „L“ a „Y“. Při každém odběru byly odebírány od dané výroby tři vzorky – bloky 1, 2 a 3. Od každého vzorku byl analyzován okraj a střed sýru. Vzorky byly dopraveny do laboratoře v chladícím boxu a sterilně rozporcovány.

Z každého vzorku bylo odváženo do plastového sáčku 10 g sýru, ke kterému bylo přidáno 90 ml Ringerova roztoku (Noack, Rakousko) předehřátého na 45 °C. Směs byla homogenizována, dokud nebyl sýr dokonale dispergován, a to po dobu 90–120 s (max. 3

min.). Z primárního ředění byla připravena řada dekadických ředění. U každého vzorku byl stanovován celkový počet mikroorganismů (CPM), počet enterokoků, bakterií mléčného kvašení (LAB), koliformních mikroorganismů (MO), plísní a kvasinek a anaerobů.

Stanovení CPM, počtu koliformních MO a plísní a kvasinek bylo provedeno v laboratoři každého z výrobců dle příslušných ČSN.

Bakterie mléčného kvašení byly stanoveny plotnovou metodou (ČSN ISO 15214). Objem vzorku (1ml) nebo jeho ředění bylo zalito MRS agarem (Biokar, Francie). Inokulované Petriho misky se nechaly zatusnout a poté byly zality druhou vrstvou MRS agaru pro dosažení mikroaerofilního prostředí. Půdy byly inkubovány při 30 °C po dobu 72 hodin.

K izolaci a stanovení počtu enterokoků bylo použito médium Slanetz–Bartley (Noack) obohacené suplemtem TTC (trifenyltetrazoliumchlorid), který udílí koloniím červenou barvu. Misky byly inkubovány při 37 °C po dobu 48 hodin (ČSN EN ISO 7899).

Anaerobní mikroorganismy byly stanovovány na Plate Count Agar (Biokar) při 30 °C a odečítány za 72 hodin. Anaerobních podmínek bylo dosaženo inkubací v anaerostatu AG 25 A (Oxoid, VB) za použití vyvíječe a indikátoru anaerobního prostředí (Oxoid).

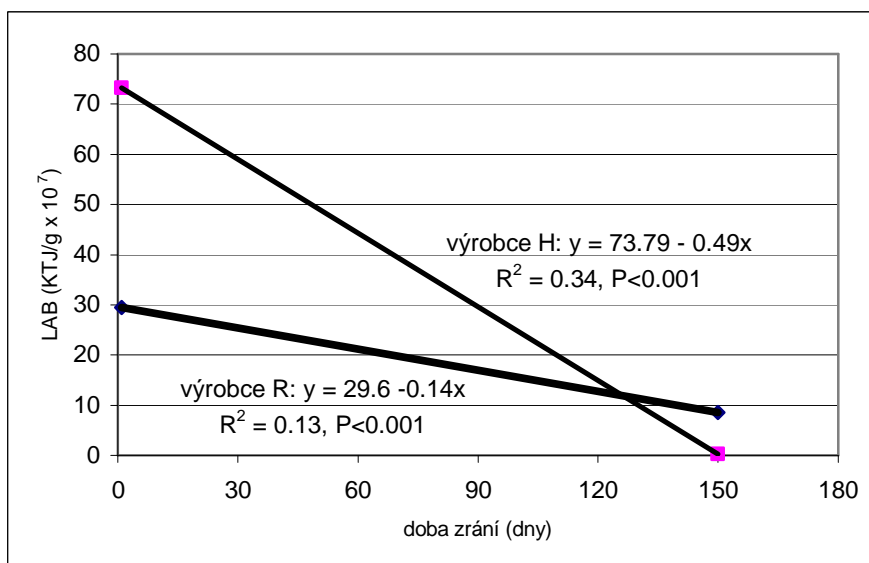
Pro stanovení počtu bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* byl použit agar ENDO (Noack), kultivace proběhla při 37 °C po dobu 24 hodin.

Obsah histaminu, tryptaminu, tyraminu, putrescinu, phenyletylaminu, kadaverinu, spermidinu a sperminu byl stanoven vysokotlakou kapalinovou chromatografií s UV detekcí po derivatizaci dansylchloridem (Komprda et al., 2006).

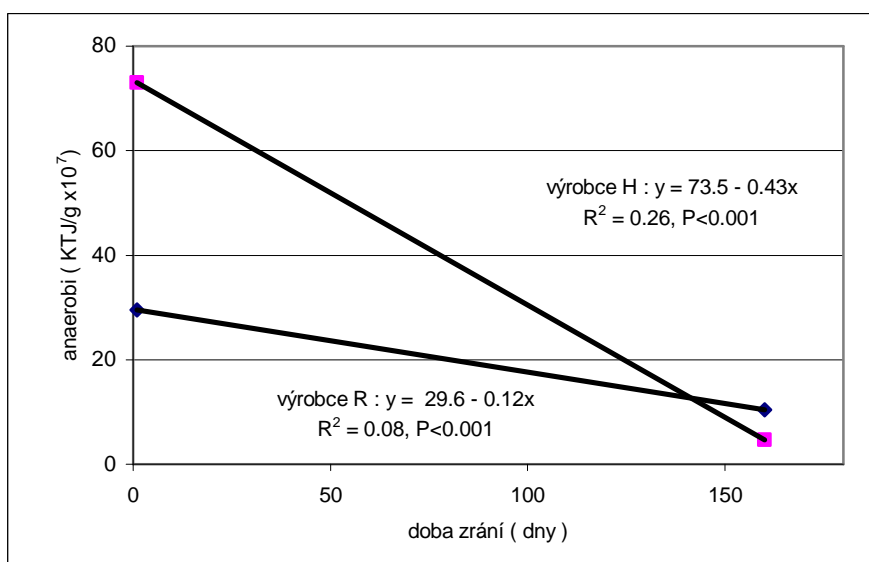
Naměřené hodnoty byly zpracovány statistickým programem Unistat, verze 4,53 (Londýn, VB). Byla použita metoda jednoduchého třídění analýzy rozptylu, vícenásobného třídění analýzy rozptylu a regresní a korelační analýzy.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Počet bakterií mléčného kvašení (LAB) byl na počátku zrání (den 0) u vzorků od výrobce H výrazně vyšší ($P < 0,01$) než u vzorků od výrobce R a pokles počtu LAB 3,5krát rychlejší (směrnice 0,49, resp. 0,14 v případě výrobce H, resp. R). Možným důvodem vyššího počtu LAB u výrobce H byla kontaminace sýrů nestratujícími bakteriemi mléčného kvašení různého původu, a to již při výrobě.



1: Závislost počtu kolonií tvořících jednotek (KTJ) bakterií mléčného kvašení (LAB) na době zrání sýrů eidamského typu



2: Závislost počtu anaerobních MO (KTJ) na době zrání sýrů eidamského typu

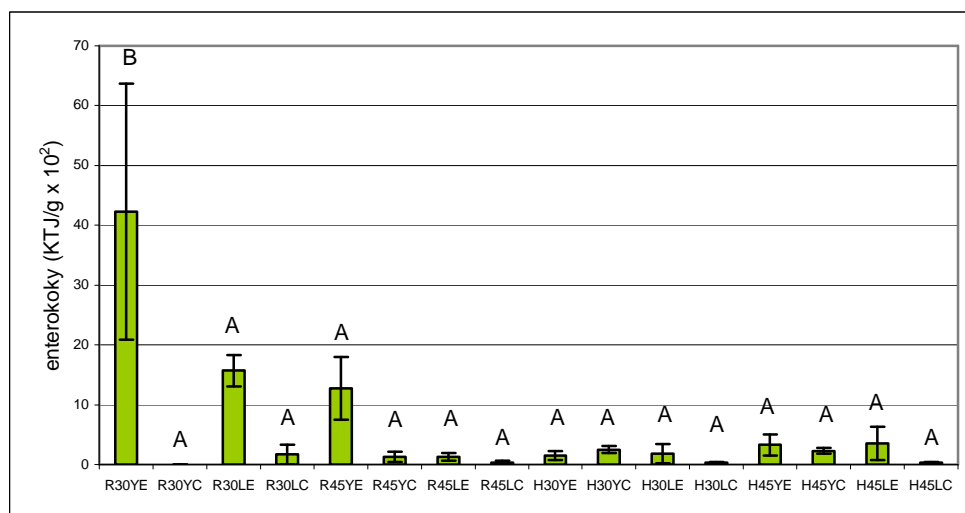
Počet anaerobních mikroorganismů klesal v průběhu zrání obdobně jako u bakterií mléčného kvašení (směrnice 0,43, resp. 0,12 v případě výrobce H, resp. R). Tento fakt lze vysvětlit tím, že LAB patří z hlediska nároku na kyslík mezi mikroorganismy fakultativně anaerobní, anaerobní nebo mikroaerofilní. To koresponduje s výsledky experimentu Bover-Cida a Holzapfela (1999), kdy při stanovení počtu LAB nebyly zjištěny rozdíly v kultivaci za aerobních a anaerobních podmínek (Obr. 2).

Co se týká enterokoků, vyšší počty byly zjištěny u vzorků od výrobce R ($P < 0,01$) než u vzorků od výrobce H (vzorky z celého období zrání byly brány jako jeden soubor).

Při porovnání, kdy všechny okraje (E), resp. středy (C) sýru byly uvažovány jako jeden soubor (oba výrobci, obě tučnosti, obě kultury), byly v E vzorcích zjištěny průkazně vyšší počty enterokoků ($P < 0,05$) ve srovnání s C vzorky ($13,7$ resp. $2,3 \times 10^2$ KTJ/g). Distribuce enterokoků v sýru může být podle Schnellera et al., (1997) nehomogenní. Námí

zjištěný vyšší počet enterokoků v okrajové části sýrů ukazuje na sekundární kontaminaci v průběhu výroby.

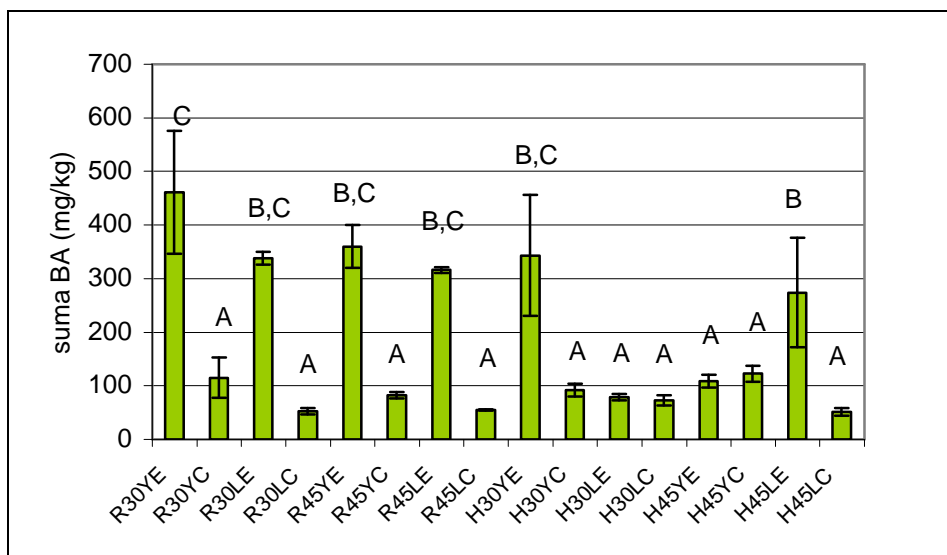
Počet enterokoků v jednotlivých vzorcích sýru na konci zrání (po 176 dnech) je znázorněn na obr. 3. Z obrázku je patrné, že nejvyšší počet enterokoků ($P < 0,05$) byl u vzorků od výrobce R, a to u vzorku okraje (E) sýru s 30% tučností při použití startovací kultury Y ($4,2 \times 10^3$ KTJ/g). To je mnohem méně než uvádí Schneller et al., (1997). Ten zjistil v polotvrdých sýrech vyrobených z pasterovaného mléka po dvou měsících zrání hodnotu $8,7 \times 10^6$ KTJ/g.



3: Počet enterokoků u jednotlivých vzorků sýru na konci zrání (po 176 dnech) v okrajové (E) a středové (C) části sýru vyrobeného dvěma výrobci (H, R) při dvou různých tučnostech (30 a 45 %) za použití dvou startovacích kultur (L, Y). Průměry označené různými písmeny se liší při $P < 0,05$

Obsah sumy biogenních aminů po 176 dnech zrání byl u výrobce R ve srovnání s výrobcem H vyšší v případě vzorků E s 30 % tuku, s použitím kultury L (338 vs. 79 mg/kg) a u vzorků E s 45 % tuku, kulturou Y (360 vs. 109 mg/kg). Při porovnání ostatních vzorků nebyly rozdíly mezi oběma výrobci statisticky průkazné. Vyšší hodnotu udává Martuscelli et al., (2005), který stanovil v ovčích sýrech vyrobených z pasterovaného mléka s přidavkem startovacích LAB po 60ti dnech zrání celkový obsah BA 1086 mg/kg. Naproti tomu Schneller et al., (1997) zjistil v polotvrdých sýrech s přidavkem běžně používané startovací kultury po 5 měsících zrání celkový obsah BA 51 mg/kg.

Při posouzení všech analyzovaných vzorků jako jednoho souboru, koreloval obsah sumy biogenních aminů s počtem LAB ($r = -0,24$, $P < 0,05$) a počtem anaerobních mikroorganismů ($r = -0,23$, $P < 0,05$). Negativní vztah mezi počty uvedených MO a obsahem sumy BA lze vysvětlit tím, že tvorba BA není záležitostí rodů a druhů MO, ale pouze určitých kmenů v rámci druhu (Bover-Cid et al., 2000). Mezi počtem enterokoků a obsahem sumy BA nebyl vzájemný vztah zjištěn ($r = 0,04$, $P = 0,23$).



4: Suma BA (mg/kg) u jednotlivých vzorků sýru po 176 dnech zrání

ZÁVĚR

Cílem pokusu bylo posoudit vliv výrobce a dalších faktorů na počty mikroorganismů v průběhu zrání sýru eidamského typu a zjistit, zda existuje vztah mezi obsahem biogenních aminů (BA) a počtem bakterií mléčného kvašení, enterokoků a anaerobů.

Počet bakterií mléčného kvašení (LAB) byl na počátku zrání (den 0) u vzorků od výrobce H výrazně vyšší ($P < 0,01$) než u vzorků od výrobce R a pokles počtu LAB 3,5krát rychlejší (směrnice 0,49, resp. 0,14 v případě výrobce H, resp. R). Počet anaerobních mikroorganismů klesal v průběhu zrání obdobně jako u bakterií mléčného kvašení (směrnice 0,43, resp. 0,12 v případě výrobce H, resp. R).

Co se týká enterokoků, vyšší počty byly zjištěny u vzorků od výrobce R ($P < 0,01$) než u vzorků od výrobce H, kdy hodnoty z celého období zrání (0-176 dní), byly brány jako jeden soubor. Při porovnání, kdy všechny okraje (E), resp. středy (C) sýru byly uvažovány jako jeden soubor (oba výrobci, obě tučnosti, obě kultury), byly v E vzorcích zjištěny průkazně vyšší počty enterokoků ($P < 0,05$) ve srovnání s C vzorky ($13,7$ resp. $2,3 \times 10^2$ KTJ/g). Na konci zrání (176. den) byl nejvyšší počet enterokoků ($P < 0,05$) zjištěn u vzorků R30YE.

Při posouzení všech analyzovaných vzorků jako jednoho souboru koreloval obsah sumy biogenních aminů s počtem LAB ($r = -0,24$, $P < 0,05$) a počtem anaerobních mikroorganismů ($r = -0,23$, $P < 0,05$). Mezi počtem enterokoků a obsahem sumy BA nebyl vzájemný vztah zjištěn ($r = 0,04$, $P = 0,23$).

LITERATURA

Bover-Cid S., Holzapfel W. H. (1999): Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology* 53, 33–41.

Bover-Cid S., Izquierdo-Pulido M., Vidal-Carou M. C. (2000): Influence of hygienic quality of raw materials on biogenic amine production during ripening and storage of dry fermented sausage. *Journal of Food Protection* 63, 1544–1550.

Komprda T., Smělá D., Novická K., Kalhotka L., Šustová K., Pechová P. (2007): Content and distribution of biogenic amines in Dutch – type hard cheese. *Food Chemistry* 102, 129–137.

Křížek M., Kalač P. (1998): Biogenic amines in foods and their roles in human nutrition. *Czech Journal of Food Science* 16, 151–159.

Martuscelli M. et al., (2005): Production of biogenic amines during the ripening of Pecorino Abruzzese cheese. *International Dairy Journal* 15, 6–9: 571–578.

Novella-Rodríguez S. et al., (2004): Evaluation of biogenic amines and microbial counts throughout the ripening of goat cheeses from pasteurized and raw milk. *Journal of Dairy Research* 71, 245–252.

Roig-Sagués A.X. et al., (2002): Histamine and tyramine forming microorganisms in Spanish traditional cheeses. *European Food Research and Technology* 215, 96–100.

Schneller R., Good P., Jenny M. (1997): Influence of pasteurised milk, raw milk and different cultures on biogenic amine concentrations in semi-soft cheeses during ripening. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung A* 204, 265–272.

Velíšek J.: *Chemie potravin* 3. 2. vyd. Tábor: OSSIS, 2002. 368 s. ISBN 80-86659-03-8.

PROBIOTIC CULTURES IN DRY FERMENTED SAUSAGES AND THEIR INFLUENCE ON THE CONTENT OF BIOGENIC AMINES

PROBIOTICKÉ KULTURY VE FERMENTOVANÝCH SALÁMECH A JEJICH VLIV NA OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ

Hoferková P., Burdychová R., Bubeníčková A., Dohnal V.

Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: p.hoferkova@seznam.cz, burdycho@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this work was to study the effect of probiotic bacteria *L. casei* on the content biogenic amines in dry fermented sausages „Paprikáš“ taken from two different producers. Probiotic bacteria *L. casei* was combined with starter cultures (*Staphylococcus carnosus* and *Lactobacillus curvatus*). To monitor the biogenic amines tyramine, histamine, putrescine and cadaverine, HPLC method with UV detection was used. The content of biogenic amines was monitored during fermentation (0-28 days) and storage (28-49) of fermented sausages. In both producers, the numbers of *L. casei* reached 10^4 CFU/g during the fermentation (0-28) and they remained relatively constant during the storage (28-49). We also observed the total numbers of LAB, which reached 10^7 - 10^8 CFU/g during the first 14 days of the fermentation and then were about 10^6 - 10^7 CFU/g during the rest of the fermentation and storage. A positive influence on the reduction of biogenic amines was observed in both producers except for the producer No. 2, where a higher number of putrescine was found in comparison with the situation when no probiotic culture was added.

Key words: biogenic amines, HPLC, *L. casei*, fermented sausages

ÚVOD

Jedním z nejdůležitějších aspektů při výrobě fermentovaných salámů je typ použité startovací kultury. Ovlivňují hlavně kvalitu výrobku (chutnost, barva, textura, údržnost, obsah nitrátů), nezávadnost výrobků (minimalizace rizik spojených s výskytem patogenů) a výrobní postup (zkrácení doby zrání a standardizace doby zrání) (Nápravníková, 2005). Startovací kultury jsou směsi převážně bakterií mléčného kvašení (*Lactobacillus*, *Pediococcus*) a kataláza-pozitivních koků (*Staphylococcus*, *Micrococcus*), namíchané dle požadovaných finálních vlastností výrobku (Lücke, 2000).

V posledních letech se intenzivně zkoumá možnost přidávání probiotických kultur do fermentovaných salámů. Je prokázáno, že při pravidelné konzumaci v dostatečném množství probiotika výrazně ovlivňují střevní mikroflóru hostitele a mají tak pozitivní vliv na jeho zdraví (Fuller, 1997). Probiotické bakterie, které se dnes používají v komerčních produktech, patří hlavně do rodů *Lactobacillus* a *Bifidobacterium* (Heller, 2001).

K toxikologicky nejvýznamnějším biogenním aminům patří tyramin, histamin, kadaverin a putrescin. U masných výrobků s dlouhou dobou zrání může docházet k přeměně volných aminokyselin na toxické biogenní aminy, a to i činností mikrobiálních dekarboxyláz. Ve fermentovaných masných výrobcích mohou být mikroorganismy s dekarboxylázovou aktivitou přítomny jako součást přirozené mikroflóry nebo startovací kultury (Shetty et al., 2006). Tvorbě biogenních aminů ve fermentovaných salámech lze zabránit použitím vybraných startovacích mikroorganismů, které netvoří biogenní aminy a zároveň jsou schopny potlačovat růst přirozené mikroflóry s dekarboxylázovou aktivitou (Suzzi a Gardini, 2003). Také při plánovaném použití probiotických kultur pro výrobu fermentovaných potravin je schopnost tvořit biogenní aminy nežádoucí (Burdychová a Dohnal, 2008).

MATERIÁL A METODIKA

Základní surovinu pro výrobu fermentovaného salámu „Paprikáš“ tvořilo 20% hovězího, 80% vepřového masa a sádla, 4 % kuchyňské soli, 6,6 % dextrosy, 2,4 % dusitanové solící směsi, 0,65 % E316, 8,8 % směsi koření (pepř černý mletý, hřebíček mletý, glutaman, česnek granulovaný, hořčičná mouka), 0,25 % startovací kultury FU2 (směs *Lactobacillus curvatus*, *Staphylococcus carnosus*) a 0,25 % probiotické kultury *L. casei* (Sacco, Itálie). U kontrolních výrob (kontrola 1 a 2) nebyly použity probiotické mikroorganismy. Zamíchané dílo bylo naraženo do naturinových střev, které byly vloženy do forem a klimatizovány na 26–27 °C 5 hodin. V dalším kroku byly salámy vyjmuty z forem, omyty a zauzeny v udírně při 26–24 °C po dobu šesti dnů a poté dány do zrací komory k dosoušení při 11–13 °C (relativní vlhkost vzduchu 75 %) po dobu 4–5 týdnů.

Pro detekci biogenních aminů bylo naváženo 10 g každého vzorku do plastové zkumavky. Ke každému vzorku byl přidáno 500 µl roztoku vnitřního standardu 1,7-diaminoheptanu (1 mg/ml). Dále bylo přidáno 15 ml 5 % kyseliny trichloroctové a každý vzorek byl dvě minuty vortexován na vortexu Heidolph Diax 900 (Heidolph Instruments, Německo). Patrony se vzorkem byly po dobu 10 minut odstředovány při 3000 ot./min při 4 °C. Supernatant byl filtrován přes papírový filtr (Filtrak no. 390) do 50 ml odměrné baňky,

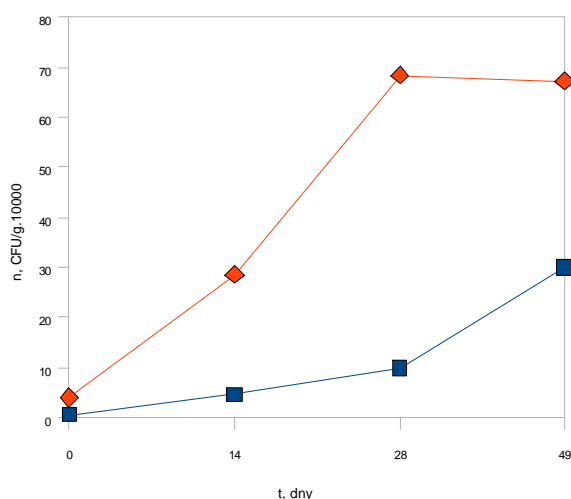
jejíž obsah byl doplněn 5 % kyselinou trichloroctovou. Celý postup se opakoval třikrát. 1 ml filtrátu byl odebrán do violky, smíchán s 0,5 ml saturované NaHCO₃ a derivatizován 1 ml acetonového dansylchloridu (5mg/ml) po dobu 1 hodiny při 40 °C. Nadbytek nezreagovaného činidla byl odstraněn reakcí s 250 µl 10mM NH₃. Derivatizované biogenní aminy byly extrahovány diethyletherem (3x1 ml), extrakt byl odpařen pod dusíkem, a bylo k němu přidáno 500 µl acetonitrilu. Biogenní aminy byly stanoveny pomocí HPLC s UV detekcí.

Odběr a zpracování vzorku pro mikrobiologické vyšetření bylo provedeno dle platných ČSN norem. Bakterie mléčného kvašení (LAB) byly izolovány na MRS agaru (Merck, Německo). Počty *L. casei* byly stanoveny na MRS agaru (Noack, Francie) s obsahem 112 mg/l moxalactamu (Sigma-Aldrich, Německo). Misky byly inkubovány anaerobně při 37 °C po dobu 3 dnů.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Pozitivní účinky probiotických bakterií na lidský organismus závisí na schopnosti probiotik zůstat životaschopné a kolonizovat povrch buněk lidského střeva (Shetty et al., 2006). Aby bylo dosaženo kladných účinků na lidské zdraví je třeba zkonzumovat 10⁷ až 10⁹ životaschopných buněk probiotických bakterií denně, což znamená alespoň 100 g potravin s minimálním obsahem 1 milion probiotických bakterií v 1 g nebo 1 ml (Shah, 2000).

U obou výrobců dosáhly počty *L. casei* v průběhu zrání (0-28 dnů) hodnot 10⁴ CFU/g a v průběhu skladování (28-49 dnů) zůstaly poměrně konstantní (Obr.1). Počty *L. casei* mohou být ovlivněny přítomností solí, neboť je známo, že probiotické kultury jsou citlivé na sůl (Andersen, 1998). Byly sledovány také celkové počty LAB, které během prvních 14 dnů zrání dosahovaly hodnot 10⁷-10⁸ CFU/g a v dalším průběhu zrání a skladování se pohybovaly kolem 10⁶-10⁷ CFU/g (výsledky neuvedeny).

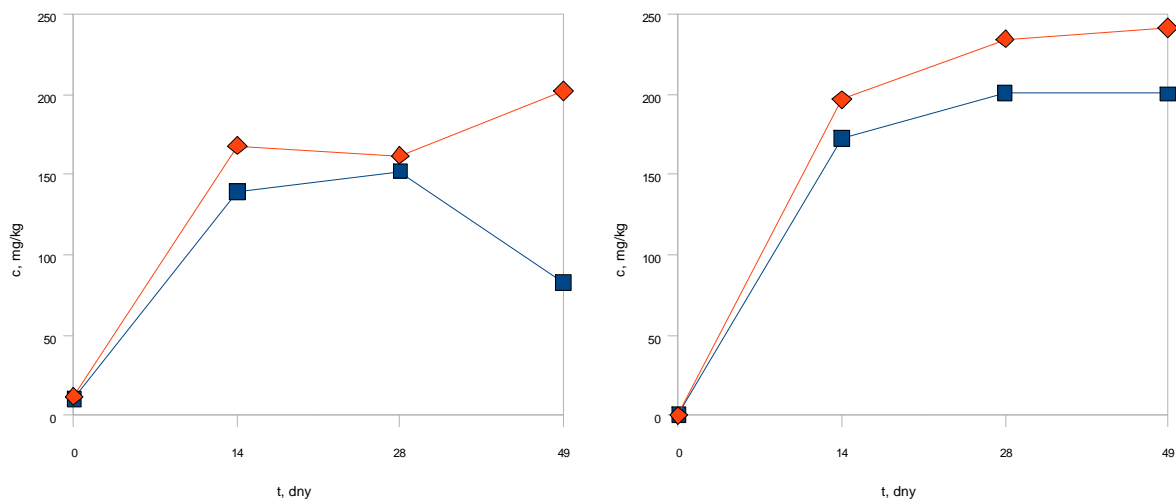


Obr. 1 Počty *L. casei* ve fermentovaném salámu „Paprikáš“ v průběhu zrání a skladování; ■ výrobce 1, ◆ výrobce 2

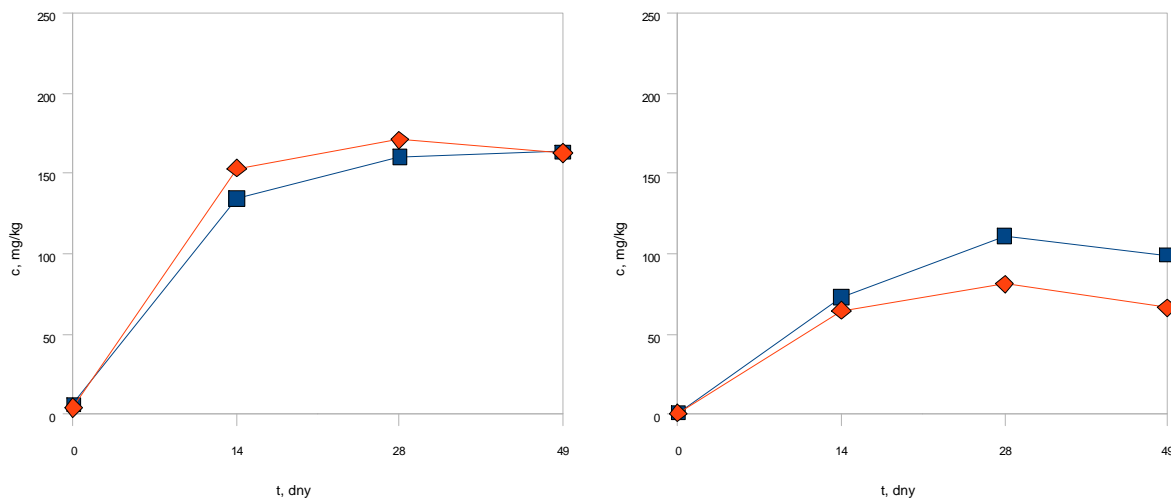
Pro obsah biogenních aminů ve fermentovaných masných výrobcích je charakteristická značná variabilita. Salámy se srovnatelnými mikrobiologickými profily se mohou lišit v obsahu biogenních aminů, neboť tvorba těchto sloučenin je výsledkem působení celé řady faktorů (Suzzi a Gardini, 2003). Kromě enzymatické aktivity přítomných mikroorganismů je přítomnost biogenních aminů dána také fyzikálně-chemickými vlastnostmi výrobku (pH, a_w , volné aminokyseliny) a technologickými podmínkami (teplota, startovací mikroorganismy, hygienická kvalita surovin a výrobního prostředí).

V naší studii jsme analyzovali salám typu „Paprikáš“ pocházející od dvou různých výrobců. Mezi výrobci byly zaznamenány značné rozdíly, ale pouze v hodnotách některých biogenních aminů (hlavně u kadaverinu). Tvorba tohoto biogenního aminu se spojuje hlavně s dekarboxylázami mikroorganismů čeledi *Enterobacteriaceae* (Shetty et al., 2006), rozdíl mezi výrobci lze proto vysvětlit například horší hygienickou kvalitou surovin u výrobce 1 (Obr. 2 a 3). Zatímco množství histaminu bylo ve všech salámech zanedbatelné (do 4,1 mg/kg), nejvyšších hodnot dosahovaly koncentrace tyraminu (až 242 mg/kg). Histamin je tvořen hlavně čeledí *Enterobacteriaceae*, avšak tyramin tvoří i některé LAB, včetně některých kmenů *L. curvatus* a dalších kmenů rodu *Lactobacillus* (Suzzi a Gardini, 2003).

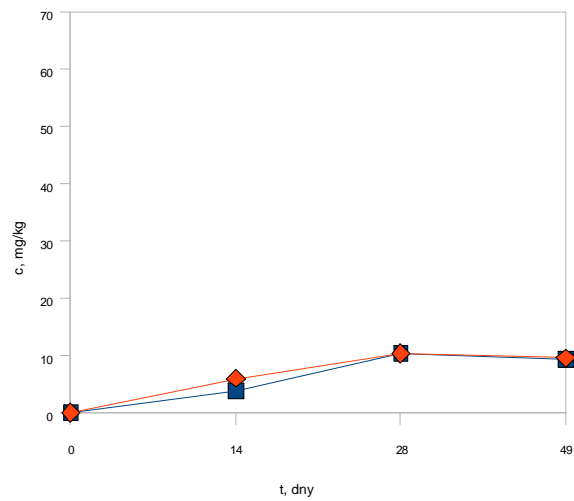
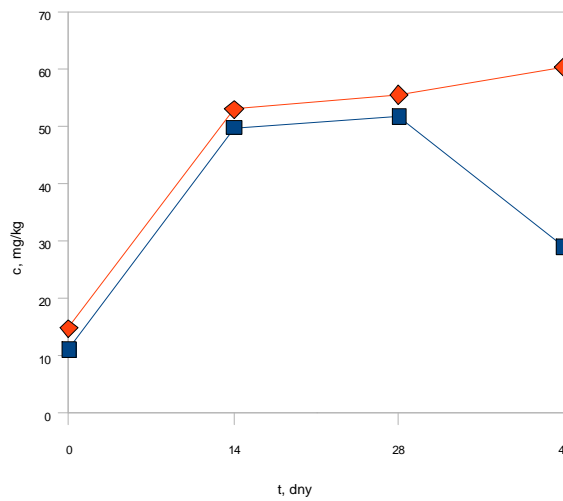
A



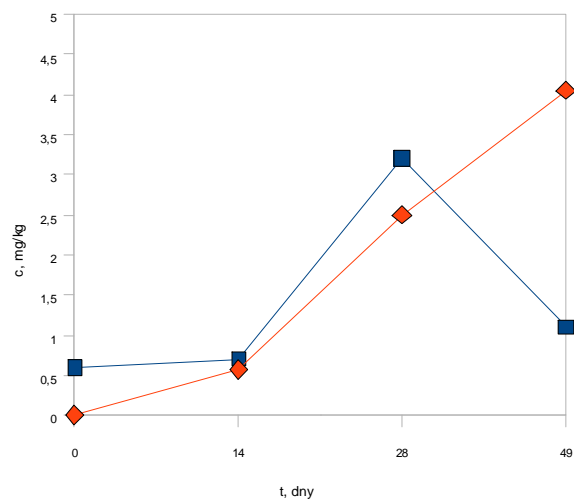
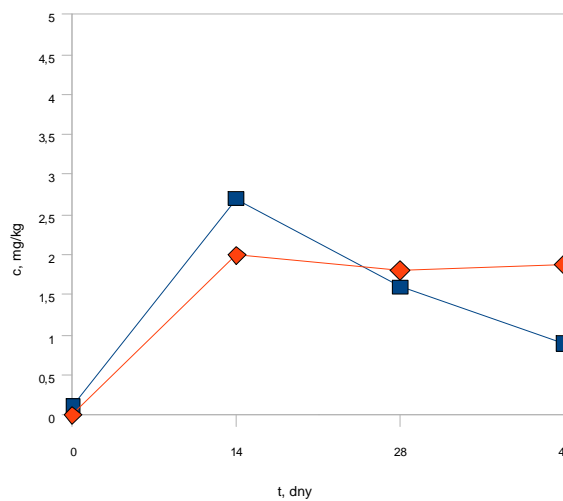
B



C



D



Obr. 2 Biogenní aminy během zrání (0-28) a skladování (28-49) v salámech typu „Paprikáš“ u výrobce č. 1
 Obr. 3 Biogenní aminy během zrání (0-28) a skladování (28-49) v salámech typu „Paprikáš“ u výrobce č. 2

(A) koncentrace tyraminu, (B) koncentrace putrescinu, (C) koncentrace kadaverinu, (D) koncentrace histaminu
 (A) koncentrace tyraminu, (B) koncentrace putrescinu, (C) koncentrace kadaverinu, (D) koncentrace histaminu

■ FU2, ♦ kontrola

■ FU2, ♦ kontrola

ZÁVĚR

Probiotická kultura *L. casei* (Sacco, Itálie) se ukázala být v kombinaci s použitou startovací kulturou v trvanlivém fermentovaném salámu jako velmi vhodná, vzhledem k prokazatelnému účinku na snížení obsahu biogenních aminů a to u obou výrobců. Pouze v jednom případě se toto nepotvrdilo.

LITERATURA

Andersen L. (1998): Fermented dry sausages produced with the admixture of probiotic cultures. In: 44 ed. International Commitment of Meat Science and Technology, Anais.: 826-827.

Burdychová R., Dohnal V. (2008): Skrining probiotických kultur určených pro výrobu fermentovaných potravin na schopnost tvorby biogenních aminů. Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis, LVI 1: 25-30.

Fuller R.(1997): Introduction. In Probiotics 2: Applications and practical aspects Edited by: Fuller R., New York, Chapman Hall: 1–9.

Heller KJ. (2001): Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. American Journal of Clinical Nutrition, 73: 374-379.

Lücke F. K. (2000): Utilization of microbes to process and preserve meat. Meat Sci., 56: 105–15.

Nápravníková E. (2005): Technologie trvanlivých fermentovaných masných výrobků - pohled mikrobiologa. Sborník ze semináře o údržnosti masa a masných výrobků, Praha: 27-30.

Shah N. P. (2000): Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. J. Dairy Sci., 83: 894-907.

Shetty K., Paliyath G., Pometto A., Levin R. (2006): Food Biotechnology, CRC Press: 1982.

Suzzi G., Gardini F. (2003): Biogenic amines in dry fermented sausages: a review. International Journal of Food Microbiology 88: 41-54.

CONTAMINATION OF FEEDSTUFFS BY PHTHALIC ACID ESTERS

KONTAMINACE KRMIV ESTERY KYSELINY FTALOVÉ

Krátká L., Jarošová A., Stancová V.

Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: krtaska@seznam.cz, ualja@mendelu.cz

ABSTRACT

Phthalic acid esters (PAEs) are a class of widely used industrial compounds. PAEs may be found in some types of flooring, medical devices, children's toys, packaging etc. From packaging and environment PAEs get into feedstuffs. The aim of my investigation was to determine the occurrence and contents of DBP (dibutyl phthalate) and DEHP (diethylhexyl phthalate) in feedstuffs. Samples of feedstuffs (n=46) were taken from the industrial producers in the Czech Republic. At first samples were extracted by organic solvents to get the fat. Co-extracts were removed by gel permeation chromatography (GPC). The eluate was cleaned by hydrated sulphuric acid and analysed by HPLC. Measured concentrations DBP, DEHP and \sum DBP+DEHP varied according to fat content. In raw materials levels of \sum DBP+DEHP ranged between $< 0,03 \text{ mg.kg}^{-1}$ (detection limit) in soybean extracted meal and soybean oil ($148,2 \text{ mg.kg}^{-1}$). Feed additives contained lower amounts of \sum DBP+DEHP – from $0,18 \text{ mg.kg}^{-1}$ (Alimet) to $1,59 \text{ mg.kg}^{-1}$ (Glycerin E 422). Analysed concentrations in premixes were between detection limit (Premix – fytasa) and $22,94 \text{ mg.kg}^{-1}$ (Euromold Sal). The highest levels were measured in samples with high fat content and according to group of feedstuffs, the most contaminated were raw materials.

Key words: phthalate acid esters, feedstuffs, DBP, DEHP

Acknowledgments: This study was carried out within the scope of project NAZV QG60066/2005, supported by the Department of Agriculture, Res. & Dev., Czech Republic.

ÚVOD

Estery kyseliny ftalové (PAEs) patří mezi významné kontaminující cizorodé látky životního prostředí a potravního řetězce (KLÖPFER, 1994). Jsou to sloučeniny alkoholu a kyseliny ftalové. Mají charakter kapaliny olejovité konzistence, bezbarvé, bez zápachu. Většina ftalátů se používá pro výrobu měkkých a pružných vinylů (www.phthalates.org, 2008). Změkčovadla nejsou v polymeru chemicky vázána, může tedy docházet k jejich uvolňování do okolního prostředí. Díky široce rozšířenému použití měkčených PVC pro technické účely a pro obalové materiály pro potraviny, jsou ftaláty produkovány v obrovském množství. Zdroje kontaminace ftaláty s významem pro potravinové materiály jsou atmosférická depozice obilnin, odpadní vody obsahující ftaláty a PVC podlahové materiály v průmyslu a domácnostech, které uvolňují ftaláty během používání (PETERSEN, 2003). Díky lipofilnímu charakteru se ftaláty kumulují především v potravinách s vysokým obsahem tuku (TSUMURA *et al.*, 2001).

Lidé jsou vystaveni ftalátům zejména z kontaminovaných potravin, mořských produktů, vody nebo kontaminovaného vzduchu, ale i např. dialýzou (WHO, 2003).

Při dlouhodobé expozici byly prokázány negativní účinky jako teratogenita, embryotoxicita, heptato- a nefrotoxicita, karcinogenita (WORMUTH *et al.*, 2006).

MATERIÁL A METODIKA

Pro analýzu byly odebrány vzorky krmiv, premixů a doplňkových látek pro hospodářská zvířata v roce 2007 kvalifikovaným pracovníkem ÚKZÚZu, oddělení krmiv, Národní referenční laboratoří, Regionální oddělení Opava. Vzorky byly odebírány do mikrotenových sáčků nebo do zábrusových lahví (tekuté vzorky). Byly odebrány u výrobců krmiv, nebo u evidovaných výrobních provozů ze skladu přijatých krmiv, z expedičních skladů, z příjmových skladů a vícekomponentních vah.

Pro stanovení PAE v krmivech byly použity ověřené metody (JAROŠOVÁ, 2004). Homogenizované vzorky byly extrahovány směsí rozpouštědel hexan:aceton (1:1). Po odpaření u vzorků s vysokým obsahem tuku byla provedena separace PAE pomocí gelové permeační chromatografie. Koextrakty byly odděleny pomocí mobilní fáze dichlormethan:cyklohexan (1:1) na gelu Bio-beads S-X3. Zahuštěné vzorky se přečistily koncentrovanou kyselinou sírovou a rozpustily v acetonitrilu pro HPLC stanovení na koloně Separon SGX C 18 s UV detekcí při 224 nm. Mobilní fází byl acetonitril: voda (9:1).

Pro stanovení chromatografického pozadí byl souběžně s každou sadou vzorků prováděn slepý vzorek. Velmi důležitá je také čistota skla a laboratorního materiálu.

Pro výpočet výsledků se měřily plochy píků a koncentrace DBP a DEHP se odečetly z kalibrační přímky, která se kontrolovala s každou sérií vzorků. K vyhodnocení výsledků byl použit program Agilent Chemstation for LC and LC/MS systems. Výsledky jsou uvedeny v $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ původní hmoty. Detekční limit pro PAEs v krmivech je $0,03 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Bylo analyzováno 46 vzorků krmiv (krmných surovin, doplňkových látek a premixů). Stanovené koncentrace jsou rozděleny do tabulek podle druhu krmiva (Tab. 1-3). Koncentrace PAEs v krmných surovinách jsou patrné z Tab. 1. Obsahy DBP se pohybovaly od hodnot nižších než detekční limit (rybí moučka, sójový extrahovaný šrot a kukuřičné zrno - siláž) po hodnotu 22,42 mg.kg⁻¹ u živočišného tuku. Vysoké hodnoty byly také stanoveny u rybího, sójového a slunečnicového oleje. Hodnoty DEHP se vyskytovaly maximálně v řádech jednotek s výjimkou sójového oleje, kde bylo naměřeno 139,66 mg DEHP.kg⁻¹. Celková suma stanovovaných ftalátů byla tedy významná u sójového oleje (148,2 mg.kg⁻¹), ale i živočišného tuku (23,32 mg.kg⁻¹) a palmového tuku (12,22 mg.kg⁻¹).

Tab. 1 Koncentrace DBP, DEHP a Σ DBP+DEHP v krmných surovinách

VZOREK Č.	NÁZEV KRMIVA	DBP (mg.kg ⁻¹)	DEHP (mg.kg ⁻¹)	Σ DBP+DEHP (mg.kg ⁻¹)
1	pšenice	0,44	0,08	0,52
2	ječmen	0,54	1,54	2,08
3	řepka	0,54	0,91	1,45
4	kukuřice	0,26	0,09	0,35
5	slunečnicový olej - volně	0,5	< 0,03	0,5
6	živočišný tuk - volně	0,33	< 0,03	0,33
7	rybí moučka - volně	< 0,03	0,04	0,04
8	plná sušená drůbeží krev	0,33	0,07	0,4
9	slunečnicový olej - volně	7,97	0,92	8,89
10	sójový olej	8,54	139,66	148,2
11	živočišný tuk	22,42	0,9	23,32
12	rybí moučka - volně	0,09	0,31	0,4
13	vepřová plná sušená krev	1,13	0,06	1,19
14	rybí olej	9,97	1,32	11,29
15	slunečnicové expelery - volně	0,88	0,57	1,45
16	sójový extrahovaný šrot	0,57	0,81	1,38
17	cukrovkové řízky sušené	1,7	1,65	3,35
18	řepkový extrahovaný šrot	0,33	0,35	0,68
19	sójový extrahovaný šrot - soypass	< 0,03	< 0,03	< 0,03
20	kukuřičné zrno - siláž	< 0,03	0,97	0,97
21	lněné semeno - extrudované	0,77	3,08	3,85
22	saponifikovaný RV tuk	0,14	0,39	0,53
23	palmový tuk	7,94	4,28	12,22
24	RV olej palmový - energizer	0,26	< 0,03	0,26
25	sójový extrahovaný šrot	0,05	< 0,03	0,05
26	pšenice zrno	0,07	< 0,03	0,07
27	ječmen zrno	0,07	0,03	0,1
28	ječmen zrno	0,16	< 0,03	0,16
29	oves zrno	0,13	0,03	0,16
30	sója semeno	0,1	< 0,03	0,1
31	pšenice zrno	0,06	< 0,03	0,06
32	kukuřice zrno	0,22	0,16	0,38
33	kukuřice zrno	0,11	< 0,03	0,11
34	lososový olej	3,65	0,61	4,26

Výsledky analýzy u doplňkových látek jsou uvedeny v Tab. 2. Hodnoty DBP se pohybovaly od 0,18 mg.kg⁻¹ (Alimet) po 0,68 mg.kg⁻¹ (L-lysin), DEHP dosahoval hodnot nižších než detekční limit až 1,2 mg.kg⁻¹ u Glycerinu E 422. Sumy obou ftalátů byly velmi nízké, max. 1,59 mg.kg⁻¹ u Glycerinu E 422.

Tab. 2 Koncentrace DBP, DEHP a Σ DBP+DEHP v doplňkových látkách

VZOREK Č.	NÁZEV KRMIVA	DBP (mg.kg ⁻¹)	DEHP (mg.kg ⁻¹)	Σ DBP+DEHP (mg.kg ⁻¹)
35	Cholinchlorid	0,25	< 0,03	0,25
36	L-lysin	0,68	< 0,03	0,68
37	Alimet	0,18	< 0,03	0,18
38	Lignobond DD	0,45	0,11	0,56
39	Myco-AD tm A-Z	0,38	0,08	0,46
40	Glycerin E 422 (Glycoplus)	0,39	1,2	1,59

Stanovené koncentrace esterů kyseliny ftalové v premixech jsou shrnuty v Tab. 3. Hodnoty DBP i DEHP byly nízké kromě Euromold Sal (20,51 mg DBP.kg⁻¹ a 2,43 mg DEHP.kg⁻¹), celková suma Σ DBP+DEHP dosáhla 22,94 mg.kg⁻¹.

Tab. 3 Koncentrace DBP, DEHP a Σ DBP+DEHP v premixech

VZOREK Č.	NÁZEV KRMIVA	DBP (mg.kg ⁻¹)	DEHP (mg.kg ⁻¹)	Σ DBP+DEHP (mg.kg ⁻¹)
41	Euromold Sal	20,51	2,43	22,94
42	Acidomix	0,34	0,13	0,47
43	Premix - fytázy	< 0,03	< 0,03	< 0,03
44	Premix - Calprona AL	0,43	< 0,03	0,43
45	Myco-curb-dry	0,48	1,19	1,67
46	Premix antioxidantů	0,56	0,76	1,32

ZÁVĚR

Bylo potvrzeno, že nejvíce se ftaláty kumulují v krmivech s vysokým obsahem tuku. Z krmných surovin byl nejvíce kontaminovaným vzorkem sójový olej (148,2 mg.kg⁻¹), živočišný tuk, palmový tuk a rybí olej dosahovaly hodnoty nad 10 mg.kg⁻¹, ostatní vzorky jednotky mg.kg⁻¹. Krmné suroviny ve srovnání s ostatními skupinami obsahovaly vyšší množství ftalátů. Nejvyšší stanovená koncentrace Σ DBP+DEHP u doplňkových látek byla 1,59 mg.kg⁻¹ u Glycerinu E 422. Ostatní množství se pohybovaly v řádech desetin mg.kg⁻¹. Premixy také obsahovaly poměrně nízká množství PAEs s výjimkou vzorku Euromold Sal (22,94 mg.kg⁻¹).

KRÁTKÁ *et al.* (2008) uvádí ve své práci velmi podobné hodnoty – např. sójový olej obsahoval 131,42 mg Σ DBP+DEHP.kg⁻¹. Také u analýzy pšenice se hodnoty příliš neliší. Naměřená hodnota 0,52 mg.kg⁻¹ se blíží hodnotám 0,62, resp. 0,66 mg.kg⁻¹.

V České republice nejsou stanoveny limity pro ftaláty v potravinách ani v krmivech.

Tato práce vznikla za podpory grantu NAZV č. QG60066/2005.

LITERATURA

Jarošová A. (2004): Polychlorované bifenily a estery kyseliny ftalové v potravním řetězci. Habilitační práce, MZLU. Brno, 137 s.

Klöpffer W. (1994): Environmental hazard, assesment of chemicals and products. II. Persistence and degradability of organic chemicals. *Environ Sci Pollut Res.*, 1: 108-116.

Krátká L., Jarošová A., Malyszová J., Stancová V., Harazim J. The occurence of phthalic acid esters in selected feedstuffs. *Chemické listy*, v tisku.

Petersen J.H. (2003): Migration of compounds from food contact materials and articles. Food Safety – Contaminants and toxins, 271-291.

Phthalates – the Basics. Citováno [2007-02-09]. Dostupné z <<http://www.phthalates.org>>

Tsumura Y., Ishimitsu S., Namakura Z., Yoshii K., Kaihara A., Tonogai Y. (2001): Contents of eleven phthalates and di(2-ethylhexyl)adipate in retail packed lunches after prohibition of DEHP-containing PVC gloves for cooking purposes. *J. Food Hygienic Society of Japan*, 42 (2): 128-132.

WHO (2003): Diethyl phthalate. Concise International Chemical Assesment Document 52.

Wormuth M., Scheringer M., Vollenweider M., Hungerbuhler K. (2006): What are the sources of exposure to eight frequently used phthalic acid esters in Europeans? Risk analysis, 803-824.

SELECTED FACTORS INFLUENCING BIOGENIC AMINE CONTENT IN FERMENTED MEAT PRODUCTS

VYBRANÉ FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ OBSAH BIOGENNÍCH AMINŮ VE FERMENTOVANÝCH MASNÝCH VÝROBCÍCH

Sládková P., Petirová E., Komprda T., Dohnal V., Kaláb J.

Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: sladkopavla@seznam.cz, komprda@mendelu.cz

ABSTRACT

The objectives of the study was to evaluate an effect of selected factors (2 producers, 2 starter cultures, 2 diameters of products and 2 spice mixtures) on growth of bacteria with supposed ability to form biogenic amines (genus *Enterococcus*, lactic acid bacteria [LAB], total anaerobic counts [TAC]). The samples were taken during fermentation (0 – 28 days) and during storage until 112 days. Respective Czech national norms (ČSN) were used to determine the microorganisms. Biogenic amines (tyramine, histamine, phenylethylamine, cadaverine, putrescine, spermidine, spermine) were determined by the HPLC method. At the end of fermentation (28th day), the tyramine content exceeded the toxicological limit of 100 mg kg⁻¹ in all products, varied between 145 – 285 mg kg⁻¹ and was influenced (P<0.05) by producer and starter culture, respectively. TAC were significantly (P<0.05) influenced by producer, *Enterococcus* counts by starter culture. Tyramine content was negatively correlated (P<0.05) to TAC (r = -0.19) and enterococci (r = -0.33). Non-existent or negative correlations between biogenic amine content and the TAC, LAB, and *Enterococcus* counts, respectively, indicate that the ability to decarboxylate amino acids is characteristic only to selected strains of respective microorganisms. Therefore we recommend to use the methods of molecular biology (detection of sequences of genes for respective decarboxylases with PCR) to identify the producers of biogenic amine in fermented products. These data are currently being analysed.

Key words: biogenic amine, tyramine, HPLC, *Enterococcus*

ÚVOD

Fermentovaným trvanlivým masným výrobkem (FTMV) rozumíme podle vyhlášky 326/2001 výrobek tepelně neopracovaný určený k přímé spotřebě, u kterého v průběhu fermentace, zrání, sušení popřípadě uzení za definovaných podmínek došlo ke snížení vodní aktivity vody na hodnotu a_w (max.) = 0,93, s minimální dobou trvanlivosti 21 dní při teplotě plus 20°C .

Biogenní aminy (BA), jsou nízkomolekulární bazické dusíkaté látky vznikající v potravinách a potravinových surovinách nejčastěji dekarboxylací aminokyselin působením dekarboxylačních enzymů. Mezi základní podmínky vzniku biogenních aminů patří přítomnost aminokyselinového substrátu, výskyt mikroorganismů s dekarboxylázovou aktivitou a nastolení vhodných podmínek pro růst a množení mikroorganismů (Křížek et al., 1998). Některé biogenní aminy mají v organismu člověka a živočichů významné fyziologické funkce (zdroj dusíku, prekurzory některých hormonů aj.). Z pohledu hygieny slouží biogenní aminy jako indikátor stupně kažení potravin. Z toxikologického hlediska mohou být BA prekurzory karcinogenních N-nitroso sloučenin. Mezi toxikologicky nejvýznamnější biogenní aminy patří tyramin a histamin (Bover-Cid et al., 2000). Tyramin zvyšuje krevní tlak, způsobuje u rizikových konzumentů migrenózní bolesti hlavy, krvácení do mozku a selhání srdce. Toxikologický limit je 100 mg kg⁻¹.

Některé biogenní aminy (spermidin, spermin) se účastní regulace buněčného růstu a díky těmto vlastnostem jsou studovány v souvislosti s procesem karcinogeneze.

Organismus člověka má k dispozici detoxikační mechanismy, které ale nejsou dostačující v případě některých konzumentů (alergici, pacienti konzumující inhibitory monoaminoxidázy [MAO]) nebo při příliš vysokém příjmu biogenních aminů v potravě.

MATERIÁL A METODIKA

V rámci pokusu byly analyzovány FTMV od dvou různých výrobců (K a R). U výrobků byly použity dvě různé kořenící směsi s označením P (paprikáš) a H (herkules). Při výrobě salámů byly dále použity dvě různé startovací kultury *Pediococcus pentosaceus* (C) a *Lactobacillus curvatus* + *Staphylococcus carnosus* (F). Fermentované salámy byly vyráběny o dvou průměrech: 7 cm (S), resp. 4,5 cm (U). Bylo porovnáno celkem 16 kombinací výrobků (KPCU – RHFS). Vzorky byly odebírány po dobu 5 měsíců, v průběhu zrání (0 – 28 dní) a následně do 112 dne skladování. Stanovení rodu *Enterococcus*, celkového počtu mikroorganismů a bakterií mléčného kvašení bylo provedeno v mikrobiologické laboratoři ústavu Technologie potravin dle příslušných ČSN. Bakterie mléčného kvašení (LAB) byly izolovány na MRS agaru (NOACK) a inkubovány při 30 °C po dobu 72 hodin, celkové počty mikroorganismů (CPM) na Plate Count Agar (PCA; NOACK) při 30 °C po dobu 72 hodin a enterokoky na Slanetz-Bartley agaru s TTC suplementem (NOACK) při 37 °C po dobu 48 hodin. Obsah tyraminu, histaminu, fenyletylaminu, kadaverinu, putrescinu, spermidinu, sperminu byl stanoven vysokotlakou kapalinovou chromatografií s UV detekcí po derivatizaci dansylchloridem (Smělá et al., 2004). V rámci pokusu byly stanoveny pomocné ukazatele pH,

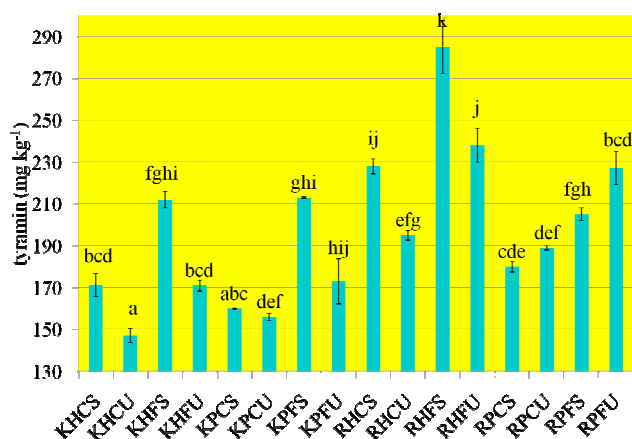
a_w , obsah sušiny. Při zpracování výsledků bylo použito jednostupňové třídění analýzy rozptylu, a dále regresní a korelační analýza.

VÝSLEDKY A DISKUSE

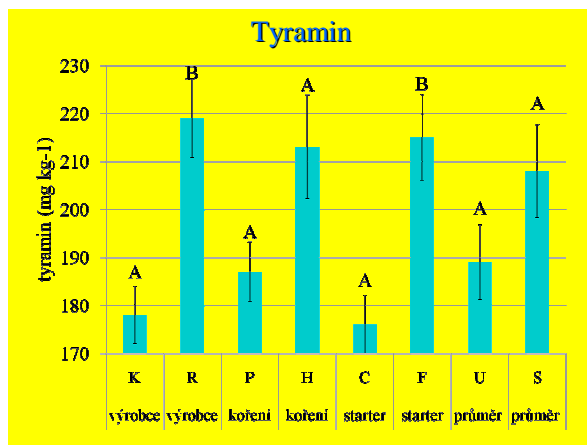
Obsah tyraminu po ukončení zrání (28. den) byl ovlivněn kalibrem (průměrem) střeva FTMV (obr. 1). Salámy naražené do střev širšího kalibru obsahovaly u většiny vzorků více ($P < 0,05$) tyraminu ve srovnání s kalibrem užších střev. Předkládané výsledky potvrzují údaje Bover-Cid et al. (1999). Obsah tyraminu ve všech výrobcích překračoval po ukončení zrání toxikologický limit 100 mg kg^{-1} . Pohyboval se v rozmezí $145 - 285 \text{ mg kg}^{-1}$ a byl ovlivněn ($P < 0,05$) výrobcem, resp. startovací kulturou (obr. 2). Hypotéza o vlivu koření směsi na produkci tyraminu se nepotvrdila (rozdíl mezi C- a F-salámy byl neprůkazný, z obrázku 2 je však patrná silná tendence koření směsi P snižovat obsah tyraminu ve srovnání s kořením H). Celkový počet mikroorganismů byl průkazně ($P < 0,05$) ovlivněn výrobcem, počet enterokoků startovací kulturou (obr. 3, 4).

Obsah tyraminu byl v negativním vztahu ($P < 0,05$) k celkovému počtu mikroorganismů ($r = -0,19$) i k počtu enterokoků ($r = -0,33$). Ostatní biogenní aminy měly podobné vztahy, tj. záporné nebo neprůkazné korelace. Korelační koeficienty obsahu polyaminů spermidinu a sperminu na jedné straně a počtů CPM, LAB a enterokoků na straně druhé byly sice kladné a relativně vysoké (rozmezí $+0,25$ až $+0,48$), tyto biogenní aminy se ale netvoří působením bakterií. Z výsledků korelační analýzy tedy plyne, že vysvětlení obsahu biogenních aminů na základě celkových počtů aerobních MO, LAB, resp. enterokoků není možné.

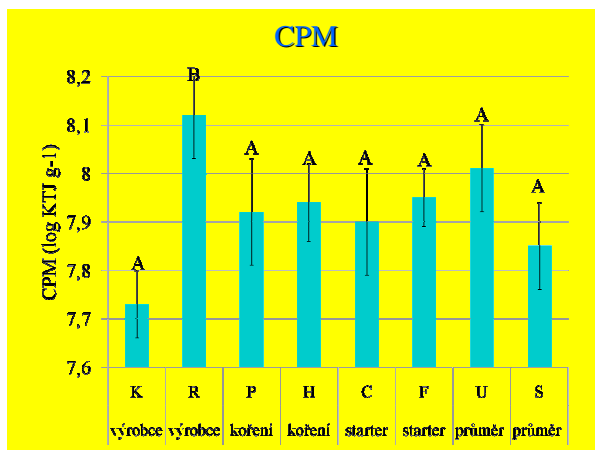
Obr. 1. Porovnání obsahu tyraminu v jednotlivých kombinacích výrobků po ukončení zrání (28. den) [$n = 2$; průměry označené různými písmeny se průkazně ($P < 0,05$) liší]



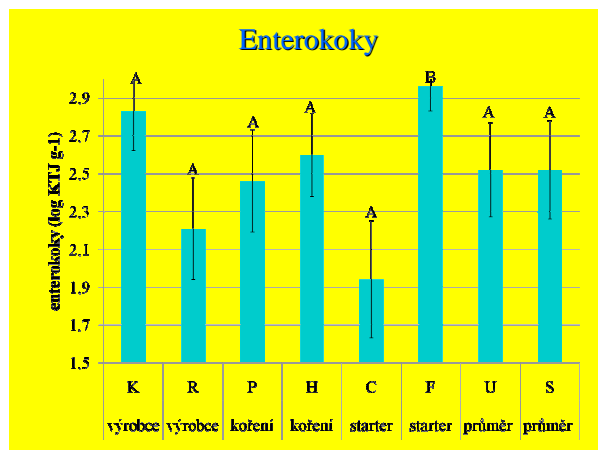
Obr. 2. Vliv sledovaných faktorů na obsah tyraminu (posuzovány celkové soubory výrobků po 28. dni zrání, $n = 16$; např. průměr všech vzorků daného výrobce bez ohledu na koření, starter nebo kalibr byl porovnán s průměrem odpovídajícího souboru výrobků druhého výrobce) [průměry označené různými písmeny v rámci daného ukazatele se průkazně ($P < 0,05$) liší]



Obr. 3. Vliv sledovaných faktorů na celkový počet mikroorganismů (posuzovány celkové soubory výrobků po 28. dni zrání, $n = 16$; např. průměr všech vzorků daného výrobce bez ohledu na koření, starter nebo kalibr byl porovnán s průměrem odpovídajícího souboru výrobků druhého výrobce) [průměry označené různými písmeny v rámci daného ukazatele se průkazně ($P < 0,05$) liší]



Obr. 4. Vliv sledovaných faktorů na rod *Enterococcus* (posuzovány celkové soubory výrobků po 28. dni zrání, $n = 16$; např. průměr všech vzorků daného výrobce bez ohledu na koření, starter nebo kalibr byl porovnán s průměrem odpovídajícího souboru výrobků druhého výrobce) [průměry označené různými písmeny v rámci daného ukazatele se průkazně ($P < 0,05$) liší]



ZÁVĚR

Neexistující nebo záporné korelace mezi obsahem biogenních aminů a počty CPM, LAB, resp. enterokoků naznačují, že schopnost dekarboxylovat aminokyseliny je vlastnost pouze vybraných kmenů v rámci druhů příslušných MO, proto je pro identifikaci producentů biogenních aminů ve fermentovaných výrobcích vhodné použít metody molekulární biologie, detekce sekvencí genů pro příslušné dekarboxylázy pomocí PCR (toto testování probíhá v současné době na mikrobiálních kulturách izolovaných ze sledovaných výrobků).

LITERATURA

Bover-Cid S., Izquierdo-Pulido M., Vidal-Carau M.C. (2000): Influence of hygienic quality of raw material on biogenic amine production during ripening and storage of dry fermented sausage. *J. Food Prot.* 63, 1544-1550

Bover-Cid S., Schopen M., Izquierdo-Pulido M., Vidal-Carau M.C. (1999): Relationship between biogenic amine contents and the size of dry fermented sausage. *Meat Sci.* 51, 305-311

Křížek M., Kalač P. (1998): Biogenic amines in foods and their roles in human nutrition. *Czech J. Food Sci.*, 16, 151-159

Smělá D., Pechová P., Komprda T., Klejdus B., Kubáň V. (2004): Chromatografické stanovení biogenních aminů v trvanlivých salámech během fermentace a skladování. *Chemické listy*, 98: 432-437

MONITORING OF PHTHALATES CONTAMINATION IN BROILER CHICKS AND COMPARISON OF CUMULATION OF DEHP AND DBP IN TISSUES

MONITORING KONTAMINACE KUŘECÍHO MASA FTALÁTY A SROVNÁNÍ KUMULACE DEHP A DBP V JEDNOTLIVÝCH TKÁNÍCH

Stancová V., Jarošová A., Krátká L.

Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xwegsch0@node.mendelu.cz, ualja@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The objectives of this study were investigation of di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) and di-n-butyl phthalate (DBP) amount in the edible chicken tissues and compare the accumulation of these two the most spread esters of phthalic acid. The chickens ROSS 308 in our experiment were fed by common feeding mixture without addition of any phthalate esters for 42 days and then they were slaughtered. There were analyzed lyophilised skins, muscles (breasts and thighs), adipose tissues and liver samples. Our method was comprised of four separated steps. Extraction of fat from all samples with using organic solvents was the first step. Second was separation by gel-permeation chromatography followed by cleaning of eluate with concentrated sulfuric acid. The last fourth step comprised of high performance liquid chromatography with UV detection. DEHP and DBP were detected in all investigated samples. The resulting average contents of phthalates are: 0,35 mg.kg⁻¹ DEHP; 0,22 mg.kg⁻¹ DBP in muscle, 1,18 mg.kg⁻¹ DEHP; 0,36 mg.kg⁻¹ DBP in skin, 1,36 mg.kg⁻¹ DEHP; 0,47 mg.kg⁻¹ DBP in adipose tissue and 0,16 mg.kg⁻¹ DEHP; 0,02 mg.kg⁻¹ DBP in liver. Our measurements proved lipophilic character of phthalates. That means that adipose tissue is useful indicator of phthalic acid esters contamination. Relatively high contents of DEHP and DBP contamination are due to presence of PAEs in dust, soil, indoor and outdoor air, water and feed. Liver, despite containing more fat than muscles, had lower values of PAEs mainly because of their enzymatic base, which were transforming to their metabolites. The values of DEHP were higher than contents of DBP in all samples.

Key words: Phthalic acid esters, DEHP, DBP, chicken.

Acknowledgment: This work has been supported by Czech National Agency for Agriculture Research (NAZV CR), project QG60066/2005.

ÚVOD

Ftaláty jsou ubikvitární kontaminanty životního prostředí a potravního řetězce. Tyto syntetické látky mají široké uplatnění, a to zejména jako plastifikátory PVC, rozpouštědla a aditiva. Jsou součástí stavebních materiálů, zařízení domácností, automobilů, nemocničního vybavení, oblečení, kosmetiky, hygienických přípravků, výživových doplňků, zubních past, dětských hraček, obalových materiálů, insekticidů, mazacích olejů, laků, barev a mnohých dalších přípravků (Schettler et al, 2005). Nejvíce rozšířenými a toxickými jsou di-2-ethylhexyl ftalát (DEHP) a di-n-butyl ftalát (DBP). Dnes už je DEHP vzhledem k jeho toxickým účinkům nahrazován di-iso-nonyl ftalátem (DiNP). Přídavek plastifikátoru do plastických hmot zajišťuje jejich flexibilitu. Protože změkčovadlo nereaguje s polymerem, není v něm chemicky vázáno. Dochází proto k jeho uvolňování do prostředí a materiálů, se kterými je plast v kontaktu. PVC obsahuje 20 – 50% ftalátů.

Ftaláty (PAE) jsou diestery kyseliny ftalové (1,2 – benzendikarboxylová kyselina). Specifické vlastnosti a možnost rozkladu jednotlivých PAE záleží na délce postranních alifatických řetězců. Extrahují se rychle látkami, ve kterých jsou rozpustné i tuky. Jejich rozpustnost je omezená ve vodě a roztocích mýdla.

Výskyt v potravním řetězci je způsoben migrací esterů z měkčených obalových materiálů, barevných potisků, případně surovin použitých k výrobě potravin. Zdrojem kontaminace tkání zvířat může být krmivo, voda či vzduch. Člověk je tak vystaven působení ftalátů ze životního prostředí, předmětů denní potřeby, jídla i kosmetiky. Nedávné studie ukazují, že i děti je přijímají v mateřském mléce a dětském jídle (Main, 2006).

Ftaláty jsou rychle absorbovány z trávicího traktu a plic, přestup přes pokožku je obtížnější. Prvním krokem při jejich odbourávání je hydrolyza a vznik monoesterů, které mají také toxické účinky (Heidel a Powell, 1992). Méně větvené ftaláty jsou už ve formě monoesterů vylučovány močí. Dlouze větvení zástupci, mimo jiné i DEHP, mají složitější metabolismus zahrnující vznik monoesteru, hydroxylaci, oxidaci a teprve následné vyloučení močí nebo výkaly (Frederiksen et al, 2007). I když se 60-90% přijatých ftalátů z těla vyloučí během 24 hodin, přesto dochází k jejich kumulaci v organismu (Stratil a Kubáň, 2005). Chemická struktura některých PAEs zapříčiňuje jejich kumulaci v tukových tkáních (Chu et al, 1978).

Akutní toxicita ftalátů je nízká, zato chronický příjem vyvolává řadu zdravotních poruch. PAE patří mezi látky narušující endokrinní systém. DBP, DEHP a jejich metabolity ovlivňují samčí reprodukční systém. Působí snižování úrovně testosteronu, produkce spermií, vyvolávají kryptorchismus a neplodnost (Foster et al, 2006). Další negativní účinky jsou hepatotoxické, neurotoxické, embryotoxické, teratogenní a karcinogenní. Vyvolávají také astma a dermatitidy u dětí (Jaakkola a Knight, 2008).

MATERIÁL A METODIKA

Do pokusu bylo zařazeno 8 kusů jednodenních kuřat ROSS 308. Kuřata byla krmena běžnou krmnou směsí a 42. den výkrmu byla poražena. Na obsah DEHP a DBP byla analyzována svalovina (směsný vzorek svaloviny prsní a stehenní), mezenteriální tuk, kůže a játra. Játra byla pro malou hmotnost analyzována jako směsný vzorek (homogenizát z 8 kusů) (viz. tab 1). Vzorky byly homogenizovány a pak následně lyofilizovány a zamraženy. Vzorky byly před další analýzou uchovávány v mrazničce při teplotě -18°C .

Každý vzorek byl analyzován paralelně a s každou sérií byl vyhotoven také slepý vzorek z důvodu kontroly čistoty laboratorního skla a ke zjištění hodnoty chromatografického pozadí. Laboratorní sklo a pomůcky byly po umytí čistícím prostředkem a destilovanou vodou 3x vymývány acetonem. Při trojitě extrakci tuku z vyšetřované tkáně byla použita směs organických rozpouštědel aceton:hexan v poměru 1:1. Rozpouštědlo bylo ze sloučených extraktů odstraněno na vakuové rotační odparce při teplotě 40°C a před další analýzou byly extrakty uchovávány v mrazničce. Po rozpuštění 0,5 gramů extraktu v 2 ml mobilní fáze (dichlormetan:cyklohexan; 1:1) byly vzorky separovány gelovou permeační chromatografií. Na kolonu Bio-Beads S-X3 byl nanášen 1 ml rozpuštěného vzorku. Doba eluce ftalátů byla zjištěna prostřednictvím standardu při konstantním průtoku $1\text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$. Mobilní fáze byla z eluátu odstraněna na vakuové rotační odparce, zbytek po odpaření byl kvantitativně převeden hexanem do zkumavky, ve které byl vzorek v mrazničce uchováván. Přečištění vzorku bylo prováděno koncentrovanou kyselinou sírovou. Finální stanovení probíhalo na vysoce účinné kapalinové chromatografii s použitím kolony Separon SGX C 18 s UV detekcí při 224nm. Vzorek byl nejprve rozpuštěn v acetonitrilu. Směs acetonitril a voda (1:1) byla použita jako mobilní fáze při HPLC, průtok $0,5\text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$. Retenční čas pro DBP byl ca. 3 min. a DEHP ca. 8 min.

Při vyhodnocování byly měřeny plochy píků chromatogramů a koncentrace jednotlivých esterů byly odečteny z kalibrační křivky. K vyhodnocení výsledků byl použit program Agilent Chemstation for LC and LC/MS systems.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Koncentrace esterů v jednotlivých vzorcích byla vyjádřena v $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ původní hmoty. V tabulce 1 jsou uvedeny průměrné (z 8 kusů kuřat) hodnoty obsahu ftalátů ve svalovině ($0,35\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ DEHP; $0,22\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ DBP), kůži ($1,18\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ DEHP; $0,36\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ DBP), tuku ($1,36\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ DEHP; $0,47\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ DBP) a játrech ($0,16\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ DEHP; $0,02\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) u skupiny zvířat krměných běžnou krmnou směsí bez přídavku ftalátů. Jarošová et al. (1999) stanovila kontaminaci estery kyseliny ftalové u broilerů ve svalovině ($0,11\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ DEHP; $0,05\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ DBP), kůži ($1,07\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ DEHP; $0,38\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ DBP), tuku ($0,24\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ DEHP; $0,54\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ DBP) a játrech ($0,02\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ DEHP; $0,07\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). Nejnižší hodnoty ftalátů byly stanoveny v játrech, důvodem je jejich hydrolytická aktivita a obsah vysoký

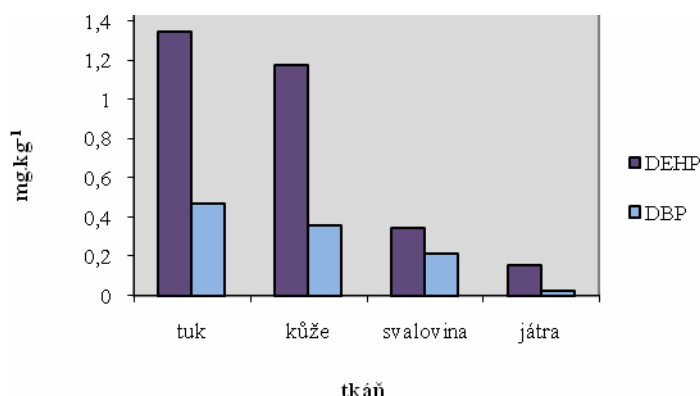
obsah enzymů (Ganning et al, 1984). Záleží také na způsobu aplikace, po intravenózním podáním DEHP myším se ester nejvíce akumuloval v játrech, a to dokonce ve větší míře než v tuku (Schulz et al, 1973). Ve všech analyzovaných vzorcích se DEHP kumuloval více než DBP, což je názorně vyobrazeno v grafu 1. Jarošová et al (1999) zjistila, že se DBP v těle broilerů distribuoval rovnoměrně ve všech sledovaných tkáních a DEHP se kumuloval převážně ve tkáni tukové. V našem pokuse se tento trend neprojevil a naopak byla prokázána afinita obou esterů ke tkáni tukové.

Tab. 1 Kumulace esterů kyseliny ftalové v těle kuřecích broilerů v mg.kg^{-1} původní hmoty.

	n	DEHP [mg.kg^{-1}]	DBP [mg.kg^{-1}]
svalovina	8	0,35	0,22
kůže	8	1,18	0,36
tuk	8	1,36	0,47
játra	1	0,16	0,02

n=počet vzorků

Graf 1 Distribuce DEHP a DBP v jednotlivých tkáních kuřat v mg.kg^{-1} původní hmoty.



ZÁVĚR

Naše měření potvrdila lipofilní charakter ftalátů, které byly shodně u všech vyšetřovaných vzorků nejvíce akumulovány v tukové tkáni a následně v kůži kuřat. Tuková tkáň je proto vhodným indikátorem kontaminace PAEs. Vysoké obsahy DEHP i DBP v kůži jsou podmíněny jednak vysokým obsahem lipidů v této tkáni, ale také důsledkem environmentální kontaminace, výskyt ftalátů je ubikvitární. Přestože PAE nejsou persistentní a rychle se metabolizují, byly všechny sledované tkáně DEHP a DBP kontaminovány. Ačkoli játra bývají častým rezervoárem environmentálních znečištěnin, v našem pokuse akumulovaly nejmenší množství obou ftalátů. Důvodem je jejich značná hydrolytická aktivita a bohatý výskyt enzymů. Hodnoty kontaminace získané v našem pokuse nemusí být konečné. Spotřebitel může očekávat ještě její navýšení, a to v závislosti na použitých obalových materiálech, odkud mohou estery také přecházet. Naše výsledky jsou přínosné také vzhledem

ke stále se zvyšující spotřebě kuřecího masa v České republice. U dětí, které jsou z pohledu toxicity esterů kyseliny ftalové považovány za obzvláště náchylnou skupinu populace, se drůbeží těší největší oblibě z nabídky mas.

LITERATURA

Foster, P. M. (2006): Disruption of reproductive development in male rat offspring following in utero exposure to phthalate esters. *Int. J. Androl.*, 29, 140-147.

Frederiksen, H., Skakkebaek, N. E., Andersson, A-M. (2007): Metabolism of phthalates in humans. *Mol. Nutr. Food Res.*, 51: 899-911.

Ganning, A. E., Brunk, U., Dallner, G. (1984): Phthalate esters and their effect on the liver. *Hepatology*, 4(3): 541-547.

Heidel, J. J., Powell, C. J. (1992): Phthalate ester effects on rat Sertoli cell function in vitro: Effects of phthalate side chain and age of animal. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 115: 116-123.

CHu, I., Villeneuve, D. C., Secours, S. W., Franklin, C., Rock, G., Viau, A. (1978): Metabolism and tissue distribution of mono-2-ethylhexyl phthalate in the rat. *Drug Metab. Dispos.*, 6(2): 146-148.

Jaakkola, J. J. K., Knight, T. L. (2008): The role of exposure to phthalates from polyvinyl chloride products in the development of asthma and allergies: A systematic review and meta-analysis. *Environ. Health Perspect.*, 116(7): 845-853.

Jarošová, A., Gajdůšková, V., Raszyk, J., Ševela, K. (1999): Di-2-ethylhexyl phthalate and di-n-butyl phthalate in the tissues of pigs and broiler chicks after their oral administration. *Vet.Med.-Czech.*, 3: 61-70.

Main, K. M., Mortensen, G. K., Kaleva, M. M., Boisen, K. A., et al. (2006) Human breast milk contamination with phthalates and alterations of endogenous reproductive hormones in infants three months of age. *Environ. Health Perspect.*, 114: 270-276.

Schettler, T. (2006): Human exposure to phthalates via consumer products, *Int. J. Androl.*, 29: 134-139.

Schulz, C. O., Rubin, R. J. (1973): Distribution, metabolism and excretion of di-2-ethylhexyl phthalate in the rat. *Environ. Health Perspect.*, 4: 3-26.

Stratil, P., Kubáň, V. (2005): Exogenní karcinogeny v potravinách a karcinogeny vnikající při jejich technologickém zpracování. *Chem. Listy.*, 99: 3-12.

CHANGES OF SENSORY QUALITY OF „METTWURST“ DEPENDING ON VEGETABLE OIL USED IN THE PRODUCTION

ZMĚNY SENZORICKÉ JAKOSTI „MĚTSKÉHO SALÁMU“ V ZÁVISLOSTI NA POUŽITÍ ROSTLINNÝCH OLEJŮ PŘI VÝROBĚ

Šulcerová H., Burdychová R.

Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: hana.sulcerova@seznam.cz, burdycho@node.mendelu.cz

ABSTRACT

World Health Organization recommend to decrease fat intake on 30 % from all daily intake energy. Meat products as a „Mettwurst“ contain about 50 % of animal fat with saturated fatty acid. They are not recommend for periodic consummation. For that reason we can use vegetable or fish oil in this production of meat products, which contain mostly non-saturated watty acid. The other way how to increase nutritive quality of those fermented products is to use probiotic cultures. Using of probiotic cultures can influence the sensory quality of meat products. The aim of this work was sensory evaluation of heat untreated meat product „Mettwurst“ which was produced with coleseed and sunflower oil and evaluation of influence of using starter and probiotic cultures on sensory quality of these products. There were used starter culture *Pediococcus pentosaceus* (1, 4), probiotic culture *Lactobacillus casei* (3, 6) and their combination (2, 5). Sensory quality were evaluated by ten well-educated assessors from the Department of Food Technology in a sensory lab accommodated to the ISO 8589. It stands to reson the influence of using vegetable oil on sensory quality of „Mettwurst“. More expressive were assessed the sunflower oil but the coleseed oil was specifical in its smell and taste. The adverse effect had a coleseed oil on sensory evaluation of this products. Another effects on sensory evaluation had a starter and probiotic cultures. The best evaluated were assed the samples with *Pediococcus pentosaceus* (1, 4) and *Lactobacillus casei* (3, 6) used separately. The sensory evaluation were finished after 14 days of storage. It was one week to minimal endurance time but the samples were uneatable. It appears from this that we can use vegetable oil as a imitation of animal fat but we must reduce minimal endurance time. The desintegration of vegetable oil is more quick than of animal fat.

Key words: Mettwurst, sensory evaluation, vegeable oil, probiotics, fat content

ÚVOD

Výběrem surovin a technologickým zpracováním lze ovlivnit množství tuku v masných výrobcích. Vyšší podíl tuku v mase a masných výrobcích je hodnocen negativně pro jeho vysoký energetický obsah a převahu nasycených mastných kyselin (VELÍŠEK, 2002). Nadměrný příjem masa a masných výrobků s vyšším obsahem tuku a cholesterolu (VALSTA *et al.*, 2005) je jednou z mnoha příčin, které přispívají ke zvyšování obezity a rizika srdečně cévních onemocnění ve vyspělých zemích. Světová zdravotnická organizace (WHO) doporučuje snížení příjmu tuků na max. 30 % z celkového denního příjmu energie, snížení příjmu nasycených mastných kyselin na 10 % a cholesterolu na max. 300 mg denně. Z tohoto důvodu by bylo vhodné při výrobě masných výrobků používat náhražky tuků v podobě rostlinných nebo rybích olejů, které obsahují více zdraví prospěšných nenasycených mastných kyselin (MUGUERZA *et al.*, 2001, BLOUKAS *et al.*, 1996). Pro výrobu těchto produktů je rozhodující věnovat velkou pozornost inovacím v oblasti chuti a textury. Hlavní příčinou nežádoucích nutričních a sensorických změn tuků a potravin obsahující tuky je oxidace mastných kyselin. Další možností ovlivnění nutriční kvality masných výrobků je přidavek probiotických kultur při výrobě fermentovaných masných výrobků. Probiotika patří mezi stále a velmi rychle se rozvíjející skupinu účinných složek funkčních potravin (LILLY, STILLWELL, 1965). Cílem přidavku vhodného probiotika je zvýšit četnost a tím i konkurenceschopnost takových mikroorganismů, které působí pozitivně na lidské zdraví (KALAČ, 2003). Probiotikum by tedy mělo prokazatelně pozitivně ovlivňovat zdravotní stav konzumenta (FULLER, 1989). Pokud jde o výběr vhodných kmenů bakterií, musí se přihlížet k obecným hlediskům které zahrnují původ, spolehlivou identifikaci, bezpečnost a odolnost vůči mutacím a stresům vyvolaným prostředím a vůči nepříznivým podmínkám, kterým jsou bakterie vystaveny při průchodu trávícím traktem (HOLM, 2001). Dále také k funkčním hlediskům, které představují přínos pro konzumenta a v neposlední řadě k technickým hlediskům, mezi něž patří růstová schopnost během jejich kultivace, životaschopnost během aplikace do potravin a jejich následné dopravy a skladování (KALAČ, 2003). Použití probiotických kultur ovlivňuje také sensorické vlastnosti výrobků. Velmi významná je koncentrace probiotických bakterií v potravině. Aby bylo dosaženo příznivých účinků na lidské zdraví je doporučována denní konzumace výrobků s obsahem alespoň 10^6 probiotických bakterií v jednom mililitru nebo v jednom gramu výrobku (ROBINSON, 1987).

MATERIÁL A METODIKA

Materiál

Pro sensorickou analýzu byly použity vzorky tepelně neopracovaného fermentovaného roztíratelného masného výrobku „Métský salám“. Vzorky byly skladovány při teplotě do +4 °C v následujícím složení po dobu minimální trvanlivosti 21 dnů:

- vzorek 1: Slunečnicový olej + *Pediococcus pentosaceus* (startovací kultura),
- vzorek 2: Slunečnicový olej + *Pediococcus pentosaceus* a *Lactobacillus casei*,
- vzorek 3: Slunečnicový olej + *Lactobacillus casei*,

- vzorek 4: Řepkový olej + *Pediococcus pentosaceus* (startovací kultura),
- vzorek 5: Řepkový olej + *Pediococcus pentosaceus* a *Lactobacillus casei*,
- vzorek 6: Řepkový olej + *Lactobacillus casei*.

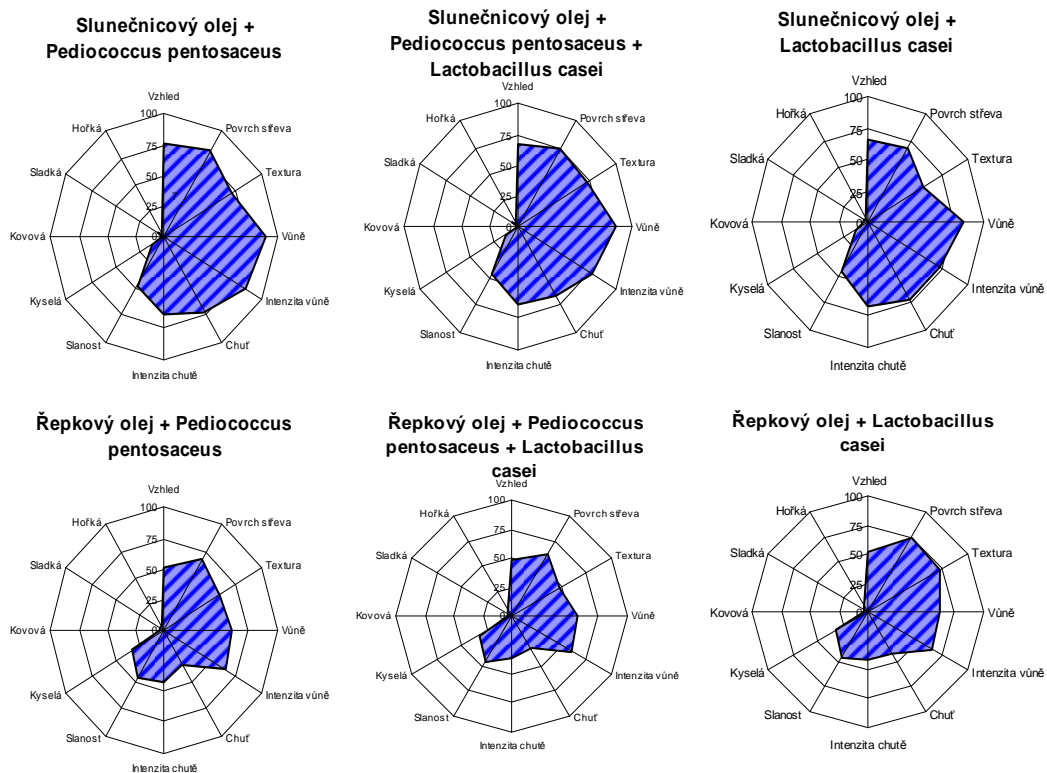
Rostlinný tuk byl přidáván ve formě emulze.

Metody

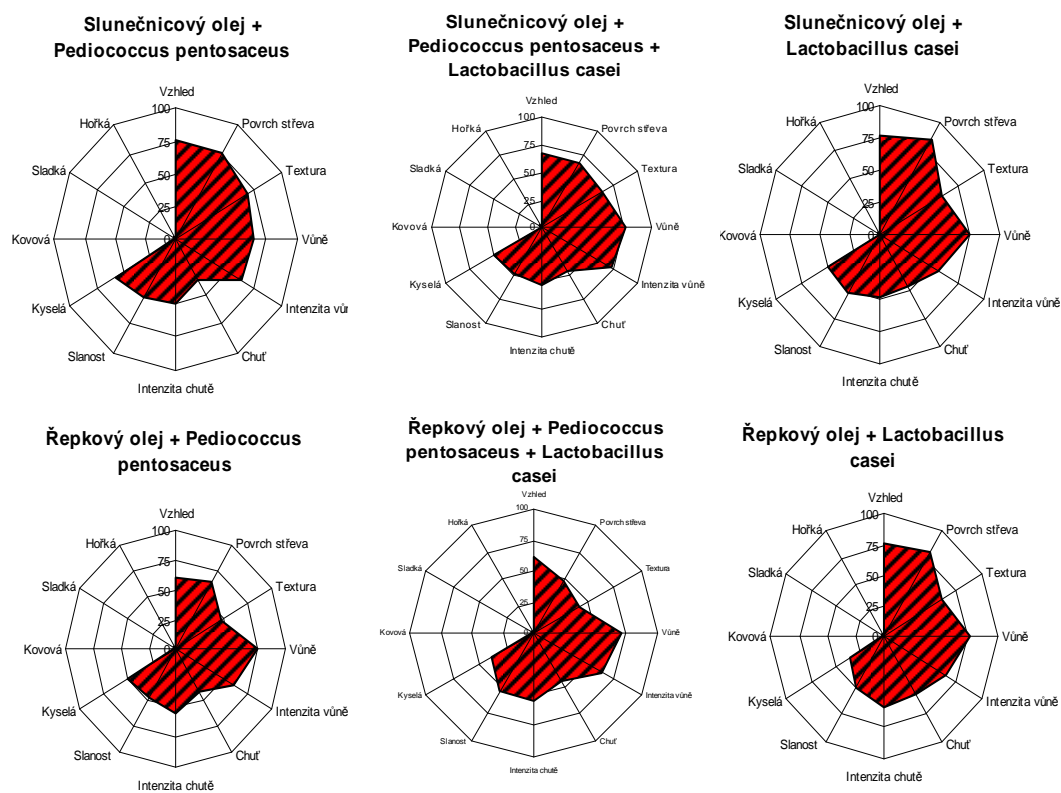
Senzorické hodnocení provádělo deset školených hodnotitelů Ústavu technologie potravin MZLU v Brně, v prostoru sensorické laboratoře vybavené dle ISO 8589 po dobu minimální trvanlivosti 21 dnů, v 7 denních intervalech. Posuzovatelé hodnotili deskriptory – vzhled, povrch střeva, textura, vůně, intenzita vůně, chuť, intenzita chutě, slanost, přítomnost kyselá, kovová, sladká a hořká chutě. Výsledky byly zaznamenávány pomocí grafických nestrukturovaných stupnic se slovním popisem krajních bodů, zpracovány v programu MS Excel 2003 a graficky vyjádřeny.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Ze získaných výsledků lze zjistit rozdíly v jednotlivých deskriptorech jak v průběhu doby skladování, tak v závislosti na použitém rostlinném oleji. Při hodnocení v 0 dnech (ihned po výrobě) byly vzorky s přidavkem slunečnicového oleje ohodnoceny celkově lépe. Byla u nich velmi výrazná vůně a intenzita vůně, stejně tak chuť a intenzita chuti. Při hodnocení vzorků s použitým řepkovým olejem (4, 5, 6) byla výrazná chuť kyselá a u vzorků a použitím startovací a probiotické kultury *Pediococcus pentosaceus* + *Lactobacillus casei* (5) a pouze probiotické kultury *Lactobacillus casei* (6) se vyskytla chuť kovová (Obr. 1). U vzorků hodnocených po 14 dnech od výroby nebyly tolik patrné rozdíly mezi přidavkem slunečnicového a řepkového oleje, přesto výrobky s použitím oleje slunečnicového (1, 2, 3) byly hodnoceny lépe. Kyselá a slaná chuť byla intenzivnější u všech vzorků než při hodnocení v 0 dnech (Obr. 2). Celkově nejlépe byly ohodnoceny vzorky s přidavkem slunečnicového oleje společně s kulturou *Pediococcus pentosaceus* (1) nebo s kulturou *Lactobacillus casei* (3). Hodnocení po 21 dnech od výroby (konec doby minimální trvanlivosti) nebylo možné provést z důvodů sensorické nepříjemnosti masného výrobku. Ve Španělsku se při tradiční výrobě párků přidává do díla rybí olej, který je zdrojem *n*-3 polynenasycených mastných kyselin (PUFA).



Obr. 1 Sensorické hodnocení vzorků v 0 dnech (ihned po výrobě)



Obr. 3 Sensorické hodnocení vzorků ve 14 dnech (konec sensorické přijatelnosti)

ZÁVĚR

Z výsledků hodnocení je patrný vliv použitého slunečnicového či řepkového oleje na sensorickou jakost masných výrobků. Řepkový olej je specifický svou chutí i vůní, což pravděpodobně negativně ovlivnilo hodnotitele, i když jako výraznější v Métském salámu byl hodnocen olej slunečnicový. Dále mělo na sensorické hodnocení vliv použití probiotických kultur. Nejlépe byly hodnoceny vzorky s přídatkem *Pediococcus pentosaceus* a *Lactobacillus casei*. Hodnocení po 21 dnech od výroby (konec doby minimální trvanlivosti) nebylo možné provést z důvodů sensorické nepříjemnosti masného výrobku. Z toho plyne, že při použití náhražek rostlinných olejů za živočišné tuky je třeba optimalizovat a zkrátit dobu minimální trvanlivosti z důvodů rychlejšího rozkladu olejů a tudíž sensorického odmítnutí výrobků.

LITERATURA

- Bloukas J.G., Paneras E.D., Fournitzis G.C. (1997): *Meat Science*, Vol. 45, no. 2, p. 133-144.
- Fuller R. (1989): Probiotics in man and animals, *J Appl Bacteriol*, vol. 66, p. 365-378.
- Holm F. (2001): Gut Health, ISBN 2-7380-1008-3. Dostupné z <http://www.functionalfoodnet.eu/images/site/assets/a-Gut-health.pdf>.
- Kalač P. (2000): Funkční potraviny – kroky ke zdraví. *Dona, České Budějovice*, 130 s., ISBN 80-7322-029-6.
- Lilly D., Stillwell R. (1965): Probiotics: growth promoting factors produced by microorganisms, *Science*, vol. 147, p. 747-778.
- Muguerza E., Gimeno O., Ansorena D., Bloukas J.G., Astiasarán I. (2001): Effect of replacing pork backfat with pre-emulsified olive oil on lepei fraction and sensory quality of Chorizo de Paloma – a traditional Spanish fermented sausages. *Meat Science*, 59, 251-258.
- Robinson R.K. (1987): Survival of *Lactobacillus acidophilus* in ferment products. *S Afr J Dairy Sci*, vol. 19, p. 25-27.
- Valsta L. M., Tapanainen H., Männistö S. (2005): Meat fats in nutrition. *Meat Science*, no. 70, p. 525 – 530.
- Velíšek J. (2002): *Chemie potravin 1*. Tábor: OSSIS. 344 s.

DETECTION OF FUNGAL CONTAMINATIONS IN POWDERED PEPPER USING MOLECULAR BIOLOGICAL METHODS

DETEKCE HOUBOVÝCH KONTAMINACÍ V PRÁŠKOVÉ PAPRICE POMOCÍ MOLEKULÁRNĚ BIOLOGICKÝCH METOD

Trojan V., Hanáček P., Havel L.

Department of Plant Biology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xtrojan@node.mendelu.cz, lhavel@mendelu.cz

ABSTRACT

Detection of microbiological contamination in foods has always been a challenging undertaking. Because pathogenic fungi may be present at very low levels, they can be difficult to detect in foods, and components of the foods may also interfere with their detection. The only problem needn't be only the presence of fungi but their products called as mycotoxins could be also big risk for human health. The most useable spice in Czech Republic is red dry pepper in milled composition which is used in food industry as a part of spicy mixtures especially for meat industry. In these days are in Czech Republic used for detection classical cultivation methods as a cultivation on the plates. These methods are strict but time consuming. It is between days and one week. One from the advantages of molecular biology is sparing time. We used PCR with specific kits for isolation DNA from the samples red powdered pepper and in next step we amplified DNA for next secevation and detection of the concrete contaminant in our sample of red powdered pepper. We detected species of fungus *Nectria mauritiicola* which cause antraktosis of plant. It means that sample under the investigation shouldn't be risk for human health. This showed that molecular biological methods could be used for fungus contaminant detection directly in powdered pepper.

Key words: contaminant detection in spice, *Nectria mauritiicola*, pepper, PCR

Acknowledgments: Práce vznikla ve spolupráci s soukromou firmou Trumf International s. r. o..

ÚVOD

V dnešní době, kdy se veškeré technologické procesy a nejen v oblasti potravinářství neustále zrychlují, a proto je přímo nutností, zvyšovat rychlost kontroly kvality surovin vstupujících do procesu zpracování. Obrovskou možností se v dnešní době stávají molekulárně biologické metody ve všech svých různých modifikacích. Jejich jednou z mnoha dalších předností je úspora času při provedení analýzy a to při srovnání s klasickými kultivačními metodami až několikanásobně. V oblasti koření se mezi hlavní rizika biologických kontaminantů řadí houby. Nemusí být nebezpečné pouze samotnou svojí přítomností, ale především látkami, které produkují, označované jako mykotoxiny jež v substrátu přetrvávají i při případném úhynu samotného producenta. V České republice z procenta využití různých druhů koření nese obrovský význam červená paprika v podobně sušeného drceného prášku. V dnešní době se pro detekci hub a to nejen v případě papriky používají klasické kultivační metody, které při dodržení standardních postupů trvají několik dnů až týden. Ve své práci se zabývám možností využití molekulárně biologické metody PCR (Polymerase Chain Reaction) pro detekci hub ve vzorcích sušené drcené červené papriky, používané jako surovina ve směsích koření pro masný průmysl.

MATERIÁL A METODIKA

Materiál:

Pro analýzu byl dodán firmou Trumf International s. r. o. vzorek o hmotnosti 0,5 kg červené sušené papriky po rozemletí, která se používá jako hlavní složka koření směsí pro masný průmysl. Množství pro jednotlivé pokusy odebíraná z tohoto vzorku měla jednotnou hmotnost 20 mg.

Metodika:

1) Izolace DNA

Vzorek červené sušené mleté papriky byl použit pro izolaci DNA pomocí dvou různých postupů. Prvním z nich byla izolace pomocí DNeasy Plant kit firmy Qiagen. Tato souprava je navržena pro izolaci DNA z rostlin, ale běžně je používána i pro izolaci DNA z hub. Druhým postupem byla izolace pomocí kitu pro bakteriální DNA, která se rovněž používá pro izolaci DNA z hub. Při použití DNeasy Plant kit byl využit přímo dodaný vzorek a vzorek homogenizovaný v tekutém dusíku. Získávaná DNA byla při vymývání z kolonky kitu rozdělena do dvou frakcí (1 a 2). Protože výsledky získané po homogenizaci vzorku v tekutém dusíku a z přímé izolace vzorku ukázaly téměř stejný výtěžek DNA, bylo při izolaci pomocí kitu pro bakteriální DNA využito pouze přímo dodaného vzorku.

2) PCR amplifikace

Pro amplifikaci metodou PCR byly použity primery ITS (internal transcribed spacer) oblasti jaderné DNA a to z několika důvodů. Jedná se o běžný postup při amplifikaci a sekvenování jak rostlin, tak hub, existuje rozsáhlá databáze ITS sekvencí na internetu a primery pro tuto analýzu máme k dispozici – jde o primery ITS1F a ITS4B, které jsou navrženy (na rozdíl od obecných ITS1 a ITS4 pro eukaryota) speciálně pro houby. Předběžné výsledky ukazovaly, že vzorek neobsahuje ITS z hub. Předběžný negativní výsledek se dal však vysvětlit tím, že primer ITS4B je komplementární pouze k bazidiomycetům. A proto bylo použito páru ITS1F a ITS4 který je specifický pro kteroukoli skupinu hub. Po využití těchto primerů, byl již detekován produkt.

Pro ostřejší produkt na gelu byla optimalizována teplota annealingu pomocí gradientové PCR.

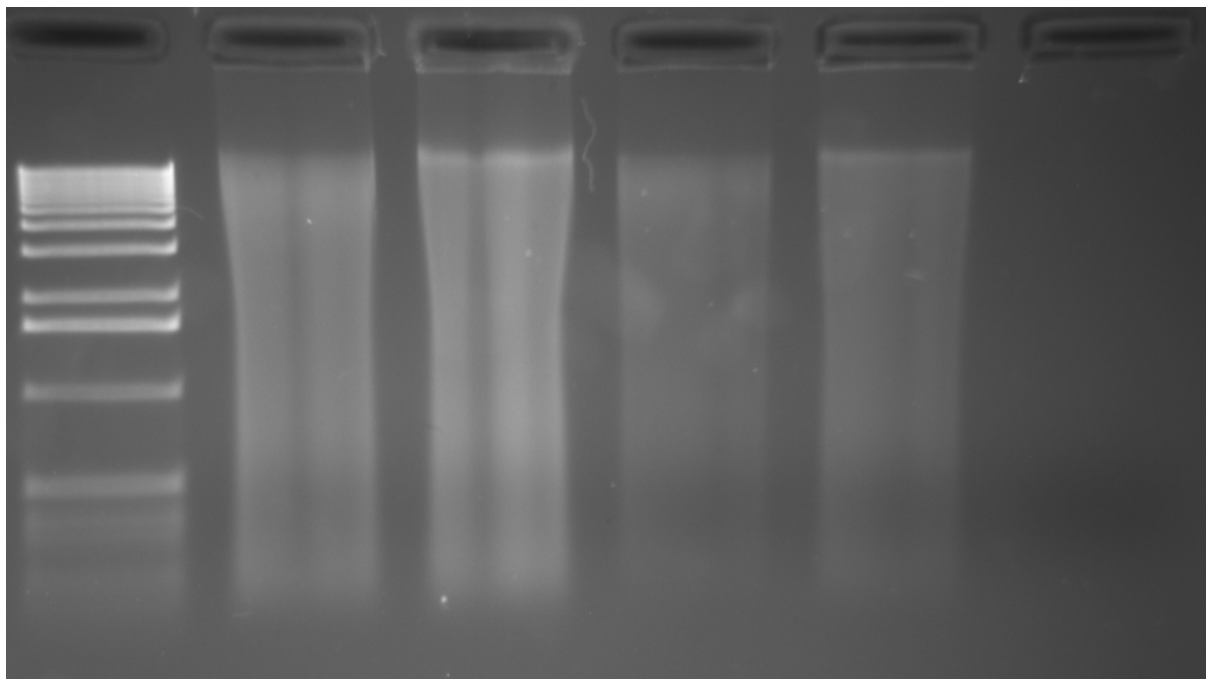
3) Sekvenování

PCR produkty byly purifikovány pomocí Qiagen purifikačního kitu. Koncentrace DNA byla změřena na fluorimetru a sekvence vzorků byla zjištěna v laboratoři ústavu morfologie, fyziologie a genetiky zvířat.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Výtěžky izolace DNA při použití kitu pro rostlinnou DNA přímo dodaného vzorku červené sušené mleté papriky a vzorku červené sušené mleté papriky homogenizovaného v tekutém dusíku byly srovnatelné. Výsledná koncentrace DNA se po agarózové elektroforéze jevila jako částečně degradovaná, homogenizace v kapalném dusíku mírně výtěžek zvýšila. U takto izolované DNA oběma metodami však nelze kvantifikovat poměr DNA papriky a DNA případně přítomné houby (obr. 1).

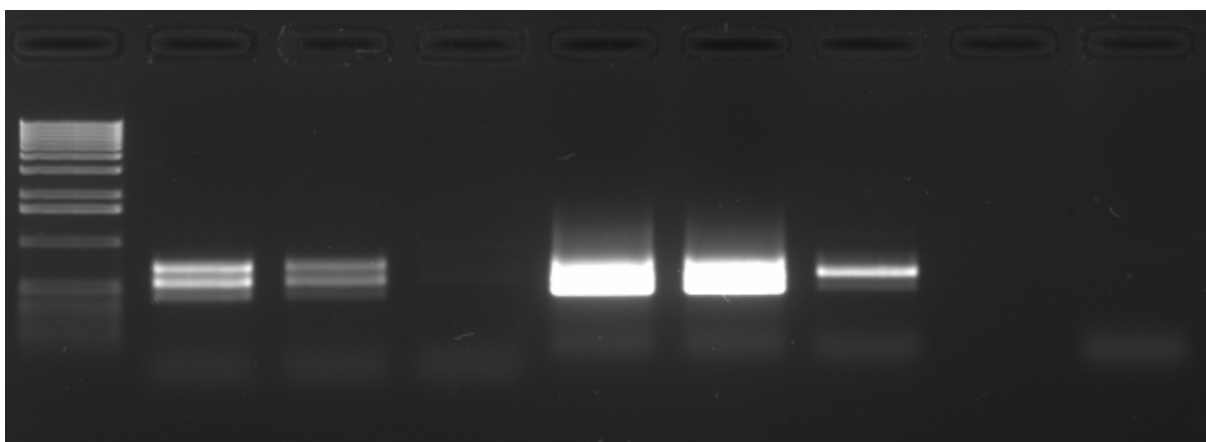
Výtěžek izolace DNA s pomocí kitu pro bakteriální DNA byl v porovnání s předchozím postupem slabší, byl zde ale předpoklad, že izolovaná DNA náleží výhradně houbě (obr. 1).



Obr. 1 Izolace DNA

Zleva doprava: 1 kb DNA Ladder 250 ng (Invitrogene); DNA izolovaná kitem pro izolaci rostlinné DNA po homogenizaci vzorku tekutým dusíkem (frakce 1); DNA izolovaná kitem pro izolaci rostlinné DNA po homogenizaci vzorku tekutým dusíkem (frakce 2); DNA izolovaná kitem pro izolaci rostlinné DNA přímo z dodaného vzorku (frakce 1); DNA izolovaná kitem pro izolaci rostlinné DNA přímo z dodaného vzorku (frakce 2); DNA izolovaná kitem pro bakteriální DNA v přímo dodaném vzorku.

Při amplifikaci s využitím primerů ITS1F a ITS4B předběžné výsledky ukazovaly, že vzorek neobsahuje houbovou ITS. Negativní výsledek se dal však vysvětlit tím, že primer ITS4B je komplementární pouze k bazidiomycetům. A proto bylo použito páru ITS1F a ITS4 který je specifický pro kteroukoli skupinu hub. Po využití těchto primerů, byl již detekován produkt, což byl důkaz přítomnosti houbové DNA (obr. 2)

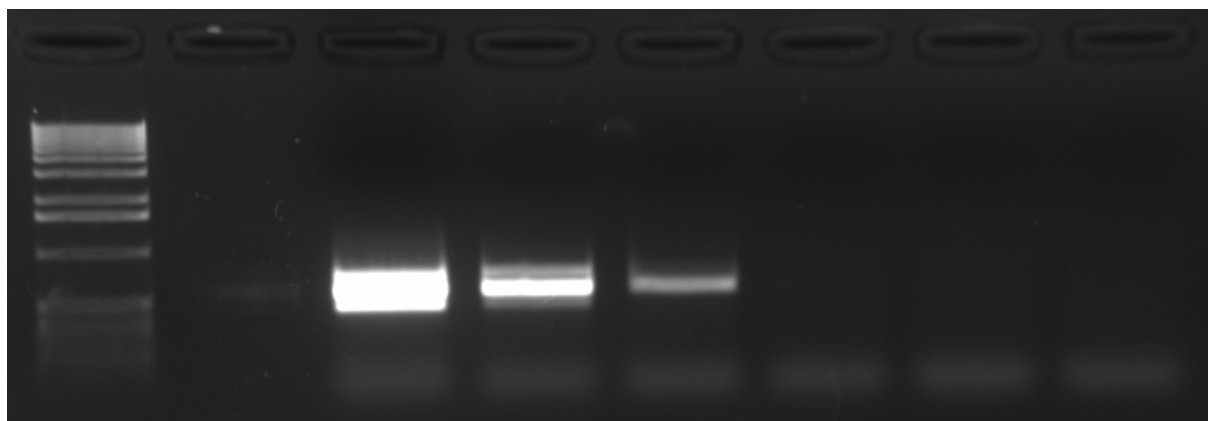


Obr. 2 Amplifikace DNA

Zleva doprava: 1 kb DNA Ladder 250 ng (Invitrogene); primer ITS1 a ITS4, izolace kitem pro rostlinnou DNA, s homogenizací tekutým dusíkem; primer ITS1 a ITS4, izolace kitem pro

rostlinnou DNA přímo z dodaného vzorku; primer ITS1 a ITS4, izolace kitem pro bakteriální DNA přímo z dodaného vzorku; primer ITS1F a ITS4, izolace kitem pro rostlinnou DNA, s homogenizací tekutým dusíkem; primer ITS1F a ITS4, izolace kitem pro rostlinnou DNA přímo z dodaného vzorku; primer ITS1F a ITS4, izolace kitem pro bakteriální DNA přímo z dodaného vzorku.

Pomocí gradientové PCR byla zvolena optimální teplota annealingu, při které byl PCR produkt na gelu nejostřejší. A to je 55 °C (obr. 3).



Obr. 3

Zleva doprava: 1 kb DNA Ladder 250 ng (Invitrogene); 53,1 °C; 54,4 °C; 57,5 °C; 61,4 °C; 65,6 °C; 67,8 °C.

Výsledkem sekvenování byla zjištěna tato sekvence:

```
GGGATCTTAGCTAGCTTTCTTTCTCTGATGACCGGGAACCTTAAAAAATTGGGGG
TTTCACGGCGTGGCCGAGCCGCTCTCCGGTGCGAGGTGTGCTACTACGCAGGGGA
GGCTGCGGCGCGACCGCCACTCAATTTGGGGGACAGGGGCCCGGAGGCCGCTGA
TCCCCAGCACCAGGTCCCCCCCCGAAAGGGGGTCCTGAGGGTTGAAATGACGCTCG
GACAGGCATGCCCGCCGGAGTGCCGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGA
TGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATC
GATGCCAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGATTCATTTTGTTCGGGC
TTTCGCCCTCAGAGATTCACAATAAAATCAGAGTTTGGTTGTCCCCGGCGGACG
CCCGGAGCCCGGAGGCACCGCGCGCTGAGCCCGCCGAGGGAACGATAGGTATGT
TCACAATGGGTTGGAGAGCCTAGGGCACTCTGGTAATGATCCCTCCGCTGGTTCA
CCAACGGAGACCTTGTTACGACTTTTACTTCCTCTTAAATGACCAAGA
```

Při porovnání zjištěné sekvence s databází NCBI byla zjištěna s 99% pravděpodobností shoda s jediným druhem houby *Nectria mauritiicola*. Tato houba vyvolává antraknózu papriky (Cornelius 2008). To vysvětluje přítomnost DNA tohoto organismu ve

sledovaných vzorcích. Tedy tato houba byla už na sklízených plodech před jejich zpracováním.

Analýzou DNA vzorku červené sušené papriky po rozemletí se podařilo identifikovat houbu a porovnáním její sekvence v databázi ji taxonomicky přiřadit. Zvoleným postupem však nelze tuto houbu ve vzorku kvantifikovat, ani určit její životaschopnost. Kvantifikovat by pravděpodobně bylo možné pomocí RT-PCR, která bude následovat jako další etapa výzkumu.

ZÁVĚR

Získané výsledky prokázaly, že je možné izolovat DNA přímo ze vzorků sušené mleté červené papriky, technologicky využívané ve výrobě kořenicích směsí pro masný průmysl, a pomocí molekulárně biologické metody PCR dokázat kontaminaci konkrétním houbovým organizmem.

LITERATURA

Cornelius, K.A. (2007): Morphological, molecular, and genetic characterization of *Colletrichum* species from pepper. dostupné na internetu: http://www.dep.anl.gov/p_undergrad/ugsymp/2007abstracts/36.html

THE QUALITY OF SPRING BARLEY IN DEPENDENCE OF PLANT NUTRITION OF NITROGEN AND SULPHUR

KVALITA ZRNA JEČMENE V ZÁVISLOSTI NA VÝŽIVĚ DUSÍKEM A SÍROU

Vavroušová P., Hřivna L.

Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: petravavrousova@seznam.cz, hrivna@mendelu.cz

ABSTRACT

In 2006 and 2007 in small-plot field trials established on plots of the Agrospol agricultural enterprise in Velká Bystřice near Olomouc we explored the effect of nitrogen and sulphur applied in various types of sulphuric fertilisers (ammonium sulphate and elementary of sulphur) with nitrogenous corrections on yields and mechanical grain quality of barley grain (chemical composition of grain, volume weight, number full grains, content of starch and nitrogen matters). Species of spring barley Jersey was placed in this experiment. In 2006 yield of grain increasing on on concentration of sulphur in barley, where were application of ammonium sulphate on basic fertilization. There were also increase fertilize of nitrogen volume weight of grain and there were production heavier grains. Correction negatively influencing content of starch but vice versa increasing content of nitrogen matters. In 2007 were yield with application of ammonium sulphate as same as with application of elementary sulphure.

Keywords: barley, nitrogen, sulphur, yield, grain quality

Acknowledgments: Příspěvek vznikl jako výstup projektu MZe s názvem „Inovace pěstitelských technologií sladovnického ječmene vývojem diagnostických metod pro vyhodnocení struktury porostu, zdravotního a výživného stavu“ č. 1G58038 a projektu MŠMT s názvem „Výzkumné centrum pro studium obsahových látek ječmene a chmele“ č. 1M0570.

ÚVOD

Síra plní v rostlinách mnoho funkcí. Má nezastupitelnou roli v primárním i sekundárním metabolismu rostlin. Enzymy obsahující síru se účastní i redukce nitrátů (MENGEL, 1991). Jestliže rostliny obsahují méně sirných aminokyselin (cystein, methionin), je inhibována syntéza bílkovin, stoupá obsah ostatních volných aminokyselin a zvláště amidů a nitráty se hromadí. U obilnin se vizuálně nedostatek síry projevuje menšími a užšími listy, kratšími a tenšími stébly. Rostliny tvoří méně klasů s menším počtem zrn v kláscích. Dodatečná aplikace dusíkatých hnojiv vede jen k dalšímu zhoršení stavu rostlin (HANEKLAUS, SCHNUG, 1994).

Mezi dusíkem a sírou byla prokázána interakce v příjmu. Nemá-li rostlina k dispozici dostatek síry, může se efekt hnojení dusíkem snížit (MCGRATH ET ZHAO, 1996, HRIVNA ET AL., 2001). Na druhou stranu při nadměrném hnojení dusíkem v kombinaci se sírou můžeme kvalitu ječmene ovlivnit negativně. Luxusní příjem dusíku vede k jeho vysokému obsahu v zrně. Obsah dusíku přitom vykazuje negativní korelaci k obsahu extraktu v sušině sladu a snižuje se hodnota Kolbachova čísla.

Síra má také vliv na kvalitativní parametry sladu, resp. z něj vyráběného piva. Za určitých podmínek může v průběhu sladování z aminokyselin cysteinu a methioninu vznikat dimethylsulfid (DMS), který nepříznivě ovlivňuje senzoryckou kvalitu piva. DMS vzniká v průběhu sladování a poté také při výrobě piva z jeho prekurzorů (PDMS) (ŠUSTA, HAVLOVÁ, 1996).

MATERIÁL A METODIKA

Pokus, ve kterém byl ověřován v letech 2006-2007 vliv hnojení dusíkem a sírou na výnos a kvalitu zrna sladovnického ječmene, byl založen na pozemku patřícím do katastru zemědělského podniku Agrospol Velká Bystřice. Pozemky se nachází v klimatickém regionu mírně teplém, mírně vlhkém. Půda je středně těžká, půdní typ hnědozem. Zemědělský podnik hospodaří bez živočišné výroby, tzn. že všechny posklizňové zbytky zaorává.

Do pokusu byla zařazena odrůda ječmene jarního Jersey. Jedná se o polopozdní sladovnickou odrůdu. Cílem bylo zjistit vliv síranové a elementární síry aplikované při vzcházení porostu a prováděných korekcí dusíkem (LAV 27) během vegetace na výnos a technologické parametry zrna ječmene. Pokus byl uspořádán do následujících variant hnojení (tab.1).

Tab. 1 Schéma pokusu

varianta	odrůda	Forma síry-zákl.hnojení	Korekce-termín aplikace N	Dávka N při korekci
1	Jersey	Síranová (50 kg S/ha) (síran amonný) 40 kg N/ha vzcházení porostu	4. list	Nižší 0
2				Vyšší 30
3			Konec odnož.	Nižší 0
4				Vyšší 30
5			½ sloupkování	Nižší 0
6				Vyšší 30

7		Elementární síra (50 kg S/ha) (močovina) 40 kg N/ha vzcházení porostu	4.list	Nižší 0
8				Vyšší 30
9			Konec odnož.	Nižší 0
10				Vyšší 30
11			½ sloupkování	Nižší 0
12				Vyšší 30

LAV 27 - ledek amonný s vápencem (27 % N, 9 % Ca) , síran amonný (20,3 % N, 24 % S), močovina (46%N)

Během vegetace byly po provedených korekcích odebírány vzorky rostlin a zeminy. U odebraných vzorků rostlin byla stanovena hmotnost sušiny 1 rostliny a v sušině celých rostlin pak stanoven obsah N, P, K, Ca, Mg a S. Obsah N byl stanoven Kjeldahlovou metodou (Zbíral, 1994) a ostatní živiny po mineralizaci v HNO₃ a H₂O₂ v uzavřeném mikrovlnném systému metodou ICP OES.

Sklizeň byla provedena maloparcelní sklízecí mlátičkou. Byl stanoven výnos zrna a jeho chemické složení. Současně byly stanoveny technologické parametry zrna. Z mechanických znaků objemová hmotnost na obilním měřiči, podíl přepadu zrna na síť 2,5mm na Steineckerově prosévadle, obsah škrobu polarimetricky dle Ewerse a obsah N-látek dle Kjeldahla (Basařová, 1992). U odebraných vzorků zrna a slámy byla rovněž provedena chemická analýza na obsah jednotlivých živin.

Tab. 2..Průběh povětrnosti

Měsíc	průměr teplot 05-06	průměr teplot 06-07	normál (°C)	úhrn srážek 05-06 (mm)	úhrn srážek 06-07 (mm)	normál (mm)
září	16,1	17,2	13,8	33,8	9,2	47
říjen	9,8	11,2	8,7	7,4	15,7	36
listopad	2,8	6,2	3,1	50,7	54,5	36
prosinec	-1,1	2,4	-0,4	58,8	26,6	26
leden	-7,2	3,4	-2,0	25,8	30,5	22
únor	-2,5	3,3	-0,3	43,7	28,1	18
březen	0,8	6,4	3,9	51,2	42,2	25
duben	10,2	11,5	8,9	62,4	5,4	33
květen	14,2	16,2	14,3	98,6	89,4	61
červen	18,6	20,1	17,1	67,9	17,2	70
červenec	23,6		18,9	1		71
srpen	17,0		18,7	136		57

VÝSLEDKY A DISKUZE

Z výnosových výsledků roku 2006 je zřejmé, že aplikace dusíku v průběhu vegetace ve formě prováděných korekcí má svoje opodstatnění. Svou roli zde sehrává také volba dusíkatého hnojiva pro hnojení na počátku vzcházení. Z tohoto pohledu se jako vhodnější jevílo hnojení močovinou. Úloha síry byla z pohledu tvorby výnosu v r. 2006 méně

významná. Zatímco u variant, kde byl při základním hnojení aplikován síran amonný, došlo k výraznému zvýšení koncentrace síry v rostlinách, u elementární síry tomu tak nebylo.

Svou roli zde zřejmě sehrál i průběh povětrnosti, chladný půdní profil v jarních měsících a následně srážkově nadnormální duben a květen (viz.tab.2). Největší efekt hnojení dusíkem byl zaznamenán u varianty 8, kde byla korekce provedena po základním hnojení močovinou hned na počátku odnožování. Největší přírůstek výnosu po provedené korekci byl pak stanoven u varianty 4 a činil ve srovnání s kontrolní (1.variantou) 450kg.

V roce 2007 byl výnos u variant, kde byl při základním hnojení aplikován síran amonný podobný jako u variant s aplikací elementární síry. Také zde svou roli zřejmě sehrál průběh povětrnosti, chladný půdní profil v jarních měsících a následně srážkově chudý duben, který neumožnil příjem a utilizaci dusíku z aplikovaných hnojiv (tab. 3).

Tab. 3 Výnos zrna za rok 2006 a 2007

varianta	průměr opakování rok 2006	průměr za skupinu rok 2006	průměr opakování rok 2007	průměr za skupinu rok 2007
1	6,789	6,899	7,584	7,274
2	7,171		6,822	
3	6,61		7,408	
4	7,239		7,563	
5	6,668		7,25	
6	6,916		7,016	
7	7,384	7,364	7,841	7,287
8	7,525		6,598	
9	7,248		7,403	
10	7,468		7,285	
11	7,211		7,301	
12	7,347		7,293	

V roce 2006 ve většině případů zvýšilo přihnojení dusíkem objemovou hmotnost zrna a ovlivněny byly také podíly zrna na sítěch. Po aplikaci síranu amonného byl zaznamenán vyšší podíl (přepad) zrna na sítě 2,5 mm, svou roli zde zřejmě sehrálo to, že u těchto variant byl v průměru nižší výnos, což přispělo k vývinu a tvorbě většího zrna.

Vyšší počet klasů na jednotku plochy u variant po korekcích a poměrně rychlý průběh dozrávání porostu v roce 2007 snížil výrazně objemovou hmotnost zrna a podíl přepadu zrn na sítě 2,2mm (tab. 4 a tab. 5).

Tab. 4 Objemová hmotnost v kg/hl za rok 2006 a 2007

varianta	průměr opakování rok 2006	průměr za skupinu rok 2006	průměr opakování rok 2007	průměr za skupinu rok 2007
1	69,438	69,299	62,550	62,710
2	69,825		63,150	
3	69,450		63,025	
4	68,038		61,988	
5	69,513		62,800	

6	69,531		62,750	
7	69,188		63,125	
8	69,350		62,175	
9	68,988		62,750	
10	69,213		61,588	
11	68,863		62,625	
12	69,625	69,204	61,400	62,277

Tab. 5 Podíl (přepad) zrna na síť 2,5mm (rok 2006 a 2007)

Varianta	průměr opakování rok 2006	průměr za skupinu rok 2006	průměr opakování rok 2007	průměr za skupinu rok 2007
1	93,196		63,75	
2	93,093		62,79	
3	93,326		67,11	
4	87,363		59,23	
5	92,841		64,41	
6	89,47	91,548	58,78	62,678
7	92,435		65,49	
8	91,396		58,54	
9	91,775		65,73	
10	90,633		61,74	
11	91,171		64,47	
12	91,508	91,486	58,40	62,400

Zatímco poměr N:S v sušině nadzemní hmoty, který je směrodatný pro hodnocení účinku síry, byl u variant se síranem amonným během vegetace výrazně užší oproti variantám s elementární sírou, v zrna byl obsah síry i poměr N:S vyrovnaný (tab.6). Prováděné korekce poměr N:S zvláště pak v roce 2007 rozšiřovaly.

Tab. 6 Chemické složení zrna

varianta	[% v suš.] rok 2006		Poměr N:S rok 2006	[% v suš.] rok 2007		Poměr N:S rok 2007
	N	S		N	S	
1	1,83	0.135	13,56	1,90	0,164	11,59
2	1,69	0.128	13,2	1,95	0,162	12,04
3	1,61	0.123	13,09	1,85	0,156	11,86
4	1,74	0.129	13,49	1,92	0,158	12,15
5	1,66	0.124	13,39	1,85	0,164	11,28
6	1,79	0.137	13,07	1,95	0,166	11,75
7	1,65	0.125	13,2	1,95	0,166	11,75
8	1,91	0.134	14,25	1,95	0,169	11,54
9	1,73	0.131	13,21	1,90	0,163	11,66
10	1,80	0.137	13,14	1,90	0,169	11,24
11	1,66	0.127	13,07	1,86	0,157	11,85
12	1,86	0.136	13,68	1,94	0,165	11,76

V roce 2006 se prováděné korekce negativně projeví na obsahu škrobu v obilkách. Nejhorší dopad měla poslední prováděná korekce, která snižovala obsah škrobu v obilkách o více jak 1% bez ohledu na použité hnojivo v období vzcházení.

Prováděné korekce naopak v průměru zvyšovaly obsah dusíkatých látek. Nejvíce se obsah N-látek zvýšil po druhé (hnojeno SA), respektive po 1. a 2. korekci (hnojeno MO). Poslední korekce se výrazněji na chemickém složení zrna neprojevila. Můžeme předpokládat, že se zde projevil negativně vliv povětrnosti ve druhé polovině vegetace, kdy byl půdní profil značně proschlý.

Vyšší počet klasů na jednotku plochy u variant po korekcích a poměrně rychlý průběh dozrávání porostu v roce 2007 se také negativně odrazilo ve sklizňových výsledcích, zvýšil se podíl bílkovin v zrně a naopak snížil obsah škrobu (tab. 7, tab. 8).

Tab. 7 Obsah škrobu (%) za rok 2006 a 2007

varianta	průměr opakování rok 2006	průměr za skupinu rok 2006	průměr opakování rok 2007	průměr za skupinu rok 2007
1	63,438	63,168	60,995	60,722
2	63,113		60,888	
3	63,545		61,048	
4	63,38		60,625	
5	63,33		60,73	
6	62,203		60,048	
7	63,435	63,597	61,813	60,766
8	63,115		60,467	
9	63,598		61,34	
10	63,81		60,045	
11	64,4		60,413	
12	63,223		60,52	

Tab. 8 Obsah N-látek (%) za rok 2006 a 2007

varianta	průměr opakování rok 2006	průměr za skupinu rok 2006	průměr opakování rok 2007	průměr za skupinu rok 2007
1	10,685	10,708	11,633	11,781
2	10,845		11,948	
3	10,443		11,388	
4	10,948		12,11	
5	10,41		11,535	
6	10,92		12,07	
7	10,84	10,815	11,528	11,755
8	10,955		12,303	
9	10,9		11,355	
10	10,95		11,873	
11	10,363		11,54	
12	10,885		11,933	

ZÁVĚR

V roce 2006 byl výnos zrna ječmene příznivě korekcemi dusíkem prováděnými během vegetace ovlivněn. V roce 2007 byl trend opačný. Suché jaro zhoršilo využití dusíku z aplikovaných hnojiv ve fázích růstu, kde se rozhoduje o výnosu zrna, tj odnožování a počátku sloupkování.

Korekce prováděné dusíkem během vegetace v roce 2006 zvyšovaly objemovou hmotnost zrna, v roce 2007 byl trend opačný. Po hnojení síranem amonným byla objemová hmotnost zrna i podíl předního zrna v obou letech vyšší.

Poměr N:S v sušině nadzemní hmoty, který je směrodatný pro hodnocení účinku síry, byl u variant se síranem amonným během vegetace výrazně užší oproti variantám s elementární sírou, v zrně byl obsah síry i poměr N:S vyrovnán. Prováděné korekce poměr N:S rozšiřovaly.

Prováděné korekce zvyšovaly obsah dusíkatých látek v zrně, negativně byl ovlivněn obsah škrobu

LITERATURA

Basařová et al. (1992): Pivovarsko-sladařská analytika. Merkanta s.r.o., Praha. 388s.

Hřivna L., Richter R., Lošák T. (2001): The effect of the content of water-soluble sulphur in the soil on the utilisation of nitrogen, on the yields and quality of winter rape. Rostlinná výroba, 47(1): 18-22.

McGrath S.P., Zhao F.J. (1996): Sulphur uptake, yield responses and interaction between nitrogen and sulphur in winter oilseed rape (*Brassica napus*). Journal of Agriculture Science, 126: 53-62.

Mengel K. (1991): Ernährung und Stoffwechsel der Pflanze. Jena: Gustav Fisher Verlag, 1991, 466s.

Schnug E., Haneklaus S. (1994): Sulphur deficiency in *Brassica napus*. Landbauforschung Völkenrode, 31s.

Šusta J., Havlová P (1996): Studium tvorby dimethylsulfidu v průběhu sladování. Kvasný průmysl 42 (11): 346-349.

Zbírál J. (1994): Stanovení vodorozpustné síry v půdě. Analýza půd II. S. 5/24.

THE IMPACT OF WINTER STORAGE OF LIVING CARPS ON RESENCE OF PHTALATE ESTERS IN MUSCLE

VLIV SÁDKOVÁNÍ KAPRA OBECNÉHO NA VÝSKYT ESTERŮ KYSELINY FTALOVÉ VE SVALOVINĚ

Zorníková, G., Jarošová, A., Stancová, V.

Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: G.Zornikova@email.cz, ualja@mendelu.cz

ABSTRACT

Our aim was to determine the content of di-n-butyl phthalate (DBP) and di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) in carps. We selected carps from area in South Moravia. First group of carp was fished in autumn and second group was located to the plastic tubs until the winter. Samples of fishes were lyophilized and extracted with solvent mixture (acetone:hexan =1:1). We used gel permeation chromatography with column Bio-Beads S-X3 to clean the samples. The levels of DBP and DEHP were determined by high performance liquid chromatography with column Separon SGX C 18 with UV detection. The results show that occurrence of DBP and DEHP was evident in all samples. The concentration of DBP and DEHP in carps was in range from 0,29 mg.kg⁻¹ of original weight to 1,93 mg.kg⁻¹ of original weight in the autumn group. After the winter storage was detected the level of DBP and DEHP in range from 0,86 mg.kg⁻¹ of original weight to 2,10 mg.kg⁻¹ of original weight. It is obvious that DEHP is more strongly absorbed by sediment than DBP, and its concentration in aquatic environment is lower than DBP. Thus the bioavailability of DEHP is lower than DBP. The difference in intake of DBP and DEHP might be associated with their different physiological and chemical properties.

Key words: phthalates, contamination, fish, DBP, DEHP

Acknowledgments: This study was supported by the Ministry of the Agriculture of the Czech Republic of the National Agency for agricultural research (NAZV), project No. QG60066/2005.

ÚVOD

Estery kyseliny ftalové (PAE) jsou v průmyslu široce využívané chemikálie, které se díky svým chemickým a fyzikálním vlastnostem používají jako plastifikátory, které udělují daným materiálům flexibilitu. Jelikož nejsou v plastických materiálech pevně chemicky vázány dochází k jejich uvolňování do ovzduší nebo vyluhování do vodního prostředí, čímž se stávají ubikvitárními kontaminanty (FROMME *et al.*, 2002). V současné době se v západní Evropě ročně vyrobí asi 1 milion tun ftalátů, přičemž z toho 900 tisíc tun se použije při výrobě PVC (<http://www.plasticisers.org>).

Jejich silně lipofilní charakter naznačuje jejich přednostní kumulaci v matricích obsahujících tuky. Mezi velmi sledované druhy patří di-n-butyl ftalát (DBP) a di-2-ethylhexyl ftalát (DEHP), které se často vyskytují v potravním řetězci. Do potravin se mohou dostat především z původních surovin, plastových obalů a z prostředí.

Do organismu se ftaláty dostávají kromě per os prostřednictvím kůže i plic. V lidském organismu je DEHP dále metabolizován na dva produkty, mono-2-ethylhexyl ftalát a 2-ethylhexanol, které jsou karcinogenní. Po orálním příjmu dochází k enzymatické hydrolýze ještě v ústní dutině a posléze v gastrointestinálním traktu (NIINO *et al.*, 2003, NIINO *et al.*, 2001). Studie na zvířatech dokazují schopnost DEHP vyvolávat vývojové vady varlat a penisu, změny v produkci spermií, poškození metabolismu a imunitního systému. U DBP byl potvrzen teratogenní a embryotoxický účinek.

MATERIÁL A METODY

Pro pokus byl vybrán rybník z oblasti Jižní Moravy, kde bylo při podzimním výlovu náhodně vybráno 10 jedinců kapra obecného. Kapři byli po porážce vykucháni a uskladněny při -20°C . Současně bylo vyloveno i 10 jedinců, kteří byli krátkodobě umístěni na sádky. Po 7 týdnech sádkování byli kapři po porážce vykucháni a připraveni pro experiment. Pro pokus byla použita svalovina s kůží z pravé půlky ocasní části.

Pro analýzu byly zvoleny ověřené metody pro stanovení DBP a DEHP v potravinách (JAROŠOVÁ, 2004). Homogenizované vzorky rybí svaloviny i s kůží byly lyofilizovány a extrahovány směsí rozpouštědel aceton : hexan (1:1). Pro oddělení koextraktů byla použita gelová permeační chromatografie (GPC) s kolonou Bio Beads S-X3. Získaná frakce byla podrobena přečištění koncentrovanou kyselinou sírovou a po vysušení dusíkem byl vzorek rozpuštěn v acetonitrilu. Stanovení koncentrace PAE bylo provedeno HPLC analýzou s kolonou Separon SGX C 18 a s UV detekcí při 224 nm. Získané výsledky byly vyhodnoceny na základě kalibračních křivek standardů v softwaru Agilent Chemstation for LC and LC/MS systems. Konečné hodnoty byly vztaženy na původní hmotnost vzorku.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Při analýze rybí svaloviny s kůží u kapra obecného byl zjištěn výskyt ftalátů jak di-n-butyl-ftalát (DBP), tak di-2-ethylhexyl-ftalát (DEHP). Tab. 1 uvádí celkové výsledky analýzy provedené na skupině ryb získaných při podzimním výlovu a na rybách uchovávaných na

sádkách. Pouze u vzorku č. 1 a 2 byla naměřená hodnota DEHP pod detekčním limitem, který byl stanoven $0,03 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.

V případě DBP byla u ryb z podzimního výlovu, tedy bez sádkování naměřena průměrná koncentrace $0,56 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ a u DEHP $0,26 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ původní hmotnosti. U jedinců, kteří byly krátkodobě umístěny na sádkách byla naměřená průměrná hodnota u DBP $0,83 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ a u DEHP $0,72 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ původní hmotnosti vzorku.

Tab. 1 Koncentrace DBP, DEHP a sumy DBP + DEHP v jednotlivých měřených vzorcích svaloviny s kůží kapra obecného v $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ původní hmotnosti

Vzorek	Podzimní výlov			Vzorek	Zimní výlov (sádky)		
	DBP	DEHP	Σ DBP+DEHP		DBP	DEHP	Σ DBP+DEHP
	[$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ původní hm.]				[$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ původní hm.]		
1	0,58	0	0,58	61	0,95	0,83	1,78
2	0,40	0	0,40	62	0,70	0,70	1,40
3	0,59	0,13	0,71	63	0,86	0,59	1,45
4	0,36	0,04	0,40	64	0,82	0,62	1,44
5	0,20	0,10	0,29	65	0,51	0,35	0,86
6	1,53	0,41	1,93	66	0,66	0,77	1,42
7	0,28	0,51	0,79	67	1,10	0,96	2,06
8	0,31	0,25	0,57	68	1,00	0,83	1,83
9	0,35	0,52	0,86	69	1,29	0,81	2,10
10	0,98	0,62	1,60	70	0,37	0,77	1,14

Celková koncentrace DBP a DEHP byla v průměru $0,82 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ původní hmotnosti u podzimního výlovu a $1,55 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ původní hmotnosti při zimním výlovu, tedy po sádkování.

Z výsledků vzorků č. 1-10 můžeme usuzovat, že zjištěné množství DBP a DEHP se do rybích tkání dostalo z přirozeného prostředí, tedy z vody a sedimentů. YUAN *et al.*, zkoumali zastoupení 8 druhů ftalátů ve vodních sedimentech a prokázali největší výskyt právě DEHP a DBP. Ve většině případů jsou průmyslové kontaminanty včetně ftalátů usazené ve spodních sedimentech vodních toků. Z toho vyplývá, že významný vliv na celkové zastoupení ftalátů v rybách je ovlivněno místem, kde se ryby nejčastěji vyskytují. Distribuce mezi vodními živočichy je dána také mírou znečištění vodního prostředí, teplotou vody a rychlostí proudu (HUANG *et al.*, 2008). Dalším možným zdrojem kontaminace může být také krmivo, které může obsahovat množství ftalátů (JAROŠOVÁ *et al.*, 2008). Nižší množství DEHP ve vzorcích může být do jisté míry také ovlivněno tím, že DEHP je pevně sorbován na částice sedimentu a je tudíž velmi málo mobilní (VELÍŠEK, 2002).

Tab. 2 Koncentrace DBP, DEHP v mg.kg^{-1} původní hmotnosti ve vzorcích svaloviny kapra obecného

	Podzimní výlov			Zimní výlov (sádky)		
	DBP	DEHP	Σ DBP + DEHP	DBP	DEHP	Σ DBP + DEHP
	[mg.kg^{-1} původní hm.]			[mg.kg^{-1} původní hm.]		
n	10	10	10	10	10	10
Průměr	0,56	0,26	0,82	0,83	0,72	1,55
Medián	0,38	0,19	0,65	0,84	0,77	1,45
S.D.	0,39	0,23	0,51	0,26	0,16	0,37
Min.	0,20	0,04	0,29	0,37	0,35	0,86
Max.	1,53	0,62	1,93	1,29	0,96	2,10

Z porovnání průměrných hodnot (medián) podzimního a zimního výlovu (Tab. 2) je vidět nepatrný nárůst množství obou sledovaných PAE u ryb, které byly uchovávány na sádkách. Jak již bylo řečeno, dochází u ftalátů k dobré vyluhovatelnosti do vodního prostředí. Tato vlastnost je dána délkou postranních řetězců, přičemž platí čím kratší řetězec, tím lepší uvolňování do prostředí (GROUP, 1986). Na základě toho můžeme usuzovat na nepatrně vyšší množství DBP než DEHP, což se při analýze potvrdilo.

Přípustné množství esterů kyseliny ftalové ve sladkovodních rybách, vyjádřeno jako suma DBP a DEHP bylo podle vyhlášky Ministerstva Zdravotnictví č. 298/1997 Sb. 4,0 mg.kg^{-1} původní hmotnosti. Tyto limity byly po vstupu do Evropské unie v roce 2004 zrušeny.

ZÁVĚR

Při pokusu jsme zjistili, že došlo k nepatrnému nárůstu obsahu ftalátů u sádkovaných ryb. Rozmezí naměřených hodnot Σ DBP + DEHP u nesádkovaných ryb byla 0,29 – 1,93 mg.kg^{-1} původní hmotnosti. U kaprů, kteří byli na 7 týdnů umístěni v plastových kádích, byl průměrný obsah ftalátů 0,86 – 2,10 mg.kg^{-1} původní hmotnosti. Při analýze kaprů z podzimního výlovu, tedy u nesádkovaných ryb byl průměrný obsah DBP 0,56 mg.kg^{-1} zatímco po sádkování byla tato hodnota 0,83 mg.kg^{-1} . Obdobný nárůst byl zjištěn také v případě DEHP.

Tento projekt byl vypracován za podpory grantu NAZV číslo QG60066/2005.

LITERATURA

- Fromme, H., Kuchler, T., Otto, T., Pilz, K., Muller, J., & Wenzel, A. (2002): Occurrence of phthalates and bisphenol A and F in the environment. *Water Research*, 36:1429–1438.
- Group, E. F. (1986) Environmental fate and aquatic toxicology studies on phthalate esters. *Environ. Health Perspect.*, 65:337-340
- Huang, P. C., Tien, C. J., Sun Y. M., Hsieh, C. Y., Lee, C. C. (2008): Occurrence of phthalates in sediment and biota: Relationship to aquatic factors and the biota-sediment accumulation factor. *Chemosphere*, 73:539-544
- Jarošová, A. (2004): Polychlorované bifenyly a estery kyseliny ftalové v potravním řetězci. Habilitační práce, MZLU, Brno, 137 s.
- Jarošová, A., Harazim, J., Krátká, L., Kolenčíková, D. (2008): Úroveň kontaminace ftaláty u vybraných krmných surovin, doplňkových látek a premixů. *Maso*
- Niino, T., Ishibashi, T., Ishiwata, H., Takeda, K., Onodera, S. (2003): Characterization of human salivary esterase in enzymatic hydrolysis of phthalate esters. *Journal of health science*, 49:76-81.
- Niino, T., Ishibashi, T., Itho, T., Sakai, S., Ishiwata, H., Yamada, T., *et al.* (2001): Monoester formation by hydrolysis of dialkyl phthalate migrating from polyvinyl chloride products in human saliva. *Journal of health science*, 47:318-322.
- Velíšek, J. (2002): Chemie potravin 3, Tábor, OSSIS, 368 s., ISBN 80-86659-02-X
- What are plasticisers?, Dostupné z <<http://ww.plasticisers.org>>
- Yuan, S. Y., Liu, C., Liao, C. S., Chang, B. V. (2002): Occurrence and microbial degradation of phthalate esters in Taiwan river sediments. *Chemosphere*, 49:1295 – 1299

PROTEOME ANALYSIS OF ARABIDOPSIS THALIANA TRANSGENIC PLANTS WITH INCREASED LEVELS OF ENDOGENOUS CYTOKININS

ANALÝZA PROTEOMU TRANSGENNÍCH ROSTLIN ARABIDOPSIS THALIANA SE ZVÝŠENOU HLADINOU ENDOGENNÍCH CYTOKININŮ

Baldrianová J., Dyčka, F., Bobál'ová, J., Brzobohatý B.

Institute of Biophysics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Královopolská 135, 612 65, Brno, Czech Republic

Department of Molecular Biology and Radiobiology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

Institute of Analytical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Veveří 97, 602 00, Brno, Czech Republic

E-mail: baldrianova@ibp.cz, brzoboha@ibp.cz

ABSTRACT

Cytokinins are plant hormones that play important roles during plant development and growth. In particular, they influence chloroplast development, nutrient mobilization, delayed senescence, morphogenesis (in association with auxin) and the cell cycle. Light quality and intensity are important factors that affect a range of plant processes. Some effects of cytokinin and light are identical. This fact led us to set up our experiments, whose aim is to identify changes at the protein level in plants grown under different light intensities. In our experiment we used two different light intensities (100 and 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and transgenic *A. thaliana* plants with pOp-ipt::35S-LhGR, a construct whose activity is inducible by a suitable activator, generating increases in cytokinin levels. Proteome analysis was performed by 2D gel electrophoresis and subsequent comparison of proteome maps using Decodon Delta 2D software, version 3.6. Total number of resolved spots was 726 and 17 spots showed statistically significant changes indicating presence of differentially regulated proteins. The differentially regulated proteins were identified by MALDI-TOF/TOF. The highest number of changes in protein expression was observed on the fifth day after activation.

Key words: cytokinins, light, proteome, 2D electrophoresis

Acknowledgments: This work was supported by grants 1M06030 and LC06034 (Ministry of Education of the Czech Republic), IAA600040612 and IAA600040701 (Grant Agency of the Academy of Science of the Czech Republic) and AVOZ50040507.

THE SEPARATION OF GRAPEVINE (*VITIS VINIFERA* L.) CONCVLTA MEMBERS WITH MOLECULAR MARKERS

ROZLIŠENÍ RÉVY VINNÉ (*VITIS VINIFERA* L.) MOLEKULÁRNÍMI MARKERY

¹Bodor P., ¹Bisztray G. D., ²Pedryc A.

¹Department of Viticulture, Faculty of Horticultural Science, Corvinus University of Budapest, H-1118 Budapest, Villányi street 29-43.

²Department of Genetic and Plant Breeding, Faculty of Horticultural Science, Corvinus University of Budapest, H-1118 Budapest, Ménesi street 44.

E-mail: bodor.peter@uni-corvinus.hu

ABSTRACT

The berry color is one of the most characteristic in case of grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.). This morphological property is important to make difference between the cultivars in the time of the full maturity. Complemented with the patterns of the leaf, bunch, vine, shoot-tip could be enough to identify a cultivar. Two main groups can be made according to the color of the berry, white and red wine cultivars. The red wine cultivars contain anthocyanin in the epidermal section of the berry. The amount and concentration of the coloring matter define the typical color of the cultivars. *VvmybA1* (a *Myb*-related transcription factor) regulate the anthocyanin synthesis, consequently the function of this pathway responsible among others to the berry skin. The presence of the retrotransposon *Gret1* near to the coding sequence of *VvmybA1* causes the white berry skin with the blocking of the expression of the gene. In this study we demonstrate the separation of the grapevine cultivars which different from each other visibly only in the color of the berry. Two main methods used: SSR (Simple Sequence Repeat) and the *Gret1*-based separation of the cultivars. Such as Pinot, Chasselas, Bajor, Gohér group of cultivars can be distinguishes according to the presence or absence of the *Gret1* in their promoter region or with SSR analysis.

Key words: *VvMYBA1*, retroelement, SSR, group of cultivars

INTRODUCTION

In case of the concultas (color variations/bud sports) where more members are grown, for example 'Pinot', it is important to differentiate the members at any phenological stages (winter), not only at full maturation. During the period of wood propagation when the plants not give the most characteristic patterns also necessary to find differences. Pinot (noir, blanc, grey) and Chasselas (blanc, rouge) origin from different geographical areas. Pinot conculta is origin in the west part of Europe (convar. *occidentalis*) while the Chasselas conculta spread from the east (Central-Asia, Iran) (convar. *orientalis*). These groups came into being in the same way, all of the conculta members are origin from one ancient cultivar (which is member of the conculta) with bud-mutation and later human selection ('Pinot' conculta hypothetically origin from the Pinot noir). Inside of each concultas the members are differentiate only in a few visible pattern, which is the color of the berry, the autumn coloration of the leaf (Németh 1973). This character is under the control of the anthocyanin biosynthesis pathway. It is proved that such cultivars which evolutes with mutations (Ruby okuyama, Flame muscat, Pinot noir) different from the original cultivar (Italia, Muscat of Alexandria, Pinot blanc) mainly only in the color of the berry. These changes happened by the reason of the mutation in the anthocyanin pathway (Kobayashi et al. 2001, Yakushiji et al. 2006).

Regner et al. (2000) could not found any different between the Pinot conculta with 34 microsatellites. It means that the mutations have no affect to the non-coding regions where the investigated SSR regions are.

The anthocyanin pathway described in detail by Kobayashi et al. (2001) and Ageorges et al. (2006). According to these results, the gene expression of the genes in this pathway; in the above mentioned cultivars; are the same in white and red cultivars also. The only experienced different are in the expression of the UFGT gene (UDP-glucose: flavonoid 3-*O*-glucosyltransferase). This gene has no expression in case of the cultivars with white berry color. The sequences of UFGT gene and the promoter region were the same in case of all investigated cultivars. Results proved that the transcription factor of this gene which regulates the expression of the UFGT and the anthocyanin synthesis is blocked (Kobayashi et al. 2001).

The *VvMYBA1* transcription factor described by (Kobayashi et al. 2005) regulates the expression of the UFGT. In case of red skinned cultivars this transcription factor works suitably. However in case of white skinned cultivars has no anthocyanin synthesis because the *gypsy-type* retroelement (*Gret1*) is blocking the expression of the *VvMYBA1*. This retroelement translocated into the promoter region of the MYB gene. Hypothetically this movement is the reason of the different between the white and red cultivars.

The "original" Pinot cultivar probably was the Pinot noir. The Pinot blanc and Pinot gris are bud mutations of this cultivar. As it described before (Hocquigny et al. 2004) the Pinot gris is a periclinal chimera which expresses anthocyanin in the L1 layer, in the epidermis, but no expression in L2, under the epidermal cell layer. The Pinot blanc also result of a bud mutation of Pinot noir. Yakushiji et. al (2006) proved that a deletion in the region of *VvMYBA1* causes that, the red allele of the MYB gene is missing. On the other locus the *Gret1* blocked *VvMYBA1* (white allele) controlled expression of the UFGT. This is the reason

of the color changes. As it seems the taxonomic definition of the conculta is not else but the mutation of the promoter of the *VvMybA1* gene.

No any *Vitis vinifera* L. were found which no contains the *Gret1* element on each allele of the promoter of *VvMYBA1*. It means that the method of separation of the separation of conculta members can base on the presence of the *Gret1* in the promoter region of the *VvMYBA1*. The red berried cultivars are heterozygote for the *Gret1*. Only on one allele is detectable the *Gret1*, but on the other allele is no absence of the element. Because of it, there is expression of the *VvMYBA1* and the UGFT can express the anthocyanin. The presence or absence of the *Gret1* retroelement can be used as a molecular marker for the separation of the conculta members. Our aim was to separate group of cultivars from each other which separation is questionable or not possible with microsatellites.

MATERIALS AND METHODS

Plant material (Table), young leafs were collected in the cultivar collections of Nagyréde (N) (Szőlőskert Ltd.), Helvécia (H), and Ministry of Agriculture and Rural Development (MARD) Research Institute for Viticulture and Oenology Pécs (P).

DNA extraction was made with the Qiagen DNeasy Plant Mini Kit according to the manufactures protocol (Qiagen- Biomarker Ltd. Gödöllő, Hungary). The successfully of the extraction was checked on agarose gel electrophoresis.

Seven fluorescent-labeled microsatellite primer pairs (VvS2, VvMD5, VvMD7, VvMD27, VrZAG21, VrZAG62 and VrZAG79) were used in this study (Biomi Ltd.-Gödöllő, Hungary). The PCR conditions for the primers are described before by Regner et al 2000. Three oligonucleotide primers: promoF', Cr', LTR5f' were applied, described before by This et al. 2004. These primers are designed for the detection of the *Gret1* retrotransposon according to the presence or the absence of the LTR5 region of that (Figure 1.).

The PCR program for the oligonucleotide primers (detection of the *Gret1*) was: denaturation on 94 °C for 3 min, additional 94 °C 30 s / 55 °C 30 s / 72 °C 1:30 min. repeated for 35 cycles, and the final step is 72 °C 10 min. The PCR products were checked on 1% agarose with ethidium-bromide.

RESULTS

The SSR results show that there is no any difference within the Chasselas and Pinot samples. All the seven loci show homology. Earlier investigations made by Regner (2000) proved that the Pinot samples could not be separated with 34 SSR markers. Our data show the same result. By this time only the 'Pinot' conculta (noir and blanc) could be separated with the retrotransposon based selection (Figure 2). As it described before, the genes of the anthocyanine pathway have the same sequences in each of the conculta members. The only differ is the presence or the absence of the *Gret1* in either of the alleles. As it proved before the Pinot noir are contains the *Gret1* only in one allele of the MYB gene, these is the reason of the red berry color. The Pinot blanc as a white berried cultivar not produce anthocyanine in the skin of the berry.

Investigations with the Chasselas blanc and rouge show that the genetic differences can not detectable on these loci. Conculta members of ‘Gohér’ show homology at all loci except the ‘Gohér altering’ which was homozygote at the locus VVMD27. Interestingly the ‘Bajor blue’ – member of the ‘Bajor’ conculta – is distinct from the other conculta members at the same locus (Table). These results proved that these conculta members are differ from each other not only on the promoter region of *VvMybA1* but in non-coding regions also, as is seems on the microsatellite data.

As it can be seen on the Table ‘Sárfehér’ and ‘Sárpiros’; ‘Járdovány black’ and ‘Járdovány white’ are not conculta members because there are several differences. They are probably homonyms with different berry color.

This work was the first step to describe the promoter region of *VvMybA1* gene of the world known conculta members and separate those with Gret1 based molecular markers.

CONCLUSION

The most used grapevine identification method these days are the SSR (simple sequence repeat) or microsatellite analysis. This method is suitable for identification and separation of cultivars. Although this method is widely used for *Vitis vinifera* L. investigation, not well for separate the conculta members, such as Pinot and Chasselas. These cultivars are widely used in Hungary and the separation of them is not as easy in winter and the propagation period as in the full maturing. The plants give the most characteristic pattern in the time of maturing, when bunches have the characteristic color, shape and size. With the help of the genetic background of the berry color as a genetic marker it will be possible to separate conculta members.

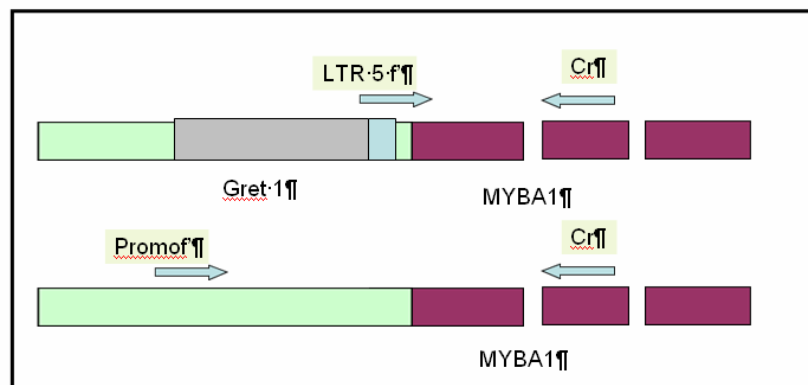


Figure 1: The schematic picture of the *VvMYBA1*, *Gret1*, and the place of the oligonucleotide primers

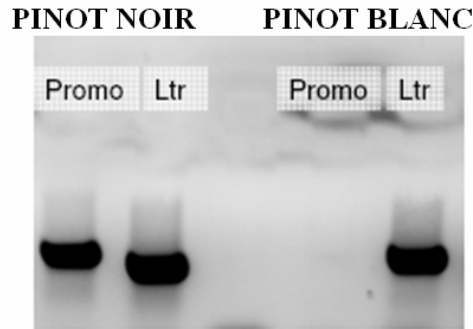


Figure 2.: The gel picture of Pinot noir and Pinot blanc

Table : The collected cultivars and the fragment length data of the investigated loci

Place of collecting	Cultivar	Locus	Fragment length data (bp)													
			VvS2	VvMD5	VvMD7	VrZAG21	VvMD27	VrZAG62	VrZAG79	VvS2	VvMD5	VvMD7	VrZAG21	VvMD27	VrZAG62	VrZAG79
N	Chasselas rouge		133	143	228	236	239	247	199	205	185	189	195	205	251	259
N	Chasselas blanc		133	143	228	236	239	247	199	205	185	189	195	205	251	259
N	Pinot noir		137	151	228	238	239	243	203	209	185	189	189	195	239	245
N	Pinot gris		137	151	228	238	239	243	203	209	185	189	189	195	239	245
N	Pinot blanc		137	151	228	238	239	243	203	209	185	189	189	195	239	245
P	Gohér white		131	151	236	236	238	248	201	205	179	191	188	204	248	258
P	Gohér red		131	151	236	236	238	248	201	205	179	191	188	204	248	258
P	Gohér altering		131	151	236	236	238	248	201	205	179	179	188	204	248	258
P	Bajor blackwooden		131	151	226	236	238	238	199	205	179	191	188	196	248	258
P	Bajor blue		131	151	226	236	238	238	199	205	179	179	188	196	248	258
P	Bajor grey		131	151	226	236	238	238	199	205	179	191	188	196	248	258
H	Sárfehér		131	151	226	230	236	244	199	205	187	191	190	198	246	248
H	Sárpiros		131	151	222	222	236	244	199	199	187	191	186	202	246	248
H	Járdovány black		131	151	222	232	238	248	199	205	177	191	168	200	246	248
H	Járdovány white		141	144	228	236	244	244	199	205	179	191	202	202	240	246

LITERATURE

- Ageorges A., Fernandez L., Vialet S., Merdinoglu D., Terrier N., Romieu C. (2006): Four specific isogenes of the anthocyanin metabolic pathway are systematically co-expressed with the red colour of grape berries. *Plant Sci*, 170: 372-383.
- Azuma, A. (2006): A skin color mutation of grapevine, from black-skinned Pinot noir to white-skinned Pinot blanc, is caused by deletion of the functional *VvmybA1* allele. *Biosci. Biotechnol. Biochem*, 70 (6), 1506-1508.
- Hocquigny S., Pelsy F., Dumas V., Kindt S., Heloir MC., Merdinoglu D. (2004): Diversification within grapevine cultivars goes through chimeric states. *Genome* 47:579–589
- Kobayashi S., Ishimaru M., Ding CK., Yakushiji H., Goto N (2001): Comparison of UDP-glucose:flavonoid 3-O-glucosyltransferase (UFGT) gene sequences between white grapes (*Vitis vinifera*) and their sports with red skin. *Plant Sci.*, 160: 543–550.
- Kobayashi S., Yamamoto NG., Hirochika H. (2005): Association of *VvmybA1* gene expression with anthocyanin production in grape (*Vitis vinifera*) skin-color mutants. *J Jpn Soc Hort Sci* 74: 196–203
- Németh M (1973): Régi magyar borszőlőfajták. *Agrobotanika*. 15, 37-55.
- Yakushiji, H., Kobayashi, S., Goto- Yamamoto, N., Jeong, S.T., Sueta, T., Mitani, N., Azuma, A. (2006) A skin color mutation of grapevine, from black-skinned Pinot noir to white-skinned Pinot blanc, is caused by deletion of the functional *VvmybA1* allele. *Biosci. Biotechnol. Biochem*, 70 (6), 1506-1508.
- Regner, F.; Stadlbauer, A.; Eisenheld, C.; Kaserer, H. (2000): Genetic relationship among Pinot and related cultivars. *Am. J. Enol. Vitic.* 51, 7-14.
- This P., Cadle-Davidson M., Lacombe T., Owens CL. (2007): Wine grape (*Vitis vinifera* L.) color associates with allelic variation in the domestication gene *VvmybA1*. *Theor. Appl. Genet.* 114:723–730.

PLANT TRANSPOSABLE ELEMENTS AS A TOOL FOR GENE LOCALIZATION

TRANSPOZONY ROSTLIN A JEJICH VYUŽITÍ PŘI LOKALIZACI GENŮ

^{1,2}Čegan R., ^{1,2}Hobza R., ^{2,3}Mráček J., ²Kejnovský E., ⁴Widmer A., ²Vyskot B.

¹ Department of Plant Biology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

² Plant Developmental Genetics, Institute of Biophysics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Královopolská 135, 612 65, Brno, Czech Republic

³ Ústav lesnické botaniky, dendrologie a geobiocenologie, Lesnická a dřevařská fakulta, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 3, 613 00 BRNO, Česká republika

⁴ Plant Ecological Genetics, Institute of Integrative Biology, ETH Zurich, 8092 Zurich, Switzerland

E-mail: xcegan@node.mendelu.cz, qqhobza@node.mendelu.cz

ABSTRACT

Transposable elements (TE) and retroelements are frequently co-localized with heterochromatin and non-coding regions of genome. MITE elements (Miniature Inverted-repeats Transposable Elements) is a class of small TE without their own transposase. Surprisingly, MITEs are often found in the vicinity of genes in some model species (rice, maize). Mechanism of transposition of these elements to coding regions is still unclear. Plant genomes have often extremely huge size and are composed of mainly repetitive sequences. Many tools were designed to subtract coding DNA (genes) from rest of genomic DNA. In this paper, we focused on using MITE elements as a tool to find new genes in *Silene latifolia* genome. *S. latifolia* is a model plant for studies concerning sex chromosome evolution. Non-recombining chromosome Y is potentially affected by degeneration processes which reduce expression of Y linked genes. Previous methods used for identification of Y linked alleles enabled to identify only several candidates. We investigated distribution of some MITE elements in genome of *S. latifolia* in context of gene distribution. Based on GenBank data we identified a MITE element in *S. vulgaris*. This species is closely related to *S. latifolia* and enabled us to characterize a homologue of the element in this species. We screened a BAC library of genomic clones with both MITE probe and complex probe containing previously published genes. We found strong co-localization of MITE element and genes in *S. latifolia*. We suggest to use MITE probe as a useful tool to find new genes in genomic libraries in *S. latifolia* and related species.

Key words: Transposable elements, MITEs, *Silene species*, BAC library, gene localization

Acknowledgments: This project was supported by the Grant Agency of the Czech Republic (grant 204/05/H505) and Ministry of Education (grant LC06004).

ÚVOD

Transpozony neboli mobilní genetické elementy tvoří pravidelnou součást genomů rostlin. Často navozují mutace genů, jsou odpovědné za přestavby chromozomů a mohou přenášet nové znaky (horizontální genový transfer).

Transpozony obecně dělíme do dvou tříd. První třída jsou retroelementy a retrotranspozony a druhá třída jsou transponovatelné elementy.

Retroelementy jsou transpozony pohybující se (množící se) v genomech systémem „copy and paste“ tzn., že dochází k duplikaci pohybujícího se elementu. Hlavními zástupci této třídy I. jsou LTR (long terminal repeats) a non-LTR retroelementy.

Transponovatelné elementy se dělí do tří skupin na autonomní elementy, neautonomní elementy a MITEs (Miniature Inverted-repeats Transposable Elements). Tyto elementy jsou v genomu přenášeny způsobem „cut and paste“ tzn., že se z původního místa výskytu vystřihnou a včlení se na místo nové.

MITE elementy jsou často hojně zastoupeny v genomech rostlin. Jejich původ je pravděpodobně odvozen od amplifikace neautonomních krátkých elementů, které ztratily schopnost samostatné transpozice, která je řízena transpozázou kódovanou příbuzným autonomním elementem (Zhang *et al.*, 2001). V současnosti je známo několik rodin těchto elementů: Stowaway (Bureau *et Wessler*, 1994a), Tourist (Bureau *et Wessler*, 1992), Spring (Han *et Korban*, 2007), mPing (Nakazaki *et al.*, 2003), Heartbreaker (Casa *et al.*, 2000) a další. V genomu rýže představují největší podíl ze všech TE (Naito *et al.*, 2006). Každý MITE element je tvořen koncovou invertovanou repeticí (TIRs – Terminal Inverted Repeats), interní sekvencí a krátkou sekvencí, kterou je element ohraničen a kterou upřednostňuje ke své inzerci (TSD – Target Site Duplication). Způsob jejich transpozice v genomu zatím nebyl objasněn, nicméně se předpokládá, že jejich transpozice je řízena transpozázou kódovanou příbuzným autonomním elementem, která specificky rozezná jejich koncové repetice (Casacuberta *et Santiago*, 2003). V současnosti jsou známy také aktivní MITE elementy, které se dosud v genomu transponují. Mnoho MITE elementů jsou nalézány v genově bohatých oblastech, nejčastěji v těsné blízkosti genů nebo přímo v intronech či exonech (Bureau *et Wessler*, 1994b; Bergero *et al.*, 2008). MITE elementy ovlivňují transkripci a translaci genů, jejich transpozice může být také aktivována stresem a mají vliv na evoluci genů a genomů (Casacuberta *et Santiago*, 2003). Pokud jsou přítomny v pohlavních chromozomech mohou mít vliv na degeneraci chromozomu Y.

Rostliny rodu *Silene* patří do čeledi *Caryophyllaceae* sekce *Elisanthe*. V rámci tohoto rodu můžeme mezi nimi najít mnoho zástupců s různým způsobem rozmnožování (asi 300 celkem). Většina druhů z tohoto rodu má 24 chromozomů. *S. latifolia* (Silenka široolistá) i *S. dioica* (Silenka dvoudomá) jsou dvoudomé (dioecické). *Silene latifolia* i *S. dioica* mají heteromorfní pohlavní chromozomy (XY), podobně jako člověk (Vyskot *et Hobza*, 2004). Rostliny *Silene vulgaris* jsou jednodomé (monoecické) nebo hermafroditní. Rod *Silene* je velice vhodný ke studiu: evoluce pohlavních chromozomů, rezistence k těžkým kovům,

cytoplazmatické samčí sterility a speciace.

V dnešní době je známo mnoho metod, pomocí kterých se dají nalézt (identifikovat) nové geny a které byly v minulosti již použity (differential message display (Liang *et al.*, 1992), RNA fingerprinting by arbitrarily primed PCR (Welsh *et al.*, 1992), cDNA-AFLP (Bachem *et al.*, 1996), RDA - Representational Differential Analysis (Lisitsyn *et al.*, 1993; Hubank *et al.*, 1994), SAGE - Serial Analysis of Gene Expression (Velculescu *et al.*, 1995), mikrodisekce chromozomů (Hozier *et al.*, 1996), IMAGE - integrated molecular analysis of genomes and their expression (Lennon, 1996), a další). My v této práci předkládáme další možný (alternativní) způsob jak nalézt nové geny za využití MITE elementů, o kterých je ze starších prací známo, že se nalézají v blízkosti genů či přímo v intronech nebo exonech. Tuto cestu jsme chtěli ověřit u rostlin z rodu *Silene*, speciálně u *Silene latifolia*.

Na začátku této práce jsme si položili několik otázek: Nacházejí se MITE elementy také u rodu *Silene*? Pokud ano, v kterých částech genomu *Silene* se nacházejí? Kolokalizují MITE elementy s geny, podobně jako u jiných druhů? Jaká je hojnost těchto elementů v genomu? Vyskytují se tyto elementy v repetitivních či jedinečných sekvencích? Dají se MITE elementy využít ke hledání genů? A na tyto otázky se pokusíme odpovědět v následujícím příspěvku.

MATERIÁL A METODIKA

Rostlinný materiál a izolace DNA

Rostliny *Silene vulgaris*, *Silene dioica*, *Silene latifolia* byly pěstovány ve skleníku za standardních podmínek. Genomická DNA byla izolována z mladých listů semenáčků pomocí DNAeasy Plant Mini Kitu (Qiagen).

PCR protokol

Standardní PCR podmínky byly 95°C po dobu 4 min, následovány 35 cykly 95°C/45s, 55°C/1 min, 72°C/5 min a finální inkubace 72°C/5 min. Pro amplifikaci MITE elementu byl odvozen primer 5'-TTATACTCCCTCCTATTACCATTTT-3' ze sekvence MITE elementu z genu glutathione-S-transferázy *Silene cucubalus*, který byl nalezen prohledáváním již známých sekvencí genů *Silene* v databázích. Tento primer byl použit pro PCR s genomickou DNA *S. vulgaris*, *S. latifolia* a *S. dioica*.

Klonování PCR produktů a sekvenování

Po gelové elektroforéze (1% agaróza), byly PCR produkty přečištěny pomocí Qiagen PCR Purification Kitu a klonovány do pGEM T-easy vectoru (Promega, Germany). Purifikované vzorky byly sekvenovány v Institutu integrativní biologie v Curychu (ETH Zürich) pomocí 16 kapilárního sekvenátoru ABI 3100-Avant dle manuálu výrobce.

FISH (Fluorescence in situ hybridization)

Mitotické chromozomy byly připraveny z kořenových špiček ošetřených podle Lengerové *et al.* (2004) s drobnými úpravami. Denaturace prób byla 10 minut při 75°C. Do hybridizační reakce bylo vzato 100-400 ng denaturované próby a hybridizace probíhala 16 hodin při 37°C ve vlhké komůrce. DNA byla značena červeně pomocí Fluorolink Cy3-dUTP (Amersham Pharmacia Biotech) v kombinaci s nick translation mix (Roche) nebo zeleně se Spectrum Green direct-labeled dUTP a Nick Translation kit (obojí Vysis). Chromozomy byly barveny DAPI (4', 6'-diamidino-2-phenylindole). Pozorování mitotických preparátů bylo provedeno fluorescenčním mikroskopem Olympus AX70 a snímky byly zpracovány pomocí programu ISIS.

Screening BACové knihovny Silene latifolia

Pro screening BACové knihovny *S.latifolia* byly použity PCR produkty 15 genů a PCR produkty našeho MITE elementu a elementů Bergero *et al.* (2008). PCR produkty byly vyříznuty z 1% agaróзовého gelu a přečištěny pomocí QIAquick Gel Extraction Kitu. Značení sond bylo provedeno pomocí Prime-It II Random Labeling Kitu a jako izotop byl použit α -³²P dATP, podle standardního protokolu. Membrány byly hybridizovány při 60°C po dobu 16 hodin a odmývány v 0,3x SSC/0,1 % SDS 20 minut a 0,1x SSC/0,1 % SDS 20 minut. Signály byly detekovány autoradiografií a vyhodnoceny podle manuálu dodavatele BACové knihovny.

Southernova hybridizace

Southernova hybridizace byla provedena dle Southerna (1975). Vybrané BACové klony, které pozitivně hybridizovaly s próbou obsahující mix 15 genů byly štěpeny restriční enzymem *HindIII* (NEB). Southernovou hybridizací byly přeneseny na membránu Hybond N+. Pro radioaktivní hybridizaci této membrány byl jako sonda použit PCR produkt MITE elementu. Radioaktivní hybridizace byla provedena stejně jak je uvedeno v odstavci Screening BACové knihovny *Silene latifolia*.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Na počátku této práce u rodu *Silene* nebyl znám žádný MITE element. Proto jsme prohledali databáze sekvencí rodu *Silene* pomocí GenBank. V databázi jsme našli jeden MITE element poblíž 5' konce genu glutathione-S-transferázy u *Silene cucubalus*. Tento gen je pravděpodobně zodpovědný za rezistenci či toleranci k těžkým kovům (Prändl *et* Kutchan, 1992)(*Silene cucubalus* = *Silene vulgaris*). Pracovní název tohoto MITE elementu jsme zvolili MACAS (Mite As Coding Associated Sequence).

Sekvenování a složení MITE elementu

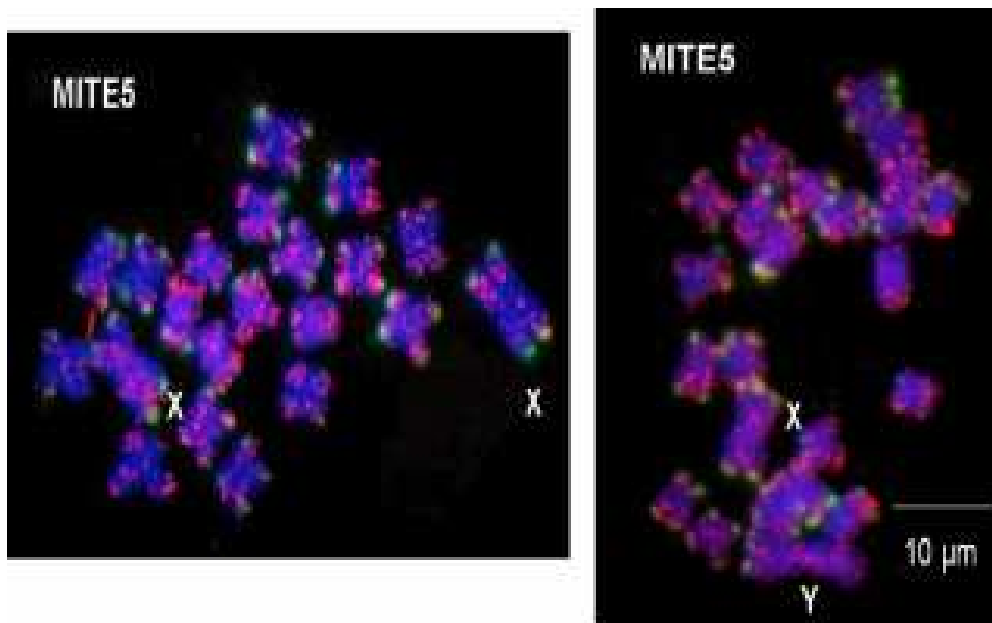
Pomocí PCR a následného sekvenování jsme získali celkem 93 sekvencí MITE elementu ze *S. latifolia*, *S. dioica*, *S. diclinis* a *S. vulgaris*. Mezi jednotlivými druhy nebyl nalezen žádný rozdíl v sekvenci TIRs ani TSD (Tab. 1). Všechny sekvence se liší jen svou vnitřní částí.

Název	TIRs	TSD	délka bp
<i>Silene cucubalus</i> glutathione-S-transferase gene MITE	TACTCCCTCCCATCCTCTATTTTCTTCCCT	TA	317
MITE element (MACAS)	TCCCTCCTATTCACCATTTTCTT (23 bp)	TA	256 - 345
SITO1	GGGGGTGTTTGGTT (14 bp)	TTA	290
EITRI	CTAGGTAGCAC (11 bp)	CTCTTGAG	407

Tab.1 Přehled a porovnání základních vlastností MITE elementů v rodu *Silene*. (Pro srovnání jsou v tabulce zařazeny v současnosti již známé MITE elementy z rodu *Silene* (Bergero et al., 2008).

Distribuce MITE elementu v genomu pomocí FISH

Pomocí fluorescenční in situ hybridizace na metafázových chromozomech *S. latifolia* jsme zjistili, že náš MITE element je lokalizován v subtelomerových oblastech chromozomů (obr. 1). Toto zjištění je v silné korelaci s výsledky získanými v naší laboratoři. Vyskot et al. (1999) zjistili, že genově bohaté oblasti jsou zvláště subtelomery chromozomů. Ve své práci využili tři přístupů. Byly to: studium acetylace histonů H4 metodou imunoprecipitace, studium DNA replikační kinetiky pomocí 5-bromdeoxyuridinu a cDNA FISH.



Obr.1 FISH na metafázových chromozomech *S. latifolia*, červená barva (Cy3) MITE sonda, zelená barva (Spectrum green) sonda X.43.1(subtelomerová próba vhodná k rozlišení X a Y chromozomu), chromozomy barveny DAPI (4', 6'-diamidino-2-phenylindole)

Screening BAC knihovny (Kolokalizují MITE elementy s geny, podobně jako u jiných druhů? Jaká je hojnost těchto elementů v genomu?)

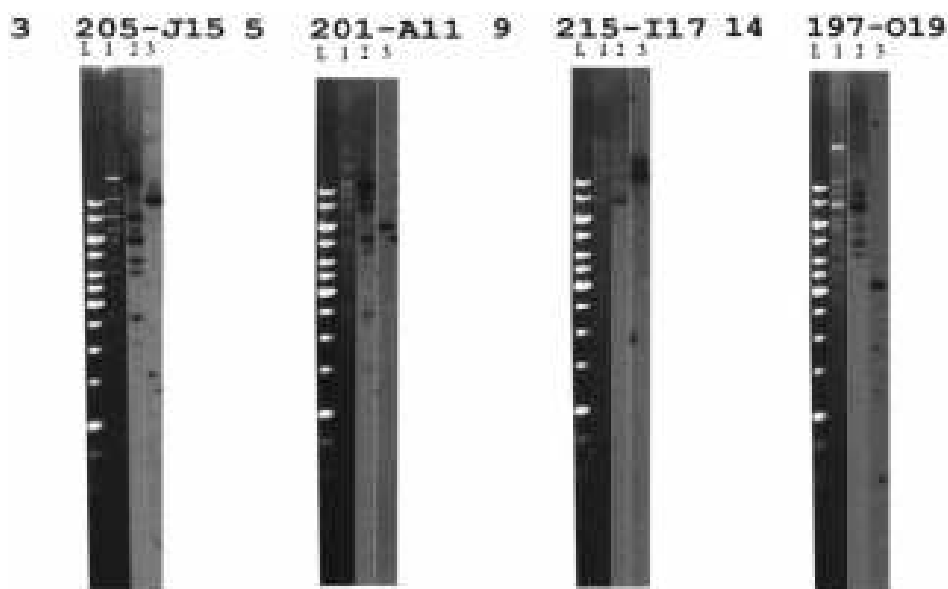
Pomocí prohledání (screening) BAC knihovny *S. latifolia* byly vybrány a izolovány BACy obsahující geny ze sondy (15) a jejich přítomnost ověřena pomocí PCR. Poté byly stejné membrány hybridizovány s MITE sondou. Bylo zjištěno, že MITE element je v genomu *S. latifolia* zastoupen přibližně v 1 000 kopiích. Z 15 BACů obsahujících geny 11 obsahuje i MITE element. Tato skutečnost potvrzuje, že náš MITE element kolokalizuje s většinou námi použitých genů.

Abychom pokryli celý genom *S. latifolia* jehož velikost je zhruba 3×10^9 bp potřebujeme alespoň 30.000 BACů. Vezmeme-li v úvahu, že *S. latifolia* má přibližně 20 000 genů a počet kopií našeho MITE elementu jsme stanovili na základě hybridizace na 1 000, tak to znamená, že jeden MITE element se nachází v každém 30 BACu. A uvědomíme-li si skutečnost, že více než polovina BACů obsahuje geny i MITE element, můžeme tvrdit, že geny jsou „klastrovány“.

Vyskytují se tyto elementy v repetitivních či jedinečných oblastech genomu?

Pro zodpovězení otázky, ve kterých oblastech genomu se náš MITE element nachází, zda to jsou repetitivní nebo jedinečné sekvence jsme provedli následující experiment. Vybrané BACy, u kterých bylo hybridizací zjištěno, že obsahují geny i MITE jsme štěpili restričními

enzymem *Hind*III a následně provedli Southernovu hybridizaci. Tato membrána byla nejprve hybridizována s genomickou DNA *S. latifolia* a poté s MITE elementem. Z obrázku 2 je zřejmé, že MITE elementy se nacházejí v nerepetitivních oblastech genomu a představují tak vhodný nástroj pro identifikaci unikátních markerů.



Obr.2 Southernova hybridizace štěpených BACů a radioaktivní hybridizace s genomickou sondou a MITE elementem (L – ladder 1kb, 1 – štěpený BAC, 2 – hybridizace s genomickou DNA *S. latifolia*, 3 – hybridizace s MITE elementem)

Další MITE elementy u rodu *Silene*

V letošním roce byly publikovány a popsány první dva MITE elementy nalezené u rodu *Silene* (Bergero *et al.* 2008). V jejich práci jsou charakterizovány SITO1 (*Silene latifolia* Tourist-like element) a EITRI element. Pomocí našich přístupů jsme provedli některé experimenty zatím jen s SITO1 elementem a zjistili jsme, že v genomu *Silene latifolia* má přibližně 400 kopií a nekolokalizuje s žádným genem, který byl použit ve výše uvedené studii přesto, že se nachází v intronu pohlavně vázaného genu *SlCypX/Y* (Bergero *et al.*, 2007), který jsme v našich analýzách nepoužili, protože nebyl znám. Při FISH experimentech jsme získali pouze slabé signály na metafázových chromozomech *Silene latifolia*. Z těchto experimentů usuzujeme, že tento MITE element není tak hojný v genomu *Silene latifolia*, a není významně kolokalizován s genovými sekvencemi.

ZÁVĚR

MITE elementy se v genomech rostlin často nacházejí v blízkosti genů. V této práci jsme identifikovali nový MITE element u druhu *S. latifolia*. Pomocí FISH jsem ukázali, že se tento element nachází v subtelomerách všech chromozomů. V dřívějších publikacích bylo ukázáno, že subtelomerické oblasti jsou u *S. latifolia* tvořeny převážně euchromatinem a jsou replikovány během buněčného cyklu jako první v pořadí. Výše uvedená data ukazují, že identifikovaný MITE element se v širším měřítku nachází poblíž genů. Přesnější určení vzdálenosti MITE elementů a genů bylo určeno pomocí paralelního prohledání BACové knihovny genomových fragmentů pomocí MITE sondy a směsné sondy obsahující geny. Bylo ukázáno, že MITE elementy jsou vzdáleny maximálně desítky kilobází od kandidátních genů (kolokalizace MITE a genů v jednom BACu) a jsou inzerovány do unikátních (ne-repetivních) sekvencí (na základě Southernovy hybridizace štěpené BAC DNA s MITE a komplexní genomovou sondou). Výše uvedená data ukazují na vhodnost použití identifikovaného MITE elementu jako nástroje pro hledání nových markerů pro genetické mapování a hledání nových genů.

LITERATURA

- Bergero R., Forrest A., Kamau E. *et* Charlesworth D. (2007): Evolutionary strata on the X chromosomes of the dioecious plant *Silene latifolia*: evidence from new sex-linked genes. *Genetics* 175: 1945-1954
- Bergero R., Forrest A. *et* Charlesworth D. (2008): Active miniature transposons from a plant genome and its non-recombining Y chromosome. *Genetics*, 178: 1085-1092
- Bachem, C. W. B., Van der Hoeven S.R., de Bruijn S.R., Vreugdenhil D., Zabeau M. *et* Visser R.G.F. (1996): Visualisation of differential gene expression using a novel method of RNA fingerprinting based on AFLP: analysis of gene expression during tuber development. *Plant J.*, 9: 745-753.
- Bureau, T.E., Wessler, S.R. (1992): Tourist: A large family of small inverted repeat elements frequently associated with maize genes. *Plant Cell*, 4: 1283-1294
- Bureau, T.E., Wessler, S.R. (1994a): Stowaway: A new family of inverted repeat elements associated with the genes of both monocotyledonous and dicotyledonous plants. *Plant Cell*, 6: 907-916
- Bureau, T.E., Wessler, S.R. (1994b): Mobile inverted-repeat elements of the Tourist family are associated with the genes of many cereal grasses. *PNAS*, 91 (4): 1411-1415
- Casacuberta J. M., Santiago N. (2003): Plant LTR-retrotransposons and MITEs: control of transposition and impact on the evolution of plant genes and genomes. *Gene*, 311: 1-11.
- Casa M.A., Brouwer C., Nagel A., Wang L., Zhang Q., Kresowich S. *et* Wessler S.R. (2000): The MITE family Heartbreaker (Hbr): Molecular markers in maize. *PNAS*, 97 (18): 10083-10089.
- Han Y., Korban S.S. (2007): Spring: A novel family of miniature inverted-repeat transposable elements is associated with genes in apple. *Genomics*, 90: 195-200.
- Hozier J.C., Hall B.K., Sims K.R., Liechty M.C., Chen-Liu L. *et* Davis M.L. (1996): Chromosome Microdissection-Based Techniques for Genome Analysis. *Methods*, 9 (1): 74-83.
- Hubank M., Schatz D.G. (1994): Identifying differences in mRNA expression by representational difference analysis of cDNA. *Nucleic Acids Res.* 22: 5640–5648.
- Lengerová M., Kejnovský E., Hobza R., Macas J., Grant S.R. *et* Vyskot B. (2004): Multicolor FISH mapping of the dioecious model plant *Silene latifolia*. *Theor Appl Genet*, 108: 1193-1199.
- Lennon G., Auffray C., Polymeropoulos M. *et* Soares M.B. (1996): The I.M.A.G.E. consortium: an integrated molecular analysis of genomes and their expression. *Genomics*, 33: 151-152.
- Liang P., Pardee A.B. (1992): Differential display of eukaryotic messenger RNA by means of the polymerase chain reaction. *Science*, 257: 967-971.

Lisitsyn N., Lisitsyn N. *et* Wigler M. (1993): Cloning the differences between two complex genomes. *Science*, 259: 946-951.

Naito K., Cho E., Yang G., Campbell M.A., Yano K., Okumoto Y., Tanisaka T. *et* Wessler S.R.. (2006): Dramatic amplification of a rice transposable element during recent domestication. *PNAS*, 103 (47): 17620-17625.

Nakazaki T., Okumoto Y., Horibata A., Yamahira S., Teraishi M., Nishida H., Inoue H. *et* Tanisaka T. (2003): Mobilization of a transposon in the rice genome. *Nature*, 421: 170-172

Prändl R., Kutchan T. M. (1992): Nucleotide Sequence of the Gene for a Glutathione S-Transferase from Cell Suspension Cultures of *Silene cucubalus*. *Plant Physiol.*, 99, 1729-1731.

Southern E.M. (1975): Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J Mol Biol.*, 98 (3):503-517.

Velculescu V.E., Zhang L., Vogelstein B. *et* Kinzler K.W. (1995): Serial analysis of gene expression. *Science*, 270: 484-487.

Vyskot B., Siroky J., Hladilova R., Belyaev N.D. *et* Turner B.M. (1999): Euchromatic domains in plant chromosomes as revealed by H4 histone acetylation and early DNA replication. *Genome*, 42, (2): 343-350.

Vyskot B., Hobza R. (2004): Gender in plants: sex chromosomes are emerging from the fog. *Trends in Genetics*, 20: 432-438.

Welsh J., Chada K., Dalal S.S., Cheng R., Ralph D. *et* McClelland M. (1992): Arbitrarily primed PCR fingerprinting of RNA. *Nucleic Acid Res.*, 20: 4965-4970.

Yang G., Zhang F., Hancock C.N., *et* Wessler S.R. (2007): Transposition of the rice miniature inverted repeat transposable element mPing in *Arabidopsis thaliana*. *PNAS*, 104 (26): 10962-10967.

Zhang X., Jiang N., Feschotte C. *et* Wessler S.R. (2001): P instability factor: An active maize transposon system associated with the amplification of Tourist-like MITEs and a new superfamily of transposases. *PNAS*, 98 (22): 12572-12577.

ISOLATION OF PHOSPHOPROTEOM AND ITS APPLICATION IN STUDY OF THE EFFECT OF CYTOKININ ON PLANTS

IZOLACE FOSFOPROTEOMU A JEHO VYUŽITÍ PŘI STUDIU ÚČINKU CYTOKININŮ NA ROSTLINU

Černý M., Brzobohatý B.

Department of Molecular Biology and Radiobiology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: martincerny@atlas.cz, brzoboha@ibp.cz

ABSTRACT

Phosphorylation is one of the most important posttranslational modifications in proteins. It is also a major issue in modern proteomics. Its application in plant research is rather scarce. We present here development of optimized protocol for phosphoprotein enrichment kit (Quiagen) for extraction of plant phosphoproteom. This protocol allows reusing of affinity column designated for single use only up to 3 times with phosphoproteom quality unaffected. We also provide example of application of this improved protocol in research of cytokinin activation pathway in plants.

Key words: phosphorylation, plant proteomics, cytokinin

Acknowledgments: This work is supported by LC06034 Regulace morfogeneze rostlinných buněk a orgánů and 1M06030 Funkční genomika a proteomika ve šlechtění rostlin.

ÚVOD

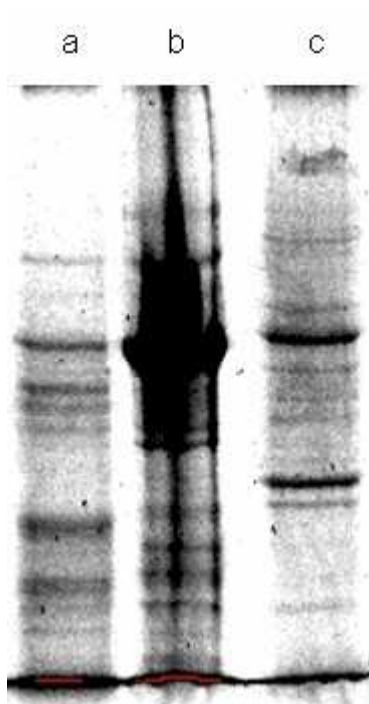
Fosforylace je jedna z nejdůležitějších post-translačních modifikací proteinu v živém organismu. Její role byla dosud potvrzena v regulaci aktivity enzymů, při přenosu signálu, zprostředkování protein-proteinových interakcí, směřování proteinů, či regulaci délky života proteinu. I když byl první fosforylovaný protein vitelin objeven již před více jak 100 lety, studium fosfoproteomu zůstává stále velmi komplikovanou záležitostí. Některé studie odhadují, že až třetina všech exprimovaných proteinů v buňce může být v danou chvíli ve fosforylovaném stavu. Mnoho proteinů pak může být fosforylováno na více než jednom aminokyselinovém zbytku. Pro regulaci tak složitého procesu je potřeba množství genů, například v rostlině *Arabidopsis thaliana* je to odhadováno na minimálně 5% jejího genomu (Laugesen et al. 2004). Analýza fosfoproteomu se od svých počátků potýká s několika problémy. Fosforylované proteiny je třeba separovat a identifikovat. Identifikace fosfoproteinů a nalezení místa fosforylace se dnes již výhradně provádí pomocí hmotnostní spektrometrie (Kersten et al. 2006). Oddělení fosforylovaných proteinů je ale stále komplikované. Od roku 2003 jsou dostupné kity pro separaci fosfoproteinů. Jejich užití je však od počátku zaměřeno na živočišné buňky a bakterie. Aplikace na rostlinný materiál je vzácná a i finanční náročnost kitů, které jsou připraveny na jedno použití, brání většímu rozšíření.

MATERIÁL A METODIKA

Sedmi denní semenáčky *Arabidopsis thaliana* var. Columbia byly 15 min aktivovány 5 μM cytokininem benzylaminopurinem (BAP). Proteom byl izolován pomocí metody TCA/acetone (Görg A 2003) a pomocí kitu na izolaci fosfoproteinů (Qiagen). Získaný protein byl separován pomocí standardní 1D a 2D elektroforézy (Bio-Rad) a výsledné proteinové mapy porovnány pomocí analýzy obrazu (Decodon Delta 2D).

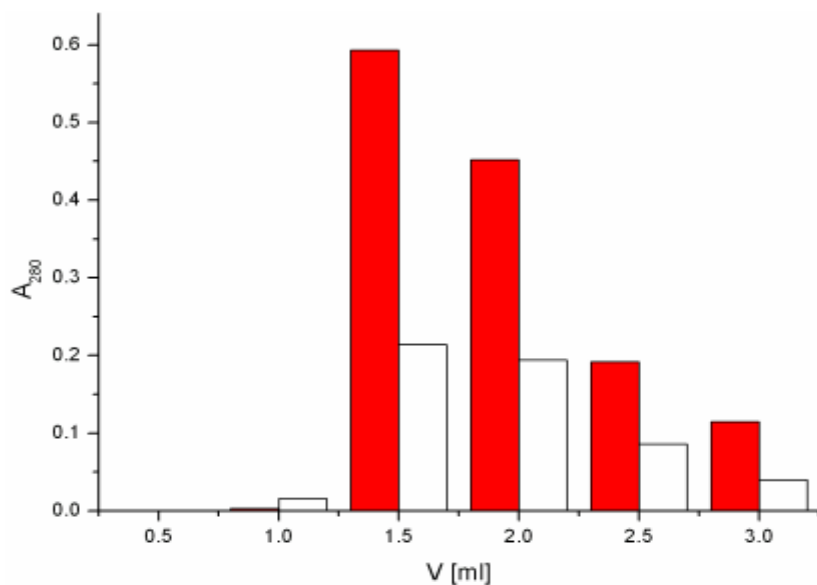
VÝSLEDKY A DISKUZE

Byla optimalizována metoda izolace rostlinného fosfoproteomu pomocí kitu od Qiagen. Srovnáním výsledků bylo prokázáno, že je možné provést izolaci přímo v pufru určeném pro bakteriální buňky, pokud je rostlinný materiál před extrakcí rozdrcen v tekutém dusíku. Optimální množství je 350-400 mg rostlinného materiálu a 4 ml lyzačního pufru (Obr. 1).



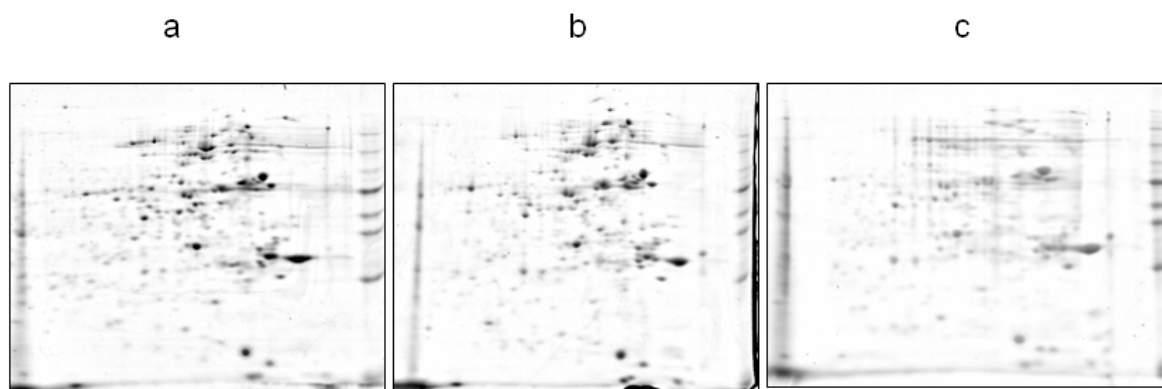
Obr. 1 Izolace fosfoproteomu pomocí komerčního kitu optimalizovanou metodou. a – extrakt, b – protečená frakce, c – zachycená frakce fosfoproteinů (Bio-Safe Coomassie)

Dále bylo zjištěno, že při odsolování vzorku před aplikací na elektrickou isofokusaci je vhodnější použití zakoncentrování (amicon Ultra-4), než metody gelové filtrace. Důvodem je hlavně časová úspora a vyšší výtěžek (99% proti 94%). Podařilo se zavést protokol pro opakované použití kitu, kdy se použitá kolona promyje 5 násobkem svého objemu 50 mM fosfátovým pufrům pH 7.0 a následně reaktivuje v lyzačním pufru (součást kitu). Životnost použité kolony je malá a výtěžek po týdnu skladování jednou použité kolony v chladu je zhruba 40% výtěžku nové kolony (Graf 1).



Graf 1 Opakované použití komerčního kitu pro izolaci fosfoproteomu. červená – výtěžek z nové kolony (100%), bílá – opakované použití kolony po 1 týdnu skladování v chladu (~40%). Absorbance 280 nm.

Nicméně pokud se kolona použije opakovaně ten samý den, je výtěžek téměř 100% a 2D analýza obrazu ukazuje, že kvalita separace je zachována i při 3. použití (Obr. 2).



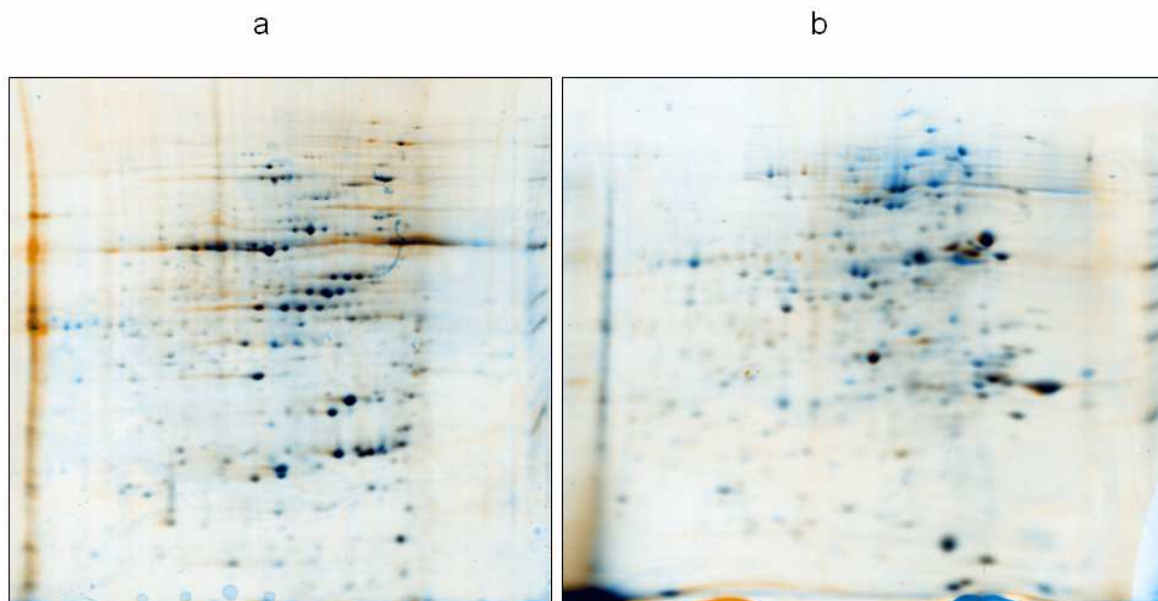
Obr. 2 2D PAGE fosfoproteomu získaného opakovaným použitím jedné afinitní kolony a – nová kolona, b – 1x použitá, c – 2x použitá, 533 detekovaných spotů ve všech případech

Optimalizovaná metoda byla úspěšně použita při porovnání fosfoproteomu 7 denního semenáčku *Arabidopsis thaliana* aktivovaného 5 μ M BAP rozpuštěném v DMSO s kontrolním semenáčkem (pouze DMSO). Bylo nalezeno 25 signifikantních rozdílů (Tab. 1)

bap2a			Group 1				Group 3				Ratio	t-Test
ID	X	Y	bap2a	bap1a	bap1b	bap2b	dms01a	dms01b	dms02a	dms02b		
201	1,621	218	0.29	0.09	0.08	0.29	0.03	0.04	0.04	0.05	-5.0	95.6
344	1,431	411	0.22	0.18	0.26	0.24	0.04	0.03	0.11	0.03	-4.5	100.0
345	1,783	405	0.44	0.22	0.35	0.33	0.13	0.18	0.28	0.13	-1.9	96.2
359	1,602	437	0.39	0.24	0.42	0.47	0.10	0.12	0.31	0.29	-1.9	94.7
368	1,389	446	0.26	0.14	0.17	0.27	0.08	0.05	0.13	0.12	-2.2	97.7
370	1,564	437	0.24	0.16	0.12	0.20	0.02	0.02	0.16	0.07	-2.7	96.5
389	1,553	523	0.96	0.98	1.18	0.92	0.65	0.59	0.62	0.52	-1.7	99.9
393	1,406	490	0.18	0.24	0.29	0.17	0.08	0.16	0.09	0.07	-2.2	98.5
420	1,446	523	0.20	0.23	0.27	0.33	0.54	0.54	0.35	0.37	1.7	98.3
460	1,410	567	0.40	0.25	0.27	0.36	0.18	0.24	0.18	0.15	-1.7	98.1
461	1,538	586	1.11	0.77	0.84	1.05	0.56	0.59	0.64	0.40	-1.7	99.4
462	1,576	582	0.84	0.68	0.62	0.76	0.35	0.36	0.50	0.55	-1.7	99.4
573	789	806	1.23	0.68	0.58	1.02	0.57	0.50	0.22	0.29	-2.2	97.0
575	1,807	794	1.55	1.27	1.07	1.49	0.92	0.77	0.85	0.96	-1.5	99.3
580	720	795	0.24	0.21	0.21	0.22	0.17	0.15	0.06	0.09	-1.9	99.1
585	657	803	0.13	0.20	0.15	0.17	0.12	0.13	0.04	0.08	-1.8	97.8
639	1,168	908	0.57	0.34	0.30	0.59	0.15	0.20	0.24	0.27	-2.1	97.7
754	1,832	1,149	0.12	0.12	0.10	0.10	0.09	0.05	0.08	0.06	-1.6	99.5
783	838	1,229	0.08	0.14	0.15	0.07	0.02	0.04	0.04	0.01	-3.8	99.0
880	721	1,489	0.06	0.05	0.05	0.06	0.03	0.04	0.01	0.04	-1.8	98.0
906	988	1,552	0.13	0.10	0.08	0.12	0.08	0.02	0.01	0.03	-3.0	98.9
978	1,498	1,769	0.11	0.14	0.08	0.09	0.03	0.05	0.09	0.06	-1.9	96.8
1426	1,520	520	0.35	0.33	0.39	0.47	0.13	0.16	0.18	0.19	-2.3	100.0
1433	1,555	481	0.91	0.50	0.83	0.94	0.22	0.21	0.35	0.50	-2.5	99.2
2396	1,458	411	0.04	0.07	0.09	0.06	0.03	0.02	0.05	0.02	-2.2	96.8

Tab. 1 Analýza obrazu fosfoproteomu *Arabidopsis* aktivované 5 μ M BAP s DMSO kontrolou.

Souběžně byl proveden pokus o porovnání obrazu fosfoproteomu s obrazem celkového proteinu aktivované *Arabidopsis*. Jednotlivé mapy se však příliš lišily (Obr. 3).



Obr. 3 2D PAGE fosfoproteomu a celkového proteomu *Arabidopsis* aktivované 5 μ M BAP. a - celkový proteom, b – fosfoproteom

ZÁVĚR

Podařilo se úspěšně aplikovat komerční kit pro separaci fosfoproteomu na rostlinný materiál. Pomocí nově zavedeného protokolu lze nyní využít tento kit určený na jedno použití až pro trojnásobné opakování, aniž by byla ovlivněna kvalita separovaného fosfoproteomu. Experiment prokázal možnost využití této techniky při řešení klíčových otázek molekulární biologie v oblasti účinku fytohormonů na rostlinu.

LITERATURA

- Collins M O, Yu L, Choudhary JS (2007) Analysis of protein phosphorylation on a proteome-scale *Proteomics* 7:2751-68
- Görg A (2003): Two-Dimensional Electrophoresis with Immobilized pH Gradients for Proteome Analysis. Technical University of Munich
- Kersten B, Agrawal GK, Iwahashi H, Rakwal R (2006) Plant phosphoproteomics: a long road ahead. *Proteomics* 6:5517-28
- Klumpp S, Krieglstein J (2002) Phosphorylation and dephosphorylation of histidine residues in proteins. *Eur J Biochem* 269:1067-71
- Kwon S J, Choi EY, Seo JB, Park OK (2007) Isolation of the *Arabidopsis* Phosphoproteome Using a Biotin-tagging Approach. *Mol Cells* 24:268-75
- Laugesen S, Bergoin A, Rossignol M (2004) Deciphering the plant phosphoproteome: tools and strategies for a challenging task. *Plant Physiol Biochem* 42:929-36.

MOLECULAR DIAGNOSIS OF BYMV IN GLADIOLUS PLANTS

MOLEKULÁRNÍ DIAGNOSTIKA BYMV U GLADIOL

Duraisamy Ganesh Selvaraj, Pokorný R., Holková L.

Department of Crop Science, Breeding and Plant Medicine, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

Email: xduraisa@node.mendelu.cz, pokorny0@node.mendelu.cz, holkova@mendelu.cz

ABSTRACT

A one step reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) method was used to detect *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) in gladiolus plants. One step RT-PCR analysis, employing primers specific to BYMV with different gladiolus cultivars. Total RNA was extracted from leaves and corms of gladiolus plants. Total RNA from leaves and corm were used to amplify specific primer sequence of BYMV. The one step RT-PCR method determined BYMV in all leaf samples and in corms it revealed very weak amplification. The aim of this paper is to discuss the diagnosis method from one step RT-PCR in leaves and corms of gladiolus plants.

Key words: Gladiolus, corms and leaves, BYMV detection, RT-PCR

INTRODUCTION

Gladiolus sp of Iridaceae family is an important ornamental plant grown for beautiful flowers, bouquets, floral baskets and cut flowers. The floriculture industry is being affected due to infection of various pathogens, resulting in drastic reduction in quality and quantity of flowers. Among various pathogens, viruses play an important role in the deterioration of ornamental quality of flowers, which ultimately affects the floriculture trade. The use of infected propagating material (corms) is considered as the main source for the virus dissemination and spreading of diseases (Raj *et al.*, 2002).

Bean yellow mosaic virus (BYMV), is readily detected in leaf tissue of gladioli plants (Zettler and El-Nil, 1977), but cannot be readily detected by ELISA, Serum Immunospecific Electron Microscopy (SSEM) or by biological test in corm tissue obtained from infected plants (Stein *et al.*, 1979; Stein *et al.*, 1986). Test for viral RNA in such corms using dot-spot hybridization with a BYMV –cDNA radioactive marked riboprobe were successful (R. Vunush, unpublished data). Nevertheless, leaves containing high concentration of BYMV can grow from corms in which virus can not be detected (Stein *et al.*, 1979). Thus, it seems that the amount of BYMV in infected corms is below the detection limit of the above mentioned methods. We have investigated whether other, more sensitive; diagnosis methods can be developed to detect BYMV in gladioli corms.

Methods based on the polymerase chain reaction (PCR) have been developed for the *in vitro* amplification of nucleic acid sequences (Doherty *et al.*, 1989; Wong *et al.*, 1987). These methods proved to be highly sensitive and capable of detecting single copies of DNA molecules (Wong *et al.*, 1987). In order to identify viral RNA, usually modified PCR method (RT-PCR) is used. RT-PCR could be used to detect the RNA genome of an encapsidated plant virus, BYMV, in gladiolus leaves (Vunsh *et al.*, 1990). Using a combined amplification and hybridization procedure were able to increase the sensitivity of this diagnostic method by a factor of up to 10^5 more than the commonly used ELISA and dot-spot nucleic acid hybridization methods, because the concentration of BYMV in gladiolus corm tissue is probably very low and detection in such tissue therefore poses a greater challenge than the virus detection in leaves. Furthermore virus detection in corms is more important work aimed at obtaining virus –free stocks. In this paper we report the method used to detect BYMV in gladiolus using one step RT-PCR.

MATERIAL AND METHODS

Virus isolates

1. Isolates were selected based on the previous result of ELISA test (Duraisamy and Pokorný – in preparation). The gladioli plants infected by selected isolates were planted in the green house, MZLU, Brno from corms collected from infected plants. The leaves were collected and tested for the presence of BYMV by ELISA before the collection of isolates. All plants were infected by this virus.

2. Gladiolus leaves and corms were collected from the greenhouse. Then they were tested for the presence of BYMV by one step PCR as follows.

RNA extraction from leaf and corms

Preparations of virus particle and total RNA extracts from leaf (100 mg) and corm tissues (100mg) were made similarly as described by (Vunsh *et al.*, 1990). RNA was extracted as per the manufacture's instruction (Qiagen and Ambion kit). The obtained RNA was quantificated by spectrophotometer and in one reaction we used 100ng of nucleic acid (Qiagen) and about 60ng (Ambion). The presence of virus specific sequences was detected by one Step RT-PCR. The set of primers that were used for amplification are described in Table 1

Table 1: The primers used for BYMV detection in gladiolus leaves and corms

Primers	Sequences	Authors
P1 P2	5' TTGAATCTGAACTGAAGTATT 3' 5' CTCCTTTCTACAAAATGGACA 3'	Vunsh <i>et al.</i> , 1990
BYF BYR	5' TGAATCTGAACTGAAGTATT 3' 5' CTCCTTTCTACAAAATGGACA 3'	Vunsh <i>et al.</i> , 1990
BYMV1 BYMV2	5' CAGTTTATTATGCAGCGG 3' 5' GTTATCATCAATCTTCCTGC 3'	Hiroyuki Uga, 2005
S1 S2	5' GCCTTATGGTGTGGTGCATAG 3' 5' CAAGCATGGTGTGCATATCACG 3'	Hammond and Hammond, 1989
F2 R2	5' GGTGTCAAGCAAGCGTATGA 3' 5' TCACCTGTTCTCCTCCATCC 3'	*

* These primers were designed by authors, based on the coat protein region of BYMV by using the programme P3

The choosed primers belong to the C-terminal region of coat protein of BYMV (Hammond and Hammond, 1989) and amplify only BYMV. Same region was utilized by most of workers for designing of BYMV specific primers (Castro *et al.*, 1993; Rosner *et al.*, 1994). The procedure for one step RT-PCR consisted of a 50 °C for 30min, incubation at 95 °C (15 min for the first cycle), 94 °C for 1 min, 53 °C for 1.30 min and 72 °C for 1 min (35th cycle for annealing temperature) 72 °C for 10 min and 4°C for hold. These conditions were used to run the cycle for all the primers except F2R2. We slightly modified only the annealing temperature into 56 °C for 30 min and remaining condition is same as others Followed RT-PCR reaction product 25 ml was analyzed on 1.5% aggrose gel. Electrophoresis was done with TBE buffer and the gel was stained with ethidium bromide. DNA was visualized using an UV transilluminator and 100 bp ladder used as a size standard.

RESULTS

The ability of the standard treatments for PCR amplification of total RNA extracted from leaves and corms tissues were tested to detect BYMV in gladiolus plants. The different primers were used in RT-PCR experiments with RNA extracts of leaf tissues infected with BYMV. RT-PCR followed by gel electrophoresis revealed specific amplification product approximately 800bp with P1/P2 (Fig.1) and BYF/BYR (Fig.2) primers whereas in BYMV1/BYMV2 it revealed amplification around 700bp and in sample no.5 (J95) revealed two different products with this primer (Fig.3), this may be due to different virus isolate infection. In case of S1/S2 it amplified around 500bp (Fig4) and in F2/R2 is 200bp (Fig.5). Similarly, the RNA extract from corm tissues were also tested in one step RT-PCR with different primer specificity. In case P1/P2 and BYMV1/BYMV2 primer, we found one product around 800bp (Fig. 6) and 700bp (Fig.7) whereas in remaining product we couldn't find. But in the BYF/BYR primer we found specific product (800bp) in three samples (Fig8) whereas other we couldn't find. In F2/R2 primer; we noticed weak product (200bp) in four samples (Fig9).

DISCUSSION

The maintenance and rapid propagation of disease free nuclear stock has become a prominent procedure in the bulb industry (Brunt, 1985). This detection of viruses in bulb and corm planting material is essential for building such nuclear disease – free stocks. In some cases, however, virus cannot easily be detected directly in the organ itself.

BYMV is very ubiquitous plant virus and have been found infecting gladiolus in several regions of the world (Katoch *et al.*, 2003) and also in the Czech Republic (Duraismy and Pokorný - in proceeding). During the last decade, PCR has been widely used with varying degree of modification for detection for viral genome in infected plants. RT-PCR followed by gel electrophoresis revealed amplification of approximately 800 bp, 700bp, 500bp and 200bp DNA fragments using specific primers in all of our leaf samples of gladiolus. We haven't any healthy plants for comparison as negative controls Amplification confirms the presence of BYMV infection in this stock. Like the present observations, Vunsh *et al.* (1990) also detected specific sequence of BYMV in RNA extracts of infected plants by PCR. Bojra and Ponz,1992; Dovas *et al.*, 2001 also reported that the crude extract, obtained from leaf tissues showed positive results of all tested samples for BYMV. However, methods developed for leaf tissues, were used to detect virus in corms tissues was not successful, this is due to either very low concentration of virus in the corms (below the threshold that cannot detect by PCR method), or that extracts of corm tissues contain a substance(s), which interferes with the PCR reaction. Extraction of corm tissues was shown to inhibit the amplification of viral sequences when added to a PCR reaction with specific hybridization with radioactive labeled probe (Vunsh *et al.*, 1990). Stein *et al.* (1986) reported that BYMV could not be detected in the majority of corms tissues, even after following different procedures of purification RT-PCR could detect BYMV only in leaf and failed to detect in bulb samples. This could be due to reason that corm tissues have some inhibitors (Saiki *et al.*, 1988; Wong *et al.*, 1987; Fenby *et*

al., 1995). In the representing experiment, the BYMV from corms was trapped by the low responding. This might be due to either very low concentration of virus in corms or corm tissue contains the substance interfering with the PCR reaction. This single polymerase promoter of RNA from leaves served as better template for particular orientation than a template containing RNA from corms. The result indicated that one step RT-PCR is useful as a diagnostic tool for virus detection only in leaves but not in corms tissues.

SUMMARY

The one step - polymerase chain reaction (PCR) method readily detected BYMV in gladiolus leaves but it fails to detect in corms tissues. In order to rectify this problem, an additional purification step is required for RNA extracts from corm tissues in order to eliminate the inhibitory effect and enables PCR to amplify to detect viral RNA in corm tissue preparation.

LITERATURA

Brunt, A.A. (1985). The production and distribution of virus tested ornamental bulb crops in England: Principle practice and prognosis. *Acta Horticulturae*.164: 153-161.

Bojra, M.J and F Ponz. (1992). An appraisal of different methods for the detection of the walnut strain of cherry leaf roll virus. *Journal of Virology Methods*.36: 73-83.

Castro, S., Carazo, G., Saiz, M., Romero, J., Blas, C.De, (1993). Use of enzymatic cDNA amplification as a method of detection of bean yellow mosaic virus. *Neth J. Plant Pathol*, 99, 97-100.

Doherty, P.J., Huesca-Contreras, M., Dosch, H.M and Pan, S. (1989). Rapid amplification of complementary DNA from small amounts of unfractionated RNA. *Analytical Biochemistry*, 117, 7-10.

Dovas, C.I., Hatziloukas, E., Salmon, R., Barg, E., Shibolet, Y, Katis, N, I. (2001). Comparison of methods for virus detection in *Allium spp.* *Journal Phytopathology*.149: 731-737.

Fenby, N.S., Scott, N, W., Slater, A., Elliott, M, C. (1995). PCR and non-isotopic labeling techniques for plant virus detection. *Cell Molecular Biology*.41:639-652

Hammond J and Hammond R, W. (1989).Molecular cloning, sequencing and expression in *Escherichia coli* of the bean yellow mosaic virus coat protein gene. *J Gen Virol.*, 70 (Pt 8):1961-74.

Hiroyuki Uga. (2005). Use of crude sap for one-step RT-PCR based assay of Bean yellow mosaic virus and the utility of this protocol for various plant – virus combinations. *J.Gen Plant Pathol*, 71, 86-89.

Kwok, S., Mack, D.H., Mullis, K.B., Poiesz, B., Ehrlich, G., Blair, D., Friedman-Kein, A and Sninsky, J.J (1987). Identification of human immunodeficiency virus sequence by using in

- vitro enzymatic amplification and oligomer cleavage detection. *Journal of Virology*, 61, 1690-1694.
- Katoch, M. M. Z., Abdin, R, Ram, R and Zaidi, A, A. (2003). An overview of diagnosis for viruses infecting gladiolus. *Crop Protection*.22: 153-156.
- Punchta, H. and Sanger, H.L. (1989). Sequence analysis of minute amounts of viriod RNA using the polymerase chain reaction (PCR). *Archive of Virology*, 106, 335-340
- Rosner, A., Stein, A., Levy, S., Lilien-Kipni, H., (1994). Evaluation of linked PCR-transcription amplification procedure for bean yellow mosaic virus detection in gladioli. *J. Virol. Methods*, 47 (1–2), 227–235.
- Raj,S.K., Srivastave,A., Chandra,G and Singh,B.P. (2002). Characterization of virus isolates infecting gladiolus cultivars and comparative evaluation of serological and molecular methods for sensitive diagnosis. *Current Science*, 83, 1132-1137.
- Stein,A., Loebenstein,G and Koeing,R. (1979).Detection of cucumber mosaic virus and bean yellow mosaic virus in gladiolus by ELISA. *Plant Disease Reporter*,63, 183 – 188.
- Stein,A., Salmon,R., Cohen, J and Loebenstein,G. (1986). Detection and characterization of bean yellow mosaic virus in corms of *Gladiolus grandiflorus*. *Annals of Applied Biology*, 109, 147-154.
- Saiki,R.K., Gelfand,D.H., Stoffel,S., Scharf,S.J., Higuchi,R., Horn,G,T., Mullis,K.B and Erlich,H.A. (1988). Primer – directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Sci*.239: 487-491.
- Vunsh,R., Rosner,A and Stein,A. (1990). The use of polymerase chain reaction (PCR) for the detection of bean yellow mosaic virus in gladiolus. *Annals of Biology*, 117, 561-569.
- Wong,C., Dowling,C.E., Saiki,R,K., Higuchi,R.G., Erlich,H,A and Kazazian. (1987). Characterization of β – thalassaemia mutation using direct genomic sequencing of amplified single copy DNA. *Nature*, 330, 384-386.
- Zettler, F.W and El-Nil, A.M.M. (1997).Bean yellow mosaic infections on gladiolus in Florida. *Plant Diesase Reporter*, 61,243-247.

FIGURES

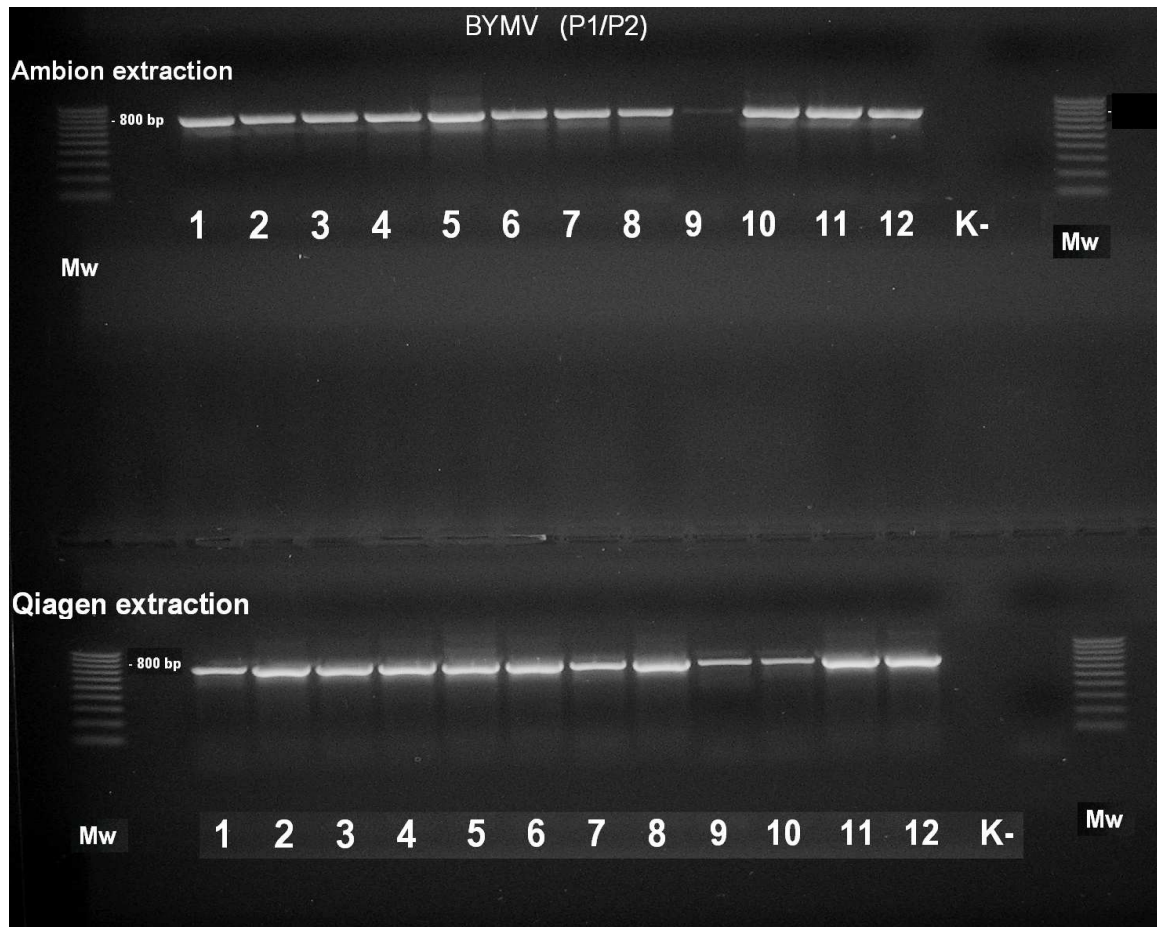


Fig.1. Detection of BYMV specific RNA in gladiolus leaves based on One Step RT PCR reactions with primers P1/P2. There are compared two different RNA extraction methods (upper: RNAqueousTM extraction kit from Ambion and lower: RNeasy Plant Mini Kit from Qiagen)

The individual virus isolates are marked by numbers 1 -12 (1-J16, 2-J34, 3-J49, 4-J50, 5-J95, 6-M63, 7-M71, 8-M78, 9-M103, 10-N4, 11-N7 and 12-N14). The amplified products (about 800bp) were fractionated by agarose (1%) gel electrophoresis and stained with ethidium bromide. Mw – DNA size marker, K- is a negative control (a sample without nucleic acids)

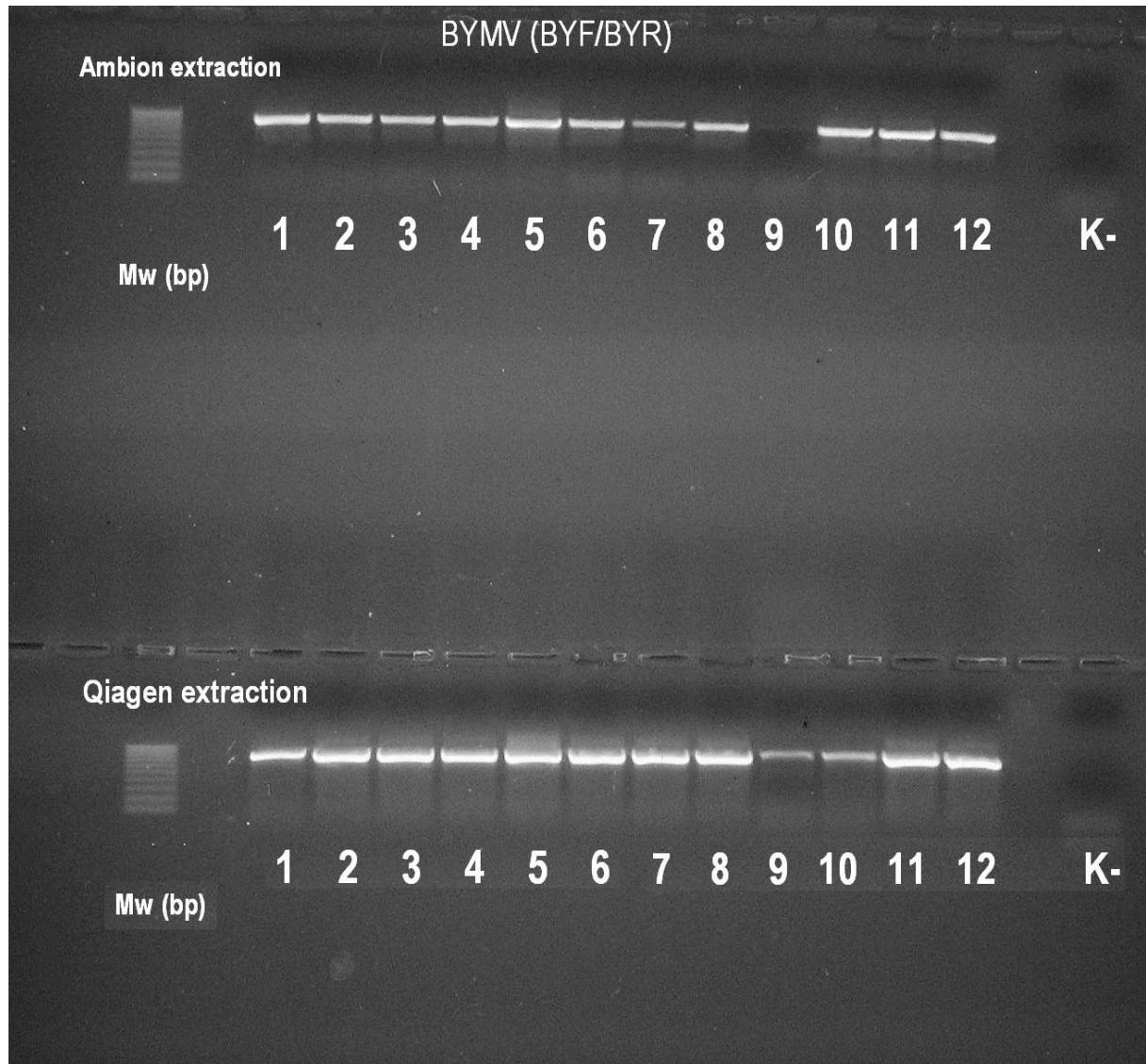


Fig.2. Detection of BYMV specific RNA in gladiolus leaves based on One Step RT PCR reactions with primers BYF/BYR. There are compared two different RNA extraction methods (upper: RNAqueousTM extraction kit from Ambion and lower: RNeasy Plant Mini Kit from Qiagen). The individual isolates mentioned are same as Fig.1.

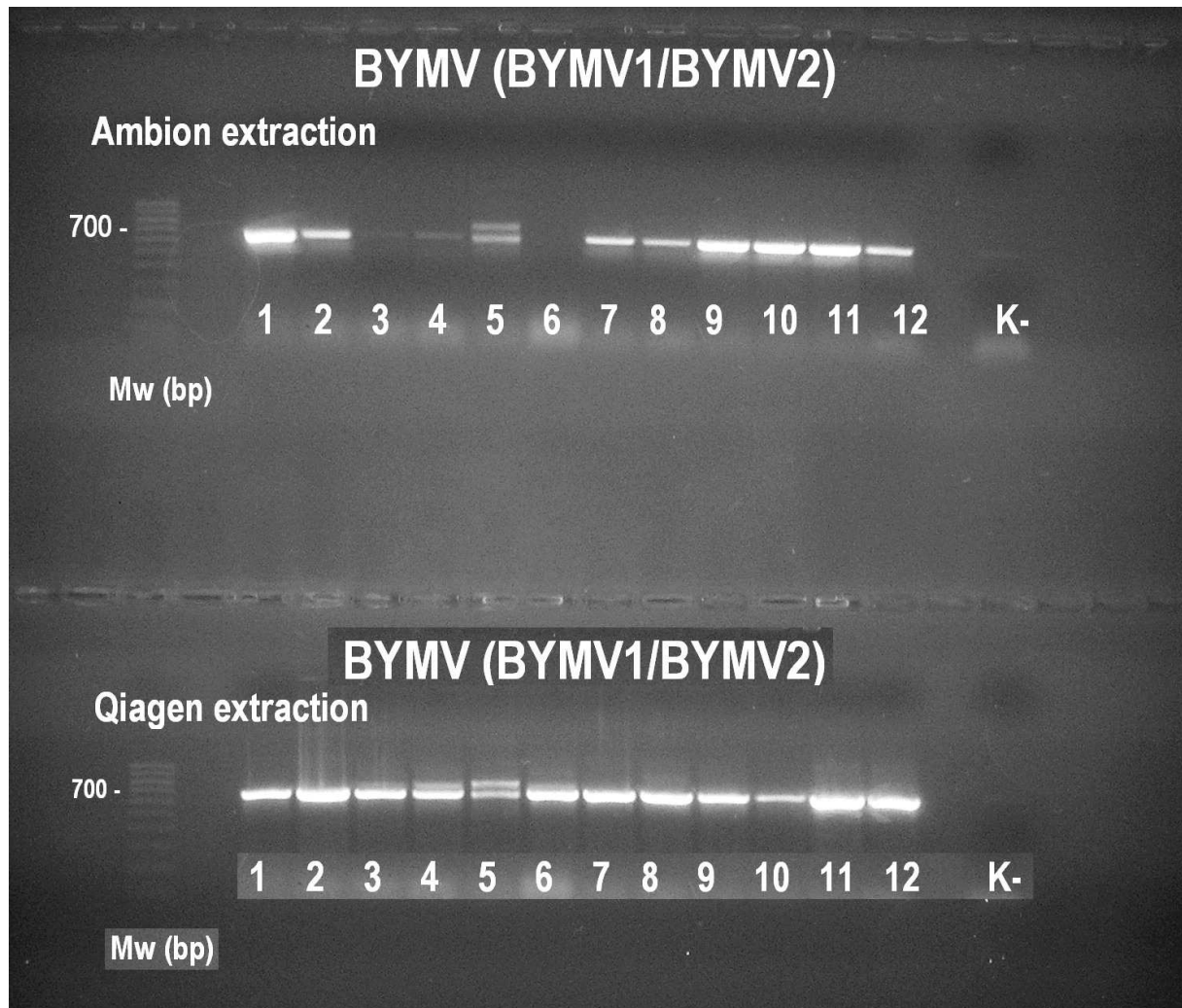


Fig.3. Detection of BYMV specific RNA in gladiolus leaves based on One Step RT PCR reactions with primers BYMV1/BYMV2 There are compared two different RNA extraction methods (upper: RNAqueousTM extraction kit from Ambion and lower: RNeasy Plant Mini Kit from Qiagen). The individual virus The individual isolates mentioned are same as Fig.1

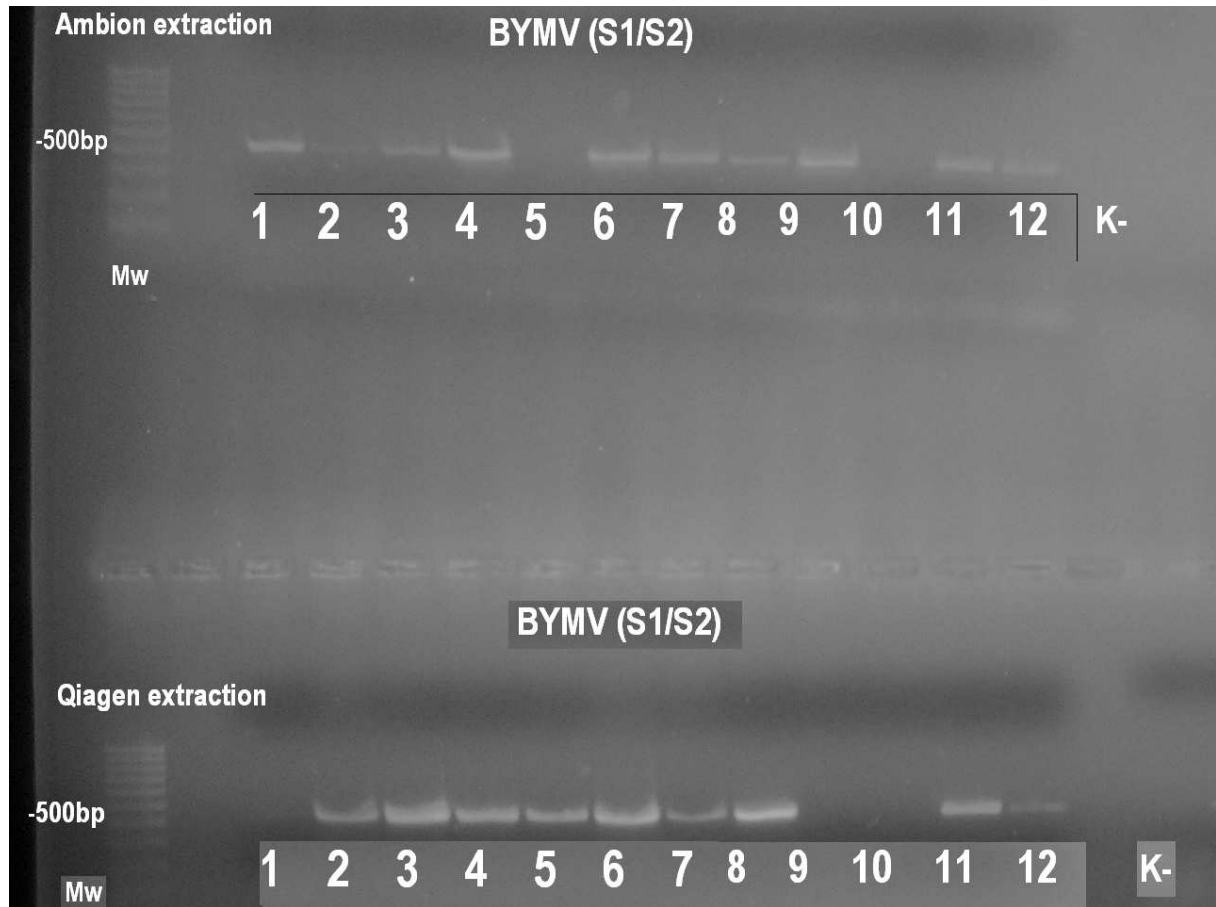


Fig.4. Detection of BYMV specific RNA in gladiolus leaves based on One Step RT PCR reactions with primers S1/S2. There are compared two different RNA extraction methods (upper: RNAqueous™ extraction kit from Ambion and lower: RNeasy Plant Mini Kit from Qiagen). The individual isolates mentioned are same as Fig.

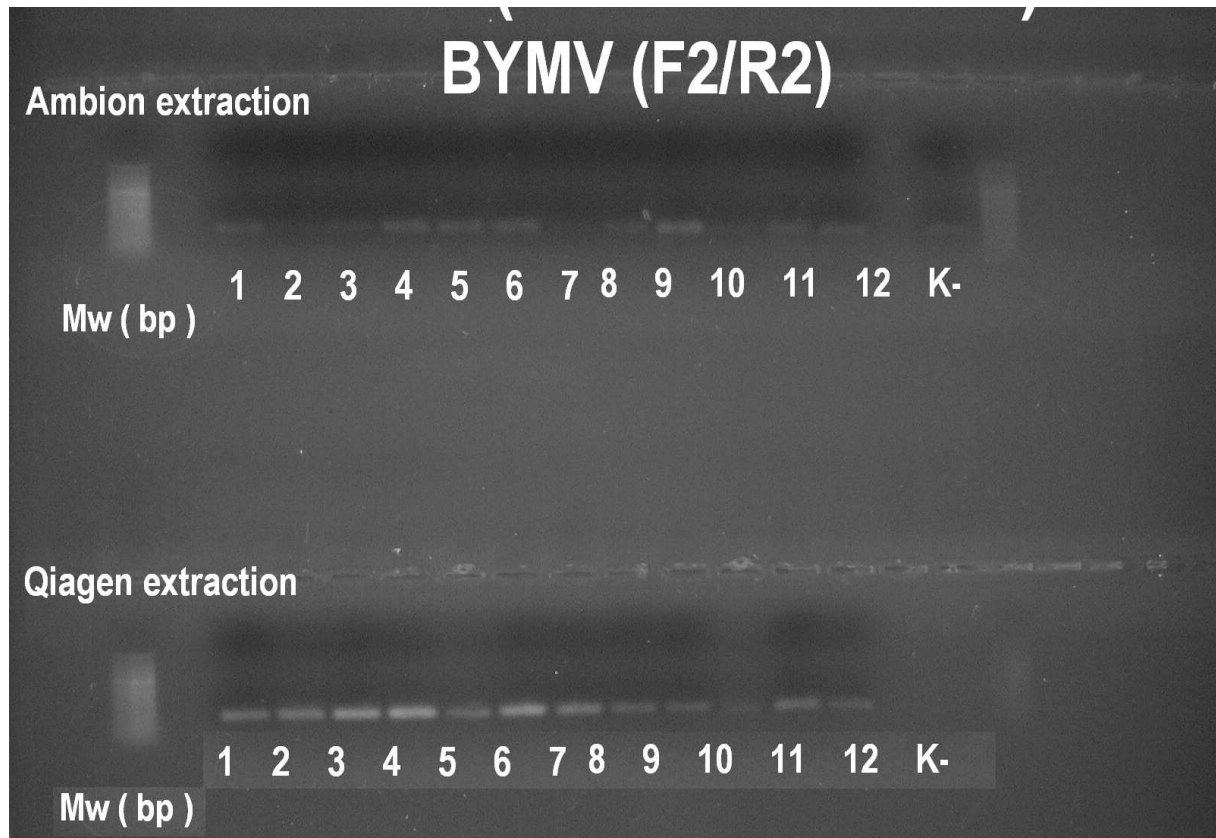


Fig.5. Detection of BYMV specific RNA in gladiolus leaves based on One Step RT PCR reactions with primers F2/R2 There are compared two different RNA extraction methods (upper: RNAqueous™ extraction kit from Ambion and lower: RNeasy Plant Mini Kit from Qiagen). The individual isolates mentioned are same as Fig. 1

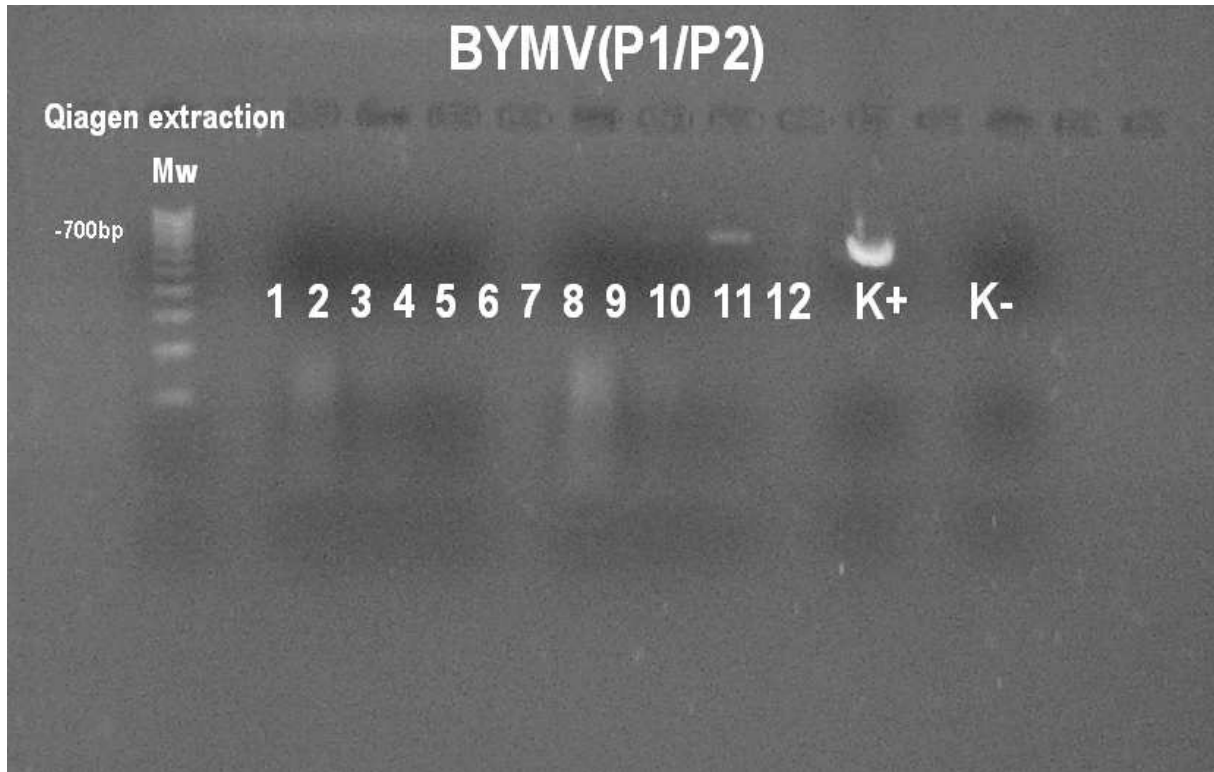


Fig.6. Detection of BYMV specific RNA in gladiolus leaves based on One Step RT PCR reactions with primers P1/P2. There are compared two different RNA extraction methods (upper: RNAqueous™ extraction kit from Ambion and lower: RNeasy Plant Mini Kit from Qiagen). The individual isolates mentioned are same as Fig.1

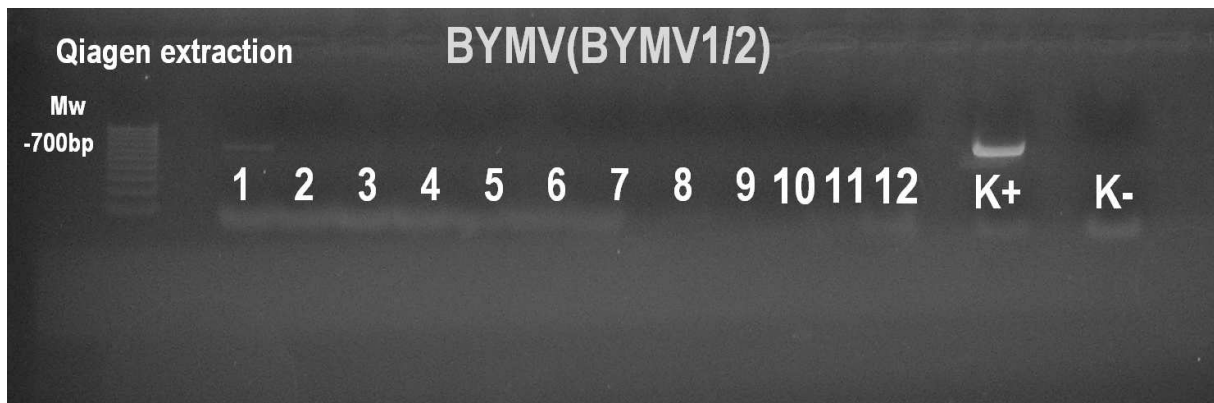


Fig.7. Detection of BYMV specific RNA in gladiolus leaves based on One Step RT PCR reactions with primers BYMV1/BYMV2. There are compared two different RNA extraction methods (upper: RNAqueous™ extraction kit from Ambion and lower: RNeasy Plant Mini Kit from Qiagen). The individual isolates mentioned are same as Fig.1

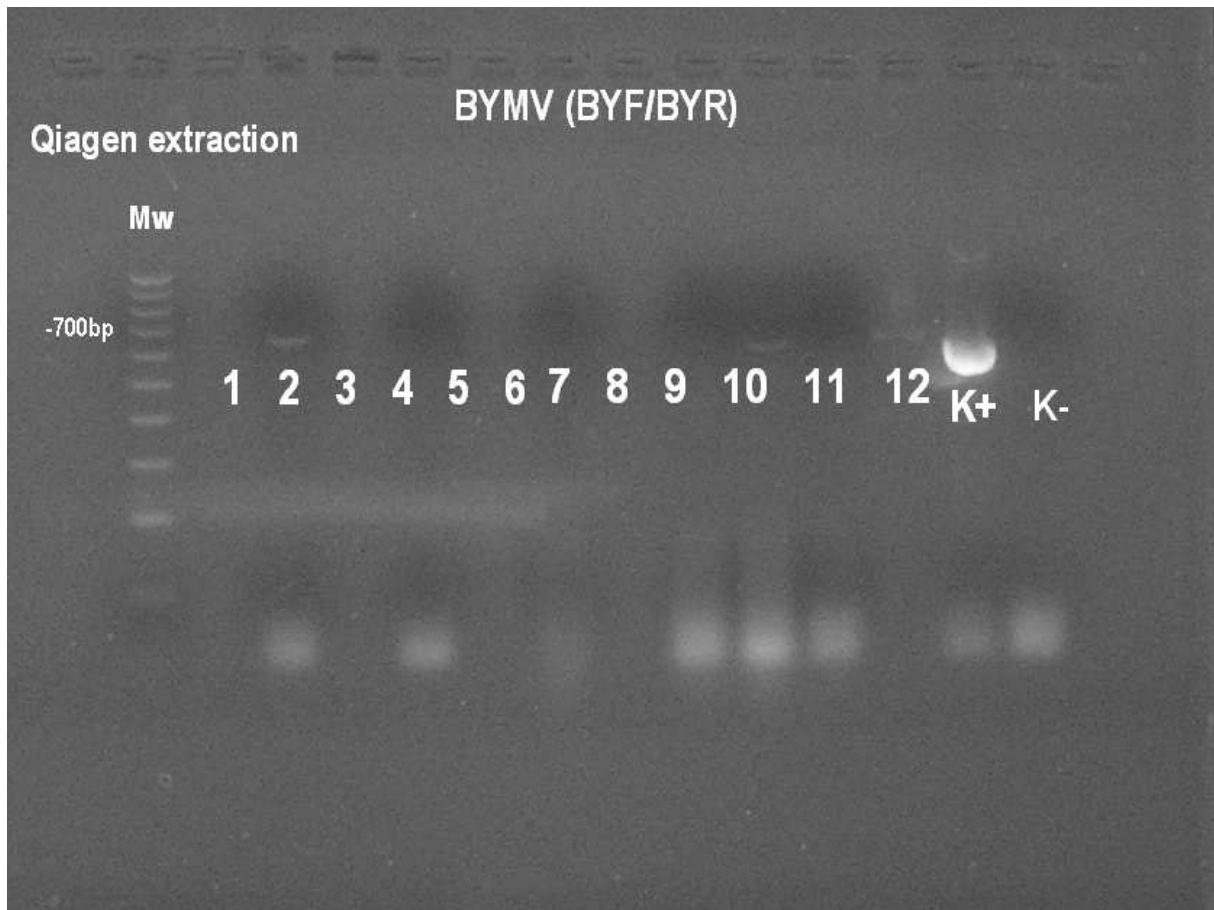


Fig.8. Detection of BYMV specific RNA in gladiolus leaves based on One Step RT PCR reactions with primers BYF/BYR. There are compared two different RNA extraction methods (upper: RNAqueous™ extraction kit from Ambion and lower: RNeasy Plant Mini Kit from Qiagen). The individual isolates mentioned are same as Fig.1

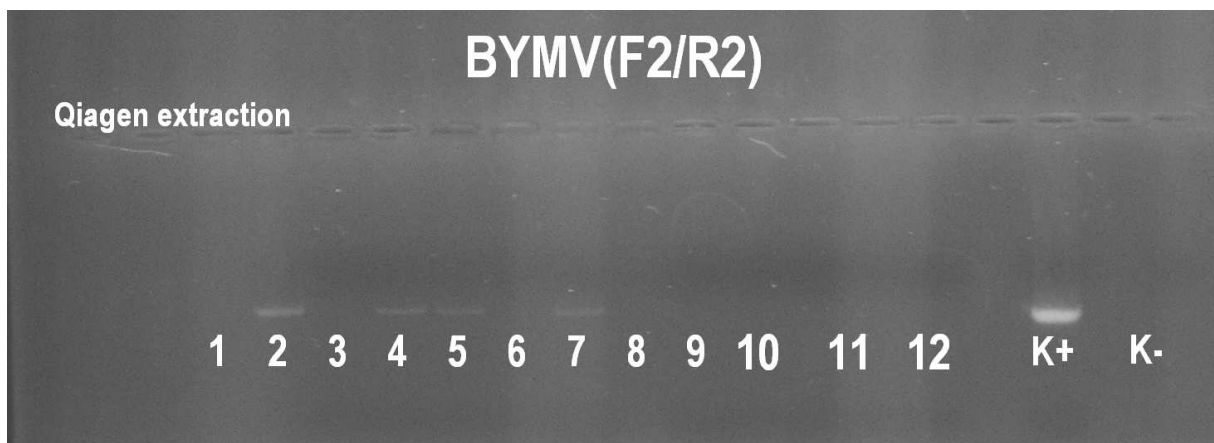


Fig.9. Detection of BYMV specific RNA in gladiolus leaves based on One Step RT PCR reactions with primers P1/P2. There are compared two different RNA extraction methods (upper: RNAqueous™ extraction kit from Ambion and lower: RNeasy Plant Mini Kit from Qiagen). The individual isolates mentioned are same as Fig.1

PURIFICATION OF MUTANT FORMS OF β -GLUCOSIDASE (*HIS*)₆ZM-P60.1) Z. MAYS

PURIFIKACE MUTANTNÍCH FOREM REKOMBINANTNÍ KUKUŘICNÉ β -GLUKOSIDAY (*HIS*)₆ZM-P60.1)

Filipi T., Dopitová R., Brzobohatý B.

Department of Molecular Biology and Radiobiology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: filipi@biomed.cas.cz, radkaf@sci.muni.cz, brzoboaha@ibp.cz

ABSTRACT

β -Glucosidases serve different roles in plants and indeed we find that plants have several different groups of this enzyme. Some of them can release active zeatin from zeatin-*O*-glucoside, a cytokinin conjugate thought to be the transport or storage form. One such enzyme is Zm-p60.1 from *Zea mays*. We have over-expressed the cDNA encoding Zm-p60.1 in *E. coli* and subsequently purified the recombinant protein using a purification (Zouhar et al., 1999, Filipi, 2007, Dopitova et al., 2008). It was necessary to confirm purity of wild-type, as well as mutant forms (F461L, F193A, F200K, W373K and E401D), because of its biochemical data interpretation. Unfortunately, low molecular ballast proteins were still presented in the active (dimeric) fractions of enzyme, thus the purification routine (Filipi, 2007) have been supplemented with other second gel filtration run. By addition with second gel chromatography step, enzymes yield in high homogeneity without any ballast proteins. Moreover, we have occurred, that after 2nd gel filtration step of dimeric fraction of wild-type, F193A, F461L, only the dimeric fraction have been eluted. On the other hand, in case of F200K and W373K, both forms of enzyme have been isolated. According to gel filtration, the molecular weight of dimeric and monomeric enzymes have been correctly enumerate to 107-117 kDa, 40-47 kDa, respectively. It was also confirmed, that only dimeric form of enzyme fixed in gel (NATIVE-PAGE) was able to release staining indigo blue form chromogenic substrate 4-brom 3-chlor 3-indolyl- β -D-glucopyranoside (XGLU), while monomeric was not.

Key words: β -Glucosidase, maize, zymogram, NATIV-PAGE, 4-brom 3-chlor 3-indolyl- β -D-glucopyranoside

Acknowledgments: I would like to express my warm thanks to my supervisor Doc. RNDr. Břetislav Brzobohatý and my colleague Mgr. Radka Dopisová.

ÚVOD

Práce se zabývá ověřením účinnosti purifikační rutiny mutnantních forem rekombinantních kukuřičných β -glukosidas a důkazem, že dimerní forma proteinu je od monomerní dobře separovatelná pomocí gelové filtrace což lze validovat za pomoci námi upravené metodiky přípravy z Yamogramů.

1.1 β -Glukosidasy (EC 3.2.1.21)

β -Glukosidasy (EC 3.2.1.21) lze nalézt jak v prokaryotických, tak i v eukaryotických organismech. Tyto enzymy katalyzují hydrolysu glykosidové vazby v *N*-, nebo *O*-glukosidech. V jednoděložných rostlinách jsou tyto enzymy lokalizovány v plastidech, u dvouděložných v buněčných stěnách. β -glukosidasy se v rostlinách účastní různých fyziologických dějů – odpovědi na stresové faktory, hydrolysy kyanogenních glykosidů (ochrana proti živočišnému žíru), atd. Velmi důležitou skupinu tvoří glukosidasy, které jsou schopny hydrolyzovat monosacharidové glukosidy obsahující jako aglykonovou složku cytokininy, čímž ovlivňují koncentraci volného a v *N*-glukosidu, či *O*-glukosidu vázaného fytohormonu.

Tyto glukosidy představují inaktivní, nebo méně metabolicky aktivní formu fytohormonu, nejčastěji však formu transportní, nebo zásobní. V naší laboratoři byl exprimován heterogenní kukuřičný protein Zm-p60.1, pojmenovaný dle příslušné cDNA, fúsován s hexahistidinovou doménou na *N*-konci proteinu, která umožňuje purifikaci metodou afinitní chromatografie. Protein Zm-p60.1 je schopen štěpit zeatin-*O*-glukosid a *N*3-glukosidy (Zouhar et al., 1999). Řízenou metagenesí aminokyselin v aktivním centru enzymu byly připraveny různé mutanty, např. H137D, H137Q, F200K, W373K, P2, E186Q, E401D, F461L, F193A, atd., které umožňují studovat interakci substát-enzym (Mazura, 2004, Dopisová, et al., 2008).

1.2 Purifikace

(Esen, 1992), (Zouhar et al., 1999), (Rotrelkl et al., 1999)(Cicek et al., 2000), Verdoucq et al. (2003), Filipi (2007), (Dopisová, 2008 in press) provedli purifikaci rekombinantní kukuřičné β -glukosidasy za pomoci stacionárních fází, umožňujících afinitní separaci proteinu fúsovaného s hexahistidinovou kotvou.

Filipi (2007) modifikoval purifikační rutinu modifikoval, čím získal protein ve vysokém stavu homogenity (95 %).

MATERIÁL A METODIKA

V experimentu bylo použito následující chemikálie a vybavení:

Glukosa, Cellobiosa, Na₂HPO₄, NaH₂PO₄, ampicilin, chloramfenikol, ddH₂O, Tris, EDTA, LB medium, NiSO₄·7H₂O, imidazol, glycerol, etanol, NaCl, amonium persulfát, laurylsíran sodný, Rohtiphorese 30, HCl, TEMED, proteinový marker (roztok rekombinantních makrerů pro SDS-PAGE), Triton X114, 4-brom-3-chlor-3-indolyl-β-D-glukopyranosid (XGLU)

2.2 Bakteriální kmen

E. coli BL21(DE3)pLysS [F- *ompT* [dcm] [lon] *hsdSB* (*r-BM-B*), with DE3, λ profage carrying T7 RNA polymerase gene]

2.3 Kolony:

Kolona:

HisTrap affinity column

Matrix: Highly cross-linked spherical agarose, 6%

Amerge particle size: 34 μm

Binding ion: Ni²⁺ [kolona „nabíjena“ NiSO₄ (50mM)]

Column volume (CV): 5 ml

Kolona:

HiLoad 16/60 Superdex 200 prep grade

Matrix: Dextran covalently bound to highly cross-linked agarose

Mean particle size: 34 μm

Column volume (CV): 124 ml

2.4 Přístrojové vybavení a další vybavení

Membrána Minisart s velikostí pórů 0,20 μm (Sartorius, DE), Amicon Ultra - 15, Ultracel 10k; Regenerated cellulose 10,000 MWCO (Millipore, USA), Amicon Ultra - 4, Ultracel 10k; Regenerated cellulose 10,000 MWCO (Millipore, USA), Centrifuga Beckman, Kapalinový chromatograf ÄKTA FPLc

Expres rekombinantních proteinů a bakteriálního lysátu:

LB medium, fosfát-fosfátový pufr (pH 7,0), cellobiosa (w/w 0,1 %), glukosa (w/w 40 %), ampicilin (50 mg/ml), chloramfenikol (34 mg/ml), IPTG (0,1 mM), inokulum (1,0 ml)

Bakterie jsou inkubovány při 37°C po dobu cca 3 hodin při 200 rpm, dokud není OD₆₀₀ min. 0,5. Indukce exprese proteinu je docíleno přidavkem 0,1mM IPTG, přičemž bakterie jsou inkubovány při teplotě 22,5 °C a 200 rpm po dobu 3 hodin. Poté jsou centrifugací separovány (6000g, 4°C, 15 min) a resuspendovány v sonikačním pufru (Filipi, 2007) a zamraženy při teplotě -20°C. Následující den jsou rozmraženy a desintegrovány pomocí sonikační jehly Bandelin (3×1 minutu, při 50% účinnosti). Lysát je centrifugován při 30000g, 4°C, 30 minut. Získaný supernatant je přefiltrován přes polyethersulfonovou membránu Minisart s velikostí pórů 0,22 µm (Sartorius).

Lysát je purifikován dle Filipi (2007) – optimalizovaná dvoukroková purifikační procedura.

Aktivitní barvení (zymogramy) byly realizovány za použití 4-brom-3-chlor-3-indolyl-β-D-glukopyranosidu (12 mg/400 µl DMF) jako substrátu v 50 ml citrát-fosfátového pufru McIlvaine (50 mM; pH 5,5), při teplotě 37 °C po dobu 30 minut.

1) Afinitní chromatografie:

Pufry

A1: Tris (20 mM) + NaCl (1 M), pH roztoku bylo upraveno na 7,9 (použita 5M HCl)

B: Tris (20 mM) + NaCl (1 M) + imidazol (50mM), pH roztoku bylo upraveno na 7,9 (použita 5M HCl)

A2: Tris (20 mM) + NaCl (1 M) + EDTA (100 mM), pH roztoku bylo upraveno na 7,9 (použita 5M HCl)

Rychlost eluce: 3,0 ml.min⁻¹

Objem sbíraných frakcí: 1,5 ml

Průběh purifikace

Kolona byla ekvilibrována 5 CV směsí pufru A1 a B, při stálém 40% gradientu imidazolu. Posléze byl na kolonu nanesen vzorek. Po nanesení vzorku byla kolona promyta 1 CV směsí pufru A1 a B (40% gradient imidazolu) a poté 3 CV směsí pufru A1 a B (gradient 40% → 100% imidazol). K eluci enzymu byl použit pufr A2 (5 CV). Frakce byly sbírány po 1,5 ml. Frakce byly spojeny v 1 podíl, který byl zkoncentrován přes Amicon Ultra - 15, Ultracel 10k; Regenerated cellulose 10,000 MWCO (Millipore, USA) na objem 1,5 ml a purifikován metodou gelové fitrace.

2) 1.gelová chromatografie

Pufr

A: Tris (50mM) + NaCl (0,5M), pH roztoku je upraveno na 7,0 (použita konc. HCl)

Rychlost eluce: 1,0 ml.min⁻¹

Objem sbíraných frakcí: 1,5 ml

Průběh purifikace

Kolona byla ekvilibrována 2 CV puforem A. Na kolonu bylo nanášeno 1,5 ml zkoncentrovaného vzorku. Enzym byl eluován puforem A1 (1,5 CV). Frakce obsahující dimerní a monomerní formu enzymu byly spojeny v jeden podíl (červeně), který byl pomocí Amicon Ultra - 4, Ultracel 10k; Regenerated celulóse 10,000 MWCO zkoncentrovány na požadovaný objem.

Pro ověření čistoty byly realizovány SDS-PAGE frakcí, obsahující dimer i monomer proteinu, stejně tak pak koncentráty. Dimerní forma enzymu byla opětovně přečištěna gelovou filtrací.

3) 2.gelová chromatografie

Stejné podmínky a postupy jako v předchozím případě.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Cílem testování bylo testování chování během purifikace mutovaných forem kukuřičné rekombinantní β -glukosidasy Zm-p60.1 (F193A, F200K, F461K, W373K, E401D, divoký typ) a determinace, zda dimerní forma proteinu je skutečně enzymaticky aktivní, tak jak jsme byli schopni dokladovat pomocí zymogramů. Druhým cílem bylo ověření, zda se získaný protein nachází ve vysokém stupni homogenity, popř. navrhnout modifikaci purifikační rutiny, vedoucí k vyšším čistotám.

Po realizaci první gelové filtraci bylo zřejmé, že se ve frakcích, obsahující monomer a dimer enzymu, byť ve velmi malé míře, nalézají kontaminující proteiny (*obr. 1*). SDS-PAGE a denzitometrická měření ukázala, že čistota β -glukosidasy je ≥ 94 %. Western blot potvrdil, že to nejsou degradační produkty enzymu, které by mohly vzniknout během elektroforesy. MALDI-MS a MALDI-MS/MS náš předpoklad potvrdilo.

Pro odstranění balastních proteinů jsme se rozhodli zavést opakovanou gelovou filtraci, která následně poskytla enzym s velmi vysokou homogenitou ≥ 96 , a to bez přítomnosti kontaminujících proteinů (SDS-PAGE).

Divoká forma proteinu, mutanta F193A a F461L se nalézají především v dimerní formě, nicméně minoritní monomerní formu lze také nalézt, E401D se vyskytuje především

v monomerní formě (dimer se téměř netvoří), mutanty F200K a W373 tvoří jak dimerní, tak i minometní formu s vyšší převahou dimeru.

Během opakovaných gelových filtrací byly zaznamenány rozdíly v elučních profilech testovaných enzymů (*obr. 2*). Po druhé gelové filtraci nebyla u divoké formy, mutanty F193A a F461L nalezena žádná monomerní forma proteinu, zatímco u mutantů F200K a W373K ano. Z porovnání obou chromatogramů a ploch píků je evidentní, že poslední dvě uvedené mutanty mají tendenci vytvářet směs monomer-dimer a opakovaná purifikace nevede k jejich separaci. Zde se pravděpodobně, dle mého názoru, bude výrazně uplatňovat termodynamická rovnováha mezi oběma formami.

K testování determinace aktivit bylo třeba skutečně ověřit, zda monomerní a dimerní frakce jsou relevantně detekovatelné pomocí gelové elektroforesy za nedenaturujících podmínek a zda lze experimentálně dokázat, že aktivní formou je skutečně dimerní forma proteinu. Z elučních objemů (časů) jsme byli schopni vypočítat molekulovou hmotnost [kDa] eluovaných enzymů (monomer/dimer) a porovnat ji s teoreticky vypočítanými hodnotami, zjištěnými na základě aminokyselinové sekvence (*Tab. 1*). Námi vypočtené hodnoty pro dimer se pohybovaly v rozmezí 107 – 117 kDa, 40 – 46 kDa pro monomer. (I když se hodnoty od teoretických údajů mírně odlišují – 118,5 kDa pro dimer, 59,2 kDa pro monomer, nalézají se však v rámci tolerované chyby. Mimoto gelová filtrace pracuje s premisou, že izolované proteiny jsou ideálně globulární).

Frakce odpovídající dimerní a monomerní formě enzymů byly separovány metodou gelové elektroforesy za nedenaturujících podmínek. Gel byl poté barven substrátem XGLU (dle metodiky) (Filipi et Mazura, nepublikovaná data).

Tento substrát byl vybrán proto, že dovoluje srovnávat enzymy, které jej rozkládají různou rychlostí, neb vzniká modré indigo, které není citlivé na světlo jako v případě naftylových substrátů a nezpůsobuje žádné rušivé pozadí. Intenzita zbarvení je tak dána rychlostí štěpení substrátu. Menší nevýhodou může být jeho mírná difuze do okolí (detekovatelná až po cca 1,5 hodině –záleží na koncentraci enzymu, nebo substrátu).

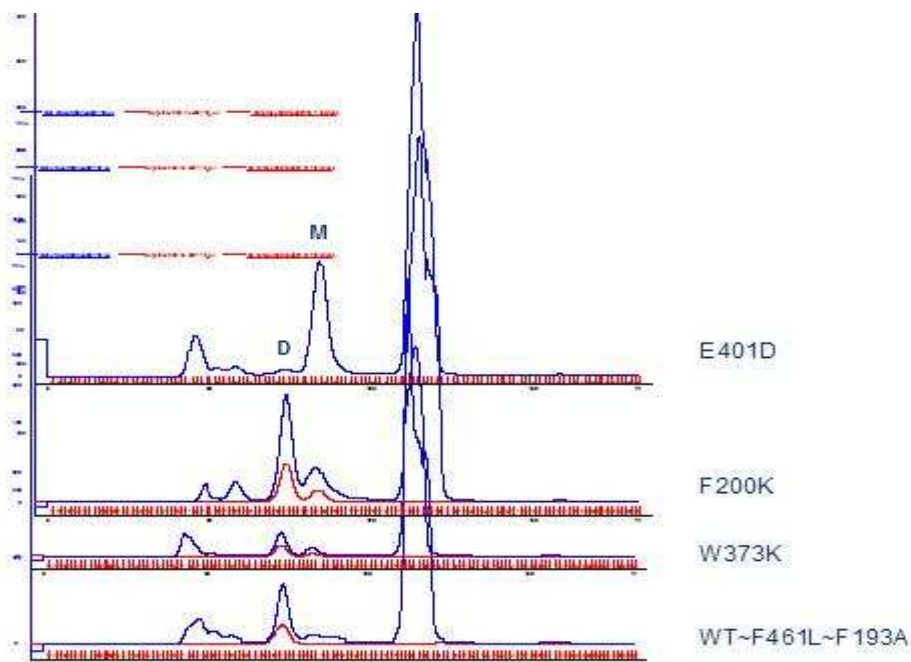
Získaný zymogram (*obr. 3*) byl následně přebarven BioSafe Coomassie blue (*obr. 3*), čímž jsme získali doplňující informaci o proteinovém složení frakcí. Jak gelová filtrace, tak i aktivní barvení jasně dokázaly, že enzymaticky aktivní forma je pouze forma dimerní, monomerní forma substrát nerozkládá ani po 1 hodině.

Celkové srovnání elučních profilů, elektroforesy za denaturujících, tak nedenaturujících podmínek (barveno XGLU a coomassie) jsou shrnuty (*obr. 4*), ze kterého jasně plyne, že aktivní barvení pomocí XGLU je vhodné pro porovnání jak divoké, tak i mutantní formy proteinu navzdory skutečnosti, že obě mají výrazně odlišnou reakční rychlost (např. W373K) a nakonec, že jsme schopni přesně detekovat a separovat monomerní a dimerní formu enzymu jak metodou gelové filtrace, tak i gelové elektroforesy za nedenaturujících podmínek.

F200K – SDS-PAGE – 1st vs. 2nd run



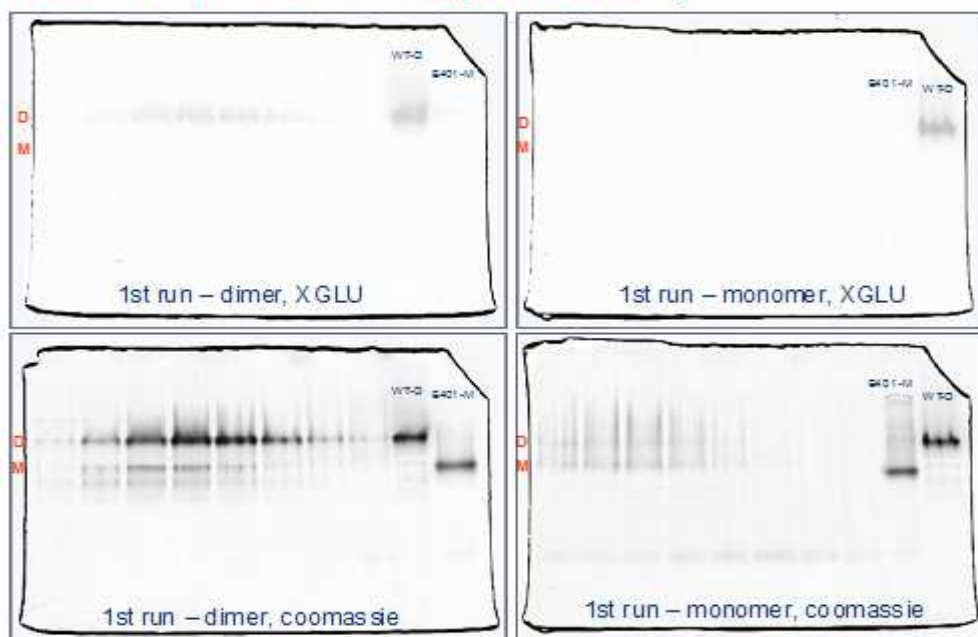
Obr. 1 Porovnání frakcí píku dimeru a monomeru po první a po druhé gelové filtraci



1. běh – modře
2. běh – červeně

Obr. 2 Porovnání elučních profilů testovaných enzymů

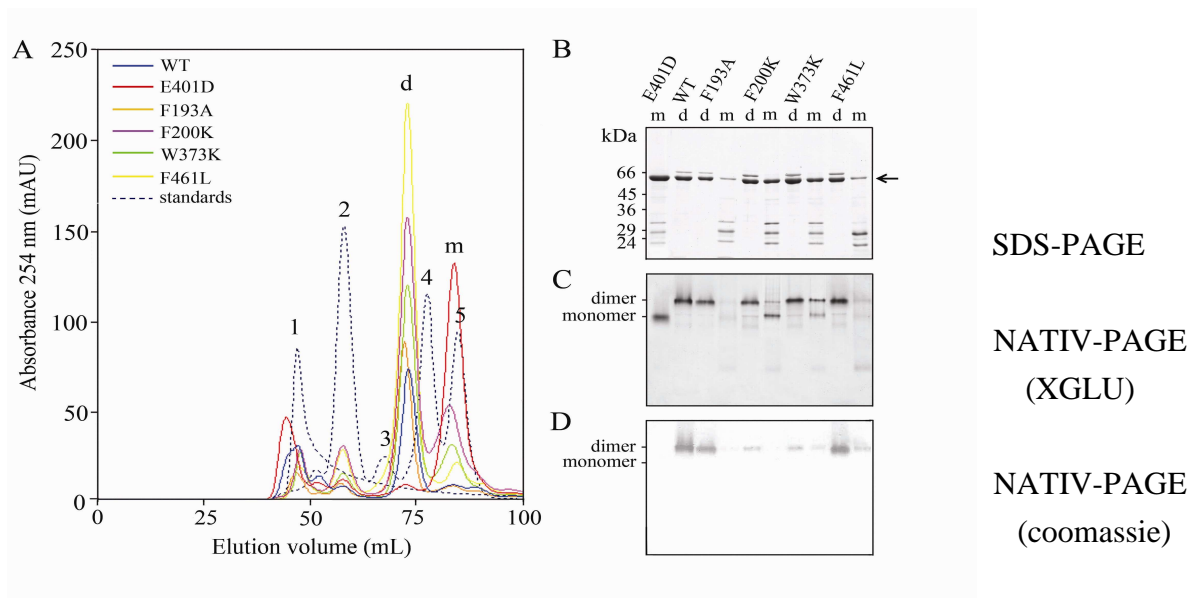
F200K – NATIV-PAGE – compare of activity



Obr. 3 Porovnání frakcí píku dimeru a monomeru po 1. gelové filtaci (aktivitní barvení vs. barvení coomassie)

ENZYME	APPARENT MOLECULAR WEIGHT (KDA)	
	DIMER	MONOMER
WT	107	41
E401D	114	42
F193A	117	43
F200K	109	46
W373K	109	44
F461L	109	40

Tab. 1 Porovnání vypočítaných velikostí enzymu (monomer, dimer)



Obr. 4 Závěrečné porovnání běhů 1. gelové filtrace, SDS-PAGE, NATIV-PAGE

ZÁVĚR

Experiment prokázal, že dvoukroková gelová filtrace prokazatelně eliminuje balastní proteiny, které byly přítomny jak v monomerní, tak i dimerní frakci enzymů. Zařazením tohoto kroku by mohlo ulehčit následnou krystalisaci enzymů.

Za pomoci kalibrované kolony HiLoad 16/60 Superdex 200 prep. grade a PAGE za nativních podmínek jsme jasně determinovali a separovali dimerní a monomerní formu enzymu.

Rovněž bylo prokázáno, že aktivní barvení za pomocí XGLU je vhodné pro detekci dimerní (aktivní) formy enzymu, čímž ji lze bezpečně identifikovat a odlišit od monomerní frakce proteinu.

LITERATURA

- Esen A., 1992. Purification and partial characterization of maize (*Zea mays* L.) β -glucosidase. *Plant Physiol.*, 98: 174 – 182.
- Rotrelk V., Nejedlá E., Kučera I., Abdallah F., Palme K., Brzobohatý B., 1999. The role of cysteine residues in structure and enzyme activity of maize β -glucosidase. *Eur. J. Biochem.*, 266: 1056 – 1065.
- Zouhar J., Nanak E., Brzobohatý B., 1999. Expression, single-step purification, and matrix-assisted refolding of a maize cytokinin glucoside-specific β -glucosidase. *Protein. Expres. Purif.*, 17: 153 – 162.
- Cicek M., Blanchard D., Bevan D. R., Esen A., 2000. The Aglycone Specificity-determining sites are different in 2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one (DIMBOA)-glucosidase (Maize β -glucosidase) and Dhurrinase (Sorghum β -glucosidase). *J. Biol. Chem.*, 275: 20002 – 20011.
- Verdoucq L., Czjzek M., Moriniere J., Bevan D. R., Esen A., 2003. Mutational and structural analysis of aglycone specificity in maize and sorghum β -glucosidases. *J. Biol. Chem.*, 278: 25055 – 25062.
- Mazura P., 2004. Studium funkční architektury katalytického centra kukuřičné β -glukosidasy Zm-p60.1. Diplomová práce, Masarykova univerzita v Brně.
- Filipi, T., 2007. Maize β -glucosidase Zmp60.1 and its mutant forms: Optimization of purification procedure. *Proceeding of International Ph. D. Students Conference, Brno*, 103
- Dopisová, R., Mazura, P., Janda, L., Chaloupková, R., Jeřábek, P., Tamborský, J., Filipi, T., Kiran, N. V., Brzobohatý, B. (2008). Functional analysis of the aglycone-binding site of the maize β -glucosidase Zm-p60. *FEBS*. (in press)

EFFECT LOW LIGHT INTENSITY AND INCREASE CONCENTRATION OF CYTOKININS - PROTEOMIC ANALYSIS

EFEKT NÍZKÉ INTENZITY SVĚTLA A ZVÝŠENÉ KONCENTRACE CYTOKININŮ - PROTEOMICKÁ ANALÝZA

Marečková M., Brzobohatý B.

Department of Molecular Biology and Radiobiology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: martimareckova@seznam.cz, brzoboha@mendelu.cz

ABSTRACT

Together with auxins, cytokinins are key substance in hormonal regulation of plant development. All native cytokinins are derivatives of adenine with substituent at N6 position. Cytokinins affect growth and regeneration of plant. Molecular mechanism of they effect in regulation of plants development is intensively study now. The analysis of genome during cytokinins action was search, but complete analysis of proteomic dynamics isn't known. It was analyzed effect low light intensity and increase levels of cytokinins. It was used the pOp/LhGR system to increased levels of cytokinins. Experimental system was plant *Arabidopsis thaliana*. The changes of proteome analysis were studied by 2D electrophoresis, scene analysis a mass spectrometry. It was observed the effect of cytokinins on hypocotyl length in the low light conditions. It was compared proteome by seedlings with increase levels of cytokinins and wild type. It was identified about 30 different proteins.

Key words: *Arabidopsis thaliana*, cytokinins, hypocotyl, 2D electrophoresis

Acknowledgments: This work is supported by LC06034 Regulace morfogeneze rostlinných buněk a orgánů and 1M06030 Funkční genomika a proteomika ve šlechtění rostlin.

ÚVOD

Vedle auxinů hrají klíčovou roli v hormonální regulaci vývoje rostlin i cytokininy. Všechny přírodní cytokininy jsou deriváty adeninu substituované v N6 pozici. Cytokininy ovlivňují růst a vývoj rostlin, podílejí se na regulaci organogeneze a regeneraci rostlin (Kamínek 1997). Molekulární mechanismy jejich účinku jsou intenzivně studované jak na genomické, tak na proteomické úrovni.

Bylo prokázáno, že cytokininy mají efekt na prodlužování délky hypokotylu. Elongace hypokotylu je velmi citlivá a závisí nejen na vnějších faktorech jako je například světlo a teplota, ale i na vnitřních faktorech, kterými jsou například rostlinné hormony (Collett at al. 2000).

Ke studiu proteomu byla využita 2D elektroforéza. Nejdříve jsou proteiny separované podle jejich isoelektrického bodu pomocí isoelektrické fokusace. Potom se takto rozdělené proteiny separují podle jejich molekulové hmotnosti pomocí SDS-PAGE. Detekce proteinů na gelu je možná pomocí barvení např. stříbrem nebo Coomassie Brilliant Blue. Dále je možné využít specifickou detekci např. pomocí fluorescence nebo protilátek (Görg 2003, Weiss, Görg 2007).

MATERIÁL A METODIKA

Jako rostlinný materiál byly použity transgenní semenáčky *Arabidopsis thaliana* (pOp-ipt- GUS::LhG4) s endogenně zvýšenou hladinou cytokininů a kontrolní divoký kmen var. Columbia.

Semenáčky byly kultivovány na nízké světelné intenzitě $16 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Po 9 dnech, kdy se zakládaly první pravé lístky, byla část aktivována. Byly sledovány změny v proteomu mezi divokým kmenem a semenáčky se zvýšenou hladinou cytokininů.

Proteiny byly izolovány pomocí roztoku kyseliny trichloroctové v acetonu (Görg 2003). Byl použit 18 cm strip pH 3 - 10 (Bio-Rad). SDS PAGE byla provedena standardním způsobem. K barvení byla použita Coomassie Brilliant Blue (Bio-Rad). K analýze obrazu byl použit program DECODON Delta2D. Identifikace proteinů pomocí hmotnostní spektrometrie byla realizována Ústavem analytické chemie AV ČR.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Změny v proteomu mezi divokým kmenem a semenáčky se zvýšenou hladinou cytokininů byly sledovány po hodině (bod 0) po aktivaci a dále po 1, 2, 3, 4, 5 a 10 dnech po aktivaci (body 1, 2, 3, 4, 5, 10). Byly použity dvě různé aktivace pomocí 80 nM a 500 nM dexamethasonu. Byly udělány dva nezávislé experimenty. Výsledky jsou průměrem ze tří gelů.

Bylo prokázáno, že cytokininy mají vliv na prodlužování délky hypokotylu u semenáčků *Arabidopsis thaliana* (Collett at al. 2000). Po dvou dnech kultivace byl vidět první rozdíl v délce hypokotylu mezi semenáčky se zvýšenou hladinou cytokininů a divokým kmenem. Proteomická analýza prokázala asi 30 různých proteinů, které mají rozdílnou

intenzitu (tedy i koncentraci) na gelu u aktivovaných semenáčku oproti gelům z kontrol. V tabulce jedna a dvě jsou shrnuty výsledky obou experimentů. Jsou zde uvedeny celkové počty spotů, celkový počet rozdílných spotů, počet rozdílných snížených a zvýšených spotů u aktivovaných semenáček, počet rozdílných spotů u variant aktivovaných pomocí 80 nM a 500 nM dexamethasonu a celkový počet rozdílných spotů poslaných na identifikaci pomocí hmotnostní spektrometrie.

bod	0	1	2	3	4	5	10
celkový počet spotů	826	918	840	822	856	891	870
počet rozdílných spotů	162	116	127	143	192	89	163
počet snížených spotů	110	54	77	106	105	53	89
počet zvýšených spotů	52	62	50	37	87	36	74
počet spotů u 80 nM	52	63	73	65	46	56	69
počet spotů u 500 nM	136	74	68	85	179	49	108
identifikované	17	15	15	17	20	19	17

Tab. 1 Vyhodnocení prvního experimentu

bod	0	1	2	3	4	5	10
celkový počet spotů	830	861	832	822	849	856	892
počet rozdílných spotů	130	171	72	59	99	78	138
počet snížených spotů	71	96	31	38	49	43	61
počet zvýšených spotů	59	75	41	21	60	35	77
počet spotů u 80 nM	51	49	41	19	91	33	72
počet spotů u 500 nM	89	132	51	46	28	59	80
identifikované	13	14	16	12	15	14	12

Tab. 2 Vyhodnocení druhého experimentu

ZÁVĚR

Bylo potvrzeno, že cytokininy mají vliv na prodlužování délky hypokotylu u semenáček *Arabidopsis thaliana*. Byla provedena proteomická analýza. Ke studiu proteomu byla využita 2D elektroforéza. Analýza obrazu byla realizována pomocí programu DECODON Delta2D. Proteomická analýza prokázala 30 různých proteinů, které mají rozdílnou intenzitu (tedy i koncentraci) na gelu u aktivovaných semenáček oproti gelům z kontrolních rostlin. Výsledky budou použity pro další studium této problematiky.

LITERATURA

Kamínek M., (1997): Cytokininy. In Procházka S., Šebánek J., a kol.: Regulátory rostlinného růstu. Academia Praha: 63 – 76.

Görg A., (2003): Two-Dimensional Electrophoresis with Immobilized pH Gradients for Proteome Analysis. Technical University of Munich.

Weiss W., Görg A., (2007): Two-Dimensional Electrophoresis for Plant Proteomics, Plant Proteomics: Methods and Protocol. Methods in Molecular Biology, 335: 121-143.

Collett C. E., Harberd N. P., Leyser O., (2000): Hormonal interaction in the control of arabidopsis hypocotyl elongation. Plant physiology 124: 553-561.

DEVELOPMENT AND OPTIMIZATION OF GENETIC TRANSFORMATION SYSTEM FOR GRAPE

VÝVOJ A OPTIMALIZACE SYSTÉMU GENETICKÉ TRANSFORMACE U REVY VINNÉ

Novák E., Zok A., Pedryc A., Oláh R.

Department of Genetics and Plant Breeding, Faculty of Horticultural Science,
Corvinus University of Budapest, H- 1118, Budapest, Villányi 29-43, Hungary

E-mail: edina.novak@uni-corvinus.hu

ABSTRACT

We have established a successful *Agrobacterium*-mediated transformation system for several important grapevine cultivars. Genetic transformation is based on the existence of an effective regeneration method. Different types of explants have been tested for their ability to produce somatic embryos on inducing medium. To optimize the conditions of the transformation system we examined the effectiveness of different *Agrobacterium*-treatments, the use of antioxidants and phenol-bindings, and the adequate amount of kanamycin for the purpose of selection. The developed transformation system allowed the recovery of germinating transgenic embryos and regenerated plantlets.

Key words: *Agrobacterium tumefaciens*, somatic embryogenesis, plant grow regulator, transgenic plantlet

Acknowledgements: This work was supported by grants National Scientific Research Found (OTKA) Grant No. T049438/2005. The authors thank Veronika Tóth for helpful technical assistance.

INTRODUCTION

Transgenic approach to genetic improvement of traditional wine grape cultivars would allow modification of traits such as disease and pest resistance, product quality, and production efficiency without altering the essential characteristics of the cultivar. In addition, genetic transformation would facilitate identification and isolation of novel genes utilizing reverse genetics. Successful application of gene technology requires an efficient genetic transformation and reliable regeneration system. Embryogenic cultures have been established for some grape species, despite somatic embryogenesis remains genotype dependent (Maillot et al., 2006). Somatic embryos are often used as targets for transformation studies. Different parts of grapevine have been tested for their ability to produce somatic embryos under induction conditions, such as anthers (Vidal et al., 2003; Perrin et al., 2004), leaves (Li et al., 2001) and ovaries (Kikkert et al., 2005; Gambino et al., 2007). When the total regeneration process is considered, the development of transgenic shoots from somatic embryos frequently represents a limiting step (Iocco et al., 2001). The researchers were able to induce the calli to regenerate embryos and intact transgenic plants. The successful transformation of grapevine has been reported using the *Agrobacterium*-mediated system (Yamamoto et al., 2000; Iocco et al., 2001; Das et al., 2002). Generally antibiotic resistance has been applied for the selection of transformed cells, and neomycin phosphotransferase II (*nptII*) has been used as the selectable marker gene (Torregrosa et al., 2000). Several antagonisms can be found about the application of optimal kanamycin in the literature. The use of antioxidants has been kept necessary to reduce necrosis symptoms after *Agrobacterium*-treatment (Perl et al., 1996).

In this study we aimed at improving methods, developing somatic embryogenesis, optimizing the conditions of transformation, as well as the different factors influencing selection and the efficiency of regeneration.

MATERIALS AND METHODS

We examined the regeneration via organogenesis from young leaves, petioles and stem segments cultured on MS solid medium supplemented with 10g/l saccharose and 3 mg/l 6-benzylaminopurine (BAP). In vitro cultures were incubated under long period of darkness at 28 °C. Shoot regeneration was also attempted from the base of buds. Somatic embryogenesis was induced on different tissues; anther filaments, leaves, stem segments and pistils for several different grape genotypes. Embryogenic callus was initiated from anther filaments most of the cases. Anthers were collected from inflorescences of different cultivars e. g.: ‘Richter 110’ rootstock, *Vitis vinifera* cv. ‘Chardonnay’ in the bud stage. Anthers were disinfected with the use of sodium hypochloride solution (Clorox 10%) keeping in it for 15 minutes then rinsed three times in sterile distilled water. Excised anthers were incubated at 28°C in darkness on MSE induction medium (Mozsár et al., 1994) consisted of Murashige and Skoog basal salts and vitamins, supplemented with 20 g/l saccharose, 70 mg/l FeEDTA, 1.1 mg/l 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), 0.1 mg/l 6-benzylaminopurine (BAP) and were solidified with 7 g/l Oxoid agar. The pH was adjusted to 5.8. We also used the same induction medium supplemented with 0.05 mg/l TDZ for some grape cultivars. Resulting

callus culture were transferred monthly to fresh medium, somatic embryos were maintained on hormone-free medium. In order to determine the optimal conditions of effective transformation system, embryogenic callus of 'Chardonnay', 'Richter 110', were co-cultivated with different *Agrobacterium* strains. All vectors contained nptII coding region conferring kanamycin resistance for selection of transformed plant cells. These experiments were essentially differed from transferring bacteria to calli. In some cases embryogenic calli were co-cultivated with *Agrobacteria* in 20 ml sterilized MSE liquid medium with or without hormones for 24 or 48 hours. The bacteria were removed by rinsing the calli in liquid culture medium or steril water containing 100-300 mg/l carbenicillin for different time (30, 60, 120 minutes), then they were collected by filtering. In the other cases small amount of bacterial suspension (20-30 μ l) were applied onto the surface of callus on solid medium in 5-10 mm diameter, co-cultivated for 48 hours. After treatment the plant material was maintained on selective medium contained 100-1000 mg/l concentrations of carbenicillin or supplemented with 300 mg/l cefotaxime-sodium antibiotic to eliminate *Agrobacteria*. We carried out some experiments to control the tolerance of embryogenic callus for kanamycin selection agent on MSE medium. In addition to quantify the most reasonable amount of kanamycin for selection from 20 mg/l, 50 mg/l and 100 mg/l concentrations, we tried to determine the quantity of it by the existence of viable regenerated transgenic plants. To reduce damages caused by stress, save the cells through transformation process, we tested the effect of 4 g/l water insoluble polyvinylpyrrolidon (Polyclar AT) antioxidant and 0.1 g/l phenol-binding dithioerythritol (DTE).

RESULTS

We studied direct organogenesis from different parts of grapevine but this process did not prove enough successful on the contrary we could effectively obtain somatic embryos from anther tissues. Various plant growth regulator (PGR) combinations were applied to induce somatic embryogenesis from different grape genotypes. Besides BAP and 2,4-D, the suitability of thidiazuron (TDZ) was verified, according to the possession of cytokinin and auxin effect, is a good initiator of callus development. Successfully we obtained a rapid method for the induction of somatic embryogenesis and effective plant regeneration derived from anther tissue.

To improve the conditions of genetic transformation we developed a new method which is based on minimum-handling. We experienced, the techniques of submerging in bacterial suspension caused extensive necrosis symptoms on plant material. We were able to slightly moderate symptoms of necrosis of embryogenic cultures with declining the time of dipping and co-cultivation. In the case of removing the dipping treatment the death symptoms were canceled. Accordingly, the most efficient method was the transfer of a small quantity (40-50 μ l) of bacterium suspension to the surface of embryogenic callus on solid medium, which was followed 48 hours co-cultivation with *Agrobacterium*.

By this method it is possible to cut down the symptoms of cell death and to avoid the drawbacks of dipping technique. The most appropriate somatic embryos to transform were about 1 mm, in early globular stage and approximately at the same age (Figure 1).



Figure 1. Somatic embryos in globular stage



Figure 2. Transformed embryos under selective conditions

The application of 200 mg/l carbenicillin and 300 mg/l cefotaxime-sodium in the selection medium proved efficient to eliminate bacteria therefore we adopted this combination of antibiotics. For the selection of transformed embryos (Figure 2), 20 mg/l kanamycin appeared to be sufficient quantity because we obtained regenerated transgenic plants only at this kanamycin concentration. In none of the cases could we regenerate grape plants without using antioxidant and phenol-binding so these chemicals seemed to be absolutely necessary for the effective transformation system as the application of them gives sufficient protection to the cells against toxic phytometabolites. Accordingly the selection medium always includes 4 g/l water insoluble Polyclar AT antioxidant and 0.1 g/l DTE phenol-binding. By this newly developed technics we successfully transformed with useful genes and regenerated 'Richter 110' and 'Chardonnay' grapevines in our research (Figure 3, 4). The transgenic status of plants was confirmed by PCR analysis (data not shown).



Figure 3. *In vitro* newly formed transgenic plantlet



Figure 4. *Transgenic plant*

DISCUSSION

In spite of many reports on successful transgenic plant production in grape, routine transformation remains difficult. Mainly, this is due to a highly genotype-dependent regeneration ability, often with low embryogenesis induction, moreover low embryo conversion rates. Further, the avoidance of oxidative stress being one important point after *Agrobacterium* co-cultivation. Minimum handling may be equally important, also the used quantity of selectable markers and the necessary of antioxidants and phenol-bindings. Consequently conditions of transformation and regeneration have need to be carefully considered for each genotype.

This study has described the development of a transformation system which can be applied to grapevine cultivars of importance to the wine industry.

LITERATURE

- Das, D., Reddy, M., Upadhyaya, S., Sopory, S. (2002): An efficient leaf disc culture method for the regeneration via somatic embryogenesis and transformation of grape (*Vitis vinifera* L.). *Plant Cell Rep.* 20:999-1005.
- Gambino, G., Ruffa, P., Vallania, R., Gribaudo, I. (2007): Somatic embryogenesis from whole flowers, anthers and ovaries of grapevine (*Vitis* spp.). *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 90:79-83.
- Iocco, P., Franks, T., Thomas, M. R. (2001): Genetic transformation of major wine grape cultivars of *Vitis vinifera* L. *Transgen. Res.* 10:105-112.
- Kikkert, J. R., Striem, M. J., Vidal, J. R., Wallace, P. G., Barnard, J., Reisch, B. I. (2005): Long-term study of somatic embryogenesis from anthers and ovaries of twelve grapevine (*Vitis* sp.) genotypes. *In Vitro Cell Dev. Biol. - Plant* 41: 232-239.
- Li, Z., Jayasankar, S., Gray, D. J. (2001): Expression of a bifunctional green fluorescent protein (GFP) fusion marker under the control of three constitutive promoters and enhanced derivatives in transgenic grape (*Vitis vinifera*). *Plant Sci.* 160:877-887.
- Maillot, P., Kieffer, F., Walter, B. (2006): Somatic embryogenesis from stem nodal sections of grapevine. *Vitis* 45:185-189.
- Mozsar, J., Sule, S. (1994): A rapid method for induction of somatic embryogenesis and plant regeneration from cultured anthers of *Vitis riparia*. *Vitis* 33:245-246.
- Perl, A., Lotan, O., Abu-Abied, M., Holland, D. (1996): Establishment of an *Agrobacterium* mediated transformation system for grape (*Vitis vinifera* L.): the role of antioxidants during grape-*Agrobacterium* interactions. *Nat. Biotechnol.* 14:624-628.
- Perrin, M., Gertz, C., Masson, E. J. (2004): High efficiency initiation of regenerable embryogenic callus from anther filaments of 19- grapevine genotypes grown worldwide. *Plant Sci.* 167:1343-1349.
- Torregrosa, L., Péros, J. P., Lopez, G., Bouquet, A. (2000): Effect of hygromycin, kanamycin and phosphinothricin on the embryogenic callus development and axillary micropropagation of *Vitis vinifera* L. *Acta Hort.* 528:403-406.
- Vidal, J. R., Kikkert J. K., Wallace P. G., Reisch B. (2003): High efficiency biolistic co-transformation and regeneration of 'Chardonnay' (*Vitis vinifera* L.) containing npt-II and antimicrobial peptide genes. *Plant Cell Rep.* 22:252-260.
- Yamamoto T., Iketani H., Ieki H., Nishizawa Y., Notsuka K., Hibi T., Hayashi T., Matsuta N. (2000): transgenic grapevine plants expressing a rice chitinase with enhanced resistance to fungal pathogens. *Plant cell Rep.* 19:639-646.

OXIDATIVE STRESS IN PLANTS WITH ELEVATED LEVEL OF CYTOKININS

OXIDATIVNÍ STRES U ROSTLIN SE ZVÝŠENOU HLADINOU CYTOKININŮ

Novák J., Váňová P., Souček P., Brzobohatý B.

Department of Molecular Biology and Radiobiology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: jannov@ibp.cz, brzoboha@ibp.cz

ABSTRACT

Cytokinins are plant hormones well known as positive regulators of shoot development and agents delaying senescence onset. Recently negative role of cytokinins like reduction in leaf expansion and promoting programmed cell death, started to be recognised. In accordance with this, endogenous increase in cytokinin level in our model plants - *Arabidopsis thaliana* and *Nicotiana tabacum*, cause phenotype resembling plant undergoing oxidative stress. To confirm this we have performed histochemical and fluorescent staining which reveal increase in the level of reactive oxygen species (= ROS). Normally ROS level is carefully controlled by antioxidants and antioxidant enzymes like ascorbate peroxidase and catalase. We have measured activity of these enzymes via spectrophotometric assays and found that activity of both of them was depressed. The level of transcript of *APX1* gene measured via quantitative RT-PCR method was also decreased. Contrary transcripts of the early light-inducible proteins ELIP1 and ELIP2, potential markers of the stress, were increased. In some cases increase in the level of antioxidants can prevented from oxidative stress. Therefore we have fed plants with reducing agent glutathione (=GSH) and observed predicted improvement of the plant phenotype. In summary we have revealed that higher levels of cytokinins cause oxidative stress, which can be explained by diminishing of the capability of the antioxidant enzymes. Feeding plants with reducing agent GSH can partly prevent severity of this damage.

Key words: Cytokinin, Oxidative stress, ROS, Ascorbate peroxidase, Catalase

Acknowledgments: This work was supported by grants LC06034, 1M06030 and MSM143100008 (Ministry of Education of the Czech Republic), IAA600040701 and IAA600040612 (Grant Agency of the Academy of Sciences of the Czech Republic) and AVOZ50040507 (Academy of Sciences of the Czech Republic), and the scholarship IN-CO Czech 2002-04 to PV.

INTERACTION OF LIGHT AND CYTOKININS IN ARABIDOPSIS THALIANA – STRESS AND ANTHOCYANIN BIOSYNTHESIS

INTERAKCE SVĚTLA A CYTOKININŮ U ARABIDOPSIS THALIANA – STRES A BIOSYNTÉZA ANTOKYANŮ

Pavlu J., Brzobohatý B.

Department of Molecular Biology and Radiobiology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: pavlu@mendelu.cz, brzoboha@ibp.cz

ABSTRACT

Light and cytokinins interact in a number of growth, developmental and physiological processes in plants. One example is anthocyanin biosynthesis that helps protect against various biotic and abiotic stresses. The involvement of cytokinins in this process is not fully understood. Further, we suppose that not only light but also cytokinins are implicated in oxidative stress. To study the interaction of light and cytokinins in the induction of anthocyanin biosynthesis we employed transgenic *Arabidopsis thaliana* seedlings (line 11.5) with an activable *ipt* system where activation leads to the induction of isopentenyltransferase (*ipt*) expression and consequent increased cytokinin biosynthesis. Plants cultivated in soil under a light intensity of 100 photons $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ were activated and then cultivated under the same light intensity or under higher light intensity (200 photons $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). This increasing of light intensity induced *Elip* genes which are expressed only under light-stress conditions so that light intensity of 200 photons $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ could be assumed as slight light-stress. Increased light intensity as well as activation lead to anthocyanin accumulation and the effect of light and cytokinins on increasing the anthocyanin content was multiplicative. To elucidate whether anthocyanins and other flavonoids are implicated in tolerance to increased light intensity and/or increased cytokinin level we investigated *transparent testa 4 (tt4)* mutant which is deficient in flavonoid biosynthesis. *tt4* mutants did not show any lesions, chlorosis or other marks of severe stress under increased light intensity (350 photons $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and/or cytokinin treatment. No changes in content of chlorophyll and total carotenoids were observed in *tt4* mutants. Taken together, anthocyanins do not serve an important function in protection against stress-promoting conditions such as moderate light stress and increased cytokinin levels.

Key words: cytokins, anthocyanins, flavonoids, transparent testa mutants, stress

Acknowledgments: This work was supported by grants LC06034 and 1M06030 (Ministry of Education of the Czech Republic).

USING OF MICROSATELLITE MARKERS FOR IDENTIFICATION OF DUPLICATIONS IN COLECTION OF GENETIC RESOURCES OF PEPPER (*CAPSICUM L.*)

VYUŽITÍ MIKROSATELITNÍCH MARKERŮ PRO IDENTIFIKACI DUPLICIT V KOLEKCI GENOVÝCH ZDROJŮ PAPRIKY (*CAPSICUM L.*)

¹Rohrer M., ¹Cieslarová J., ¹Hanáček P., ¹Vyhnánek T., ²Stavělková H.

¹Department of Plant Biology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Czech Republic,

² Department of Vegetables and Special Crops, Crop Research Institute, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc – Holic, Czech Republic

E-mail: m.rohrer.@seznam.cz, hanacek@mendelu.cz

ABSTRACT

Within a collection of 41 genetic resources of red pepper genotypes (*Capsicum annuum L.*) genetic variability using 8 microsatellite markers was tested. Three of the microsatellite markers (*Hpms 1-1*, *Hpms 1-168*, and *Hpms 1-274*) provided uniform spectra in all analyzed genotypes. From 2 to 7 alleles were detected for the rest of microsatellite loci. Totally 27 alleles were detected, which means an average of 4.0 allele per one microsatellite locus. The size of amplified products was determined within the limits of 172 – 340 base pairs. The highest number of different alleles was detected using *Hpms 1-5* and *Hpms 2-21* primers (7 alleles). The calculated average DI value was 0.33 (0.00-0.74), average PI value was 0.55 (0.04-1.00) and average PIC value was 0.32 (0.00-0.73). The low value of PIC indicates higher level of genetic similarity between analyzed genotypes. Based on statistical evaluation a dendrogram of similarity was constructed. Distribution of the analyzed genotypes in the dendrogram implies a high level of similarity within some genotypes and on the contrary there is a presumption of genetically different material within other genotypes of the same or similar name. Molecular data were complement with morphological measurement by descriptor lists for genus *Capsicum*. These results show the possibility of duplicities in the current collection of genetic resources of red pepper.

Key words: genetic resources, pepper, *Capsicum L.*, microsatellites, SSRs

Acknowledgments: The research was funded by the Grant Agency of Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, project No. DP1/AF/2008 and The Czech National Programme on Conservation and Utilization of Plant Genetic Resources and Agrobiodiversity (File Number 20139/2006-13020).

ÚVOD

Velký počet vzorků v kolekcích genových zdrojů vede k problémům jak s charakterizací jednotlivých položek, podmiňujících jejich následné využití, tak i procesem regenerace, nutným pro další uchování životaschopnosti semen. Z těchto důvodů byl v 80. letech minulého století zaveden koncept „core“ kolekcí, tj. menšího souboru, zachovávajícího na základě podrobného genetického, morfologického a agronomického popisu, co největší genetické spektrum výchozí kolekce (Brown, 1989). Pro zachování integrity a funkčnosti uložených vzorků semen, je potřebné zajistit dlouhodobou konzervovanost celého spektra genetické diverzity a zároveň udržování dostatečného množství osiva pro uživatele. Na druhé straně je v genových bankách udržována řada pravděpodobně totožných vzorků, které jsou však uchovávány pod různými čísly EVIGEZ (*Český informační systém genových zdrojů*). Tyto vzorky často pocházejí z různých zahraničních zdrojů a přispívají ke zvýšené náročnosti na udržování kolekce a rovněž ke zvyšování nežádoucí genetické eroze – kolekce obsahují vysoké počty vzorků genových zdrojů, jejich genetická variabilita je však nízká. Genetická eroze ve svém důsledku vede ke snižování šlechtitelského pokroku a výrazně omezuje možnost reakce na požadavky pěstitelů a spotřebitelů.

Pro studium genetické diverzity a variability je v současné době k dispozici mnoho metod, např. morfologická charakteristika, analýza rodokmenů, biochemické markery především proteiny a jejich různé izoenzymové varianty a dynamicky se vyvíjející molekulární (DNA) markery atd (Koch, 1998). Vzhledem k vysokému stupni polymorfizmu a kodominantnímu charakteru dědičnosti se v rámci DNA markerů velmi dobře uplatňují mikrosatelitní markery (SSRs – *Simple Sequence Repeats*). Využití detekce polymorfizmu mikrosatelitů pro studium genetické diverzity a variability bylo popsáno u řady rostlinných druhů mnoho autory, např. u hrachu (Haghnazari et al., 2005), řepky (Li et al., 2007) atd. Z uvedeného krátkého nástínu je zřejmá vhodnost metody SSR i pro studium genetické variability u papriky.

Cílem práce byla detekce variability SSR markerů u vybraných genových zdrojů papriky Výzkumného ústavu rostlinné výroby, v.v.i. Genové banky Olomouc za účelem identifikace případných duplicit v kolekci.

MATERIÁL A METODIKA

Genetická variabilita byla detekována u 41 genotypů paprik (*Capsicum L.*) (Tab. 1). Materiál byl pěstován v izolačních klecích na pozemcích VÚRV, v.v.i. GB Olomouc, kde byly v průběhu celého vegetačního období genotypy popisovány podle dvou klasifikátorů: IPGRI /27 znaků/ (IPGRI, 1995) a UPOV /44 znaků/. Použité klasifikátory se vzájemně doplňují, protože každý je určen pro jiný typ popisu. Klasifikátor IPGRI je určen pro morfologický popis genetických zdrojů a klasifikátor UPOV pro morfologický popis uznaných odrůd. Popisuje se habitus (výška, odění nodů...), listy (délka čepele, tvar, zvlnění okrajů...), květy (postavení květů, barva květní koruny...), plody (tvar, délka, barva v konzumní zralost...) a semenáčky. Jako genetických markerů bylo využito polymorfizmu DNA, který byl detekován metodou SSR. Pro molekulární analýzy byla genomová DNA

izolována pomocí izolačního kitu Invisorb Spin Plant Mini Kit (f. Ivitek) z listů napěstovaných rostlin na počátku kvetení. Z každé rostliny byly pro izolaci odebrány 4 listové disky (80 mg). Koncentrace DNA ve vzorku byla po izolaci zjištěna fluorimetricky. Pro SSR analýzy bylo použito 8 SSR markerů popsanych v literatuře u papriky (Lee et al., 2004; Minamiyama et al., 2006).

Reakční směs pro PCR o celkovém objemu 25 µl obsahovala:

- 30 ng templátové DNA,
- 1 U *Taq* polymerázy (Promega, USA),
- 1x koncentrovaný odpovídající pufr,
- 5 pmol fluorescenčně značeného forward primeru,
- 5 pmol reverse primeru,
- 0,1 mM směsi dNTPs.

Teplotní a časový profil PCR reakce byl následný: 1 cyklus 94 °C 180 s; 35 cyklů 94 °C 60 s, 50-55 °C (v závislosti na použitém páru primerů) 60 s, 72 °C 120 s; 1 cyklus 72 °C 600 s. Produkty PCR byly předběžně testovány pomocí agarosové elektroforézy. Pro analýzu vzorků byla použita kapilární elektroforéza ABI Prism 3100. Pomocí software Gene Marker 1.3 byl vyhodnocen počet a velikost produktů. Následně byla sestavena binární matice, kde 1 znamená přítomnost produktu a 0 absenci produktu. Tyto hodnoty byly statisticky zpracovány pomocí programu FreeTree a graficky zpracovány do podoby dendrogramu pomocí programu TreeView. Pro každý SSR marker byly vypočteny hodnoty: indexu diversity (DI), pravděpodobnosti identity (PI) a polymorfního informačního obsahu (PIC) (Russell et al., 1997).

VÝSLEDKY A DISKUZE

V rámci kolekce genových zdrojů papriky byla testována variabilita mikrosatelitních markerů. Z 8 analyzovaných SSR markerů poskytovaly 3 SSR markery uniformní spektrum (*Hpms 1-1*, *Hpms 1-168*, a *Hpms 1-274*) u všech analyzovaných genotypů papriky. U ostatních mikrosatelitů bylo detekováno od 2 do 7 alel. Celkem bylo detekováno 27 alel, což je v průměru 4,0 alely na lokus (*Tab. 2*). Velikost amplifikovaných produktů se pohybovala v rozmezí 172-340 bp (*Tab. 3*). Největší rozdíl od průměrné velikosti (Lee et al., 2004; Minamiyama et al., 2006) byl detekován u SSR markeru *Hpms 1-168* (+36 bp) a *Cams 163* (+46 bp). Nejvyšší počet alel byl detekován u mikrosatelitů *Hpms 1-5* a *Hpms 2/21* (7 alel). Minamiyama et al. (2006) zjistili u SSR markerů *Cams 163* (9 alel) a *Cams 647* (10 alel). V našem případě se tyto SSR markery vyznačovaly nižším počtem alel, tj. *Cams 647* (6 alel) a *Cams 163* (2 alely). Průměrný počet alel na lokus je srovnatelný s jinými autory, kteří uvádějí hodnoty 2,9 (Minamiyama et al., 2006) a 3,0 (Kwon et al., 2007).

Průměrná hodnota DI byla 0,33 (0,00-0,74), průměr PI 0,55 (0,04-1,00) a v případě PIC byla vypočítána průměrná hodnota 0,32 (0,00-0,73) (*Tab. 4*). Průměrná hodnota PIC byla nižší v porovnání s hodnotou 0,76, kterou uvádějí Lee et al. (2004) při studiu různých zástupců rodu *Capsicum*. Pododnou hodnotu 0,46 uvádějí v rámci studia dihaploidních linií

papriky (*Capsicum annuum*) Minamiyama et al. (2006). Nízká hodnota PIC ukazuje na vyšší stupeň genetické podobnosti mezi analyzovanými genotypy papriky.

Na základě statistického zpracování byl sestaven dendrogram podobnosti (Nei a Li koeficient) analyzovaných genotypů papriky (Tab. 5). U analyzovaného souboru genotypů se podařilo statisticky významně odlišit tři genotypy (Hatvani /č. 13/, Japan a Madarszen /č. 29 a č. 30/) od ostatních 38 analyzovaných genotypů. Rozložení analyzovaných genotypů v dendrogramu naznačuje vysoký stupeň podobnosti v rámci některých položek se stejným resp. podobným názvem, např. Astrachanskij /č. 10 a 11/; Bogyiszloi /č. 26/ a Bogyiszloi Vastaghusu /č. 27/; Konservnyj Belyj 289 /č. 18 a 40/; Tetenyi /č. 1 a 33/ apod. Naopak u dalších položek v rámci studovaného souboru je předpoklad, že se jedná o geneticky odlišné materiály.

Při srovnání morfologického hodnocení 10 skupin zástupců (dle názvu genotypu) paprik s dendrogramem lze odvodit následující skutečnosti:

- zástupci skupiny Tetenyi č. 1 a 3 se nepodařilo na základě morfologického klasifikátoru rozlišit a i molekulární data vykazují vysoký stupeň podobnosti,
- zástupce skupiny Kalocsai Fuszer (Eder) č. 2 se výrazně odlišuje od zbývajících dvou zástupců /č. 3 a 4/, kteří jsou si dle morfologických znaků a polymorfizmu SSR markerů geneticky velmi blízcí (Obr. 1 a 2),
- u zástupců skupiny Bogyiszloi č. 26 a 27 byly po stránce polymorfizmu DNA i morfologické velmi podobní,
- naopak v rámci morfologického hodnocení tři zástupci skupiny Konservnyj Belyj nebyla pozorována variabilita, ale v při analýze SSR markerů došlo k rozlišení zástupce č. 41 od zbývajících dvou genotypů,
- zástupci skupiny Vinedale se vyznačovali jak vysokou variabilitou morfologických znaků, tak i variabilitou SSR markerů.

ZÁVĚR

Výsledky prezentované práce ukazují praktickou aplikaci metod detekce molekulární genetiky v rámci kolekce genových zdrojů paprik. Je zřejmé, že je velmi vhodné kombinovat tyto metody s metodami morfologického hodnocení. Pro lepší a přesnější závěry je nutné aplikovat vyšší počet polymorfních SSR markerů a analyzovat větší počet rostlin v rámci jednotlivých zástupců. Toto je předmětem další práce.

LITERATURA

Brown A.H.D. (1989): Core collections: A practical approach to genetic resources management. *Genome*, 31: 818-824.

Haghnazari A., Samimifard R., Najafi J., Mardi M. (2005): Genetic diversity in pea (*Pisum sativum* L.) accessions detected by sequence repeat markers. *J Genet Bred*, 59: 145-152.

IPGRI (1995): Descriptors for *Capsicum* (*Capsicum* spp.). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy; Asian Vegetable Research and Development Center, Taipei, Taiwan; Centro Agronomico Tropical de Investigacion y Esenanza, Turrialba, Costa Rica.

Koch G. (1998): Comparison of the efficiency of biochemical and molecular marker methods for the description of genetic diversity. Proc symposium on the utilisation of genetic resources, Gatersleben: 49-54.

Lee J.M., Nahm S.H., Kim Y.M., Kim D.D. (2004) Characterisation and molecular genetic mapping of microsatellite loci in pepper. *Theor Appl Genet*, 108: 619-627.

Li M., Zhang C., Qian W., Meng J. (2007): Genetic diversity of Brassica species revealed by amplified fragment length polymorphism and simple sequence repeat markers. *Hortic Environ Biotech*, 48: 9-15.

Minamiyama Y., Tsuru M., Hirai M. (2006) An SSR-based linkage map of *Capsicum annuum*. *Mol Breeding*, 18: 157-169.

Russell J., Fuller J., Young G., Thomas B., Taramino G., Macaulay M., Waugh R., Powell W. (1997) Discriminating between barley genotypes using microsatellite markers. *Genome*, 40: 442-450.

Wang R., Li Y., Yang L., Li L., Fang F., Li W. (2006): Analysis of genetic diversity based on SSR and morphological markers among tomato cultivars. *J Trop Subtrop Bot*, 14: 120-125.

Tab. 1 – Přehled testovaných genotypů

Př.	číslo EVIGEZ	jméno
1	09H3100071	Tetenyi
2	09H3100243	Kalocsai Fuszer (Edes)
3	09H3100244	Kalocsai Fuszer (Edes)
4	09H3100245	Kalocsai Fuszer (Edes)
5	09H3100290	Vinedale
6	09H3100291	Vinedale
7	09H3100055	Astrachanskij
8	09H3100056	Astrachanskij
9	09H3100057	Astrachanskij
10	09H3100058	Astrachanskij
11	09H3100541	Astrachanskij
12	09H3100059	Astrachanskij 147
13	09H3100416	Hatvani
14	09H3100350	Japan Madarszem
15	09H3100419	Hatvani Csemege
16	09H3100418	Hatvani
17	09H3100417	Hatvani
18	09H3100354	Konservnyj Belyj 289
19	09H3100292	Vinedale
20	09H3100137	Aufrechte Cayenne
21	09H3100138	Aufrechte Cayenne
22	09H3100139	Aufrechte Cayenne
23	09H3100140	Aufrechte Cayenne
24	09H3100111	Bogyisloi
25	09H3100112	Bogyiszloi
26	09H3100113	Bogyiszloi
27	09H3100114	Bogyiszloi Vastaghusu
28	09H3100351	Japan Madarszem
29	09H3100503	Japan Madarszen
30	09H3100504	Japan madarszen
31	09H3100505	Japan madarszen
32	09H3100067	Tetenyi
33	09H3100068	Tetenyi
34	09H3100069	Tetenyi
35	09H3100070	Tetenyi
36	09H3100288	Vinedale
37	09H3100349	Japan Hontakka
38	09H3400501	Japan hontakka
39	09H3100502	Japan hontakka
40	09H3100352	Konservnyj Belyj 289
41	09H3100353	Konservnyj Belyj 289

Tab. 2 – charakteristika SSR markerů

SSR marker	lokalizace na chromozomu	počet alel	rozpětí (bp)	poznámka
<i>Hpms 1-1</i>	1	1	270	monomorfní
<i>Hpms 1-5</i>	6	7	296-320	
<i>Hpms 1-168</i>	16	1	172	monomorfní
<i>Hpms 1-172</i>	11	2	338-340	
<i>Hpms 1-274</i>	7	1	175	monomorfní
<i>Hpms 2-21</i>	10	7	266-296	
<i>Cams 163</i>	5	2	248-250	
<i>Cams 647</i>	3	6	188-224	
průměrný počet alel na lokus je 4,00				

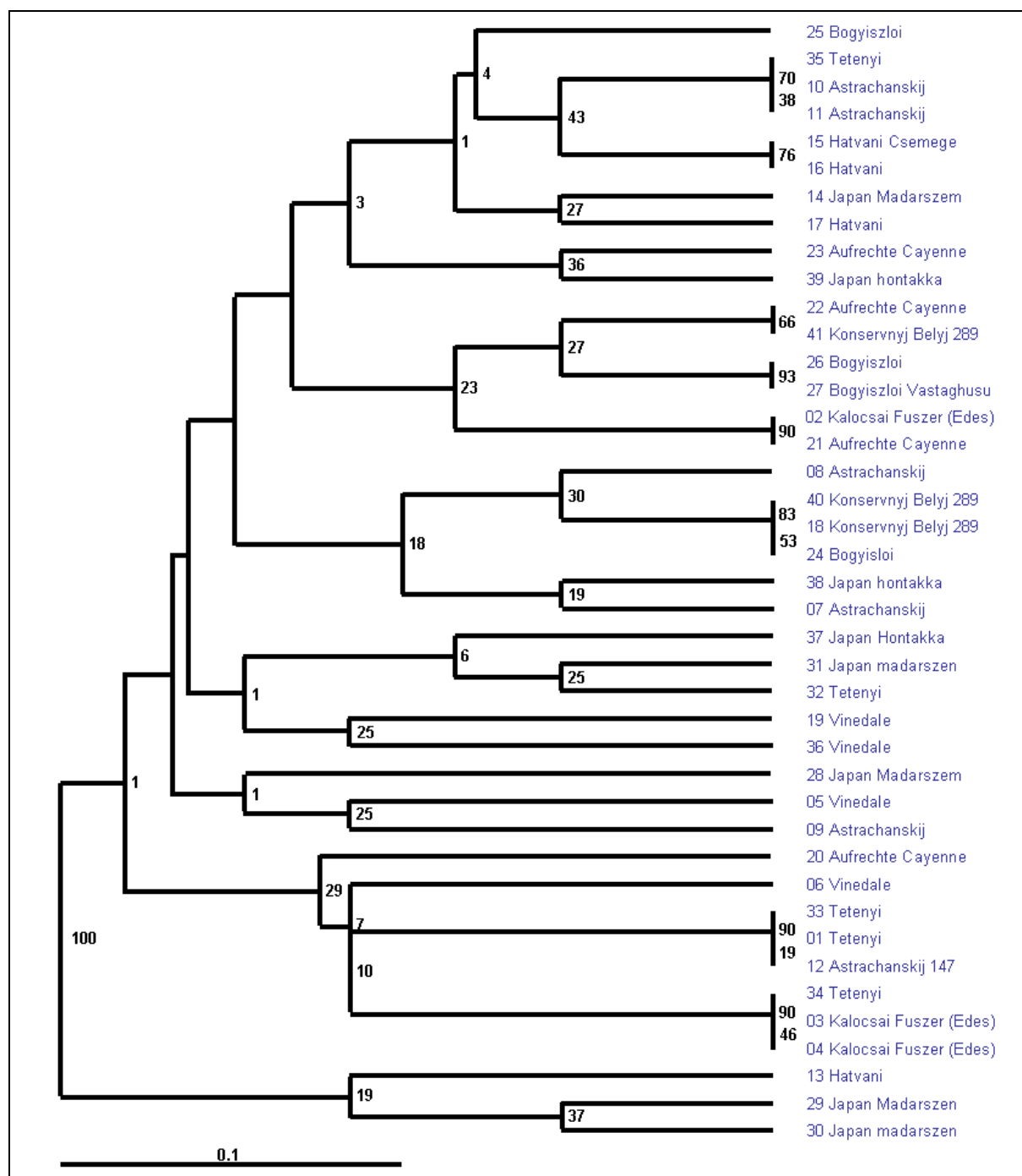
Tab. 3 – Velikost amplifikovaných produktů v bp

SSR marker	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
<i>Hpms 1-1</i>	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270
<i>Hpms 1-5</i>	318	320	308	308	312	318	320	318	312	308	308	318	296	308	318	318	318	318	308	308	320
<i>Hpms 1-168</i>	172	172	172	172	172	172	172	172	172	172	172	172	172	172	172	172	172	172	172	172	172
<i>Hpms 1-172</i>	340	340	340	340	340	340	340	340	340	340	340	340	338	340	340	340	340	340	340	340	340
<i>Hpms 1-274</i>	175	175	175	175	175	175	175	175	175	175	175	175	175	175	175	175	175	175	175	175	175
<i>Hpms 2-21</i>	294	292	294	294	288	292	290	290	296	294	294	294	294	294	294	294	294	290	292	288	292
<i>Cams 163</i>	248	250	248	248	250	248	250	250	250	250	250	248	250	250	250	250	250	250	250	248	250
<i>Cams 647</i>	224	224	218	218	188	218	218	218	218	212	212	224	224	188	212	212	188	224	220	224	224
SSR marker	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	
<i>Hpms 1-1</i>	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	270	
<i>Hpms 1-5</i>	320	310	318	308	320	320	310	308	308	308	308	318	308	308	318	308	308	306	318	320	
<i>Hpms 1-168</i>	172	172	172	172	172	172	172	172	172	172	172	172	172	172	172	172	172	172	172	172	
<i>Hpms 1-172</i>	340	340	340	340	340	340	340	338	338	338	340	340	340	340	340	340	340	340	340	340	
<i>Hpms 1-274</i>	175	175	175	175	175	175	175	175	175	175	175	175	175	175	175	175	175	175	175	175	
<i>Hpms 2-21</i>	294	294	290	294	294	294	270	292	288	288	288	294	294	294	288	266	290	294	290	294	
<i>Cams 163</i>	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	248	248	250	250	250	250	250	250	250	
<i>Cams 647</i>	224	218	224	224	190	190	188	224	224	218	218	224	218	212	220	218	218	218	224	224	

Tab. 4 – DI, PI a PIC SSR markerů

SSR marker	DI index diverzity	PI pravděpodobnost identity	PIC polymorfní informační obsah
<i>Hpms 1-1</i>	0,00	1,00	0,00
<i>Hpms 1-5</i>	0,73	0,10	0,70
<i>Hpms 1-168</i>	0,00	1,00	0,00
<i>Hpms 1-172</i>	0,18	0,69	0,16
<i>Hpms 1-274</i>	0,00	1,00	0,00
<i>Hpms 2-21</i>	0,68	0,09	0,67
<i>Cams 163</i>	0,31	0,52	0,26
<i>Cams 647</i>	0,74	0,04	0,73
Průměr	0,33	0,55	0,32

Tab. 5 – dendrogram podobnosti



Obr. 1 - Postavení plodů genotypu 09H3100243



Obr. 2 – Postavení plodů genotypu 09H3100244



STORAGE PROTEINS AND ABSCISIC ACID IN ZYGOTIC EMBRYOGENESIS OF PEA (*PISUM SATIVUM* L.)

ZÁSOBNÍ PROTEINY A KYSELINA ABSCISOVÁ V ZYGOTICKÉ EMBRYOGENEZI HRACHU SETÉHO (*PISUM SATIVUM* L.)

¹Solnická P., ¹Klemš M., ²Griga M., ¹Havel L.

¹ Department of Plant Biology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

² Agritec Plant Research s.r.o., Zemědělská 16, 787 01 Šumperk, Czech Republic

E-mail: xsolnic0@node.mendelu.cz, klems@mendelu.cz, lhavel@mendelu.cz

ABSTRACT

Our aim was to describe relationship between endogenous content of abscisic acid (ABA) and level of storage proteins in isolated embryos of pea *in vitro*. Decrease the level of ABA and the level of storage proteins through the application of 20 µM flurochloridone in proces of dessication and evoke embryos to germinate. At the conclusion deduce correlation between ABA, storage proteins and germinating in embryos maturation from results. We isolated embryos 9, 15, 22 and 30 days after pollination (DAA) from pea controle plants and with aplication 20µM flurochloridone. Imature and mature embryos were cultivated *in vitro* on MS medium (MURASHIGE and SKOOG 1962) with 30 g sucrose or 80 g sucrose with or without 20 µM flurochloridone and 10 µM ABA. ABA were analysed by RIA (radioimunoanalytic) method (QUARRIE et al. 1988) with using monoclonal antibody MAC 262. SDS polyacrylamide electrophoresis (LAEMMLI 1970) was used for analysing storage proteins. By cultivation of isolated embryos *in vitro* were judged living and germinating of embryos (%). Statistical evaluation (t-Student's test) were used in analyses of ABA and repeated four times. By the help of flurochloridone which decreased level of ABA biosynthesis we observed morphological changes in embryos. Plants with application of flurochloridone had lower level of ABA in embryos and endosperm. For cultivated isolated embryos *in vitro* were characteristic that embryos without cotyledons did germinace more intensively already on medium with adition of flurochloridone. Rippening cotyledonary embryos from control plant had eminently representation of storage proteins with relation to upper level of ABA in maturation. Storage protein deposition were in relation to desiccation governed by the enhancement level of abscisic acid in embryo's tissue and seed.

Key words: pea, embryogenesis, storage protein, abscisic acid, flurochloridone

ÚVOD

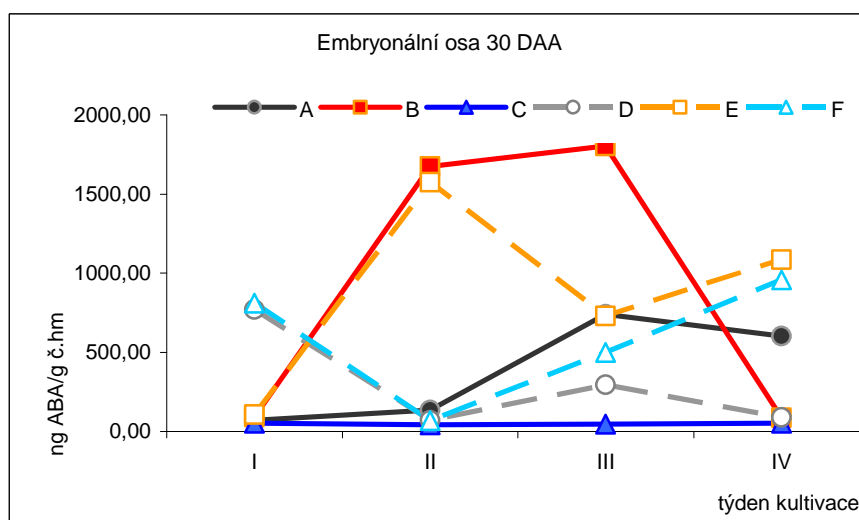
Významným procesem vývoje rostlin je zygotická embryogeneze. Regulace růstu a vývoje embrya je dána interakcemi fytohormonů a genetických dispozic. Vyvíjející se embryo resp. semeno ukládá zásobní látky, které po překonání nepříznivého období k růstu slouží pro počáteční růst klíčící rostliny. Procesy ukládání těchto zásobních látek jsou regulovány aktivitou genů a hormonů, především v období maturace embrya. Cílem bylo studovat růstu a vývoj zygotického embrya hrachu setého (*Pisum sativum* L.) ve vztahu ke změnám obsahu a distribuce kyseliny abscisové. Prostřednictvím aplikace inhibitoru biosyntézy ABA (flurochloridonu) byly modifikovány endogenní hladiny ABA (abscisová kyselina) a sledovány morfologické změny embryí. Dále byla sledována exprese zásobních proteinů v zygotických embryích (a to i po aplikaci flurochloridonu).

MATERIÁL A METODIKA

V experimentu byl použit hrách setý odrůda Oskar, z jehož semen byla izolována embrya v 9, 15, 22 a 30 dnech po rozkvetu (DAA) a embryonální osy (embrya po odstranění děloh) 22 a 30 DAA a použita pro stanovení ABA a zásobních proteinů. Embrya byla kultivována na médiu MS (MURASHIGE and SKOOG 1962) s obsahem 30 g nebo 80 g sacharosy a přídatkem buď 20 μ M flurochloridonu, nebo 10 μ M ABA. ABA byla analyzována pomocí RIA metody (QUARRIE et. al. 1988) pomocí monoklonální protilátky MAC 262 a zásobní proteiny byly analyzovány pomocí SDS polyakrylamidové elektroforézy (LAEMMLI 1970). Při kultivaci izolovaných embryí *in vitro* bylo hodnoceno přežívání embryí a klíčení (%). Ke statistickému hodnocení byl použit t-Studentův test. Statistické hodnocení bylo provedeno v analýzách obsahu ABA ve čtyřech opakováních.

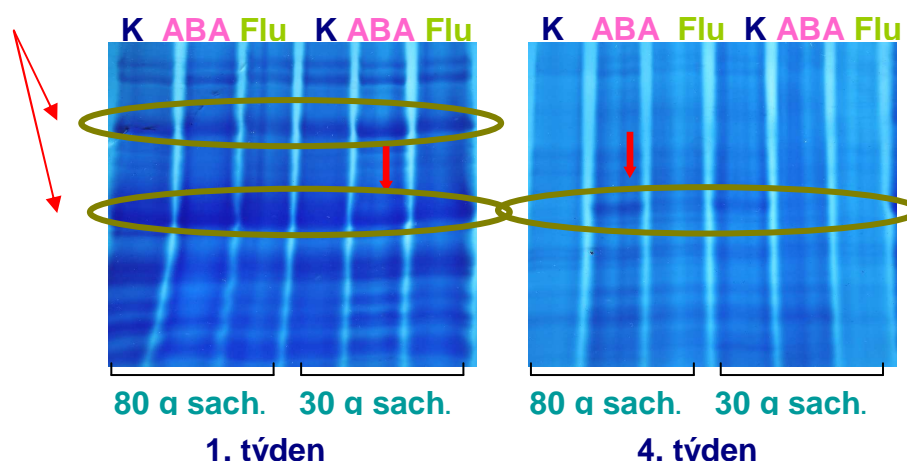
VÝSLEDKY A DISKUZE

Během kultivace izolovaných embryí *in vitro* se dynamicky měnil obsah ABA. Největších změn bylo dosaženo u embryí 9 DAA, která byla nejcitlivější na izolaci. Na médiu s přídatkem flurochloridonu měly vyšší obsah ABA, na rozdíl od embryí 15 DAA, kde se obsah ABA dle předpokladu snížil při kultivaci na médiích s flurochloridonom a zvýšil při kultivaci na médiu s přídatkem ABA navíc vyšší koncentrace sacharosy ještě toto podpořila ve všech třech typech médií s 80 g sacharosy. Kultivace izolovaných embryonálních os 22 DAA vykazovala obdobné rozdíly. Embryonální osy 30 DAA (graf 1) kultivované na médiu s přídatkem flurochloridonu vykazovaly oproti předpokladu zvýšení obsahu ABA. Toto bylo způsobeno prorůstáním osy v klíčící rostlinu.



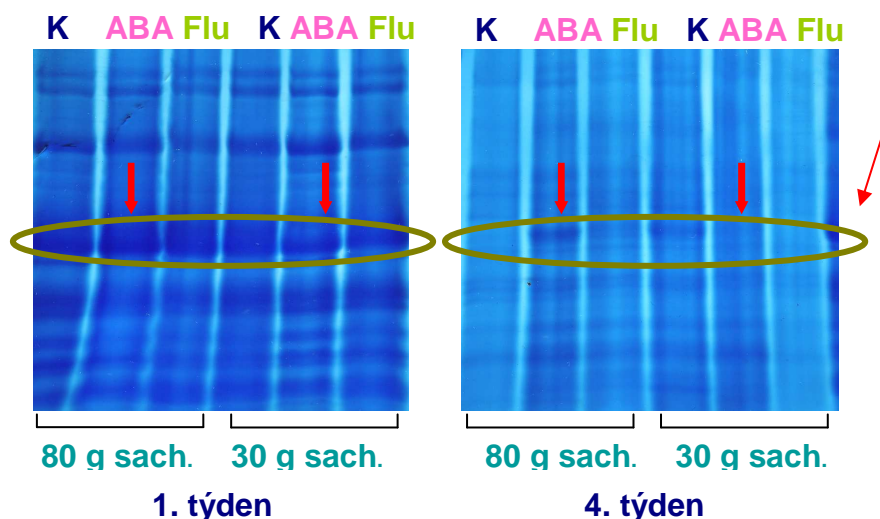
Graf 1 Obsah endogenní ABA v embryonální ose 30 DAA

(Legenda ke grafům 4 a – f: **A** – 80 g sacharosu, **B** – 80 g sacharosu + 10 μM ABA, **C** – 80 g sacharosu + 20 μM flurochloridonu, **D** – 30 g sacharosu, **E** – 30 g sacharosu + 10 μM ABA, **F** – 30 g sacharosu + 20 μM flurochloridonu)



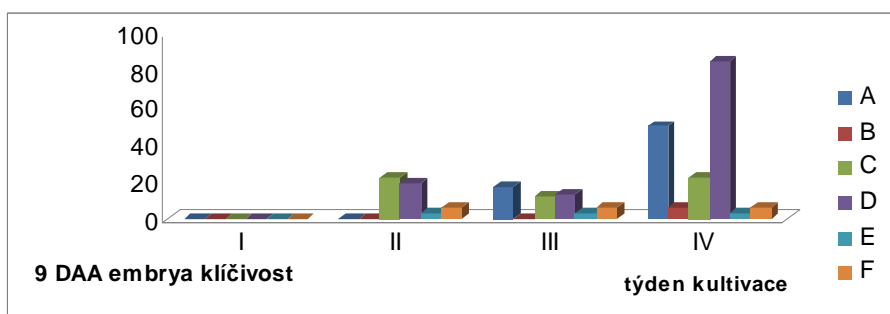
Obr.1 Výřez elektroforeogramu zásobních proteinů embryí 22 DAA

Výsledky elektroforeogramů 150 vzorků embryí (obr. 1) i embryonálních os (obr. 2) kultivovaných v *in vitro* podmínkách ukázaly závislost zastoupení, syntézy a akumulace jednotlivých zásobních proteinů na zvýšení endogenní hladiny ABA. Nezralá embrya 9 a 15 DAA měla menší schopnost klíčit, než embrya 22 DAA a 30 DAA. Zvýšené množství celkových proteinů a exprese zásobních proteinů po expozici na médiích s ABA souhlasí s výsledky SODERMANA et al (2000). Ti uvádějí zvýšení exprese LEA proteinů po exogenní aplikaci ABA při zrání semen *Arabidopsis thaliana*. Ukládání zásobních proteinů bylo ve vztahu k desikaci řízeno zvýšením koncentrace kyseliny abscisové v pletivech embrya a semene, což odpovídá obdobným zjištěním XU a BEWLEY (1995) na embryích vojtěšky.



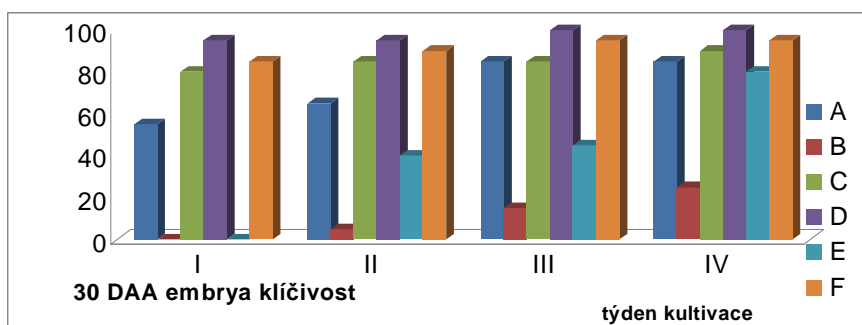
Obr.2 Výřez elektroforeogramu zásobních proteinů embryonálních os 22 DAA

Přídavek ABA nebo flurochloridonu do média klíčivost snížil. Embrya na médiu s 30 g sacharosy měla klíčivost vyšší než na 80 g sacharosy. Izolovaná embrya vykazovala velmi dobré přežívání v podmínkách *in vitro*. Embrya 15, 22 a 30 DAA měla 100% životnost, respektive nulovou mortalitu.



Graf 2 Klíčivost izolovaných embryí 9 DAA *in vitro*

(Legenda ke grafům 4 a – f: **A** – 80 g sacharosy, **B** – 80 g sacharosy + 10 μ M ABA, **C** – 80 g sacharosy + 20 μ M flurochloridon, **D** – 30 g sacharosy, **E** – 30 g sacharosy + 10 μ M ABA, **F** - 30 g sacharosy + 20 μ M flurochloridonu)



Graf 3 Klíčivost izolovaných embryí 30 DAA *in vitro*

(Legenda ke grafům 4 a – f: **A** – 80 g sacharosy, **B** – 80 g sacharosy + 10 μ M ABA, **C** – 80 g sacharosy + 20 μ M flurochloridon, **D** – 30 g sacharosy, **E** – 30 g sacharosy + 10 μ M ABA, **F** - 30 g sacharosy + 20 μ M flurochloridon)

ZÁVĚR

Bylo potvrzeno, že obsah kyseliny abscisové koreluje s obsahem zásobních proteinů obzvláště v pozdějších fázích embryogeneze. Snížení obsahu kyseliny abscisové podpořilo rychlejší klíčení i nezralých embryí v *in vitro* kultivaci. Intaktní embrya i jejich embryonální osy (embrya po amputaci děloh) měly expresi zásobních proteinů kompletní v případě kontrolní varianty, tak i po ošetření ABA. Takováto exprese zásobních proteinů byla typická pro kultivaci na médiích obsahujících 80 g sacharózy i 30 g sacharózy. Po čtyřech týdnech kultivace embryí *in vitro* exprese proteinů neustávala i přesto, že někdy prorostly v klíčící rostliny (embryonální osy – kontrola).

LITERATURA

LAEMMLI, U.K. (1970): Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.

MURASHIGE, T. and SKOOG, F. (1962): A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-97.

QUARRIE, S.A., WHITFORD, P.N., APPLEFORD, N.E.J., WANG, T.L., COOK, S. K., HENSON, L.E. and LOVEYS, B.R. (1988): A monoclonal antibody to (S)-abscisic acid: its characterisation and use in a radioimmunoassay for measuring abscisic acid in crude extracts of cereal and lupine leaves. *Planta* 183: 330-339.

SODERMAN, E.M., BROCARD, I.M., LYNCH, T.J. and FILKENSTEIN, R.R. (2000): Regulation and function of the *Arabidopsis* ABA-insensitive 4 gene in seed and abscisic acid response signaling networks. *Plant. Physiol.* 124:1752-1756.

XU, N. and BEWLEY, J.D. (1995): The role of abscisic acid in germination, storage protein synthesis and desiccation tolerance in alfalfa (*Medicago sativa* L.) seeds, as shown by inhibition of its synthesis by fluridone during development. *J. Exp. Bot.* 46(287): 687-694.

DNA POLYMORPHISM OF DOUBLE - HAPLOID LINES PARENTS INTENDED FOR GENETICAL MAPPING

POLYMORFIZMUS DNA RODIČŮ DIHAPLOIDNÍCH LINIÍ PLÁNOVANÝCH PRO GENETICKÉ MAPOVÁNÍ

¹Ullmannová K., ²Řepková J., ¹Holková L., ¹Chloupek O.

¹ Department of Crop Science, Breeding and Plant Medicine, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

² Department of Genetics and Molecular Biology, Faculty of Science, Masaryk University, Kotlářská 2, 61137, Brno, Czech Republic

E-mail: xullman0@node.mendelu.cz, repkova@sci.muni.cz, holkova@node.mendelu.cz, chloupek@mendelu.cz

ABSTRACT

Study of molecular polymorphism between Derkado and B83-12/21/5 was aim of our study since their segregating progeny (double - haploid lines, DHs) will be used for genetic mapping of loci responsible for seed vigour in barley. Till yet was not identified a locus for this trait in cereals. This population enabled mapping of some traits, including root system size, yield and resistance to diseases. Eighteen SSR (Simple Sequence Repeats) markers were polymorph in comparison of the parents on chromosomes 1H, 5H and 7H. Polymorphism in segregating four CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences) markers was identified by restriction enzymes on 7H chromosome. SSR and CAPS markers were selected using published QTL maps of the population. Markers were detected by agarose gel electrophoresis. We will continue on polyacrylamid-gel which could identity new polymorphism. It is a presumption for genetic mapping, if sufficient variability in the seed vigour of the DHs will be found.

Key words: polymorphism, SSR, CAPS, barley

Acknowledgments: The research was supported by grant IG280061 in cooperation with Department of Genetics and Molecular Biology, Masaryk University, Brno, and by grant VC 1M0570.

ÚVOD

Vitalita klíčivých semen je definována jako potenciál semene pro rychlé a uniformní vzejití a pro vývoj normálního semenáčku za širokého spektra polních podmínek. Hodnotíme ji jako klíčivost za fyziologického sucha -2 bary (bod trvalého vadnutí) a chladu (10 °C). Bylo prokázáno (Chloupek et al. 2003), že vliv odrůdy byl větší v nepříznivých letech, kdy vitalita obiliek činila jen 61 až 86 % než v letech příznivých, kdy přesáhla 94 %. Vitalita nebyla jednoznačně korelována s klíčivostí, ale souvisela s rychlostí vzházení na poli ($r = 0,50$ až $0,54$).

U *Arabidopsis thaliana* byly identifikovány lokusy kvantitativních genů (QTL - quantitative trait loci) pro klíčivost (Malmberg et al. 2005) i vitalitu (Clerkx et al. 2004) a byl popsán společný lokus pro klíčivost a počáteční růst (Argyris et al. 2005). U obilovin QTL pro vitalitu zatím identifikovány nebyly. Dá se očekávat, že výskyt polymorfizmu spojený s odlišnými alelami odpovídajících genů, by mohl být ve vztahu s geny případně QTL odpovědnými za odolnost vůči abiotickým stresům, jmenovitě vůči chladu a suchu (Chloupek et al. 2003). Doposud známé QTL odpovědné za rezistenci vůči chladu a suchu se u ječmene nacházejí převážně na chromozomech 1H, 5H, 6H, 7H (Cattivelli et al. 2002).

Obecně se při identifikaci kvalitativních genů i polygenů, determinujících šlechtitelsky významné znaky s výhodou využívá genetické mapování prostřednictvím DNA markerů. Lokalizace genů do genetické mapy umožňuje určit, zda byly detekovány nové geny/lokusy, identifikovat markery v různě silné vazbě se studovanými geny a určit, s jakými dalšími geny jsou tyto geneticky vázány. Využití DNA markerů je založeno na polymorfizmu, tedy variabilitě v sekvencích DNA. Na DNA markery lze pohlížet jako na mendelistické znaky, a proto je výhodou použití kodominantních DNA markerů umožňujících odlišení heterozygotů od dominantních homozygotů. DNA markery musí mít častý a rovnoměrný výskyt v genomu, aby mohly být nalezeny markery v co nejtěsnější vazbě se sledovaným genem. Podle cíle a rozsahu studované problematiky je potřeba zvolit vždy ten nejvhodnější typ DNA markerů. Markery založené na PCR (Polymerase Chain Reaction) jsou RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), SSR (Simple Sequence Repeats), STS (Sequence Tagged Site), SNAP (Single-Nucleotide Amplified Polymorphism) a další (Joshi et al 1999). U rostlin se využívají jako nástroje použitelné k tvorbě genetických map, lokalizaci jednotlivých genů a k selekci při šlechtění nových odrůd hospodářských a okrasných plodin.

Z markerů založených na PCR nabyli na důležitosti především markery SSR. Bylo identifikováno a zmapováno 45 markerů SSR na sedmi chromozomech ječmene s využitím dihaploidních linií (Liu et al., 1996). Markery SSR ječmene rozšířil Ramsay et al (2000). Přes sto nových mikrosatelitních markerů bylo zmapovaných v roce 2003 (Li et al. 2003). Byla zkonstruována mapa markerů SSR z šesti genetických map ječmene obsahující 774 lokusů (Varshney et al. 2007).

Pro oblasti genomu s nedostatkem polymorfních repetitivních sekvencí se využívají markery CAPS, které vycházejí z jednonukleotidových polymorfismu detekovatelných štěpením DNA restrikčními enzymy.

SSR

SSR či STR (Short Tandem Repeats) neboli mikrosatelity jsou krátké dva až šest nukleotidů dlouhé motivy, které se tandemově opakují v počtu až 60 repetitivních (Powell et al. 1996). Polymorfismus mikrosatelitní DNA je tak způsoben rozdílným počtem opakování základního motivu. Nejčtenějším motivem genomu ječmene je $(GA)_n$ a $(GT)_n$ (Liu aj., 1996). Je zřejmě způsoben nesprávnou funkcí DNA polymerázy při replikaci repetitivních oblastí. Větší rozdíly jsou způsobeny např. nerovnoměrným crossing-overem. Rozložení některých mikrosatelitů v genomech je konzervativní, což svědčí o jejich funkční významnosti. Primery pro detekci SSR jsou navrženy tak, aby byly komplementární k úsekům hraničícím s daným mikrosatelitem, takže při PCR se amplifikuje krátký úsek DNA zahrnující polymorfní sekvenci. Polymorfismus je pak odhalen na základě rozdílné pozice fragmentů určité velikosti v gelu. Kodominantní charakter markerů SSR umožňuje rozlišit homozygoty od heterozygotů. K dalším výhodám markerů SSR patří nízká výchozí koncentrace DNA a vysoká spolehlivost a reprodukovatelnost výsledků. Jedinou nevýhodou této techniky je požadavek na počáteční znalost sekvence nezbytné k navržení specifických primerů pro PCR. Markery SSR se úspěšně využívají při identifikaci genů rezistence u zemědělských plodin či u modelových organismů pro hlubší pochopení genetiky rostlin i pro rozsáhlé populační studie a mapování genomů.

CAPS

Technika markerů CAPS spojuje výhody analýz PCR a RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism). Za účasti specifických primerů se amplifikuje konkrétní úsek DNA, který je následně štěpen restrikčními endonukleázami pro odhalení polymorfismu v sekvencích DNA. První CAPS markery byly vytvořeny s využitím sekvenčních dat genů na jednom z deseti ramen chromozomů u *Arabidopsis thaliana* (Konieczny a Ausubel, 1993).

Cílem práce bylo vyhodnocení polymorfismu dvou rodičovských linií Derkado a B83-12/21/5 použitých pro dihaploidní linie. Polymorfismus byl sledován u vybraných markerů SSR na chromozomu 1H, 5H a 7H. Po štěpení amplifikovaných produktu restrikčními enzymy byl polymorfismus mezi rodičovskými liniemi sledován u markerů CAPS na chromozomu 7H.

MATERIÁL A METODIKA

Rostlinný materiál

Pro detekci polymorfismu DNA markerů byla izolována DNA z linií jarního ječmene Derkado a B83-12/21/5, které byly využity jako rodičovské komponenty pro vytvoření 156 dihaploidních linií (DH linií).

Izolace DNA

Semena byla vyseta do vlhkého substrátu perlitu s pravidelnou zálivkou. DNA byla izolována z rostlin ve fázi 2. nebo 3. pravého listu. Rostlinný materiál byl nejprve homogenizován ručním mikrohomogenizátorem v tekutém dusíku. Pro vlastní izolaci DNA ječmene byl použit komerční kit Qiagen podle doporučeného protokolu.

DNA markery

Pro detekci polymorfizmu mezi sledovanými rodičovskými liniemi byly použity markery SSR a CAPS, poskytnuté pracovištěm Masarykovy univerzity (MU), Přírodovědecké fakulty, Ústav experimentální biologie, Oddělení genetiky a molekulární biologie a dále markery vybrané na základě předešlých publikací s mapováním DH linií sledovaných rodičů (Chloupek et al. 2006; *obr. 1*). Polymorfizmus markerů SSR byl detekován po PCR s využitím příslušných primerů na horizontální agarózové elektroforéze, na základě rozdílné polohy produktů PCR rodičů. Pro detekci polymorfizmu markerů CAPS bylo potřeba po PCR provést štěpení amplifikovaných produktů restrikčními enzymy.

Polymerázová řetězová reakce

PCR produkty byly amplifikovány v termocykleru Biometra T Gradient v laboratoři MU a následně některé cykly byly optimalizovány pro termocykler Biometra UNO – Termoblock (laboratoř MZLU). PCR reakční směs o objemu 10 µl byla tvořena komponenty: 1) Go Tag Polymeráza, Promega (5 U/µl), 2) 10 x Green Go Tag TM Reaction Buffer, Promega, 3) Deoxynucleotide Mix, Sigma (200µM), 4) Primery syntetizované zakázkově (50pM/µl), 5) Genomová DNA (0,5 – 5 ng), 6) Sterilní destilovaná voda.

Restrikční štěpení CAPS markerů

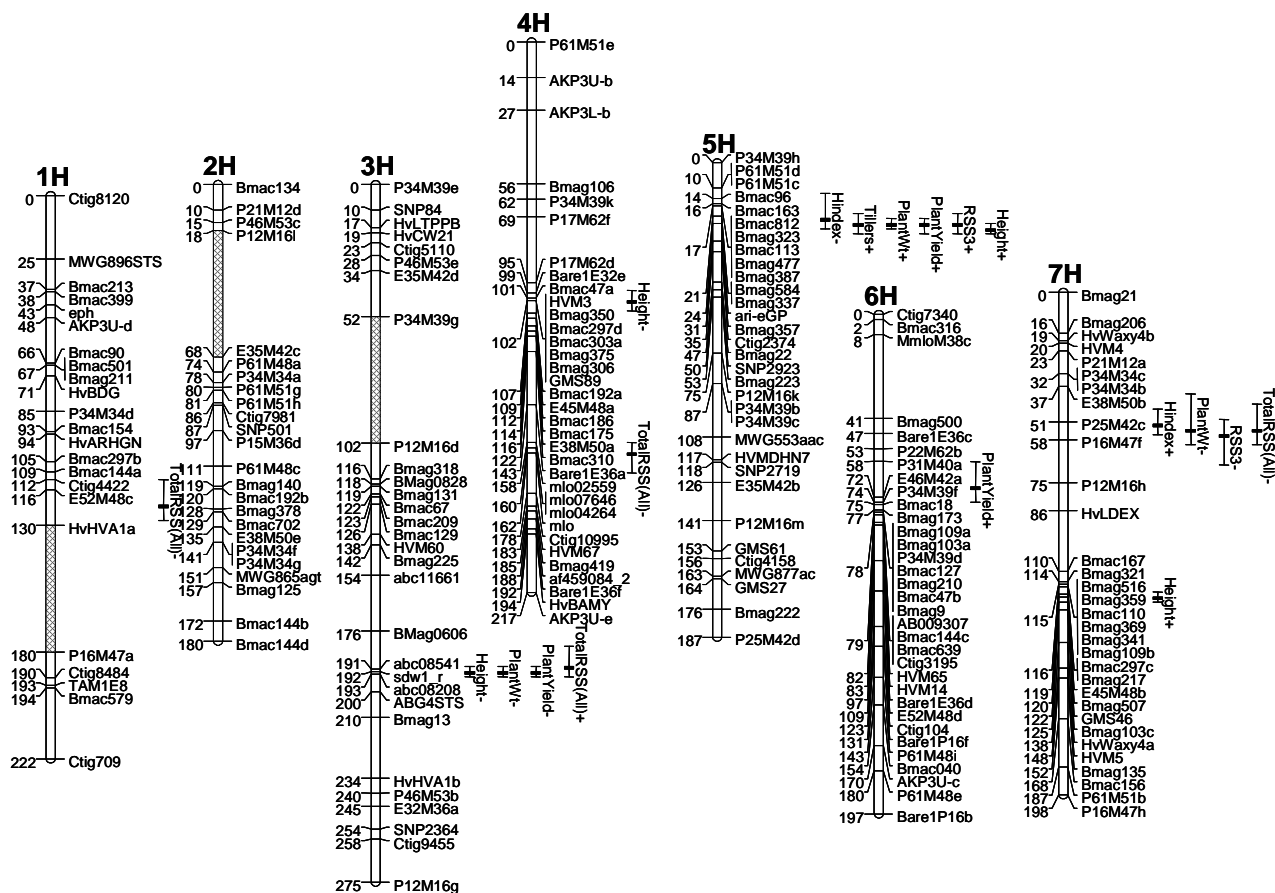
Štěpení produktů PCR pro 6 markerů uvedených v *Tab. 4* bylo provedeno za použití 26 restrikčních enzymů uvedených v *Tab. 4*. Štěpení probíhalo po dobu tří hodin v Thermobloku Biometra při teplotě 37 °C, vyjma enzymu Bcl I (50 °C) a Taq I (65 °C). Elektroforéza v agarózovém gelu

Pro detekci produktu PCR a restrikčního štěpení byla používán 2 % nebo 3 % agarózová (Agaróza I , Ampresco nebo Agaróza, Serva) gelová elektroforéza v prostředí 1x TAE pufru. Pro zviditelnění produktů byl do elektroforetického gelu přidán ethidium bromid. Elektroforéza probíhala při napětí 50 až 90 V po dobu asi jedné a půl hodiny. Gel po elektroforéze byl prosvícen UV transluminátorem a zdokumentován digitálním fotoaparátem Kodak a Olympus. Snímky byly upraveny a popsány v programu Adobe Photoshop 7.0 CE.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Polymorfizmus SSR

Polymorfizmus markerů SSR byl detekován na základě rozdílné pozice produktů PCR mezi sledovanými rodičovskými liniemi (Obr. 2). Pro detekci polymorfizmu mezi odrůdou Derkado a linií B83-12/21/5 na třech chromozomech ječmene bylo použito celkem 92 markerů, na chromozomu 1H bylo sledováno 33 markerů (Tab. 1), na chromozomu 5H 17 markerů (Tab. 2) a nejvíce vysycen byl chromozom 7H s 42 markery (Tab. 3). Celkem bylo polymorfních 18 markerů SSR. Pět markerů na 1H, tři na 5H a 10 na chromozomu 7H. Tab. 5 ukazuje, že na chromozomu 1H bylo polymorfních 15,2 % z celkového počtu markerů sledovaných na tomto chromozomu, na 5H byl detekován polymorfizmus u 17,6 % sledovaných markerů a sledované markery na 7H chromozomu byly z 23,9 % polymorfní. Na chromozomu 1H byly polymorfní markery Bmac0154, WMC1E8, AWBMS80, RGH1a1b, MGB402. Na 5H chromozomu byl prokázán polymorfizmus mezi rodičovskými liniemi u markerů GMS027, Bmag0223 a na chromozomu 7H Bmag0120, Bmac0162, AF022725A, HVM49, Bmac0156, Bmag0135, Bmag0007, EBmag0794, GBM1326, Bmag0206.



Obr. 1: QTL mapa Derkado x B83-12/21/5 populace (Chloupek, Forster, Thomas 2006)

Tab. 1: Seznam analyzovaných markerů SSR na chromozomu 1H ječmene s vyhodnocením polymorfizmu mezi rodiči Derkado x B83-12/21/5.

Marker	Polymorfizmus	Marker	Polymorfizmus
Bmac0090	/	Bmag0504	0
Bmag0211	0	RGH1aI1a	0
Bmag0345	0	RGH1aI1b	1
Bmac0154	1	RGH1aE2I2	0
EBmac0656	0	RGH1aE2a	0
Bmac0063	0	RGH1aE2b	0
WMC1E8	1	RGH1aE2c	0
Bmag0579	0	RGH1aE1	0
HvHA1	0	MGB402	1
EBmac0783	0	UMB505	0
EBmac0501	0	GBM1451	0
Bmag0382	0	GBM1007	0
AWBMS80	1	GBM1042	0
Bmac0032	0	GBM1311	0
Bmac0213	0	UMB502	0
GMS021	0	UMB503	0
Bmac0399	0		

1 – polymorfní, 0 – bez projevu polymorfizmu, / – bez produktu

Tab. 2: Seznam analyzovaných markerů SSR na chromozomu 5H ječmene s vyhodnocením polymorfizmu mezi rodiči Derkado a B83-12/21/5.

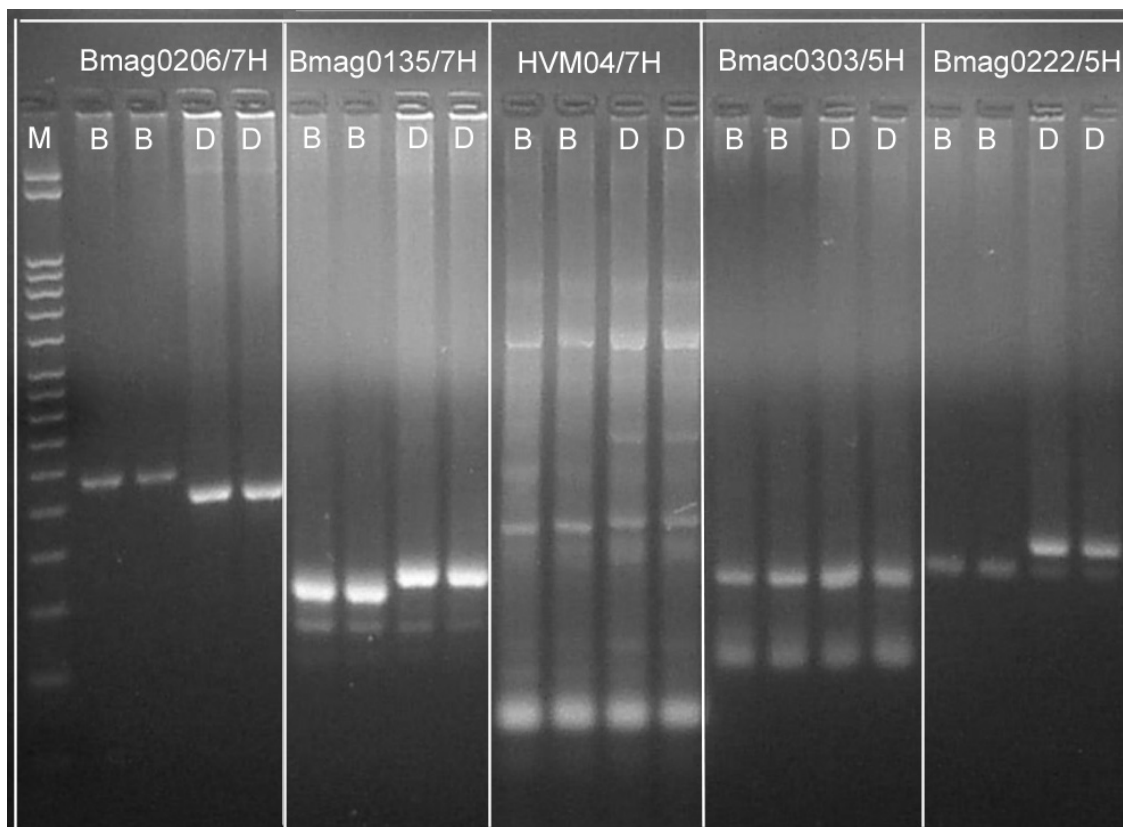
Marker	Polymorfizmus	Marker	Polymorfizmus
Bmac0163	0	Bmac0303	0
EBmac0684	0	Bmag0222	1
Bmag0357	0	GBM1176	0
HvLOX	0	GBM1231	0
HVM30	0	GBM1164	0
EBmac0824	0	EBmatc0003	0
GMS061	0	Bmag0223	1
GMS027	1	Bmac0096	0
GMS001	0		

1 – polymorfní, 0 – bez projevu polymorfizmu, / – bez produktu

Tab. 3 : Seznam analyzovaných markerů SSR na chromozomu 7H ječmene s vyhodnocením polymorfizmu mezi rodiči Derkado x B83-12/21/5.

Marker	Polymorfizmus	Marker	Polymorfizmus
EBmac0603	0	Bmac0582	0
Bmag0120	1	HVPRP1B	0
Bmac0187	0	Bmac0156	1
Bmag0011	0	EBmag0757	0
Bmag0321	0	EBmac0785	0
Bmac0162	1	EBmac0764	0
Bmag0385	0	Bmag0021	/
AF022725A	1	Bmag0507	0
Bmag0341	0	HVM04	0
EBmac0755	0	Bmag0135	1
AWBMS37	0	HvSS1	0
Bmac0224	0	Bmag0007	1
EBmac0827	0	HVPLASC1B	0
Bmag0109	0	EBmag0794	1
Bmag0189	0	UMB108	0
Bmag0217	0	MWG599	0
Bmag0516	0	GBM1326	1
Bmac0064	0	GBM1126	0
Bmac0035	0	GBM1060	0
HVM49	1	Bmag0767	0
HVCMA	0	Bmag0206	1

1 – polymorfní, 0 – bez projevu polymorfizmu, / – bez produktu



Obr. 2: Hodnocení polymorfizmu markerů SSR u rodičů Derkada a B83-12/21/5 na chromozomech 7H a 5H. Agarózový elektroforetický gel zachycující pět SSR markerů. Markery Bmag0206, Bmag0135, Bmag0222 jsou polymorní. U markerů HVM04 a Bmac0303 nebyl u našich sledovaných rodičů zjištěn polymorfizmus. M – velikostní marker, B - B83-12/21/5, D – Derkado.

Polymorfizmus markerů CAPS

Polymorfizmus markerů CAPS byl detekován na základě rozdílné pozice produktu restričního štěpení genotypů Derkado a B83-12/21/5. Bylo analyzováno šest markerů CAPS s využitím 26 restričních enzymů pro každý marker. Ze šesti sledovaných CAPS markerů byly čtyři markery po štěpení restričními enzymy polymorní mezi sledovanými rodiči. Ze 156 restričních štěpení PCR produktů na 7H chromozomu bylo 14 reakcí polymorních. Polymorní štěpení je shrnuto v Tab. 6. U markerů MWG807, MWG2018 nebyl polymorfizmus prokázán po štěpení s žádným z 26 restričních enzymů. Marker CAPS MWG599 byl polymorní při štěpení s pěti enzymy Ava II, Nla III, ScrFI, Taq I, Xho I. Polymorfizmus byl detekován u markeru ABG704 v reakci s enzymem Alu I, BamHI, Hinf I, Nla III, Mbo I. U markeru MWG2062 byl polymorfizmus identifikován po štěpení s enzymy Hpa II, Msp I a marker MWG539 byl štěpen restričními enzymy Msp I a ScrFI. Výsledky těchto reakcí jsou uvedeny v Tab. 4 a ukázka štěpení produktů PCR je znázorněna na Obr. 4. Agarózový gel neštěpených produktů PCR sledovaných markerů CAPS je uveden na Obr. 3.

Tab. 4: Vyhodnocení produktů šesti markerů CAPS po štěpení různými restričními enzymy.

RE/Marker	MWG2062	MWG807	MWG539	MWG599	MWG2018	ABG704
Alu I	0	0	0	0	0	1
Apa I	0	0	0	0	0	0
Ava II	0	0	0	1	0	0
BamHI	0	0	0	0	0	1
Bcl I	0	0	0	0	/	0
Bgl I	0	0	0	0	0	0
Cla I	0	0	0	0	0	0
Dde I	0	0	0	0	0	0
Dpn I	0	0	0	0	0	0
Dra I	0	0	0	0	0	0
EcoRI	/	0	0	0	0	0
EcoRV	0	0	0	0	0	0
Hind III	0	0	0	0	0	0
Hinf I	0	0	0	0	0	1
Hpa II	1	0	0	0	0	0
Mbo I	0	0	/	0	0	1
Mse I	0	0	0	0	0	0
Msp I	1	0	1	0	/	0
Nla III	0	0	0	1	0	1
Pvu II	0	0	0	0	0	0
Rsa I	/	0	0	0	0	0
Sac I	0	0	0	0	0	0
ScrFI	0	0	1	1	0	0
Taq I	0	/	0	1	0	0
Xba I	0	0	0	0	0	0
Xho I	0	0	0	1	0	0

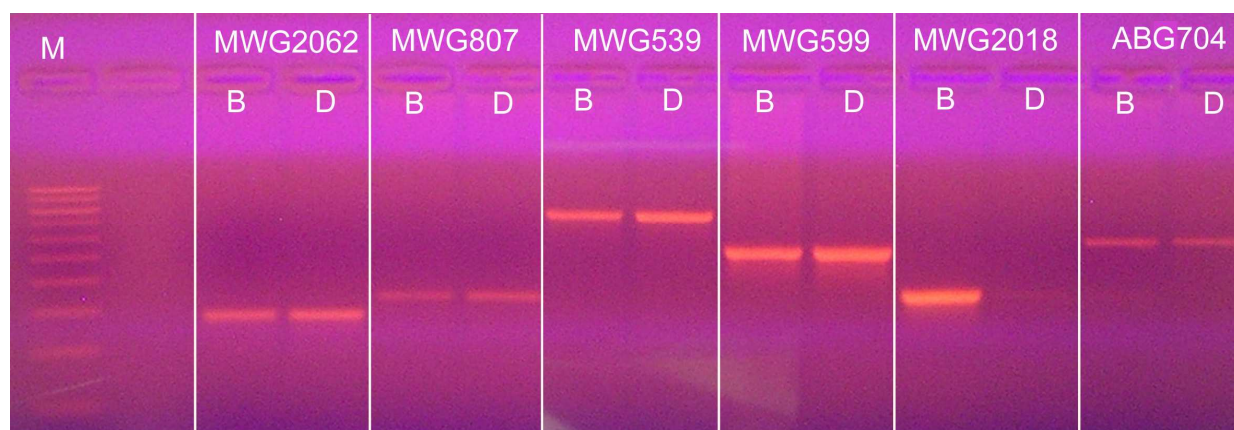
1 – polymorfismus mezi testovanými rodiči, 0 – bez projevu polymorfismu mezi testovanými rodiči, / – nevyhodnotitelný polymorfismus mezi testovanými rodiči

Tab. 5: Shrnutí vyhodnocení polymorfismu pro markery SSR a CAPS u testovaných rodičů.

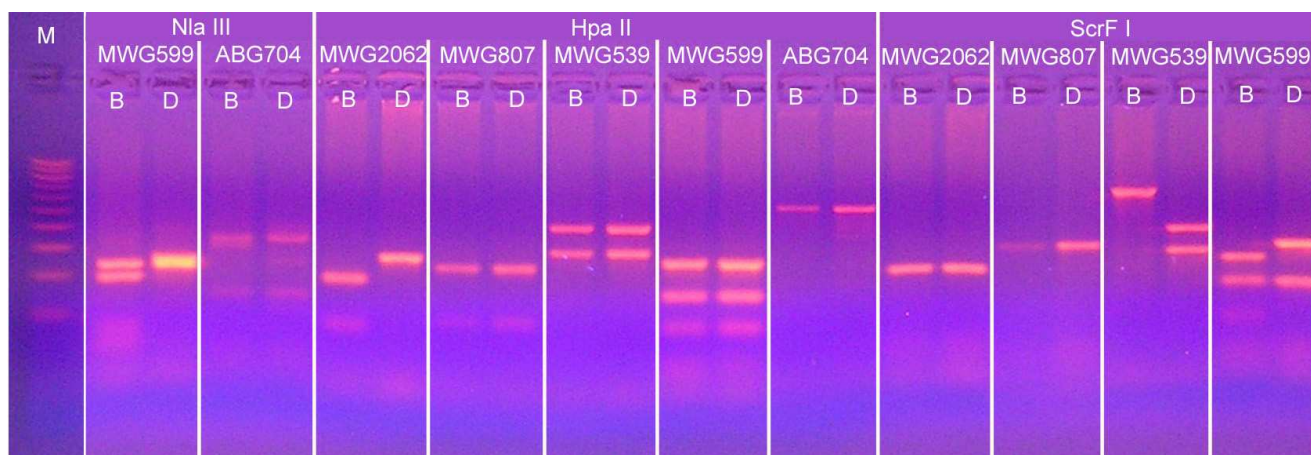
Druh markeru	Chromozom	Počet markerů				
		Polymorfních	Nepolymorfních	Bez produktu	Celkem	% polymorfních
SSR	1H	5	27	1	33	15,16
	5H	3	14	0	17	17,64
	7H	10	31	1	42	23,89
	Celkem	18	72	2	92	
CAPS	7H	4	2	-	6	66,7

Tab. 6: Vyhodnocení detekce polymorfizmu po štěpení restričními enzymy u markerů CAPS na chromozomu 7H.

Marker	Počet štěpení				
	Polymorfních	Nepolymorfních	Bez produktu	Celkem	% polymorfních
MWG2062	2	22	2	26	7,69
MWG807	0	25	1	26	0
MWG539	2	23	1	26	7,69
MWG599	5	21	0	26	19,23
MWG2018	0	24	2	26	0
ABG704	5	21	0	26	19,23
Celkem	14	136	6	156	8,98



Obr. 3: Neštěpené produkty amplifikace šesti markerů CAPS na chromozomu 7H. M - velikostní marker, B - B83-12/21/5, D - Derkado



Obr. 4: Produkty amplifikace štěpení restričními enzymy u markerů CAPS na chromozomu 7H. Polymorfismus po štěpení u sledovaných rodičovských linií byl identifikován u CAPS markeru MWG599 enzymem Nla III a ScrF I, u markeru MWG2062 enzymem Hpa II, markeru MWG539 enzymem ScrFI, u markeru ABG704 byl detekován rovněž polymorfismus s enzymem Nla III (na tomto gelu však špatně rozpoznatelný). M - velikostní marker, B - B83-12/21/5, D – Derkado.

Mikrosatelitní markery jsou často používanou metodou ke genetickým studiím a metodám selekce. Důvodem je jejich častý a rovnoměrný výskyt v genomu rostlin, kodominantní charakter, vysoká míra polymorfismu a snadné laboratorní použití. Markery SSR byly vybrány dle spolupráce s MU Oddělení genetiky a molekulární biologie a podle QTL mapy Derkado x B83-12/21/5 (Chloupek, 2006 et al.). Procento polymorfních markerů SSR u sledovaných rodičovských linií Derkado a B83-12/21/5 na chromozomu 1H bylo 15,2 %, na chromozomu 5H 17,6 % a na chromozomu 7H 23,9 %. Podíl polymorfních markerů z celkového počtu testovaných markerů je nižší než údaje z literatury, kde se průměrný polymorfismus těchto markerů pohybuje v rozmezí od 30 % do 60 % (Liu a kol., 1996, Manninem, 2000, Řepková et al. 2006). Mezi blízkými genotypy je polymorfismus nižší. Při hodnocení polymorfismu dvou různých poddruhů je úroveň polymorfismu vyšší (Řepková et al., 2006). Jedním z důvodů může být, že analýza byla prováděna zatím jen na agarózovém gelu, kde polymorfismus mezi rodiči lišícími se v několika opakováních motivu v genomu ječmene není možno detekovat. Je proto nutné provést analýzu na polyakrylamidovém gelu, který je v tomto ohledu citlivější.

Polymorfismus štěpení u markerů CAPS mezi sledovanými rodiči na chromozomu 7H bylo úspěšné. Ze šesti analyzovaných markerů CAPS byly čtyři markery po štěpení restričními enzymy polymorfní mezi liniemi Derkado a B83-12/21/5. Markery CAPS MWG599 a ABG704 byly polymorfní mezi rodiči při štěpení s 19,2 % analyzovaných restričních enzymů. Polymorfismus po štěpení s enzymy byl detekován u markerů MWG2062 a MWG539 v 7,7 % štěpení. U markerů MWG807 a MWG2018 nebyl polymorfismus prokázán po štěpení s žádným z 26 restričních enzymů.

Zkoumání polymorfizmu by mohlo být rozšířeno o markery SNP (Single Nucleotide Polymorphism), kdy je u dvou alel genu rozdíl jen v jednom nukleotidu. Využívá se AS-PCR (Allele-Specific PCR). Markery SNP jsou u ječmene využívány i při genetických analýzách související se abiotickým stresem (Rostoks et al. 2005).

Podarilo se získat první polymorfní markery u sledovaných rodičů (Derkado a B83-12/21/5) DH linií, které budou po rozšíření použity pro mapování genů spojených s vyšší vitalitou obilek ječmene. U obilovin QTL pro vitalitu zatím identifikovány nebyly. Dá se očekávat, že výskyt polymorfizmu spojený s odlišnými alelami odpovídajících genů by mohl být ve vztahu s geny případně QTL odpovědnými za odolnost vůči abiotickým stresům, jmenovitě vůči chladu a suchu (Chloupek et al. 2003). Doposud známé QTL odpovědné za rezistenci vůči chladu a suchu se u ječmene nacházejí převážně na chromozomech 1H, 5H, 6H, 7H (Cattivelli et al. 2002).

ZÁVĚR

Byly získány první poznatky o úrovni polymorfizmů ve vybraných lokusech mezi rodičovskými liniemi ječmene Derkado x B83-12/21/5. Pro detekci polymorfizmu mezi odrůdou na třech chromozomech ječmene bylo použito celkem 92 markerů SSR. Celkem bylo polymorfních 18 markerů SSR. Pět markerů na chromozomu 1H, tři na 5H a 10 na chromozomu 7H. Ze šesti sledovaných markerů CAPS na chromozomu 7H byly čtyři markery po štěpení restrikčními enzymy polymorfní mezi sledovanými rodičovskými liniemi. Markery, u kterých byl prokázán polymorfizmus, budou po rozšíření dalšími polymorfními markery použity pro mapování genů řídících vitalitu obilek ječmene u dihaploidních linií vzešlých z křížení Derkado x B83-12/21/5. K tomuto účelu jsme v roce 2008 sklídili na dvou lokalitách po 156 DH liniích. Tato populace DH linií již dříve umožnila mapování mnoha znaků, včetně velikosti kořenového systému rostlin, výnosu, rezistence k chorobám (Chloupek et al. 2006). Genetické mapy umožní cílené využití znalostí o lokalizaci QTL pro vitalitu jako významné kritérium ve šlechtění ječmene, pokud bude prokázána postačující proměnlivost vitality u uvedených DH linií těchto rodičů.

LITERATURA

- Argyris J., et al. (2005): Quantitative trait loci associated with seed and seedling traits in *Lactuca*. *Theor. Appl. Genet.* 111: 1365- 1376.
- Cattivelli L. et al. (2002): Chromosome regions and stress-related sequences involved in resistance to abiotic stress in Triticeae. *Plant Mol. Biol.* 48: 649- 665.
- Clerkx et al. (2004): Analysis of natural allelic variation of *Arabidopsis* seed germination and seed longevity traits between the accessions Landsberg erecta and Shakdara, using a new recombinant inbred line population. *Plant Physiol.* 135: 432- 443.
- Chloupek O., Hrstková P., Jurecka D. (2003): Tolerance of barley seed germination to cold- and drought-stress expressed as seed vigour. *Plant Breed.* 122: 199- 203.
- Chloupek O. et al. (2006): The effect of semi – dwarf genes on root system size in field – grown barley. *Theor. Appl. Genet.* 112: 779-786.
- Joshi, S. P; Ranjekar, P. K; Gupta, V. S. (1999): Molecular markers in plant genome analysis. *Current Science* 77 (2): 230- 240.
- Konieczny A., Ausubel F. M. (1993): A procedure for mapping *Arabidopsis* mutations using co-dominant ecotype-specific PCR based markers. *Plant J.* 4: 403-410.
- Liu, Z. W., Biyashev R. M., Maroof M. A. S. (1996): Development of simple sequence repeat DNA markers and their integration into a barley linkage map. *Theoretic and Applied Genetics* 93: 869-876.
- Malmberg RL et al. (2005): Epistasis for fitness-related quantitative traits in *Arabidopsis thaliana* grown in the field and in the greenhouse. *Genetics* 171: 2013-2027.
- Manninen O. (2000): Genetic mapping of traits important in barley breeding. Academic Disertation. University of Helsinki, Department of Biosciences.
- Powell W, Macharay GC, Provan J. (1996): Polymorphism revealed by simple sequence repeats. *Trends Plant Sci* 1: 215-222.
- Ramsay, L; Macaulay, M; Ivanissevich, (2000): A simple sequence repeat-based map of barley. *Genetics* 156: 1997-2005.
- Řepková J., Dreiseitl A., Lízal P., Kyjovská Z., Teturová K., Psočková R., Jahoor A. (2006): Identification of resistance genes against powdery mildew in four accessions of *Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum*. *Euphytica* 151: 23- 30.
- Řepková J., Relichová J. (2001): *Genetika rostlin*. 1. vyd. Brno: Masarykova univerzita Brno, 3489/Př-12/01-17/30: 269.
- Varshney, R. K, Marcel, T. C, Ramsay, et al (2007): A high density barley microsatellite consensus map with 775 SSR loci. *Theoretical Applied Genetics* 114: 1091-1103.

VARIABILITY OF MICROSATELLITE MARKERS IN GENUS THYMUS

VARIABILITA MIKROSATELITNÍCH MARKERŮ U RODU THYMUS

¹Vašíčková Š., ¹Vejl P., ²Dušková E., ²Dušek K., ¹Čílová D., ¹Vašek J.

¹ Department of Genetics and Breeding, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 - Suchbátov, Czech Republic

² Crop Research Institute, Šlechtitelů 11, 783 71, Olomouc – Holič, Czech Republic

E-mail: vasickovas@af.czu.cz , vejl@af.czu.cz, dusek@genobanka.cz

ABSTRACT

The genus *Thymus* (*Lamiaceae*) is taxonomically a very complex genus with a high frequency of hybridization and introgression among sympatric species. Co-dominant molecular markers provide an important tool for studies on mating patterns and breeding systems. Here we evaluated genetic diversity of different *Thymus* species (*Thymus serpyllum* L. emend. Miller, *Thymus praecox* Opiz., *Thymus pulegioides* L., *Thymus pulegioides* L. subsp. *chamaedrys* (Fries) Gusul., *Thymus valesciacus*, *Thymus pulcherrimus* subsp. *sudeticus* (Lyka) P. A. Schmidt) by using 3 co-dominant SSR markers pursuant witch we analyzed locus E089, D347 and D257. It was detected 36 polymorphic alleles in 37 plants. The frequency of polymorphic alleles for each species population was obtained. In 3 individual plants we established more than 2 alleles at least in one locus. Similarity relationships between populations were described graphically by a dendrogram, which clustered the three populations with the TFPGA (tools for population genetic analysis) program (Miller). The statistical relation between population size and the number of polymorphic alleles was verified.

Key words: SSR, genetic diversity, *Thymus*, TFPGA.

Acknowledgments: This work was supported by the grant from Czech university of Life science Prague in project “Molecular characterization and *in vitro* cultivation of genus *Thymus* and *Plantago*”. We would also like to acknowledge Crop Research Institute, Division of Vegetables and Special Crops – Olomouc, which took part with project number NAZV : EP 7199 “Selection of native medicinal and aromatic ecotypes, the propagation technology recommendation and introduction into chosen localities”.

ÚVOD

Rod *Thymus* patří mezi léčivé rostliny známé, cíleně pěstované a využívané od antických dob (STAHL-BISKUPS & SAÉZ, 2002). Dlouhodobě byl komerčně využíván nejen pro léčebné účinky v humánní medicíně, ale také ke konzervování potravin a jako kuchyňské koření (CASTLEMAN, 2004). Obsah účinných látek, zejména silice a v ní obsažených složek thymol, karvakrol, linalool, p-cymene, borneol, geraniol předurčují antiseptické účinky. Rod *Thymus* je rozšířený po celém světě, zejména ve Středomoří (SLAVÍK, 2000). Zahrnuje téměř 350 druhů, ale pouze pět z nich jsou významné z hlediska komerčního využití (LAWRENCE & TUCKER, 2002). I v naší flóře je zastoupen hojně, zejména druhy *Thymus vulgaris* L., *Thymus pulegioides* L., *Thymus alpestris* Tausch ex A.J.Kerner, *Thymus serpyllum* L. emend. Miller, *Thymus praecox* Opiz. a další (DOSTÁL, 1989). Mezi zástupci tohoto rodu můžeme nalézt rostliny polyploidní i gynodioické (BRIGGS a WALTERS, 2001). Empirické studie založené na pozorování polyploidů vyžadují znalosti jejich způsobu dědičnosti. Druhy s předpokládaným allopolyploidním původem vykazují disomickou dědičnost, při které je segregace chromozomů stejná jako u nehomologních párů chromozomů u diploida. Naproti tomu, autopolyploidi formují během meiózy multivalenty, z čehož vyplývá polysomická dědičnost (LANDERGOTT et al., 2006). V poslední době byla zaměřena pozornost na evoluci pohlavních rozmnožovacích systémů a na efekty spojené s polyploidizací, změnami v kompatibilitě, určení pohlaví a inbrední depresi (PANNELL, 2004). Jako vhodný molekulární genetický nástroj pro studium složitých rozmnožovacích systémů a spontánních křížení se jeví použití kodominantních mikrosatelitních markerů s vysokou diverzitou alel (BERGLUND et al., 2006). Mikrosatelitní DNA (SSR – Simple Sequence Repeat) jsou krátké (1-5 bp), uniformě se opakující motivy nukleotidů v počtu několika desítek až tisíců párů bází. Markery založené na mikrosatelitech mají řadu předností, mezi něž patří vysoký stupeň polymorfismu (LI et al., 2002), rovnoměrné zastoupení v celém genomu (JAKŠE et al., 2001), vykazují kodominanci a vyžadují nepatrné množství analyzované DNA.

MATERIÁL A METODIKA

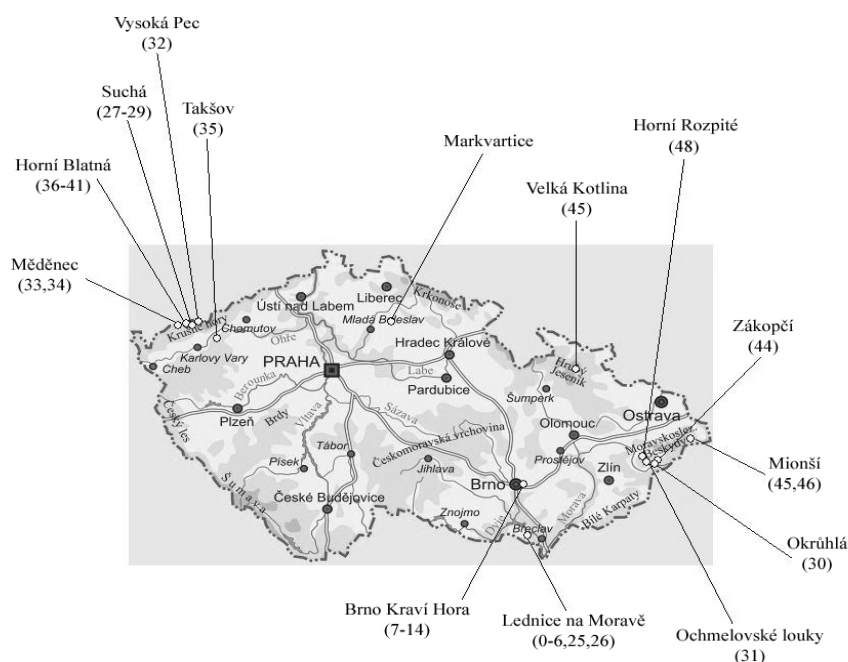
Rostlinný materiál

Bylo hodnoceno 37 genotypů, jejichž původ a označení uvádí Tab. 1 a Obr.1. Zástupci jednotlivých druhů byli odebráni z kolekce rodu *Thymus*, která je udržovaná na pracovišti VÚRV, v.v.i., Oddělení zelenin a speciálních plodin Olomouc, která vznikala postupně v rámci sběrových expedic při řešení projektů NAZV: "Mapování, konzervace a monitorování genofondu mizejících krajových forem kulturních rostlin a jejich planých příbuzných druhů", "Výběr ekotypů domácích léčivých a kořeninových rostlin" a individuálních, které měly za cíl soustředit rostlinný i semenný materiál z přesně určené lokality v ČR. Navštívené lokality se přesně zaměřovaly pomocí navigace GPS, takže se dají zpětně navštívit a identifikovat včetně možnosti opakovaných odběrů vegetativních i generativních částí vytipovaných genotypů rodu *Thymus*. Jednotlivé druhy byly taxonomicky zařazeny botanikem Jaroslavem Čápem v roce 2000. Od té doby jsou uchovávány v polní kolekci bez izolátorů.

Tab. 1 Původ a označení jednotlivých druhů rodu *Thymus*

Název	Číslo vzorku	Lokalita
<i>Thymus valesciacus</i> (2n = ?)	0-6	MZLU, Lednice na Moravě- Osivo získáno od holandské firmy Mark Plaza
<i>Thymus pulegioides</i> L. subsp. <i>chamaedrys</i> (Fries) Gusul. (2n = 28)	7-14	MZLU, Lednice na Moravě- Osivo získáno ze Střediska léčivých rostlin LF MU na Kraví Hoře v Brně
<i>T.praecox</i> Opiz (2n = 54)	25,26	MZLU, Lednice na Moravě
<i>T.pulegioides</i> L. (2n = 28)	33,34	Sběr-Krušné Hory 1998, Měděnec
<i>T.pulegioides</i> L. (2n = 28)	36-41	Sběr- Krušné hory 1998, Horní Blatná
<i>T.serpyllum</i> L. emend. Miller (2n = 24)	27-29	Sběr-Krušné Hory 1998, Suchá
<i>T. pulegioides</i> L. (2n = 28)	35	Sběr-Krušné Hory 1998, Doupovské vrchy, Takšov
<i>T.pulegioides</i> L. (2n = 28)	31	Sběr-BESKYDY 1999, Vsetínské vrchy, Ochmelovské louky
<i>T.pulegioides</i> L. (2n = 28)	30	Sběr- BESKYDY 1999 ,Vsetínské vrchy, Okružlá
<i>T. pulegioides</i> L. (2n = 28)	44	Sběr- BESKYDY 1999,Vsetínské vrchy, Zákopčí
<i>T. pulegioides</i> L. (2n = 28)	46,47	Sběr-BESKYDY 1999,Moravskoslezské Beskydy, Mionší
<i>T. pulegioides</i> L. (2n = 28)	48	Sběr-BESKYDY 1999,Moravskoslezské Beskydy,Horní Rozpité
<i>Thymus pulcherrimus</i> subsp. <i>sudeticus</i> (Lyka) P. A. Schmidt (2n = 30)	45	Sběr- JESENÍKY 2000, Velká Kotlina
<i>T.pulegioides</i> L. (2n = 28)	32	Sběr-Krušné hory 1998, Vysoká Pec

Obr 1. Původní lokality hodnocených zástupců rodu *Thymus*



Izolace, amplifikace a separace DNA

Izolace byla provedena pomocí izolační sady DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Německo). Z důvodu vysokého obsahu inhibičních látek byl postup byl modifikován dle LANDERGOTTA *et al.* (2006). Variabilita byla testována pomocí tří mikrosatelitních markerů navržených LANDERGOTTEM *et al.* (2006) pro druh *Thymus praecox* Opiz. Byla hodnocena variabilita lokusů D347, D257, E089. Optimalizovaná PCR amplifikace probíhala následovně:

Mikrosatelitní marker E089 - reakční směs o objemu 12,5 µl obsahovala 2 ng genomické DNA, 0,5 U *Taq* polymerázy (Fermentas) a 5 µg hovězího albuminu BSA (Sigma). Koncentrace ostatních komponent reakce byla následující: 10 mM Tris-HCl (pH 8,8), 50 mM KCl, 0,08 % Nonidet P40, 1,5 mM MgCl₂, 0,16 mM dNTP, 0,7 µM primer E089-F, 0,2 µM primer E089-R, 0,2 mM tetramethyl amonium oxalát (TopBio).

Mikrosatelitní marker D257 - reakční směs o objemu 12,5 µl obsahovala 2 ng genomické DNA, 0,5 U *Taq* polymerázy (Fermentas) a 5 µg hovězího albuminu BSA (Sigma). Koncentrace ostatních komponent reakce byla následující: 10 mM Tris-HCl (pH 8,8), 50 mM KCl, 0,08 % Nonidet P40, 1,5 mM MgCl₂, 0,16 mM dNTP, 0,6 µM primer D257-F, 0,2 µM primer D257-R, 0,2 mM tetramethyl amonium oxalát (TopBio).

Mikrosatelitní marker D347 - reakční směs o objemu 12,5 µl obsahovala 2 ng genomické DNA, 0,5 U *Taq* polymerázy (Fermentas) a 5 µg hovězího albuminu BSA (Sigma). Koncentrace ostatních komponent reakce byla následující: 10 mM Tris-HCl (pH 8,8), 50 mM KCl, 0,08 % Nonidet P40, 1,8 mM MgCl₂, 0,16 mM dNTP, 1,1 µM primer D347-F, 0,7 µM primer D347-R, 0,2 mM tetramethyl amonium oxalát (TopBio).

Amplifikace markerů proběhla v termocykleru DNA Engine (Bio-Rad, USA) v těchto krocích: počáteční denaturace při 95 °C po dobu 3 minut, 35 cyklů se opakovaly fáze denaturace při 94 °C 35 s, annealingu při 57,5 °C 85 s pro lokus D257, při 51 °C 85 s pro lokus D347 a 46 °C 65 s pro E 089 a následovala osmi sekundová elongace při 72 °C pro D257 a E089, a čtrnácti sekundová elongace pro D347. Finální elongace proběhla při 72 °C a trvala 15 minut. Optimální annelační teplota každého primeru byla zjišťována pomocí teplotního gradientu. Separace vzorků byla provedena na vertikální elektroforetické cele Sequi – Gene II (Bio-Rad, USA) v 6% denaturačním akrylamidovém gelu (8M močovina) v 1x TBE pufru. Amplifikované vzorky byly upraveny dle BENBOUZA *et al.* (2006) a podrobeny denuraci po dobu 5 minut při 94 °C. Separace vzorků probíhala 1,5h při 70 W. Po obarvení dle BENBOUZA *et al.* (2006) byl výsledek zdokumentován a digitalizován pomocí scanneru HP scanjet 4500c (Hewlett-Packard, USA).

Statistické vyhodnocení

Deskriptivní statistika populací byla provedena pomocí programu TFPGA (Tools For Population Genetic Analyses) ver.1.3. Konstrukce dendrogramu byla provedena na základě algoritmu, který publikoval ROGER (1972).

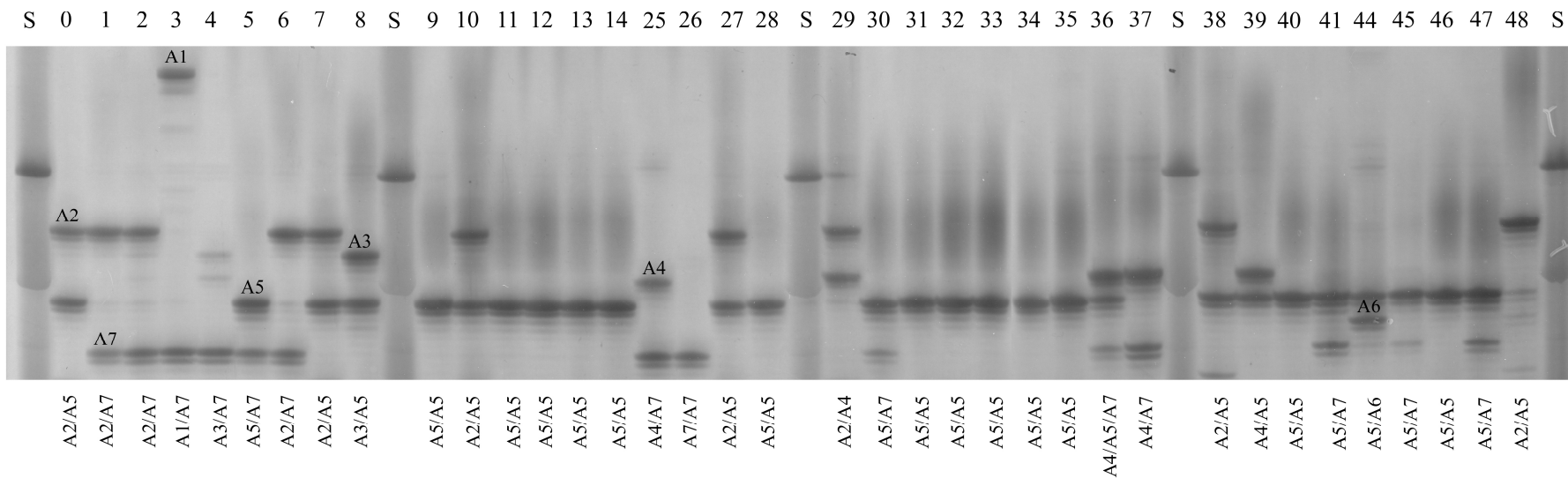
VÝSLEDKY A DISKUZE

Optimalizace amplifikace mikrosatelitních markerů E089, D257 a D347 u rodu *Thymus*

Metodický postup (složení PCR a teplotní a časový profil amplifikace), který pro druh *Thymus praecox* agg. navrhl LANDERGOTT *et al.* (2006) nebylo možné spolehlivě aplikovat. Při použití identických podmínek docházelo k výskytu nescifických amplifikací, netemplátového zabudování bází do amplikonů a tak zvaných „stutter bands“ (SMITH *et al.*, 1995). Z těchto důvodů byla provedena optimalizace složení amplifikačních reakcí i vlastních teplotních podmínek PCR pomocí řady křížových experimentů. Modifikace složení reakční směsi spočívala zejména v přidání tetramethyl amonium oxalátu (0,2 mM). Tato komponenta PCR vykazuje obdobný efekt jako formamid nebo DMSO. Napomáhá například k odstraňování vlásenkových struktur templátové DNA, které bývají způsobeny nejčastěji výskytem GC domén (KOVÁROVÁ a DRÁBER, 2000).

LANDERGOTT *et al.* (2006) uvádí že pro detekci polymorfismů byla použita přímá sekvenace PCR amplikonů. Elektroforetická detekce polymorfních alel 3 mikrosatelitních lokusů u rodu *Thymus* byla spolehlivá a jednoznačná – Obr 2. Rovněž rozpětí velikostí aplikonů 124 – 142 bp u lokusu E089, 73 – 142 u lokusu D257 a 104 - 163 bp u lokusu D347 odpovídá výsledkům, které publikoval LANDERGOTT *et al.* (2006).

Obr 2.: Elektroforeogram alelických sestav mikrosatelitního lokusu E089 – označení a taxonomické zařazení hodnocených genotypů je uvedeno v Tab 1.



S - hmotnostní standard (GeneRuler™ 50 bp DNA Ladder, Fermentas)

Frekvence jedinců s diploidními a polyploidními sestavami alel hodnocených lokusů

Z Tab 1. vyplývá, že pro analýzy bylo použito celkem 37 rostlin, které byly taxonomicky zařazeny do 6 botanických skupin dle druhů, respektive poddruhů. U 34 rostlin byla zjištěna přítomnost vždy pouze dvou alel u všech mikrosatelitních lokusů. U 3 jedinců byl zjištěn výskyt alespoň jednoho lokusu s vyšším počtem alel než 2. Jedná se o následující genotypy:

Thymus valesciacus (A2A7 B6B8B12B14 C8C15)

Thymus pulegioides L. (A4A5A7 B8B13 C3C9C13C14) – Obr. 2 (č.36)

Thymus pulegioides L. (A5A7 B1B6B14 C4C9C10C12).

Je patrné, že ke zvýšení počtu alel došlo pouze u 8,1 % hodnocených rostlin a to pouze u dvou populací. Výskyt 3 respektive 4 variabilních alel alespoň pro jeden genotyp je charakteristický pro všechny tři hodnocené mikrosatelitní lokusy. U druhu *Thymus valesciacus* se nepodařilo zjistit bližší informace o jeho karyotypu. Z provedených molekulárních analýz vyplývá, že u jednoho jedince (vzorek č. 3) zřejmě došlo k alloplloidii – lokus D257 je zde prezentován 4 B alelami. *Thymus pulegioides* L. je diploidní druh ($2n = 28$). U dvou jedinců (vzorky č. 36 a 47) byly zjištěny polyploidní počty a to rovnou ve dvou mikrosatelitních lokusech E089 a D347 respektive D257 a D347. Z porovnání alelických sestav v lokusu D347 (vždy 4 různé C alely) u dvou zástupců *Thymus pulegioides* L. vyplývá možná hypotéza, že tito jedinci vznikli na základě alloplloidie a jedná se tudíž o tetraploidní genotypy. V lokusu E089 respektive D257 se u těchto genotypů vyskytují vždy tři odlišné alely. Přítomnost 3 odlišných alel by teoreticky nasvědčovala možnému triploidnímu genotypu. Tuto hypotézu je však možné spolehlivě vyloučit již zmiňovanou analýzou lokusu D347, který je vždy charakteristický 4 různými C alelami. Přítomnost pouze 3 alel u lokusů D257 respektive E089 si lze vysvětlit tím, že jeden z lokusů je přítomen v homozygotní sestavě a jedná se tudíž rovněž o tetraploidní genotyp.

Provedené genetické analýzy jednoznačně nepotvrdily předpoklad, že *Thymus praecox* Opiz. s karyotypem somatické buňky obsahujícím 54 chromozómů je alloplloidním druhem. Původní hypotéza u tohoto druhu byla taková, že v lokusech by se teoreticky měly vyskytovat 4 různé alely. Pro analýzu byly použity pouze dvě rostliny. Ani u jedné z nich se nepodařilo detekovat více než 2 alely v lokusu. Tetraploidní charakter materiálu však nelze vyloučit z důvodů teoreticky možných homozygotních sestav polyploidních lokusů. Molekulární analýzy jsou podpořeny řadou prací, ve kterých byla mezidruhová hybridizace zkoumána na základě morfologických znaků. V oblastech, kde se stýkají dva nebo více druhů mateřídoušek, dochází velmi často ke křížení. Rozpoznávání hybridů ztěžuje jejich fertilita a zpětné křížení (ČÁP, 1979). Z těchto důvodů lze získané výsledky považovat za originální metodu, která může doplnit řadu taxonomických studií u rodu *Thymus*.

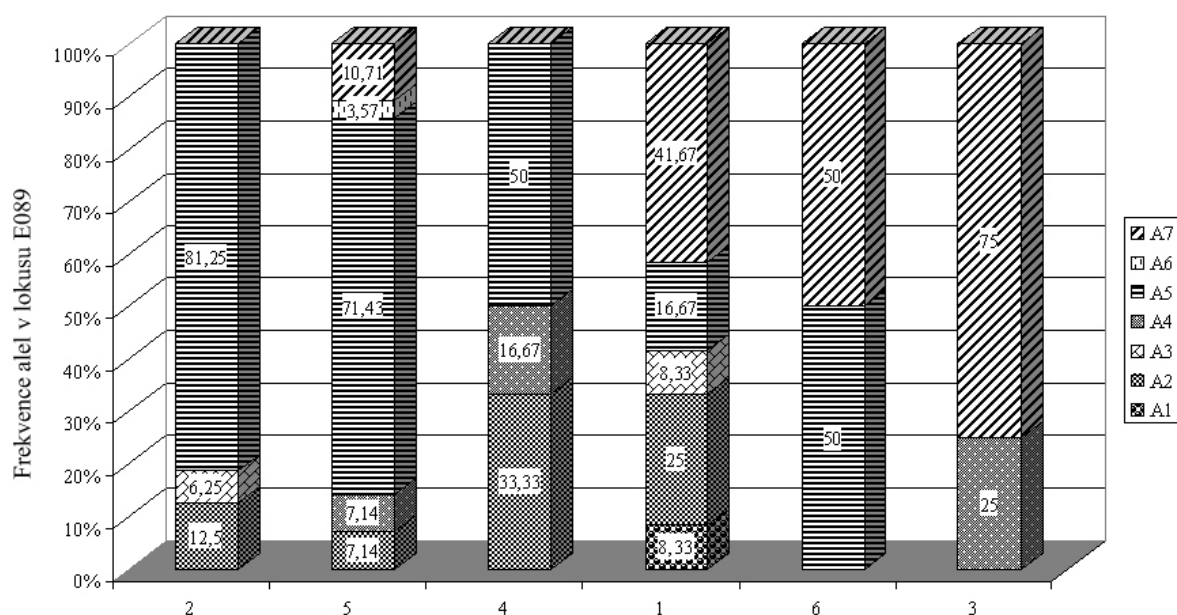
Vzhledem k tomu, že pro studium variability populací rodu *Thymus* byl použit program TFPGA, který nedokáže vzájemně porovnávat diploidní a polyploidní genotypy těže

populace, byly pro následující analýzy použity pouze rostliny s detekovanými dvěma polymorfními alely v jednom lokusu.

Frekvence polymorfních mikrosatelitních alel u jednotlivých populacích

Na následujících grafech je uveden přehled polymorfních alel, které byly detekovány u mikrosatelitních lokusů E089, D257 a D347.

Graf 1. Frekvence alel v mikrosatelitním lokusu E089



2 - *Thymus pulegioides* L. subsp. *chamaedrys* (Fries) Gusul. (2n = 28)

5 - *Thymus pulegioides* L. (2n = 28)

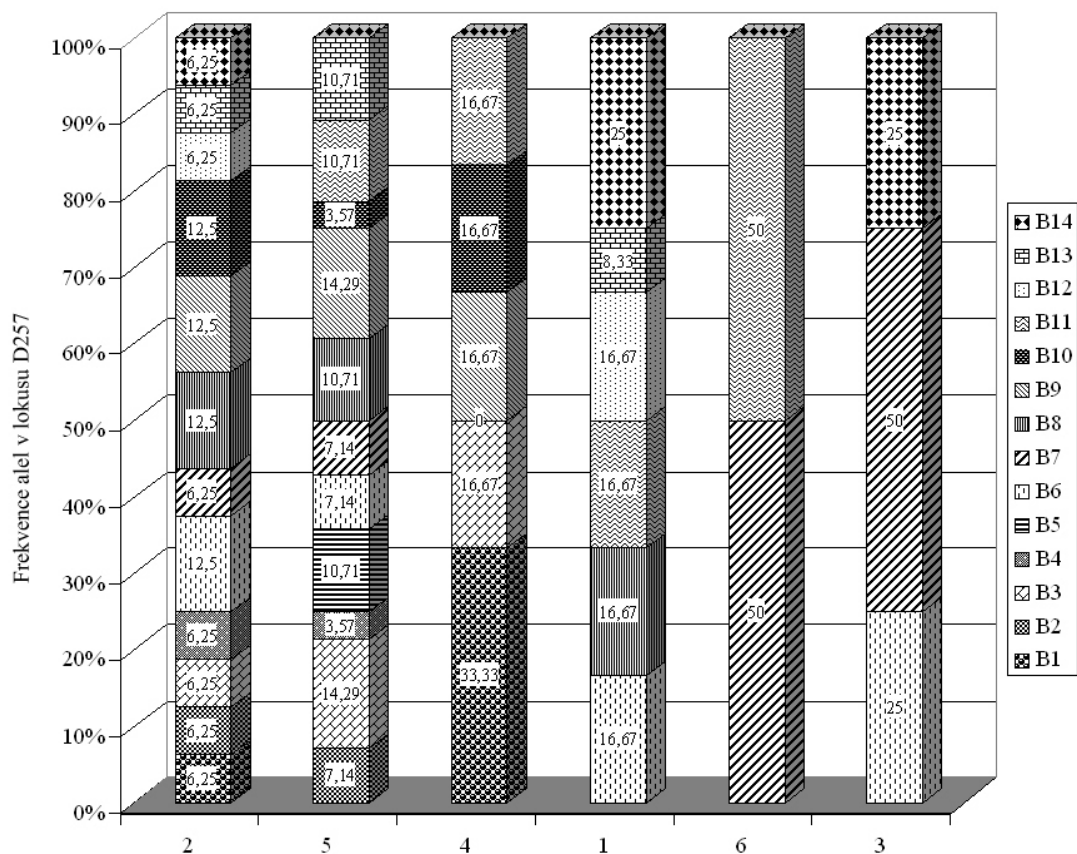
4 - *Thymus serpyllum* emend. Miller (2n = 24)

1 - *Thymus valesiacus* (2n = ?)

6 - *Thymus pulcherrimus* subsp. *sudeticus* (Lyka) P. A. Schmidt (2n = 30)

3 - *Thymus praecox* Opiz (2n = 54)

Graf 2. Frekvence alel v mikrosatelitním lokusu D257



2 - *Thymus pulegioides* L. subsp. *chamaedrys* (Fries) Gusul. (2n = 28)

5 - *Thymus pulegioides* L. (2n = 28)

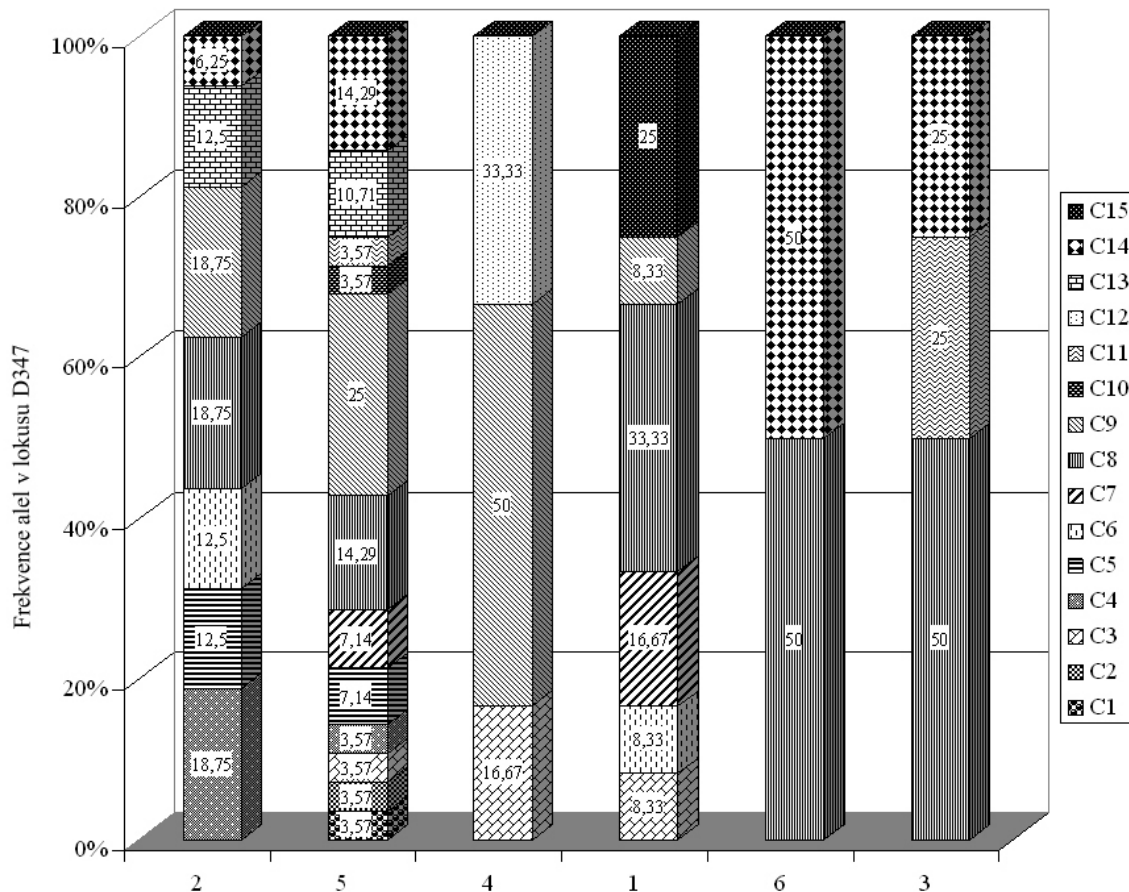
4 - *Thymus serpyllum* emend. Miller (2n = 24)

1 - *Thymus valesciacus* (2n = ?)

6 - *Thymus pulcherrimus* subsp. *sudeticus* (Lyka) P. A. Schmidt (2n = 30)

3 - *Thymus praecox* Opiz (2n = 54)

Graf 3. Frekvence alel v mikrosatelitním lokusu D347



2 - *Thymus pulegioides* L. subsp. *chamaedrys* (Fries) Gusul. (2n = 28)

5 - *Thymus pulegioides* L. (2n = 28)

4 - *Thymus serpyllum* emend. Miller (2n = 24)

1 - *Thymus valesciacus* (2n = ?)

6 - *Thymus pulcherrimus* subsp. *sudeticus* (Lyka) P. A. Schmidt (2n = 30)

3 - *Thymus praecox* Opiz (2n = 54)

Získané výsledky lze diskutovat s počtem alel u jednotlivých lokusů, které navrhli LANDERGOTT *et al.* (2006) při hodnocení 40 genotypů deseti švýcarských populací druhu *Thymus praecox* agg. Počet polymorfních alel nalezených pro tento druh v lokusu E089 byl jen o jednu nižší než u hodnocených šesti populací odlišných druhů a lze tedy konstatovat, že trinukleotidový mikrosatelit E089, se sedmi odlišnými alelami, prokazoval jednoznačně nejnižší variabilitu. Dinukleotidový lokus D257 byl LANDERGOTTEM *et al.* (2006) posuzován ještě s dalšími třemi mikrosatelity, které dohromady poskytovaly 17-24 odlišných alel. Při hodnocení dvou jedinců druhu *T. praecox* Opiz. z ČR byly nalezeny pouze 3 alely a

ze získaných dat je tedy zřejmé, že analýzy jsou ovlivněny počtem hodnocených genotypů. Konečného počtu 14 polymorfních alel pro tento lokus bylo dosaženo zejména díky druhům *T. valesciacus* a *T. pulegioides* L. Nejvyšší stupeň variability prokázal mikrosatelit D347, u kterého zaznamenali LANDERGOTT *et al.* (2006) 39 alel. Počet objevených alel u více druhů byl zhruba poloviční, což vysvětluje fakt, že hodnocené populace byly převážně diploidní, oproti tetraploidním rostlinám *T. praecox* agg.

Frekvence jedinců s homozygotní sestavou alel hodnocených mikrosatelitů

Homozygotní sestava alel v lokusu E089 byla zjištěna u 38,24 % všech hodnocených rostlin. Všechny homozygotní sestavy odpovídaly alelické kombinaci A5A5. Homozygotní sestavy byly zjištěny u následujících druhů: *Thymus pulegioides* L. subs. *chamaedrys* (Fries) Gusul., *Thymus pulegioides* L. a *Thymus serpyllum* L. emend. Miller.

Homozygotní sestava alel v lokusu D257 byla detekována u 5,88 % všech hodnocených rostlin. Polovina homozygotů vykazovala alelickou kombinaci B5B5 (*Thymus pulegioides* L.) a druhá polovina kombinaci ale B8B8 (*Thymus pulegioides* L. subs. *chamaedrys* (Fries) Gusul.).

Homozygotní sestava alel v lokusu D347 byla nalezena rovněž u 5,88 % všech hodnocených rostlin. Polovina homozygotů byla charakteristická alelickou sestavou C9C9 a druhá polovina sestavou C12C12. Homozygotní sestavy v tomto lokusu byly zjištěny pouze u botanického druhu *Thymus serpyllum* L. emend. Miller.

Přítomnost dvou homozygotních lokusů byla zjištěna vždy u jednoho zástupce *Thymus pulegioides* L. subs. *chamaedrys* (Fries) Gusul. (genotyp A5A5B8B8C8C13) a *Thymus pulegioides* L. (genotyp A5A5B8B8C11C14). Výskyt homozygotních jedinců ve dvou lokusech pouze u těchto dvou populací lze vysvětlit tím, že obě populace byly zastoupeny největším počtem hodnocených rostlin. Z hlediska původu lze tyto populace považovat za prostorově dostatečně izolované. Rostliny *Thymus pulegioides* L. subs. *chamaedrys* (Fries) Gusul. pochází z výsevu semen, který byl realizován na LF MU v Brně Kraví Hoře. Druhá populace *Thymus pulegioides* L. byla získána sběrem v několika přirozených lokalitách v oblasti Krušných hor, Doupovských vrchů a Moravskoslezských Beskyd (Obr 1). Z tohoto pohledu lze vyvodit hypotézu, že homozygotní sestava A5A5 mikrosatelitního lokusu E089 by mohla být geneticky konzervovaná u různých poddruhů *Thymus pulegioides* L.

Druhy, u kterých nebyla zjištěna homozygotní sestava alel u žádného ze tří použitých mikrosatelitních markerů jsou následující: *Thymus valesciacus* a *Thymus pulcherrimus* subsp. *sudeticus* Lyka P. A. Schmidt. Tato skutečnost je zajímavá zejména z pohledu druhu *Thymus valesciacus*, u kterého bylo hodnoceno celkem 6 rostlin. Při studiu taxonomické literatury zaměřené na rod *Thymus* nebyly u tohoto druhu získány žádné botanické ani cytogenetické informace, kromě jediného internetového odkazu (<http://www.marktplaza.nl/Thymus-valesciacus-1757703.php>). Jedná se o nabídkový katalog holandské zahradnické firmy Mark Plaza, která se zabývá distribucí okrasných rostlin včetně skalniček a léčivých rostlin. Hodnocených 6 rostlin tohoto druhu pocházelo ze sbírek MZLU ZF v Lednici na Moravě. Z *Grafu 1*, *Grafu 2* a *Grafu 3* vyplývá, že v lokusu E089 bylo detekováno 5 polymorfních alel, v lokusu D257 6 polymorfních alel a v lokusu D347 rovněž 6 polymorfních alel. Všech 6

jedinců *Thymus valesciacus* bylo možno pomocí těchto markerů vzájemně odlišit. Současně nebyla detekována ani jedna homozygotní sestava, která je charakteristická pro inbrední populace. Z těchto výsledků vyplývá fakt, že rostliny pocházející ze sbírek MZLU ZF v Lednici na Moravě, nepředstavují soubor klonovaných rostlin, které jsou typické pro komerčně množené **skalničky**. Jedná se o geneticky variabilní populaci, u které lze předpokládat pohlavní způsob rozmnožování a šíření.

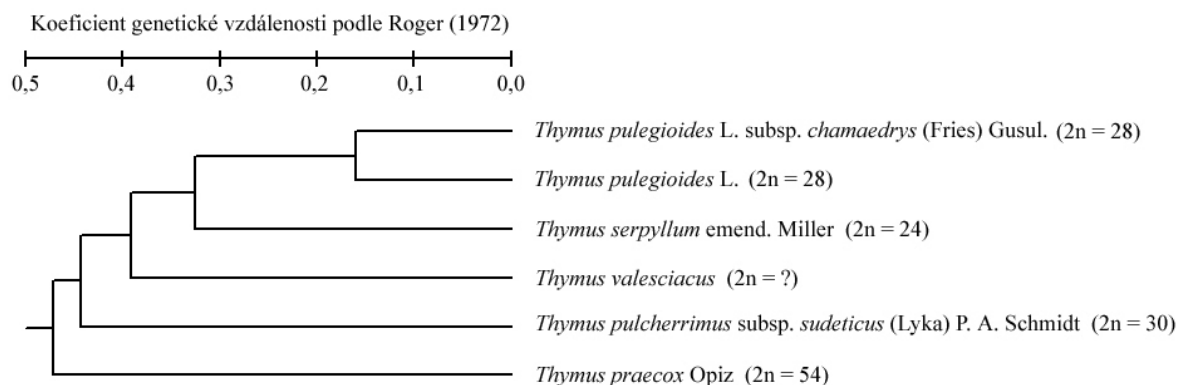
Další druhem, u kterých nebyl zjištěn výskyt žádných homozygotních alelických sestav byl *Thymus pulcherrimus* subsp. *sudeticus* Lyka P. A. Schmidt. Tato skutečnost vyplývá zejména z nízkého počtu hodnocených rostlin – Tab. 1.

U druhu *Thymus praecox* Opiz. byly detekovány vždy dvě alely u každého lokusu, které by teoreticky mohly odpovídat heterozygotní sestavě alel. Z cytogenetických studií u tohoto druhu vyplývá, že se jedná o alloplodní gynodioický druh ($2n = 54$) a proto se lze přiklonit k hypotéze, že se jedná o homozygotní sestavy alel a každá alela je současně v karyotypu reprezentována čtyřmi kopiemi.

Genetické podobnosti mezi hodnocenými druhy rodu *Thymus*

Pro zpracování genetických podobností alelických kombinací v mikrosatelitních lokusech E089, D257 a D347 byl použit program TFPGA. Tento program využívá v molekulární taxonomii a evoluční biologii řada autorů – například Li et al. (2008). Vzájemná podobnost detekovaných genotypů byla stanovena na základě podobnostního koeficientu podle ROGER (1972). Výhodou tohoto algoritmu je, že získaná data jsou hodnocena z pohledu kodominantních mikrosatelitních markerů charakterizujících vždy danou konkrétní populaci – botanický druh. Postup založený na vyhodnocení binární datové matice RAPD polymorfismů, který u léčivých rostlin použili např. PIORO-JABRUCKA et al. (2007) a VAŠÍČKOVÁ et al. (2008), umožnil pouhý odhad genetické podobnosti na základě Diceho podobnostních koeficientů.

Obr. 3. Dendrogram vyjadřující genetické vzdálenosti alelických sestav mikrosatelitních lokusů E089, D257 a D347 u hodnocených zástupců rodu *Thymus*



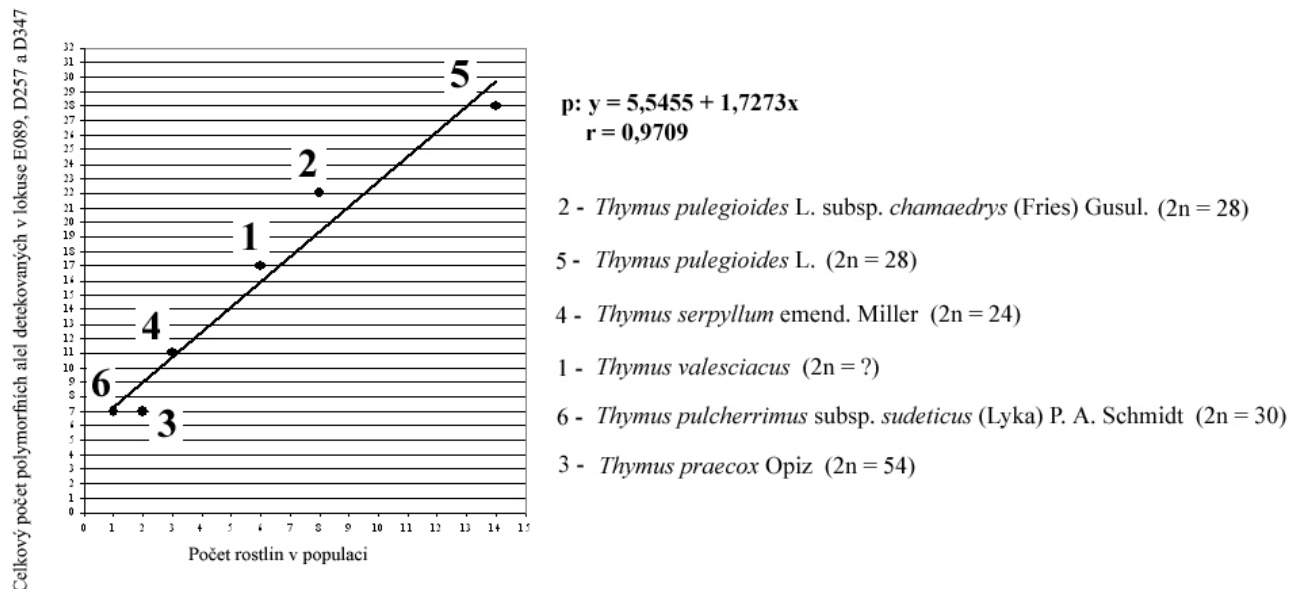
Z dendrogramu vyplývá, že nejmenší genetickou vzdálenost vykazovaly *Thymus pulegioides* L. subs. *chamaedrys* (Fries) Gusul. a *Thymus pulegioides* L. – u kterých byla

hodnota koeficientu podle ROGER (1972) pouze 0,1596. Tento výsledek koreluje rovněž s taxonomickými a cytogenetickými charakteristikami (SLAVÍK *et al.*, 2000). Jedná se o poddruh se shodným karyotypem ($2n = 28$). Další diploidní druh *Thymus serpyllum* L. emend. Miller ($2n = 24$) vykazoval oproti předchozí dvojici druhů genetickou vzdálenost odpovídající koeficientu 0,3914. Největší genetickou vzdálenost od druhů s relativně nízkým počtem chromozómů (*Thymus pulegioides* L. subs. *chamaedrys* (Fries) Gusul. a *Thymus pulegioides* L.) vykazoval *Thymus praecox* Opiz. s $2n = 54$ (SLAVÍK *et al.*, 2000).

Statistické hodnocení závislosti mezi počtem detekovaných polymorfních mikrosatelitních alel a počtem jedinců v populaci

Vztah mezi velikostí populace, biodiverzitou a adaptační schopností byl zkoumán řadou autorů, např. KAENE *et al.* (1999). Výrazné zredukování velikosti populace obvykle okamžitě vyvolává snížení biodiverzity a následné snížení fitness. Tato skutečnost se týká rovněž kolekcí genových zdrojů původních planých druhů, které byly introdukovány z původních lokalit do sbírkových kolekcí genových bank (CHLOUPEK, 2000). Variabilní počet rostlin u jednotlivých hodnocených druhů rodu *Thymus* byl využit jako modelový statistický příklad takovéto situace. Pomocí regresní a korelační analýzy uvedené na *Graf 4*, bylo jednoznačně potvrzeno, že se vzrůstajícím počtem jedinců v populaci vzrůstá i počet alel mikrosatelitních lokusů E089, D257a D347. Zjištěná hodnota korelačního koeficientu $r = 0,9709$ odpovídá velmi těsné závislosti.

Graf 4. Statistické hodnocení závislosti počtu detekovaných mikrosatelitních alel na počtu analyzovaných jedinců



ZÁVĚR

Byla optimalizována amplifikace mikrosatelitních markerů E089, D257 a D347 pro různé druhy rodu *Thymus*. Pro každý lokus byl u 37 genotypů s diploidními a polyploidními sestavami stanoven počet polymorfních alel. U 3 jedinců byl zjištěn výskyt alespoň jednoho lokusu s vyšším počtem alel než 2. Byla zjištěna frekvence polymorfních mikrosatelitních alel u jednotlivých populací. Homozygotní sestava alel v lokusu E089 byla zjištěna u 38,24 % všech hodnocených rostlin. V lokusech D257 a D347 byla detekována u 5,88 % genotypů. Pro zpracování genetických podobností alelických kombinací v mikrosatelitních lokusech E089, D257 a D347 byl použit program TFPGA. Největší genetickou vzdálenost od druhů s relativně nízkým počtem chromozómů (*Thymus pulegioides* L. subs. *chamaedrys* (Fries) Gusul. a *Thymus pulegioides* L.) vykazoval *Thymus praecox* Opiz. s $2n = 54$ (Slavík *et al.*, 2000). Pomocí regresní a korelační analýzy bylo jednoznačně potvrzeno, že se vzrůstajícím počtem jedinců v populaci vzrůstá i počet alel mikrosatelitních lokusů E089, D257 a D347.

LITERATURA

- Barák J., Brouzdal P. (2004): Proč se to nepovedlo tak, jak jsme doufali. *Plant, Soil and Environment*, 40(8): 253-256.
- Benbouza, H., Jacquemin, J. M., Baudoin, J. P., Mergeai, G. (2006): Optimalization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels, *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 10(2): 77 – 81.
- Berglund, A.B.N., Saura A., Westerbergh A. (2006): Electrophoretic evidence for disomic inheritance and allopolyploid origin of the octoploid *Cerastium alpinum* (*Caryophyllaceae*), *Journal of Heredity*, 97(3):296-302.
- Briggs, D., Walters, S.M. (2001): Proměnlivost a evoluce rostlin. Univerzita Palackého v Olomouci, 531 s., ISBN 80-244-0186-X.
- Castleman, M. (2004): Velká kniha léčivých rostlin, Columbus, 524-528p. ISBN 80-7249-177-6.
- Čáp, J.(1979): Klíč k určování československých mateřídoušek, *Zpr. Čs. Bot. Společ.* 14, s 101-108, Praha.
- Dostál, J. (1989): Nová květena ČSSR 2, Academia Praha, ISBN-200-0095-X.
- Chloupek, O. (2000): Genetická diverzita, šlechtění a semenářství. Academia, Praha. 310 s., ISBN 80-200-0779-2.
- Jakše, J., Javornik, B. (2001): High throughput isolation of microsatellites in hop (*Humulus lupulus*. L.), *Plant Molecular Biology Reporter*, 19: 217-226, ISSN 0735-9640.
- Keane, B., Pelikan, S., Toth, G.P., Rogstad, S.H. (1999): Genetic diversity of *Typha latifolia* (*Typhaceae*) and the impact of pollutants examined with tandem repetitive DNA probes, *American Journal of Botany*, 86:1226-1238.
- Kovářová M., Dráber P. (2000): New specificity and yield enhancer of polymerase chain reactions, *Nucleic Acids Res.*, 28(13): e70.
- Landergott, U., Naciri, Y., Schneller, J. J., Holderegger, R.(2006): Allelic configuration and polysomic inheritance of highly variable microsatellites in tetraploid gynodioecious *Thymus praecox* agg., *Theoretical and Applied Genetics*, 113:453-465, ISSN 1432-2242.
- Lawrence, B. A., Tucke,r A. O., (2002): in Stahl-Biskup, E. – Sáez, F. (2002): Thyme, The genus *Thymus*, Taylor a Francis, 252-261p, ISBN 0-415-28488-0.
- Li, XX., Ding, XY., Chu, BH., (2008): Genetic diversity analysis and conservation of the endangered Chinese endemic herb *Dendrobium officinale* Kimura et Migo (*Orchidaceae*) based on AFLP. *Genetica*, 133(2): 159-166.

- Li, Y. Ch., Korol, A. B., Fahima, T., Beiles, A., Nevo, E. (2002): Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review, *Molecular Ecology*, 11:2453-2465, ISSN 1365-294X.
- Pannell, J. R., Obbard D. J., Buggs R. J. A. (2004): Polyploidy and the sexual system: what can we learn from *Mercurialis annua*? *Biological Journal of the Linnean Society*, 82(4): 295.
- Pioro-Jabrucka, E., Suchorska-Tropio, K., Szalacha, E. (2007): Genetic and chemical variability of common thyme (*Thymus pulegioides* L.) and wild thyme (*Tymus serpyllum* L.), *Zeszyty Problemowe Postepow Nauk Rolniczych*, 517:593-601.
- Roger, J. (1972): Measures of genetic similarity and distance, *Studies Genetics VII*, University Texas Publ. (7213), Texas, pp 145-153.
- Slavík, B.(ed.) (2000): Květena České republiky 6.díl, Academia Praha, ISBN 80-200-0306-1.
- Smith J. R., Carpten J. D., Brownstein M. J., Ghosh S., Magnuson V. L., Gilbert D. A., Trent J. M. ,Collins F. S. (1995): Approach to Genotyping Errors Caused by Nontemplated Nucleotide Addition by *Taq* DNA Polymerase, *Genome Res.*, 5: 312-317.
- Stahl-Biskup, E. – Sáez, F. (2002): Thyme ,The genus *Thymus*, Taylor a Francis, 354 s., ISBN 0-415-28488-0.
- Vašíčková, Š., Vejl, P., Zoufalá, J., Česká, J. (2008): Molekulární charakteristika vnitrodruhové variability vybraných botanických taxonů. Hodnotenie genetických zdrojov rasiín pre výživu a poľnohospodárstvo, Piešťany, 6.-7. května 2008, pp 26, ISBN 978-80-88872-74-0.

SEGREGATION ANALYSIS OF AGRICULTURAL IMPORTANT TRAITS OF APPLES

STUDIUM SEGREGACE MARKERŮ HOSPODÁŘSKY VÝZNAMNÝCH ZNAKŮ JABLONÍ

Zoufalá J.¹, Vejl P.¹, Melounová M.¹, Blažek J.², Křelinová J.², Paprštejn F.²

¹ Department of Genetics and Breeding, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 - Suchbøl, Czech Republic

² Research and Breeding Institute of Pomology Holovously., Holovously 1, 508 01, Hořice, Czech Republic

E-mail: zoufala@af.czu.cz, vejl@af.czu.cz

ABSTRACT

Segregation of four PCR markers was tested in this work. There were chosen markers describing red flesh, softening of flash, resistance to scab (*Venturia inaequalis*) and resistance to powdery mildew (*Podosphaera leucotricha*). Segregation of these markers was rated by χ^2 test in four F1 progenies: cross 4 – HL 37 (Florina x *M. robusta*) x Flordika, cross 22 – HL 39 (Florina x *M. robusta*) x Rubinstep, cross 27 HL 804 (FAW 3566 x A 679-2) x HL 39 (Florina x *M. robusta*), cross 21 – HL 423 (Florina x *M. robusta*) x Rubinstep. Cross 4 was already selected by infection tests in a greenhouse. In this cross was detected more dominant homozygotes (51,4 %) and heterozygotes (32,4 %) in *Vf* gene, than was expected. By segregation analysis of *Vf* gene and *Md-ACS1* gene was found, that variety Rubinstep was not fatherly component of crosses 21 and 22. In this segregation analysis was found, that markers of genes *MdMYB10*, *Md-ACS1*, *Vf* and *Pl1* could be used in MAS (marker-assisted selection).

Key words: Apple, segregation analysis, *MdMYB10* gene, *Md-ACS1* gene, *Vf* gene, *Pl1* gene

Acknowledgments: This work was financed by grant Mze ĀR QH 81142.

ÚVOD

Šlechtění jabloní jakožto víceletých dřevin je poměrně náročný a dlouhý proces. Selektce je ztížena především dlouhou juvenilní fází, ve které není možné hodnotit hospodářsky významné vlastnosti. K urychlení a zpřesnění selektce mohou přispět molekulárněgenetické markery, které detekují monogenně řízené vlastnosti (TARTARINI, 2003).

Velké množství markerů využívaných při selekci souvisí s detekcí genů zajišťujících odolnost vůči strupovitosti jabloní (*Venturia inaequalis*). Nejvýznamnější jsou markery genu *Vf*, který je odvozen od botanického druhu *Malus floribunda* klon 821 (TARTARINI *et al.*, 1999). Tento marker využil k hodnocení nových českých odrůd odvozených od donoru *Vf* genu z *Malus floribunda* VEJL *et al.* (2003). VEJL *et al.* (2003) také sledoval segregaci tohoto markeru ve štěpících potomstvech, které byly podrobeny selekci za použití skleníkových infekčních testů. Padlí jabloňové (*Podosphaera leucotricha*) způsobuje značné ekonomické ztráty z důvodu snížení produkce u napadených stromů, snížení kvality a estetické hodnoty plodů. Četné studie odhalily vysokou hladinu rezistence u některých botanických druhů jabloní, a to zejména u *Malus robusta* a *Malus zumi* (JANICK *et al.*, 1996). MARKUSEN *et al.* (1995) navrhl RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) marker, který identifikoval dominantní alelu genu *PII* odvozeného z botanického druhu *Malus robusta*.

Kromě rezistence jabloní vůči významným patogenům patří mezi základní šlechtitelské cíle i kvalita plodů, jejich dobrá skladovatelnost a nutriční hodnotnost (JANICK *et al.*, 1996). Nadměrné měknutí dužniny má vliv na další sensorické vlastnosti plodů, jako pevnost, šřavnatost, křehkost dužniny a zvýšenou moučnatost dužniny (ORAGUZIE *et al.*, 2004). Etylen je klíčový regulátor procesu zrání jablek a omezení jeho biosyntézy je základní mechanismus, zajišťující skladování jablek v prostředí kontrolované atmosféry (HARADA *et al.*, 2000). Některé odrůdy produkují velmi malé množství etylenu během skladování a mohou tak být skladovány při nízké teplotě až jeden rok, aniž by došlo ke zhoršení jejich kvalitativních parametrů (SUNAKO *et al.*, 1999). SUNAKO *et al.* (1999) zjistil, že jedna alela genu pro ACC-syntázu (*Md-ACS*) má v oblasti promotoru inserci. Tuto alelu označil *Md-ACSI-2* a uvádí, že tato inserce v promotoru způsobuje velmi nízkou transkripční aktivitu tohoto genu. HARADA *et al.* (2000) určil odrůdy s homozygotní sestavou alel *Md-ACSI-2*, které produkují jen velmi malé množství etylenu v porovnání s odrůdami s homozygotní sestavou původní alely *Md-ACSI-1*, která má normální transkripční aktivitu. SUNAKO *et al.* (1999) navrhnul PCR (Polymerase Chain Reaction) marker, který detekuje obě alely genu *Md-ACS* pro ACC-syntázu. Tento marker je schopný odlišit homozygotní i heterozygotní sestavu alel. HARADA *et al.* (2000) hodnotil 35 odrůd, které byly sklizeny a umístěny na 12 dní do inkubátoru se stálou teplotou 20 °C. Tyto podmínky zajistily klimakterickou fázi a maximální produkci etylenu. Nejvyšší produkce etylenu dosáhla odrůda Jersey mac s homozygotní sestavou alel *Md-ACSI-1*, zatímco nejnižší syntéza etylenu byla zaznamenána u odrůdy Megumi s homozygotní sestavou alel *Md-ACSI-2*.

Červené zbarvení dužniny je podle průzkumů u konzumentů žádané. Čerstvé ovoce s červenou pigmentací, tedy s obsahem anthokyanů, představuje vynikající zdroj antioxidantů (CHAGNÉ *et al.*, 2007). Barva dužniny je jedna z pomologických charakteristik. Je to znak méně variabilní než barva slupky. Dužnina často není jednobarevná a například cévní svazky mohou být zbarveny výrazněji (DVOŘÁK *et al.*, 1976). Anthokyanová barviva náležejí do skupiny látek sekundárních metabolitů, které se také označují jako flavonoidy. U rostlin zastávají flavonoidy různorodé funkce od obranných, protistresových až po funkci atraktantů pro opylovače (ESPLEY *et al.*, 2006). Odrůdy s výrazně červenou dužninou jsou odvozeny od botanického druhu *M. pumila* var. *Niedzwetzkyana* (DVOŘÁK *et al.*, 1976). Hybridy odvozené od *M. pumila* var. *Niedzwetzkyana* mají s červeným zbarvením dužniny spojené některé nežádoucí vlastnosti jako je malá velikost plodů, rychle měknoucí dužnina a trpká chuť. Úkolem šlechtitelů je získat odrůdy s červenou dužninou, které by postrádali další negativní vlastnosti (CHAGNÉ *et al.*, 2007). CHAGNÉ *et al.* (2007) vyvinul PCR marker, pomocí kterého detekoval dominantní alelu genu *MdMYB10*, který zajišťuje červené zbarvení dužniny a testoval jeho segregaci v hybridních potomstvech.

Cílem této práce bylo hodnocení segregace čtyř zvolených markerů v hybridních potomstvech. Hodnoceny byly markery genu *Vf*, který zajišťuje rezistenci vůči strupovitosti, genu *Pl1* řídicího rezistenci vůči padlí jabloňovému, genu *Md-ACS1*, který má vliv na měknutí dužniny jablek a genu *MdMYB10*, který determinuje červené zbarvení dužniny plodů.

MATERIÁL A METODIKA

Veškerý biologický materiál použitý pro analýzy byl získán ve Výzkumném a šlechtitelském ústavu ovocnářském v Holovousích. Pro hodnocení segregace jednotlivých markerů byla vybrána čtyři hybridní potomstva vzniklá záměrným křížením. Jednalo se o tyto křížení: kombinace 4 – HL 37 (Florina x *M. robusta*) x Flordika, kombinace 22 – HL 39 (Florina x *M. robusta*) x Rubinstep, kombinace 27 HL 804 (FAW 3566 x A 679-2) x HL 39 (Florina x *M. robusta*), kombinace 21 – HL 423 (Florina x *M. robusta*) x Rubinstep. Kvalitní vysokomolekulární DNA byla získána pomocí izolačního kitu DNeasy Plant mini kit firmy Qiagen (SRN). Izolace probíhala podle standardního postupu uváděného výrobcem.

Hodnocení přítomnosti genu MdMYB10

Přítomnost genu *MdMYB10* byla zjišťována pomocí dominantního markeru, který identifikoval CHAGNÉ *et al.* (2007). Přítomnost markeru je charakterizována fragmentem o velikosti 786 bp. Amplifikace tohoto markeru byla optimalizována pomocí teplotního gradientu a také bylo upraveno složení PCR reakce, které uvádí CHAGNÉ *et al.* (2007). Do reakce bylo přidáno BSA (bovinní sérum albumin) a PCR Enhancer (Top-Bio, ČR), který obsahuje 0,1 M tetramethyl ammonium oxalát. Amplifikace byla testována u botanických druhů *M. pumila* var. *Niedzwetzkyana* a *M. robusta*, který byl donorem tohoto genu u testovaných kombinačních křížení. Tyto botanické druhy jabloní jsou donory červeného zbarvení dužniny (CHAGNÉ *et al.*, 2007). Složení PCR reakce pro tento marker a její teplotní profil je shrnut v tabulkách 1 a 2.

Tab. 1 Složení PCR reakce všech analyzovaných markerů v objemu 25 μ l

Marker	dsDNA	PCR pufr	MgCl ₂ (mM)	DNTP (μ M)	Primer F (μ M)	Primer R (μ M)	Taq polymeráza	PCR Enhancer (mM)	BSA (mg)
		Fermentas (Litva)			Proligo (USA)		Fermentas (Litva)	Top-bio (ČR)	
<i>MdMYB10</i>	50 ng	1 x	0,65	100	0,2	0,2	1 U	2,4	2,5
<i>Md-ACSI</i>	50 ng	1 x	2,5	200	0,2	0,2	1,2 U		
<i>Vf</i> gen	50 ng	1 x	1,5	200	0,2	0,2	0,6 U		
<i>PlI</i> gen	10 ng	1 x	2,5	300	1,2		1,2 U		

Analýza *Md-ACSI* genu

Pro hodnocení alelické sestavy *Md-ACSI* genu byl vybrán kodominantní specifický marker. Alela *Md-ACSI-1* s normální transkripční aktivitou je charakterizována přítomností fragmentu o velikosti 489 bp, alela *Md-ACSI-2* s omezenou transkripční aktivitou a nízkou produkcí etylenu je určena přítomností fragmentu o velikosti 655 bp (SUNAKO *et al.*, 1999). ORAGUZIE *et al.* (2004) dále uvádí složení PCR reakce a její průběh, které bylo užito i v této práci a je uvedeno v tabulkách 1 a 2. Teplota nasedání primerů byla optimalizována pomocí teplotního gradientu.

Detekce genu *Vf*

Přítomnost genu *Vf* byla určena pomocí kodominantního markeru navrženého TARTARINI *et al.* (1999). Pro aplikaci tohoto markeru bylo vybráno složení PCR reakce a její průběh, který optimalizoval VEJL *et al.* (2003). Souhrnný teplotní a časový profil je uveden v tabulce 2. Tabulka 1 shrnuje chemické složení PCR reakce pro detekci *Vf* genu.

Hodnocení přítomnosti markeru genu *PlI*

Pro detekci genu *PlI* byl zvolen dominantní RAPD marker, který navrhl MARKUSEN *et al.* (1995). Pro aplikaci tohoto markeru byl použit teplotní a časový profil a složení PCR reakce standardně využívané v laboratoři genetických analýz katedry genetiky a šlechtění jak uvádí VEJL *et al.* (2005). Amplifikace byla testována u botanického druhu *M. robusta*, který uvádí MARKUSEN *et al.* (1995) jako donor genu *PlI*. Složení i profil PCR reakce jsou uvedeny v tabulkách 1 a 2.

Tab. 2 Souhrn profilů PCR reakcí použitých pro detekci jednotlivých markerů

Marker	Před-denaturace		Hlavní cyklus denaturace, annealing, extenze						Závěrečná extenze	
<i>MdMYB10</i>	1 cyklus		40 cyklů						1 cyklus	
	94 °C	165 s	94 °C	55 s	55,7 °C	55 s	72°C	99 s	72 °C	600 s
<i>Md-ACS1</i>	1 cyklus		35 cyklů						1 cyklus	
	94 °C	180 s	94 °C	60 s	60 °C	60 s	72°C	150 s	72 °C	600 s
<i>Vf gen</i>	1 cyklus		35 cyklů						1 cyklus	
	94 °C	120 s	94 °C	30 s	60 °C	60 s	72°C	120 s	72 °C	600 s
<i>PII gen</i>	1 cyklus		40 cyklů						1 cyklus	
	94 °C	180 s	94 °C	20 s	35 °C	45 s	72°C	105 s	72 °C	360 s

Elektroforetická separace PCR produktů

Pro separaci PCR produktů byla použita horizontální agarózová elektroforéza (BioRad, USA). Separace probíhala při konstantním napětí 4 V.cm⁻¹ v prostředí TBE pufru, v 1,5% gelu po dobu 90 minut. Vizualizace a dokumentace gelů byla realizována pomocí dokumentačního zařízení GelDoc (BioRad, USA) a programu QuantityOne (BioRad, USA).

Hodnocení segregace markerů v hybridních potomstvech

Segregace byla statisticky hodnocena pomocí neparametrického χ^2 testu. Tento test se využívá pro ověření shody nalezených štěpných poměrů s teoreticky očekávanými štěpnými poměry. Pro výpočet je používána Pearsonova hodnota, která je dána obecným vzorcem 1 (BRABENEC *et al.*, 2000).

Výpočet χ^2 testu

$$\chi^2 = \frac{d^2}{e} \quad (1)$$

- d - diference každé jednotlivé třídy proti teoreticky očekávané hodnotě této třídy
- e - teoreticky očekávaná hodnota třídy - přepočítaná, tj. skutečný celkový počet jedinců je nutno rozdělit dle teoreticky předpokládaného štěpného poměru.

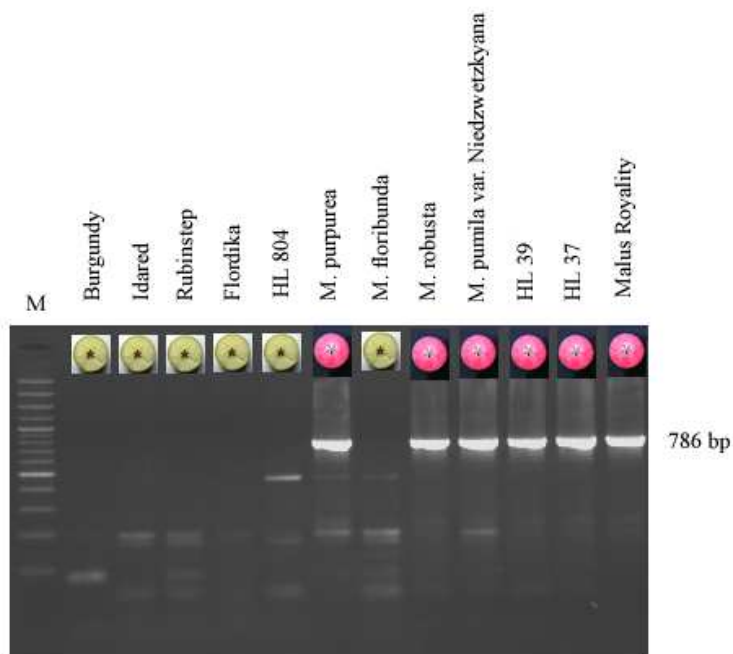
VÝSLEDKY A DISKUZE

Optimalizace amplifikace markeru červeného zbarvení dužniny (MdMYB10)

Marker využitý pro detekci červeného zbarvení dužniny je dominantní. Přítomnost dominantní alely genu *MdMYB10* je charakterizována fragmentem o velikosti 786 bp. Teplota nasedání primerů byla optimalizována pomocí teplotního gradientu. Jako optimální byla zvolena anelační teplota 55,7 °C. CHAGNÉ *et al.* (2007) přidával do PCR reakce 0,72 % formamid. Tato látka je silný denaturant, může napomáhat lepší denuraci templátové DNA a zamezuje tvorbě sekundárních struktur DNA. Tento efekt popisují například KOLÁROVÁ & DRÁBNER (2000). Při optimalizaci chemického složení PCR reakce bylo potvrzeno, že formamid nezlepšoval výsledek amplifikace. Jako zlepšující prvek byla vybrána látka tetramethyl ammonium oxalát (PCR Enhancer, Top-Bio, ČR) a BSA (bovinní sérum albumin) (SMITH *et al.*, 1995). Tyto dvě komponenty částečně omezily vznik nespecifických fragmentů.

Obr. 1 Elektroforeogram amplifikace markeru *MdMYB10*

(M - hmotnostní standard *GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder*, Fermentas)

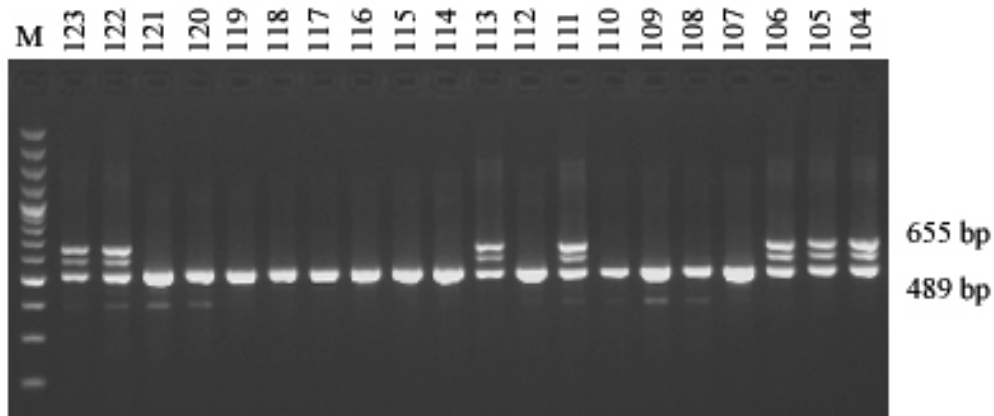


Detekce genu ACS1 zodpovědného za měknutí dužniny

Marker pro detekci tohoto genu je kodominantní a odlišuje alelu *ACS1-1* se standardní transkripční aktivitou, kterou představuje fragment o velikosti 489 bp a alelu *ACS1-2*, která má transkripční aktivitu omezenou inzercí v promotoru a je určena fragmentem o délce 655 bp (SUNAKO *et al.*, 1999). Teplota nasedání tohoto primerového páru byla také optimalizována pomocí teplotního gradientu. Při amplifikaci docházelo k vytvoření dalšího nespecifického fragmentu o velikosti přibližně 590 bp, který SUNAKO *et al.* (1999) neuvádí.

Amplifikace tohoto fragmentu neměla žádný vliv na úspěšnou detekci obou markerujících fragmentů. Tuto skutečnost dokumentuje vzorový elektroforeogram na obrázku 2.

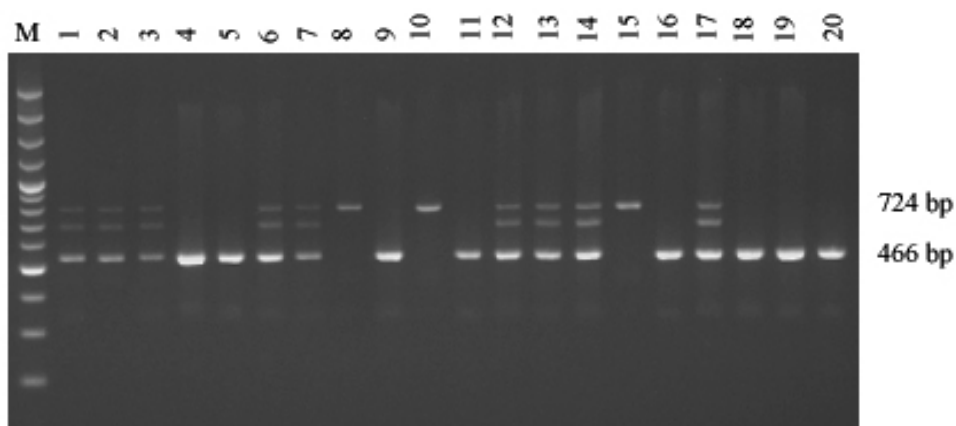
Obr. 2 Vzorový elektroforeogram segregace markeru ACS1 u kombinačního křížení 27
(M - hmotnostní standard GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder, Fermentas)



Hodnocení alelické sestavy genu Vf

Pro detekci kodominantního markeru charakterizujícího Vf gen byla použita metodika podle VEJL *et al.* (2003). Přítomnost dominantní alely charakterizuje fragment o velikosti 466 bp, recesivní alela je zastoupena fragmentem o velikosti 724 bp. Heterozygotní genotyp je určen přítomností obou fragmentů.

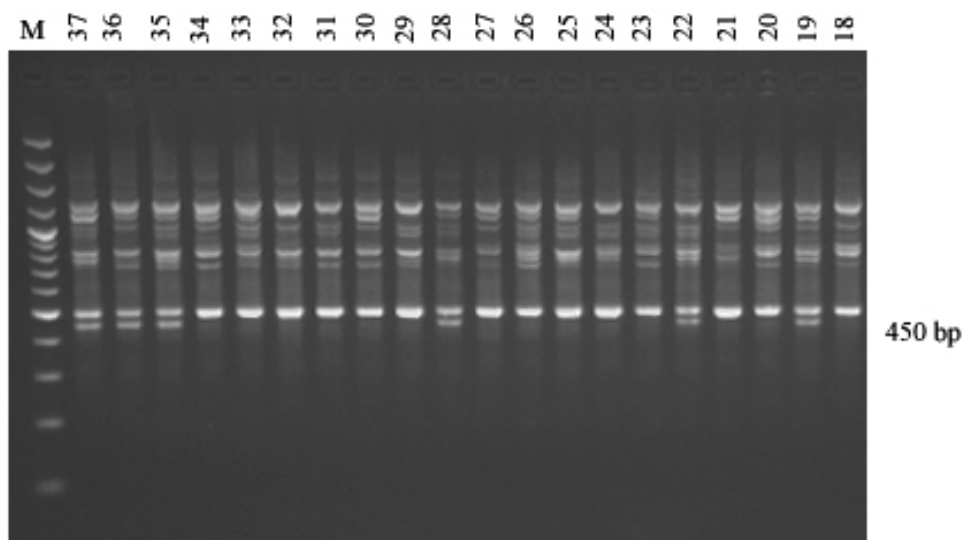
Obr. 3 Vzorový elektroforeogram segregace markeru Vf u kombinačního křížení 4
(M- hmotnostní standard GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder, Fermentas)



Detekce genu *P11*

Detekce genu *P11* byla realizována pomocí dominantního RAPD markeru navrženého MAKRUSEN *et al.* (1995). Pro dominantní alelu je charakteristická přítomnost fragmentu o velikosti 450 bp. Na obrázku 4 je zobrazen vzorový elektroforeogram markeru genu *P11*.

Obr. 3 Vzorový elektroforeogram segregace markeru *P11* u kombinačního křížení 4 (M - hmotnostní standard GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder, Fermentas)



Hodnocení segregace jednotlivých markerů

Pro analýzu segregace schopnosti vybraných markerů byla využita potomstva první filialní generace, která vznikla záměrným křížením ve VŠÚO v Holovousích. U kombinací 21, 22 a 27 bylo vybráno pro hodnocení 40 jedinců. Z kombinačního křížení 4 bylo odebráno pouze 37 jedinců, protože u této kombinace byla před odběrem materiálu pro genetické analýzy provedena selekce na rezistenci vůči strupovitosti jabloní, která se provádí pomocí skleníkových infekčních testů.

Pro šlechtitelskou praxi je považována shoda mezi zjištěným štěpným poměrem a teoreticky očekávaným, pokud pravděpodobnost shody dosahuje alespoň 0,05 (ZADINA & JERMOLEV, 1976). Této pravděpodobnosti nebylo dosaženo pouze u kombinace 4 u markeru genu *Vf* a kombinace 21 u markeru genu *P11*. Nízká pravděpodobnost shody u markeru genu *Vf* v kombinaci 4 je pravděpodobně způsobena selekcí semenáčků na rezistenci vůči strupovitosti jabloní za pomoci skleníkových infekčních testů. Tyto testy se běžně provádí ve VŠÚO v Holovousích, nejsou však stoprocentně úspěšné. Selekcí citlivých semenáčků, recesivních homozygotů, zapříčinila vyšší výskyt dominantních homozygotů (51,4 %) a heterozygotů (32,4 %). Tento fakt se naopak neprojevil u kombinačních křížení 21, 22 a 27, u kterých byly infekční testy a selekce citlivých jedinců provedeny až po odběru materiálu pro genetické analýzy. V kombinačním křížení 21 byla nalezena heterozygotní sestava genu *P11* pouze u třech semenáčků. Toto zjištění může být způsobeno malým rozsahem testovaného

potomstva. Nízký počet semenáčků s heterozygotní sestavou genu *Pl1* by mohl zapříčinit také nekulturní habitus rostlin, který byl spolu s genem předán donorem *M. robusta*.

Při hodnocení segregace markerů *Vf* a *Md-ACSI* byly zjištěny u kombinací 21 a 22 rozpory mezi detekovaným štěpným poměrem a štěpným poměrem odvozeným na základě detekovaných genotypů rodičovských komponent. U obou kombinací byli detekováni dominantní homozygoti, recesivní homozygoti a heterozygoti v genu *Vf*, ačkoliv odrůda Rubinstep, která vznikla jako kříženec odrůd Clivia a Rubín, je v genu *Vf* recesivní homozygot. Obě mateřské komponenty HL 39 a HL 423 disponují heterozygotní sestavou genu *Vf*. Také v markeru *ACSI* štěpila obě potomstva, ačkoliv odrůda Rubinstep má genotyp 2/2, tedy obě alely s nízkou transkripční aktivitou a obě rodičovské komponenty vykazovaly genotyp 1/1, to znamená obě alely s normální transkripční aktivitou. Touto analýzou bylo zjištěno, že mohlo dojít k chybě na několika místech v přípravě tohoto křížení, například mohlo dojít k cizosprášení, záměně pylu, chybného označení křížení, chybného označení semen při stratifikaci, nebo špatného označení při výsevu. U kombinací 21 a 22 byl otcovský genotyp pro účely výpočtu χ^2 testu nahrazen předpokládaným genotypem, tak aby odpovídal genotypům nacházejícím se v potomstvu.

Tab. 3 Segregace markerů u kombinačního křížení 4 : HL 37 (*Florina* x *M. robusta*) x *Flordika*

Markerovaný gen	Mateřský genotyp	Otcovský genotyp	Očekávaný štěpný poměr	Skutečný štěpný poměr	χ^2	Pravděpodobnost shody štěpných poměrů
<i>Vf</i>	<i>Vfvf</i>	<i>Vfvf</i>	9,25 <i>VfVf</i> 18,5 <i>Vfvf</i> 9,25 <i>vfvf</i>	19 <i>VfVf</i> 12 <i>Vfvf</i> 6 <i>vfvf</i>	13,7	P < 0.01
<i>ACSI</i>	1/1	2/2	40 1/2	40 1/2		P = 1
<i>MdMYB10</i>	<i>Mdmd</i>	<i>mdmd</i>	18,5 <i>Mdmd</i> 18,5 <i>mdmd</i>	16 <i>Mdmd</i> 21 <i>mdmd</i>	0,68	P ∈ <0,5 ; 0,3>
<i>Pl1</i>	<i>Pl1pl1</i>	<i>pl1pl1</i>	18,5 <i>Pl1pl1</i> 18,5 <i>pl1pl1</i>	16 <i>Pl1pl1</i> 21 <i>pl1pl1</i>	0,68	P ∈ <0,5 ; 0,3>

Tab. 4 Segregace markerů u kombinačního křížení 27 : HL 804 (*FAW 3566* x *A 679-2*) x HL 39 (*Florina* x *M. robusta*)

Markerovaný gen	Mateřský genotyp	Otcovský genotyp	Očekávaný štěpný poměr	Skutečný štěpný poměr	χ^2	Pravděpodobnost shody štěpných poměrů
<i>Vf</i>	<i>vfvf</i>	<i>Vfvf</i>	20 <i>Vfvf</i> 20 <i>vfvf</i>	25 <i>Vfvf</i> 15 <i>vfvf</i>	2,5	P ∈ <0,3 ; 0,1>
<i>ACSI</i>	1/2	1/1	20 1/2 20 1/1	14 1/2 26 1/1	1,6	P ∈ <0,3 ; 0,1>
<i>MdMYB10</i>	<i>mdmd</i>	<i>Mdmd</i>	20 <i>Mdmd</i> 20 <i>mdmd</i>	15 <i>Mdmd</i> 25 <i>mdmd</i>	2,5	P ∈ <0,3 ; 0,1>
<i>Pl1</i>	<i>pl1pl1</i>	<i>Pl1pl1</i>	20 <i>Pl1pl1</i> 20 <i>pl1pl1</i>	22 <i>Pl1pl1</i> 18 <i>pl1pl1</i>	0,4	P ∈ <0,7 ; 0,5>

Tab. 5 Segregace markerů u kombinačního křížení 22 : HL 39 (Florina x *M. robusta*) x Rubinstep, respektive neznámý otec

Markerovaný gen	Mateřský genotyp	Předpokládaný otcovský genotyp	Očekávaný štěpný poměr	Skutečný štěpný poměr	χ^2	Pravděpodobnost shody štěpných poměrů
<i>Vf</i>	<i>Vfvf</i>	<i>Vfvf</i>	10 <i>VfVf</i> 20 <i>Vfvf</i> 10 <i>vfvf</i>	6 <i>VfVf</i> 18 <i>Vfvf</i> 16 <i>vfvf</i>	3,4	$P \in <0,3 ; 0,1>$
<i>ACSI</i>	1/1	1/2	20 1/2 20 1/1	18 1/2 22 1/1	0,4	$P \in <0,7 ; 0,5>$
<i>MdMYB10</i>	<i>Mdmd</i>	<i>mdmd</i>	20 <i>Mdmd</i> 20 <i>mdmd</i>	24 <i>Mdmd</i> 16 <i>mdmd</i>	1,6	$P \in <0,3 ; 0,1>$
<i>PlI</i>	<i>PlIplI</i>	<i>plIplI</i>	20 <i>PlIplI</i> 20 <i>plIplI</i>	21 <i>PlIplI</i> 19 <i>plIplI</i>	0,1	$P \in <0,9 ; 0,7>$

Tab. 6 Segregace markerů u kombinačního křížení 21 : HL 423 (Florina x *M. robusta*) x Rubinstep, respektive neznámý otec

Markerovaný gen	Mateřský genotyp	Předpokládaný otcovský genotyp	Očekávaný štěpný poměr	Skutečný štěpný poměr	χ^2	Pravděpodobnost shody štěpných poměrů
<i>Vf</i>	<i>Vfvf</i>	<i>Vfvf</i>	10 <i>VfVf</i> 20 <i>Vfvf</i> 10 <i>vfvf</i>	8 <i>VfVf</i> 14 <i>Vfvf</i> 15 <i>vfvf</i>	3,7	$P \in <0,3 ; 0,1>$
<i>ACSI</i>	1/1	1/2	20 1/2 20 1/1	18 1/2 22 1/1	0,4	$P \in <0,7 ; 0,5>$
<i>MdMYB10</i>	<i>mdmd</i>	<i>mdmd</i>	40 <i>mdmd</i>	40 <i>mdmd</i>		$P = 1$
<i>PlI</i>	<i>PlIplI</i>	<i>plIplI</i>	20 <i>PlIplI</i> 20 <i>plIplI</i>	3 <i>PlIplI</i> 37 <i>plIplI</i>	28,9	$P < 0,01$

ZÁVĚR

Segregační analýzou byla ověřena funkčnost čtyř zvolených PCR markerů. Jednalo se o markery genu *Vf*, který zajišťuje rezistenci vůči strupovitosti, genu *PlI* řídícího rezistenci vůči padlí jabloňovému, genu *Md-ACSI*, který má vliv na měknutí dužniny jablek a genu *MdMYB10*, který determinuje červené zbarvení dužniny plodů.

Tyto markery je možné využít při šlechtění nových odrůd v procesu MAS (markery asistovaná selekce). Zároveň je pomocí nich možné hodnotit genetické zdroje, které jsou ve šlechtění jabloní využívány. Zároveň bylo prokázáno, že tyto markery mohou sloužit i pro testování paternity u nadějných novošlechtění, která vznikla záměrnou hybridizací, stejně tak i k potvrzení původu starších odrůd, u kterých jsou známé rodičovské komponenty.

LITERATURA

BRABENEC, V., ŠAŘECOVÁ, P., LADÝŘOVÁ, R., HOŠKOVÁ, P.: Cvičení a přednášky z biometriky s řešenými příklady pro AF a ITSZ. Provozně ekonomická fakulta ČZU v Praze ve vydavatelství Credit Praha, 2000.

DVOŘÁK, A., VONDRÁČEK, J., KOHOUT, K., BLAŽEK, J.: Jablka. Academia, Praha, 1976. ISBN 80-200-0958-2

ESPLEY, R.V., HELLENS, R.P., PUTTERILL, J., STEVENSON, D.E., KUTTY-AMMA, S., ALLAN A.C.: Red colouration in apple fruits is due to the activity of the MTB transkription factor, MdMYB10. The Plant Journal, 49, 2007, s. 414-427, ISSN 0960-7412

HARADA, T., SUNAKO, T., WAKASA, Y., SOEJIMA, J.: An allele of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene (Md-ACS1) accounts for the low level of ethylene production in climacteric fruits of some apple cultivars, Theor Appl Genet, 101, 2000, s. 742-746, ISSN 1432-2242

CHAGNÉ, D., CARLISLE, CH .M., BLOND, C., VOLZ, R.K., WHITWORTH, C.J., ORAGUZIE, N.C., CROWHURST, R.N., ALLAN, A.C., ESPLEY, R.V., HELLENS, R.P., GARDINER, S.E.: Mapping a candidate gene (MdMYB10) for red flesh and foliage colour in apple, BMC Genomics, 212(8), 2007, ISSN 1471-2164/

JANICK, J., CUMMINS, J., N., BROWN, S.K., HEMMAT, M.: Apples. Fruit breed, Volume I: Tree and tropical fruits, 1996. ISBN 0-471-31014-x

KOLÁROVÁ, M., DRÁBNER, P.: New specificity and yield enhancer of polymerase chain reactions, Nucleic Acids Research, 28(13), 2000.

MARKUSSEN, T., KRUGER, J., SCHMIDT, H., DUNEMANN, F.: Identification of PCR-based markers linked to the powdery–mildew–resistance gene *Pll* from *Malus robusta* in cultivated apple, Plant Breeding, 114, 1995, s. 530 – 534. ISSN 0179-9541

ORAGUZIE, N.C., IWANAMI, H., SOEJIMA, J., HARADA, T.: Inheritance of the Md-ACS1 gene its relationship to fruit softening in apple (*Malus x domestica* Borkh.), Theor Appl Genet, 108, 2004, s. 1526-1533. ISSN 1432-2242

SMITH J. R., CARPTEN J. D., BROWNSTEIN M. J., GHOSH S., MAGNUSON V. L., GILBERT D. A., TRENT J. M. ,COLLINS F. S.: Approach to Genotyping Errors Caused by Nontemplated Nucleotide Addition by Taq DNA Polymerase, Genome Res., 5, 1995, s. 312-317

SUNAKO, T., SAKURABA, W., SENDA, M., AKADA, S., ISHIKAWA, R., NIIZEKI, M., HARADA, T.: An allele of the ripening-specific 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase Gene (ACS1) in apple fruit with a long storage life. Plant Physiology, 119, 1999, s. 1297-1303. ISSN 0032-0889

TARTARINI S.: Marker assisted selection in pome fruit breeding. Proceedings of the XXVI. International Horticultural Congress: Genetics and Breeding of tree Fruit and Nuts. Toronto, August 11-17, 2002, Canada. ISHS. Acta Hort., 2003, 622, s. 129-140.

TARTARINI, S., GIANFRANCESCO, L., SANSAVINI, S., GESSLER, C.: Development of reliable PCR markers for the selection of the *V_f* gene conferring scab resistance in apple, Plant Breeding, 118, 1999, s. 183-166. ISSN 0179-9541

VEJL, P., SKUPINOVÁ, S., BLAŽEK, J., SEDLÁK, P., BARDOVÁ, M., BLAŽKOVÁ, H., MILEC, Z.: PCR markers of apple resistance to scab (*Venturia inaequalis* CKE.) controlled by *V_f* gene in Czech apple breeding, Plant, Soil and Environment, 49(9), 2003, s. 427–432. ISSN 1214-117

VEJL, P., MELOUNOVÁ, M., SEDLÁK, P., ZOUFALÁ, J., BLAŽKOVÁ, H., MILEC, Z., BLAŽEK, J., VÁVRA, R., KŘELINOVÁ, J.: Molekulární markery ve šlechtění jabloní. PowerPrint ČZU, Praha, 2005. ISBN 80-213-1287-4

ZADINA, J., JERMOLEV, E.: Šlechtění bramboru. Academia, Praha, 1976.

VERIFICATION AVAILABILITY MICROSATELLITES PANEL FOR PARENTAGE IDENTIFICATION OF DIFFERENT CANINE BREEDS

OVĚŘENÍ VHODNOSTI VYUŽITÍ PANELU MIKROSATELITŮ PRO URČENÍ PARENTITY VYBRANÝCH PLEMEN PSŮ

Bryndová M., Knoll A.

Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: bryndova.marta@seznam.cz, knoll@mendelu.cz

ABSTRACT

We tested 124 individuals of different canine breeds (number of 7 Dachshunds, 5 Schnauzers, 12 German Spitzs, 4 Yugoslavian Shepherd Dogs, 6 Rhodesian Ridgebacks, 5 Belgian Shepherds, 64 Bernese Mountain Dogs, 8 Czech fousek, 5 Irish Wolfhounds, 8 Golden Retrievers). They were chosen for determination reliability microsatellites panel of commercial kit StockMarks® for Dogs Canine Genotyping System, firm Applied Biosystems (FHC 2010, FHC 2054, FHC 2059, PEZ 1, PEZ 3, PEZ 5, PEZ 6, PEZ 8, PEZ 12 and PEZ 20). We evaluated statistic values from gained data (Polymorphism information content, Theoretical heterozygosity, Paternity exclusion, Combined exclusion probability). PIC in population ranged from 0 (FHC 2054 and FHC 2079 Golden Retriever and PEZ 6 Belgian Shepherd) to 0,7786 (PEZ 1 Dachshund). Theoretical heterozygosity was from 0 (FHC 2054 and FHC 2079 for Golden Retriever, PEZ 6 for Belgian Shepherd) to 0,7813 (PEZ 1 for German Spitz). The highest CEP was quantified for Dachshund (0,9977, 0,9645, 0,9999), on the other hand the lowest CEP was for Belgian Shepherd (0,8607, 0,6135, 0,9619). Used microsatellite panel is supposed to be high reliable for parentage testing and individual identification these canine breeds.

Key words: canine microsatellites, markers, parentage verifying

ÚVOD

Určení parentity dnes patří mezi běžné metody, které nacházejí široké uplatnění v živočišné říši. V laboratořích se často používají komerčně dodávané kity, které usnadňují jak izolaci DNA tak i vlastní mikrosatelitní analýzu v sekvenátoru. Tyto analýzy se řadí mezi zaběhnuté postupy a poskytují vysoké informační hodnoty a vysokou spolehlivost. I přesto je důležité určit vhodnost použití těchto genetických markerů u jednotlivých plemen psů a v konkrétních populacích.

Hlavním cílem této studie bylo zpracování metodiky pro analýzu 10 ti mikrosatelitů pro určení parentity u psů, odběr vzorků a následná izolace DNA z krve resp. dalších tkání, laboratorní testování vzorků, výpočet frekvence alel a genotypů a skutečné heterozygotnosti u vlastních vzorků a vzorků z databáze LamGen. Dalším úkolem byl výpočet statistických hodnot: polymorfní informační obsah (PIC), teoretická heterozygotnost, pravděpodobnost vyloučení nesprávného rodiče, je-li znám genotyp potomka a obou rodičů; pravděpodobnost vyloučení nesprávného rodiče, je-li genotyp jednoho z rodičů neznámý a pravděpodobnost vyloučení obou rodičů, je-li znám genotyp potomka a obou rodičů, diskuze ke spolehlivosti využití uvedené metody a panelu mikrosatelitů, srovnání metod.

MATERIÁL A METODIKA

Pro pokus byl vybrán soubor zvířat, který obsahoval celkem 124 jedinců. Z toho 7 psů představovalo plemeno jezevčík (J), 5 kníračů (K), 12 německých špiců (NŠ), 4 šarplaninští pastevečtí psi (ŠP), 6 rhodéských ridgebacků (RR), 5 belgických ovčáků (BO), 64 bernských salašnických psů (BSP), 8 českých fousků ČF), 5 irských vlkodavů (IV), 8 zlatých retrívrů (ZR). Většina výsledků otestovaných vzorků byla získána z databáze LamGen Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně. 17 vzorků bylo získáno odběrem z bukální sliznice jedince, byla provedena izolace DNA a následně vlastní určení mikrosatelitů.

Pro izolaci DNA byl použit izolační kit JETQUICK® blood and cell culture dna spin kit od firmy GENOMED (USA). Vyizolovaná DNA byla elektroforeticky ověřena nanesením na 1 % agarózový gel.

PCR reakce byla provedena pomocí termálního cykleru GeneAmp™ PCR System 9700. Pro multiplex PCR byl použit komerční kit StockMarks® for Dogs Canine Genotyping System od firmy Applied Biosystems, USA.

Tab. 1: Složení mastermixu

Jednotlivé komponenty	Master mix	
	Objem (1 vzorek v μ l)	Objem (17 vzorků v μ l)
StockMarks PCR pufr	0,695	12,51
25mM MgCl ₂	0,18	3,24
dNTP mix	1,1	19,8
AmpliTag polymeráza	0,18	25,2
Amplification primer mix	1,4	3,24
deionizovaná voda	0,945	17,01
Celkový objem (μ l)	4,5	81
DNA	0,5	

Teplotní a časový průběh reakce se skládal z 1 cyklu iniciační denaturace 95°C 10 minut, 20 cyklů (denaturace 95°C 30 sec, annealing 58°C 30 sec, elongace 72°C 60 sec) a závěrečné elongace 72°C 30 minut, 4°C ∞ . Detekováno bylo 10 mikrosatelitů.

Fragmentační analýza proběhla na přístroji ABI PRISM TM 310 Genetic Analyzer. Reakční směs obsahovala 0,5 μ l GeneScan - 500 ROX Size Standard, 0,5 μ l PCR produktu a 11,5 μ l formamidu.

Statistické vyhodnocení bylo provedeno pomocí programu EXCEL zadáním vzorců pro výpočet polymorfního informačního obsahu, teoretické heterozygotnosti, pravděpodobnosti vyloučení nesprávného rodiče, je-li znám genotyp potomka a obou rodičů, pravděpodobnosti vyloučení nesprávného rodiče, je-li genotyp jednoho z rodičů neznámý, pravděpodobnosti vyloučení obou rodičů, je-li znám genotyp potomka a obou rodičů, a kombinované pravděpodobnosti vyloučení (KNOLL, 2003).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Porovnáním molekulárních dat získaných ze souboru 124 jedinců byla získána statistická charakteristika všech 10 ti mikrosatelitů (FHC 2010, FHC 2054, FHC 2059, PEZ 1, PEZ 3, PEZ 5, PEZ 6, PEZ 8, PEZ 12 a PEZ 20), které jsou součástí komerčně dodávaného kitu firmy Applied Biosystems. Hodnocena byla frekvence alel, genotypů, teoretická a pozorovaná heterozygotnost, PIC (polymorfní informační obsah) a CEP (kombinovaná pravděpodobnost vyloučení) u všech plemen (jezevčík, knírač, německý špic, šarplaninský pastevecký pes, rhodéský ridgeback, belgických ovčák, bernský salašnický pes, český fousek, irský vlkodavů, zlatý retrívr).

U některých plemen byly pozorovány alely, které se vyskytly pouze u tohoto konkrétního plemene. Jednalo se o alelu 293 na lokusu FHC 2079 u belgického ovčáka, alelu 144 na lokusu PEZ 3 u českého fouska a alelu 284 na lokusu PEZ 12 u zlatého retrívra. U šarplaninského psa to byla alela 105 (lokus PEZ 3) a alela 288 (lokus PEZ 12), u rhodéského ridgebacka alela 256 (lokus PEZ 12). U plemene jezevčík se objevilo několik jedinečných alel, alela 106 (lokus PEZ 1), alela 273 a 275 (lokus PEZ 12), alela 155 a 163

(lokus PEZ 20). Vysoký počet alel byl také sledován u plemene bernský salašnický pes, alela 196 (lokus PEZ 6), alela 247 (lokus PEZ 8), alela 204 a 300 (lokus PEZ 12) a alela 167 (lokus PEZ 20). Pro upřesnění těchto výsledků by bylo dobré porovnání i s dalšími autory, použitelné informace ovšem v literatuře nebyly nalezeny.

V populaci bylo identifikováno i několik monomorfních lokusů, byl to lokus FHC 2054 (alela 167) a lokus FHC 2079 (alela 273) u zlatého retrívra, PEZ 6 (alela 180) u plemene belgický ovčák. Příčinou mohl být i úzký koeficient příbuznosti, kdy se mohlo jednat o jednu rodinu jedinců, kteří byli homozygotní v tomto lokusu.

Polymorfní informační obsah (PIC) v populaci byl v rozmezí od 0 (FHC 2054 a FHC 2079 plemeno zlatý retrívra a PEZ 6 plemeno belgický ovčák) do 0,7786 (PEZ 1 plemeno jezevčík). Průměrný polymorfní informační obsah se v celé populaci pohyboval od 0,3134 (belgický ovčák) do 0,6195 (německý špic). Pozorovaná heterozygotnost byla pozorována v rozmezí od 0 (FHC 2054 a FHC 2079 plemeno zlatý retrívra, PEZ 6 plemeno belgický ovčák) do 1 (FHC 2010 plemeno belgický ovčák, FHC 2054 plemeno jezevčík, PEZ 1 plemeno jezevčík, německý špic a šarplaninský pes, PEZ 3 plemeno knírač, šarplaninský pes, PEZ 6 plemeno zlatý retrívra, PEZ 12 plemeno šarplaninský pes a PEZ 20 plemeno irský vlkodav).

Teoretická (očekávaná) heterozygotnost se u sledovaných plemen pohybovala od 0 (FHC 2054 a FHC 2079 u zlatého retrívra, PEZ 6 u belgického ovčáka) do 0,7813 (PEZ 1 u německého špice).

Nejvyšší CEP byl spočítán pro plemeno jezevčík (0,9977, 0,9645, 0,9999), naopak nejnižší byl u plemene belgický ovčák (0,8607, 0,6135, 0,9619).

Tab. 2: Absolutní četnosti alel mikrosatelitů u všech plemen a v celé populaci

Lokus/MS	J	NŠ	K	ŠP	RR	BO	BSP	ČF	IV	ZR	Součet alel
FHC 2010	3	5	3	3	3	2	4	4	2	2	5
FHC 2054	6	5	2	2	5	3	5	4	3	1	8
FHC 2079	3	3	2	2	3	2	3	4	2	1	5
PEZ 1	6	6	4	3	3	2	4	3	3	2	7
PEZ 3	4	5	4	4	5	3	7	4	6	2	12
PEZ 5	2	3	2	3	3	2	4	2	2	2	4
PEZ 6	4	4	3	5	4	1	7	4	3	3	9
PEZ 8	4	5	3	3	5	3	7	4	3	2	7
PEZ 12	6	4	3	5	4	2	9	2	3	5	14
PEZ 20	6	4	2	3	2	2	4	2	2	2	8

V porovnání s výsledky studie (DeNISE et al., 2004) byly počty alel všech plemen u jednotlivých lokusů nižší. U lokusu FHC 2010 se počet všech detekovaných alel lišil pouze o 1 alelu, u lokusu FHC 2054 o 4 alely, u lokusu FHC 2079 a PEZ 3 o 5 alel, u lokusu PEZ 1

a PEZ 5 se alely lišily o 3. Nejvyšší rozdíl byl u lokusu PEZ 6, kde DeNISE et al. (2004) detekoval o 13 alel více. U PEZ 8 se alely lišily o 7, u PEZ 12 o 10 a u PEZ 20 o 2.

Tab. 3: Průměrný polymorfní informační obsah u všech plemen a u jednotlivých mikrosatelitů, CEP u všech plemen

Plemeno	Průměrný				Prům.	
	PIC	CEP 1	CEP2	CEP3	Lokus/MS	PIC
J	0,6111	0,9971	0,9645	0,9999	FHC 2010	0,4347
K	0,4225	0,9531	0,7803	0,9938	FHC 2054	0,4891
NŠ	0,6195	0,9965	0,9547	0,9999	FHC 2079	0,3500
BO	0,3134	0,8607	0,6135	0,9619	PEZ 1	0,5276
RR	0,5253	0,9862	0,8858	0,9993	PEZ 3	0,5873
ŠP	0,5318	0,9880	0,9065	0,9993	PEZ 5	0,3742
BSP	0,5209	0,9868	0,8808	0,9995	PEZ 6	0,5080
ČF	0,5084	0,9810	0,8813	0,9985	PEZ 8	0,5752
IV	0,431	0,9592	0,8037	0,9952	PEZ 12	0,5463
ZR	0,3327	0,9003	0,7222	0,9761	PEZ 20	0,4242

ZÁVĚR

Shrnutím výsledků v této práci je možné zhodnotit použitý panel mikrosatelitů za spolehlivý pro ověření původu a individuální identifikaci u populace sledovaných psů. Limitujícím faktorem je ovšem nízký počet použitých jedinců u některých plemen psů, proto mohou mít výsledky nižší vypovídací hodnotu. Mezi objektivní zjištění patří především absolutní zhodnocení výskytu alel a genotypů. Jediným problémem byla izolace DNA ze stěru z bukální sliznice, kdy použitý izolační kit JETQUICK® blood and cell culture dna spin kit poskytoval nízkou výtěžnost vyizolované DNA a následně PCR produktu. Doporučovala bych především změnu kitu nebo získání vzorků z jiné tkáně například z krve nebo chlupových cibulek, což by ale mohlo být u psů obtížnější.

LITERATURA

APPLIED BIOSYSTEMS. *StockMarks® Horse, Cattle, and Dog Genotyping Kits Protocol*. [online]. © 2007. str 3 - 24. Dostupné z:
<http://www3.appliedbiosystems.com/cms/groups/applied_markets_support/documents/generaldocuments/cms_041413.pdf>

DeNISE, S., JOHNSTON, E., HALVERSON, J., MARSHALL, K., ROSENFELD, D., McKENNA, S., SHARP, T., EDWARDS, J. *Power of exclusion for parentage verification and probability of match for identity in American Kennel Club breeds using 17 canine microsatellite markers*. *Anim Genet*. 2004; 35:14-17.

KNOLL, A. *Program na výpočet statistických ukazatelů ověřování parentity (EXCEL)*. MZLU v Brně. 2003.

KIT GENE POLYMORPHISM IN ASSOCIATION WITH HORSE COAT COLOUR – TOBIANO

POLYMORFIZMUS GENU KIT VE VZTAHU KE ZBARVENÍ U KONÍ – TOBIANO

Chalupová P., Knoll A.

Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xchalup1@node.mendelu.cz, knoll@mendelu.cz

ABSTRACT

Tobiano spotting pattern is characterized by large patches of white that cross the dorsal midline and include legs. This pattern is caused by dominant gene *To*. Polymorphisms in *KIT* gene are associated with different spotting patterns, including tobiano. Totally 61 tobiano horses and 89 non-tobiano horses were tested by PCR-RFLP for polymorphism in intron 13 of the *KIT* gene and for chromosomal inversion on ECA3 (distal breakpoint is localized near *KIT*). Association of SNP in intron 13 was not absolute – 3 horses with just one tobiano parent were found homozygous. But in case of chromosomal inversion test, only tobiano horses with both tobiano parents were homozygous. This marker is suitable for zygosity testing. Results suggest, that chromosomal inversion on ECA3 could cause tobiano spotting pattern in horses.

Key words: horse, coat colour, tobiano, *KIT*, polymorphism.

ÚVOD

Tobiano je jedním ze vzorů strakatosti u koní. Je charakterizován odznaky na končetinách a jasně ohraničenými okrouhlými bílými skvrnami vertikálního uspořádání, přecházejícími přes hřbet. Rozsah skvrnitosti je různý. Vzor tobiano je determinován autozomálně dominantní alelou *To*. Kůň fenotypu tobiano (případně v kombinaci s jiným vzorem) bude mít tedy genotyp *ToTo* nebo *Toto*, non-tobiano *toto*. Strakatost je viditelná již při narození (BOWLING, 1996; GOWER, 2000; SPONENBERG, 2003).



Obr. 1 Bay tobiano (paint horse).

Gen *To* tvoří vazbovou skupinu (LG II) s geny pro albumin (*Al*), pro vazebné proteiny pro vitamin D (*GC* – group-specific component), extension (*E*) a roan (*Rn*) a esterázu (*ES*) (ANDERSSON *et* SANDBERG, 1982). Se vzorem tobiano jsou asociovány alely *AL-B* a *GC-S*. Nejméně 90 % tobiano koní má *AL-B* a *GC-S* alely (BOWLING, 1996).

Silným kandidátním genem pro tobiano je protoonkogen C-kit (*KIT*), který u člověka, prasete a myši způsobuje bílou skvrnitost (BROOKS *et al.*, 2002).

KIT kóduje receptor s transmembránovou tyrozin kinázou (stem cell factor receptor). Ligandem tohoto receptoru je KITLG (KIT ligand) neboli SCF (stem cell factor – faktor kmenových buněk; také nazýván mast cell growth factor – růstový faktor mastocytů), který ovlivňuje mj. tvorbu, zrání a přežívání melanoblastů a melanocytů (HRUŠKOVIČ *et* HRUŠKOVIČ, 1999).

Porovnáním DNA sekvencí jednobarevných koní a koní homozygotních pro gen tobiano (*To*) byl nalezen v intronu 13 protoonkogenu C-kit (*KIT*) polymorfismus *MspI* (substituce C→G v pozici 693). Alela s restričním místem asociovaná se vzorem tobiano byla nazvána *KM1*, alela bez restričního místa *KM0*. Přestože alela *KM1* je silně vázaná s

genem *To*, asociace není absolutní (3 ze 104 testovaných jednobarevných koní rovněž nesli alelu *KM1*). Nicméně, test se jeví mnohem účinnější pro identifikaci homozygotů *ToTo* než biochemický test využívající *Al* a *GC* haplotypu (BROOKS *et al.*, 2002).

Brooks *et al.* (2007) metodou FISH zkoumali možný výskyt inverze ECA3. Sondy byly vybírány na základě homologie se sekvencí člověka. Porovnání výsledků od koní tobiano a non-tobiano odhalilo chromozomální paracentrickou inverzi, která zahrnuje přibližně třetinu celkové délky ECA3. Dva homozygotní tobiano koně nesli pouze chromozomy s inverzí, čtyři heterozygotní 1 invertovaný a 1 normální, u 2 non-tobiano koní inverze pozorována nebyla. Distální zlom lze identifikovat pomocí PCR – přímý primer ohraničuje zlom zdola, 2 reverzní primery jsou pak specifické pro non-tobiano a pro tobiano. Test PCR opět vykázal úplnou asociaci inverze s fenotypem tobiano. Inverze neruší kódující sekvenci žádného známého genu a není zcela jasné, jakým mechanismem způsobuje tobiano fenotyp. Je možné, že inverze ruší konzervovanou nekódující nebo regulační sekvenci *KIT* genu. Doposud nebyla nalezena žádná výjimka mezi asociací této inverze s tobiano fenotypem (BROOKS *et al.*, 2007).

Cílem práce je aplikovat obě metodiky na vybraný soubor koní, porovnat výsledky a zjistit vhodnost pro rutinní testování.

MATERIÁL A METODIKA

Bylo analyzováno 150 koní různých plemen (nejvyšší zastoupení mělo plemeno paint horse – 55 jedinců), z čehož bylo 61 koní vzoru tobiano (do této skupiny byly zahrnuty i minimálně exprimované vzory, kombinace s jiným vzorem a gray tobiano, kde již strakatost nemusí být z fenotypu patrná).

Pro izolaci DNA pomocí JETQUICK® Blood & Cell culture DNA Spin Kit (GENOMED) byly použity chlupové cibulky z hřívy.

Detekce polymorfizmu intronu 13 genu *KIT* (PCR–RFLP)

Dle metodiky Brooks *et al.* (2002). PCR byla optimalizována pro termální cykly PTC 200 (MJ Research).

Primery:

KIT-II 3-11F 5'- ACCCGCTTGCATTTTATCACCTGTCG - 3'

KIT-II 3-1235R 5'- CGAGCATATAGGAAAAGGGTAGAAAGAGGTGAG - 3'

Optimalizovaná reakční směs

Celkový objem 25 µl

2 µl templátové DNA, 19,55 µl H₂O, 2,5 µl 10 x LA PCR buffer complete (Top-Bio), 0,5 µl 10mM dNTP mixu (Fermentas), 0,125 µl primeru KIT-II 3-11F (10 pmol/µl) (Invitrogen™), 0,125 µl primeru KIT-II 3-1235R (10 pmol/µl) (Invitrogen™), 0,2 µl LA DNA polymerázy (5 U/µl) (Top-Bio).

Teplotní profil PCR reakce

Úvodní denaturace 95 °C/2 min.

35 cyklů (denaturace 95 °C/20 s, annealing 65 °C/30 s, elongace 68 °C/70 s)
závěrečná elongace 68 °C/10 min.

PCR produkt byl následně štěpen restriční endonukleázou *MspI*. Fragmenty byly elektroforeticky separovány na 2% agarózovém gelu. Vizualizace pomocí ethidium bromidu za použití UV světla.

Detekce chromozomální inverze ECA3 (PCR)

Dle metodiky Brooks *et al.* (2007).

Primery:

ECA3-F 5'- TGATAGATCAGTGTAGACGTAGTGTGACAGAGAC - 3'

ECA3xR 5'- AACAGCTACTCCCCTCTAGCATAGGTC - 3'

ECA3toR 5'- TTCACCACAGAGTATCCAATTATGTCTTTCACATAATGC- 3'

Optimalizovaná reakční směs

Celkový objem 25 µl

2 µl templátové DNA, 18,3 µl H₂O, 2,5 µl 10 x LA PCR buffer complete (Top-Bio), 0,5 µl dNTP mixu (Fermentas), 0,5 µl primeru ECA3-F (10 pmol/µl) (Invitrogen™), 0,5 µl primeru ECA3xR (10 pmol/µl) (Invitrogen), 0,5 µl primeru ECA3toR (10 pmol/µl) (Invitrogen™), 0,2 µl LA DNA polymerázy (5 U/µl) (Top-Bio).

Teplotní profil PCR reakce:

Úvodní denaturace 95 °C/2 min.

30 cyklů (denaturace 95 °C/20 s, annealing 57 °C/30 s, elongace 68 °C/20 s)
závěrečná elongace 68 °C/7 min.

VÝSLEDKY A DISKUZE

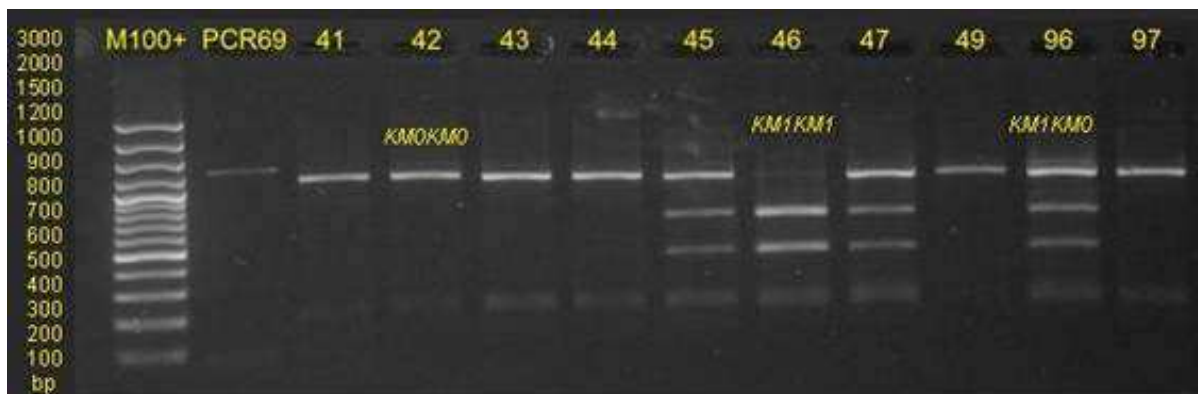
Stanovení genotypu intronu 13 genu KIT

PCR produkt (1249 bp) tvoří po štěpení *MspI* fragmenty následujících velikostí:

KM0KM0 – 189 a 1060 bp

KM1KM0 – 189, 397, 663 a 1060 bp (alela *KM1* je asociována se vzorem tobiano)

KM1KM1 – 189, 397 a 663 bp



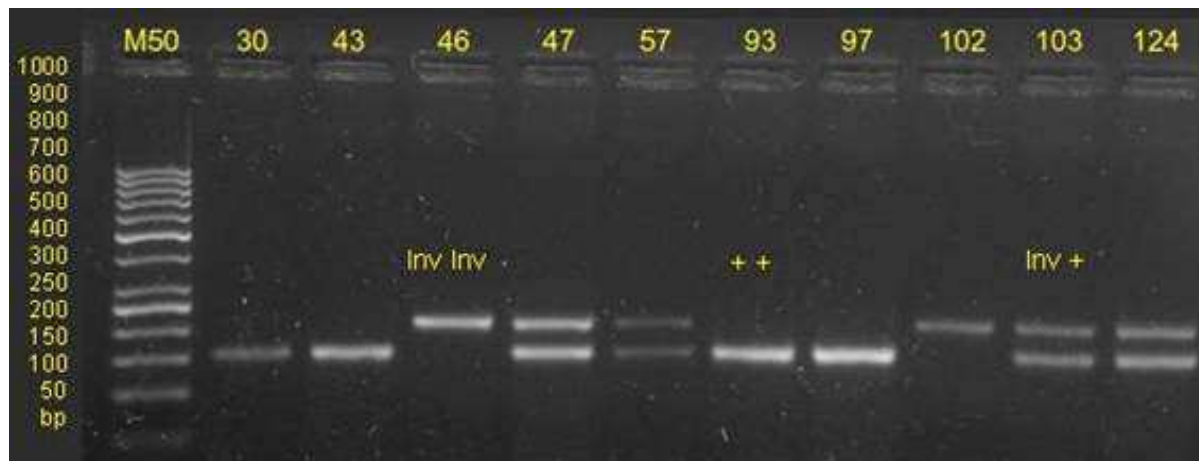
Obr. 2 Stanovení genotypů – intron 13 genu *KIT* (RFLP).

Detekce chromozomální inverze *ECA3* (PCR)

Velikost PCR produktu

209 bp u chromozomu s inverzí (tobiano)

152 bp u normálního chromozomu



Obr. 3 Stanovení genotypů – chromozomální inverze *ECA3* (PCR).

Tab. 1 Absolutní frekvence genotypů vzhledem k fenotypu rodičů.

	<i>KMO KMO</i>	++	<i>KM1 KMO</i>	<i>Inv +</i>	<i>KM1 KM1</i>	<i>Inv Inv</i>
tobiano s 1 rodičem tobiano	–	–	42	45	3	–
tobiano s 2 rodiči tobiano	–	–	11	11	5	5
non-tobiano s 1 rodičem tobiano	8	8	–	–	–	–
non-tobiano s 2 rodiči non-tobiano	81	81	–	–	–	–

Bylo testováno 61 koní fenotypu tobiano (případně kombinace s jiným vzorem) a 89 koní non-tobiano. Metodou PCR–RFLP byl analyzován polymorfismus v intronu 13 genu *KIT*. Všichni koně fenotypu tobiano nesli alespoň jednu alelu *KM1*. Všichni koně non-tobiano

měli genotyp *KMOKMO*, avšak tři jedinci pouze s jedním rodičem tobiano vykazovali homozygotní genotyp *KMIKMI*.

Brooks *et al.* (2002) testovali 129 tobiano koní a 104 jednobarevných (anglický plnokrevník). Nepředpokládaně homozygotní vyšel jeden kůň (jeden z rodičů anglický plnokrevník – tedy non-tobiano). Tři jednobarevní angličtí plnokrevníci však alelu *KMI* nesli.

Lze souhlasit se závěry Brooks *et al.* (2002) – test může vést k falešným výsledkům při určování homozygotnosti.

Ve zkoumaném souboru nebyla alela *KMI* u jednobarevných koní prokázána. Je však nutno zdůraznit, že např. v případě minimálně exprimovaného tobiana nemusí být vzor rozpoznán, obdobně u gray tobiano koně, který již zcela vybělil.

Metodou PCR byla testována přítomnost chromozomální inverze ECA3. Brooks *et al.* (2007) u žádného z 58 jednobarevných anglických plnokrevníků inverzi neobjevili, včetně těch, kteří nesli *KMI* alelu, 96 tobiano koní bylo heterozygotních *Inv+*, 25 homozygotních *InvInv*. Zygotnost ve vztahu k fenotypu rodičů není uvedena. V souladu s výsledky Brooks *et al.* (2007) byla u sledovaného souboru chromozomální inverze ECA3 odhalena pouze u koní tobiano. Jako homozygotní *InvInv* byli zjištěni pouze jedinci s oběma rodiči tobiano.

Ve shodě s Brooks *et al.* (2002; 2007) jsem dospěla k obdobným závěrům, tzn., že asociace polymorfizmu v intronu 13 genu *KIT* s *To* alelou není úplná – 3 jedinci s jedním rodičem tobiano vykazovali homozygotní genotyp *KMIKMI*. Chromozomální inverze ECA3 však ukázala kompletní asociaci bez výjimek.

ZÁVĚR

Polymorfizmus intronu 13 genu *KIT* a chromozomální inverze ECA3 byly detekovány u 150 koní fenotypu tobiano i non-tobiano. Zatímco genotyp intronu 13 genu *KIT* testovaný metodou PCR–RFLP ve třech případech neodpovídal předpokládanému, v případě testování inverze metodou PCR byla asociace úplná. Nelze vyloučit, že chromozomální inverze ECA3 je příčinou tobiano skvrnitosti u koní. Molekulárně-genetickou analýzu chromozomální inverze ECA3 pomocí metody PCR je možné doporučit pro rutinní testování genotypu koní tobiano. Může být vhodným doplňkem při identifikaci koní minimálně exprimovaných či kombinovaných vzorů. Metoda je vhodná i z hlediska jednoduchosti, časové nenáročnosti a finanční přijatelnosti.

LITERATURA

ANDERSSON, L., SANDBERG, K. A linkage group composed of three coat color genes and three serum protein loci in horses, *The Journal of Heredity*, 1982, Vol. 73, No. 2, p. 91–94.

BOWLING, A. *Horse Genetics*. Cambridge: CABI Publishing, 1996. 224p.

ISBN 0851991017. Chapter 2–9, p. 19–81.

BROOKS, S.A., LEAR, T.L., ADELSON, D.L., BAILEY, E. A chromosome inversion near the *KIT* gene and the Tobiano spotting pattern in horses. *Cytogenetic and Genome Research*, 2007, Vol. 119, p. 225–230.

BROOKS, S.A., TERRY, R.B., BAILEY, E. A PCR-RFLP for *KIT* associated with tobiano spotting pattern in horses. *Animal Genetics*, 2002, Vol. 33, p. 301–303.

GOWER, J. *Horse Colour Explained: A Breeder's Perspective*, The Crowood Press, Ramsbury – Marlborough, 2000. 144 p. ISBN 1 86126 384 8.

HRUŠKOVIČ, I., HRUŠKOVIČ, B. *Lidské mastocyty ve zdraví a nemoci* [online]. *Medicína – odborné fórum lékařů a farmaceutů*, 1999.

Dostupné z: <http://www.zdrava-rodina.cz/med/med199/med199_41.htm>.

SPONENBERG, D.P. *Equine Color Genetics*. 2nd ed. Iowa State University Press, Blackwell Publishing, 2003. 215 p. ISBN 0-8138-0759-X.

THE ANALYSIS OF MICROSATELLITES RELATING TO POLLEDNESS IN BEEF CATTLE

ANALÝZA MIKROSATELITŮ SE VZTAHEM K BEZROHOSTI U MASNÉHO SKOTU

Kaplanová K., Knoll A.

Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: kkaplanova@seznam.cz, knoll@mendelu.cz

ABSTRACT

This work deal with studying of microsatellites (BM6438, TGLA49, BMS2142 a IDVGA46) relating to polledness and to scurs in families of beef cattle and studying of genetic linkage of the alleles to the polled phenotype or to the scurs. Polled condition of cattle is an autosomal dominant trait controled by the polled locus which is localised in the centromeric region of bovine chromosome 1 between microsatellites RP42-218J17_MS1 and BM6438. The absence of horns is complicated because of presence of scurs whose expression is sex-influenced. The scurs locus has been mapped on the bovine chromosome 19 between microsatellites BMS2142 and IDVGA46. The causative genes of polledness and of scurs remain unknown. This present study is aimed to analysed 2 breeds (Simmental – 77 animals from database of DNA samples of ÚMFGZ of MZLU in Brno, and Charolais – 47 animals from T-farm in Verušičky) with 5 families of different number of members. Microsatellite analysis involved multiplex PCR amplifying of microsatellites loci, detection of fluorescent labeled fragments (alleles) by laser, making of genotypes of the animals indicating polledness, horns or scurs. In families 1, 2 and 5 it was found linkage between alleles of microsatellites BM6438, TGLA49 and polled condition and linkage between alleles of microsatellite BMS2142 and scurs. This linkage was confirm by significant association between genotype and phenotype of polledness or scurs. The alleles of microsatellites (linked with phenotypes) were different and this is the evidence of different mutations across the families, probably from different breeds of cattle.

Key words: polledness, scurs, microsatellites, beef cattle

ÚVOD

Již od 19. století se některá plemena šlechtí na genetickou bezrohost (aberdeen angus, galloway, shorthorn či hereford), ovšem donedávna nebyla této vlastnosti věnována příliš velká pozornost, naopak, jak uvádí Dvořák (2006), geneticky bezrohá zvířata byla vyřazována z důvodu snadnější fixace zvířat rohatých a případného dalšího zpracování rohů. Se změnou technologie ustájení z vazného na volné, zvýšením koncentrace zvířat, rozšířením chovu masného skotu, potřebou manipulace a transportu zvířat se bezrohost stala významnou, neboť rohatá zvířata jsou nebezpečná lidem i ostatním ve skupině. Do budoucna se předpokládá, že se tomuto trendu ubrání pouze skotský náhorní skot či uherský stepní skot (Štráfelda, 2005).

Na fenotypovém projevu bezrohosti/rohatosti se podílí tzv. 3-lokusový model, v němž jsou geny pro bezrohost, volné či africké rohy děděny nezávisle na sobě, ovšem jsou ve vzájemné interakci (Prayaga, 2007). Patrně nejdůležitějším lokusem je lokus bezrohosti, jež je hypostatický vůči lokusu nepravých rohů, konkrétně dominantní alela *P* genu bezrohosti je hypostatická vůči dominantní alele *Sc* genu nepravých rohů. Na projev nepravých rohů má však do značné míry vliv pohlaví zvířete. Lokus afrických rohů je pak epistatický vůči lokusu bezrohosti, ale i zde se na fenotypu podílí pohlaví zvířete stejně jako u nepravých rohů (Brenneman *et al.*, 1996).

Bezrohost je dominantní vlastnost, je tedy možné selektovat bezrohá zvířata dle fenotypu, ovšem jeho určování je komplikováno výskytem volných rohů. Navíc stále vzrůstá potřeba molekulárně-genetických testů, jimiž je možné odlišit genotyp heterozygotní od homozygotního, i když jen s určitou pravděpodobností. Příčinný gen bezrohosti však není stále znám; z toho důvodu jsou tyto testy nepřímé, založené na DNA markerech, jež jsou s touto vlastností v asociaci. Nejčastěji takto používanými markery jsou dnes mikrosatelity, jejichž analýza je vázána na testování v rodinách.

MATERIÁL A METODIKA

K analýze mikrosatelitů byly vybrány 2 populace - soubor 77 zvířat plemene masný simentál; vzorky byly použity z archívů DNA na ÚMFGZ, MZLU v Brně; druhým souborem 47 zvířat plemene charolais, která pocházela z chovu T-farma Verušičky - telata po býku JOCK Z CUNKOVA P (ZCH 556) a jejich matky; z archívů DNA byl použit vzorek býka JOCK Z CUNKOVA P (ZCH 556). Odběr vzorků zvířat souboru charolais byl proveden stěrem bukální sliznice zvířete sterilním kartáčkem Cytobrush® Plus firmy Medscand® Medical. DNA byla izolována pomocí kitu JETQUICK Blood & Cell Culture DNA Spin Kit od firmy Genomed. V rámci těchto 2 souborů bylo sestaveno celkem 5 rodin – viz.Tab.1.

Tab.1 Počty jedinců a jejich fenotyp v jednotlivých rodinách, včetně netestovaných matek

		Býk	Matky		Netestované matky			Potomstvo	
R1	Počet	1	8		10			23 (býci)	
	Fenotyp	1 P	1 R	6 P	1 N*	3 R	3 P	4 N*	7 R 14 P 2 V
R2	Počet	1	7		3			10 (býci)	
	Fenotyp	1 P	7 P		2 P	1 N*		4 P	5 V 1 N*
R3	Počet	1	3		2			5 (býci)	
	Fenotyp	1 V	3 R		2 P			3 P	2 V
R4	Počet	1	2		-			2 (býci)	
	Fenotyp	1 P	2 P		-			1 P	1 V
R5	Počet	1	19		4			23 (jalovice)	
	Fenotyp	1 P	19 R		4 R			6 R	14P 3 N*

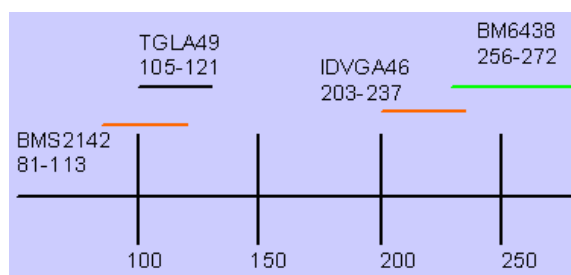
P – bezrohost, R – rohatost, v – volné, nepravé rohy, *N – neznámý fenotyp

Pro analýzu byly vybrány mikrosatelity na BTA1 - BM6438 a TGLA49, a na BTA19 - BMS2142 a IDVGA46, pro jejich vazbu s lokusem bezrohosti, resp. volných rohů. Fragменты genomové DNA vybraných 4 mikrosatelitů byly získány amplifikací při PCR, která byla provedena jako multiplex. Sekvence primerů jednotlivých mikrosatelitů jsou uvedeny v Tab.2.

Tab.2 Velikost a sekvence primerů jednotlivých mikrosatelitů

primer	sekvence	publikace
BM6438A	TTGAGCACAGACACAGACTGG	Bishop <i>et al.</i> , 1994
BM6438B	ACTGAATGCCTCCTTTGTGC	
TGLA49A	GGCAGGACTTCACTCTTTTCA	Georges <i>et al.</i> , 1992
TGLA49B	AGAAAAGGAATAATGAGACAGATTA	
IDVGA46A	AAATCCTTTCAAGTATGTTTCA	Mezzelani <i>et al.</i> , 1995
IDVGA46B	ACTCACTCCAGTATTCTTGCTG	
BMS2142A	AAGCAGGTTGATGATCTTACCC	Stone <i>et al.</i> , 1995
BMS2142B	GTCGGCACTGAAAATGATTATG	

Velikost známých fragmentů jednotlivých mikrosatelitů a použitá fluorescenční barva je uvedena na Obr.1.



Obr.1 Grafické znázornění velikosti MS a fluorescenčních barev použitých ke značení přímých primerů (VIC, NED, PET) (převzato z Civaňová *et al.*, 2008)

Reagencie použité při PCR byly následující: H₂O, GeneAmp® 10X PCR Buffer I (vč. 2,5 nM Mg²⁺, Applied Biosystems), dNTPs (dATP + dCTP + dGTP + dTTP, 200 μM každý, Fermentas), primery (A (přímý), B (zpětný), 10 pmol/μl každý, Generi-Biotech, v koncentraci

0,24 – 1,32 nM), AmpliTaq Gold® DNA Polymerase (10 U/μl, Applied Biosystems); celkový objem 6,25 μl . Pro PCR byly zvoleny podmínky: 95°C/15 min, 30x (95°C/40 s, 62°C/60 s, 72°C/60 s), 72°C/30 min, 4°C/∞, cykly: GeneAmp 9600 (Applied Biosystems).

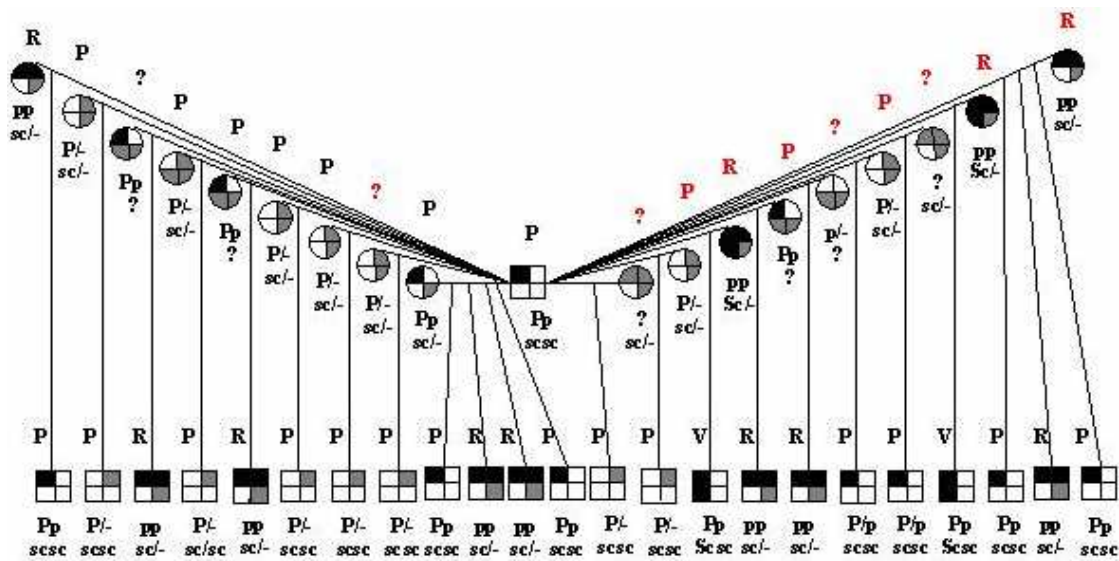
Reakční směs pro fragmentační analýzu obsahovala: GeneScan™ –500 LIZ® Size Standard*(Applied Biosystems), PCR produkt, Hi-Di™ Formamide (Applied Biosystems). Výsledná reakční směs byla 5 min denurována při 95°C a následně zchlazena 5 min na ledu. Fragmentační analýza vzorků byla provedena 4-kapilárovým automatickým genetickým analyzátozem ABI PRISM 3100 Avant Genetic Analyser (Applied Biosystems). Výsledky genotypování mikrosatelitů byly vyhodnoceny pomocí softwaru GeneMapper v. 3.5 (Applied Biosystems).

Pro výpočet asociace genotypu s fenotypem byl použit program SAS 9.1.3 (2004).

VÝSLEDKY A DISKUZE

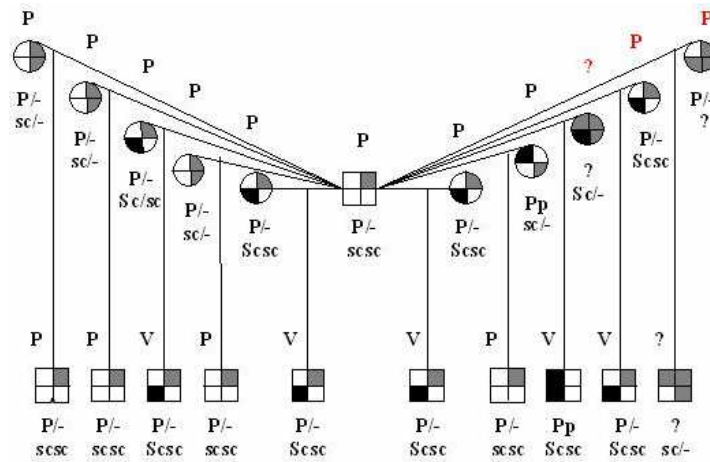
Výsledné genotypy zvířat jsou zaneseny do grafického znázornění jednotlivých rodin (Obr.2-6) – dle provedené analýzy a dle fenotypu zvířat (je-li znám) lze v některých případech odvodit, zda se jedná o heterozygotního či homozygotního jedince, a to jak v lokusu bezrohosti, tak i v lokusu nepravých rohů. V rámci jednotlivých rodin se vyskytují alely ve vazbě s bezrohostí, resp. volnými rohy.

Rodina 1 (ZSI 155 P)*



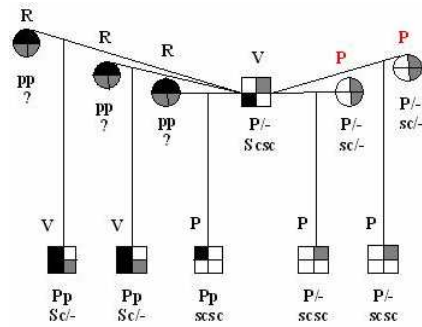
Obr.2 Grafické znázornění rodiny 1 (ZSI 155 P)

Rodina 2 (ZSI 188 P)*



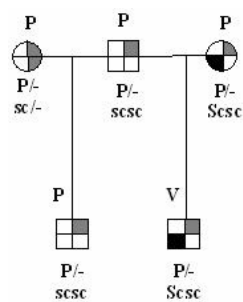
Obr.3 Grafické znázornění rodiny 2 (ZSI 188 P)

Rodina 3 (ZSI 259 V)*



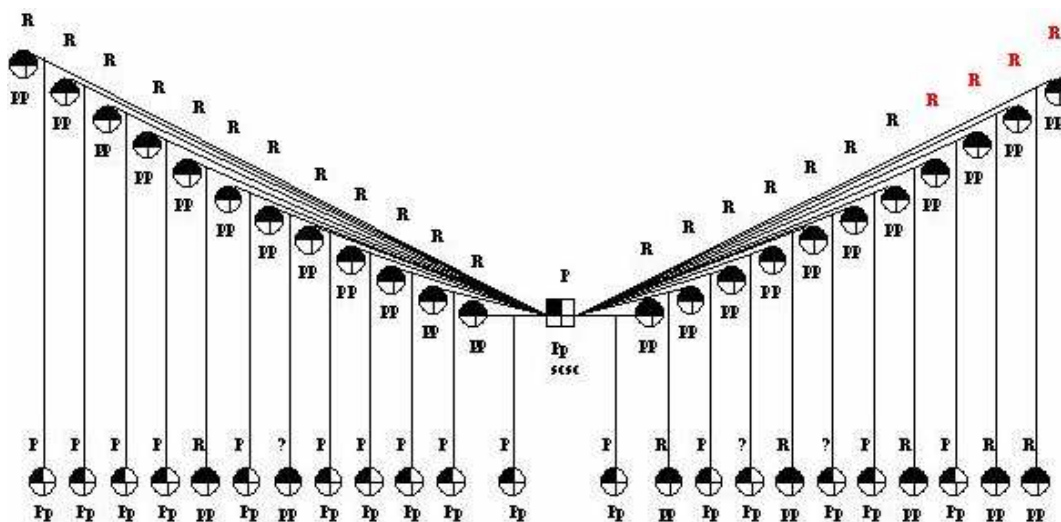
Obr.4 Grafické znázornění rodiny 3 (ZSI 259 V)

Rodina 4 (ZSI 140 P)*



Obr.5 Grafické znázornění rodiny 4 (ZSI 140 P)

Rodina 5 (ZCH 556 P)* - typický příklad testačního připařování



Obr.6 Grafické znázornění rodiny 5 (ZCH 556 P)

* nad jednotlivými zvířaty jsou znázorněny jejich fenotypy (? - neznámý fenotyp, resp. genotyp, P – bezrohost, R – rohatost, V – volné rohy), pod symbolem zvířete jsou znázorněny odvozené genotypy; červeně jsou označeni netestovaní jedinci; černá výplň horní poloviny kruhu či čtverce značí počet alel p na lokusu bezrohosti, ve spodní polovině pak značí přítomnost alely Sc na lokusu nepravých rohů; šedá výplň značí nemožnost odvození alely

Shrnutí rodin

Při sestavování rodokmenů je výraznou překážkou, kromě nesprávně uvedeného původu, i označování fenotypu bezrohosti/rohatosti/volných rohů. Běžně bývá fenotyp označen u většiny plemenných býků, ovšem u krav je fenotypová evidence nedostatečná. Evidence fenotypu je navíc komplikována přítomností volných rohů. Volné rohy sice většinou nedorůstají velikosti pravých rohů, ovšem farmáři rozlišují volné rohy od pravých především podle jejich pohyblivosti (Asai *et al.*, 2004). Brenneman *et al.*(1996) uvádí, že u některých zvířat může dojít k osifikaci základny volného rohu a ten je pak pevně přichycen, což je hlavním důvodem nesprávné klasifikace zvířete jako rohatého a následného zkreslení výsledků testování.

V rodinách 1, 2 a 5 se shodně vyskytla alela 257 spojená s bezrohostí, přestože Schmutz *et al.* (1995) uvádí, že alely mikrosatelitu BM6438 segregovaly s bezrohým fenotypem shodně v rodinách, ne však mezi rodinami a dále, že v případě TGLA49 byla alela velikosti 114 bp spojena s bezrohostí ve všech rodinách a vyskytla se pouze jedna kráva a její tele s alelou 114 a s rohy. V rodinách jsou však ve vazbě s bezrohostí alely 114, 110 a 112. Schmutz *et al.* (1995) prováděli analýzu rodní plemene charolais, což znamená, že ani v plemeni charolais (rodina 5) se nevyskytuje pouze jediná alela TGLA49 ve vazbě s bezrohostí, neboť zde se ve vazbě vyskytla alela 112.

Statistickou analýzou v programu SAS pro asociaci genotypů s rohatostí, bezrohostí a volnými rohy byla zjištěna statistická průkaznost mezi genotypem 112/114 (TGLA49) a bezrohostí u rodiny 5 (charolais), což potvrzuje pravděpodobnou asociaci alely 112 od otce

s lokusem bezrohosti dle analýzy rodokmenů. V rodině 2 byla zjištěna statistická průkaznost asociace genotypu 99/109 s volnými rohy, což také potvrzuje předchozí analýzu.

Výskyt různých alel ve vazbě s bezrohostí naznačuje potvrzení teorie, že mutovaná alela vznikla několikrát nebo byla do plemene vnesena z několika různých zdrojů, jak prezentuje Schmutz *et al.* (1995). Je však třeba brát v potaz i možnou příbuznost býků a výskyt bezrohosti u některého ze společných předků, viz. alela 257, jež se shodně nachází ve vazbě s bezrohostí mezi rodinami. V databázi plemenných býků se u býků ZSI 155 P a ZSI 188 P společný předek nevyskytuje, jsou však zde uvedeny pouze 2 generace a tento předek může být z některé generace předchozí. Shodnost alely ve vazbě s bezrohostí mezi rodinami různých plemen lze pak vysvětlit náhodnou mutací či vnesením alely do plemene z jiného, které se podílelo se na šlechtění simentála i charolais (např. shorthorn). Celkem 3 ze sledovaných býků měli navíc ve svém 2-generačním rodokmenu bezrohého předka a bezrohost tedy v těchto rodinách nevznikla nově; nepřítomnost takového předka u býků ZSI 155 P a ZCH 556 P však může znamenat pouze nekompletní evidenci u krav.

ZÁVĚR

Cílem práce byla analýza mikrosatelitů se vztahem k bezrohosti, rohatosti a volným rohům, provést tuto analýzu v rodinách (včetně stanovení genotypů) a nalézt v těchto rodinách vazbu některé alely k bezrohosti či volným rohům. Provedená analýza 4 mikrosatelitů (BM6438, TGLA49, BMS2142 a IDVGA46) vedla ke stanovení pravděpodobných genotypů zvířat, a to jak v lokusu bezrohosti, tak i v lokusu nepravých rohů. Jejich určení však bylo komplikováno především nekompletní evidencí fenotypu zvířat. Vyskytly se i alely ve vazbě s bezrohostí, resp. s volnými rohy, a to ve 3 rodinách shodně alela 257 (BM6438), dále alely 110, 112, 114 (TGLA49) ve vazbě s bezrohostí, a alela 109 (BMS2142) ve vazbě s volnými rohy. Asociace alely 112 a 109 s daným fenotypem byla potvrzena jako statisticky průkazná. Rozdílnost těchto alel ve vazbě s fenotypem pak potvrzuje skutečnost, že v různých rodinách se vyskytují různé mutace, pravděpodobně i vnesené z jiných plemen.

Úspěšné šlechtění bezrohého skotu je tedy založeno na evidenci fenotypu zvířat, především na rozlišení pravých a volných rohů, stejně jako analýza rodokmenů molekulárně-genetickými testy pro rozlišení zvířat s homozygotním a heterozygotním genotypem. Alespoň do doby, než bude objeven příčinný gen bezrohosti, příčinná mutace a vyvinut genetický test s přesnou predikcí genotypu.

LITERATURA

- ASAI, M., BERRYERE, T.G., SCHMUTZ, S.M. The scurs locus in cattle maps to bovine chromosome 19. *Animal Genetics*, 2004, vol. 35, p. 34-39.
- BISHOP, M.D., KAPPES, S.M., KEELE, J.W., STONE, R.T., SUNDEN, S.L., HAWKINS, G.A., TOLDO, S.S., FRIES, R., GROSZ, M.D., YOO, J., BEATTIE, C.W. A genetic linkage map of the bovine genome. *Genetics*, 1994, vol. 196, p. 619-639.
- BRENNEMAN, R.A., DAVIS, S.K., SANDERS, J.O., BURNS, B.M., WHEELER, T.C., TURNER, J.W., TAYLOR, J.F. The polled locus maps to BTA1 in a *Bos indicus* x *Bos taurus* cross. *The Journal of Heredity*, 1996, vol. 87, no. 2, p. 156-160.
- CIVÁŇOVÁ, K., KAPLANOVÁ, K., ŘÍHA, J. Genetic polledness in Simmental cattle in the Czech Republic. In ŘEHOUT, V. *Biotechnology 2008*. České Budějovice: Scientific Pedagogical Publishing, 2008, p. 63-66. ISBN 80-85645-58-0.
- DVOŘÁK, J. Bezrohost a genetika - pro chovatele masného skotu. *Zpravodaj ČSCHMS*, 2006, vol. 13, no. 3, p. 26-29.
- GEORGES, M., MASSEY, J.M. Polymorphic DNA markers in Bovidae. Patent, WO9213102, 1992.
- MEZZELANI, A., ZHANG, Y., REDAELLI, L., CASTIGLIONI, B., LEONE, P., WILLIAMS, J.L., TOLDO, S.S., WIGGER, G., FRIES, R., FERRETTI, L. Chromosomal localization & molecular characterization of 53 cosmid-derived bovine microsatellites. *Mammalian Genome*, 1995, vol. 6, p. 629-35. In ASAI, M., BERRYERE, T.G., SCHMUTZ, S.M. The scurs locus in cattle maps to bovine chromosome 19. *Animal Genetics*, 2004, vol. 35, p. 34-39.
- PRAYAGA, K.C. Genetic options to replace dehorning in beef cattle – a review. *Australian Journal of Agricultural Research*, 2007, vol. 58, p. 1-8.
- SAS Institute Inc. 2004. SAS 9.1.3. Cary, NC.
- SCHMUTZ, S.M., MARQUESS, F.L.S., BERRYERE, T.G., MOKER, J.S. DNA marker assisted selection of the polled condition in Charolais cattle. *Mammalian Genome*, 1995, vol. 6, p. 710-713.
- STONE, R.T., PULIDO, J.C., DUYK, G.M., KAPPES, S.M., KEELE, J.W., BEATTIE, C.W. A small-insert bovine genomic library highly enriched for microsatellite repeat sequences. *Mammalian Genome*, 1995, vol. 6, p. 714-724. In ASAI, M., BERRYERE, T.G., SCHMUTZ, S.M. The scurs locus in cattle maps to bovine chromosome 19. *Animal Genetics*, 2004, vol. 35, p. 34-39.
- ŠTRÁFELDA, J. Geny velkého účinku: šlechtění snadno a rychle? *Genotyp*, 2005, no.1, p. 7-9.

GENETICS ANALYSIS OF WHITE SPOTTING IN THE DOGS

GENETICKÁ ANALÝZA STRAKATOSTI PSŮ

Nesvadbová M., Knoll A.

Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xnesvadb@node.mendelu.cz , knoll@mendelu.cz

ABSTRACT

White spotting in dogs appears to be controlled by a major simple recessive locus. *MITF* was identified as the candidate gene for white spotting in dogs. Complete co-segregation with SPN in intron 3 was found in this gene and recessively inherited, random or piebald spotting in Schipperke, Beagle crossbreeds and Newfoundlands. The aim of this work was to optimise the method conditions in our laboratories and to verify the SNP for testing of white spotting in the dogs. We used PCR-RFPL assay for breed testing Newfoundlands, Rhodesian Ridgeback, Great Dane and Pug Dog, but we did not confirm the aforesaid SNP. Therefore analyses of this candidate gene will continue in the future.

Key words: white spotting, dog, genetic marker

ÚVOD

U psů bylo doposud identifikováno sedm genů, které jsou zodpovědné za zbarvení srsti: *TYRP1*, *ASIP*, *MC1R*, *CBD103*, *MLPH*, *SILV* a *MITF* (Schmutz and Berryere 2007). Bílá strakatost (white spotting) psů znamená výskyt pigmentovaných ploch vedle čistě bílých nebo prokvetlých částí těla. Mezi různými plemeny i mezi jedinci jednoho plemene je ve strakatosti velká variabilita (Dostál 2007). Lokus strakatosti (*S*) byl definován Littleem (1957). Popsal čtyři alely tohoto lokusu: *S* (solid), *Sⁱ* (irish spotting), *S^p* (piebald spotting) a *S^w* (extreme white). Alela *S* kontroluje jednotné zbarvení bez strakatosti, alela *Sⁱ* je zodpovědná za výskyt bílé barvy na ploše těla menší než 20 %, alela *S^p* za výskyt bílé barvy na 20-80 % těla a alela *S^w* kontroluje extrémně bílé zbarvení na více než 80 % těla.

Metallinos a Rine (2000) se jako první pokusili najít gen, který je zodpovědný za strakatost psů. Studovali geny *ENDRB* a *KIT* u kříženců border kolií a novofundlandského psa. Ačkoliv tyto geny jsou zapojeny do bílé skvrnitosti u dalších savců, jako jsou koně, prasata, skot, myši a krysy, nejsou tyto geny odpovědné za strakatost u sledovaných plemen psů. Stejně tak nejsou tyto geny zodpovědné za bílé zbarvení, které můžeme vidět u boxerů (van Hagen et al. 2004). Jako kandidátní gen pro strakatost psů byl identifikován gen *MITF*. V intronu 3 tohoto genu byl nalezen jednonukleotidový polymorfismus – SNP, který byl testován u plemen šiperka, novofundlandský pes a kříženců bígla (Rothschild et al. 2006). Také Karlson et al. (2007) a Leegwater et al. (2007) identifikovali region CFA20 jako oblast, která ukrývá gen pro bílé zbarvení u boxerů a kandidátní gen pro tento region je *MITF*.

Cílem této práce bylo dle publikace Rothschild et al. (2006) vypracovat metodiku testování jimi nalezeného SNP, optimalizovat podmínky této metodiky a ověřit, zda je tento marker možné využít i u dalších plemen psů.

MATERIÁL A METODIKA

Využitelnost SNP v genu *MITF* bylo sledováno u plemene novofundlandský pes (5 černých, 4 s bílými odznaky na hrudi a 2 bíločerní psi), rhodeský ridgeback (7 s bílými odznaky na hrudi a 4 pláštově zbarvení psi), německá doga (9 černých psů s bílými odznaky) a mops (2 s bílými odznaky na hrudi a 3 černí psi). Vzorky DNA byly odebrány z bukalní sliznice psů pomocí odběrových kartáčků (Cytobrush Plus, Medscand Medical AB). Z těchto kartáčků byla DNA extrahována pomocí DNA kitu (Jetquick Tissue DNA Spin Kit, GENOMED). PCR primery (přímý 5'-GGGTTATTGTGAGGGAGCAA-3' a zpětný 5'-CAAAGCCACCCAAAGAGAGA-3') byly převzaty z publikace Rothschild et al. (2006). Polymerázová řetězová reakce (PCR) byla provedena v termocykleru PTC-100 (MJ Research) a reakční směs (15 µl) obsahovala 50 ng genomické DNA, 1x HotStarTaq Master Mix (QIAGEN) a 0.2 µM každého primeru. Pomocí programu Webcutter (<http://www.firstmarket.com/cutter/cut2.html>) byl vyhledán vhodný restriční enzym (HinfI), který byl použit při štěpení sledovaného polymorfismu metodou polymorfismus délky restričních fragmentů (RFLP).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Rothschild et al. (2006) identifikoval jako kandidátní gen pro strakatost psů gen *MITF*. V intronu 3 tohoto genu byl nalezen jednonukleotidový polymorfismus - SNP (C/T). Testování tohoto SNP pomocí metody PCR-RFLP bylo provedeno u plemen šiperka, novofundlandský pes a kříženci bígla. Jednotně zbarvení psi (SS) byli CC, obligátní heterozygoti (Ss) byli CT a strakatí psi (ss) byli TT. Mezi SNP a fenotypem strakatosti nebyly nalezeny žádné rekombinace.

Pro potvrzení správnosti této analýzy byl nejprve tento polymorfismus testován u jedinců plemene novofundlandský pes. Avšak námi použitá metoda PCR-RFLP odhalila, že sledované SNP se u tohoto plemene nevyskytuje. Stejně výsledky byly dosaženy také u plemene rhodeský ridgeback, německá doga a mops. Námi dosažené výsledky naznačují, že sledované SNP není možné využívat k detekci strakatosti u psů. Zda se testované SNP u sledovaných plemen opravdu nevyskytuje, bude dále ověřeno sekvenováním.

Anderson (2008) uvádí, že v kódující sekvenci genu *MITF* nebyla nalezena žádná mutace, a proto se předpokládá, že strakatost u psů pravděpodobně způsobují regulační mutace v tomto genu. Srovnáním polymorfizmů mezi psy, kteří reprezentovali různé formy alel S, byly odhaleny tři kandidátní kauzální mutace v nekódujících oblastech tohoto genu: krátká rozptýlená sekvence (SINE), polymorfismus v délce sekvence a delece 12 párů bazí. Zmíněné kauzální mutace budeme testovat v rámci připravovaného projektu a výsledky budou použity pro další vědeckovýzkumnou práci pregraduálních studentů.

ZÁVĚR

Cílem práce bylo dle publikace Rothschild et al. (2006) vypracovat metodiku testování jimi nalezeného SNP, optimalizovat podmínky metodiky a ověřit, zda je tento marker možné využít i u dalších plemen psů. Sledované SNP nebylo nalezeno u plemen novofundlandský pes, rhodeský ridgeback, německá doga a mops, proto jej pravděpodobně není možné využívat k detekci strakatosti u psů. V další fázi práce budou testovány jiné kauzální mutace nalezené v genu *MITF* a výsledky budou použity pro vědeckovýzkumnou práci studentů.

LITERATURA

Anderson L. (2008): Genome-wide association analysis in domestic animals: a powerful approach for genetic dissection of trait loci. *Genetica* (online, <http://www.springerlink.com/content/ur381n0t07n44033/fulltext.pdf>).

Dostál J. (2007): *Genetika a šlechtění plemen psů*. DONA, 261 s.

Karlson E.K., Baranowska I., Wade C.M, Salmon Hillbertz N.H., Zody M.C., Anderson N., Biagi T.M., Patterson N., Pielberg G.R., Kulbokas E.J. 3rd, et al. (2007): Efficient mapping of mendelian traits in dogs through genome-wide association. *Nature Genetics*, 39(11): 13218.

Leegwater P.A., van Hagen M.A., van Oost B.A. (2007): Localization of white spotting locus in Boxer dogs on CFA20 by genome-wide linkage analysis with 1500 SNPs. *Journal of Heredity*, 98(5):549-52.

Little C.C. (1957): *The Inheritance of Coat Color in Dogs*. Comstock Publishing Ass., 232 s.

Metallinos D. & Rine J. (2000) Exclusion of EDNRB and KIT as the basis for white spotting in Border Collies. *Genome Biology* (online, <http://www.genomebiology.com/2000/1/2/research/0004>).

Rothschild M.F., Van Cleave P.S., Glenn K.L., Carlstrom L.P., Ellinwood N.M. (2006): Association of MITF with white spotting in Beagle crosses and Newfoundland dogs. *Animal Genetics*, 37(6):606-7.

Schmutz S.M., Berryere T.G. (2007): Genes affecting coat colour and pattern in domestic dogs: a review. *Animal Genetics*, 38(6):539-49.

van Hagen M.A.E., van der Kolk J., Barendse M.A.M., Imholz S., Leegwater P.A.J., Knol B.W. & van Oost B.A. (2004): Analysis of the inheritance of white spotting and the evaluation of KIT and EDNRB as spotting loci in Dutch Boxer Dogs. *Journal of Heredity*, 95(6):526-31.

RESULTS EVALUATION OF PREDICTION POLLED/HORNED CATTLE IN MEAT SIMENTAL

ZHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ PREDIKCE BEZROHOSTI U MASNÉHO SIMENTÁLA

Stehlík L., Dvořák J.

Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: stehliklibor@atlas.cz, dvorakj@mendelu.cz

ABSTRACT

The proposal of this project was to develop method to determinig polled or horned individuals in Meat Simenatal cattle breed. The main method was set up using recent literature as well as patent published in USA (US2005153328), together with microsatelite analysis published at the beginning of 90s'. A single gene in cattle controls the horn development trait and the polled phenotype is dominant to the horned phenotype. Thus, hornless cattle may be either heterozygous (horned carriers) or homozygous for the polled allele and the ability to distinguish between carriers and non-carriers is crucial to breeding programs. The physical detection of horned or polled cattle is further complicated by the presence of scurs. Scurs are rudimentary horns that are usually small and loosely attached to the head but can be large and attached well enough to make them difficult to distinguish from horns (Brenneman et al., 1996). Total amount of 63 animals were analysed in 7 SNPs and 2 microsatelite loci. Five genotypes were known at the beginning because they were horned. We were able to established or predicted genotype in 28 animals in total of 58 (63 animals were used and 5 of them were horned, we had already known their genotypes). Prediction success of genotypes was to low (less than 50%) due to missing microsatellite loci used in recent experiments by the authors. For the further experimetns, some SNPs should be removed (for ex. MMBTA25303) and be replaced by another one. Also, 3 of 5 microsatelite loci should be added in experimet (for ex. ARO9, ARO24, SOD1MICRO2) for better analysis in families groups.

Key words: polled/horned cattle, SNPs, microsatelite, haplotype, DNA sequencing, PCR-RFLP

Acknowledgments: Supported by IGA DP18/AF

INTRODUCTION

In the beef and dairy industries, horns on cattle are the cause of several economic and management problems. Horns pose hazards to animal handlers and also to other cattle causing large economic losses due to bruising. Difficulty in calving (dystocia) has been associated with horns and the widespread practice of dehorning young cattle has been shown to be stressful and reduce growth rates (Goonewardene et al., (1999).

In some breeds (e.g. Angus) the polled condition has been selected for but in others such as Hereford, the breed was established with the horned phenotype. There is increasing pressure from the live export and feedlot trades on producers to sell hornless cattle. Selective breeding with polled cattle is the means of introgressing the polled trait into horned cattle breeds.

A single gene in cattle controls the horn development trait and the polled phenotype is dominant to the horned phenotype. Thus, hornless cattle may be either heterozygous (horned carriers) or homozygous for the polled allele and the ability to distinguish between carriers and non-carriers is crucial to breeding programs. The physical detection of horned or polled cattle is further complicated by the presence of scurs. Scurs are rudimentary horns that are usually small and loosely attached to the head but can be large and attached well enough to make them difficult to distinguish from horns (Brenneman et al., 1996).

The subsequent mapping of five bovine Chr 1q12 microsatellite markers (ARO9, ARO24, TGLA49, SOD1MICRO2, BM6438) allowed the integration of the physical contig map with existing linkage maps of this region and also determined the exact order of these markers for the first time (Drögemüller, et al. 2005). Because these markers showed tight linkage to the polled phenotype, it is highly probable that the polled gene is located within this contig.

According to the newest studies and observations, we tried to test the usage of single nucleotide polymorphism (SNPs) for determining the genotype of a horned/polled ruminant subject. Even if the advantage of determining the SNPs variability instead of microsatellites is commonly known, it is not used routinely in this scope yet.

We based our study at the invention of the patent nos. WO2005052133 and US2005153328 (Denise S. K, et al. 2005) but during our study, several conditions were modified. As this discovery claims, the tested markers can be used to determine the genotype of all horned and polled animals and they provide a set of markers that can be used individually, or in combination to distinguish homozygous polled individuals from heterozygous polled animals. We made our pilot study with the aim to verify usefulness of its claims in Meat Simmental breed reared in the Czech Republic.

Genomic test to determine polled/horned cattle is based on analysis of microsatellites and of SNPs according to both patents mentioned above. This should be novel genomic test and lead to increasing of 7 SNPs either to increasing of costs for DNA testing as well.

According to newest scientific paper 7 SNPs and 2 microsatellites were used for prediction of genotype. Total 63 animals of Meat Simmental were used in analysis.

MATERIAL AND METHODS

Experimental group

Total amount of 63 animals were chosen according to their phenotype, only 5 animals were horned to distinguish right haplotype and microsatellite loci for detection horned allele. DNA was isolated from blood or hair using commercial kit JETQUICK Blood and Cell Culture DNA Spin Kit (Genomed), standard protocol was used.

PCR amplification

Selected primers demarked seven amplicons containing SNPs that were said to be useful in prediction of the horned/polled genotype. The primer (in all 32) and amplicon sequences (in all 16) were published in cited patents (here not shown). For the brief characterisation see Table 1.

SNP	MMBT25287	MMBT25303	MMBT25316	MMBT25314	MMBT25313	MMBT10493	MMBT25986
SNP-Allele 1	G	C	G	G	G	G	T
SNP-Allele 2	A	A	C	A	C	A	G
PCR (bp)	121	140	137	116	105	100	90
RFLP	x	x	Cfr I	Nsp I	x	Aci I	EcoR II

Tab. 1 List of selected SNPs loci

For microsatellite determination different primers were used according to scientific papers. Sequences of BMT6438 loci primers were obtained to Bishop et al., 1994 and TGLA49 to Georges et al., 1992.

Reaction mix in total volume (25 µl) comprised of 50 ng of genomic DNA, 12,5 µl of Combi PPP Master Mix (Top Bio), forward and reverse primer (200nM each), and redistilled H₂O. The cycling conditions were the same for all seven amplified products and optimized for the PTC200 equipment (BioTech) as follows: 95/2 min; 30x (95/30s, 60/30s, 72/30s); 72/7min; 4/∞. The results of amplification were verified at 3% agarose gel stained with ethidiumbromide.

SNPs testing

Four markers were analysed by standard means of PCR-RFLP method but in loci where no restriction endonuclease recognized the polymorphic site, the automatic sequencing of amplified PCR fragment (3 amplicons) was applied. Standard protocol for automatic gene analyzer ABI PRISM 310 (Applied Biosystems) was used.

Microsatellite genotyping

Fragmentation analysis was used for detection alleles in both loci. Size of BMT6438 and TGLA49 was from 256 to 271, or 109 to 127, respectively. Detailed descriptions of the methods conditions are disposal at the author.

Results evaluation

The PowerMarker (Liu, et al., 2005) software for haplotype prediction was used. Microsatellite genotypes were drawn in pedigree and analyzed one by one.

RESULTS AND DISCUSSION

In the first step, the automatically generated haplotype combinations for each animal were compared with the haplotype table from the patent.

We intended to find out the likely haplotype combination of the animal and according to the table predict its genotype. However, using this straightforward technique of results' interpretation proved to be not very sufficient and fallacious. One of the reasons is the frequent occurrence of haplotype combinations in our file that are not showed in patent table. As we worked with small file of relative animals of one breed, this is the predictable situation.

Using microsatellite genotypes pedigree trees were created for each family. If some cow (mother) was marked as a horned (at the phenotype level), there were not complications to distinguish right allele, which is responsible for horned cattle. Both heterozygote and homozygote genotypes were established. One condition had to be realized, at least 5 calves in one family. On the other hand, if only polled individuals (at the phenotype level) were occurred in family, separations of homozygote and heterozygote individuals were much more complicated. In most cases, it was impossible to establish genotype. It might be because of low variability of microsatellite genotypes in family.

The best option how to predict genotype in polled loci was to combine results from SNPs analysis together with results from microsatellite analysis. In some cases genotype was established but success of prediction was too low.

During defining of horned/polled genotype, we also come out from classical principles of hornlessness heredity. We took into account the tree possibilities: PP – double polled (homozygote), Pp – polled (heterozygote), pp – horned. We worked only with the given data from breeders and no checking of said phenotype was done. So we can expect the false assessment of the phenotype.

By analysis only with allele frequencies, we find out that one marker was fully monomorphic (MMBTA25303) in our file and four of them (MMBT25287, MMBT25313, MMBT 25314, MMBT10493) indicated the significant relation to the polled phenotype.

We were able to established or predicted genotype in 28 animals in total of 58 (63 animals were used and 5 of them were horned, we had already known their genotypes).

SUMMARY

According to newest literature, our experiment was to design well. We were able to establish some genotypes and predict polled in individuals. Still, success of investigation is not good, and was to less than 50% of animals included in experimental group. See, that group was designed as well as possible according to information about individuals. It means, that in common situation the probability to distinguish right genotype in polled loci will be much more lower.

For the further experiments, some SNPs should be removed (for ex. MMBTA25303) and be replaced by another one. Also, 3 of 5 microsatellite loci should be added in experiment (for ex. ARO9, ARO24, SOD1MICRO2) for better analysis in families groups.

No concrete number or name of animal was used in this publication because request of breeders or owner of animals. Presented data will be easily to abuse with using specific information about animals.

REFERENCES

- Bishop, M.D., Kappes, S.M., Keele, J.W., Stone, R.T., Sunde, S.L., Hawkons, G.S, Toldo, S.S., Fries, R., Gros, M.D, Yoo, J., Beathe, C.W. (1994). A genetick linkage map of the bovine genome. *Genetics*, vol 196, p. 619-639.
- Brenneman R. A., Davis S. K., Sanders J. O., Burns B. M., Wheeler, T. C., Turner J.W., Taylor J. F., (1996). The polled locus maps to BTA1 in a *Bos indicus* x *Bos taurus* cross. *J. Hered.* 87 (2): 156-161.
- Denise S. K., Oberg E., Ferrie B., Rosenfeld D., Chevalier T., Kerr R., Hutton M., Method and markers for determining the genotype of horned/polled cattle. patent nos. WO2005052133, US2005153328.
- Drögenmüller, C., Wöhlke, A., Mömke, S., Distl, O. (2005). Fine mapping of the polled locus to a 1-Mb region on bovine Chromosome 1q12. *Mammalian Genome*, vol. 16, p. 13-620.
- Goerges et al., (1993). Microsatellite mapping of a gene affecting horn development in *Bos taurus*. *Nature Genetics*, vol. 4., p. 206-210.
- Goonewardene, L. A., M. A. Price, M. F. Liu, R. T. Berg and C. M. Erichsen. (1999). A study of growth and carcass traits in dehorned and polled composite bulls. *Can. J. Anim. Sci.* 79:383-385.
- Liu, K. & Muse, S. V. (2005). PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics* 21, 2128-2129

USAGE OF CHITOSAN FOR DNA AND BIOLOGICAL SAMPLES STORAGE

VYUŽITÍ CHITOSANU PRO UCHOVÁNÍ DNA A BIOLOGICKÝCH VZORKŮ

Šrubařová P., Dvořák J.

Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xsrubaro@mendelu.cz, dvorakJ@mendelu.cz

ABSTRACT

The main aim of this study was to find the appropriate way of DNA or biological samples' storage on chitosan medium (prepared by Food Research Institute in Prague). While storing these samples on chitosan, it should be possible to keep this material at the room temperature for a long time. We tried to store the isolated genomic DNA, blood, milk, meat, sperm, saliva and pieces of ears (all from livestock) on the chitosan in different thermal conditions to verify the influence of the environment on the sample quality. Isolation was done using JETQUICK Tissue DNA Spin Kit (GENOMED GmbH) and DNA was extracted using TE solution. Manipulation with the samples was very difficult. Comparing results of isolation or extraction DNA in four different intervals, we obtained DNA suitable for further analyses only from archived tissues. To disprove the presumption that the storing of biological materials (especially DNA) on chitosan is useless, we decided to continue in this experiment with another form of chitosan and direct the forthcoming studies to find the fitting way of blood and DNA storing.

Key words: Chitosan, DNA storage, DNA isolation

Acknowledgments: This work was supported by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic (project no. 1G58073). Author thanks the staff of the working team of Animal Genetics ÚMFGZ in Mendel University in Brno. Author acknowledges the kind contributions of the personnel of Food research Institute in Prague.

ÚVOD

V současné době výzkum směřuje k metodám uchování DNA při pokojové teplotě. Při tomto způsobu uchování je kladen důraz především na kvalitu DNA pro další genetické analýzy, což ovlivňuje zejména doba skladování. Mezi další požadavky patří ekonomické a prostorové hledisko. Na trhu se objevuje mnoho komerčních produktů jako např. FTA card nebo Whatman, které zaručují uchování plasmidové DNA při pokojové teplotě. Ale tyto metody jsou limitovány v jejich efektivnosti. I když lze DNA uloženou na těchto papírcích uchovávat při pokojové teplotě, doporučují se nižší teploty, -15°C až -20°C , což je velkou finanční nevýhodou.

Mezi základní požadavky pro ukládání a uchování DNA patří:

- Uchování při pokojové teplotě bez degradace
- Jednoduchost metody
- Finanční nenáročnost
- Uchování nejen DNA, ale i např. krve, mléka, apod.
- Prostorová nenáročnost
- Dostatečná kvalita DNA pro další genetické analýzy

Jako velmi vhodný materiál se jeví chitosan. Je to biologický polymer, jenž se dnes široce využíván v medicíně. Je vhodný hlavně kvůli své stabilitě a biodegradabilitě. Pokud se chitosan sloučí s kyselinou, tvoří ve vodě rozpustné soli, které jsou silně pozitivně nabitě a díky tomu se výborně váže s DNA, proteiny apod. S DNA vytváří chitosan silnou vazbu a tím ji chrání.

Chitosan je velmi bezpečný a nevykazuje žádné vedlejší účinky. Po absorpci chitosanu do živého těla dochází v lysozomech k jeho degradaci na N-acetylglukosamin, který je dále využíván během syntézy glykoproteinů a zbytek je uvolněný ve formě oxidu uhličitého (Woo-Chul *et al.*, 2007). Díky svému unikátnímu kationaktivnímu charakteru má chitosan velký potenciál v potravinářském průmyslu a biotechnologických aplikacích. Ukázalo se, že chitosan je efektivním koagulantem při čištění odpadních vod (Casal *et al.*, 2006). Kvůli svým vlastnostem může být chitosan bezpečně použit také při zpracování mléka.

Chitosan je účinný derivát z chitinu, který díky svému pozitivnímu náboji vykazuje silné vazebné vlastnosti. Poprvé byl připraven v roce 1859 profesorem Rougetem, první patent byl publikován v roce 1920. Čeští vědci mají také mnoho významných objevů týkajících se využití chitosanu, zejména Výzkumný ústav potravinářský v Praze (bok, 2006). Ve většině případů je chitosan extrahován z rozdrčených krunýřů krabů nebo ústřic. Čeští vědci ale dokáží získávat tento materiál z odpadu. Produkce chitosanu je díky tomuto postupu výrazně levnější a surovina je stále dostupná. Chitosan může být dále využíván také proti obezitě, na speciální barvení látek nebo jako implantát vnesený do pacientova těla k léčbě zranění (Mařík, 2006).

MATERIÁL A METODIKA

Chitosan byl připraven vědeckým týmem z Výzkumného ústavu potravinářského v Praze. Na něj poté byly uloženy biologické vzorky a DNA. 30mg masa a kousků uší; 20 μ l krve, mléka a slin; 10 μ l spermatu a 5 μ l izolované DNA bylo přeneseno na tři speciální mikrodestičky (mikrotitrační mikrodestička s připevněným chitosanem), každý do jiné jamky v paralelním uložení. Maso a kousky uší byly před uložení rozmělněny. Pro určení vlivu skladovacího prostředí byly připraveny tři mikrodestičky se stejnými vzorky a zvoleny tři rozdílné skladovací podmínky – pokojová teplota, mrazák a termostat (72°C).

Izolace DNA z biologických vzorků uložených na chitosanu byla prováděla v několika časových intervalech pomocí JETQUICK Tissue DNA Spin Kit (GENOMED GmbH) a DNA byla z chitosanu extrahována TE roztokem (10 mM Tris-HCl, pH = 7,5; 0,1 mM EDTA). Izolovaná a extrahovaná DNA byla vizualizovaná na 1,5% agarózovém gelu s použitím ethidiumbromidu.

Pro ověření kvality izolované a extrahované DNA byla provedena PCR (polymerázová řetězová reakce). Byl vybrán amplikon genu MC3R (melanocortin 3 receptor) o délce 880bp. Reakční směs pro amplifikaci DNA z krve, masa a kousků uší obsahovala 8,5 μ l destilované vody, 12,5 μ l PPP Master Mix (150 mM Tris-HCl, pH 8,8, 40 mM (NH₄)₂SO₄, 0,02% Tween 20, 5 mM MgCl₂, 400 μ M dATP, 400 μ M dCTP, 400 μ M dGTP, 400 μ M dTTP, 100 U/ml Taq Purple DNA polymerase, monoclonal anti-Taq DNA polymerase (38 nM)), 1 μ l primeru MC1A, 1 μ l primeru MC1B a 2 μ l DNA. Celkové množství reakční směsi bylo 25 μ l. Amplifikace probíhala na termocykleru PTC-100TM (MJ Research, Inc., USA) s následujícími kroky: počáteční aktivační krok při 95°C po dobu 2 min; denaturace při 95°C po dobu 20 s, annealing při 65° po dobu 20 s a elongace při 68° po dobu 7 min s opakováním 30 cyklů. PCR produkty byl vizualizovány po elektroforéze (20 min, 100V) na 1,5% agarózovém gelu s ethidiumbromidem.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Účelem této práce bylo vyvinout novou metodu pro jednoduché a levné uchování biologických vzorků a DNA bez degradace DNA. Medium pro uchování, chitosan, byl vyroben Výzkumným ústavem potravinářským v Praze. DNA byla izolována v různých časových intervalech ověřeným postupem na pracovišti genetiky ÚMFGZ MZLU v Brně.

Manipulace s biologickými vzorky a DNA uloženými na chitosanu se lišila. Velmi problematická byla se vzorky uloženými v mrazáku a termostatu, chitosan ztratil kompatibilitu a bylo velmi obtížné vyjmout celý vzorek z mikrodestičky. Nejjednodušší práce byla se vzorky uloženými při pokojové teplotě.

Izolace a extrakce DNA byla prováděna třikrát po dvou týdnech a jednou po půl ročním uložení biologických vzorků a DNA na chitosanu. Kvalita DNA byla kontrolována na 1,5% agarózovém gelu po každé izolaci, popř. extrakci. Výsledky se velmi lišily. Izolace DNA z mléka, slin a spermatu byla neúspěšná a žádná DNA nebyla z chitosanu extrahována. Po druhé izolaci (4 týdny od uložení) izolace ze vzorků krve byla také neúspěšná, s výjimkou vzorků uložených v termostatu. Množství DNA izolované z masa a kousků uší bylo značně

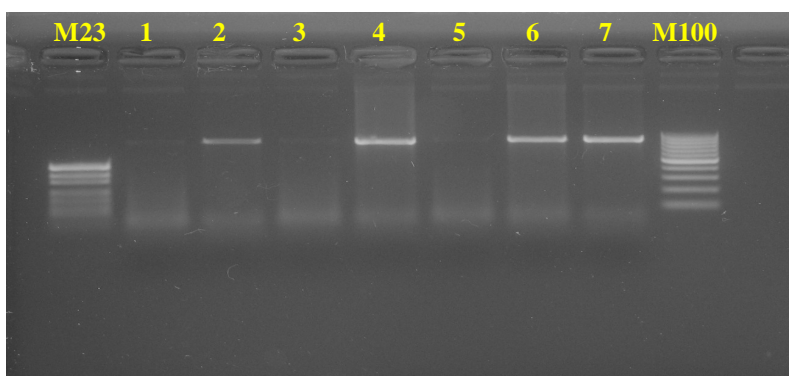
vysoké. Zajímavým zjištěním bylo, že po další půlroční izolaci a extrakci DNA z chitosanu uloženého v termostatu bylo množství DNA nižší než při izolaci a extrakci po dvoutýdenních intervalech.

Pro ověření, zda je DNA izolovaná z biologického materiálu uchovaném na chitosanu použitelná pro PCR, byl vybrán gen pro melanocortinový 3 receptor (MC3R), jehož PCR produkt je dlouhý 88bp. Amplifikace byla úspěšná jen u DNA izolované z masa a kousků uší (Obr.1). Pro validaci délky fragmentů byly použity dva velikostní markery – M23 a M100 (MBI Fermentas, Lithuania).

PCR analýza potvrzuje, že DNA nejvyšší kvality byla izolována z tkání (maso, kousky uší) a že uchování ostatních vzorků (krev, izolovaná DNA, sliny a sperma) na chitosanu a izolace DNA z těchto biologických vzorků se nezdá být příliš vhodná.

Při srovnání rozdílných podmínek uchování dobře vychází pokojová teplota. Manipulace se vzorky uloženými při pokojové teplotě byla totiž nejsnazší. Při srovnání množství DNA izolované se vzorků z různých podmínek uchování (25°C, -20°C a 72°C) nejlepších výsledků dosahují vzorky uložené v termostatu.

Obr. 1 PCR produkty



Poznámka: Vzorek 1 je PCR produkt DNA izolované z krve a uchovaný při pokojové teplotě po dobu 2 týdnů; vzorek 2 je PCR produkt DNA izolované z masa a uchovaný při pokojové teplotě po dobu 2 týdnů; vzorek 3 je PCR produkt DNA izolované z krve uchované v termostatu po 4 týdnech; vzorek 4 je PCR produkt DNA izolované v kousku ucha uchovaného po dobu 4 týdnů při pokojové teplotě; vzorek 5 je PCR produkt DNA izolované v krve uchované v termostatu po dobu 6 týdnů; vzorek 6 je PCR produkt DNA izolované z kousku ucha uchovaného v mrazáku po dobu 6 týdnů; vzorek 7 je referenční vzorek.

Hlavním problémem uchování vybraných biologických vzorků a DNA je počáteční množství. Takto připravený chitosan totiž nedokáže absorbovat dostatečné množství tekutiny, proto je množství vzorku k uchování na chitosanu omezené.

ZÁVĚR

V současné době je snahou vědců najít materiál, na kterém by mohla být uchována DNA, popř. biologický materiál, při pokojové teplotě, aniž by DNA degradovala, a tím snížit ekonomické a prostorové náklady pro archivaci. Hlavním cílem naší studie bylo najít vhodný způsob archivace DNA a biologických vzorků na chitosanu (připraven Výzkumným ústavem potravinářským, Praha). Na tomto nosiči jsme vyzkoušeli uchovat izolovanou genomovou DNA, krev, mléko, maso, sperma, sliny a kousky uší hospodářských zvířat. Pro ověření vlivu prostředí na kvalitu uchovávaných vzorků byly uchovávané vzorky vystaveny třem rozdílným teplotním podmínkám. DNA byla izolována pomocí JETQUICK Tissue DNA Spin Kit (GENOMED GmbH) a DNA extrahována TE roztokem. Manipulace s jednotlivými vzorky byla složitá. Při porovnání vzorků izolovaných (popř. extrahovaných) ve 2 týdenních intervalech byly výsledky velmi odlišné. Pro následné analýzy byla vhodná pouze DNA izolovaná z tkání uchovávaných na chitosanu. Uchovávání tkáňových biologických materiálů je ale nepotřebné. Samotná příprava vzorku na jeho uchování je pracná a tím pádem je takovýto způsob uchování nevýhodný. Abychom potvrdili nesprávnost tvrzení, že uchovávání biologických materiálů (zejména DNA) na chitosanu je zbytečné, rozhodli jsme se v experimentu pokračovat s modifikovanou formou chitosanu a zaměřit další studie k nalezení vhodného způsobu archivace krve a DNA.

LITERATURA

(BOK). Chitosan, patenty ověřený derivát. Technik : Materiály. 14.8.2006, s. 37. Dostupný z WWW: <<http://www.vupp.cz/czvupp/departments/odd330/060814technikChitosan.pdf>>.

Casal E., et al. (2006): Use of Chitosan for Selective Removal of β -Lactoglobulin from Whey. *J. Dairy Sci.*, no. 89: 1384-1389.

Mařík M. (2006): Nové lepidlo pro chirurgy. *Hospodářské noviny*. 14.6.2006. Dostupný z WWW: <http://hn.ihned.cz/2-18673240-500000_d-2b>.

Woo-Chul M., et al. (Goodgene Inc.) (2007): Method for storing DNA using chitosan, and products using the methods. US 0254294A1; <http://www.freepatentsonline.com/y2007/0254294.html> (9.4.2008).

THE POLYMORPHISMS OF PRNP GENE ASSOCIATED WITH BSE IN CATTLE

POLYMORFIZMY GENU PRNP ASOCIOVANÉ S BSE U SKOTU

Weisz F., Knoll A.

Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic.

E-mail: filipw@seznam.cz, knoll@mendelu.cz

ABSTRACT

This study deal with the polymorphisms in *PRNP* gene which encodes the structure of this protein. The mutation which prevent the changes in normal prion protein to pathological form has not found in cattle but it has found the polymorphisms which offer significantly more often in cattle affected BSE. These polymorphisms are indel 12 bp and 23 bp in non-coding region of *PRNP* gene. The genotypes of these polymorphisms were determined by PCR and PCR-RFLP. It was tested 96 bulls of Holstein and 68 bulls of Czech Fleckvieh. In polymorphism indel 23 bp the highest frequency of heterozygous genotype was observed in Holstein, on the contrary the highest frequency of homozygous genotype of deleted allele was observed in Czech Fleckvieh. In polymorphism indel 12 bp the highest frequency of both deleted alleles was observed in Holstein. In this breed homozygous genotype +/+ was observed too, compared to Czech Fleckvieh – in this breed heterozygous genotype was mostly represented. The genotype of this polymorphism of number of octapeptide repeat was determined also by PCR. In Holstein the genotype 6/6 was the most frequent, the genotype 5/5 wasn't found. In Czech Fleckvieh the most frequent genotype was the same (6/6), but the genotype 5/5 was found and the genotype 5/6 was more frequent than in Holstein. For indel polymorphism probable haplotypes were designed with combination of effects of both genotypes. Haplotype 23del/12del which is linked to increased danger of incidence BSE was the most often observed in both breeds. Haplotype 23ins/12ins whose some scientists connect with resistance was observed in the same frequency. The association analysis of all 3 polymorphisms in gene *PRNP* was made - indel 23 bp was observed in all 3 genotypes in Holstein and was statistically significantly associated with some breeding values.

Key words: BSE, prion, PRNP, polymorfismus, indel

ÚVOD

Prionový protein je považován za původce skupiny onemocnění označovaných jako transmisivní spongiformní encefalopatie (TSE). K nejvýznamnějším onemocněním patří Creutzfeldt-Jakobova choroba (CJD) u člověka a bovinní spongiformní encefalopatie (BSE) u skotu. Charakteristickým znakem onemocnění je dlouhá inkubační doba a to, že vždy končí smrtí. Priony jsou infekční agens zodpovědné za TSE a jsou charakterizovány přeměnou buněčného prionového proteinu (PrP^{C}) na patogenní formu (PrP^{Sc}) (Knowles and Zahn, 2006). Obě formy proteinu (buněčná i patogenní) mají stejnou aminokyselinovou sekvenci ale rozdílné fyzikální vlastnosti (MacGregor, 2001). Aminokyselinová sekvence prionů je u různých druhů savců z 90 % homologní. U turovitých a jelenovitých má prion délku 256 aminokyselin. Postranslačními úpravami dojde ke zkrácení proteinu na 210 aminokyselin (Goldmann, 2008). Protein je přenašečem s nejméně 1 vazebným místem pro Cu^{2+} (Novakofski *et al.*, 2005), které je oktarepetitivní doménou na N-konci proteinu (Dormon, 2002). Tato místa jsou bohatá na prolin a glycin a obvykle jich bývá 5 (Harris, 1999). Funkce PrP^{C} ve zdravém organismu zůstává neznáma. (Dormont, 2002). Jeho struktura je ze 42 % alfa helix a jen 3 % tvoří beta skládaný list na rozdíl od PrP^{Sc} (MacGregor, 2001).

PrP^{Sc} je abnormální patologická izoforma prionového proteinu, která se od PrP^{C} liší konformační strukturou. Jeho struktura je ze 30 % alfa helix a z 42 % beta skládaný list. (MacGregor, 2001). Jedna z nejvíce pozoruhodných charakteristik PrP^{Sc} je jeho rezistence pro inaktivaci čistícími a sterilizačními technikami. Nelze ho zničit formaldehydem, hydrogen peroxidem, ethanolem, etherem nebo acetonem. Má i vysokou odolnost k teplotám, účinná je teplota 121°C nebo více po dobu delší než 30 minut. (Novakofski *et al.*, 2005).

Gen prionového proteinu *PRNP* (*PrP*, *prn-p*) kóduje prionový protein, který hraje důležitou roli v transmisivních spongiformních encefalopatiích. U skotu se nachází na 13. chromozomu v pozici q17 (Goldmann, 2008; Czarnik *et al.*, 2007). Délka genu je přibližně 21 kb a obsahuje 3 exony. Exon I má délku 53 bp a exon II 98 bp a tvoří nekódující 5'UTR oblast transkriptu. Exon 3 má velikosti asi 4 kb a obsahuje celý ORF o délce 795 bp (Gurgul and Słota, 2007; Goldmann, 2008). Gen obsahuje 2 introny, a to intron I o délce 2 442 bp a intron II o délce 13 552 bp (Hills *et al.*, 2001). Jedním z nejdůležitějších polymorfizmů v kodující oblasti genu *PRNP* jsou oktapeptidové repetice které zahrnují 3 alely: s 5ti, 6ti nebo 7mi opakováními 24 bp, které kódují 8 aminokyselin na N-konci prionového proteinu (Pro-His-Gly-Gly-Gly-Trp-Gly-Gln) (Goldmann, 2008). Alela 6 a genotyp 6/6 se vyskytuje nejčastěji, zatímco alela 7 byla nalezena jen u plemene brown swiss (Walawski and Czarnik, 2003). Korelace mezi variabilitou oktarepetitivních genotypů nebyla potvrzena, nicméně u homozygotů pro alelu 5 nebylo nikdy nalezeno onemocnění BSE (Nakamitsu *et al.*, 2005), čemuž ovšem odporuje tvrzení Geldermanna *et al.* (2006), který našel genotyp 5/5 u BSE nemocného skotu, objevil i genotyp 7/7 u zdravého i u BSE nemocného skotu. Alela 4 byla nalezena v genotypu 4/6 u býka plemene brown swiss (Seabury *et al.*, 2004). V nekódujících oblastech byl nalezeny jako nejdůležitější polymorfizmy se vztahem k odolnosti k BSE indels (inzerce/delece). Jedná se o indel 12 bp, který se nachází v intronu I a indel 23 bp, který se nachází v promotorové oblasti exonu I. Indel 12 bp obsahuje vazné místo pro transkripční

faktor Sp1. Pokud se v sekvenci vyskytuje alela s delecí, pak se zde nenaváže transkripční faktor. Indel 23 bp obsahuje vazné místo pro RP58 (repressorový protein s hmotností 58 kDa). Sekvence s 23 bp inzercí silně váže transkripční faktor, zatímco delece tuto vazbu oslabuje. Promotor s inzercí na obou polymorfních místech (23 bp ins-12 bp ins) překvapivě redukuje expresi genu ve srovnání s delecí v obou místech (23 bp del – 12 bp del) (Gurgul and Słota, 2007). U těchto polymorfizmů byla nalezena asociace s výskytem BSE a obě deletované alely byly statisticky průkazně ve vyšší frekvenci u BSE nemocných zvířat (Sander *et al.*, 2004). Homozygotní skot pro inzerci obou polymorfizmů, je považován za více rezistentní než skot který, má deletované alely (Brunelle *et al.*, 2008).

MATERIÁL A METODIKA

Testovaný soubor se skládal z 96 býků plemene holštýnský skot, z nichž 68 má v registru plemenných býků plemennou hodnotu mléčné užitkovosti, 68 býků plemene české strakaté, z nichž 22 má v registru plemenných býků plemennou hodnotu masné užitkovosti a mléčné užitkovosti a 20 má pouze plemennou hodnotu masné užitkovosti. U těchto vzorků byly metodou PCR stanoveny polymorfizmy oktapaptidových repetic a indel 23 bp a metodou PCR-RFLP polymorfizmus indel 12-bp. Podmínky cyklování po optimalizaci a sekvence primerů jsou uvedeny v tabulce číslo 1 a 2. Při stanovení polymorfizmu indel 12-bp bylo použito enzymu *SacII*. Alela s delecí 12 bp měla na gelu velikost 414 a alela s inzercí 12 bp byla štěpena na fragmenty o velikosti 276 bp a 150 bp.

Pro vyhodnocení předpokládaných haplotypů u indel polymorfizmů bylo využito programu Arlequin 3.1.(Excoffier *et al.*, 2005) a pro vyhodnocení vazbové nerovnováhy programu Genepop 4.0.6. (Raymond and Rousset, 1995). Pro asociční analýzu byl použit lineární model s pevnými efekty GLM, v programu SAS 9.1.3 (2004), pro každé plemeno zvlášť. Data pro tuto analýzu zahrnovala u plemene holštýnský skot tyto plemenné hodnoty pro mléčnou užitkovost: kg mléka, % tuku, kg tuku, % bílkovin, kg bílkovin a relativní plemennou hodnotu pro kg bílkovin. U plemene české strakaté zahrnovala plemenné hodnoty pro mléčnou užitkovost stejné jako u holštýnského skotu a navíc relativní plemenné hodnoty pro masnou užitkovost, a to pro: netto přírůstek, jatečné třídy, podíl masa a jatečnou výtěžnost.

Tab. 1 Sekvence primerů

Polymorfizmus	Primery
Oktapeptidové repetice	Přímý (A): 5'-ACG TGG GCC TCT GCA AGA AGC GAC-3' Zpětný (B): 5'-GCA CTT CCC AGC ATG TAG CCA CCA-3' Premzl <i>et al.</i> , (2000)
indel 23 bp	Přímý (A): 5'-GTG CCA GCC ATG TAA GTG-3' Zpětný (B): 5'- TGG ACA GGC ACA ATG GG -3' Sander <i>et al.</i> , (2004)
indel 12 bp	Přímý (A): 5'-CTT CTC TCT CGC CGC AGA AGC AG -3' Zpětný (B): 5'- CCC TTG TTC TTC TGA GCT CC -3' Nakamitsu <i>et al.</i> (2005)

Tab. 2 Podmínky cyklování reakce

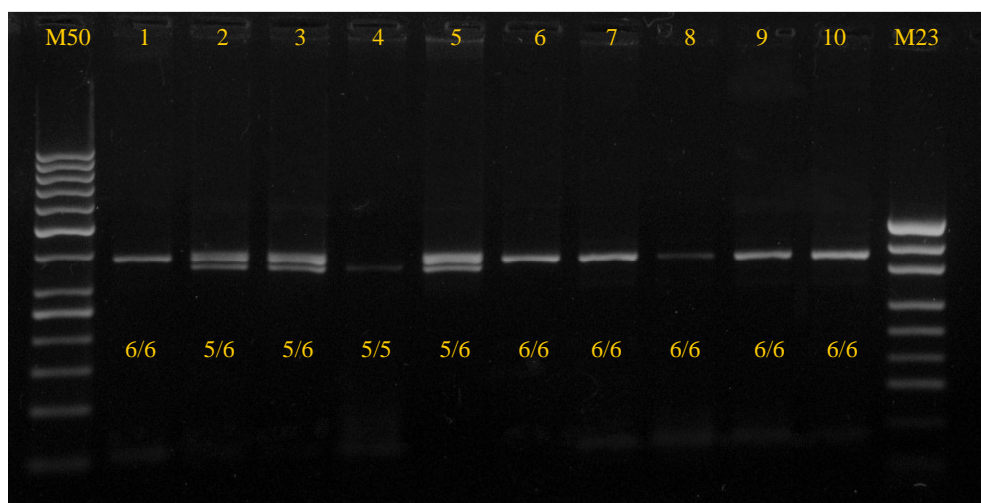
Polymorfizmus	Podmínky cyklování po optimalizaci
oktapeptidové repetice	95°C/2 min, 30x (95°C/20 s, 65°C/30 s, 72°C/30 s), 72°C/7 min
indel 23 bp	94°C/4 min, 30x (94°C/30 s, 60°C/30 s, 72°C/20 s), 72°C/7 min
indel 12 bp	95°C/4 min, 30x (94°C/30 s, 62°C/30 s, 72°C/20 s), 72°C/7 min

VÝSLEDKY A DISKUZE

Detekce a frekvence genotypů

Genotyp oktapeptidových repetic

Detekce genotypu byla provedena na 2% agarózovém gelu, byly detekovány genotypy 5/5, 5/6 a 6/6. Alela 5 měla délku PCR produktu 349 bp a alela 6 373 bp. Viz. obrázek číslo 1.



Obr. 1 Gel pro vizualizaci oktapeptidových repetic

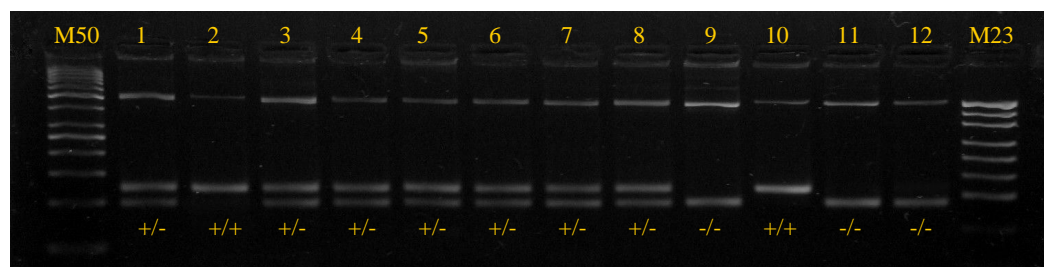
Frekvence polymorfizmů oktapeptidových repetic jsou uvedeny v tabulce 3. Zkoumaná populace se v tomto lokusu nachází v Hardy-Weinbergově rovnováze. U holštýnského skotu nebyla nalezena alela 5/5 na rozdíl od souboru české strakatého skotu, u něhož byla také zjištěna nižší frekvence alely 6, nicméně u obou plemen tato alela převažuje; tyto výsledky korespondují s výsledky Vrtková *et al.* (2001), Walawski a Czarnik (2003), Sander (2004), Nakamitsu *et al.* (2005), Jeong *et al.* (2005), Miluchová *et al.* (2006), Saunder *et al.* (2007), Tkáčiková *et al.* (2007). Oproti tomu Tkáčiková *et al.* (2007) našla u slovenského strakatého skotu, který má shodný fylogenetický původ s českým strakatým skotem, frekvenci heterozygotů pouze 0,023 a žádného homozygota pro alelu 5. Nakamitsu *et al.* (2005) prezentuje, že tu tohoto homozygota (5/5) nebylo nikdy nalezeno onemocnění BSE, ovšem Geldermann *et al.* (2006) uvádí, že tento genotyp našel i mezi skotem nemocným BSE a Miluchová *et al.* (2006) dokonce považuje tento genotyp za zodpovědný za onemocnění BSE.

Tab. 3 Polymorfismus oktapeptidových repetic u testovaného souboru skotu

Plemeno	Počet zvířat	Frekvence genotypů			Frekvence alel		Heterozygotnost		P
		5/5	6/5	6/6	5	6	pozorovaná	očekávaná	
Holštýnský skot	96	0	0,094	0,906	0,047	0,953	0,0938	0,0898	1,000
Český strakatý skot	68	0,015	0,206	0,779	0,118	0,882	0,2059	0,2092	1,000

Genotyp indel 23 bp

Detekce genotypu byla provedena na 3% agarózovém gelu, byly detekovány genotypy +/+, +/- a -/-. Alela, ve které se nachází inserce, měla délku PCR produktu 123 bp a alela s delecí 100 bp. Při PCR vznikaly i nespecifické produkty, které se i po optimalizaci nepovedlo odstranit, ovšem velikost těchto nespecifit byla nad 500 bp a nijak nevadila ani neovlivňovala odečítání genotypů. Viz. obrázek číslo 2.



Obr. 2 Gel pro vizualizaci indel 23 bp

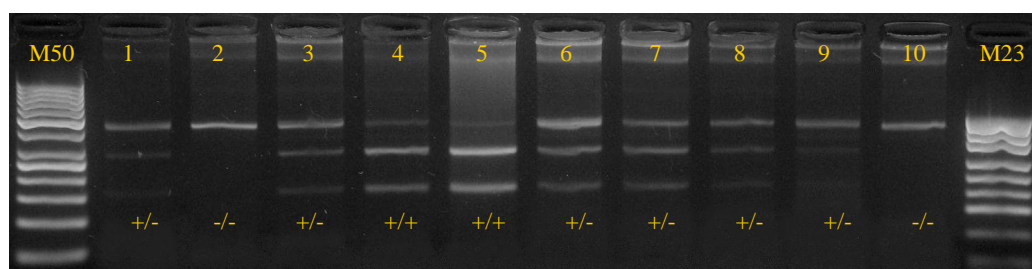
Frekvence polymorfizmů indel 23 bp jsou uvedeny v tabulce číslo 4. Zkoumaná populace se v daném lokusu nachází v Hardy-Weinbergově rovnováze. U holštýnského skotu je nejvyšší zastoupení heterozygotního genotypu, ale u českého strakatého je to homozygot pro deletovanou alelu. U obou plemen převládá frekvence deletované alely. Pokud porovnáme frekvence u plemene holštýnský skot s ostatními publikacemi, tak musíme konstatovat: populace ve spojených státech má srovnatelné genotypové i alelové zastoupení (Brunelle *et al.*, 2008), stejně je tomu tak i u populace v Německu a Anglii (Juling *et al.*, 2006) a Polsku (Czarnik *et al.*, 2007) ovšem v Japonsku (Nakamitsu *et al.*, 2005) je nejvíce zastoupeným genotypem (0,63) -/- a také deletovanou alelou (0,79). U českého strakatého skotu jsou výsledné frekvence shodné jakou u německého strakatého skotu (Juling *et al.*, 2006).

Tab. 4 Polymorfismus indel 23 bp u testovaného souboru skotu

Plemeno	Počet zvířat	Frekvence genotypů			Frekvence alel		Heterozygotnost		
		+/+	+/-	-/-	+	-	pozorovaná	očekávaná	P
Holštýnský skot	96	0,188	0,458	0,354	0,417	0,583	0,4583	0,48866	0,671
Český strakatý skot	68	0,059	0,426	0,515	0,272	0,728	0,42647	0,39902	0,761

Genotyp indel 12 bp

Detekce genotypu byla provedena na 3% agarózovém gelu, po restrikci PCR produktů. Byly nalezeny alely +/+, +/- a -/-. Alela, v které se nachází inserce, tedy i štěpné místo pro endonukleázu *SacII* má na gelu délku 276 a 150 bp a alela s delecí má délku 414 bp. Viz. obrázek číslo 3.



Obr.3 Gel pro vizualizaci indel 12 bp

Frekvence polymorfizmů indel 12 bp jsou uvedeny v tabulce číslo 5. Hodnota P je menší než 0,05 u obou plemen, tedy testovaná populace se v daném lokusu nenachází v Hardy-Weinbergově rovnováze. U populace holštýnského skotu je nejfrekventovanějším genotypem homozygot pro deletovanou alelu, zatímco u českého strakatého jím je heterozygot. Obě plemena mají vyšší zastoupení deletované alely. U holštýnského skotu v

populaci v USA (Brunelle et al., 2008) je nejvyšší zastoupení heterozygotního genotypu, ale také převládá deletovaná alela. Podobné zastoupení jako v USA je nalezeno i u holštýnského skotu v Německu, Anglii (Juling et al., 2006) a Polsku (Czarnik et al., 2007). Ovšem shodné frekvence genotypů a alel našel Nakamitsu et al. (2005). U plemene český strakatý nebyl nalezen genotyp +/+ na rozdíl od výsledků Juling *et al.* (2006) a nejfrekventovanějším je shodně heterozygotní genotyp.

Tab. 5 Polymorfismus indel 12 bp u testovaného souboru skotu

Plemeno	Počet zvířat	Frekvence genotypů			Frekvence alel		Heterozygotnost		
		+/+	+/-	-/-	+	-	pozorovaná	očekávaná	P
Holštýnský skot	96	0,021	0,479	0,5	0,260	0,740	0,47917	0,38722	0,0005
Český strakatý	68	0	0,574	0,426	0,287	0,713	0,57353	0,41209	0,0007

Haplotypová analýza

Frekvence předpokládaných haplotypů jsou v tabulce číslo 6.

Tab. 6 Frekvence předpokládaných haplotypů

Haplotypy	Holštýnský skot	Český strakatý skot
23 ins 12 ins	0,223	0,191
23 del 12 del	0,549	0,632
23 ins 12 del	0,192	0,081
23 del 12 ins	0,036	0,096

Haplotyp s převažující frekvencí byl 23del/12del a tento haplotyp je podle Juling *et al.* (2006) spojen s zvýšeným nebezpečím výskytu BSE a naopak haplotyp 23ins/12ins vyskytující se v této studii jako druhý nejvíce zastoupený shodně u obou plemen je považován za „rezistentní“ haplotyp. U testovaných zvířat byly zjištěny 4 haplotypy, oproti tomu Brunelle et al (2008) nenalezl u holštýnského skotu v USA haplotyp 23ins/12del, a haplotyp 23ins/12ins našel ve frekvenci 0,43, nicméně haplotyp 23del/12del byl u jeho populace stejně jako u výsledků této práce nejzastoupenější. Czarnik et al. (2007) u testované populace holštýnského skotu také nenalezl u býků haplotyp 23ins/12del ovšem u krav této populace nalezen byl, i zde se nejvíce vyskytoval haplotyp 23del/12del. Juling et al. (2006) neobjevil již zmiňovaný haplotyp 23ins/12del ani u holštýnského skotu v Německu a Anglii a ani u strakatého skotu v Německu. V obou zemích převládal u holštýnského skotu genotyp 23del/12del (UK 0,63 a Německo 0,53), což je překvapující vzhledem k epidemii BSE v UK.

Tento jev vysvětluje Juling *et al.* (2006) různým podmínkám prostředí jako například rozdílné používání masa a masa odřezaného od kosti ve výživě přežvýkavců. Ovšem v UK je již od roku 1996 přísný zákaz zkrmování živočišné bílkoviny všem hospodářským zvířatům, což polemizuje s tvrzením Julinga *et al.* (2006). Navíc se BSE objevilo i u zvířat narozených po zákazu zkrmování živočišných bílkovin přežvýkavcům, i když v menší míře.

Asociační analýza

Vzhledem k neznalosti přesné funkce prionového proteinu byla provedena asociační analýza polymorfizmů jeho genu s produkčními znaky zastoupenými plemennými hodnotami. Tuto vazbu již naznačují někteří autoři (Czarnik *et al.*, 2007). Asociace byla provedena u holštýnského a českého strakatého plemene s plemennou hodnotou pro kg mléka (PH1), % tuku (PH2), kg tuku (PH3), % bílkovin (PH4), kg bílkovin (PH5) a relativní plemennou hodnotou pro kg bílkovin (RPHM). U plemene české strakaté byla také provedena asociační analýza pro plemenné hodnoty pro masnou užitkovost, a to: plemennou hodnotu netto přírůstku (RPH1), jatečnou třídu (RPH2), podílu masa (RPH3) a jatečné výtěžnosti (RPH4), ale nebyly zde nalezeny žádné asociace mezi jednotlivými genotypy a masnými plemennými hodnotami. Následně jsou uváděny pouze výsledky u kterých byla nalezena statistická průkaznost.

Vliv polymorfizmu indel 23 bp

U holštýnského plemene byly nalezeny vysoce statisticky průkazné rozdíly pro genotyp -/- a +/- u plemenné hodnoty pro kg mléka (PH1). Statisticky průkazný rozdíl byl nalezen u genotypu -/- a +/+ pro plemennou hodnotu % tuku (PH2), kdy genotyp -/- koreluje s vyššími hodnotami a u stejných genotypů byla nalezena statisticky prokazatelná rozdílnost pro % bílkovin (PH4) se stejnou korelací. U plemenné hodnoty pro kg bílkovin (PH5) byla nalezen statisticky významný rozdíl u genotypů -/- a +/-, kde je heterozygotní genotyp asociován s vyšší plemennou hodnotou. Byl zjištěn i statistický rozdíl blížící se průkaznosti u relativní plemenné hodnoty pro kg bílkovin (PH5) mezi genotypem -/- a +/-, viz. tabulka číslo 7.

Tab. 7 Asociace polymorfizmu indel 23 bp pro plemeno holštýnský skot (LSM \pm S_E)

Lokus pro 23 bp indel pro 68 jedinců			
23 bp	-/-	+/-	+/+
PH1	-26,18** ^b \pm 158,59	598,99** \pm 149,25	461,01 ^b \pm 218,55
PH2	-0,01** \pm 0,07	-0,13 \pm 0,06	-0,25** \pm 0,09
PH3	-2,74 \pm 5,55	8,06* \pm 5,17	-7,08* \pm 7,57
PH4	0,02** \pm 0,04	-0,04 ^a \pm 0,03	-0,12** ^a \pm 0,05
PH5	-0,91** \pm 5,0	17,18** ^a \pm 4,70	5,33 ^a \pm 6,90
RPHM	94,21** \pm 3,02	105,16** ^b \pm 2,84	98,39 ^b \pm 4,16

Hodnoty se stejnými exponenty v řádku vykazují následující statisticky významné rozdíly
 ** $P \leq 0,01$, *, ^b $P \leq 0,05$, ^a blížíci se průkaznosti, LSM - průměrný nejmenší čtverec, S_E - střední chyba průměru

Vliv polymorfizmu indel 12 bp

Pro indel 12 bp byly nalezeny statisticky průkazné rozdíly mezi genotypy -/- a +/- pro PH5 a RPHM u plemene holštýnský skot a rozdíly blížíci se průkaznosti u PH1. U plemene české strakaté tyto rozdíly pro plemenné hodnoty mléka nebyly nalezeny žádné asociace a pro masné plemenné hodnoty byl nalezen rozdíl blížíci se statistické průkaznosti u RPH2, viz. tabulka číslo 8.

Tab. 8 Asociace polymorfizmu indel 12 bp pro plemeno holštýn (LSM \pm SE)

<i>H</i>	<i>Lokus pro 12 bp indel pro 68 jedinců</i>		
	<i>-/-</i>	<i>+/-</i>	<i>+/+</i>
<i>PH1</i>	508,92 ^a \pm 177,25	180,29 ^a \pm 137,38	-
<i>PH2</i>	-0,19 \pm 0,07	-0,06 \pm 0,06	-
<i>PH3</i>	-0,60 \pm 6,14	-0,58 \pm 4,76	-
<i>PH4</i>	-0,04 \pm 0,04	-0,05 \pm 0,03	-
<i>PH5</i>	13,10* \pm 5,61	1,28* \pm 4,34	-
<i>RPHM</i>	103,00* \pm 3,37	95,50* \pm 2,61	-

Hodnoty se stejnými exponenty v řádku vykazují následující statisticky významné rozdíly

** $P \leq 0,01$, * $P \leq 0,05$, ^a blížíci se průkaznosti, LSM - průměrný nejmenší čtverec, S_E - střední chyba průměru

ZÁVĚR

Cílem mé práce bylo stanovení genotypů u vybraných polymorfizmů v genu *PRNP* u souboru skotu plemen holštýnský skot a českého strakatého a provést statistickou analýzu dat.

U holštýnského plemene byla nalezena dominantní frekvence genotypu 6/6 a nebyl nalezen genotyp 5/5. U plemene české strakaté byl také dominantním genotypem 6/6, ovšem byl nalezen i genotyp 5/5 a genotyp 6/5 měl vyšší frekvenci než u holštýnského skotu. Obě plemena se pro tento polymorfizmus nacházejí v Hardy-Weinbergově rovnováze. U polymorfizmu indel 23 bp byla u holštýnského skotu nalezena nejvyšší frekvence heterozygotního genotypu, naopak u českého strakatého byl nejvíce zastoupen homozygotní genotyp pro deletovanou alelu. U polymorfizmu indel 12 bp byla u holštýnského skotu zjištěna nejvyšší frekvenci genotypu pro obě deletované alely -/-, ovšem heterozygotní genotyp byl také vysoce zastoupen, navíc byl u 2 jedinců zjištěn homozygotní genotyp +/+; tyto alely však nebyly zastoupeny u plemene české strakaté, kde převládal heterozygotní genotyp.

Pro indel polymorfizmy byly sestaveny pravděpodobné haplotypy, v nichž jsou zkombinovány efekty obou polymorfizmů. Haplotyp 23del/12del, který je spojen se zvýšeným nebezpečím výskytu BSE, byl nalezen v nejvyšší frekvenci u obou plemen. Zajímavé je, že vyšší předpokládanou frekvenci tohoto haplotypu měl český strakatý skot, i když holštýnský skot je plemeno, které je nejvíce spojováno s BSE. Haplotyp 23ins/12ins, který někteří autoři spojují s rezistencí, měl podobné zastoupení u obou plemen. U obou indelů bylo statisticky prokázáno, že se nalézají v oblasti s vysokou frekvencí vazbové nerovnováhy. Byl nalezen statisticky průkazný rozdíl u zastoupení genotypů v oktapeptidovém polymorfizmu a u genotypů 23 indel mezi testovanými plemeny, ovšem nebyl nalezen statisticky průkazný rozdíl ve variabilitě u genotypu indel 12 mezi plemeny.

Byla provedena asociační analýza genotypů 3 polymorfizmů v genu *PRNP*, přičemž nejvíce asociací měl 23 bp indel, který jako jediný byl testován ve všech třech genotypech u holštýnského skotu. Asociační analýza byla ovlivněna omezeným počtem býků s plemennými hodnotami v registrech a jejich nevyrovnaností v rámci roku narození a testování. Nicméně další asociační analýzy, s větším počtem vyrovnaných býků by mohla lépe odhalit asociaci mezi plemennými hodnotami a polymorfizmy v genu *PRNP*, tudíž i zřejmou funkcí prionového proteinu.

Vzhledem k tomu, že byly nalezeny podobné předpokládané haplotypové frekvence u býků českých plemen a holštýnského skotu v UK, dalo by se předpokládat obdobné zastoupení nemocných zvířat, což se nepotvrdilo. Obdobné frekvence byly zjištěny v Německu a dalších státech. Tato a další nejasnosti, jako například biologická funkce prionového proteinu, by měla motivovat vědce (a zvláště molekulární biology) k dalšímu výzkumu a objasnění přenosu a hlavně vzniku nemoci.

LITERATURA

BRUNELLE, B.W., KEHRLI, M.E.JR., STABEL, J.R., SPURLOCK, D.M., HANSEN, L.B., NICHOLSON, E. M. Short Communication: Allele, Genotype, and Haplotype Data for Bovine Spongiform Encephalopathy-Resistance Polymorphisms from Healthy US Holstein Cattle. *Journal of Dairy Science*, 2008, vol. 91, p. 338-342.

CZARNIK, U., ZABOLEWICZ, T., STRYCHALSKI, J., GRZYBOWSKI, G., BOGUSZ, M., WALAWSKI, K. Deletion/insertion polymorphism of the prion protein gene (PRNP) in Polish Holstein-Friesian cattle. *Journal of Applied Genetics*, 2007, vol. 48, no. 1, p. 69-71.

DORMONT, D. Prion diseases: pathogenesis and public health concerns. *FEBS Letters*, 2002, vol. 529, p. 17-21.

EXCOFFIER, L., LAVAL, G., SCHNEIDER, S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 2005, vol. 1, p. 47-50.

GELDERMANN, H., HE, H., BOBAL, P., BARTENSCHLAGER, H., PREUß, S. Comparison of DNA variants in the *PRNP* and *NFI* regions between bovine spongiform encephalopathy and control cattle. *Animal Genetics*, 2006, vol. 37, no. 5, p. 469-474.

GOLDMANN, W. PrP genetics in ruminant transmissible spongiform encephalopathies. *Veterinary Research*, 2008, vol. 39, no. 4, p. 30.

GURGUL, A., SŁOTA, E. Effect of Bovine PRNP Gene Polymorphisms on BSE Susceptibility in Cattle. *Folia Biologica*, 2007, vol. 55, no. 3-4, p. 81-86.

HARRIS, D.A. Cellular biology of prion diseases. *Clinical Microbiology Reviews*, 1999, vol. 12, p. 429-444.

HILLS, D., COMINCINI, S., SCHLAEPFER, J., DOLF, G., FERRETTI, L., WILLIAMS, J.L. Complete genomic sequence of the bovine prion gene (PRNP) and polymorphism in its promoter region. *Animal Genetics*, 2001, vol. 32, no. 4, p. 231-232.

JEONG, B.H., SOHN, H.J., LEE, J.O., KIM, N.H., KIM, J.I., LEE, S.Y., CHO, I.S., JOOY, S., CARP, R.I., KIM, Y.S. Polymorphisms of the prion protein gene (PRNP) in Hanwoo (*Bos taurus coreanae*) and Holstein cattle. *Genes & Genetic Systems*, 2005, vol. 80, p. 303-308.

JULING, K., SCHWARZENBACHER, H., WILLIAMS, J.L., FRIES, R. A major genetic component of BSE susceptibility. *BMC Biology*, 2006, vol. 4, p. 33-42.

KNOWLES, T.P.J., ZAHN, R. Enhanced Stability of Human Prion Proteins with Two Disulfide Bridges. *Biophysical Journal*, 2006, vol. 91, p. 1494-1500.

MACGREGOR, I. Prion protein and developments in its detection. *Transfusion Medicine*, 2001, vol. 11, no. 1, p. 3-14.

- MILUCHOVÁ, M., TRAKOVICKÁ, A., KULÍŠEK, V., BUJKO, J. Molekulový základ priónov, výskyt priónóz u ľudí a zvierat a ich klinická charakteristika a diagnostika. *Slovak Journal of Animal Science*, 2007, no. 2, vol. 40, p. 105-112.
- NAKAMITSU, S., MIYAZAWA, T., HORIUCHI, M., ONOE, S., OHOBA, Y., KITAGAWA, H., ISHIGURO, N. Sequence Variation of Bovine Prion Protein Gene in Japanese Cattle (Holstein and Japanese Black). *Journal of Veterinary Medical Science*, 2005, vol. 68, no. 1, p. 27-33.
- NOVAKOFSKI, J., BREWER, M.S., MATEUS-PINILLA, N., KILLEFER, J., MCCUSKER, R.H. Prion biology relevant to bovine spongiform encephalopathy. *Journal of Animal Science*, 2005, vol. 83, no. 6, p. 1455 - 1476.
- PREMZL, M., BOZIC, P., GAMULIN, V. PRNP octarepeat allele genotype frequencies among the modern and rare cattle breeds in Croatia. *Animal Genetics*, 2000, vol. 31, no. 6, p. 408 – 409.
- RAYMOND, M., ROUSSET, F. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, 1995, vol. 86, p. 248-249.
- SANDER, P., HAMANN, H., PFEIFFER, I., WEMHEUER, W., BRENIG, B., GROSCHUP M.H., ZIEGLER, U., DISTL, O., LEEB, T. Analysis of sequence variability of the bovine prion protein gene (PRNP) in German cattle breeds. *Neurogenetics*, 2004, vol. 5, no. 1, p. 19-25.
- SAUNDER, G.C., GRIFFITHS, P.C., CAWTHRAW, S., TOUT, A.C., WIENER, P., WOOLLIAMS, J.A., WILLIAMS, J.L., WINDL, O. Polymorphisms of the prion protein gene coding region in born-after-reinforced-ban (BARB) bovine spongiform encephalopathy cattle in Great Britain. *Journal of General Virology*, 2007, vol. 88, p. 1374-1378.
- SEABURY, C.M., HONEYCUTT, R.L., ROONEY, A.P., HALBERT, N.D., DERR, J.N. Prion protein gene (PRNP) variants and evidence for strong purifying selection in functionally important regions of bovine exon 3. *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, 2004, vol. 101, p. 15142-15147.
- VRTKOVÁ, I., KÚBEK, A., FILISTOWICZ, A., ŘEHOUT, V., DVOŘÁK, J. The polymorphism of PRNP gene in cattle. *Acta fytotechnica et zootechnica*, 2001, vol. 4, p. 160-163.
- WALAWSKI, K., CZARNIK, U. Prion octapeptide-repeat polymorphism in Polish Black-and-White cattle. *Journal of Applied Genetics*, 2003, vol. 44, no. 2, p. 191-195.

Name of publication: MendelNet'08 Agro – Proceedings of International Ph.D. Students Conference

Editors: Ing. Petr Škarpa, Ph.D.; Ing. Radim Cerkal, Ph.D.; Ing. Pavel Ryant, Ph.D.;
Mgr. Marie Konečná; Ing. Gabriela Růžičková, Ph.D.; Ing. Vítězslav Dostál;
Ing. Ivo Vyskočil.

Number of pages: 759

Publisher: Mendel University in Brno, Faculty of Agronomy
Zemědělská 1, 613 00 Brno
Czech Republic

ISBN: 978-80-7375-239-2

Contributions are published in original version, without any language correction.

www.af.mendelu.cz/mendelnet