



Faculty
of Agronomy

¹⁰⁹Agro
MendelNet



Mendel
University
of Agriculture
and Forestry
in Brno

90th
anniversary
1919–2009

Proceedings of
International Ph.D. Students Conference
November 25, 2009
Brno, Czech Republic

MENDEL UNIVERSITY OF AGRICULTURE AND FORESTRY IN BRNO

Faculty of Agronomy



⁰⁹ Agro
MendelNet

Proceedings of International Ph.D. Students Conference

2009, November 25th

BRNO

MendelNet '09 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'09 Agro

Brno, Czech Republic

2009, November 25th

Organizer

Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno

Acknowledgement:

The Conference MendelNet'09 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.

ISBN: 978-80-7375-352-8

Scientific Committee

Assoc. Prof. Ing. Josef Filípek, CSc.
Assoc. Prof. RNDr. Jana Kotovicová, Ph.D.
Assoc. Prof. Ing. Eduard Pokorný, Ph.D.
Assoc. Prof. Ing. Jan Pospíchal, CSc.
Mgr. Vilém Reinöhl, CSc.
Assoc. Prof. Ing. Jiří Skládanka, Ph.D.
Prof. 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. Vít Mareček
Ing. Ivo Vyskočil

Secretariat

Mgr. Marie Konečná
Ing. Petr Škarpa, Ph.D.

Reviewers

Ing. Gabriela Růžičková, Ph.D.
Ing. Petr Mareš
Ing. Petr Hlavinka, Ph.D.
Ing. Josef Los, Ph.D.
Ing. Tomáš Gregor, Ph.D.
Nagavalli Subbanna Kiran, Ph.D.
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 has reflected the faculty's life and events. Probably the most important change of the conference image is its gradual increase of the number of sections, 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 students with the opportunity to present their contributions in face of their colleagues and scientific commissions. Students acquire experience with active presentation and defence of results obtained from research on diploma and doctoral thesis. The discussions among participants and students are very valuable because it is the best training procedure for proper thesis defence in front of the commission. The **MendelNet'09 Agro Conference** is an ideal form for scientific survey acquirement in a given specialization.

Prof. Ing. Ladislav Zeman, CSc.

Dean of FA MUAF in Brno

Contents

Section Plant Production

POST-EFFECT OF INCREASING BOTTOM SEDIMENT ADDITIVES TO THE SUBSTRATUM ON LEAD UPTAKE BY PLANTS	
ARASIMOWICZ M., NIEMIEC M., WIŚNIEWSKA-KIELIAN B.	17
THE YIELD REACTION OF MALTING BARLEY ON SULPHUR AND NITROGEN FERTILIZATION	
BABIÁNEK P., RYANT P.	24
THE RELATION BETWEEN TEMPERATURE AND ONSET OF THE PHENOPHASES OF COMMON DOGWOOD (<i>CORNUS SANGUINEA</i> L.) DURING 1961 – 2008 IN THE CZECH REPUBLIC	
BARTOŠOVÁ L., ŽALUD Z.	33
INFLUENCE OF VEGETATION PERIOD ON THE NUTRIENT COMPOSITION OF ALFALFA	
DVOŘÁČKOVÁ J., DOLEŽAL P.	42
THE COMPARISON BETWEEN THE EVAPOTRANSPIRATIONS OF SHORT ROTATION COPPICE AND THE REFERENCE GRASSY SURFACE	
FISCHER M., ŽALUD Z.	48
EFFECT OF SULPHUR NUTRITION ON THE NUTRITIONAL VALUE OF BROCCOLI	
FRANKOVÁ M., RYANT P.	59
THE REACTION OF SUNFLOWER (<i>HELIANTHUS ANNUUS</i> L.) ON DIFFERENT DOSES OF N FERTILIZATION AND THEIR APPLICATION DATES	
GALLIKOVÁ M., KOVÁČIK P.	74
TESTING OF BIOLOGICAL SUBSTRATES FOR ANAEROBIC DEGRADATION	
HODOVAL J., PULKRÁBEK J.	80
OCCURRENCE OF FUSARIUM SPP. ON THE CORN KERNEL (<i>ZEA MAYS</i> L.)	
KMOCH M., ŠAFRÁNKOVÁ I.	87
ASSESSMENT OF REDUCED DOSES EFFICACY OF GLYPHOSATE BY CHLOROPHYLL FLUORESCENCE MEASUREMENT	
KOCUREK V., SMUTNÝ V.	95
THE ROOT SYSTEM CAPACITY DEVELOPMENT IN RELATION TO NUTRITION AND FERTILIZATION AND TILLAGE METHODS CONCERNING THE AMOUNT OF GRAIN PRODUCTION OF SPRING BARLEY	
KUPECSEK A., MOLNÁROVÁ J.	101
EFFICACY COMPARISON OF CONVENTIONAL AND ORGANIC FUNGICIDAL SYSTEMS AGAINST POWDERY MILDEW (<i>PODOSPHAERA LEUCOTRICHA</i>)	
PSOTA V.	108
USE OF MEAT AND BONE MEAL IN THE NUTRITION OF CORN FOR GRAIN	
RADA V., RYANT P.	115

EFFECT OF SULPHUR APPLICATION ON MALTING BARLEY QUALITY RADOCH T., HRIVNA L.	129
THE ENERGY INTENSITY OF DIFFERENT CULTIVATION METHODS OF WINTER WHEAT REŽO L., POSPIŠIL R.	136
ROOT SYSTEM AS A FACTOR OF OILSEED RAPE YIELD FORMATION STŘEDA T., DOSTÁL V., ULLMANNOVÁ K.	141
THE RESISTANCE OF POLLEN BEETLES (<i>MELIGETHES AENEUS FABRICIUS 1775</i>) TO PYRETHROIDS IN THE ENVIRONS OF BRNO ŠKUTOVÁ J., KOLAŘÍKOVÁ E., MLÝNSKÁ J., HRUDOVÁ E., SEIDENGLANZ M., POSLUŠNÁ J., KOLAŘÍK P.	147
THE FOOD PREFERENCE OF GRANARY WEEVIL (<i>SITOPHILUS GRANARIUS L.</i>) TO DIFFERENT WHEAT VARIETIES TÓTH P., HRUDOVÁ E., VEJRAŽKA K.	152
YIELD OF BIOMASS AND NUTRIENTS AT THE RENEWED PASTURE URBANOVÁ P., VESELÝ P., SKLÁDANKA J., ČÁP J.	158

Section Animal Production

INFLUENCE OF FEEDING RATION ON VALUES OF BLOOD PARAMETERS OF COWS ON FIRST LACTATION AND DAIRY COWS IN PERIOD AFTER CALVING BALABÁNOVÁ M., URBANOVÁ P., LOHNISKÝ A., ZEMAN L.	164
THE CORN SILAGE DIGESTIBILITY BY HORSES BLAŽKOVÁ K., HOMOLKA P., MARŠÁLEK M.	171
YEASTS IN DAIRY NUTRITION ČERMÁKOVÁ J., DOLEŽAL P., KUDRNA V.	177
INFLUENCE OF LACTATION SEQUENCE ON PERFORMANCE MILKS DAIRY COWS CZECH SPOTTED RACIAL BOVINE ANIMALS ČERNÝ T., CHLÁDEK G.	186
MONITORING AND ASSESSMENT OF THE NIGHT FEEDING BEHAVIOUR OF DAIRY COWS IN TWO DIFFERENT YEAR SEASONS ERBEZ M., FALTA D., CHLÁDEK G.	192
EFFECT OF FEEDING OF MOULDED MIXTURES ON GROWTH INTENSITY OF LABORATORY RATS HORKÝ P.	197
THE EFFECT OF AGE AND INTENSITY OF GROWTH UPON RETENTION OF CALCIUM IN BODY OF CHICKENS HOUSEROVÁ J., ZELENKA J.	203

THE GROWTH INTENSITY OF PHEASANT CHICKENS FATTENED WITH DIFFERENT DIETS	
HUDEČKOVÁ P., ZAPLETAL D., VITULA F., KROUPA L.	210
THE EFFECT COMPOSITION OF DIETS ON DIGESTIBILITY OF MINERALS	
JANČÍKOVÁ P., ZEMAN L.	217
THE NUTRIENTS INTAKE FROM FARM FODDERS USED FOR SUPPLEMENTAL FEEDING OF EUROPEAN BISON	
JĘDROSZCZYK R., WILICZKIEWICZ A.	223
CHANGES IN MILK YIELD AND BASIC PARAMETERS OF SHEEP MILK IN CROSSBREDS WITH DOMINANT SHARE OF LACAUNE BREED DEPENDING ON THE STAGE LACTATION	
KONEČNÁ L., KUČTÍK J.	228
MINERAL COMPOSITION OF THE TISSUES AND THE SKELETON OF TWO SPECIES OF FISH	
KUBIZNA J., JAMROZ D.	233
ELECTROPHYSICAL PROPERTIES OF THE STALLION EJAKULATE	
MAMICA O., MÁCHAL L., SEVERA L., ŠVÁBOVÁ L.	236
THE FACTORS INFLUENCING THE NUMBER OF INSEMINATIONS NECESSARY TO FERTILIZE A MARE	
NOVOHRADSKÁ V., JISKROVÁ I.	240
EVALUATION OF PERFORMANCE HORSES IN WESTERN COMPETITIONS IN THE CZECH REPUBLIC	
PETLACHOVÁ T., JISKROVÁ I.	244
EVALUATION OF BASIC BODY MEASURES OF THE WELSH PONIES AND COBS	
PÍŠOVÁ M., JISKROVÁ I.	249
INFLUENCE OF APPLICATION OF HORMONE ON HEAT SYNCHRONIZATION AT CROSSBRED GILTS [POLISH LARGE WHITE X POLISH LANDRACE]	
PLAZAK E., GAJEWCZYK P.	255
DYNAMIC OF CHANGES OF DAILY MILK YIELD AND BASIC MILK COMPONENTS IN EAST FRIESIAN EWES DURING LACTATION	
POKORNÁ M., KUČTÍK J.	258
THE EFFECT OF TREATMENT OF MAIZE AGAINST EUROPEAN CORN BORER (OSTRINIA NUBILALIS) ON THE RUMEN DEGRADABILITY OF STARCH IN THE MAIZE SILAGE	
POŠTULKA R., DOLEŽAL P.	263
THE DYNAMICS OF OCCURRENCE OF SPERMATOZOA WITH PATHOLOGIC CHANGES AND EJACULATE QUALITY INDICATORS IN COCKEREL	
ŠVÁBOVÁ L., MÁCHAL L., SEVERA L., MAMICA O.	267

THE EVALUATION OF PROGRESS OF BODY PARAMETERS IN BELGIAN SHEPHERD GROENENDAEL AND TERVUEREN IN CZECH REPUBLIC IN 1999 – 2006

VÁGENKNECHTOVÁ M., HOŠEK M. 272

EFFECT OF CONSERVATION ADDITIVE ON FERMENTATION PROCESS QUALITY OF BREWER GRAINS' SILAGE WITH ADDITION OF ABSORBENT HUMIDITY

VYSKOČIL I., DOLEŽAL P., DVOŘÁČKOVÁ J., POŠTULKA R. 279

SUITABILITY OF ELAND (*TAUROTRAGUS ORYX*) FOR FULL DOMESTICATION

ZEJDOVÁ P., KOTRBA R., CHLÁDEK G. 284

Section Agroecology

END OF LIFE TYRE – A VALUABLE RESOURCE WITH GROWING POTENTIAL

ADAMCOVÁ D., KOTOVICOVÁ J. 291

THE APPLICATION OF PROFILE CHARACTERISTICS OF SOIL PHYSICS PARAMETERS IN ARCHEOLOGICAL RESEARCH ON THE EXAMPLE OF MIKULČICE LOCALITY

HLADKÝ J., POKORNÝ E. 302

THE STUDY ALTERNATIVE OPTIONS TO THE PROSPECTIVE ACCUMULATION OF SURFACE WATER LOKATIONS SKRYJE

KNIEZKOVÁ T., HUBAČÍKOVÁ V. 307

THE EFFECT OF FERTILIZATION WITH BIODEGRADABLE WASTE COMPOSTS ON FRACTIONAL COMPOSITION OF SOIL HUMUS

KONCEWICZ-BARAN M., GONDEK K. 319

PROPOSAL OF ANTIEROSION SOIL PROTECTION IN TROSKOTOVICE CADASTRAL TERRITORY

LIPOVSKÁ Z., TOMAN F. 329

APPLICATION LIFE CYCLE ASSESSMENT OF INDUSTRIAL FLOORS IN AGRICULTURAL PRODUCTION

MALÝ K., KOTOVICOVÁ J. 354

BUFFERING ABILITY OF SOIL TYPES REGOSOL AND PHAEZEMES

MARTINEC J. 363

EFFECT OF AUTOMOBILE TRAFFIC ON MORTALITY OF SELECTED SPECIES OF MAMMALS

MRTKA J., BORKOVCOVÁ M., VESELÝ P. 370

RURAL DEVELOPMENT SOUTHERN MORAVIA REGION UNDER THE INFLUENCE OF GLOBALIZATION

NÁPLAVOVÁ M., NOVOTNÁ K., VAISHAR A. 383

ASSESSMENT OF WATER-SOLUBLE HEAVY METAL FORM CONTENTS IN COMPOSTED BIODEGRADABLE MUNICIPAL WASTES	
OZIMEK A., GONDEK K., KOPEČ M.	399
EUROPEAN UNION FOREST FIRES, CORRELATED WITH THE CLIMATE CHANGE	
PAULIUC E. S., PROOROCU M.	406
PHOSPHATE ACTIVITY OF MICROORGANISMS IN PLANT COMMUNITIES SOILS AFFECTED BY CLIMATE CHANGE	
PAVLÍKOVÁ D., SZOSTKOVÁ M., ZÁHORA J.	413
BIOLOGICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF EUTRIC CAMBISOL	
PETRÁŠOVÁ V., POSPÍŠILOVÁ L., POKORNÝ E.	419
FOCUSING OF METALS IN LIGAND FIELD STEP GRADIENT	
ŠÍŠPEROVÁ E., GLOVINOVÁ E., POSPÍCHAL J.	425
DYNAMICS OF SOME HEAVY METALS CONTENT IN FUR ANIMAL EXCRETA DURING COMPOSTING PROCESS	
TABAK M., FILIPEK-MAZUR B.	434

Section Food Technology

TEXTURAL PROPERTIES OF SOY MEAT ANALOGS	
HANZELKOVÁ Š., SIMEONOVÁ J.	441
EFFECT OF MALTING BARLEY STEEPING TECHNOLOGY ON WATER CONTENT	
HOMOLA L., HRIVNA L.	449
DRESSING PERCENTAGE AND MEAT COMPOSITION OF BROILERS FED DISTILLERS DRIED GRAINS WITH SOLUBLES	
HOŠKOVÁ Š., LICHOVNÍKOVÁ M., URBANOVÁ P., SKLÁDANKA J., HOŠEK M., ZEMAN L.	456
DYNAMIC CHANGE OF TECHNOLOGICAL QUALITY OF SUGAR BEET DURING GROWTH	
CHODUROVÁ M., HRIVNA L.	460
THE DETERMINATION OF EXTRACT IN BARLEY BY THE ENZYMATIC WAY	
KARÁSKOVÁ I., GREGOR T.	468
THE INFLUENCE OF GRAPE PROCESSING AND WINEMAKING TECHNIQUES ON PHENOLIC COMPOUNDS IN WINE PRODUCED FROM MALVERINA WINEGRAPE VARIETY, SOUTH MORAVIA, CZECH REPUBLIC	
KHAFIZOVA A., MICHLOVSKÝ M.	474

MICROBIAL CONTAMINATION OF FRUIT TEAS	
KONEČNÁ H., KALHOTKA L.	481
MICROFLORA OF KETCHUP	
KOZELKOVÁ M., KALHOTKA L.	489
MICROBIOLOGY ASPECTS SALES OF DEEP - FROZEN MILK PRODUCE	
KRUPKOVÁ D., KALHOTKA L.	495
ALPHA-AMYLASE ENZYME ACTIVITY IN MALT MADE FROM SELECTED SPRING BARLEY VARIETIES INTENDED FOR BEER PRODUCTION	
MICHNOVÁ M., EHRENBERGEROVÁ J., CERKAL R.	501
VACUUM VERSUS MODIFIED ATMOSPHERE IN STORAGE OF SAUSAGES	
MUSILOVÁ M., JŮZL M., KALHOTKA L.	507
POSBILITES OF LEADS TRANSFER IN INDIVIDUAL ANATOMIC PARTS OF POTATO (<i>SOLANUM TUBEROSUM</i> L.) CULTIVATED IN THE SOIL CONTAMINATED BY RISK ELEMENTS	
PELTZNEROVÁ L., TOMÁŠ J., SZABÓOVÁ G.	511
EFFECT OF POST-HARVEST MATURATION ON GERMINATION QUALITY OF MALTING BARLEY VARIETIES	
POLÁK O., PSOTA V., SACHAMBULA L.	518
ESTIMATION OF THE ANTIOXIDATIVE PROPERTIES OF THE NATURAL POLYPHENOLS IN THE OXIDATION PROCESS OF MODEL LIPOSOME MEMBRANES	
SIERZANT K., GABRIELSKA J.	524
EFFECT OF PLANT EXTRACTS ON MICROBIOLOGICAL PURITY OF FENNEL (<i>FOENICULUM VULGARE</i> VAR. <i>VULGARE</i> MILL.) DURING STORAGE	
STAŇKOVÁ B., RŮŽIČKOVÁ G., KALHOTKA L.	532
THE RISK ELEMENTS CONTENT IN SOIL, SWEET CORN (<i>ZEA MAYS</i> L. <i>CONVAR. SACCHARATA</i>) AND SPINACH BEET (<i>SPINACIA OLERACEA</i>) CROPPED IN INTENSIVELY AGRICULTURAL USED AREA OF MIDDLE SLOVAKIA	
SZABÓOVÁ G., TOMÁŠ J., PELTZNEROVÁ L., ÁRVAY J.	541
PCR IN DETECTION OF FUNGAL CONTAMINATIONS IN POWDERED PEPPER	
TROJAN V., HANÁČEK P., HAVEL L.	549

Section Plant Biology

THE INFLUENCE OF STRIGOLACTONE ON AUXIN TRANSPORT	
BUCHTOVÁ D., CHMELOVÁ D., KALOUSEK P., BALLA J., PERNISOVÁ M., REINÖHL V., PROCHÁZKA S.	560

STUDY OF GENOME SIZE EVOLUTION

ČEGAN R., OBSÍVAČOVÁ V., KUBEKOVÁ H., KEJNOVSKÝ E., ŠAFÁŘ J.,
VYSKOT B., HOBZA R. 567

**PROTEOMIC ANALYSIS: UNCOVERING THE SIGNALING
PATHWAYS IN PLANTS**

ČERNÝ M., BRZOBOHATÝ B. 573

**PHOSPHOPROTEOME DYNAMICS IN RESPONSE TO CYTOKININ
TREATMENT IN *ARABIDOPSIS***

DIVÍŠKOVÁ E., BRZOBOHATÝ B. 576

**MAIZE BETA-GLUCOSIDASE ZM-P60.1 AND ITS MUTANT FORMS:
NOVEL SUBSTRATE SPECIFICITIES**

FILIPÍ T., MAZURA P., BRZOBOHATÝ B. 577

**MODULATION OF CYTOKININ ACTION BY DECREASED INTENSITY
OF WHITE LIGHT IN *ARABIDOPSIS* – A PROTEOMIC ANALYSIS**

JAJTNEROVÁ M., BRZOBOHATÝ B. 582

**EVALUATION OF THE ACTIVITY OF BARLEY COR/LEA GENES AFTER
THE APPLICATION OF THE EXOGENOUS ABSCISIC ACID**

MELIŠOVÁ L., EHRENBERGEROVÁ J., HOLKOVÁ L. 585

**IDENTIFICATION OF CANDIDATE HEAVY-METAL RESISTANCE
GENES IN GENUS *SILENE***

NEVRTALOVÁ E., HOBZA R. 592

**OXIDATIVE STRESS IN *NICOTIANA TABACUM* EXPRESSING
BACTERIAL IPT**

NOVÁK J., BRZOBOHATÝ B. 596

**CHANGES IN GENE EXPRESSION IN TOBACCO WITH INCREASED
CYTOKININ LEVEL**

PAVLŮ J., NOVÁK J., BRZOBOHATÝ B. 597

**RESPONSE OF SUSPENSION CULTURE BY-2 ON PRESENCE
OF ORGANIC POLLUTE**

SOLNICKÁ P., KLEMŠ M., HAVEL L. 598

**MATHEMATICAL AND STATISTICAL ANALYSIS OF THE MAGNITUDE
OF NITROGEN AS ONE OF THE NUTRIENTS OF INDUCTIONAL MEDIUM
BY TUBERIZATION OF POTATO *IN VITRO***

ŠTĚPÁN Z., KLEMŠ M. 602

**BREEDING OF TRITICALE FOR BETTER BREAD-MAKING QUALITY
USING DNA MARKERS**

TREBICHALSKÝ A., MARTINEK P., BALÁŽOVÁ Ž. 612

Section Animal Biology

USING OF DNA FROM DIFFERENT TISSUES OF RAPTORS (<i>FALCONIFORMES</i>) FOR STUDYING GENETIC DIVERSITY AND POPULATION STRUCTURE BRYNDOVA M., KOURKOVA L., URBAN T.	620
INBRED HORSE - A SOCIAL LOSER? EFFECT OF INBREEDING ON SOCIAL BEHAVIOUR AND SOCIAL SUCCESS IN AN INBRED POPULATION OF DOMESTIC HORSES DUBCOVÁ J., BARTOŠOVÁ J., KAŠPAR M., TYKALOVÁ R., KOMÁRKOVÁ M.	628
GENOTYPING OF <i>CLOSTRIDIUM DIFFICILE</i> FROM PATIENTS WITH SUSPECT INFECTION CDAD (<i>CLOSTRIDIUM DIFFICILE</i> ASSOCIATED DISEASE) ĎUĐÁKOVÁ L., GÁLOVÁ Z., MELTER O.	629
THE IGF2 AND NAMPT GENE POLYMORPHISMS AND ASSOCIATIONS WITH PERFORMANCE TRAITS IN CZECH LARGE WHITE PIG BREED CHALUPOVÁ P., WEISZ F., KNOLL A., URBAN, T.	638
ASSOCIATION OF SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IN TG, LEP AND TFAM GENES WITH CARCASS TRAITS IN CROSS-BREED CATTLE KAPLANOVÁ K., DVOŘÁK J., URBAN T.	647
MATERNAL INVESTMENT AND REPRODUCTION STRATEGY IN THE DOMESTIC HORSES (<i>EQUUS CABALLUS</i>) KOMÁRKOVÁ M., BARTOŠOVÁ J., DUBCOVÁ J.	652
EFFECTS OF GENOTYPE LEPR ON PRODUCTION TRAITS IN PIGS KOVÁČIK A., BULLA J., TRAKOVICKÁ A.	653
DETERMINATION OF DECLARED QUALITATIVE CHARACTERISTIC AND IDENTIFICATION OF ANIMAL NUCLEIC ACID IN FEEDSTUFFS NESVADBOVÁ M., VAŠÁTKOVÁ A., KNOLL A., ZEMAN L.	657
OVERWINTERING OF SPIDERS IN EMPTY LAND-SNAIL SHELLS IN XERIC HABITATS OF SOUTHERN MORAVIA NIEDOBOVÁ J., HULA V.	666
THE STANDARTIZATION OF RADIOSPECTROMETRIC ASSESMENT OF RADIOCESIUM (¹³⁷CS) IN FISH <i>IN VIVO</i> IN A MODEL AQUATIC ENVIRONMENT RŮŽIČKOVÁ E.	674
DEGRADATION OF NUCLEIC ACIDS IN VARIOUS LABORATORIAL CONDITIONS SEDLÁČKOVÁ T., KNOLL A., SVOBODOVÁ K.	679
INNERVATION OF UTERINE WALL IN ASPECT OF MUSCULAR LAYER CONTRACTION IN CAT'S REPRODUCTION CYCLE SOBCZYK I., KUROPKA P., SZYSZKOWSKA A.	687

THE INFLUENCE OF PITFALL TRAPS ON THE SOIL EPIGEAL FAUNA ŠAFÁŘ J., HULA V., ŠŤASTNÁ P., VÍTKOVÁ Z.	689
ASSOCIATION BETWEEN LACTOFERRIN GENE POLYMORPHISM AND BOVINE MAMMARY GLAND INFLAMATION ŠRUBAŘOVÁ P., DVORÁK J.	695
IDENTIFICATION OF A POSSIBLE NEW WAP ALLELE IN A ROMANIAN LOCAL PORCINE BREED ȘUTEU M., VLAIC A., BALTEANU V., POP F., PAULIUC S.	700
GENETIC DIVERSITY IN CAUCASIAN SHEPHERD AND CZECH TERRIER DOG BREEDS USING MICROSATELLITE LOCI TRUKSA M., URBAN T., PUTNOVÁ L.	706
ATYPICAL COMMUTING FLIGHTS OF FEMALES MOUSE-EARED BAT (<i>MYOTIS MYOTIS</i>) IN THE UNDERGROUNDS OF THE „NIETOPEREK“ BAT RESERVE (WESTERN POLAND) WAWROCKA K., KOKUREWICZ T.	712
ANALYSIS OF <i>SERPINE1</i> GENE VARIABILITY IN PIGS WEISZ F., KNOLL A.	715

Section Techniques and Technology

MIXING OF TWO- INGREDIENT GRAIN SYSTEM IN ROTATING AGITATOR BIŁOS Ł., SZWEDZIAK K.	723
MECHANICAL DEGRADATION OF ALUMINIUM ALLOYS DOSTÁL P., ČERNÝ M.	726
THERMAL EFFECT ON STRUCTURE OF INTERMETALLIC PHASES FE-ZN HORÁK K., ČERNÝ M.	736
THE PROCESSING OF BIOLOGICALLY DECOMPOSABLE WASTES IN „SBM“ TECHNOLOGY ARRANGEMENT JUNGA P., MAREČEK J.	744
BIOGAS TRANSFORMATION OF LIQUID SUBSTRATES KARAFIÁT Z., VÍTĚZ T.	754
BACTERIA DETENTION BY NANOTEXTILES LEV J., ČERNÝ M., KALHOTKA L.	761
HYGIENISATION OF SEWAGE SLUDGES MACH P., MAREČEK J.	767
USING OF PAPER SLUDGE WASTE MATERIAL, MADE OF CORRUGATED CARDBOARD AND SOLID FIBREBOARD SKLENÁŘ M., KOTOVICOVÁ J.	771

DYNAMICS OF THE HAY AGGREGATOR FELLA TS1602 HYDRO ŠMÍD V., BARTOŇ S.	773
RECYCLATION OF PLASTIC WASTES FROM PRODUCTION OF PVC ROOFING SHEETS ŠPAČEK I., KOTOVICOVÁ J.	790
THE DATA STRUCTURE AND ITS ELEMENTS AS GRAPHIC OUTPUT FOR GEOGRAPHIC INFORMATION SYSTEM IN THE ENVIRONMENT AND WASTE MANAGEMENT ŠTACHOVÁ Z., RYBÁŘ, R.	802
THE EFFECT OF THE LOAD OF A COMBUSTION ENGINE ON ENERGETIC AND PERFORMANCE PARAMETERS OF TRACTOR AGGREGATE TATÍČEK M., BAUER F., SEDLÁK P., ČUPERA J.	809
RESEARCH OF ANAEROBIC FERMENTATION OF ORGANIC MATERIALS IN SMALL VOLUME BIOREACTORS TRÁVNÍČEK P., VÍTĚZ T., DUNDÁLKOVÁ P., KARAFIÁT Z.	822
DIAGNOSTICS OF A HYDRAULIC PUMP STATUS USING ACOUSTIC EMISSION VARNER D., ČERNÝ M., MAREČEK J.	829

Section – Plant Production

POST-EFFECT OF INCREASING BOTTOM SEDIMENT ADDITIVES TO THE SUBSTRATUM ON LEAD UPTAKE BY PLANTS

Arasimowicz M., Niemiec M., Wiśniowska-Kielian B.

Department of Agricultural and Environmental Chemistry, University of Agriculture in Cracow, Al. Mickiewicza 21, 31-120 Cracow, Poland

E-mail: komorowska.monika@interia.pl

ABSTRACT

The aim of the studies was to estimate the post-effect of bottom sediment addition to the substratum on lead uptaking by the plants under the conditions of pot experiments. Very acid soil and bottom sediment dredged from Rożnów Reservoir were used for preparation of substrata. Bottom sediment share ranged between 0 and 16% of substratum mass. Tested plants were grown in orders: maize (*Zea mays* L.) and horse bean (*Vicia faba* L., var. *minor*) as well as oat (*Avena sativa* L.) and lupine (*Lupinus angustifolius* L.). The plants were harvested for green mass. The content of Pb in mineralisats obtained from plant material was determined by ICP-AES method. The total quantity of Pb removed with yield of the plants depending on species and part of the plant was compared and changes affected by bottom sediment share in substratum as well as previous plant cultivation were estimated. Under the conditions of substratum contaminated by lead significantly higher amounts of Pb were accumulated in roots than in tops of the plant. In average, the highest Pb contents were determined in lupine roots and horse bean tops, while the lowest data were found in maize roots and tops. Considering total quantity of Pb, the highest amounts were removed with yield of maize, and the lowest with yield of horse bean. The Pb translocation coefficients (TC) (content in the tops *versus* content in the roots) as well as the bioaccumulation coefficients (BC) (content in the tops *versus* content in the soil) for individual plants were calculated. The highest average value of TC was affirmed for horse bean (0.18), and the lowest one for oat (0.09). The mean values of BC for the individual plants decreased as follow: 0.11 – horse bean, 0.08 – lupine, 0.07 – oat, 0.05 – maize. With the increasing share of bottom sediment in substratum decrease of Pb accumulation in the roots of the plant was observed, while an increase of TC values was noted. Similar relation between the sediment dose and Pb content in the tops was not found. In spite of additional Pb load with applied bottom sediment, the increasing of its content in plant tissue was not stated. One possible explanation of this dependence is the decreasing of Pb availability to the plants as a result of sediment ability to the substratum alkalization.

Key words: bottom sediment, lead, plants, uptake, translocation and bioaccumulation coefficients.

INTRODUCTION

Bottom sediment dredged from Rożnów Reservoir is a by-product created as a result of mechanical reclamation of water reservoir [Kloze et al. 2001]. Nowadays there are many attempts of agricultural use of materials like bottom sediments, sewage sludge or incineration ashes. These materials are used as so-called indirect fertilizers and may be considered as a source of organic matter and mineral compounds of calcium, phosphorus and nitrogen or materials containing significant amounts of silt and clay fractions [Kalembasa and Wysokiński 2002, Zhou and Kot 1995]. From ecological point of view natural use of these materials is the most desirable way of their utilization. However it is necessary to pay attention at toxic substances content in those materials. According to Polish legislation the bottom sediments from superficial standing or flowing water reservoirs used in earth works are not counted among waste but they should suit standards of soil and earth quality and should fulfill the criteria of admissible values of toxic substances contents, indicated in the enclosure of Minister of Environment regulation [Dz. U. 165, 2002], for soils occurred in purposed place. Bottom sediment the most often contained increased content of trace metals like: zinc, copper, nickel, cadmium, chromium, lead and mercury. Trace elements introduced to the soils may cause an increase of their content in cultivated plants and next enter to human food chain [Bojakowska and Sokołowska 1998, Kabata-Pendias and Pendias 1999]. For this reason it is necessary to pay attention on the advantages of agricultural use but on the other hand on great danger related to this way of bottom sediment utilization.

MATERIAL AND METHODS

A pot experiment was carried out in 2005 in vegetation hall of University of Agriculture in Krakow. The very acid soil and bottom sediment dredged from Rożnów Reservoir were used as components of the substratum. The sediment share in substratum increased following: 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 and 16 % of total mass. The samples (both roots and tops) of plants grown at those mixtures were studied material. Test plants were grown in sequences: maize (*Zea mays* L.) and horse bean (*Vicia faba* L., var. *minor*) as well as oat (*Avena sativa* L.) and lupine (*Lupinus angustifolius* L.). After the vegetation period plants were harvested on green mass, dried and the quantity of biomass of tops and roots was measured. Total content of heavy metals in plant material were determined after dry mineralization and in hot nitric acid solution while in samples of substratum after dry mineralization of organic matter and in a hot mixture of concentrated acids: HNO₃ and HClO₄ (3:2). Heavy metals content in obtained solutions were assayed by ICP-AES method.

RESULTS AND DISCUSSION

Soil and sediment bottom applied in experiment contained relatively high amount of lead: 8.53 mg Pb · kg⁻¹ and 12.2 mg Pb · kg⁻¹ of DM, respectively. With increasing share of bottom sediment in substratum total content of lead were increased as well (tab. 1). In spite of additional Pb load with applied bottom sediment, lead content in all of the test plants roots as well as maize and oats tops were decreased. Bottom sediments from dam reservoirs usually contain significant amount of loam and silt fractions in their granulometric composition and relatively high pH value [Zhou and Kot 1995]. Bottom

sediment additives applied in experiment caused an increase of pH value of substratum and in consequence decreased contents of metals mobile forms and their availability to plants. The lead content in tops of horse bean and lupine did not depend on increasing share of bottom sediment in substratum. Dicotyledonous plants are able to a higher extent to heavy metals absorption, including Pb, from substratum and their accumulation in above-ground parts in comparison with monocotyledonous ones [Jankowska et al. 2007].

Harmful substances absorption by plants from substratum, inter alia heavy metals, depends on many factors [Gorlach 1995]. In general, under conditions of soils contaminated with trace elements it is substantial to reduce their availability to plant using different methods. Limitation of heavy metals absorption and their entering into plant-animal-human food chain should be an effect of these actions.

Tab. 1 Mass and share of substratum components and total Pb contents in substratum of individual experimental objects.

Substratum mass [kg]	Share in substratum				Total Pb content in substratum [mg·kg ⁻¹ DM]
	Soil [%]	Sediment [%]	Soil [kg]	Sediment [kg]	
4	100	0	4	0	8.53
4	99	1	3.96	0.04	8.57
4	98	2	3.92	0.08	8.60
4	96	4	3.84	0.16	8.68
4	94	6	3.76	0.24	8.75
4	92	8	3.68	0.32	8.82
4	90	10	3.6	0.4	8.90
4	88	12	3.52	0.48	8.97
4	86	14	3.44	0.56	9.04
4	84	16	3.36	0.64	9.11

Total Pb quantity removed with yield of test plant roots was significantly higher than with yield of above-ground biomass in spite of higher tops biomass in comparison with roots yield (fig. 1).

Fig. 1 The average total amount of Pb removed with yield of test plants

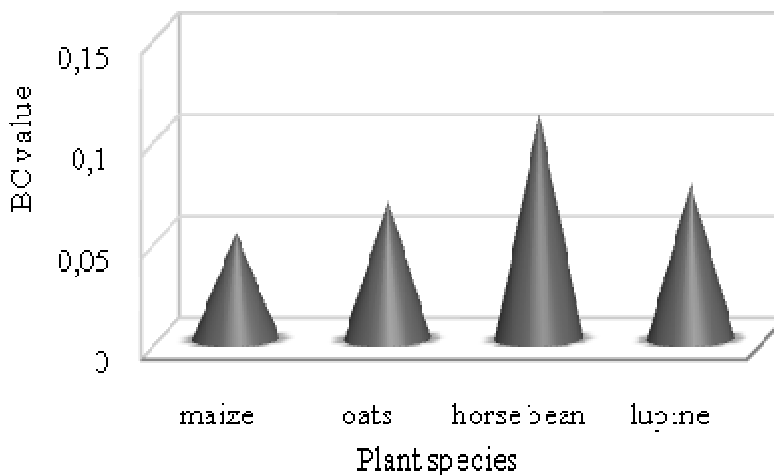


Considerably great quantities of Pb were accumulated in roots, because lead absorption by these parts of plant is a passive process and almost proportional to amount of its soluble forms occurring in substratum [Kabata-Pendias and Pendias 1999]. On average, the most quantities of Pb were removed with yield of maize and the lowest ones with yield of horse bean. It also seems that succession of plants affected amounts of Pb uptake with yield. Significantly smaller amounts of lead were removed with total yield of horse bean and lupine, grown as the second plants in rotation. It is also bound up with generally smaller quantity of biomass produced by dicotyledonous plants in this experiment.

Admissible lead content in fodder plants amounts up to $\leq 10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ DM}$ [Curylo et al. 1985, Gorlach 1991, Kabata-Pendias et al. 1993]. Considering this criterion, top samples of all the plants contain admissible amount of this metal and they may be allowed as an animal feed.

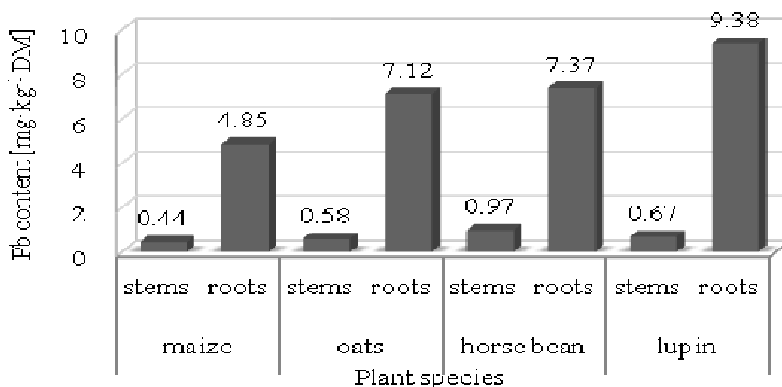
Bioaccumulation coefficient (BC) expresses relation between element content in plant and its content in soil. Analysis of calculated values of Pb BC showed that on average the highest amounts of this metal was accumulated in above-ground parts of horse bean, while the lowest ones in tops of maize (fig. 2).

Fig. 2 The average BC of Pb in tops of test plants



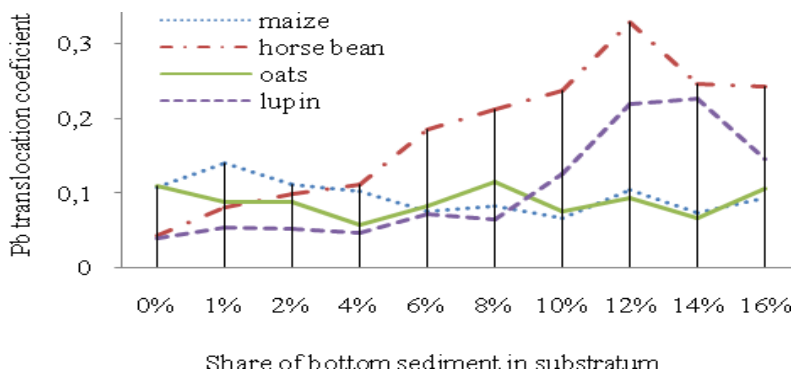
In general, significantly higher values of BC were noted in case of dicotyledonous plants in comparison with monocotyledonous ones. In accordance with the data of other authors [Jankowska et al. 2007] dicotyledonous plants accumulated more Pb than monocotyledonous ones, independently on contamination level of substratum. On average, the highest values of BC were stated in case of plants which above-ground parts accumulated the highest amounts of lead. The lowest average contents of Pb were affirmed both for maize tops and roots, on the other hand the highest average lead contents per 1 kg of dry mass, were stated for horse bean above-ground parts and lupine roots (fig. 3).

Fig. 3 The average Pb contents in plant tissues



The translocation coefficient (TC) is a ratio of trace element content in tops *versus* its content in roots. It informs about scale of substances movement from roots to above-ground parts of plant. There are many plants defense mechanisms, generated by plants cultivated under conditions of contaminated substratum. One of them is reduction or prevention of toxic substances transport to vegetative and generative parts [Baranowska-Morek 2003]. The small values of Pb TC calculated for studied test plants confirm existence of those mechanisms (fig. 4). The highest average translocation coefficient was stated in case of horse bean (0.17), while the lowest one for oat (0.09).

Fig. 4 Value of Pb translocation coefficient (TC) in tested plants dependent on share of bottom sediment in substratum.



Relatively low values of TC (fig. 4) are to a large extent caused by dependences between Pb load and its content in plant. It was stated that in parallel with increased content of this metal in substratum after bottom sediment application an increase of Pb content in plants roots was observed [Kabata-Pendias

and Pendias 1999]. Similar dependence between the sediment dose and Pb content in tops was not found. With increasing share of bottom sediment in substratum visible increase of TC values was noted in case of both consecutive plants (lupine and horse bean) grown in experiment and only small changes of TC for maize and oat. One may explain this dependence by decrease of Pb solubility after application of sediment because of its ability to substratum neutralization. Increase of substratum pH value during plants growth period caused decrease of lead availability to plants and in consequence decrease of Pb content in roots what resulted in increase of translocation coefficient value [Gębski 1998]. Bottom sediment dredged from Rożnów Reservoir affected the properties of substratum similarly as liming. According to Sapek [1991], liming is one of the paramount factor which reduce heavy metals mobility, therein Pb, in soil-plant system.

CONCLUSIONS

1. Under conditions of substratum contaminated by lead significantly higher amounts of Pb were accumulated in roots than in tops of the plant.
2. On average, the highest Pb contents were found in lupine roots and horse bean tops, while the lowest ones in maize both roots and tops.
3. Considering total quantity of Pb uptake the highest its amounts were removed with yield of maize, and the lowest one with yield of horse bean.
4. Considering Pb content, the above-ground parts of test plants suit the criterion of fodder quality.
5. Significantly higher value of Pb bioaccumulation coefficient (BC) was stated for dicotyledonous plants than in case of monocotyledonous ones.
6. With increasing share of bottom sediment in substratum decrease of Pb accumulation in roots of all plants and in tops of maize and oat was observed, while an increase of translocation coefficient (TC) values was noted, especially in lupine and horse bean.
7. Dependence between the sediment dose and Pb content in above-ground parts of horse bean and lupine was not found.
8. Increasing share of bottom sediment in substratum of successive objects caused a decrease of Pb accumulation in plant tissues.
9. In a spite of additional lead load, the bottom sediment applied in experiment did not cause an increase of Pb accumulation in plants because of its ability to substratum neutralization.

REFERENCES

- Baranowska-Morek A. (2003): Roślinne mechanizmy tolerancji na toksyczne działanie metali ciężkich. *Kosmos*, 52: 283-298.
- Curyło T. et al. (1985): Liczby graniczne zawartości Fe, Cu, Mn, Zn, Co, J, Se, Mo w roślinności łąk i pastwiska pod kątem oceny wartości paszowej. *Prace Kom. Nauk. PTG Warszawa*, 93: 43-60.

Dz. U. 165 (2002): Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 9 września 2002 r. w sprawie standardów jakości gleby oraz standardów jakości ziemi. Dz. U. Nr 165, 2002, poz. 1359: 10560-10564.

Gębski M. (1998): Czynniki glebowe oraz nawozowe wpływające na przyswajanie metali ciężkich przez rośliny. Post. Nauk Roln., 5: 3-16.

Gorlach E. (1995): Metale ciężkie jako czynnik zagrażający żyzności gleby. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 421a: 113-122.

Jankowska J., Sosnowski J., Ciepela G., Jankowski K. (2007): Zawartość ołowiu w wybranych gatunkach roślin dwuliściennych rosnących na użytkach zielonych w pobliżu trasy szybkiego ruchu. Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych, 30: 99-104.

Kabata-Pendias A., Motowicka-Terelak T., Piotrowska M., Terelak H., Witek T. (1993): Ocena stopnia zanieczyszczenia gleb i roślin metalami ciężkimi i siarką. Ramowe wytyczne dla rolnictwa. Wyd. IUNG Puławy, Seria P(53): 20 p.

Kabata-Pendias A., Pendias H. (1999): Biogeochemia pierwiastków śladowych. II ed., Wyd. Nauk. PWN, Warszawa.

Kalambasa S., Wysokiński A. (2002): Wpływ nawożenia mieszaniną osadów ściekowych z popiołem z węgla brunatnego na plon i skład chemiczny roślin. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 482: 251-256.

Kłoz J., Leszczyński W., Mroziński J. (2001): Proces zamulania zbiornika rożnowskiego w czasie jego 60-letniej eksploatacji. Gosp. Wod., 10: 417-419.

Sapek B. (1991): Wpływ wapnowania na zawartość i pobieranie kadmu i ołowiu przez rośliny łąki trwałe. Roczn. Glebozn., XLII, 3/4: 223-228.

Zhou X.D., Kot S.C. (1995): Heavy metal ions adsorption on sediments of the Weiho and Hanjiang Rivers, China. J. Environm. Hydrol., 3, 2 [on line] http://www.hydroweb.com/jeh_3_2/heavmet.html [16.03.2006].

THE YIELD REACTION OF MALTING BARLEY ON SULPHUR AND NITROGEN FERTILIZATION

Babiánek P., Ryant P.

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

E-mail: petr**babianek**@seznam.cz

ABSTRACT

The objective of the two-year pot trial was to assess the effect of sulphur (S) and nitrogen (N) application on the grain and the straw yield of malting barley. There were 5 variants of sulphur fertilization: 1. control variant, not fertilised with S, 2. smaller dose of ammonium sulphate (0.2 g/pot), 3. higher dose of ammonium sulphate (0.4 g/pot), 4. smaller dose of elemental sulphur (0.2 g/pot), 5. higher dose of elemental sulphur (0.4 g/pot). Nitrogen was applied in two doses: smaller dose of 0.4 g per pot and higher dose of 0.6 g per pot. In the year 2008, the significant differences of sulphur application were ascertained in average yield of grain and straw of barley. The fertilization of smaller and higher dose of elemental sulphur with higher dose of nitrogen increased grain yield by 19% and 18% in comparison to the control variant, respectively. In the case of application of smaller dose of nitrogen, the grain yield obtained from the variants of elemental sulphur application was of 9 – 12% higher than control. The ammonium sulphate application statistically did not affect the yield of the grain in comparison to the control. The yield of barley straw was influenced by sulphur fertilization analogous to the yield of the grain. In the year 2009, although average yield followed elemental sulphur application were higher than the control and the variants of ammonium sulphate application, the sulphur fertilization had statistically insignificant effect on the grain and straw yields of malt barley. The dose of applied sulphur statistically did not affect the yield of the grain and the straw of malting barley.

Key words: sulphur, nitrogen, fertilization, malting barley

Acknowledgments: The study was funded by the “Research Centre for Study of Extract Compounds of Barley and Hop” No. 1M0570.

ÚVOD

Síra je vedle dusíku, fosforu a draslíku jeden z esenciálních rostlinných elementů, přičemž v zahraničí je z hlediska funkce a potřeby ve výživě rostlin zařazována již delší dobu ihned za dusík (Marschner, 2003). Zásadním způsobem ovlivňuje nejen výši výnosu, ale i zdravotní stav porostu a kvalitu produkce. Síře se dříve věnovala jen malá nebo žádná pozornost a prakticky až do nedávna nebyly na porostech plodin v České republice registrovány výraznější příznaky deficitu síry (Matula, 2007). Dostatečný až nadbytečný přívod síry do půdy byl zajišťován z emisí oxidu siřičitého do atmosféry po spalování fosilních paliv, zejména černého a hnědého uhlí, v tepelných elektrárnách a z balastní složky dřívě používaných hnojiv. Řadou legislativních opatření na snížení emisí síry a vývojem modernějších technologií výroby tzv. „bezbalastních“ minerálních hnojiv došlo k výraznému snížení vstupů síry do agroekosystému. Tím vznikla záporná bilance síry v rostlinné produkci, která vede k stále častějšímu výskytu symptomů nedostatku síry u polních plodin. U deficitních rostlin se snižuje schopnost osvojovat si další živiny, především dusík, z minerálních a organických hnojiv, čímž se snižuje efektivita hnojení a naopak zvyšuje nebezpečí vyplavování dusíku a kontaminace spodních vod.

Jednou z možností jak dodat chybějící síru do půdy je používání tradičního dusíkatého hnojiva obsahující síru - síranu amonného. Dalším zajímavým zdrojem síry pro agroekosystém by mohlo být využití elementární síry, vznikající jako odpadní produkt při odsíření pohonných hmot při rafinaci ropy, ke hnojení zemědělských plodin.

V Evropě se většina předchozích studií soustředila na řepku olejku, pšenici, cukrovku a pastvinu. Deficity síry se však začínají postupně objevovat nejen u řepky olejky a dalších plodin na síru náročných, ale i u obilnin s nižší biologickou potřebou síry (Zhao *et al.*, 1999; Scherer, 2001). V současnosti se proto obrací pozornost i na potřeby síry pro jarní ječmen.

MATERIÁL A METODIKA

Problematika výživy ječmene dusíkem a sírou byla řešena v roce 2008 a 2009 formou vegetačního nádobového pokusu. Do Mitscherlichových vegetačních nádob bylo naváženo vždy 6 kg lehké písčité zeminy, jejíž agrochemické vlastnosti udává následující tabulka 1.

Tab. 1 Agrochemické vlastnosti zeminy před založením pokusu

Rok	pH/CaCl ₂	Obsah přístupných živin (mg.kg ⁻¹)				
		P	K	Ca	Mg	S _{vador}
2008	7,43	61	87	2020	117	6,9
2009	7,50	34	159	6262	303	20,9

Pokus byl v obou letech založen aplikací hnojiv do nádob podle schématu v tab. 2

Tab. 2 Schéma pokusu

Varianta číslo	Schéma	Dávka N (g/nádoba)	Dávka S (g/nádoba)
1	Kontrola	0,6	0,0
2	Síran amonný (SA1)	0,6	0,2
3	Síran amonný (SA2)	0,6	0,4
4	Elementární síra (ES1)	0,6	0,2
5	Elementární síra (ES2)	0,6	0,4
6	Kontrola	0,4	0,0
7	Síran amonný (SA1)	0,4	0,2
8	Síran amonný (SA2)	0,4	0,4
9	Elementární síra (ES1)	0,4	0,2
10	Elementární síra (ES2)	0,4	0,4

Pozn.: SA (23,7 % S, 20,9 %N), ES (99,8 % S)

Jednotlivé varianty se lišily hladinou dusíkaté výživy, formou a dávkou síry. Dusík byl aplikován v dávkce 0,6 g N a 0,4 g N. U variant SA1 a SA2 byl dusík dodán částečně již v síranu amonném. Toto množství bylo u variant ES1 a ES2 dorovnáno chloridem amonným. U všech variant byl dusík doplněn dusičnanem amonným na příslušnou hladinu (viz tabulka 2). Hnojiva byla zapravena ca 2 - 3 cm pod povrch zeminy.

Bezprostředně po aplikaci hnojiv byl proveden výsev jarního ječmene odrůdy Jersey. Do každé nádoby bylo vyseto 30 semen ječmene. Po třech týdnech byl porost vyjednocen na 15 rostlin na nádobu. Porost ječmene byl ošetřován proti houbovým chorobám a škůdcům a udržován v bezplevelném stavu.

Sklizeň pokusu proběhla ve fázi plné zralosti. Po doschnutí byla nadzemní hmota zvážena, odděleny klasy od stébel a výmlat zrna proběhl na klasové laboratorní mlátičce KMP 2. Při sklizni byla stanovena výše výnosu zrna a slámy. Výnosy zrna a slámy byly hodnoceny vícefaktorovou analýzou rozptylu s využitím softwaru STATISTICA version 8.0 a následně testování významnosti rozdílů bylo provedeno Tuckeyovým testem.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Průměrné hodnoty včetně statistického zhodnocení významnosti jejich rozdílů a variabilita výnosů zrna a slámy na nádobu znázorňuje tabulka 3.

Tab. 3 Výnos zrna a slámy jarního ječmene v roce 2008 a 2009

Rok	Dávka N na nádobu	Varianta	n	Výnos zrna (g na nádobu)			Výnos slámy (g na nádobu)		
				Průměr		Sm. odch.	Průměr		Sm. odch.
2008	0,6 g	kontrola	8	24,71	a	3,307	22,52	a	2,676
		SA1	8	24,31	a	1,918	22,79	ab	2,361
		SA2	8	25,71	ab	2,023	23,54	abc	1,883
		ES1	8	29,52	bc	2,690	25,63	bc	1,279
		ES2	8	29,09	c	2,821	26,24	c	2,067
	0,4 g	kontrola	4	23,74	ab	0,644	21,08	ab	0,877
		SA1	4	23,71	ab	1,953	19,72	a	1,506
		SA2	4	21,94	a	1,227	19,15	a	0,996
		ES1	4	26,81	b	2,497	25,33	c	1,008
		ES2	4	25,95	ab	2,376	23,70	bc	2,177
2009	0,6 g	kontrola	8	24,74	a	0,833	22,08	a	1,425
		SA1	8	24,20	a	0,843	22,45	a	0,747
		SA2	8	24,32	a	1,390	23,57	a	1,909
		ES1	8	24,79	a	2,071	24,26	a	2,361
		ES2	8	23,69	a	1,754	22,47	a	1,637
	0,4 g	kontrola	4	20,19	a	0,682	19,06	a	0,963
		SA1	4	19,78	a	1,505	20,16	a	0,741
		SA2	4	19,27	a	0,540	19,24	a	1,021
		ES1	4	20,51	a	0,877	19,33	a	1,093
		ES2	4	21,04	a	0,805	19,21	a	0,441

Pozn.: n – počet pozorování

Při posouzení výnosu zrna sladovnického ječmene pěstovaného v nádobovém pokusu v roce 2008 lze pozorovat pozitivní vliv hnojení elementární sírou, které se projevilo na obou úrovních dusíkaté výživy.

Při hladině dusíku 0,6 g na nádobu převyšoval průměrný výnos zrna na variantách s elementární sírou o 19 % u ES1, respektive o 18 % u ES2 výnos zrna kontrolní varianty. V obou případech šlo o statisticky průkazné navýšení. Statisticky průkazné rozdíly byly zjištěny i při porovnání těchto variant s variantami hnojenými síranem amonným. Nižší dávka elementární síry působila na výnos zrna statisticky průkazně lépe oproti variantě SA1, vyšší dávka elementární síry pak zapříčinila statisticky vyšší výnos zrna oproti oběma variantám hnojených síranem amonným.

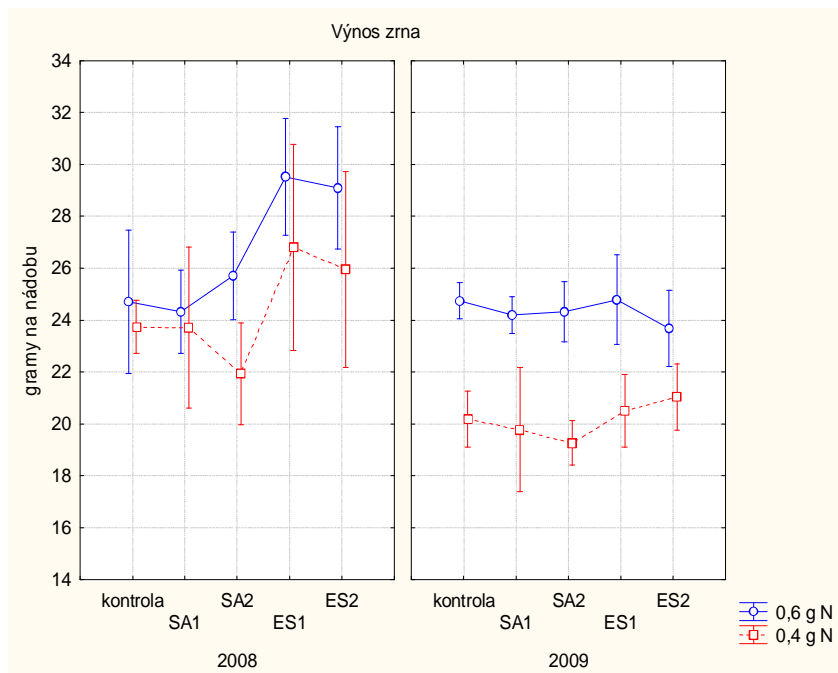
U výnosu zrna jarního ječmene pěstovaného při úrovni 0,4 g dusíku na nádobu lze pozorovat podobné tendence jako u ječmene s vyšší dávkou dusíku. Opět lze sledovat lepší výnosovou reakci na hnojení elementární sírou proti kontrole i variantám s aplikací síranu amonného. Hnojení nižší dávkou elementární síry statisticky významně zvýšilo výnos zrna, oproti variantě SA2, a to v průměru o 22 %. Navýšení výnosu zrna ječmene u variant hnojených elementární sírou bylo vůči variantě

kontrolní statisticky neprůkazné, a to pravděpodobně z důvodu vyšší variability dosažených hodnot výnosu jednotlivých variant. Přesto varianta ES1 dosáhla vyššího výnosu zrna o 13 %, oproti kontrole, varianta ES2 pak o 9 %. Hnojení síranovou sírou způsobilo v roce 2008 u obou hladin dusíkaté výživy ječmene spíše mírnou depresi výnosu zrna. Snížení výnosu po aplikaci síranové síry nebylo však statisticky průkazné.

Hnojení elementární sírou mělo pozitivní vliv na výnos zrna jarního ječmene i v roce 2009, a to především v porovnání s aplikací síranu amonného. Nejvyšších výnosů zrna ječmene pěstovaného při vyšší dávce dusíku, 0,6 g na nádobu, bylo dosaženo po hnojení nižší dávkou elementární síry. V případě ječmene pěstovaného při nižší úrovni dusíkaté výživy (0,4 g na nádobu) byl získán nejvyšší průměrný výnos u varianty ES2, druhý nejvyšší pak opět po hnojení nižší dávkou elementární síry. Přestože výnosy zrna variant ES1 a ES2 jsou vyšší než výnosy kontrolní varianty a variant hnojených síranem amonným, jsou zjištěné rozdíly těchto výnosů statisticky neprůkazné. Opět však lze sledovat, především u nižší hladiny dusíkaté výživy, nevýrazné a statisticky neprůkazné snížení výnosu zrna po hnojení síranem amonným oproti kontrole a aplikaci elementární síry.

Vliv formy a dávky aplikované síry a dávky dusíku na výnos zrna ječmene v roce 2008 a 2009 udává graf 1.

Graf 1 Vliv formy a dávky aplikované síry a dávky dusíku na výnos zrna ječmene v roce 2008 a 2009



Průměrné hodnoty výnosů slámy jednotlivých variant hnojení dusíkem a sírou do značné míry kopírují tendence, které vykazují hodnoty výnosů zrna.

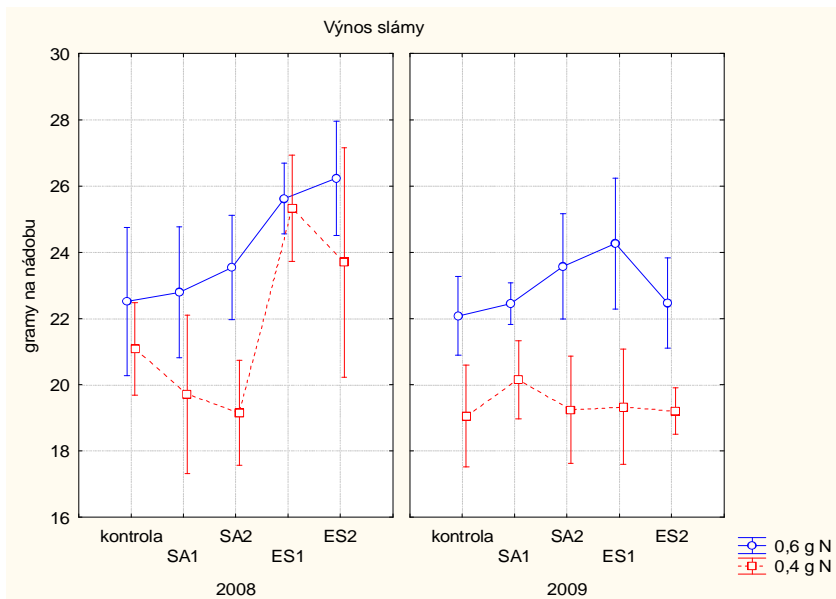
Výraznější vliv aplikované síry je patrný především v roce 2008, kdy působila opět nejlépe síra elementární. Vyšší dávka elementární síry s aplikací 0,6 g dusíku na nádobu zvýšila statisticky průkazně výnos slámy oproti kontrole i variantě s hnojením nižší dávkou síranu amonného. Hnojení nižší a vyšší dávkou elementární síry statisticky průkazně zvýšilo výnos slámy, oproti kontrole, a to v průměru o 14 %, respektive o 17 %.

Při nižší dávce dusíku (0,4 g na nádobu) vykázal jarní ječmen pěstovaný v roce 2008 nejvyšší výnos slámy u varianty s nižší dávkou elementární síry, který byl statisticky průkazně vyšší než průměrný výnos slámy varianty kontrolní. Průměrné výnosy obou variant s aplikací elementární síry statisticky významně převyšovaly průměrné výnosy obou variant hnojených síranovou formou síry. Po aplikaci síranu amonného došlo k statisticky neprůkaznému snížení výnosu i oproti sírou nehnojené kontrole.

Rozdíly hodnot výnosů slámy jednotlivých variant nebyly v roce 2009 statisticky průkazné. Presto lze vypořizovat prospěšný vliv aplikované síranové i elementární síry v obou dávkách, a to na obou hladinách dusíku. Všechny varianty hnojené sírou dosáhly vyššího výnosu slámy ječmene než varianty kontrolní.

Vliv formy a dávky aplikované síry a dávky dusíku na výnos slámy ječmene v roce 2008 a 2009 udává graf 2.

Graf 2 Vliv formy a dávky aplikované síry a dávky dusíku na výnos slámy ječmene v roce 2008 a 2009



Z tabulky 4, porovnávací vliv formy aplikované síry na výnos zrna a slámy sladovnického ječmene souhrnně pro oba roky experimentu, vyplývá pozitivní statisticky průkazný vliv hnojení elementární sírou. Aplikovaná síranová síra mírně a statisticky nevýznamně snížila, průměrný výnos zrna pěstovaného ječmene o 1,4 %, naopak síra elementární jej zvýšila v průměru o 8 %. V případě výnosu slámy došlo k navýšení výnosu po aplikaci síranové a elementární síry o 1,7 %, respektive o 10,1 %.

Tab. 4 Vliv formy aplikované síry na výnos zrna a slámy sladovnického ječmene

Forma síry	Výnos zrna (g)	Výnos zrna (%)	Výnos slámy (g)	Výnos slámy (%)
Bez	23,80 a	100,0	21,56 a	100,0
Síranová	23,48 a	98,6	21,92 a	101,7
Elementární	25,71 b	108,0	23,73 b	110,1

Dávka aplikované síry neměla statisticky průkazný vliv na výši výnosu zrna a slámy pěstovaného jarního ječmene (viz tabulka 5). Přesto lze vyzorovat navýšení průměrného výnosu zrna i slámy po hnojení oběma dávkami síry oproti variantám bez sírné aplikace. Nejlépe působila nižší dávka síry (0,2 g na nádobu), která zvýšila průměrný výnos zrna a slámy, o 3,8 %, respektive 6,2 %. Vyšší dávka síry (0,4 g na nádobu) přispěla k mírnějšímu nárůstu výnosu zrna a slámy, a to o 2,9 %, resp. o 5,5 % oproti kontrole.

Tab. 5 Vliv dávky aplikované síry na výnos zrna a slámy sladovnického ječmene

Dávka síry (g/nádobu)	Výnos zrna (g)	Výnos zrna (%)	Výnos slámy (g)	Výnos slámy (%)
0,0	23,80 a	100,0	21,56 a	100,0
0,4	24,70 a	103,8	22,90 a	106,2
0,6	24,48 a	102,9	22,75 a	105,5

DISKUZE

Scott *et al.* (1984), pravděpodobně jako první v novodobé historii, zjistili po aplikaci síry významné zvýšení přírůstků výnosů zrna ozimého ječmene o 5 až 18 % na písčitých půdách severovýchodního Skotska. Skwierawska *et al.* (2008) popisuje ve své práci malý, avšak průkazný pozitivní vliv aplikace síry na výnos zrna jarního ječmene. I v našem experimentu jsme zjistili pozitivní vliv aplikované síry na výnos zrna i slámy sladovnického ječmene.

Watkinson (1993) popisuje srovnatelný vliv aplikované elementární síry na pšenici s hnojivý se síranovou formou síry. V pokusu porovnávací efekt elementární síry s thiosulfátem a síranovou sírou na pšenici došli Mitchell *et Mullings* (1990) k podobnému závěru. V našem nádobovém pokusu se sladovnickým ječmenem jsme zjistili statisticky neprůkazný vliv síranové formy síry na výnos zrna i slámy ječmene. Naopak aplikace elementární síry statisticky průkazně zvýšila výnos zrna i slámy oproti kontrole i síranové formě síry. Lepší působení elementární síry oproti síranové formě může být vysvětleno rozdílností v příjmu jednotlivých forem síry rostlinami, které popisují Haneklaus *et al.* (2007) v případě foliární aplikace těchto forem síry. Foliárně aplikovaná síranová forma síry se dostává do rostliny mnohem rychleji než síra elementární. Síranové jsou však následně z velké části zachycovány ve vakuolách, nejsou tím pádem rostlinou využívány na tvorbu výnosu.

Lepších výsledků dosahovala aplikovaná elementární síra, což bývá vysvětlováno faktem, že před samotným příjmem rostlinou musí být S^0 nejprve oxidována na sírany. Přeměna elementární síry na sírany je pozvolný proces a postupně vznikající sírany plynuleji zásobují rostliny. Tím lépe korespondují s aktuálními metabolickými požadavky rostlin na síru a nedochází tedy k nepřiměřenému zvýšení koncentrace síranů v cytosolu a jejich následné depozici do vakuol (Haneklaus *et al.*, 2007).

Z tabulky 5 porovnávající vliv dávky aplikované síry na výnos zrna a slámy sladovnického ječmene souhrnně pro oba roky experimentu, je možné vyčíst příznivé působení aplikované síry bez ohledu na formu. Vyššího výnosu zrna a slámy bylo dosaženo po hnojení nižší dávkou síry (0,2 g na nádobu) než v případě dávky dvojnásobné (0,4 g síry na nádobu).

K podobným závěrům dospěli i Skwierawska *et al.* (2008), kteří po aplikaci síranové formy síry uvádí nejvyšší výnos zrna po hnojení 80 kg síry na hektar, v případě elementární formy síry vycházela nejlépe dávka 40 kg síry na hektar. Podobný vztah byl vypořádan i u výnosu slámy. Vyšší dávky síry (120 kg síranové síry, 80 a 120 kg elementární síry) pak, v porovnání s výše uvedenými dávkami, výnos mírně snižovaly. Tyto zjištění korespondují s nižší biologickou náročností jarního ječmene na síru, která činí 4,0 – 4,2 kg síry na 1 tunu zrna a odpovídající množství slámy (Richter *et al.*, 2006), což je několikanásobně méně než je tomu u na síru náročně řepky olejky.

Příznivý vliv obou forem aplikované síry na výnosy slámy jarního ječmene byl patrný v obou letech pokusu. Hnojení sírou se kladně projevilo na výnosech zrna ječmene především v prvním roce experimentu. V roce 2009 byla výnosová reakce pěstovaného jarního ječmene na hnojení sírou méně výrazná a statisticky neprůkazná. Nevýrazná výnosová reakce po aplikaci síry v roce 2009 mohla být způsobena dostatečnou zásobou vodorozpustné síry v použité zemině (20,9 mg.kg⁻¹). Naproti tomu zemina použitá v roce 2008 obsahovala pouze 6,9 mg.kg⁻¹. Tato nízká zásoba síry pravděpodobně dostatečně nepokryla nároky pěstovaného ječmene na síru, a tím umožnila výnosovou reakci ječmene na hnojení sírou. K podobným výsledkům dospěli ve svém experimentu McGrath *et al.* (1996) kteří uvádějí, že na půdách s nízkým obsahem síry došlo po její aplikaci k ječmeni ke zvýšení výnosů o 4 - 40 % oproti sírou nehnojené kontrole. Také Zhao *et al.* (2006) uvádějí značnou výnosovou reakci na dodání síry na lokalitách s síry obsahem od 2,8 do 4,1 mg.kg⁻¹ a naopak lokality s obsahem vodorozpustné síry mezi 6,4 a 14 mg.kg⁻¹ vykazovaly velmi nízkou nebo žádnou výnosovou odpověď na hnojení ječmene sírou.

ZÁVĚR

V roce 2008 byl pozorován statisticky průkazný pozitivní vliv aplikované elementární síry na výnos zrna a slámy ječmene oproti sírou nehnojené kontrole i variantám s aplikací síranu amonného, a to při obou úrovních dusíkaté výživy. Rozdíly hodnot výnosů zrna a slámy jednotlivých variant byly v roce 2009 statisticky neprůkazné, přesto lze i v tomto roce sledovat příznivý vliv hnojení elementární sírou na výnos zrna ječmene. Na výnos slámy působil kladně také síran amonný.

Při porovnání forem aplikované síry, působila elementární síra na výnos zrna a slámy ječmene statisticky průkazně lépe než síra síranová.

Dávka aplikované síry neměla statisticky průkazný vliv na výši výnosu zrna a slámy pěstovaného ječmene.

LITERATURA

Haneklaus S., Bloem E., Schnug E., De Kok L. J., Stulen I. (2007): Sulphur. In: Barker A. V., Pilbeam D. J.: Handbook of plant nutrition. Taylor & Francis Group, LLC. 183 – 238. ISBN 0□8247□5904□4.

Marschner H. (2003): Mineral nutrition of higher plants. 2nd edition. Elsevier science & technology books, 889.

McGrath S. P., Zhao F. J., Withers P. J. A. (1996): Development of sulphur deficiency in crops and its treatment. The Fertilizer Society, London, 1 – 47.

Matula J. (2007): Výživa a hnojení sírou. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha 6-Ruzyně, 39. ISBN 978-80-87011-15-7.

Mitchell L. C., Mullings G. L. (1990): Sources, rates and time of sulphur application to wheat. Sulphur in Agriculture 14, 20 – 24.

Richter R., Hřivna L., Ryant P. (2006): Výživa a hnojení ječmene jarního. In: Zimolka J., Cerkal R., Dvořák J., Edler S., Ehrenbergerová J., Hřivna L., Kamler J., Klem K., Milotová J., Míša P., Procházková B., Psota V., Richter R., Ryant P., Tichý F., Vaculová M., Vejražka K. (2006): Ječmen - formy a užitkové směry v České republice. Profi Press, Praha, 200.

Scherer H. W. (2001): Sulphur in crop production – invited paper. European Journal of Agronomy, 14: 88 - 111.

Scott N. M., Dyson P. W., Ross J., Sharp G. S. (1984): The effect of sulphur on yield and chemical composition in winter barley. J. Agric. Sci., Cambridge, 103: 699 - 702.

Skwierawska, M., Zawartka, L., Zawadzki, B. (2008): The effect of different rates and forms of applied sulphur on nutrient composition of planted crops. Plant, Soil and Environment, 54(5): 179 - 189.

Watkinson J. H. (1993): Oxidation rate of elemental sulphur particles with a wide range of sizes. Austr. J. Soil Res. 31, 67 – 72.

Zhao F. J., Fortune S., Barbosa V. L., McGrath S. P., Stobart R., Bilsborrow P. E., Booth E. J., Brown A., Robson P. (2006): Effects of sulphur on yield and malting quality of barley. Journal of Cereal Science 43: 36 - 377.

Zhao F. J., Hawkesford M. J., McGrath S. P. (1999): Sulphur assimilation and effects on yield and quality of wheat. J. Cereal Sci., 30: 1 – 17.

THE RELATION BETWEEN TEMPERATURE AND ONSET OF THE PHENOPHASES OF COMMON DOGWOOD (*CORNUS SANGUINEA* L.) DURING 1961 - 2008 IN THE CZECH REPUBLIC

Bartošová L., Žalud Z.

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

E-mail: bartolen@gmail.com

ABSTRACT

This work is based on phenological observation of three individuals of common dogwood (*Cornus sanguinea*) at one locality with three different microclimatological conditions. The premises and the aims of our work were firstly documented the relationship between onset of the phenophases and the development of the temperature in chosen months. It was supposed that the plants which were observed at the same research plot but with different microclimatological conditions (three different places with distinct insolation and shading) begin their development in relatively different time. Second aim of our work was to process the development of phenophases during year 1961 and 2008.

The phenophases of common dogwood (*Cornus sanguinea*) of the first flower and full flowering on locality Lednice and Vranovice (these two plots differ relatively little in amount of precipitation and in values of temperature) in flood plain forests since 1961 till 2008 were observed. On research plot Vranovice were observed the phenophases at three different places (in insolated place, in shaded place and on the interface between forest and meadow) by the phenocamera and the values of air temperature (at two elevations) during one year 2009 were measured.

The daily meteorological data for the period 1961 – 2008 were homogenized and interpolated for each plot by ProClimDB software package. Subsequent statistical values were calculated by software AnClim.

The results show the relation between temperature and onset of the phenophases during whole time of observation and the phenophases has advanced to the earlier time by almost 14.0 days. The start of the phenophases of three individuals of common dogwood at plot Vranovice differs in the dependence on the process of the temperature and the rate of the insolation.

Key words: phenology, temperature, *Cornus sanguinea* L., climate change

Acknowledgements: We gratefully acknowledge the support of the 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

Podle poslední zprávy IPCC je fenologie považována za pravděpodobně nejjednodušší nástroj, kterým je možné dokazovat změny ve vývoji rostlin a živočichů v závislosti na vývoji klimatu (IPCC, 2007). V současné době se fenologie přesunula do popředí zájmu a stala se nedílnou součástí vědních oborů, pomocí kterých je posuzována změna klimatu. Je to z části proto, že reakce fenologických projevů druhů, zvláště rostlin, na teplotu je velmi silná. A v porovnání s relativně stále ještě mírnou změnou klimatu, je fenologická změna zcela evidentní (Sparks et al., 2009).

Fenologie je tedy vědní obor zabývající se ročními rytmy biologických jevů převážně v závislosti na klimatu (Schnelle, 1955). V dřívějších dobách, zvláště v agronomické oblasti, znalosti fenologie přispívaly k pochopení proměn v životních cyklech. Dnes je snahou mnoha evropských zemí pokračovat v aktivním monitoringu fenofází rozličných druhů (Schleip et al., 2009) a mnoho studií dokládá, že nástupy fenofází, jako například rašení pupenů, první květ, rozvoj listů, přilet ptáčích populací či termín prvního nakladeného vejce koreluje s klimatickými parametry (Sparks and Carey 1995, Ahas 1999, Crick and Sparks 1999, Schwartz 1999, Sparks 1999, Menzel et al. 2001, 2006, Sparks and Menzel 2002, Menzel 2003, Schwartz et al. 2006).

Guitian et al. (1996) studoval různé aspekty ovlivňující dozrávání plodů u svídy krvavé a zaměřil se na posuzování míry kvetení a následně množství plodů. Krusi a Debussche (1988) se zabývali dozráváním plodů svídy krvavé na třech různých stanovištích a to v opuštěném olivovém sadu, na okraji lesa a uvnitř opadavého lesa. V dostupných vědeckých článcích je také možné dohledat publikace týkající se biologie svídy krvavé (např. Kollman a Grubb, 2001).

Lokality, kde probíhá pozorování fenofází svídy krvavé se nachází v kukuříčné výrobní oblasti a období kvetení spadá do agronomické fenologické fáze metání obilnin a/nebo kvetení označované kódem DC51 až DC69 (Petr et al., 1989) dle dekadické fenologické stupnice obilnin podle Zadokse. Údaje o fenologii volně rostoucího keře, jehož vývoj není pod vlivem zemědělských zásahů ukazují odezvu rostliny na vývoj teplot a slouží tak, jako tzv. testovací základna pro pochopení dopadů změny klimatu na řízené i neřízené ekosystémy.

Tato práce vychází z předpokladu, že odlišné mikroklimatické podmínky na jedné lokalitě způsobí rozdílný nástup fenofází stejného rostlinného druhu. Cíli této práce jsou potom: vyhodnotit průběh teplot měřených u tří jedinců svídy krvavé a porovnat s nástupem prvního květu a dosažení fenofáze plného kvetení; provést analýzu fenologických projevů svídy krvavé na lokalitě Lednice a Vranovice během let 1961 a 2008 pomocí počítačového software AnClim; porovnat záznamy fenologických záznamů fotografickým přístrojem a pozorovatelem.

MATERIÁL A METODIKA

Sledování fenofází svídy krvavé probíhalo na dvou lokalitách - Lednice a Vranovice v období 1961 a 2008. Obě tyto lokality svojí vegetací spadají do skupiny *Ulm-fraxineta carpin* (Zlatník A., 1978) a patří mezi poslední lokality lužních lesů v oblasti jižní Moravy. Vranovická lokalita má status ochrany

Přírodní rezervace Plačkův les a říčka Šatava. Lednická plocha je částí národního výzkumného programu Člověk a biosféra. Obě lokality se v množství srážek odlišují relativně velmi málo a v hodnotách teplot se neliší (tab. 1).

Tab. 1 Základní místopisné a klimatické údaje sledovaných lokalit

lokality	přírodní rezervace	nadmořská výška (m)	teplota (°C)		srážky (mm)	
			roční	jarní	roční	jarní
Lednice	IBM - Horní les	161	9,3	12,5	481	152
Vranovice	Plačkův les	170	9,3	12,5	501	160

Na lokalitě Vranovice byly fenofáze svídy krvavé během jarní sezóny roku 2008 sledovány na třech místech s odlišnými mikroklimatickými podmínkami. Jako první byla zvolena plocha, kde je svída krvavá po celý den vystavena slunečním paprskům a byla označena písmeny SL; jako druhá sledovaná byla zvolena plocha na rozhraní lesa a louky, kdy jedinec svídy krvavé byl osluněn v druhé polovině dne a má označení PL; jako poslední byla svída krvavá pozorována ve zcela zastíněném porostu lužního lesu v dobře vyvinutém a zapojeném porostu a je označena písmeny LS. Nástup fenofází byl sledován dvojím způsobem a to pozorovatelem při pravidelných návštěvách během sezóny 2 – 3 x během týdne a po té pomocí tzv. fenokamer (fotografických přístrojů) umístěných na kovové tyči a nasměrovaných hledáčkem na vybrané větve svídy krvavé. Obrázky větví byly snímány každou celou hodinu v rozmezí 6:00 až 18:00 hodin a z celého dne tak bylo možné získat třináct obrázků. Současně s fotoaparátem byla na kovové tyči umístěna teplotní čidla s radiačními kryty na měření teploty vzduchu ve výškách 1,0 m a 2,0 m nad zemí v 15-ti minutovém kroku.

Dokumentace fenofází pozorovatelem byla prováděna dle postupů Českého hydrometeorologického ústavu. První květ je stanoven, když se na celé sledované rostlině objeví první otevřený květ. Za plné kvetení je označen stav, kdy je 100 % květů otevřených, ale ještě nezačal opad květních lístků.

Klimatická data byla pro lokality Lednice a Vranovice vypočítána pomocí software ProClimDB z důvodů, že žádná ze dvou lokalit nemá svou vlastní meteorologickou stanicí. Denní meteorologická data byla interpolována s použitím ProClimDB (Štěpánek 2007, Štěpánek et al. 2008). Interpolace byla prováděna pomocí cca 130-ti stanic z České republiky a 25-ti stanic ze sousedícího regionu Rakouska. Denní data z každé stanice byla důkladně kontrolována, homogenizována a následně interpolována s využitím regionální vážené regrese (Štěpánek et al. 2008).

Fenologická a klimatická data byla zpracována pomocí software AnClim, kterým byla provedena koherentní analýza. Koherentní koeficient byl hodnocen na hladině významnosti 95 % a 99 % a byly porovnávány fenologické trendy a teplotní trendy vybraných měsíců.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Průměrná roční teplota vzduchu se během sledovaného období od roku 1961 zvýšila o 0,29 – 0,31 °C za dekádu (tab. 2). Sledované fenofáze probíhají během měsíců květen a červen a i během těchto dvou měsíců se teplota zvyšovala (až o 0,52 °C v případě měsíce května na lokalitě Vranovice). Stejně tak

se zvyšovaly maximální teploty během roku. Statisticky významný trend ve zvyšování teploty byl ze dvou sledovaných měsíců vyhodnocen pouze pro měsíc květen. Naopak srážky nevykazují výrazné změny a trendy nejsou průkazné ani v jednom sledovaném měsíci, ani v průběhu roku. Tyto výsledky jsou v souladu s trendy, které ve své práci představuje Brázdil et al. (2009) ze stanic s kvalitními daty z oblastí jižní části České republiky.

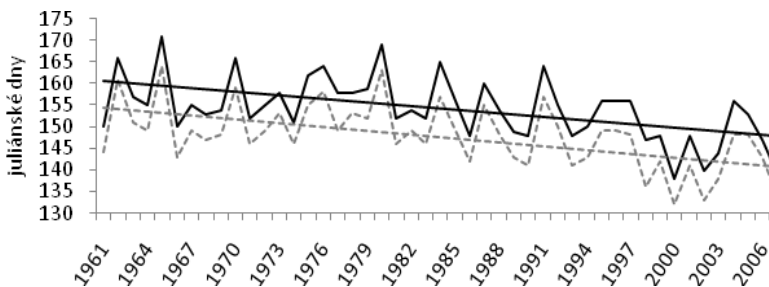
Hodnoty korelačních koeficientů pro průměrné denní teploty během měsíců květen a červen a termíny fenofází ukazují na silnou vazbu. Korelační koeficient prvního květu a teploty má hodnotu 0,76 a plného kvetení a teplotu je 0,74.

Tab. 2 Základní klimatické parametry pro sledované lokality a vybraná období v letech 1961 – 2008

Klimatické faktory	Časové období	Lineární trendy	
		Lednice	Vranovice
Průměrná teplota vzduchu (°C)	Květen	*0.5	*0.52
	Červen	*0.36	*0.34
	Rok	**0.29	*0.31
Maximální teplota vzduchu (°C)	Květen	*0.47	*0.5
	Červen	0.29	0.32
	Rok	**0.26	*0.27
Srážky (mm)	Květen	-3.96	-2.4
	Červen	-1.38	-1.78
	Rok	0.93	0.67

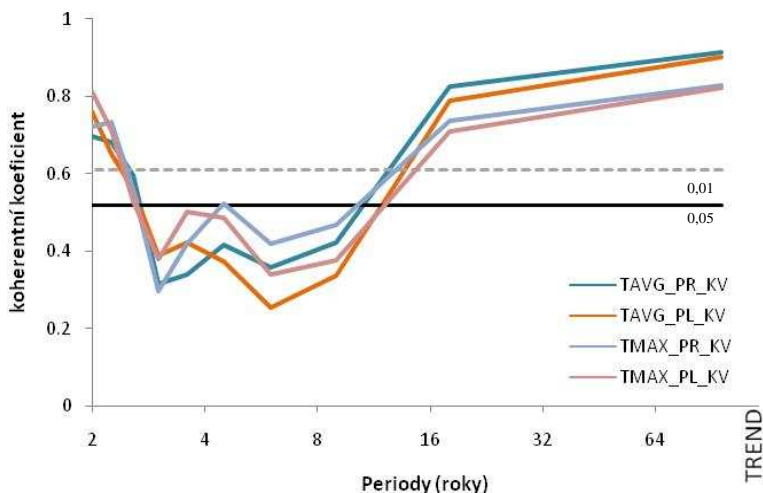
Fenofáze svídy krvavé prvý květ a plné kvetení se během 48 sledovaných let posunuly do dřívějšího data (obr. 1). Fenofáze prvního květu se posunula za celé sledované období o 14,0 dne (2,4 dne za dekádu) a fenofáze plného kvetení se posunula do dřívějšího data o 12,9 dne (2,6 dne za dekádu) na ukázkové lokalitě Lednice. K podobným výsledkům v posunech fenofází rostlinných druhů ve střední Evropě dospělo více autorů (např. Menzel et al., 2001; Sparks and Menzel, 2002; Walther et al., 2002; Menzel, 2003; Walther, 2004), kteří uvádí posun fenofází od 2,3 dne do 5,2 dne za dekádu během posledních třiceti let. Na základě pozorování fenofází v rámci Mezinárodních Fenologických Zahrádek střední Evropy z let 1959 – 1996 se jarní fenofáze posunuly do dřívějšího data v průměru o 6,3 dne (Menzel, 2000). Podrobný fenologický rozbor svídy krvavé není ale v současné době v dostupné vědecké literatuře k dispozici a proto není možné srovnat výsledky konkrétního druhu.

Obr. 1 nástup fenofází prvý květ a plné kvetení svídy krvavé v období 1961 – 2008 na lokalitě Lednice. Šedá čárkovaná čára je fenofáze prvního květu a černá plná čára je fenofáze plného kvetení



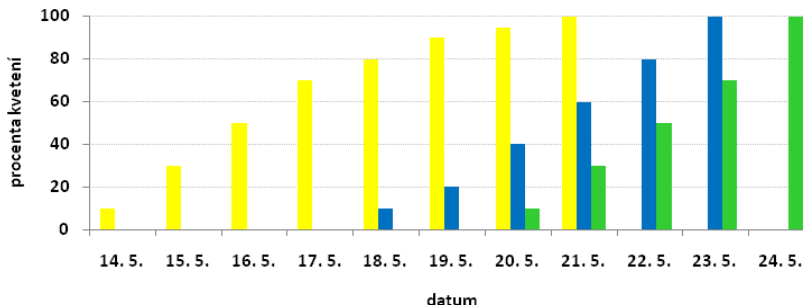
Koherentní analýza prováděná pro trendy průměrných a maximálních teplot v měsících květen a červen a trendy v nástupech fenofází prvního a plného květu ukazuje na vzájemnou silnou vazbu (obr. 2). Koherentní koeficient přesahuje 95 % a 99 % hladinu významnosti pro delší časové cykly. Pro porovnání trendů teplot a nástupu fenofází použil koherentní analýzu Bauer et al. (2009) a uvádí výsledky pro rašení pupenů dubu, aktivitu housenek a kladení vajec dvou ptačích populací. Vazby mezi fenofázemi těchto druhů a teplotou jsou shodné s výsledky rozboru svídy krvavé a také přesahují 95 % a 99 % hladinu významnosti pro delší časová období.

Obr. 2 Výsledky koherentní analýzy pro lokalitu Lednice a trendy v průměrných a maximálních teplotách a nástupech fenofází svídy krvavé (první květ a plné kvetení)



Podrobný rozbor nástupu fenofází svídy krvavé na lokalitě Vranovice během roku 2009 ukázal na rozdílný nástup fenofází na odlišných stanovištích. Fenofáze na osluněné lokalitě byly pozorovány nejdříve; následovaly nástupy fenofází na stanovišti v polostínu a plném stínu (obr. 3). Počátek květu se lišil o 6 dní mezi osluněným a zastíněným stanovištěm a v případě osluněné plochy a plochy v polostínu o 4 dny. Mezi prvním květem v polostínu a prvním květem v zastíněném porostu byl rozdíl 2 dny. Krusi a Debussche (1988) se zabývali dozráváním plodů svídy krvavé na třech různých stanovištích. Rozdíly v dozrávání plodů, ale studovali z odlišného pohledu (zabývali se např. poškozením hmyzem a ptactvem, suchem nebo přirozeným opadem plodů). Teplota je každopádně považována za hlavního činitele ovlivňujícího nástupy fenofází (Schwarz, 2003). 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.

Obr. 3 Postupný nástup fenofází prvý květ a dosažené plné kvetení svídy krvavé na třech odlišných stanovištích jedné lokality Vranovice v roce 2009; žlutou barvou je označen vývoj rozkvetu na osluněné ploše, modrou barvou je označen vývoj fenofází v polostínu, zelenou barvou je označen vývoj fenofází v plně zastíněném porostu lesa

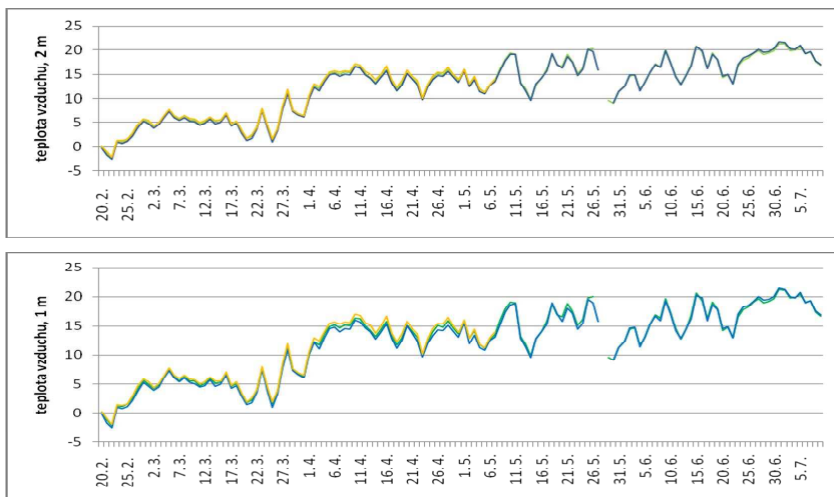


Samotná stanoviště se liší i ve vývoji teplot vzduchu během jarní sezóny. Nejvyšších teplot, jak v 1 m tak ve 2 m bylo dosahováno na osluněné lokalitě (obr. 4). Zde proběhla fenofáze nejdříve. Teploty v polostínu a plném stínu se příliš neliší; průměrná teplota během fenofáze se liší o 0,25 °C (tab. 3), ale přesto se zde nástup a vývoj fenofází odlišuje, jak dokazují také snímky z fenokamer. Cenná data z osluněné lokality neuvádíme, protože meteorologická stanice byla z této lokality na konci měsíce června ukradena a data z období kvetení svídy tak byla ztracena.

Obr. 3 Vývoj denních teplot během fenofáze u dvou jedinců svídy krvavé na dvou odlišných stanovištích a průměrné hodnoty teplot během sledovaných fenofází; nejsvětlejší zelená a červená barva označuje hodnotu teploty v termínu prvního květ a nejsilnější červená a zelená barva označují hodnotu teploty v termínu plného kvetení

	teplota ve 2 m	
	les	polostín
16. 5.	14.29987	14.25765
17. 5.	16.1514	15.80183
18. 5.	19.07892	19.27267
19. 5.	16.98906	17.10896
20. 5.	16.71477	16.27381
21. 5.	19.14638	18.65624
22. 5.	17.62978	17.42962
23. 5.	15.22098	14.75444
24. 5.	16.30127	15.95837
průměr	17,00 °C	17,25 °C

Obr. 4 vývoj teplot vzduchu v 1 m a ve 2 m na lokalitě Vranovice během jarní sezóny roku 2009 na třech odlišných stanovištích; žlutá barva linky jsou hodnoty osluněné plochy, zelená linka jsou hodnoty plně zastíněné plochy, modrá linka označuje stanoviště polostín



Fenofáze prvního květu a plného kvetení byly na všech třech stanovištích sledovány pomocí tzv. fenokamer. Vybrané větve keře svídy byly fotografovány 13x během dne. Díky fotografiím tak bylo možné přesně určit nástup fenofází i v hodinovém kroku. Podle vyhodnocení fotografií je nástup fenofází odlišný od termínů, které zaznamenal pozorovatel. První květ nastupuje na lokalitě LS o 3 dny dříve (17. 5. v 6:00) a plné kvetení je dosaženo také o 3 dny dříve (21. 5. v 7:00). Fenofáze lokality PL začala o 3 dny dříve (15. 5. v 10:00) a plné kvetení bylo dosaženo o 5 dní dříve (18. 5. v 6:00). Fotografické přístroje fotografují konkrétní skupinu větví (jednu část keře) a proto můžou vznikat rozdíly v určení plného květu. Pozorovatel označí fenofázi „plné kvetení“ až v okamžiku, kdy jsou na celém keři otevřena květní poupata, ale ještě nezačal opad květních listů, při čemž plné kvetení na konkrétní větvi, která je zachycena fenokamerou, již může být dosaženo o několik dní dříve. Záběry zachycující první květ na větvi jsou ale hodnotným důkazem o dřívějším nástupu fenofází, než jak zaznamenal pozorovatel.

ZÁVĚR

Fenofáze svídy krvavé se posunuly do dřívějšího data až o 14 dní za celé sledované období.

Byly zaznamenány rozdíly v nástupech fenofází na odlišných stanovištích lokality Vranovice a rozdíly byly naměřeny i v chodu teplot na těchto stanovištích. Měření na těchto třech různých stanovištích byla prováděna prvním rokem a pro další sezónu bude nutné připravit měření a fotografování dokonalejším způsobem. V průběhu růstu vegetace se rozmístění fotografovaných větví měnilo (pod tíhou větve

klesaly nebo byly zastíněny či odsunuty jinými větvemi). Také díky zcizení meteorologické stanice z osluněné lokality nebylo možné dostatečně vyhodnotit vliv teplot na termíny nástupů.

Fenokamery zaznamenávající vývoj vegetace přinášejí informace o dřívějším nástupu fenofází než jak vyhodnotil pozorovatel a upřesňují tak získané výsledky.

LITERATURA

Ahas R (1999) Long-term phyto-, ornitho- and ichthyophenological time-series analyses in Estonia. *Int J Biometeorol* 42:119–123.

Brázdil R, Chromá K, Dobrovolný P, Tolazs R (2009) Climate fluctuations in the Czech Republic during the period 1961–2005. *Int J Climatol* 29:223–242.

Bauer Z, Trnka M, Bauerova J, Mozny M, Stepanek P, Bartosova L, Zalud Z (2009) Changing climate and the phenological response of Great Tit and Collared Flycatcher populations in floodplain forest ecosystems in Central Europe. *Int. J. of Biometeorology*, accepted in press.

Crick HQP, Sparks TH (1999) Climate change related to egg laying trends. *Nature* 399:423–424.

Guitian JP (1996) Spatio-temporal variation in the interactions between *Cornus sanguinea* and its pollinators. *Acta Oecologica* 17(4): 285–295.

Intergovernmental panel on climate change (IPCC), The IPCC 4th Assessment Report, <http://www.ipcc.ch/>, 2007.

Kollmann J, Grubb PJ (2001) Biological flora of central Europe: *Cornus sanguinea* L. *Flora*, 196, 161–179.

Krüsi BO, Debussche M (1988) The fate of flowers and fruits of *Cornus sanguinea* L. in free contrasting Mediterranean habitats, 74: 592–599.

Menzel A (2000) Trends in phenological phases in Europe between 1951 and 1996. *Int. J. Biometeorol.* 44: 76–81.

Menzel A (2003) Phenological anomalies in Germany and their relation to air temperature and NAO. *Clim Change* 57:243–263.

Menzel A, Estrella N (2001) Plant phenological changes. In: Walther GR, Burga CA, Edwards PJ (eds) Fingerprints of climate change: adapted behaviour and shifting species ranges. Kluwer/Plenum, New York, p 123–137.

Menzel A, Estrella N, Fabian P (2001) Spatial and temporal variability of the phenological seasons in Germany from 1951 to 1996, *Global Change Biology*, 7, 657–666.

Menzel A, Sparks T, Estrella N, Koch E and others (2006) European phenological response to climate change Matjes the warming pattern. *Glob Change Biol* 12:1969–1976.

Petr J a kolektiv (1989) Rukověť agronoma, Státní zemědělské nakladatelství, Praha.

Schleip Ch, Sparks TH, Estrella N, Menzel A (2009) Spatial variation in onset dates and trends in phenology Across Europe, *Climate research special* 19, 39: 249–260.

Schnelle F (1955) Pflanzen-Phänologie. Akademische Verlagsgesellschaft Geest & Portig, Leipzig.

- Schwartz MD (1999) Advancing to full bloom: planning phenological research for the 21st Century. *Int J Biometeorol* 42:113–118.
- Schwartz, MD (2003) Phenoclimatic measures. In *Phenology: An Integrative Environmental Science* (Schwartz, M.D., ed.), pp. 331 – 343, Kluwer.
- Schwartz MD, Ahas R, Aasa A (2006) Onset of spring starting earlier across the Northern Hemisphere. *Glob Change Biol* 12:343–351.
- Sparks TH (1999) Phenology and the changing pattern of bird migration in Britain. *Int J Biometeorol* 42:134–138.
- Sparks TH, Carey PD (1995) The responses of species to climate over two centuries: an analysis of the Marsham phenological record. *J Ecol* 83:321–329.
- Sparks TH, Jeffree EP, Jeffree CE (2000) An examination of the relationship between flowering times and temperature at the national scale using long-term phenological records from the UK. *Int J Biometeorol* 44:82–87.
- Sparks TH, Menzel A (2002) Observed changes in seasons: an overview. *Int J Climatol* 22:1715–1725.
- Sparks TH, Menzel A, Stenseth NCh (2009) European cooperation in plant phenology, *Climate research special* 19, 39: 175-177.
- Štěpánek P (2007) ProClimDB—software for processing climatological datasets. CHMI, regional office Brno. <http://www.climahom.eu/ProcData.html>
- Štěpánek P, Řezníčková L, Brázdil R (2008) Homogenization of daily air pressure and temperature series for Brno (Czech Republic) in the period 1848–2005. In: *Proceedings of the Fifth Seminar for Homogenization and Quality Control in Climatological Databases* (Budapest, 29 May – 2 June 2006), WCDMP. WMO, Geneva (CD-ROM).
- Walther G-R, Post E, Convey P, Menzel A, Parmesan C, Beebee TJC, Fromentin JM, Hoegh-Guldberg O, Bairlein F (2002) Ecological responses to recent climate change. *Nature*, 416, 389-395.
- Walther G-R (2004) Plants in a warmer world. *Perspect. Plant Ecol.*, 6, 169-185.
- Wheeler TR, Batts GR, Ellis RH, Hadley P, Morison JIL (1996) Growth and yield of winter wheat (*Triticum aestivum*) crops in response to CO₂ and temperature, *J. Agric. Sci.* 127, 37–48.
- Zlatník A (1978) *Lesnická fytoecnologie*, Státní zemědělské nakladatelství, 1. vydání, Praha.

INFLUENCE OF VEGETATION PERIOD ON THE NUTRIENT COMPOSITION OF ALFALFA

Dvořáčková J., Doležal P.

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

E-mail: xdvorac2@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this work was to find the growing stage of lucerne stand with the optimal composition of all important nutrients (carbohydrates, crude protein, fiber ect.). The samples were taken in the company farm Velké Opatovice, the nutrients were determined by the methods prescribed by given standard.

Our monitoring consisted of two parts. The first was the weekly sampling. This monitoring took place during the period of vegetation and the task was to provide the detail information about the development of controlled quantities of the nutrients. In the second monitoring, the samples of alfalfa at the different growth stages (very young stands, young stands, beginning bud-stage, bud-stage, begining of flowering and after flowering) were taken.

After the evaluation of the results, we concluded that the most appropriate stage for the harvesting of this crop is bud-stage where all the nutrients were in the optimal ratio.

Key words: lucerne, vegetation periode, nutrient, carbohydrates, crude protein, fiber

ÚVOD

Víceleté jeteloviny - vojtěška setá a jetel luční se významně uplatňují v rostlinné a živočišné výrobě i v krmivářském průmyslu. Známy zlepšující agrotechnický význam v osevních sledech je důležitým faktorem pro udržení biologické rovnováhy a zdravotního stavu půdy při současném trendu zvyšování ploch obilnin. Výsledky polních pokusů i praxe ukazují, že z hlediska úrodnosti půdy se dosud nemůžeme obejít bez pravidelného zařazování jetelovin na každý pozemek ani při vysokém stupni chemizace (PETR, 1980). Význam této plodiny spočívá v pozitivním vlivu na strukturu a úrodnost půdy, neboť obohacuje půdu o dusík a vlivem hlubokého kořenového systému vynáší živiny z hlubších půdních horizontů a ukládá je do kořenového systému (VORLÍČEK, 2004).

Vojtěška a vojtěšková siláž představují hlavní a nejlevnější zdroj bílkovin rostlinného původu v krmných dávkách všech přežvýkavců, a proto je nutné vyrábět je v co nejvyšší kvalitě.

U víceletých píceň je rozhodujícím faktorem pro určení doby sklizně ke konzervaci vegetační stadium, které je spolehlivějším ukazatelem než obsah sušiny. Vegetační stadia jsou podle PETRA (1980) následující: klíčení (3 – 4 dny stáří porostu), vzcházení (7 – 12 dnů), jednoduchý list (asi 28. den), první trojčetný list (35. den), tvorba pupenů (35. den), butonizace (v 1. seči 50 – 60 dnů stáří porostu, ve druhé 40 – 50 dnů a ve třetí seči 45 – 60 dnů), kvetení (1. seč 70 – 80 dnů, 2. seč 50 – 60 dnů), oplození a zrání (jedna rostlina kvete 1 – 2 měsíce, 1 hrozen 10 – 14 dnů). Přičemž vojtěšku je nutné sklízet ve vegetační fázi, kdy porost vykazuje nejvyšší množství stravitelných živin. Ani sebevyšší hektarový výnos této pícniny v pozdější fázi vegetace nemůže nahradit pokles stravitelnosti a celkové kvality živin v porostu, jak uvádí ve své práci PADRŮNĚK et al. (2004).

MATERIÁL A METODIKA

Pokusné vzorky byly odebírány na pozemcích VOS zemědělců a.s. se sídlem ve Velkých Opatovicích. Tato lokalita se nachází v nadmořské výšce 430 m.n.m., půdním typem je zde písčito-hlinitá až písčítá půda, půdním druhem je černozem degradovaná. Průměrná roční teplota dosahuje 8,5 °C, průměrné roční srážky jsou 710 mm. Stanovení bylo provedeno v laboratoři S.O.S Skalice nad Svitavou, s.r.o.. Laboratoř používá metody předepsané a rámcově popsané ve Vyhlášce 222/1996 Sb. Ministerstva zemědělství ČR a konkretizované v publikaci ÚKZÚZ Brno: Postupy laboratorního zkoušení krmiv, doplňkových látek a premixů I. z roku 2000. Pro jednotlivá stanovení cituji příslušné části vyhlášky, jinak jen princip metody: stanovení dusíkatých látek – metoda 2.1, stanovení vlákniny – metoda 4.1, stanovení lehce rozpustných cukrů – metoda 5.3.

Součástí experimentu byla dvě sledování provedená na porostu vojtěšky seté ve druhém užitkovém roce. V prvním z nich byly na stanovišti po celou dobu vegetace, ve všech třech sečích odebírány vzorky s cílem zjistit detailnější poznatky o vývoji množství jednotlivých sledovaných živin (dusíkaté látky, vláknina, lehce rozpustné cukry).

Ve druhém z nich byly prováděny odběry s ohledem na fázi růstu, ve které se porost nacházel (odběr ve fázi velmi mladého porostu, mladého porostu, na začátku butonizace, ve fázi butonizace, na začátku květu, v květu a po odkvětu). U těchto vzorků byla provedena rovněž analýza na množství živin s cílem nalézt fázi růstu, ve které vykazuje porost z krmivářského hlediska optimální živinové složení.

VÝSLEDKY A DISKUZE

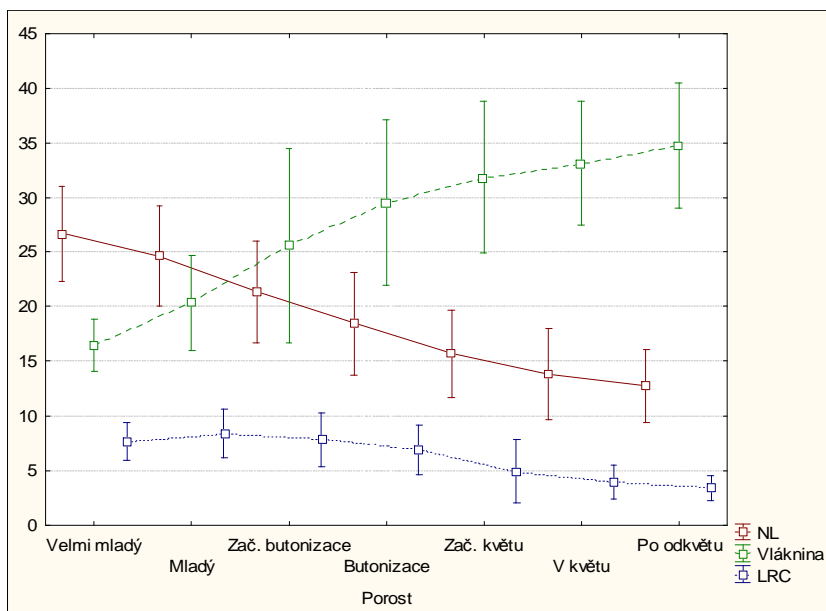
V prvním sledování byly odebírány vzorky po celou dobu vegetace, můžeme pozorovat klesající tendenci obsahu dusíkatých látek v první, ve druhé i ve třetí seči, přičemž průměrné obsahy dusíkatých látek na začátku i na konci seče jsou vždy vyšší než u následující seče vojtěšky, konkrétněji na začátku první seče byl obsah dusíkatých látek ve vojtěšce roven $27,33 \pm 1,15$ %, tato hodnota poklesla na konci první seče na $15,43 \pm 0,30$ %, na počátku druhé seče, činila $25,93 \pm 0,66$ %, na jejím konci $13,46 \pm 0,55$ %, na počátku seče třetí $24,56 \pm 0,38$ % a na konci celého vegetačního období byl obsah dusíkatých látek $12,1 \pm 0,3$ % (příloha graf 1).

Se vzrůstajícím stářím porostu stoupá i množství vlákniny, a to ve všech třech sečích. Průměrná hodnota vlákniny se s vzrůstajícím pořadím seče v průběhu vegetace zvyšuje. Na konci první seče je její průměrné množství ve vojtěšce $31,6 \pm 0,95$ %, na konci druhé stoupá na hodnotu $32,47 \pm 0,3$ %, a na konci třetí seče a zároveň i celé vegetace, tedy je jeho hodnota rovna $35,67 \pm 0,81$ % (příloha graf 2).

Co se týče vývojové tendence v obsahu lehce rozpustných cukrů, množství této živiny je na začátku seče poměrně nízké, postupně vzrůstá až na své maximum a poté s každým týdnem klesá až do konce seče. Maximálních hodnot obsahu lehce rozpustných cukrů u jednotlivých sečí bylo dosahováno v porostu v 5. týdnu první seče, kdy byla průměrná hodnota $8,93 \pm 0,70$ %, ve 3. týdnu druhé seče (viz.příloha graf 3) průměrnou hodnotou $8,80 \pm 0,70$ %, ve třetí seči byla hodnota nejvyšší v 5. týdnu obrůstu třetí seče, a to v průměru $6,63 \pm 0,49$ % (příloha graf 3).

Ve druhém sledování mělo množství dusíkatých látek u vojtěšky seté, stejně jako tomu bylo ve sledování prvním, tendenci v průběhu vegetačních stadií klesat. Nejvyšší průměrné množství NL má vojtěška ve stadiu velmi mladého porostu, a to $26,67 \pm 2,20$ %, ve stadiu butonizace toto množství klesá na $18,43 \pm 2,36$ % a ve vegetačním stadiu po odkvětu je obsah dusíkatých látek pouze v průměru $12,8 \pm 1,67$ % (graf 1). Co se týče statistického zhodnocení výsledků, zdůraznila bych zejména statisticky průkazný rozdíl ($P < 0,05$) mezi obsahem NL v začátku butonizace a ve fázi květu vojtěšky. Rovněž WINKELMANN (2003)došel ve své práci k závěru, že množství dusíkatých látek ve vojtěšce v průběhu vegetačních fází klesá.

Graf 1 Vliv vegetačního stadia na obsah vybraných živin (vlákniny, dusíkatých látek, lehce rozpustných cukrů)



Naproti tomu množství vlákniny v průběhu vegetačních stadií stoupá, čímž se z krmivářského hlediska snižuje kvalita porostu. Nejnižší množství vlákniny se nachází u velmi mladého porostu ($16,47 \pm 1,19$), nejvyšší u porostu po odkvětu ($34,73 \pm 2,84$) (graf 1). PADRŮNĚK (2004) potvrzuje zvyšování obsahu vlákniny v průběhu vegetačních stadií, konkrétně u mladého porostu uvádí 21,2 % vlákniny v sušině a v porostu po odkvětu 39 % vlákniny v sušině. Také další autoři (ZEMAN a kol., 2006, WINKELMANN, 2003) uvádějí ve svých pracech vzrůst obsahu vlákniny v průběhu vegetačních stadií.

Poslední monitorovanou živinou byly ve druhém sledování lehce rozpustné cukry, ty dosahují v porostu svého vrcholu ve vegetačním stadiu mladého porostu kdy je jejich průměrné množství $8,37 \pm 1,10$ %, poté dochází k poklesu až na $3,4 \pm 0,56$ % LRC ve vegetačním stadiu po odkvětu (graf 1). Statisticky průkazný rozdíl ($P < 0,05$) byl v obsahu LRC zjištěn mezi začátkem butonizace a porostem v květu.

ZÁVĚR

První sledování, ve kterém byly odebírány vzorky vojtěšky seté v průběhu celého vegetačního období bylo detailnější, a tudíž z něj bylo možné lépe pozorovat vývojové tendence obsahu jednotlivých živin v průběhu vegetace, přičemž tyto tendence byly stejné jako ve druhé části experimentu. Tedy, že množství dusíkatých látek v průběhu jednotlivých sečí klesá, vlákniny stoupá

a množství lehce rozpustných cukrů je nejpve nízké, postupně vzrůstá až na své maximum a poté s každým dalším odběrem klesá.

Co se týče sledování č.2, téměř ve všech vědeckých pracech o vojtěšce seté se dočteme, že nejhodnější vegetačním stadiem pro sklizeň této plodiny je fáze butonizace, také náš pokus toto tvrzení potvrdil. Právě ve stadiu butonizace není ještě pokles obsahu lehce rozpustných cukrů a dusíkatých látek v porostu natolik dramatický, aby měl negativní vliv na celkovou kvalitu krmiva z porostu vyrobeného. Na druhé straně však ještě obsah vlákniny (lignin, celulóza, pektiny apod.) svým množstvím negativně neovlivňuje stravitelnost.

LITERATURA

DOLEŽAL, P., Objemná statková krmiva In ZEMAN, L., a kol., *Výživa a krmení hospodářských zvířat*, 1.vyd., Profi Press s.r.o., 2006, str. 104 – 105, ISBN: 80-86726-17-7

DVOŘÁČKOVÁ, J. Vliv vegetačního stadia a pořadí seče na výživnou hodnotu a silážovatelnost vojtěšky. Diplomová práce, Brno: MZLU, 2009, 84 s.

PADRŮNĚK, S., DREVJANY, L., KOZEL, V., *Holštýnský svět*, 1. vyd., UNIPRESS Turnov, 2004, str. 168-179

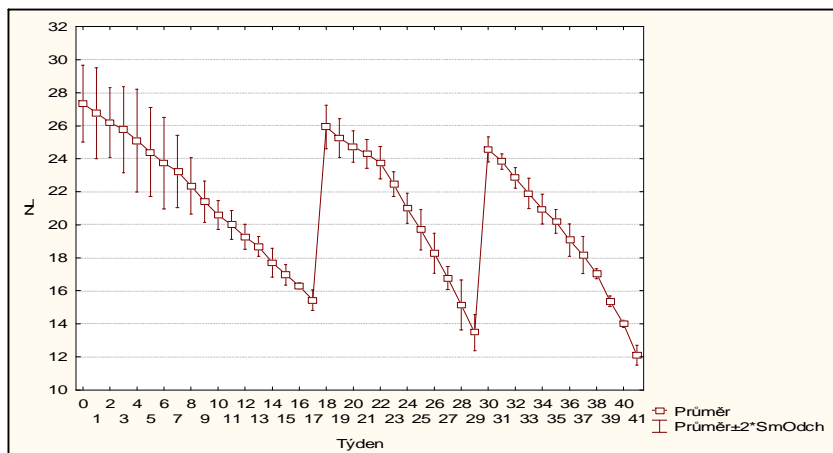
PETR, J., ČERNÝ, V., HRUŠKA, L. a kol. *Tvorba výnosu hlavních polních plodin*, 1. vyd. SZN, 1980, str. 262–263

VORLÍČEK, Z. Morfologické, biologické a hospodářské charakteristiky vojtěšky seté In HRABĚ, F. a kol. *Trávy a jetelovino trávy v zemědělské praxi*, Olomouc, 2004, str. 13–16, ISBN: 80-903275-1-6

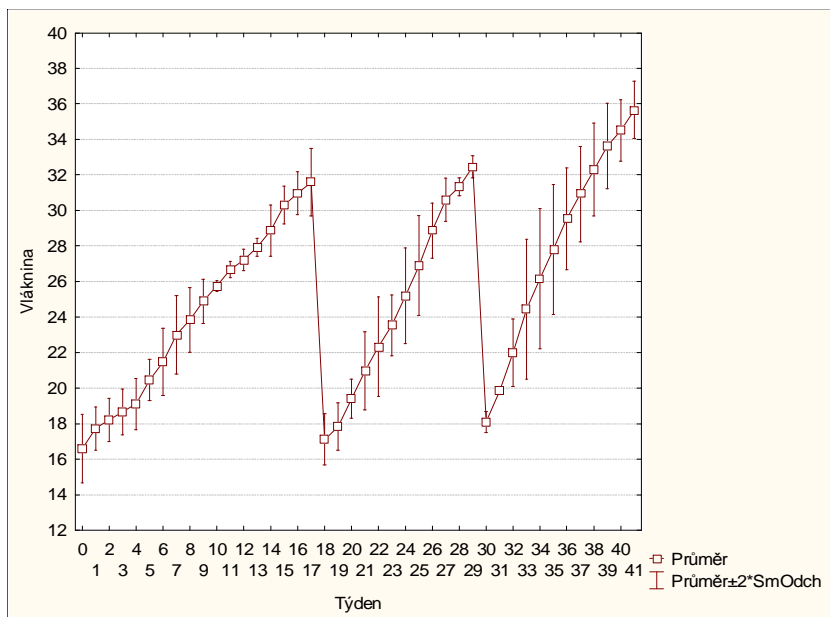
WINKELMANN, J., *Silážovat vojtěšku beze ztrát*, Úspěch ve stáji, 2003, č. 1, str. 5

PŘÍLOHY

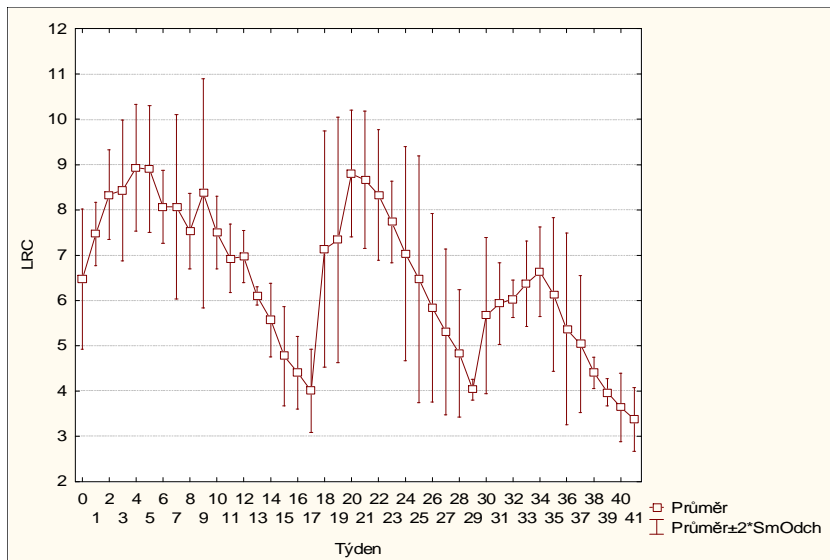
Graf 1 Změna obsahu dusíkatých látek v průběhu vegetace



Graf 2 Změna obsahu vlákniny v průběhu vegetace



Graf 3 Změna obsahu lehké rozpustných cukrů v průběhu vegetace



THE COMPARISON BETWEEN THE EVAPOTRANSPIRATIONS OF SHORT ROTATION COPPICE AND THE REFERENCE GRASSY SURFACE

Fischer M., Žalud Z.

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

E-mail: fischer.milan@gmail.com

ABSTRACT

Within a presented study a seasonal and daily dynamics of actual evapotranspiration was investigated in poplar short rotation coppice culture (SRC) and was also compared with the evapotranspiration of grassy reference surface. The main aim of the overall study is to find a correlation between the basic meteorological inputs and the yields of biomass and to create a model which will be able to choose suitable areas for growing of SRC and to predict their yields. Very important part of such accessing is the evaluation of water balance – especially rains, evapotranspiration and soil moisture patterns. To measure the evapotranspiration, two Bowen ratio systems were constructed above SRC and the reference surface in the summer 2008. The high-density experimental field plantation for the verification of the performance of poplar clone J-105 (*P. nigra* x *P. maximowiczii*) is situated in Domaníněk (Czech Republic, 49°32' N, 16°15' E and altitude 530 m) and was established in the spring 2002 on agricultural land previously cropped predominantly for cereals and potatoes.

During the observed period the daily and monthly sums of evapotranspiration in different growths were compared. The SRC showed higher values of the evapotranspiration in the course of months with the highest rains – June and July. When a longer period without rains and lower soil moisture came, evapotranspiration of SRC decreased more than the reference and at that time the grassy surface reached higher values. Generally the highest evapotranspiration rate was recorded in the days with occurrence of rains in combination with high solar radiation. In these cases especially culture of SRC attained to highest evapotranspiration amounts. The divergence in such days could be explained with larger leaf area index of poplars and so with considerable ability to transpire. In addition, leaf area of poplars can catch much more water from precipitations (interception) which can be consequently evaporated. With due regard to soil water deficit, our results indicate that poplars culture compared to reference turf grass is much more sensitive to this type of limitation. The results of this work confirm the well known pivotal role of solar radiation and sufficiency of soil water in evapotranspiration rate.

Key words: short rotation coppice, reference grassy surface, evapotranspiration.

Acknowledgements: The presented study was supported by In-house Grant Agency at MUAF in Brno (IGA 14/2009) and by the Research plan No. MSM 6215648905 “Biological and technological aspects of the sustainability of controlled ecosystems and their adaptability to climate change“ financed by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

ÚVOD

Dle řady autorů (Kauter et al., 2003; Londo, 2002, Afas et al. 2008) se rychle rostoucí dřeviny (RRD) pěstované ve velmi krátké době obměty na zemědělské půdě mohou stát v zemích EU, a tedy i v ČR, důležitým zdrojem obnovitelné energie. Závěry jejich analýz vycházejí jednak z vysokého podílu energeticky využitelné biomasy v celkovém výnosu s technologickými vlastnostmi blízkými pevným palivům a dále z existence dostatečných ploch relativně kvalitní orné půdy využitelné pro tyto účely (Kauter et al., 2003). Energii z RRD lze také získat za relativně nízkých výrobních nákladů (Kauter et al., 2003) a především poměrně šetrně k životnímu prostředí (Rafaschieri, 1999). Posledním z argumentů, který ve světle nových prognóz dopadů změny klimatu a návrhu adaptačních opatření v rámci EU (EEA, 2004) nabývá na důrazu, je schopnost plantáží RRD zvýšit depozici uhlíku a současně napomáhat ke zmírnění klimatické změny i při energetickém využití. Příčinou je tzv. CO₂ neutrální bilance (Liberloo et al., 2006). Kromě toho mají RRD pozitivní vliv na biodiverzitu (malí savci, ptáci, hmyz atd.), akumulaci živin, ochranu půdy před vodní a větrnou erozí (Isebrands a Karnonsky, 2001) a v neposlední řadě rovněž i na akumulaci a lepší hospodaření s vodou v ekosystému (Perry et al., 2001). Přesto je celková plocha v současné době využívaná pro pěstování RRD pro energetické účely poměrně malá s největší plochou plantáží (celkově několik desítek tisíc hektarů) ve Skandinávii, Velké Británii, Itálii, Belgii a Francii (Christersson, 1999; Slatter et al., 2001; Kauter et al., 2003). Hlavním faktorem, který brání většímu rozšíření tohoto obnovitelného zdroje je ekonomika pěstování neboť produkce záměrně pěstovaných RRD stále čelí tvrdé konkurenci fosilních paliv a rovněž zbytkové biomasy ze zemědělské výroby a zpracování dřeva. Jednou z cest, která může napomoci zvýšení efektivity pěstování RRD, je kromě v současnosti poskytovaných dotací (např. na zakládání a údržbu plantáží v prvních letech) i optimalizace technologie pěstování RRD na zemědělské půdě. I když se řada zahraničních i domácích studií touto problematikou zabývala aplikovatelnost jejich závěrů u ploch RRD na orné půdě v ČR je omezená. U celé řady zahraničních prací pocházejí výsledky buď z 1) velmi specifických podmínek rašelinných půd ve Skandinávii popřípadě půd antropogenního původu (Hytönen, 1996; Bungart, 1999); nebo 2) z obtížně srovnatelných klimatických podmínek Severní Ameriky (Lo a Abrahamson, 1996; Scarascia-Mugnozza, 1997). Množství prakticky využitelných experimentálních dat z oblasti střední Evropy zůstává omezené, i přes značný pokrok učiněný v posledních letech. Je tomu tak proto, že tyto studie nemohly pokrýt všechny uvažované druhy RRD a existující přírodní podmínky a zároveň neexistovaly dostatečně rozsáhlé plochy porostů, které by tyto studie umožnily. Většina těchto prací tak buď nezahrnuje nejslibnější biologický materiál vhodný pro specifické podmínky ČR (např. Hoffman- Schille et al., 1999, Jug et al., 1999a; Jug et al., 1999b) nebo se zabývají pěstováním RRD oblastech s restrikcemi na množství použitých živin a výběr biologického materiálu dané platnými právními předpisy o ochraně přírody a krajiny (např. Benetka et al., 2002). Předkládaná práce se zaměřuje na problematiku pěstování RRD na poměrně kvalitní zemědělské půdě s příznivými podmínkami pro přístup techniky nicméně v oblastech, která je ale z pohledu „klasické“ zemědělské prvovýroby považována spíše za marginální. Právě v těchto oblastech je možné reálně předpokládat značný zájem ze strany jednotlivých pěstitelů o RRD v okamžiku, kdy se pěstování stane ekonomicky rentabilním.

Výběr ploch a zakládání plantáží RRD (v případě, že investor předpokládá využití dotace) se děje podle požadavků legislativy ve spolupráci s akreditovanými odborníky a na základě projektu

(např. Weger a Havlíčková, 2003). Odhad budoucí produkce na těchto plochách je ale věcí subjektivního posouzení daným expertem a nemůže brát v úvahu skutečné meteorologické, půdní, fytopatologické a herbologické podmínky konkrétní sezóny. I z těchto důvodů se od 60. let rozvíjí interdisciplinární obor produkční ekologie založený na matematickém modelování růstu a vývoje záměrně pěstovaných druhů rostlin. Snahou autorů těchto modelů je formulovat výsledky exaktních měření základních životních procesů a jejich vazeb na abiotické podmínky do obecných algoritmů. Tyto modely jsou obvykle koncipovány tak, aby po příslušné kalibraci a verifikaci byly přenositelné mezi jednotlivými lokalitami. V kombinaci s kvalitním datovým základem a správnou interpretací výstupů mohou sloužit např. k optimalizaci data výsadby (stanovení optimálního data případně nejranějšího a nejpozdějšího termínu), hnojení (např. dávkování a termínu), odhadu roční produkce biomasy (i s několikaměsíčním předstihem před sklizní) či ke stanovení pěstitelských rizik v souvislosti s výskytem extrémních meteorologických událostí. Mezi takovými riziky je třeba uvést zejména možný vliv období sucha, výskyt extrémních teplot či dlouhodobě nízkých úhrnů globální radiace apod.). Využití těchto nástrojů je ale podmíněno získáním dostatečného množství kvalitních experimentálních dat ke kalibraci a verifikaci těchto modelů. Za předpokladu, že jedním z rozhodujících faktorů pro úspěšné pěstování RRD je dostatek vody, je pozornost v této práci zaměřena právě na vyhodnocení dat týkající se vodní bilance. Dílčí cíle mohou být následovně shrnuty:

- 1) Srovnat a popsat měsíční a denní úhrny evapotranspirace u porostu RRD a referenčního travního porostu,
- 2) vybrat a vysvětlit faktory mající na chod a míru evapotranspirace řídící vliv.

MATERIÁL A METODIKA:

Klíčové parametry pro sestavení modelu určeného k výběru vhodných oblastí pro pěstování RRD a rovněž k predikci výnosů v podmínkách ČR představuje zejména hodnocení vodní bilance (srážky, evapotranspirace, půdní vlhkost), sledování nárůstu biomasy a další nezbytné meteorologické a půdně-klimatické charakteristiky (teplota vzduchu, sluneční radiace, teplota půdy, fyzikální a chemické vlastnosti půdy atd.). Předkládaná práce se zaměřuje na srovnání evapotranspirace dvou různých ekosystémů – porostu RRD a tzv. referenčního travního porostu (TP) - jedná se o standardizovaný travní porost navržený dle metodiky FAO založené na Penman-Monteithově přístupu, který se vyznačuje během celého kalendářního roku konstantní výškou (0,12 m), konstantním albedem (0,23), konstantním povrchovým odporem (70 s.m^{-1}), plným (maximálním) zápojem a optimálním zásobováním srážkovou vodou (Allen et al., 2005).

Na jaře roku 2002 byl na lokalitě Domanínky (Česká republika, $49^{\circ}32' \text{ s. š.}$ a $16^{\circ}15' \text{ v. d.}$) nacházející se na katastrálním území města Bystřice nad Pernštejnem založen na ploše o celkové výměře 3,5 ha porost RRD. Jedná se o monokulturní plantáž v ČR nejpoužívanějšího rychle rostoucího topolového klonu J-105 (*P. nigra* x *P. maximowiczii*). Porost byl vysázen do tzv. dvojřádků ve sponu 0,7 m, které jsou od sebe odděleny meziřádkům o šířce 2,7 m umožňující přístup příslušné techniky. Takto zvolené schéma umožnilo dosažení doporučené hustoty 10 000 jedinců/ha. V těsné blízkosti topolové plantáže se nachází pravidelně sečený (jednou až dvakrát týdně) TP o rozloze 2 ha.

Sledovaná lokalita leží na mírném svahu (3 °) s východní expozicí v nadmořské výšce 530 m n.m. Z pedologického hlediska reprezentuje stanoviště širší územní oblast charakterizovanou hlubokou luvickou kambizemí s nízkým obsahem skeletu, ovlivněnou glejovými procesy. Zdejší oblast je vystavena chladnému a relativně vlhkému klimatu typickému pro zdejší část stěnění Evropy mírného podnebného pásma s mísicím se kontinentálním a přímořským vlivem. Dle dlouhodobého normálu je průměrná roční teplota 6,6 °C a průměrný roční úhrn srážek 580,6 mm. Ačkoli zdejší klimatické podmínky pro pěstování topolových porostů RRD již dosahují limitních hodnot, stanoviště je pro pěstování ještě stále vhodné (Havlíčková et al., 2006). Sedmi roční dobu obmytí (2002 – 2009) charakterizoval vlhkostně příznivý první rok, což je velmi důležité zejména pro úspěšné založení porostu. V posledních letech však docházelo k častějším výskytům sucha. V průběhu celého období byly v porovnání s dlouhodobým průměrem zaznamenány vyšší průměrné roční teploty (7,3 °C) a i nepatrně vyšší roční úhrny srážek (590,6 mm).

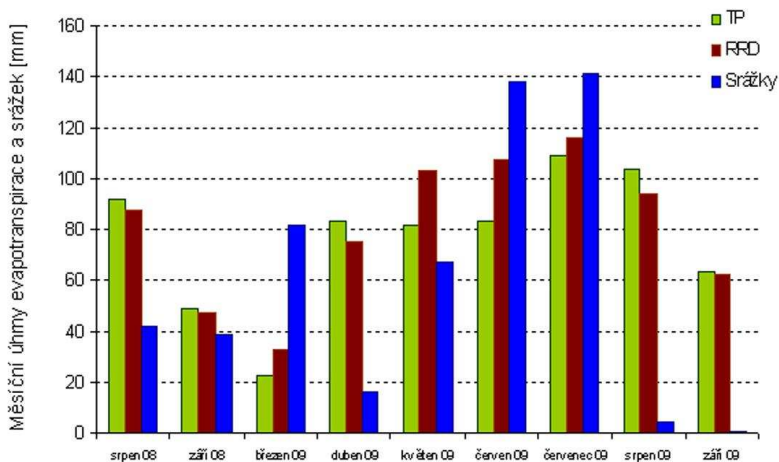
Na počátku léta 2008 byl zahájen podrobný monitoring vodní bilance u obou zmiňovaných porostů RRD a TP. Tato měření jsou založena jednak na přesném stanovení aktuální evapotranspirace, stanovení referenční evapotranspirace travního porostu, sledování dynamiky půdní vlhkosti a sacího potenciálu půdní vody v různých hloubkách a měřením srážkových úhrnů. Výpočet aktuální evapotranspirace je založen na měření tzv. Bowenova poměru, který udává podíl mezi teplem pocitovým a teplem skupenským (jinými slovy energií spojenou s ohřevem vzduchové hmoty a energií využitou na změnu skupenství vody kapalně ve vodní páru). V souladu s teorií turbulentní difúze za předpokladu, že turbulentní přenos tepla a vodních par je totožný, lze Bowenův poměr vyjádřit jako podíl rozdílů teploty a rozdílů koncentrace vodních par ve dvou různých výškách. Využitím základní rovnice energetické bilance $R_n = G + H + LE$, která vyjadřuje rozdělení čisté energie slunečního záření (R_n) na tok tepla do půdy (G), teplo pocitové (H) a skupenské teplo výparu (LE), lze po její jednoduché matematické úpravě a dosazení Bowenova poměru vyjádřit hodnotu aktuální evapotranspirace (Lloyd, 1997).

Měření aktuální evapotranspirace je v porostu RRD zajištěno sestavou 3 čidel EMS 33 na měření teploty a relativní vlhkosti vzduchu. Čidla jsou umístěna v radiačních krytech ALO 73 na hliníkovém stožáru ve výškách 14, 12 a 10 m. Ve výšce 14 m je dále umístěno čidlo Schenk 8110 na měření čisté radiace a čidlo EMS 11 pro stanovení globální radiace. Měření toku tepla do půdy zajišťuje senzor HFP01. Současně s monitoringem aktuální evapotranspirace probíhá měření objemové půdní vlhkosti (3 čidla EC 10), teploty půdy (3 čidla PT 100) a sacího tlaku půdní vody (6 sádrových bločků). Všechny zmíněné přístroje jsou napojeny na datalogger ModuLog, který zaznamenává naměřené hodnoty každou minutu každých 10 min. ukládá jejich průměr. Měření evapotranspirace nad TP je obdobné jako u RRD. Liší se pouze v počtu čidel na měření teploty a vlhkosti vzduchu – v tomto případě jsou pouze dvě, ve výšce jejich umístění - jsou upevněna ve 0,5 a 2 m nad zemí. Mimoto je sestava na TP doplněna o anemometr MetOne 034B pro měření rychlosti a směru větru a automatický srážkoměr MetOne 370/376. Všechna čidla jsou opět napojena na samostatný datalogger ModuLog nastavený na stejný časový krok jako u RRD.

VÝSLEDKY A DISKUZE

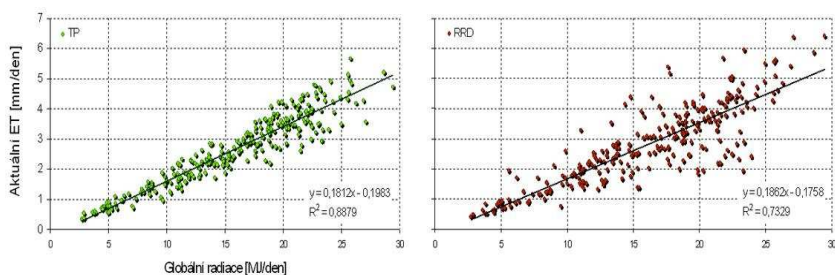
Během sledovaného období byly nejvyšší měsíční úhrny evapotranspirace u obou typů porostů (RRD a TP) zaznamenány v průběhu letního období, kdy je na jednu stranu nejvyšší přísun sluneční radiace – tedy energie, a na stranu druhou jsou především v měsících červnu a červenci nejvyšší úhrny srážek. Tuto situaci znázorňuje graf 1., kde rovněž můžeme pozorovat vztah mezi rozdíly v evapotranspiraci obou porostů a srážkami. Jak je vidět, při vyšších úhrnech srážek (cca nad 60 mm) dosahuje evapotranspirace RRD větších hodnot, v sušších obdobích (srpen a září 2008 a 2009) je tomu naopak. Tento předpoklad bude dále podrobněji popsán při hodnocení denního chodu. V měsíci dubnu, kdy je sice půda ještě stále dobře zásobena vodou po tání sněhu, nedochází ještě k plné transpiraci, poněvadž stromy nejsou plně olistěny.

Graf 1 Měsíční úhrny aktuální evapotranspirace v jednotlivých měsících. Zelené sloupce znázorňují evapotranspiraci travního porostu, hnědé jsou vyznačeny úhrny evapotranspirace výmladkové plantáže RRD a modře úhrny srážek.



Kromě zásoby vody v půdě (která ve většině případů nebyla limitujícím prvkem) hraje při evapotranspiraci řídící roli sluneční radiace (Steduto, Hsiao, 1997). Na grafu 2. je patrná těsnější korelace mezi radiací a evapotranspirací u travního porostu ($r = 0,94$). U RRD ($r = 0,85$) jsou hodnoty charakteristické větším rozptylem. To naznačuje, že radiace má sice na evapotranspiraci velmi výrazný statisticky průkazný vliv, ale v jistém množství případů do vztahu vstupují ještě další faktory. Může se jednat především o deficit vody v půdě, teplotu půdy, teplotu vzduchu, vlhkost vzduchu respektive sytostní doplněk. Využitím odhadu potenciální evapotranspirace dle Penmanovy rovnice, která v sobě zahrnuje energetickou bilanci (především vliv radiace a teploty) a složku aerodynamickou zohledňující zejména vlhkostrní poměry vzduchu a rychlost větru (Strangeways, 2003), lze ovlivnění jednotlivými faktory nepřímo vyloučit nebo naopak potvrdit.

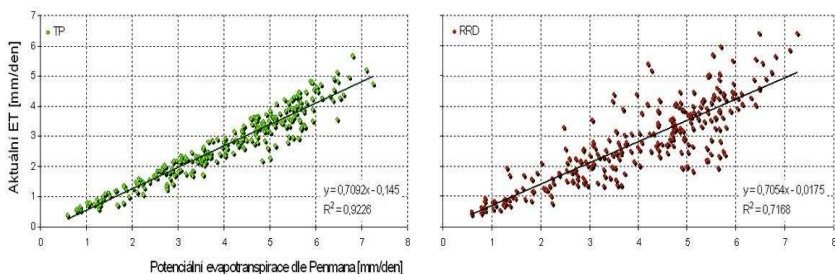
Graf 2 Vztah mezi denními sumami globální radiace a denními úhrny aktuální evapotranspirace (ET). Zelenou barvou jsou znázorněny hodnoty pro TP a hnědou barvou pro RRD.



Korelace mezi naměřenou aktuální (ET) evapotranspirací a potenciální evapotranspirací (PET) dle Penmana je u TP velmi těsná ($r = 0,96$). U porostu RRD je tato vazba poněkud volnější, ale přesto stále statisticky významná ($r = 0,84$). Pokud procházíme data zvláště pro jednotlivé dny, můžeme sledovat určitý vztah mezi výskytem srážek, radiací a aktuální evapotranspirací. Ve dnech, kdy byl zaznamenán jakýkoliv srážkový úhrn (alespoň 2 mm) a přitom byla vysoká globální radiace (R_G) byly zaznamenány nejvyšší denní sumy ET. Tento jev lze vysvětlit velkým množstvím radiací dodané energie schopné odpařovat vodu (evaporace) z ovhčených povrchů (půda, listy a kmeny) a schopné ohřát povrch, zvýšit tak teplotu vzduchu a tím sytostní doplněk, jehož míra je přímo úměrná se zvýšením transpirace. Za předpokladu, že listová plocha u dřevin (LAI v průběhu roku dosahoval až k hodnotám kolem 7) je až třikrát větší než u krátce stříženého travního porostu, můžeme očekávat rozdílné hodnoty transpirace. Za stejného předpokladu může být porostem RRD zachyceno více vody na povrchu listů (intercepce), která je následně za vhodných radičních a vlhkostních podmínek odpařena. Touto teorií by bylo možné vysvětlit extrémně vysoké úhrny ET u RRD a tedy i důvod proč korelace v tomto případě není tak těsná jako u TP. Vazba mezi denními sumami ET, radiací, dny se srážkami a jejich úhrny a je patrná v tabulce 1. Bylo zjištěno, že ve dnech se srážkami a vysokou radiací byla naměřena nejvyšší ET během celého sledovaného období, přičemž u RRD byla ve srovnání s TP téměř 40 % vyšší. V průběhu dubna, kdy topoly ještě nebyly zcela olistěny (proces olistování byl zahájen 13. 4. 2009) byly však vyšší hodnoty ET téměř ve všech případech vyšší než u RRD. To je možné vysvětlit tak, že zatímco u TP docházelo jak ke transpiraci porostu tak i k evaporaci z půdy a intercepce, u RRD probíhala téměř výhradně jen evaporace z půdy, i když po tání sněhu dobře zásobenou vodou. V následujících měsících došlo k plnému olistění a mohla tedy probíhat jak transpirace, tak evaporace z půdy (ta byla ale značně omezena zastíněním hustého listoví) tak výpar vody zadržené intercepce. V polovině srpna a dále pak v průběhu září se však zejména na topolové plantáži začal z důvodu dlouhodobějšího nedostatku srážek projevovat vláhový deficit a došlo k omezení transpirace. Tyto případy odpovídají nízkým hodnotám ET, které lze vidět jak v uvedené tabulce, tak i na grafech 2 a 3. Na těchto grafech je rovněž zřejmý rozdíl mezi TP a RRD. Vyšší rozptyl hodnot ET u RRD naznačuje vyšší citlivost topolů k nedostatku vláhy, dřívější uzavírání průduchů a snížení transpirace. Průběh srážek a dynamiku půdního sacího potenciálu, indikujícího stres suchem vyobrazuje graf 4. Na grafu můžeme sledovat výskyt vláhového deficitu u TP již v průběhu května. Oproti tomu u RRD došlo jen k mírnému zvýšení půdního sacího potenciálu. Během července a části

srpna byla díky vysokým srážkovým úhrnům půda dostatečně zásobena vodou. Konec srpna a celé září byly charakteristické delším obdobím beze srážek a hodnota půdního potenciálu u obou typů porostů vzrostla.

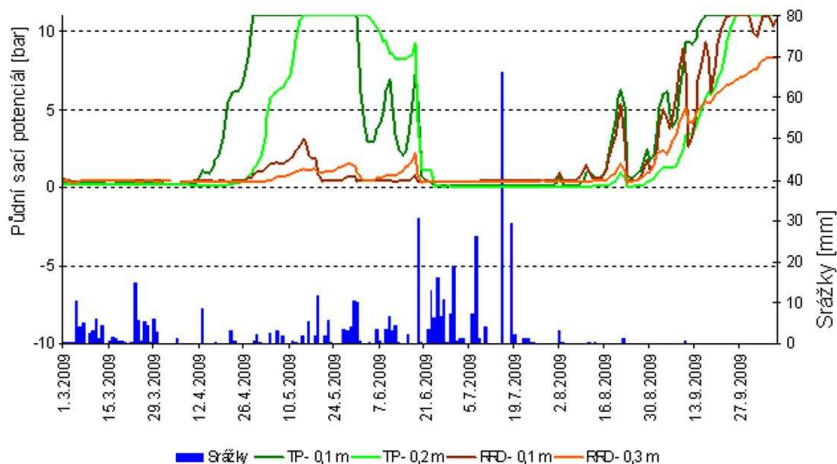
Graf 3 Vztah mezi denními potenciálně dosažitelnými úhrny evapotranspirace dle Penmana a mezi evapotranspirací reálnou – aktuální evapotranspirací (ET). Zelenou barvou jsou znázorněny hodnoty pro TP a hnědou barvou pro RRD.



Tab. 1 Vztah mezi globální radiací (RG), výskytem srážek a jejich úhrny a aktuální evapotranspirací (ET). V jednotlivých sloupcích jsou vypsány úhrny ET pro určitá rozmezí sum denní globální radiace. Seřazením do řádků jsou tyto ET při současné závislosti na radiaci seřazeny dle srážkových úhrnů (rovněž vyjádřených v určitých rozmezích denních sum srážek). Rozdílné barvy symbolizují období (duben – září), ve kterých byla data naměřena.

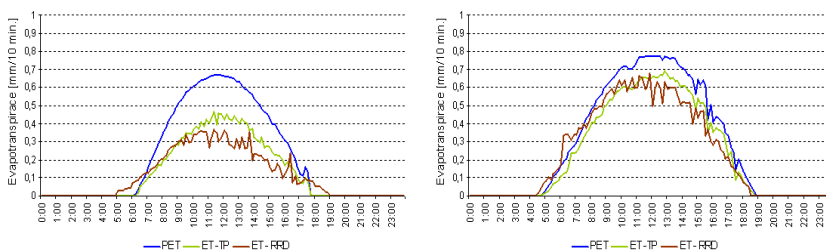
		TTP					Suma ET [mm]			RRD					Suma ET [mm]	Měsíce
R _g [J/m²]	Srážky [mm]	0-5	5-10	10-15	15-20	20-25		25-30	R _g [J/m²]	Srážky [mm]	0-5	5-10	10-15	15-20		
0,10-5	0,54	1,16	1,88	3,71	3,20	3,45	13,84	0,51	1,25	1,77	3,54	3,88	2,46	5,46	16,36	
			1,89	2,74	3,20	3,45	9,36			1,77	3,54	3,88	2,46	5,46	13,81	
			2,33	2,69	3,20	3,45	4,86			2,21	2,78	3,20	2,46	4,44	11,60	
			2,25	2,69	3,20	3,45	5,03			2,21	2,78	3,20	2,46	4,54	11,60	
			1,88	1,92	2,25	2,69	3,45	4,69		2,21	2,78	3,20	2,46	5,35	11,60	
0,5-1	0,56		1,27	2,26	4,81	8,93	1,87	0,52		1,42	2,65	3,88	4,26	8,40	12,11	
			2,20	2,81	4,78	9,80	6,80			2,68	5,16	4,26	5,11	8,29	11,08	
			2,20	2,81	4,78	9,80	6,80			2,68	5,16	4,26	5,11	8,29	11,08	
			2,20	2,81	4,78	9,80	6,80			2,68	5,16	4,26	5,11	8,29	11,08	
			2,20	2,81	4,78	9,80	6,80			2,68	5,16	4,26	5,11	8,29	11,08	
1-2	0,77		1,71	2,26	2,84	8,02	0,82		1,66	2,41	1,33			7,69	10,82	
			1,88	3,37	3,85	9,73	8,68			3,28	3,81	4,85			12,50	
			1,88	3,37	3,85	9,73	8,68			3,28	3,81	4,85			12,50	
			1,88	3,37	3,85	9,73	8,68			3,28	3,81	4,85			12,50	
			1,88	3,37	3,85	9,73	8,68			3,28	3,81	4,85			12,50	
2-3			2,42	2,42	3,47	6,05	0,00			3,08	3,08				8,72	
			2,42	2,42	3,47	6,05	0,00			3,08	3,08				8,72	
			2,42	2,42	3,47	6,05	0,00			3,08	3,08				8,72	
			2,42	2,42	3,47	6,05	0,00			3,08	3,08				8,72	
			2,42	2,42	3,47	6,05	0,00			3,08	3,08				8,72	
3-4	1,36		2,19	2,11	3,25	9,07	1,16		2,90	3,88	2,83			10,66		
			2,19	2,11	3,25	9,07	1,16		2,90	3,88	2,83			10,66		
			2,19	2,11	3,25	9,07	1,16		2,90	3,88	2,83			10,66		
			2,19	2,11	3,25	9,07	1,16		2,90	3,88	2,83			10,66		
			2,19	2,11	3,25	9,07	1,16		2,90	3,88	2,83			10,66		
4-5	0,91		2,18	3,33	3,33	5,69	0,87		4,16	4,42				9,21		
			2,18	3,33	3,33	5,69	0,87		4,16	4,42				9,21		
			2,18	3,33	3,33	5,69	0,87		4,16	4,42				9,21		
			2,18	3,33	3,33	5,69	0,87		4,16	4,42				9,21		
			2,18	3,33	3,33	5,69	0,87		4,16	4,42				9,21		
5-10	1,33		2,10	2,58	3,11	9,04	1,56		2,89	3,16	2,71			10,82		
	0,97		2,10	2,58	3,11	9,04	1,56		2,89	3,16	2,71			10,82		
			2,10	2,58	3,11	9,04	1,56		2,89	3,16	2,71			10,82		
			2,10	2,58	3,11	9,04	1,56		2,89	3,16	2,71			10,82		
			2,10	2,58	3,11	9,04	1,56		2,89	3,16	2,71			10,82		
10-15	1,27		1,45	1,11		5,14	1,21		1,63	1,11				6,77		
	0,75		1,45	1,11		5,14	1,21		1,63	1,11				6,77		
			1,45	1,11		5,14	1,21		1,63	1,11				6,77		
			1,45	1,11		5,14	1,21		1,63	1,11				6,77		
			1,45	1,11		5,14	1,21		1,63	1,11				6,77		
15-20	0,53					3,70	0,45							3,46		
	0,61					3,70	0,61							3,46		
						3,70	0,61							3,46		
						3,70	0,61							3,46		
						3,70	0,61							3,46		
20-30	0,61					7,45	0,83							9,11		
						7,45	0,83							9,11		
						7,45	0,83							9,11		
						7,45	0,83							9,11		
						7,45	0,83							9,11		
30-60						4,23								4,51		
						4,23								4,51		
						4,23								4,51		
						4,23								4,51		
						4,23								4,51		
Suma ET [mm]		2,23	13,08	41,69	73,25	44,60	8,22		2,31	14,94	52,75	89,74	45,97	11,90		

Graf 4 Dynamika půdního sacího potenciálu a průběh srážkových úhrnů v období březen – září 2009. Odstíny zelené znázorňují průběh dostupnosti vody pro rostliny pod povrchem TP a hnědá s oranžovou průběh dostupnosti vody u RRD. Dostupnost vody je vyjádřena pomocí půdního sacího potenciálu a je měřena v hloubkách 0,1 a 0,3 m. Modré sloupce odpovídají jednotlivým denním srážkovým úhrnům.

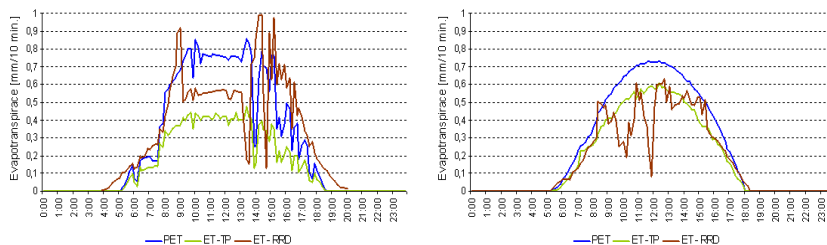


Následující grafy 5. a 6. ukazují desetiminutový krok potenciální a aktuální evapotranspirace u obou porostů během vybraných dnů. Na grafu 5. vlevo můžeme vidět charakteristický denní průběh v období, kdy topoly ještě nejsou olistěny. V tomto případě dosahuje vyšší evapotranspirace TP, u něhož na rozdíl od RRD probíhá kromě evaporace také transpirace. Vpravo je vyobrazena situace při plném olistění. Díky transpiraci u obou porostů jsou naměřené hodnoty již téměř vyrovnané. Vlevo na grafu 6. je denní průběh za dne s nejvyšším úhrnem ET u RRD. Tento den byl charakteristický vysokým úhrnem srážek v kombinaci s vysokou sumou radiace – viz. tab. 1. Vpravo jsou pak na grafu vyznačeny křivky pro den, kdy byl u RRD zaznamenán stres suchem, čemuž odpovídá typicky rozkolísaný průběh ET.

Graf 5 Vztah mezi potenciálně dosažitelnými úhrny evapotranspirace dle Penmana (PET) a mezi evapotranspirací reálnou – aktuální evapotranspirací (ET). Modrá barva znázorňuje potenciální evapotranspiraci, zelená hodnoty pro TP a hnědá pro RRD. Levý graf popisuje průběh evapotranspirací během 13.4.2009 – den před olistěním RRD. Pravý graf ukazuje situaci při plném olistění – 17.7.2009.



Graf 6 Vztah mezi potenciálně dosažitelnými úhrny evapotranspirace dle Penmana (PET) a mezi evapotranspirací reálnou – aktuální evapotranspirací (ET). Modrá barva znázorňuje potenciální evapotranspiraci, zelená hodnoty pro TP a hnědá pro RRD. Levý graf popisuje průběh evapotranspirací během 3.6.2009 – den s nejvyšší naměřenou hodnotou ET u RRD. Pravý graf je typickým vyobrazením rozkolísanosti křivky u RRD během období s vláhovým deficitem – 20.8.2009.



ZÁVĚR

V průběhu vegetační sezóny 2009 byly naměřeny nejvyšší hodnoty aktuální evapotranspirace v letních měsících červen červenec. V této době byly rovněž zaznamenány nejvyšší úhrny srážek a vysoké sumy globální radiace. Korelační analýzou bylo potvrzeno, že radiace hraje spolu s dostatkem vody v půdě pro evapotranspiraci rozhodující roli.

Srovnáním evapotranspirace u RRD a TP bylo zjištěno, že v měsících květen až červenec, kdy byl v půdě dostatek vláhy bylo vyšších úhrnů dosaženo u porostu RRD. Převážnou část dubna nebyl porost dřevin ještě zcela olistěn a na rozdíl od TP nemohlo docházet ke transpiraci, ale pouze k evaporaci, což vedlo k vyšším hodnotám evapotranspirace u TP. V měsících srpen a září, které byly charakteristické výskytem suchých period, došlo v porovnání s TP u dřevin k prudšímu snížení evapotranspirace a měsíční sumy tak byly pro TP vyšší. V souvislosti s tím lze dle naměřených dat předpokládat, že topoly jsou ve srovnání s TP více citlivé ke stresu suchem a transpirace je redukována zavíráním průduchů již při nižších hodnotách půdního sacího potenciálu.

Ve dnech, kdy byl zaznamenán výskyt srážek byla ve většině případů vyšší evapotranspirace u RRD. V těchto případech byl rozdíl umocněn mírou radiace. Celkově byl nejvyšší úhrn evapotranspirace naměřen v den, kdy přišlo a současně byla vysoká suma globální solární radiace. To nepřímou poukazuje na větší schopnost intercepce u RRD. Kromě transpirující vody dochází v těchto dnech ke značnému odparu z ovlhčených povrchů

LITERATURA

Afas, N.A., Marron, N., Van Dongen, S., Laureysens, I., Ceulemans, R., Dynamics of biomass production in a poplar coppice culture over three rotations (11 years), *Forest Ecology and Management* 255, 2008, 1883–1891.

Allen, G.A., Walter, I.A., Elliot, R.L., Howell, T.A. *Asce, Standardized Reference Evapotranspiration Equation*, American Society of Civil Engineers, 2005, p. 216.

Allen, G.A., Pereira, L.S., Raes, D., Smith, M., 'Crop Evapotranspiration – guidelines for Computing Crop Water Requirements' FAO irrigation and drainage, 56, 1998, 290p.

Benetka, V., Bartáková I., Mottl, J., Productivity of *Populus nigra* L. ssp. *nigra* under short-rotation culture in marginal areas, *Biomass and Bioenergy*, 23, 2002, 327-336.

Bungart R., 1999: Erzeugung von Biomasse zur energetischen Nutzung durch den Anbau schnellwachsender Baumarten auf Kippsubstraten des Lausitzer Braunkohlerevirs unter besonderer Berücksichtigung der Nährelementversorgung und des Wasserhaushaltes (Cottbuser Schriften zu Bodenschutz und Rekultivierung. Cottbus: Brandenburgische Technische Universität, 1999, 60p.

EEA (European Environment Agency), Impacts of Europe's changing climate, An indicator-based assessment, report no. 2, 2004, 107 p.

Perry, C.H., Miller, R.C., Brooks, K.N., Impacts of short-rotation hybrid poplar plantations on regional water yield, *Forest Ecology and Management*, 143 (2001): 143-151.

Hofmann-Schielle, C., Jug, A., Makeschin, F., Rehfuess, K.E., Short rotation plantations of balsam poplars, aspen and willows on former arable land in the Federal Republic of Germany. I. Site-growth relationships. *Forest Ecology and Management*, 121, 1999, 41-55.

Hytönen J. Biomass production and nutrition of short-rotation plantations (Diss. University of Helsinki). (The Finnish Forest Research Institute, Research Papers 589). Kannus, 1996, 61p.

Christersson L. Theoretical background to and practical utilization of short rotation and energy forestry. In: Christersson L, Ledin S, editors. IEA. Bioenergy, Task 17: Short-rotation crops for energy purposes. Proceedings of the 7th meeting in Uppsala, Sweden (1999): 5–19.

Isebrands J.G. and Karnosky D.F, Environmental benefits of poplar culture. In: D.I. Dickmann, J.G. Isebrands, J.E. Eckenwalder and J. Richardson, Editors, *Poplar Culture in North America*, NRC Research Press, National Research Council of Canada, Ottawa, Canada (2001): 207–218.

Jug, A., Hofmann-Schielle, C., Makeschin, F., Rehfuess, K.E., Short-rotation plantations of balsam poplars, aspen and willows on former arable land in the Federal Republic of Germany. II. Nutritional status and bioelement export by harvest of shoot axes. *For. Ecol. Manage.*, 121, 1999a, 67-83.

Jug, A., Hofmann-Schielle, C., Makeschin, F., Rehfuess, K.E., Short-rotation plantations of balsam poplars, aspen and willows on former arable land in the Federal Republic of Germany. III. Soil ecological effects. *For. Ecol. Manage.*, 121, 1999b, 85-99.

Kauter, D., Lewandowski, I., Claupein, W., Quantity and quality of harvestable biomass from *Populus* short rotation coppice for solid fuel use- a review of the physiological basis and management practices, *Biomass & Bioenergy*, 24, 2003, 411-427.

Lloyd, C.R., An intercomparison of surface flux measurement during HAPEX Sahel. *J. Hydrol.*, 1997, 188-9, 385-99.

Lo H. M., Abrahamson, L.P., Principal component analysis to evaluate the relative performance of nine year old hybrid poplar clones, *Biomass and Bioenergy*, 10, 1996, 1-6.

Londo M., Energy farming in multiple land use. An opportunity for energy crop introduction in the Netherlands. PhD thesis, University of Utrecht, Netherlands, 2002, 143p.

Liberloo, M., Calfaiofetra, C., Lukac, M., Godbold, D., Luo, Z., Polle, A., Hoosebeek, M.R., Kull, O., Marek, M., Raines, Ch., Rubino, M., Taylor, G., Scarascia-Mugnozza, G., Ceulemans, R., Woody biomass production during the second rotation of a bio-energy Populus plantation increases in a future high CO₂ world, *Global Change Biology*, 12, 2006, 1094–1106.

Scarascia-Mugnozza G.E, Ceulemans R, Heilman P.H., Isebrands J.G., Stettler R.F., Hinckley T.M., Production physiology and morphology of Populus species and their hybrids grown under short rotation. II. Biomass components and harvest index of hybrid and parental species clones. *Canadian Journal of Forest Research*; 27, 1997, 285–94.

Slater F.M., Heaton R.J., Randerson P.F.,: Growing SRC for biomass in the uplands—The task of convincing farmers. In: Kyritsis S et al., editors. *First World Conference on Biomass for Energy and Industry*. Proceedings of the Conference held in Sevilla, Spain, 2000. London: James & James, p. 2001, 1570–3.

Steduto, P., Hsiao, T.C., Maize canopies under two soil water regimes: I. Diurnal patterns of energy balance, carbon dioxide flux and canopy conductance. *Agric. For. Meteorol.* 89, 1998a, 173–188.

Strangeways, I., *Measuring the natural environment*. Cambridge university press, 2003, p.234.

Trnka M., Trnka M., Fialová J., Koutecký V., Fajman M., Žalud Z., Hejduk S.: Biomass production and survival rates of selected poplar clones grown under a short-rotation on arable land, *Plant Soil Environ.*, 54, 2008, 78-88.

Weger, J., Havlíčková, K. (eds), *Biomasa obnovitelný zdroj energie v krajině VÚKOZ, Průhonice*, 2003, 51 p.

EFFECT OF SULPHUR NUTRITION ON THE NUTRITIONAL VALUE OF BROCCOLI

Franková M., Ryant P.

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

E-mail: xfranko3@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this experiment was to find out how quantitative and qualitative parameters of broccoli will be influenced by the different dosages and forms of sulphur. In the experiment with 40 broccoli plants, 2 forms (ammonium sulphate – SA, elementary sulphur – ES) and 5 dosages of sulphur (control, SA1, SA2, ES1, ES2) were applied to the soil in Mitscherlich pots. Broccoli grown between 2 June and 15 September 2008 was consequently harvested and then, the analysis of the weight of head, the diameter of head, the weight of leaves and stalk, the content of nitrates, the content of proteins, sulphur and minerals was carried out. It was found out, that the weight and the diameter of overhead part of the broccoli after the fertilization by sulphur were statistically significantly different from the control, thus unfertilized variant. Especially in sulphated sulphur, the yields were higher, but not always statistically proven. Statistically significant difference was between control and the other variants in that way that the fertilization by sulphur reduced nitrates by fertilized variations. Total content of proteins in green matter was not proven. Statistical evaluation of sulphur content has proven significant differences between the control and the other variants, the fertilization by sulphur raised their content in broccoli. Setting of potassium and magnesium proved that lower yield of the weight of heads and leaves with stalk relate to higher concentration of the plant nutrient. In content of calcium in green matter haven't been seen any changes between the variants of the fertilization by sulphur. In content of phosphorus we can see the decrease of the variant ES2 opposite of control variants. Among the other variants, statistically significant difference hasn't been proven.

Key words: broccoli, sulphur, minerals in green matter, proteins.

ÚVOD

V důsledku snižování sírných emisí do atmosféry z energetického průmyslu a používání bezbalastních hnojiv je u rostlin náročných na síru stále častěji zaznamenáván její deficit. Ze zelenin reagují pozitivně na hnojení sírou především košťáloviny. Síra hraje důležitou úlohu v metabolismu rostlin, což úzce souvisí s nutriční hodnotou zelenin. Nedostatečná výživa sírou nemá vliv pouze na dosažený výnos, ale ovlivňuje také kvalitu získaných rostlinných produktů.

Z brukvovitých zelenin vzrůstá na českém trhu obliba brokolice, a proto byla tato zelenina vybrána jako modelová rostlina pro posouzení vlivu sírného hnojení na dosažené kvantitativní a kvalitativní parametry.

MATERIÁL A METODIKA

Problematika výživy brokolice sírou byla řešena v roce 2008 ve vegetační hale formou vegetačního nádobového pokusu, který navazoval na nádobový experiment s ječmenem jarním. Brokolice, odrůda CORVET F1, byla vyseta do perlitu 2. 6. 2008, po vytvoření 2. – 3. vegetačního listu byla rostlina přepikýrována do sadbovačů před sklizní ječmene v takovém předstihu, který umožnil včasné získání sadby. Po sklizni ječmene bylo zapraveno strniště kultivační horní vrstvy zeminy a následně bylo 3. 7. 2008 provedeno vyhnojení a vysazení sazenic brokolice do Mitscherlichových nádob. Agrochemické vlastnosti půdy před založením jsou uvedeny v tabulce 1. Rostliny brokolice byly zavlažovány demineralizovanou vodou do 60% maximální vodní kapacity použité zemanou. Porost brokolice byl třikrát ošetřen postřikem KARATE 2,5 WG proti mšicím a dřepčnkům v datech 25. 7., 5. 8. a 11. 8. 2008. Bylo provedeno doplnění dávky fosforu na spodní hranici kategorie „dobrá“ na 81 mg/kg a doplnění draslíku na spodní hranici kategorie „dobrá“ na 171 mg/kg.

Tab. 1 Agrochemické vlastnosti zeminy před založením pokusu

varianta	pH/CaCl ₂	obsah přístupných živin (mg/kg)				
		P	K	Ca	Mg	S _{vdorozp.}
kontrola	6,98	53,810	63,50	2104	182,2	49,3
SA1	7,02	53,810	79,20	2071	182,2	40,9
SA2	7,06	54,771	81,50	2334	191,8	85,7
ES1	6,89	57,654	82,50	2071	172,6	119,0
ES2	6,82	56,693	70,0	2137	172,6	85,1

Tab. 2 Schéma pokusu

Varianta	Schéma	Dávka N (g/nádoba)	Dávka S (g/nádoba)
1	Kontrola	2 + 0,5	0
2	Síran amonný (SA1)	2 + 0,5	0,2
3	Síran amonný (SA2)	2 + 0,5	0,4
4	Elementární síra (ES1)	2 + 0,5	0,2
5	Elementární síra (ES2)	2 + 0,5	0,4

Dávka N je rozdělena na základní dávku (2 g) + přihnojení (0,5 g)

Jednotlivé varianty se lišily dávkou a formou síry. Každou variantu pokusu tvořilo 8 nádob (opakování), celkem tedy 40 nádob. Dusík byl aplikován v jednotné dávce 0,6 g N na nádobu v dusičnanu amonném (34,4 % N), u variant 2 a 3 byl dorovnán na tuto hladinu se započtením dusíku již aplikovaného v síranu amonném. Síra byla dodána ve formě síranu amonného (23,7 % S, 20,9 % N) u variant 2 a 3, u variant 4 a 5 byla síra aplikovaná ve formě elementární síry (99,8 % S). Hnojivo v podobě elementární síry bylo zapraveno cca 2 - 3 cm pod povrch zeminy, ostatní byla aplikována v roztoku z důvodu lepší homogenity aplikace.

Sklizeň proběhla ve dvou fázově 30. 8. a 15. 9. 2008. Rostliny byly odděleny 5 cm nad zemí a růžice a zbytku nadzemní části rostlin na dvě části: růžice s 20 cm košťálu a zbytek košťálu s listy. Byla zjišťována hmotnost čerstvé hmoty, průměr růžice a obsah nitrátů v růžici. Po vysušení jednotlivých částí brokolice při 60 °C a jejich homogenizaci, byl chemickou analýzou stanoven obsah N, P, K, S, Ca, Mg v sušině a následně přepočítán na obsah jednotlivých minerálů v čerstvé hmotě a obsah dusíku přepočítán na obsah bílkovin v čerstvé hmotě.

Použité analytické metody

Stanovení obsahu vodorozpustné síry v zemině: obsah vodorozpustné síry byl proměřen ve filtrátu vodného výluhu zeminy (zemina:voda 1:5) metodou ICP-OES pomocí spektrometru JY-24 (JOBIN-YVON, Francie) (Zbírál, 2002).

Stanovení výměnné půdní reakce (pH/KCl): hodnota pH byla stanovena potenciometrickým měřením aktivity vodíkových iontů ve výluhu zeminy 0,2 M KCl na pH metru MS 22 (Laboratorní přístroje Praha, Česká republika) (Zbírál, 2002).

Stanovení dusíku v rostlinné hmotě: obsah dusíku v rostlinné hmotě byl stanoven Kjeldahlovou metodou na automatickém přístroji KJELTEC AUTO 1030 Analyser (Zbírál et al., 2005).

Stanovení dusičnanů: Stanovení dusičnanů bylo provedeno v čerstvých růžicích brokolice iontově selektivní elektrodou podle Šenkýře et Petra (1979) pomocí laboratorního ionometru MS 20 (Laboratorní přístroje Praha, Česká republika).

Stanovení fosforu, draslíku, vápníku a hořčíku v rostlinné hmotě: oxidace organické hmoty byla provedena spalováním v koncentrované H₂SO₄ za postupného přidávání H₂O₂ až do vzniku bezbarvého roztoku. V získaném mineralizátu byl obsah fosforu stanoven kolorimetricky vanadičnanovou metodou, obsah draslíku metodou atomové emisní spektrofotometrie, obsah vápníku a hořčíku metodou atomové absorpční spektrofotometrie (Zbírál et al., 2005).

Stanovení obsahu síry v rostlinné biomase: rostlinná hmota byla rozložena ve směsi H₂O₂ a HNO₃ v uzavřeném mikrovlnném systému (MILESTONE ML 1200 MEGA, Bergamo, Itálie). Poté byl vzorek analyzován metodou optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES) na přístroji JY-24 (JOBIN-YVON, Francie) (Zbírál et al., 2005).

Data získaná z chemických analýz, průměr a hmotnost růžice hmotnost zbytku košťálu a listů byla vyhodnocena vícefaktorovou analýzou rozptylu s použitím softwaru STATISTICA version 8.0 a následné testování bylo provedeno Tukeyovým testem významnosti rozdílů.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Výnosové parametry

Hmotnost růžice

Hmotnost sklizených růžic brokolice se pohybovala od 94,86 g do 232,19 g. Graf 1 ukazuje statisticky vysoce průkazný rozdíl mezi hmotností růžic kontrolní a ostatními variantami. Mezi ostatními variantami jsou rozdíly statisticky neprůkazné, ale u varianty SA2 způsobilo hnojení sírou mírné zvýšení hmotnosti růžic ve srovnání s ostatními variantami (graf 1). V porovnání s kontrolou tento nárůst hmotnosti u varianty SA2 činil 39 % (tab. 3).

V dávkách elementární síry není prokazatelný rozdíl. Důvodem může být pomalejší zpřístupňování rostlinám. Aby mohla být elementární síra přijatelná pro rostliny kořeny, musí být nejprve mikrobiálně oxidována v půdě na sírany.

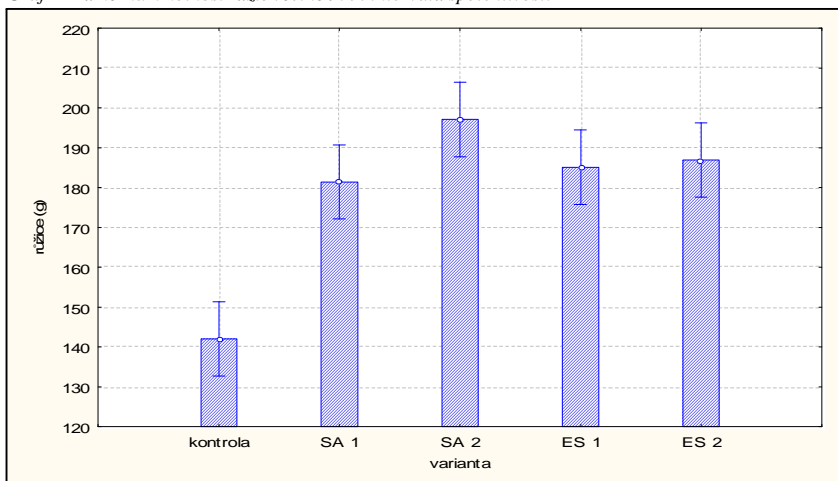
Obecně hnojení sírou k brokolici působilo pozitivně na dosažené výnosy, což koresponduje s výsledky pokusů Sandersona (2003), který popisuje po hnojení sírou, přesněji sádrovcem a síranem draselným, zvýšení výnosu brokolice o 14 % a kvěťáku o 25 %. Podobně také uvádí nižší výnosové výsledky těchto dvou plodin po hnojení elementární sírou.

Tab. 3 Průměrné hodnoty hmotnosti růžice brokolice a jejich rozdílů podle Tukeye

hmotnost růžice (g)	kontrola	SA 1	SA 2	ES 1	ES 2
	142,03	181,40	197,08	185,14	186,93
	b	a	a	a	a
relativní %	100	128	139	130	132

Průměry jednotlivých variant se významně ($P > 0,95$) neliší, pokud jsou písmena v 3. řádce tabulky shodná.

Graf 1 Průměrná hmotnost růžic včetně 95% intervalů spolehlivosti



Průměr růžice

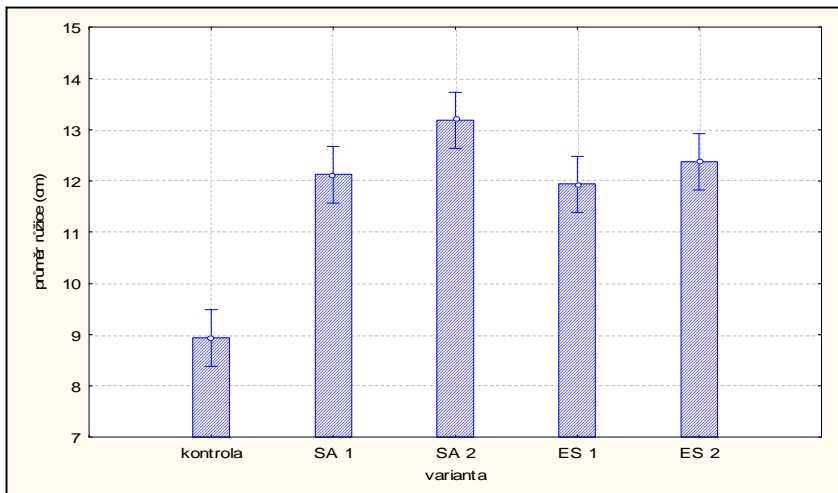
Minimální průměr sklizených růžic brokolice byl 7,5 cm, maximální průměr až 15,5 cm. Statistické zhodnocení průměru růžice ukazuje statisticky velmi vysoce průkazný rozdíl mezi kontrolou a ostatními variantami (tab. 4). Varianty hnojené sírou se mezi sebou již průkazně neliší. V grafu 2 však jsou názorně viditelné vyšší hodnoty průměru růžic u varianty SA2. Podobně jako u výnosu růžic, také u jejich průměru sledujeme u variant ES1 a ES2 opět velice blízké hodnoty. Síranová forma působila lépe na průměr růžice, i když statisticky nevýznamně. Při porovnání dávek je zřejmé dosažení vyššího průměru růžic u variant s vyšší dávkou síry (SA2 a ES2). Nejvyšší procentuální nárůst byl zjištěn u varianty SA2, a to o 48 % oproti kontrole.

Tab. 4 Průměrné hodnoty průměru růžice brokolice a jejich rozdílů podle Tukeye

průměr růžice (cm)	kontrola	SA 1	SA 2	ES 1	ES 2
	8,94	12,13	13,19	11,94	12,38
	a	b	b	b	b
relativní %	100	136	148	134	138

Průměry jednotlivých variant se významně ($P>0,95$) neliší, pokud jsou písmena v 3. řádce tabulky shodná.

Graf 2 Průměrná hodnota průměru růžice včetně 95% intervalů spolehlivosti



Hmotnost listů a zbytku košťálu

Statistické vyhodnocení hmotnosti listů a zbytku košťálu neprokázalo statisticky odlišné výsledky. V grafu 3 je ale viditelný mírně zvýšený výnos u varianty SA2. Tabulka 5 udává její nárůst o 15 %. Varianta SA1 ukazuje také zvýšení hmotnosti listů a zbytku košťálu oproti kontrole. Také elementární síra způsobila zvýšení hmotnosti oproti kontrole. Z důvodu statistické neprůkaznosti mezi kontrolou a ostatními variantami hnojení nemůžeme udělat jednoznačný závěr jako v předchozím

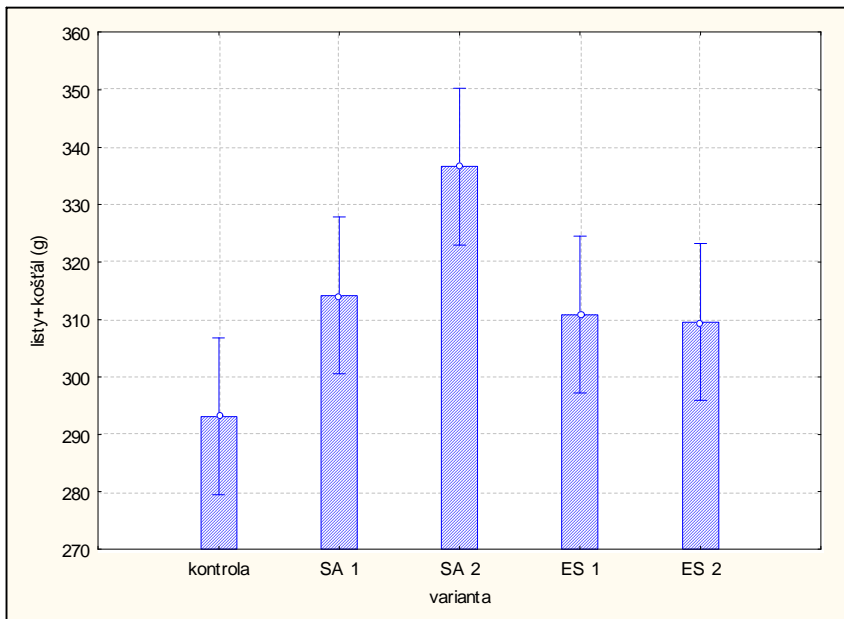
případě. Z pohledu pěstebního je významnější hmotnost růžic brokolice, a proto pro pěstitele či konzumenta není hmotnost listů a zbytků košťálu natolik významným ukazatelem.

Tab. 5 Průměrné hodnoty hmotnostních parametrů listů a košťálu brokolice a jejich rozdílů podle Tukeye

hmotnost listů a košťálu (g)	kontrola	SA 1	SA 2	ES 1	ES 2
	293,18	314,17	336,63	310,87	309,53
	a	a	a	a	a
relativní %	100	107	115	106	106

Průměry jednotlivých variant se významně ($P > 0,95$) neliší, pokud jsou písmena v 3. řádce tabulky shodná.

Graf 3 Průměrná hmotnost listů a košťálu včetně 95% intervalů spolehlivosti



Kvalitativní parametry růžic brokolice

Obsah nitrátů

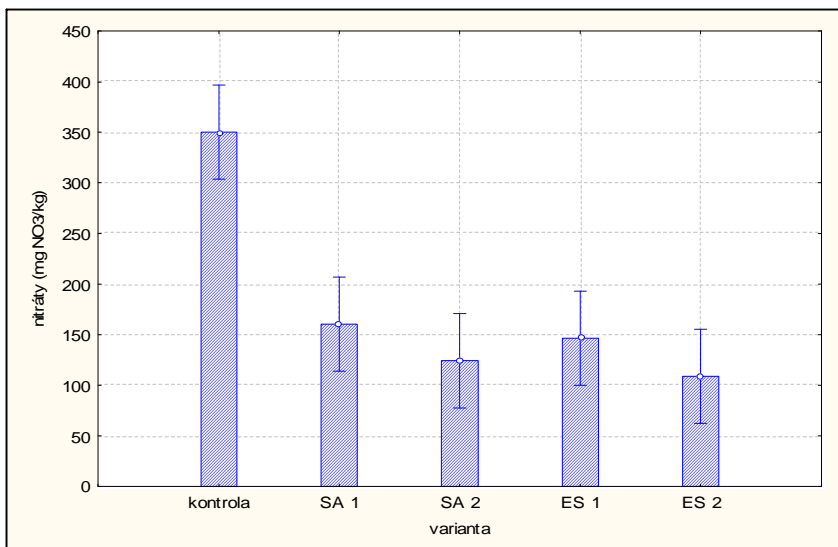
Hodnoty obsahu nitrátů se pohybovaly od minima 40 mg/kg po maximální hodnotu 846,6 mg/kg. Mezi kontrolou a ostatními variantami se prokázal statisticky významný rozdíl tak, že kontrola měla nejvyšší obsah nitrátů oproti ostatním variantám. Dle našich výsledků můžeme tvrdit, že síra snižuje obsah nitrátů v brokolici. Negativní lineární korelaci mezi obsahem nitrátů a koncentrací síry v rostlinách zeleniny popisují Schnug (1997) nebo Zhang et al. (2003). Podobně u kedluben Lošák et al. (2008), u kterých byla po zvýšení obsahu síry v půdě koncentrace nitrátu redukována o 42 – 54 %. V grafu 4 pozorujeme nejnižší hodnoty nitrátů u variant SA2 a ES2. Vyšší množství přidané síry snížilo

tedy obsah nitrátů více, ne však statisticky průkazně. Vysoký obsah nitrátů v rostlinách může vést zvláště u zelenin a krmných plodin ke zhoršení zdravotního stavu konzumenta (Ryant et al., 2004). Oproti sírou nehnějené kontrole činil pokles nitrátů u varianty ES2 69 %.

Tab. 6 Průměrné hodnoty obsahu nitrátů v sušíně brokolice a jejich rozdílů podle Tukeye

	kontrola	SA 1	SA 2	ES 1	ES 2
nitráty	349,95	160,35	124,28	146,51	108,85
	b	a	a	a	a
%	100	46	36	42	31

Gráf 4 Průměrná hodnota obsahu nitrátů včetně 95% intervalů spolehlivosti



Obsah bílkovin v čerstvé hmotě

Obsah bílkovin v čerstvé hmotě růžic brokolice se mezi jednotlivými variantami průkazně neliší. Nejnižší hodnoty vykazuje varianta ES2 (tabulka 8), což je způsobeno mimo jiné nejnižším obsahem sušiny. Ve srovnání s Kopcem (1998) a Malým et al. (1998) uvedeném v tabulce 7 je průměrná hodnota obsahu bílkovin v čerstvé hmotě za rok 2008 o 52 % nižší. Pokluda (2006) uvádí, že průměrný obsah bílkovin v zelenině se pohybuje okolo 1,8 %.

Tab. 7 srovnání obsahu bílkovin v brokolici jednotlivých autorů

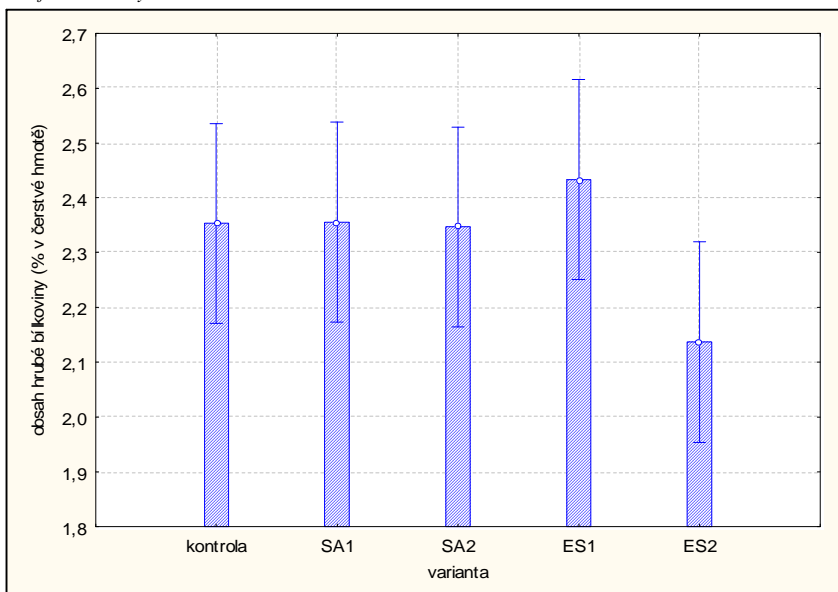
zdroj	bílkoviny (% čerstvé hmoty)
USDA Nutrient Database	3,17
The World's Healthiest Food (vařená v páře)	2,99
Malý et al. (1998)	4,40
Kopec (1998)	4,40
průměr z roku 2008	2,33

Tab. 8 Průměrné hodnoty obsahu bílkovin v čerstvé hmotě brokolice a jejich rozdílů podle Tukeye

obsah bílkovin (mg/kg čerstvé hmoty)	kontrola	SA 1	SA 2	ES 1	ES 2
	2,35	2,36	2,35	2,43	2,14
	a	a	a	a	a
relativní %	100	100	100	103	91

Průměry jednotlivých variant se významně ($P>0,95$) neliší, pokud jsou písmena v 3. řádce tabulky shodná.

Graf 5 Průměrný obsah bílkovin v čerstvé hmotě brokolice



Obsah síry v čerstvé hmotě růžice

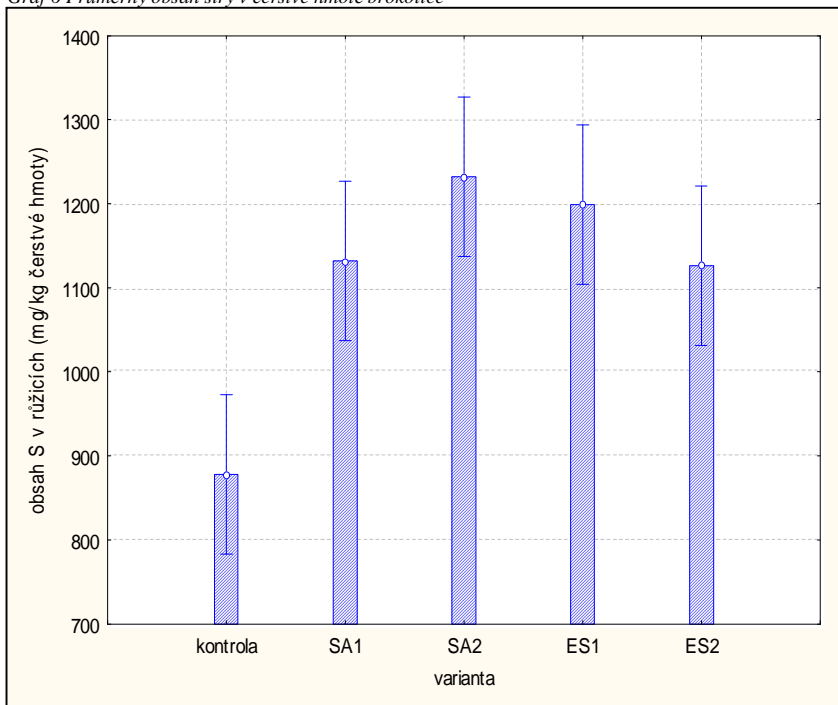
S dávkou hnojení vzrostl také obsah síry v čerstvé hmotě brokolice. Mezi kontrolou a ostatními variantami byl prokázán velmi vysoce průkazný rozdíl. Obsah síry vzrostl nejvíce ve variantách SA2 a ES1, i když rozdíly mezi těmito variantami nejsou průkazné. Nárůst oproti kontrole činil u SA2 40 % a u varianty ES1 37 %. Nárůst množství síry v pletivech brukvovité zeleniny je popisována rovněž u kedluben (Lošák et al., 2008).

Tab. 9 Průměrné hodnoty obsahu síry v čerstvé hmotě brokolice a jejich rozdílů podle Tukeye

obsah síry (mg/kg čerstvé hmoty)	kontrola	SA 1	SA 2	ES 1	ES 2
	878,16	1132,12	1232,49	1198,96	1126,01
	a	b	b	b	b
relativní %	100	129	140	137	128

Průměry jednotlivých variant se významně ($P>0,95$) neliší, pokud jsou písmena v 3. řádce tabulky shodná.

Graf 6 Průměrný obsah síry v čerstvé hmotě brokolice



Obsah minerálií

Fosfor v čerstvé hmotě

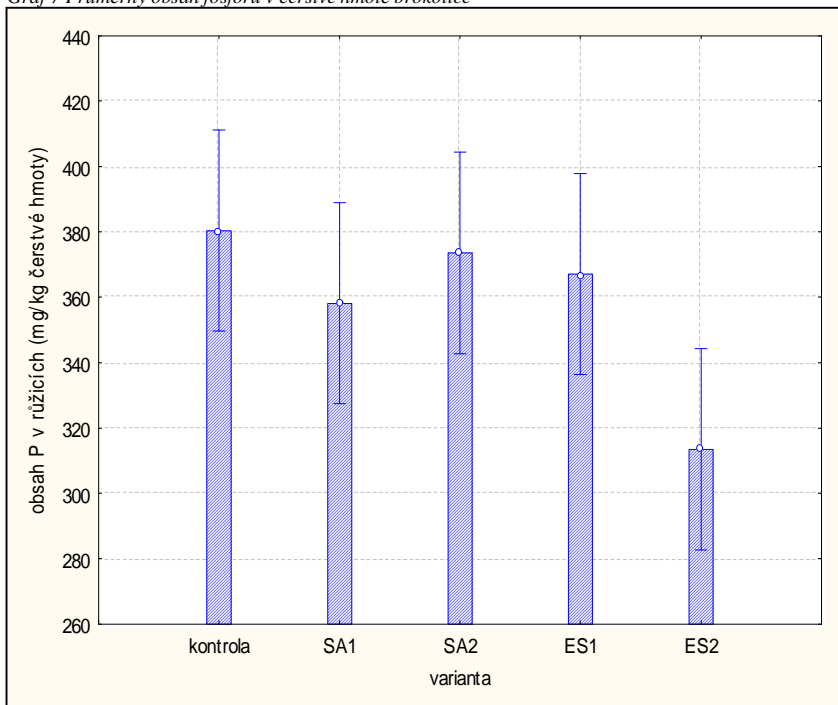
Hodnoty obsahu fosforu v sušině se pohybovaly od 275,9 mg/kg do 421,0 mg/kg čerstvé hmoty. Mezi kontrolou a ostatními variantami nebyl významný rozdíl, pouze mezi kontrolou a variantou ES2 je statisticky průkazný rozdíl. Kontrola obsahovala nejvíce fosforu, můžeme proto říct, že v tomto pokusu nemělo hnojení sírou na obsah fosforu v čerstvé hmotě růžic brokolice vliv. Nejméně fosforu obsahovala varianta ES2, a to o 12 % méně než kontrola.

Tab. 10 Průměrné hodnoty obsahu fosforu v čerstvé hmotě brokolice a jejich rozdílů podle Tukeye

obsah fosforu (mg/kg čerstvé hmoty)	kontrola	SA 1	SA 2	ES 1	ES 2
	380,39	358,14	373,55	367,09	313,48
	b	ab	ab	ab	a
relativní %	100	94	98	97	82

Průměry jednotlivých variant se významně ($P > 0,95$) neliší, pokud jsou písmena v 3. řádku tabulky shodná.

Graf 7 Průměrný obsah fosforu v čerstvé hmotě brokolice



Draslík v čerstvé hmotě

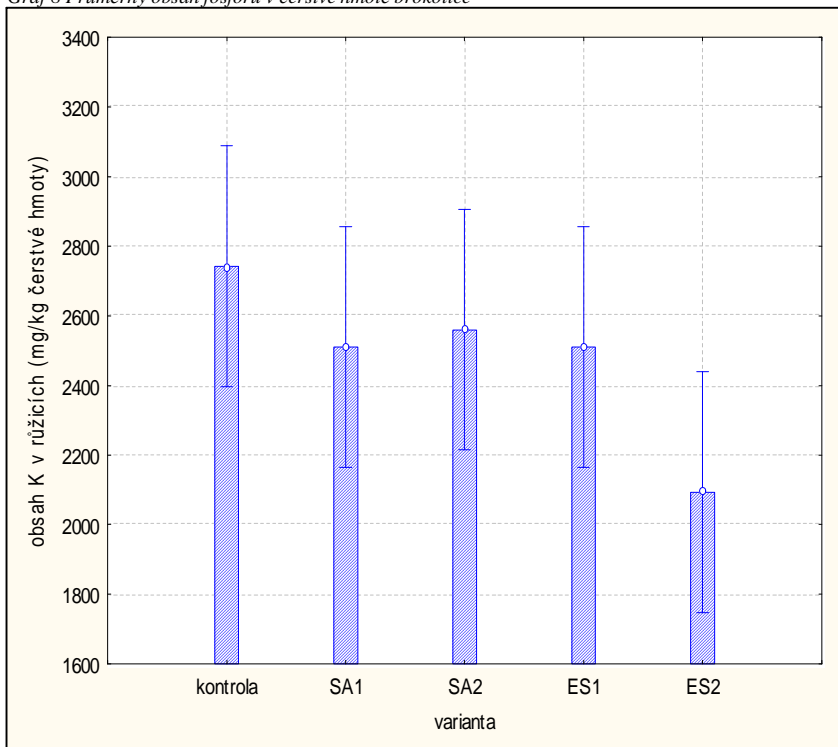
Nejvyšší množství draslíku obsahovaly růžice kontrolních, tedy sírou nehnojených, rostlin. Hnojení sírou zde snížilo obsah draslíku v brokolici. Obsah draslíku v brokolici se pohyboval v hodnotách od 1921,9 mg/kg do 3361,9 mg/kg čerstvé hmoty. Větší nárůst biomasy (výnos růžic a listů se zbytkem košťálu) je doprovázen nižší koncentrací živin, což je označováno jako tzv. zředovací efekt. Snížení obsahu draslíku u varianty ES2 je umocněno nižším obsahem sušiny. Také práce Skwierawské et al. (2008) popisuje při dávce síry 120 kg/ha u porostů zelí, cibule a ječmene snížení obsahu draslíku.

Tab. 11 Průměrné hodnoty obsahu draslíku v čerstvé hmotě brokolice a jejich rozdílů podle Tukeye

obsah draslíku (mg/kg čerstvé hmoty)	kontrola	SA 1	SA 2	ES 1	ES 2
	2742,72	2510,71	2560,28	2510,81	2093,13
relativní %	a	a	a	a	a
	100	92	93	92	76

Průměry jednotlivých variant se významně ($P > 0,95$) neliší, pokud jsou písmena v 3. řádce tabulky shodná.

Graf 8 Průměrný obsah fosforu v čerstvé hmotě brokolice



Vápník v čerstvé hmotě

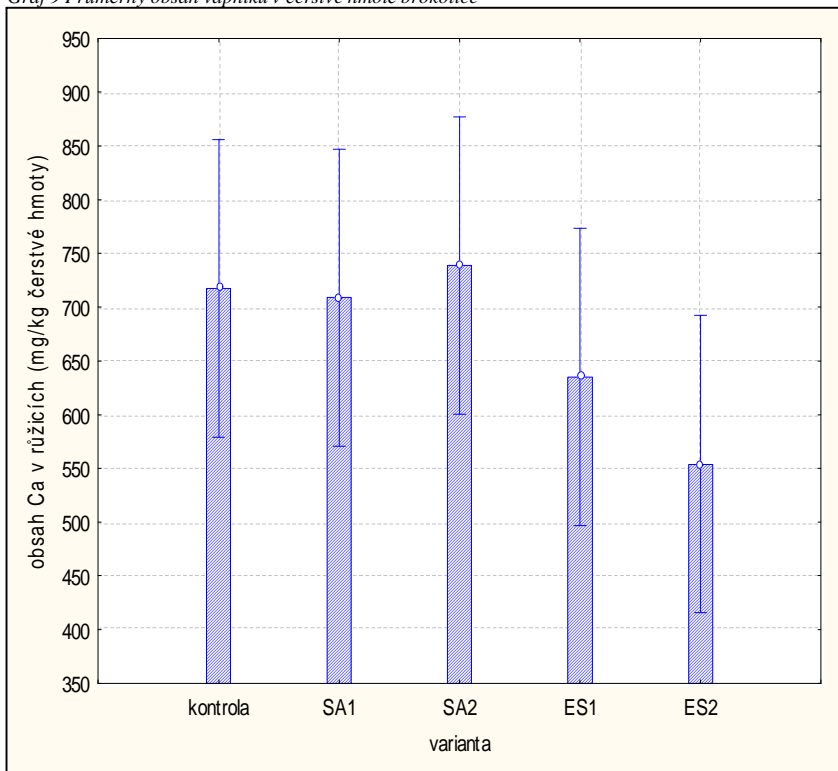
Rozdíly mezi obsahy vápníku jsou mezi jednotlivými variantami statisticky neprůkazné. Vyšší množství podle grafu 9 sledujeme u varianty SA2. Hnojení sírou proto u našeho pokusu nemá přímý vliv na obsah vápníku. Nejméně vápníku obsahovala varianta ES2, což lze opět spojovat mimo jiné s nižším obsahem sušiny.

Tab. 12 Průměrné hodnoty obsahu vápníku v čerstvé hmotě brokolice a jejich rozdílů podle Tukeye

obsah vápníku	kontrola	SA 1	SA 2	ES 1	ES 2
(mg/kg čerstvé hmoty)	717,27	708,80	738,76	635,01	553,92
	a	a	a	a	A
relativní %	100	99	103	89	77

Průměry jednotlivých variant se významně ($P > 0,95$) neliší, pokud jsou písmena v 3. řádce tabulky shodná.

Graf 9 Průměrný obsah vápníku v čerstvé hmotě brokolice



Hořčík v čerstvé hmotě

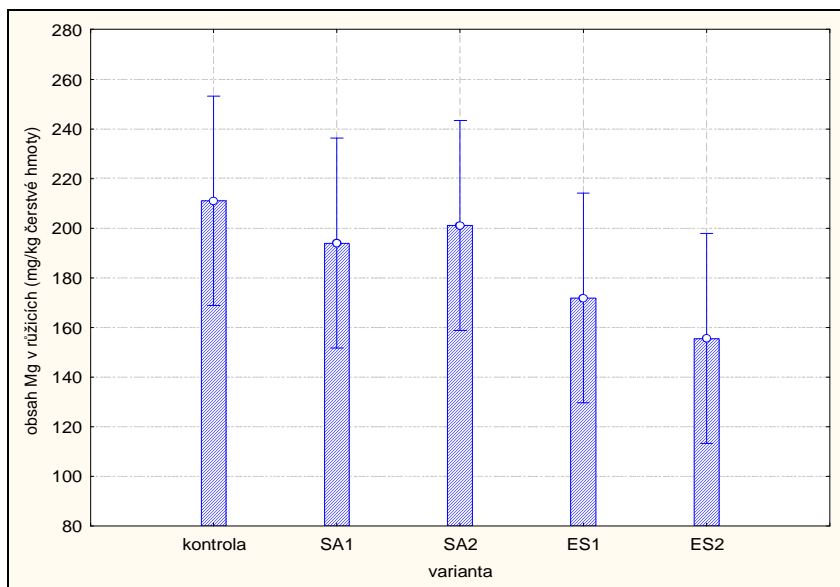
Nejvyšší množství hořčíku obsahovaly růžice kontrolních, tedy sírou nehnojených, rostlin. Hnojení sírou zde snížilo obsah hořčíku v brokolici, nikoliv však průkazně. Obsah hořčíku v brokolici se pohyboval v hodnotách od 139,5 mg/kg do 291,5 mg/kg čerstvé hmoty. Můžeme zde opět pozorovat zřed'ovací efekt, stejně jako u draslíku.

Tab. 13 Průměrné hodnoty obsahu hořčíku v čerstvé hmotě brokolice a jejich rozdíly podle Tukeye

obsah hořčíku (mg/kg čerstvé hmoty)	kontrola	SA 1	SA 2	ES 1	ES 2
	211,10	193,99	201,07	171,84	155,57
	a	a	a	a	a
relativní %	100	92	95	81	74

Průměry jednotlivých variant se významně ($P > 0,95$) neliší, pokud jsou písmena v 3. řádce tabulky shodná.

Graf 10 Průměrný obsah hořčičku v čerstvé hmotě brokolice



Tab. 14 Obsah jednotlivých prvků v čerstvé hmotě ve srovnání s literaturou

zdroj	obsah v čerstvé hmotě (mg/kg)				
	S	P	K	Ca	Mg
USDA Nutrient Database	-	730	1960	1080	220
The World's Healthiest Food (vařená v páře)	-	659	3240	479	250
Malý <i>et al.</i> (1998)	1370	820	4640	1050	240
Kopec (1998)	1370	800	4640	1100	240
průměr z roku 2008	1114	359	2484	671	187

Při srovnání získaných výsledků s hodnotami Ministerstva zemědělství USA se naše hodnoty pohybují na nižší hladině (P 49 %, Ca 62 %, Mg 85 %) s výjimkou draslíku (127 %). Také při srovnání s databází Kopec (1998) jsou námi dosažené výsledky obsahů jednotlivých prvků nižší (S 81 %, P 45 %, K 54 %, Ca 61 %, Mg 78 %).

ZÁVĚR

Síra je významný makrobiogenní prvek, který má pozitivní vliv na výživu brukvovitých rostlin. V jednoletém vegetačním nádobovém pokusu byl zjištěn příznivý efekt obou forem síry (síran amonný, elementární síra) na výnos růžic brokolice. Hmotnost a nadzemní části se po aplikaci síry zvýšily, zejména po aplikaci síranu amonného, který byl rostlinám lépe přístupný.

Jedním ze sledovaných kvalitativních parametrů byl obsah nitrátu v čerstvé hmotě brokolice. U této formy dusíku byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi sírou nehnojenou kontrolou a ostatními variantami. Ze zjištěných hodnot vyplývá, že aplikace síry měla pozitivní vliv na snížení obsahu nitrátu v brokolici.

Celkový obsah bílkovin v čerstvé hmotě růžic brokolice se mezi variantami hnojení sírou průkazně neměnil.

Obsah síry v čerstvé hmotě po aplikaci síry vzrostl a mezi kontrolou a ostatními variantami je statisticky velmi vysoký rozdíl ($\alpha \leq 0,001$). Obsah síry v čerstvých růžicích vzrostl až o 40 %.

Vzhledem k nižšímu výnosu růžic kontrolních rostlin brokolice lze pozorovat zvýšení obsahu minerálů (K, Mg). Naopak u sírou hnojených variant došlo k naředění obsahu jednotlivých minerálů s výjimkou varianty s nižší dávkou elementární síry u draslíku. U obsahu vápníku v čerstvé hmotě brokolice nebyly pozorovány žádné změny mezi variantami hnojení sírou. U obsahu fosforu sledujeme pokles varianty ES2 oproti kontrolní variantě, mezi ostatními variantami nebyl prokázán statisticky významný rozdíl.

LITERATURA

Kopec, K. (1998): Tabulky nutričních hodnot ovoce a zeleniny. Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha, 72s.

Lošák, T. (2008): Společné působení síry a dusíku ve výživě rockety seté a cibule kuchyňské. Habilitační práce, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Brno, 147 s.

Lošák, T., Hlušek, J., Kašmír, S., Varga, L. (1998): The effect of nitrogen and sulphur fertilization on yields and quality of kohlrabi (*Brassica oleracea*). Revista Brasileira de Ciencia do Solo, 32 (2): 697 – 703.

Malý I., Bartoš J., Hlušek, J., Kopec, Petříková, K., Rod, J., Spitz, P. (1998): Polní zelinářství, Agrospoj, Praha, 196 s.

Pokluda R. (2006): Význam a nutriční hodnota zeleniny, dostupné z : <http://www.zahradaweb.cz/projekt/clanek.asp?pid=2&cid=4489>, [citováno: 2009 – 10 – 12].

Ryant P. et al. (2004): Minerální hnojiva se sírou (doplňkový text). Multimediální učební texty z výživy rostlin. [on line], MZLU v Brně [cit. 7. 11. 2008]. Dostupné na http://www.af.mendelu.cz/ustav/221/multitexty/pdf/hnojiva/s_mineralni_hnojiva.pdf

Sanderson, K. R. (2003): Broccoli and cauliflower response to supplemental soil sulphur and calcium. Proc. XXVI IHC – Fertilization Strategie for Field Veg. Production, Acta Horticulture (627): 171-179 s.

Schnug, E. (1997): Signifikace of Sulphur for the duality of domesticated plants. In: Cram, W. J., De Kok, L. J., Brunold, C., Rennerberg, H. (eds.): Sulphur metabolism in higher plants: Molecular, ecophysiological and nutritional aspekt. Backhuys Publisher, Leden, The Netherlands, pp. 109 – 130.

Skwierawska, M., Zawartka, L., Zawadzki, B. (2008): The effect of different rates and forms of applied sulphur on nutrient composition of planted crops. Plant soil and environment, 54(5): 179-189 s.

USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 21, [citováno: 2009 – 07 – 31] dostupné z: http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_unt_edit.pl/

Zbiral, J. (2002): Analýza půd I – Jednotné pracovní postupy. ÚKZÚZ Brno, 197 s.

Zbiral, J. et al. (2005): Analýza rostlinného materiálu – Jednotné pracovní postupy. ÚKZÚZ Brno, 192 s.

Zhang, J., Ma, Y., Zhang, L., Xu, Ch., Zheng., L., Bian, G., Si, Y., Wang, H., Liu, L., Schnug, E. (2003): Sulphur application effect on the yield and duality of vegetable. Fertilization in the Third Millenium, Fertilizer, Food Security and Enciromental Protection, 12th International world Fertilizer Congress of CIEC, 1343 – 1352.

THE REACTION OF SUNFLOWER (*HELIANTHUS ANNUUS* L.) ON DIFFERENT DOSES OF N FERTILIZATION AND THEIR APPLICATION DATES

Galliková M., Kováčik P.

Department of Agrochemistry and Plant Nutrition, Faculty of Agrobiological and Food Resources, Slovak University of Agriculture, A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

E-mail: M.gallikova@centrum.sk

ABSTRACT

The one year nutritional experiment with the application of different levels of N fertilizations on Sunflower (variety PR64H41) was established in locality Veľké Ripňany with 6 different variants of the trial (1. 0 kg.ha⁻¹, 2. 102 kg.ha⁻¹, 3. 82 + 20 kg.ha⁻¹, 4. 64 kg.ha⁻¹ 5. 44 + 20 kg.ha⁻¹ 6. 44 + 0 + 20 kg.ha⁻¹). The aim of this experiment was to find out the influence of different doses N fertilization and their application date on the yield, the thousand seeds weight and the content of oil.

The maximum yield and thousand seeds weight have been achieved when respecting the N_{an} supply before sowing of sunflower in the soil of 0.0 – 0.6 m by condition of 100% usage of Nan from the specific layer by the N amount calculation and applying the specific dose as one single application. Maximum oil content in the seeds of sunflower has been achieved by the application of the specific dose separately in two dates (before sowing and in growing phase BBCH 34-38). The higher doses of natrium (102 kg.ha⁻¹) achieved lower yield of sunflower seeds, the thousand seeds weight and the oil content comparing to lower doses of natrium (64 kg.ha⁻¹).

Key words: sunflower, nitrogen, yield, thousand seeds weight, oil contents

ÚVOD

Slničnica ročná sa v súčasnosti pestuje na celom svete. Zaraďuje sa medzi päť najvýznamnejších olejín svetá (sója, bavlníkové semeno, podzemnica olejná, kapusta repková pravá – repka olejná, slnečnica ročná). Z pohľadu produkcie oleja, slnečnicovému oleju patrí po sójovom, palmovom a repkovom oleji štvrté miesto (Málek, 2005). Na Slovensku je druhou najpestovanejšou olejninou. V roku 2008 sa pestovala na ploche 74934 ha a jej priemerná úroda bola 2,57 t.ha⁻¹.

Vzhľadom na svoju vysokú tvorbu nadzemnej biomasy spotrebuje značné množstvo živín. Na úrodu 1t nažiek a príslušnej vegetatívnej hmoty spotrebuje približne 60 kg N, 10 kg P, 120 kg K a 60 kg Ca (Fecenko a Ložek, 2000). Pri nedostatku dusíka sa výrazne znižuje intenzita delenia buniek a tvorba chlorofylu, čo sa prejaví v spomalení rastu a zmenšovaním rozmerov jednotlivých orgánov. Rastliny slnečnice ročnej sú vyššie, avšak ich steblá sú úzke a internódia medzi listami sú výrazne vzdialené. Rastliny pôsobia „vybehnuté“ (Kováčik, 2007). Dostatočná výživa dusíkom je predpokladom pre optimálny rast, vývoj rastliny, výnos nažiek a obsah oleja. Richter (2005) konštatuje, že dusík rozhoduje o rýchlosti vývine listovej plochy a jej fotosyntetickej aktivite, počte kvetov a nažiek, zásobenosti nažiek N-látkami s dopadom na ich hmotnosť.

Pri nadbytku dusíka rastliny produkujú relatívne viac vegetatívnej hmoty. Listy sú tmavozelené a veľké. Neskoršie nastupuje generatívna fáza. Rastliny majú nižší obsah oleja a vyšší obsah N-látok (Neuber get al., 1990, Kováčik et al. 2004).

Cieľom pokusu bolo zistiť vplyv rôznych dávok N hnojenia a termín ich aplikácie na výšku úrody, hmotnosť tisíc nažiek a obsah tuku v nažkách.

MATERIÁL A METÓDY

Jednoročný poľný maloparcelový pokus so slnečnicou ročnou, bol založený v roku 2008 vo Veľkých Ripňanoch skúšobnej stanici ÚKSUP-u (48° 30' 00" s. š. ; 18° 00' 00" v. d.). Táto oblasť sa z klimatického hľadiska nachádza v teplom, mierne suchom regióne s miernou zimou. Priemerná ročná teplota dosahuje 9,7 °C. Priemerné ročné zrážky dosahujú 582 mm.

Genetickým pôdnym typom je Stredoeurópska hnedozem. Pred založením pokusu sa v pôde stanovili agrochemické parametre (ktoré sú uvedené v tabuľke 1 a ich metódy stanovenia pod tabuľkou).

Tab. 1 Základné agrochemické parametre zeminy

N-NH ₄ ⁺	N-NO ₃ ⁻	N _{an}	P	K	Ca	Mg	pH/KCl	Soli	C _{ox}
[mg.kg ⁻¹]								[%]	
6,8	6,0	12,8	140,0	357	1800	410	6,51	0,102	1,21

N-NH₄⁺ – (kolorimetricky, Nesslerovo činidlo); N-NO₃⁻ – (kolorimetricky, kyselina phenol – 2,4 disulfónová); P – (kolorimetricky, Mehlich III), K – (plameňová fotometria, Mehlich III); Mg – (atómový absorpčný spektrofotometer, Mehlich III), pH_{KCl} - potenciometricky vo výluhu

1,0 M KCl, obsah soli – vázkovo zistením hmotnosti vyžihaného odparku vodného výluhu, C_{ox} – Tjurinova metóda

Pokusné parcelky boli usporiadané v úplných blokoch s náhodným usporiadaním. Pokus mal 6 variantov hnojenia. Každý variant bol štvornásobne opakovaný, pričom veľkosť jedného opakovania (pokusnej parcelky) bola 5 x 2,8 m, čo je 14 m² zberovej plochy.

Varianty pokusu a dávky živín sú uvedené v tabuľke 2. Vzhľadom na veľmi vysokú zásobu prístupného P a vysokú zásobu prístupného K sa pôda týmito prvkami nehnojila (viď tabuľka 1). Na kontrolnom variante 1 neboli použité N hnojivá. Na variantoch 2 až 6 boli použité N hnojivá v dávkach ktoré boli vypočítané nasledovne:

Výpočet dávok N - hnojív.

Varianty 2 a 3 mali zhodnú celkovú dávku dusíka 102 kg.ha⁻¹, ktorá bola vypočítaná podľa obsahu N_{an} v hĺbke 0,0 - 0,3 m pri 100 % využití N z pôdy a potrebe N na úrodo 3,5 t.ha⁻¹. Táto dávka bola na variante 2 aplikovaná jednorazovo hneď po sejbe. Na variante 3 bola delená. 4/5 sa aplikovali hneď po sejbe (82 kg.ha⁻¹) a 1/5 (20 kg.ha⁻¹) počas vegetácie vo fáze BBCH 30 - 34 (1 až 4 internódium viditeľné).

Dávka dusíka na variantoch 4, 5 a 6 bola vypočítaná podľa obsahu N_{an} v hĺbke 0,0 - 0,6 m pri jeho 100 % využití z pôdy a potrebe N na úrodo 3,5 t.ha⁻¹, čo predstavovalo 64 kg.ha⁻¹. Na variante 4 bola táto dávka aplikovaná jednorazovo hneď po sejbe. Na variantoch 5 a 6 bola dávka dusíka delená, 2/3 sa aplikovali hneď po sejbe (44 kg.ha⁻¹) a 1/3 (20 kg.ha⁻¹) počas vegetácie. Rozdiel medzi variantom 5 a 6 bol vo forme použitého N-hnojiva a v termíne aplikácie 20 kg.ha⁻¹. Na variante 5 to bolo vo fáze BBCH 30 - 34 (1 až 4 internódium viditeľné) a na variante 6 vo fáze BBCH 34 - 38 (4 až 8 internódium viditeľné).

Tab. 2 Varianty hnojenia pokusu

Var.	Schéma pokusu	Celková dávka N [kg.ha ⁻¹]	Popis	Termín a dávka aplikácie		
				BBCH 01 ⁽¹⁾	BBCH 30-34 ⁽²⁾	BBCH 34-38 ⁽³⁾
1	N_0	0	pôda nehnojená N	0	0	0
2	N_{102}	102	dávka N vypočítaná podľa obsahu N_{an} v hĺbke 0,0-0,3 m pri 100% využití N z pôdy a potrebe N na úrodo 3,5 t.ha ⁻¹ ; aplikovaná jednorazovo	102	0	0
3	N_{82+20}	102	celková dávka N zhodná ako vo variante 2; aplikovaná delene 4/5 hneď po sejbe a 1/5 počas vegetácie	82	20	0
4	N_{64}	64	dávka N vypočítaná podľa obsahu N_{an} v hĺbke 0,0-0,6 m pri jeho 100% využití z pôdy a potrebe N na úrodo 3,5 t.ha ⁻¹ ; dávka N aplikovaná jednorazovo	64	0	0
5	N_{44+20}	64	celková dávka N zhodná ako vo variante 4; aplikovaná delene 2/3 hneď po sejbe a 1/3 počas vegetácie	44	20	0
6	$N_{44+0+20}$	64	celková dávka N zhodná ako vo variante 4; dávka N aplikovaná delene 2/3 hneď po sejbe a 1/3 počas vegetácie	44	0	20

(1) vývojová fáza začiatok bobtnania, (2) vývojová fáza 1 až 4 internódium viditeľné, (3) vývojová fáza 4 až 8 internódium viditeľné

Pred vysiatím slnečnice ročnej, hybrid PR64H41, sa aplikovalo tuhé N-hnojivo DASA. Počas vegetácie v rastovej fáze BBCH 30-34 sa varianty 3, 5 prihnojili vodným roztokom DASY, ktorý sa aplikoval na pôdu. Variant 6 sa v rastovej fáze BBCH 34-38 prihnojil kvapalným hnojivom DAM - 390 postrekom na list (viď tabuľka 3).

Tab. 3 Termín a druh aplikácie N hnojív

Var.	Schéma pokusu	Termín, druh a miesto aplikácie N-hnojiva					
		BBCH 01 ⁽¹⁾		BBCH 30-34 ⁽²⁾		BBCH 34-38 ⁽³⁾	
		hnojivo	miesto	hnojivo	miesto	hnojivo	miesto
1	N ₀	-	-	-	-	-	-
2	N ₁₀₂	DASA	pôda	-	-	-	-
3	N ₈₂₊₂₀	DASA	pôda	DASA	pôda	-	-
4	N ₆₄	DASA	pôda	-	-	-	-
5	N ₄₄₊₂₀	DASA	pôda	DASA	pôda	-	-
6	N ₄₄₊₀₊₂₀	DASA	pôda	-	pôda	DAM – 390	pôda

(1) vývojová fáza začiatok bobtnania, (2) vývojová fáza 1 až 4 internódium viditeľné, (3) vývojová fáza 4 až 8 internódium viditeľné

Vo fáze BBCH 87 (fyziologická zrelosť) sa vykonal ručný zber rastlín. Zistila sa úroda nažiek z hektára, hmotnosť tisíc nažiek a obsah tuku (Soxletová metóda) v nažkách.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Najvyššia úroda nažiek bola dosiahnutá na variante 4, kde celková dávka dusíka 64 kg.ha⁻¹ bola aplikovaná jedorazovo, pred sejbou (tab. 4). Toto zvýšenie je oproti nehnojnému variantu štatisticky preukazné. Tá istá dávka dusíka, avšak rozdelená do dvoch termínov aplikácie bola použitá na variantoch 5 a 6. Dosiahnuté úrody v porovnaní s variantom 4 boli nižšie. Na variante 6, kde bol počas vegetácie N aplikovaný v neskoršej rastovej fáze ako na variante 5, pričom sa namiesto DASY použil DAM-390, sa dosiahla nižšia úroda nažiek ako na variante 5. Na tomto variante bola zároveň dosiahnutá najnižšia úroda nažiek. Pravdepodobnou príčinou nízkej úrody (nižšej ako na nehnojenej kontrole) je skutočnosť, že aplikáciou DAMu došlo k poškodeniu (popáleniu) listov slnečnic.

Tab. 4 Úroda nažiek slnečnice ročnej

Varianty	Schéma pokusu	Úroda nažiek [t.ha ⁻¹]					Priemer	Relatívne %
		Opakovanie						
		I.	II.	III.	IV.			
1	N ₀	4,25	4,43	4,96	4,46	4,52 ab	100,00	
2	N ₁₀₂	4,65	4,64	4,35	4,99	4,66 abc	102,94	
3	N ₈₂₊₂₀	5,16	4,70	4,63	4,70	4,80 bc	106,04	
4	N ₆₄	4,83	5,32	4,99	4,89	5,01 c	110,71	
5	N ₄₄₊₂₀	4,90	4,45	4,96	5,20	4,88 bc	107,84	
6	N ₄₄₊₀₊₂₀	4,39	4,23	4,70	4,05	4,35 a	96,04	
Hd _{0,05}						0,43868		
Hd _{0,01}						0,60644		

Hd – hraničná diferencia

Vyššie dávky dusíka ($102 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) na variantoch 2 a 3 sa prejavili nižšiu úrodou v porovnaní s var. 4 a 5 hnojene nižšou dávkou dusíka ($64 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$). Oproti nehnojenej kontrole dosiahli vyššiu úrodu nažiek, v relatívnom vyjadrení o 3 - 6 % (tab. 4). Zistené korešponduje s poznatkami viacerých autorov Ivanič (1984); Marschner (2005) upozorňujúcich na negatívny vplyv nadmerných dávok na tvorbu úrody .

Najvyššia hmotnosť tisícich nažiek (tab. 5) v porovnaní s nehnojeným variantom (var. 1) sa zistila na variante hnojenom jednorazovou dávkou dusíka $64 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ (variant 4). Delená aplikácia tej istej dávky dusíka (var. 5 a 6) spôsobila zvýšenie HTZ oproti nehnojenému variantu, no v porovnaní s variantom s delenou dávkou N (var. 4) sa hmotnosť tisícich nažiek znížila, v relatívnom vyjadrení o 3,1 a 3,23 %. Opačnú tendenciu sme zaznamenali pri vyššej dávke dusíka $102 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$. Vyššia hmotnosť tisíc nažiek sa dosiahla vtedy, ak sa táto dávka aplikovala delene (var. 3 verus var. 2).

Tab. 5 Hmotnosť tisíc zrn

Varianty	Schéma pokusu	HTZ [g]				Priemer	Relatívne %
		Opakovanie					
		I.	II.	III.	IV.		
1	N ₀	67,95	78,78	70,21	71,31	72,06 a	100,00
2	N ₁₀₂	65,97	77,38	79,05	72,77	73,79 a	102,40
3	N ₈₂₊₂₀	76,41	72,08	70,68	80,64	74,96 a	104,01
4	N ₆₄	73,66	77,87	78,33	74,68	76,13 a	105,65
5	N ₄₄₊₂₀	69,45	74,33	74,27	77,55	73,90 a	102,55
6	N ₄₄₊₀₊₂₀	74,39	74,92	75,97	69,96	73,81 a	102,42
Hd_{0,05}						5,91258	
Hd_{0,01}						8,17365	

Hd – hraničná diferencia

Najnižší obsah tuku v nažkách 34,07 % sme zistili na nehnojenom variante a na variante hnojenom vyššou dávkou dusíka $102 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ aplikovanou delene (var. 3). Tá istá dávka aplikovaná jednorazovo nám obsah tuku zvýšila (var. 2 verus variant 1 a 3) v relatívnom vyjadrení o 3,19 % (tab. 6).

Nižšia dávka dusíka $64 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ v porovnaní s nehnojeným variantom zvýšila obsah tuku v nažkách slnečnice na nedelenej variante (var. 4) štatisticky nepreukazne, na variantoch s delenou dávkou N štatisticky preukazne (var. 5) a vysoko preukazne (var. 6).

Tab. 6 Obsah tuku v nažkách slnečnice ročnej

Varianty	Schéma pokusu	TUK [%]				Priemer	Relatívne %
		Opakovanie					
		I.	II.	III.	IV.		
1	N ₀	34,69	34,08	33,79	33,73	34,07 a	100,00
2	N ₁₀₂	34,98	34,64	34,46	36,57	35,16 ab	103,19
3	N ₈₂₊₂₀	32,51	33,92	34,56	35,30	34,07 a	100,00
4	N ₆₄	34,13	35,49	35,39	34,33	34,84 a	102,24
5	N ₄₄₊₂₀	39,62	40,48	40,57	32,94	38,40 bc	112,71
6	N ₄₄₊₀₊₂₀	36,01	43,65	42,23	41,59	40,87 c	119,95
Hd_{0,05}						3,27066	
Hd_{0,01}						4,52142	

Hd – hraničná diferencia

ZÁVER

Z jednoročných výsledkov vyplynulo, že:

Najvyššia úroda z hektára a hmotnosť tisíc zrn sa dosiahla ak výpočet dávky N rešpektoval zásobu N_m pred sejbou slnečnice vo vrstve pôdy 0,0 - 0,6 m pri predpoklade 100 % využitia N_m z danej vrstvy, a ak táto dávka bola aplikovaná jednorazovo (pred sejbou). Najvyšší obsah tuku v nažkách slnečnice sa dosiahol, ak bola tato dávka aplikovaná delene, v 2 termínoch (pred sejbou a v rastovej fáze BBCH 34 - 38.

Vyššie dávky dusíka ($102 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) dosahovali nižšiu úrodu nažiek slnečnice, HTZ a obsah tuku v nažkách v porovnaní s nižšími dávkami dusíka ($64 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$).

Pre dosiahnutie vyššej kvality nažky (obsah tuku) je vhodnejšie aplikovať nižšie dávky delene.

LITERATÚRA

FECENKO, J., LOŽEK, O. 2000. Výživa a hnojenie poľných plodín. Nitra: SPU v spolupráci s Duslom, a.s. Šaľa, 2000. 452 s. ISBN 80-7137-777-5.

IVANIČ, J. – Havelka, B. – Knop, K. (1984): Výživa a hnojenie rastlín. Bratislava – Praha: Příroda – SZN, 1984, 488 s.

KOVÁČIK, P. 2007. Výživa a úroveň hnojenia rastlín. Nitra: ÚVTIP, 2007. 96s. ISBN 978-80-89088-59-1.

KOVÁČIK, P., VOZÁR, L., ČERNÝ, I. 2004. Vplyv amónneho a dusičnanového dusíka na úrodové parametre red'kovky siatej. In: Acta horticulture et regiotecturae – mimoriadne číslo. roč.7, 2004, s. 48-50.

MARSCHNER, H. (2005): Mineral nutrition of higher plants. Sec. ed. Elsevier Academic press, London, 2005, 889 p. ISBN 0-12-473543-6.

MÁLEK, B. 2005. Metodika pěstování slunečnice, Praha: SPZO. 65 s. ISBN 80-903464-9-9.

Neuberg J. 1990. Komplexní metodika výživy rostlin. Praha: ÚVTEI, 1990, 327 s.

RICHTER, R. 2005. Výživa a hnojení slunečnice. In.: MÁLEK, B. Metodika pěstování slunečnice, Praha: SPZO. 65 s. ISBN 80-903464-9-9.

TESTING OF BIOLOGICAL SUBSTRATES FOR ANAEROBIC DEGRADATION

Hodoval J., Pulkrábek J.

Department of Crop Production, Faculty of Agrobiology, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences, Suchbátka, 165 21 Prague, Czech Republic

E-mail: hodoval.jan@seznam.cz

ABSTRACT

We tested the methanogenic activity of 10 substrates (maize silage, alfalfa and clover silage, potatoes, wheat straw, barley straw, rape straw, foliage wastes, sugar beet wastes and draff). For all substrates, the theoretical content of methane and the maximal yield of methane were quantified. In the substrate prior to digestion and in digested matter the content of organic matter, the content of lignin and the content of ash were measured. The measurements were carried out on Biological degradation device. Our results showed that for the production of biogas the best substrates are lucerne silage, trifolium silage and sugar rape. Both parameters, the dissolubility and the production of biogas were considerable good.

Key words: biogas, digestat, fermentation

Acknowledgments: MSM 6046070901

ÚVOD

Zatížení životního prostředí produkcí CO_2 , jež je způsobené velkou měrou spalováním fosilních paliv, se v posledních padesáti letech exponenciálně zvyšuje a způsobuje nárůst průměrných teplot na Zemi se všemi jeho negativními dopady. V důsledku toho je patrný nárůst zájmu o obnovitelné zdroje energie. Jedním z nich je i bioplyn získávaný procesem anaerobní fermentace. V důsledku velké podpory z evropských fondů prudce stoupla v poslední době výstavba bioplynových stanic. Hlavním produktem je elektrická energie a teplo jež vznikají při spalování bioplynu v kogeneračních jednotkách (HRNČÍŘÍK a spol., 1997). Vedlejším produktem a někdy i odpadem je digestát, což je fermentační zbytek po anaerobní fermentaci. Kvalita digestátu závisí především na vstupní surovině. Při anaerobní fermentaci mohou být likvidovány biologické odpady jak z lidských sídel tak ze zemědělských a potravinářských podniků, které mohou v surovém nezpracovaném stavu představovat zátěž pro životní prostředí nebo způsobit vznik nemocí, nebezpečné pro hospodářská zvířata i člověka (STRAKA, 2006). Anaerobní fermentace a kofermentace rostlinných materiálů se vzhledem k rostoucí potřebě „čisté“ energie, klesajícím zásobám tuhých paliv a nesoběstačnosti ve fosilních palivech, stává jednou z výhodných možností jak s těmito materiály nakládat (KOLÁŘ a spol., 2005). Stoupá zájem provozovatelů bioplynových stanic o analýzu vstupních surovin z hlediska maximální produkce bioplynu. Negativem anaerobní digesce je nízká účinnost procesu daná nízkou rozložitelností rostlinného materiálu vzhledem k vysokému obsahu těžko hydrolyzovatelných látek, jako jsou celulózy, hemicelulózy a lignin (DOHÁNYOS a spol., 1988). Nejčastějším zdrojem bioplynu je kejda skotu a prasat. Dále to je kukuřičná siláž a hnůj. Praxe v poslední dob však ukazuje, že nutné fermentovat i biologické odpady z měst, průmyslových a zemědělských provozů. Stupeň rozložitelnosti každého odpadu se liší. Jako rozložitelnost závisí nejen na obsahu organických látek tak i na teplotě fermentace, zapracovanosti fermentoru, pH, velikosti částic a poměru C:N (ZÁBRANSKÁ a spol., 2003). V bioplynovém reaktoru se mísí digestát se substrátem. Klesající stavy zvířat nutí zpracovávat krmiva jiným způsobem než jako zdroj krmiva pro hospodářská zvířata. Kukuřičná siláž je nejčastější surovinou, je využíváno hybridů šlechtěných speciálně na produkci bioplynu. Vojtěšková a jetelová senáž se v poslední době dostávají do popředí zájmu vzhledem z vysokému výnosu sušiny z ha.

Pro kvalitní produkci bioplynu je důležité, aby vstupní substrát měl celoroční homogenní vlastnosti. Nejčastější konzervací je silážování, senážování a sušení. Silážování se konzervuje kukuřičná siláž, cukrovarnické řízky. Senážování se konzervují bílkovinná krmiva jako je jetel a vojtěška. Sušením se konzervují ječná, pšeničná a řepková sláma. Mezi špatně konzervovatelné materiály patří brambory, pivovarské mláto a odpadní listí. Vlivem špatné konzervace dochází k narušení fermentačního procesu a následkem toho i úplnému zastavení fermentace. Zapáchající siláž s převažujícím octovým kvašením způsobí okyselení celého procesu, pH reakce klesne z optimálního pH 6 - 7 na kyselé pH 3 - 4. Obsah ligninu jako nerozložitelné části má velký vliv na celkový zůstatek. Substráty s vysokým obsahem dusíkatých látek, především v dusičnanové formě, působí inhibičně na průběh reakce.

MATERIÁL A METODIKA

K pokusům byly použity vybrané vzorky fytohmoty a rostlinných odpadů. Jako zdroj bakterií pro start procesu jsme použili inokulum (digestát) z bioplynové stanice. Test probíhal ve dvou variantách a to ve variantě s úpravou pH přidáním CaCO_3 a bez při dání CaCO_3 . Do lahve (obr 2) jsme navážili 10 g vzorku, přidali jsme 50 ml inokula a ve variantě s úpravou pH jsme přidali 5 g CaCO_3 . Výsledkem testů byl stupeň rozložitelnosti vzorku v čase, pH, obsah minerálních látek (popelovin), hodnota chemické spotřeby kyslíku (CHSK) a obsah Cox .

Test trval 49 dní. Po uplynutí 7 dní jsme vždy jednu láhev vyjmuli a veškerý její obsah analyzovali. Teplota fermentace byla $35\text{ }^\circ\text{C}$ a po celou dobu testu se neměnila. Vzorky byly ve 100 % sušiny a velikost částic byla $<0,5\text{ mm}$. Ve vzorcích jsme analyzovali obsah popelovin, ligninu, organických látek, stanovili jsme hodnotu pH.

a) *Teoretický výpočet obsahu metanu podle Buswella*

$$\% \text{CH}_4 = \frac{\left(\frac{x}{2} + \frac{y}{8} - \frac{z}{4}\right)}{x} = \frac{4 + \frac{y}{x} - \frac{2z}{x}}{8} \times 100 = \frac{y}{8} \times 100 = 1,5 \times \frac{\text{COD}}{\text{TOC}}$$

b) *Teoretický výpočet výnosu metanu*

$$Y_{\text{CH}_4} [\text{Nm}^3 \text{CH}_4] = 0,349 \times \text{COD}_{\text{substrate}}$$

Obr. 1 Anaerobní kvasná láhev s pěnou z odpadních brambor



Obr. 2 Anaerobní kvasné láhve v klimaboxu



VÝSLEDKY A DISKUZE

V dnešní době se zvažuje likvidace odpadů ze zemědělské prvovýroby. Ve výpočtech jsme vycházeli z naměřených hodnot během testů a teoretických výpočtů. Všechny zkoumané suroviny nejsou schopny kvalitně produkovat bioplyn pokud u nich nedojde k úpravě pH přidáním CaCO_3 (tab. 1 a 2). U kukuřičné siláže a jetelové senáže dojde během 7 dní k prudkému poklesu pH (graf. 1 a 2). Přidáním CaCO_3 se tento pokles v druhém týdnu fermentace zastaví a pH začne pozvolna stoupat. Uvolňování oxidovatelného uhlíku (C_{ox}) u jetelové senáže nebylo urychleno přidáním CaCO_3 (graf. 2). V pokusu s kukuřičnou siláží se uvolňování C_{ox} z digaestátu prokázalo (graf.1). Nejvyšších hodnot obsahu metanu bylo dosaženo u odpadních brambor, jetelové senáže, vojtěškové senáže, cukrovarnických řízky a odpadního listí (tab. 3). Obsah minerálních látek je nejvyšší u odpadního listí, řepkové slámy. Nejvyšší objem čistého metanu byl získán u vojtěškové senáže, jetelové senáže, cukrovarnických řízky (tab. 3). Odpadní brambory, cukrovarnické řízky a pivovarské mláto se ukázaly z technického hlediska jako méně vhodné z důvodu jejich vysoké pěnovosti v reaktoru (obr 1). Produkce bioplynu není závislá na obsahu organických látek a obsahu ligninu (tab. 4).

Tab. 1 Biologická degradace s CaCO_3

substrát	Před testem			Po skončení testu s CaCO_3			
	Hmotnost vzorku (g)*	CaCO_3 (g)	Cox (g)	pH	Obsah sušiny (%)	Cox (g)	pH
řepková sláma	10	5	3,88	4,82	61,18	2,16	7,04
pšeničná sláma	10	5	4,11	7,46	82,18	2,2	6,6
ječná sláma	10	5	4,17	6,72	66,6	2,54	6,65
odpadní brambory	10	5	3,94	6,6	41,8	1,22	5,05
cukrovarnické řízky	10	5	4,01	4,68	38,7	1,17	6,48
jetelová senáž	10	5	4,11	6,38	59,03	2,02	5,52
vojtěšková senáž	10	5	4,34	5,8	58,38	1,82	6,74
odpadní listí	10	5	3,77	5,4	14,29	0,49	7,49
pivovarské mláto	10	5	4,22	6,5	63,1	2,27	6,77
kukuřičná siláž	10	5	4,37	6,42	60,89	2,2	6,08

*vzorek v 100% sušině

Tab. 2 Biologická degradace bez CaCO_3

substrát	Před testem			Po skončení testu bez CaCO_3		
	Hmotnost vzorku (g)*	Cox (g)	pH	Obsah sušiny (%)	Cox (g)	pH
řepková sláma	10	3,88	4,82	59,36	2,27	4,95
pšeničná sláma	10	4,11	7,46	81	2,6	4,6
ječná sláma	10	4,17	6,72	78,27	3,08	4,84
odpadní brambory	10	3,94	6,6	4,41	1,47	3,78
cukrovarnické řízky	10	4,01	4,68	65,6	2,26	4,38
jetelová senáž	10	4,11	6,38	64,87	2,35	4,7
vojtěšková senáž	10	4,34	5,8	72,2	2,43	4,75
odpadní listí	10	3,77	5,4	42,78	2,78	3,71
pivovarské mláto	10	4,22	6,5	61,59	2,26	4,5
kukuřičná siláž	10	4,37	6,42	83,71	3,28	3,56

*vzorek v 100% sušině

Tab. 3 Teoretický obsah metanu, výnos metanu podle Buswella

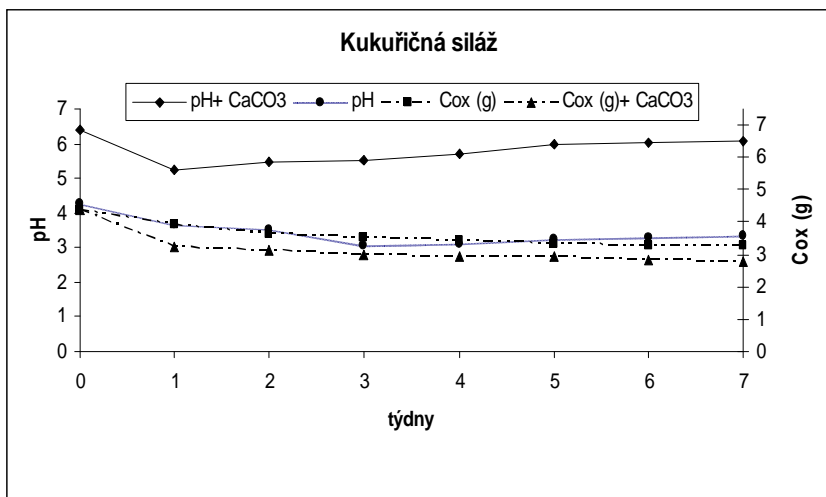
substrát	Teoretický výpočet obsahu metanu (%CH ₄)	Teoretický výpočet výnosu metanu (Nm ³ CH ₄)
řepková sláma	44,42	322
pšeničná sláma	29,28	224
ječná sláma	20,04	156
odpadní brambory	45,47	319
cukrovarnické řízky	49,13	366
jetelová senáž	49,18	377
vojtěšková senáž	48,54	392
odpadní listí	45,47	319
pivovarské mláto	35,75	326
kukuřičná siláž	39,28	302

Tab. 4 Analýza vstupních surovin

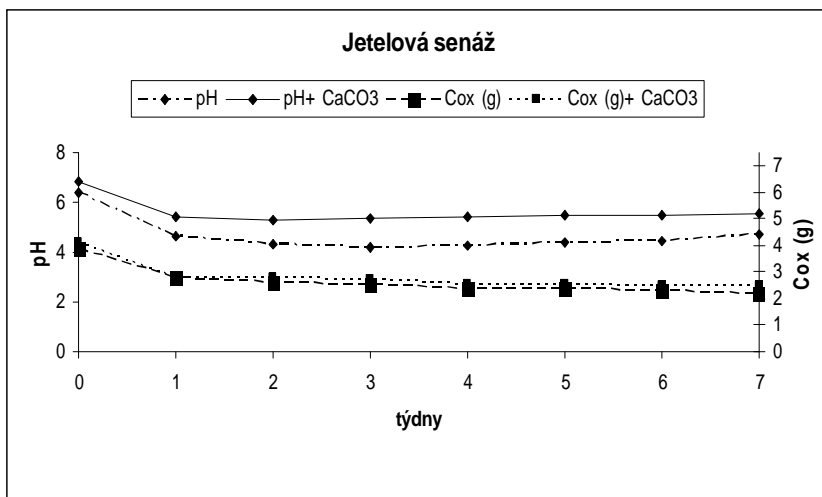
Substrát*	Obsah popelovin (%)	Obsah organické hmoty (%)	Obsah ligninu (%)	CHSK [g×g ⁻¹]
řepková sláma	15,35	84,65	14,47	918,86
pšeničná sláma	6,6	93,4	16,92	641,75
ječná sláma	5,8	94,2	17,35	443,57
odpadní brambory	4,39	95,61	9,35	1036,64
cukrovarnické řízky	7,77	92,23	7,44	1047,12
jetelová senáž	5,18	94,82	13,88	1378,55
vojtěšková senáž	9,34	90,66	14,72	1123,63
odpadní listí	19,52	80,48	15,09	914,21
pivovarské mláto	4,37	95,63	11,14	934,39
kukuřičná siláž	4,4	95,6	10,32	914,90

*vzorek ve 100% sušině

Graf 1 Průběh fermentace kukuřičné siláže s přidáním a bez přidání CaCO₃



Graf 2 Průběh fermentace jetelové senáže s přidáním a bez přidání CaCO_3



ZÁVĚR

Nejvyššího procentického výtěžku metanu jsme dosáhli u jetelové senáže 49,18 %, cukrovárnických řízků 49,13 % a vojtěškové senáže 48,54 %. Nejnižšího obsahu metanu jsme dosáhli u ječné slámy 20,04 % a pšeničné slámy 29,28 %. Objem čistého metanu jsme získali nejvíce z vojtěškové senáže 392 Nm^3 , jetelové senáže 377 Nm^3 . Nejnižší objem čistého metanu jsme dosáhli u ječné slámy a pšeničné slámy. Ve variantě bez přidání CaCO_3 došlo ve všech případech k poklesu pod 5 pH, kdy rozklad organické hmoty pokračuje, ale není produkován bioplyn.

PODĚKOVÁNÍ

Autor děkuje také Jihočeské univerzitě katedře Agrochemie a pedologie za technické zázemí při realizaci pokusů.

POUŽITÁ LITERATURA

DOHÁNYOS, M., ZÁBRANSKÁ J. :Bilance metanizace-výpočet maximální výtečnosti bioplynu. Vodní hospodářství B38, 2, 1988. s. 45-49.

HRNČIŘÍK, J., KLÍMA, J., KUPEC, J. :Aparatura pro volumetrické sledování anaerobního rozkladu organických látek, Chemické listy 91, 1997. s. 877-883.

KOLÁŘ, L., KLIMEŠ F., GERGEL J., KUŽEL S., KOBES M., LEDVINA R., ŠINDELÁŘOVÁ M. : Methods to evaluate degradability in anaerobic digestion and biogas production, Faculty of Agriculture in České Budějovice, Plant soil environ., 51, 2005 (4):173-178

STRAKA, F. et al. :Bioplyn - příručka pro výuku, projekci a provoz bioplynových systémů. GAS s.r.o., Praha, 2006. 706s.

ZABRANSKA, J., DOHANYOS, M., JENICEK, P., RUZICKOVA, H., VRANOVA, A. :Efficiency of autothermal thermophilic aerobic digestion and thermophilic anaerobic digestion of municipal wastewater sludge in removing Salmonella spp. and indicator bacteria, Water science and technology, Vol. 47, NO. 3, 2003. pp. 151-156.

OCCURRENCE OF *FUSARIUM* SPP. ON THE CORN KERNEL (*ZEA MAYS* L.)

Kmoch M., Šafránková I.

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

E-mail: xkmoch@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of the study was the incidence and representation of individual species *Fusarium* fungi and their determination on hybrids kernels and versions of Bt-corn hybrids grown in different production areas in the Czech Republic (CR) in 2008. In CR corn (*Zea mays* L.) is grown mainly for silage and grain as feed for livestock. Among the major pathogens of corn is *Fusarium* fungi that cause rot of collar emergence plants and straw and cob rot. Some *Fusarium* species are important producers of mycotoxins and with the toxic and carcinogenic potential negatively affecting the health of animals and humans. From areas with a high proportion of corn in crop rotation was obtained 45 samples (22 hybrids and 7 versions of Bt-hybrids - genetically modified corn). From the area Čejč (District Hodonín) 25, Medlov (District Olomouc) 6, Otrokovice-Kvítkovice (District Zlín) 6, Loštice (District Šumperk) 4 and the Jiřice u Miroslavi (District Znojmo) 4. Kernels were disinfected on surface (60 sec, 5% sodium hypochlorite), then twice rinsed with distilled water and placed in petri dishes (PM) on potato-dextrose agar (PDA), each 10 pcs/PM, 5 repetitions. Incubation was by room temperature. Isolation of pathogens from kernels was made from 4th to 7th day and then was growing pure cultures for identification. Statistical evaluation of the frequency isolates was performed by using single factor analysis of variance and multiple comparison (Tukey-HSD, $\alpha = 0.05$) with help of the program UNISTAT 5.1. On the total number of pathogens (997 isolates) were involving *Fusarium* species 41.3% (412 isolates). Differences in the frequency isolates of fungi genus *Fusarium* in the frame of hybrids, the Bt-hybrids and hybrid versions of a given site were statistically conclusive only to the locality Čejč and Loštice among several samples. Differences between sites in the number isolates of species genus *Fusarium* occurring on individual hybrids were mostly statistically demonstrable. A higher effect on attack fungi caryopsis *Fusarium* had, in the most cases, locality than hybrids of Bt-versions of hybrids. The highest representation, i.e. 47.1% was observed by species of *Fusarium subglutinans* (*Gibberella subglutinans*), *F. verticillioides* (*Gibberella moniliformis*) – 35.3% and 14.5% for *F. graminearum* (*Gibberella zeae*). The representation of other species was very low (*F. poae* – 1.7%, *F. avenaceum* (*Gibberella avenacea*) – 1.0% and *F. culmorum* – 0.5%).

Key words: *Fusarium* spp., corn

Acknowledgments: The research project was funded by the Internal Grant Agency, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno number IG290061.

ÚVOD

Houby rodu *Fusarium* jsou významnými patogeny většiny zemědělských plodin (Širučková, Kroutil, 2007). Mohou nepříznivě ovlivnit kvantitu a kvalitu sklizené produkce. Vyvolávají hniloby vzházejících rostlin, stébel a trouchnivění klasů. Nejvýznamnější škody vznikají po napadení klasů. Jsou příčinou výnosových ztrát, snížení klíčivosti osiva a kvality zrna.

V souvislosti s napadením zrna představuje produkce toxických sekundárních metabolitů fusarií, tzv. mykotoxinů, nebezpečí jak pro člověka, tak pro hospodářská zvířata. Onemocnění - mykotoxikózy se projevují zvracením, zažívacími potížemi, poškozením imunitního systému, poškozením plodu s následkem potratu aj. V cereáliích jsou nejvýznamněji zastoupeny trichothecenové deriváty – deoxynivalenol (DON), nivalenol (NIV) a T2 toxin. Další skupinu mykotoxinů představuje zearalenon (ZEA) a jeho deriváty, u nichž byly prokázány estrogenní účinky. Do potravního řetězce se mohou dostávat jak přímou konzumací kontaminované produkce, tak i zprostředkovaně krmivem a následně živočišnými produkty (Sýkorová et al., 2004). V posledních desetiletích se zvyšuje zájem o napadení obilnin houbami rodu *Fusarium* a o mykotoxiny (Benada, 2008). Různé druhy fusarií produkují odlišné mykotoxiny.

Houby rodu *Fusarium* vytvářejí dva hlavní typy konidií: makrokonidie a mikrokonidie. Makrokonidie jsou srpkovitého tvaru s různým počtem přehrádek (0 – 10). Mikrokonidie jsou zpravidla elipsovité nebo vejčité, většinou bez nebo s jednou přehrádkou. Tvoří se výhradně ve vzdušném myceliu a jsou známy pouze u některých druhů. Kromě konidií vytváří řada druhů také perzistentní útvary: chlamydostry a sklerocia. Chlamydostry jsou kulovitého tvaru, tvoří se v myceliu nebo konidiích jednotlivě, v párech, řetězcích nebo hroznech, terminálně, laterálně nebo interkalárně. Sklerocia se vytvářejí v myceliu jednotlivě nebo ve skupinách, jsou zpravidla okrouhlého tvaru a dosahují velikostí většinou do jednoho milimetru, vzácně i více. Řada druhů fusarií vytváří také teleomorfní stádium, perithecia s vřecíky a askosporami (Leslie et al., 2006).

Systematika v rámci rodu *Fusarium* je založena na morfologii makrokonidií, mikrokonidií, chlamydostry, konidioforů, rychlosti růstu kolonií houby, pigmentaci vzdušného mycelia a substrátu při kultivaci in vitro (Širučková, Kroutil, 2007, Leslie et al., 2006).

Během let dochází ke změnám zastoupení jednotlivých druhů rodu *Fusarium*. Proto je nutná determinace druhu fuzária. Patogeny rodu *Fusarium* na palicích kukuřice jsou díky četným druhům dosud málo mezi sebou rozlišitelné.

Cílem práce bylo stanovení výskytu a zastoupení jednotlivých druhů hub rodu *Fusarium* a jejich determinace na obilkách hybridů a Bt-verzí hybridů kukuřice seté (*Zea mays L.*) pěstované v různých pěstitelských oblastech v České republice (ČR) v roce 2008.

MATERIÁL A METODIKA

Z oblastí s vysokým podílem kukuřice v osevním sledu bylo získáno 45 vzorků (22 hybridů a 7 Bt-verzí hybridů – geneticky modifikované kukuřice). Z lokality Čejč (okres Hodonín) 25 vzorků, Medlov (okres Olomouc) 6 vzorků, Otrokovice-Kvítkovice (okres Zlín) 6 vzorků, Loštice (okres Šumperk) 4 vzorky a Jiřice u Miroslavi (okres Znojmo) 4 vzorky. Obilky byly povrchově dezinfikovány (60 sec, 5 % chlornan sodný), následně dvakrát opláchnuty destilovanou vodou a umístěny do Petriho misek (PM) na bramboro-dextrózový agar (PDA), vždy 10 ks/PM, 5 opakování. Inkubace probíhala při laboratorní teplotě. Izolace patogenů z obilek byla provedena 4. – 7. den a následně vypěstovány čisté kultury pro identifikaci. K rozlišení jednotlivých druhů fusárií byla použita kultivační mikroskopická metoda. Pro determinaci byly využity především morfologické znaky makrokonidií: jejich celkový tvar (nejvýznamnější je tvar koncových buněk), počet přehrádek (kolísá), velikost (kolísá, potřeba statistické vyhodnocení, velikost kolísá i podle živné půdy), jejich barva. Dále byly pro identifikaci druhů využity mikrokonidie (mají různé tvary, zpravidla jsou jednobuněčné, u některých druhů i dvoubuněčné, tvořené někdy v řetězcích), nosiče konidií a tvar kolonie houby.

Statistické vyhodnocení četnosti izolátů ve vzorcích bylo provedeno pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu a mnohonásobného porovnávání (Tukey-HSD; $\alpha = 0,05$) za použití programu UNISTAT 5.1.

Hybridy a Bt-verze hybridů zařazené do pokusu

Čejč: Saxo, Bergxxon, Thermo, DKC 3946 YG, DKC 3511, DKC 3512 YG, DK 440, DK 4422 YG, DK 4490, DK 5542, Kladdus, Kaifus, Havane, KWS 2376, Kursus, KWS 1393, Atletico, KXA 6338 Symbol, KXA 6471, Karas YG, PR 38 A 24, PR 38 A 25 YG, PR 37 N 01, X 6 K 247

Medlov: DKC 3420, DKC 3421 YG, DK 315, DKC 3946 YG, DKC 3511, DKC 3512 YG

Otrokovice: DK 440, DK C 3421 YG, DK 315, DKC 3946 YG, DKC 3511, DKC 3512 YG

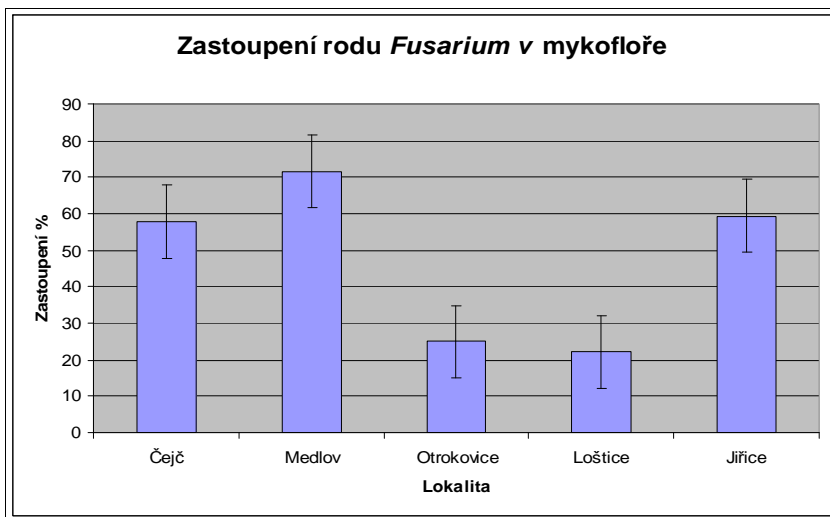
Loštice: DK 440, DKC 3946 YG, DKC 3512 YG, DKC 3511

Jiřice u Miroslavi: DK 440, DKC 4422 YG, DKC 3512 YG, DKC 3511

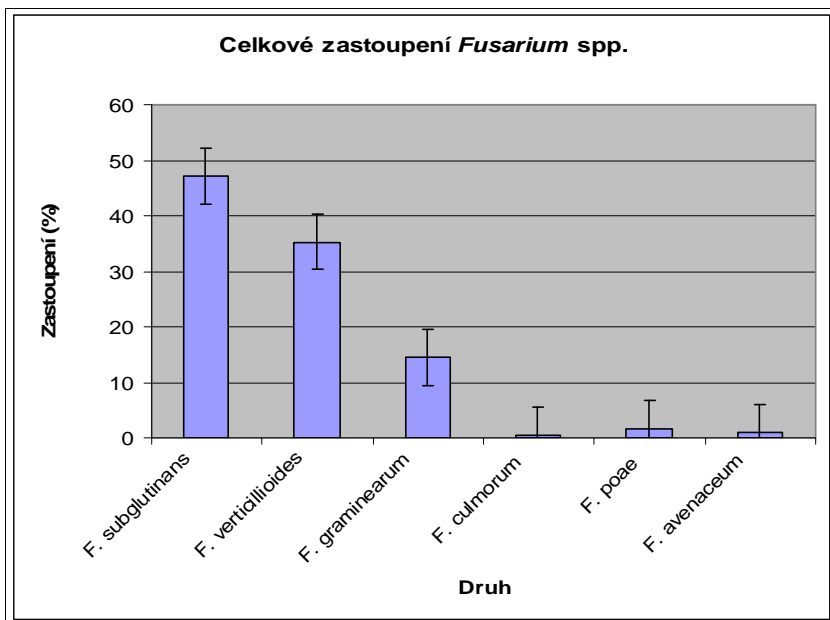
VÝSLEDKY A DISKUZE

Na celkovém množství patogenů (997) se podílely druhy rodu *Fusarium* 41,3 % (412 izolátů). Rozdílly v četnosti izolátů hub rodu *Fusarium* v rámci hybridů, mezi hybridy a Bt-verzemi hybridů na dané lokalitě byly statisticky průkazné pouze na lokalitě Čejč a Loštice mezi několika vzorky. Rozdílly mezi lokalitami v počtu izolátů druhů rodu *Fusarium* vyskytujících se na jednotlivých hybridech byly většinou statisticky průkazné (graf 1). Ve většině případů však vyšší vliv na napadení obilek houbami rodu *Fusarium* měly lokality než hybridy nebo Bt-verze hybridů. Nejvyšší zastoupení, tj. 47,1 % bylo zjištěno u druhu *Fusarium subglutinans* (*Gibberella subglutinans*), *Fusarium verticillioides* (*Gibberella moniliformis*) - 35,3 % a 14,5 % u *Fusarium graminearum* (*Gibberella zeae*). Zastoupení dalších druhů bylo velmi slabé (*Fusarium poae* 1,7 %, *Fusarium avenaceum* (*Gibberella avenacea*) - 1,0 % a *Fusarium culmorum* - 0,5 % (graf 2). Druhové spektrum a zastoupení jednotlivých druhů se lišilo mezi lokalitami.

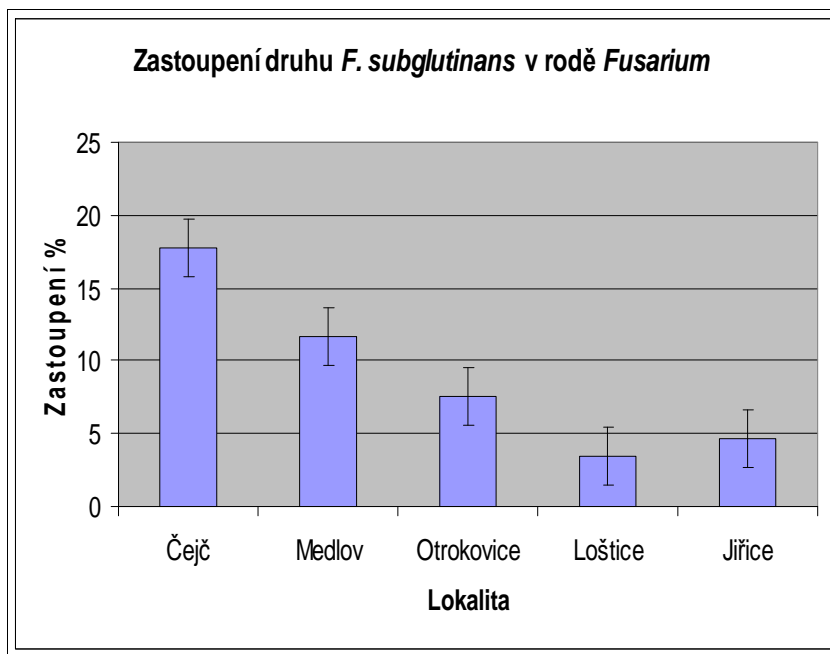
Graf 1 Zastoupení rodu *Fusarium* v celkové mykofloře na lokalitách



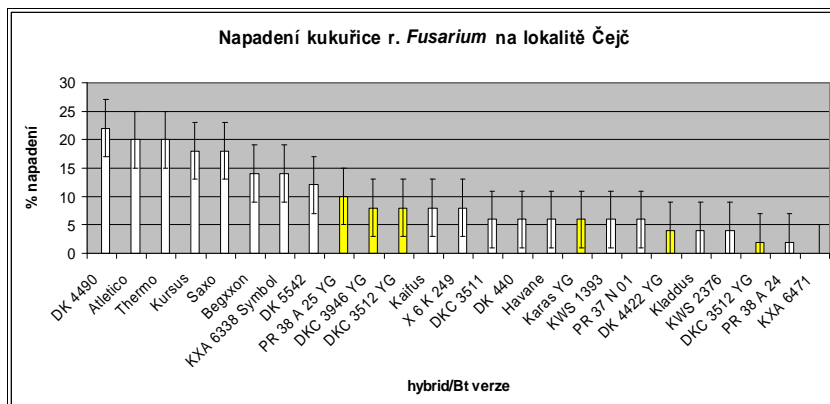
Graf 2 Celkové zastoupení *Fusarium* spp.



Graf 3 Zastoupení *F. subglutinans* v rodě *Fusarium*

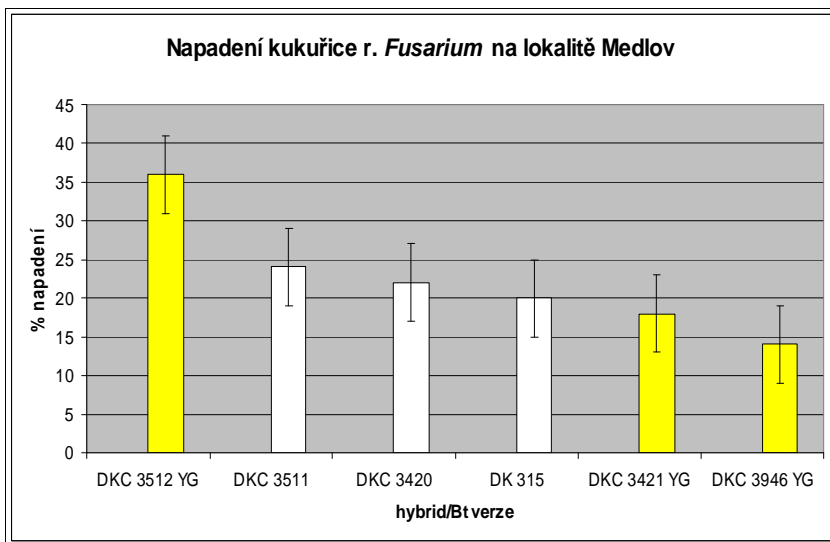


Graf 4 Napadení kukuřice r. *Fusarium* na lokalitě Čejč



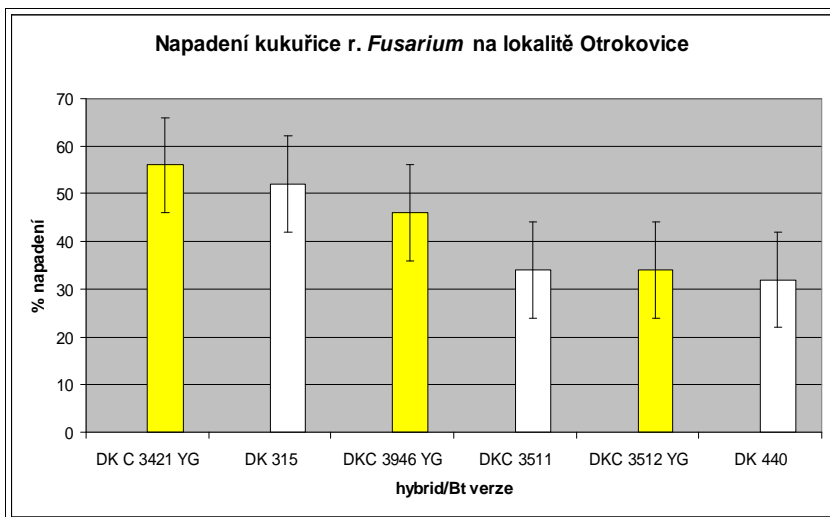
Žluté sloupce označují Bt-verze hybridů.

Graf 5 Napadení kukuřice r. *Fusarium* na lokalitě Medlov



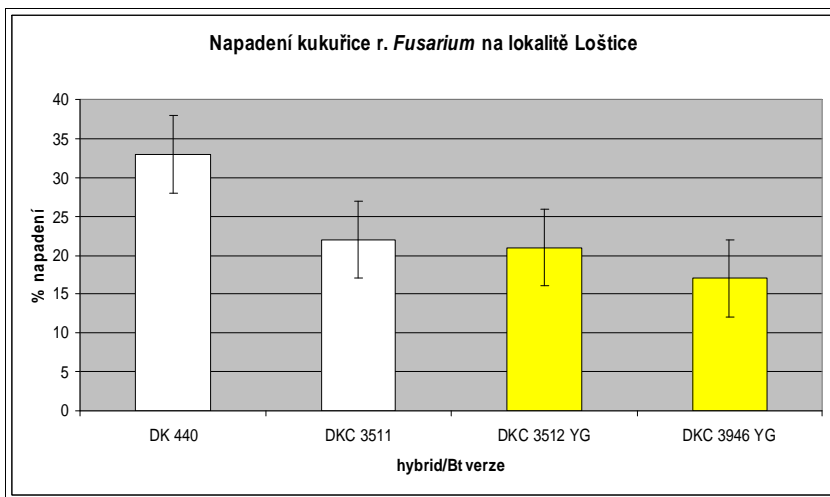
Žluté sloupce označují Bt-verze hybridů.

Graf 6 Napadení kukuřice r. *Fusarium* na lokalitě Otrokovice



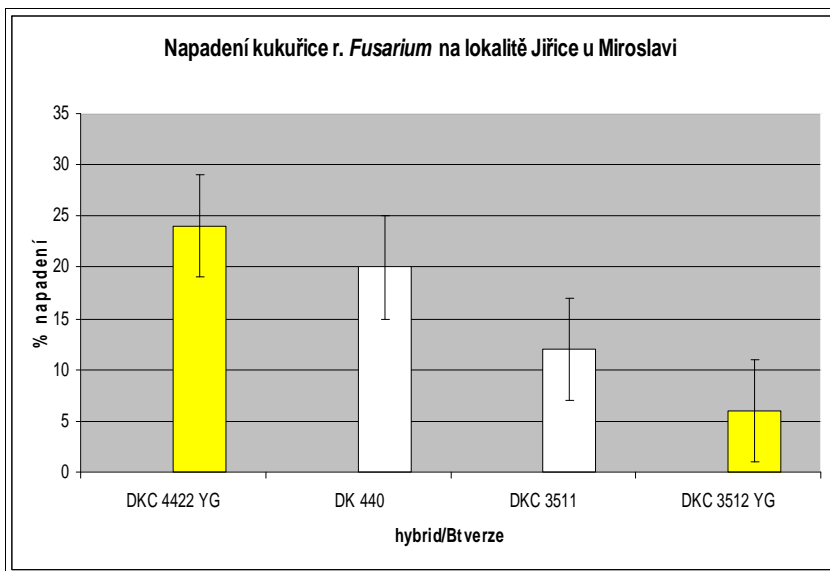
Žluté sloupce označují Bt-verze hybridů.

Graf 7 Napadení kukuřice r. *Fusarium* na lokalitě Loštice



Žluté sloupce označují Bt-verze hybridů.

Graf 8 Napadení kukuřice r. *Fusarium* na lokalitě Jiřice u Miroslavi



Žluté sloupce označují Bt-verze hybridů.

ZÁVĚR

1. Nejvyšší zastoupení, tj. 47,1 % bylo zjištěno u druhu *Fusarium subglutinans* (*Gibberella subglutinans*), *Fusarium verticillioides* (*Gibberella moniliformis*) – 35,3 % a 14,5 % u *Fusarium graminearum* (*Gibberella zea*).
2. Zastoupení dalších druhů bylo velmi slabé (*Fusarium poae* 1,7 %, *Fusarium avenaceum* (*Gibberella avenacea*) 1,0 %, *Fusarium culmorum* 0,5 %).
3. Rozdíly v četnosti izolátů hub rodu *Fusarium* v rámci hybridů, mezi hybridy a Bt-verzemi hybridů na dané lokalitě byly statisticky průkazné pouze na lokalitě Čejč a Loštice mezi několika vzorky.
4. Rozdíly mezi lokalitami v počtu izolátů druhů rodu *Fusarium* vyskytujících se na jednotlivých hybridech byly většinou statisticky průkazné.
5. Lokalita měla vyšší vliv na napadení rodem *Fusarium* než hybrid nebo Bt-verze hybridu.
6. Ve většině případů však vyšší vliv na napadení obilek houbami rodu *Fusarium* měla lokalita než hybridy nebo Bt-verze hybridů.
7. Mezi lokalitami docházelo ke změnám zastoupení *Fusarium spp.*

LITERATURA

Benada, J. *Rozlišování druhů fuzárií v obilninách*. Rostlinolékař (1): 29, 2008.

Leslie, J., F., Summerell, B., A., Bullock, S. *The Fusarium Laboratory Manual*. Oxford: Oxford Blackwell Publishing, 2006. 388 s.

Sýkorová, S. *Mykotoxiny – stav výskytu v zemědělských surovinách a krmivech v ČR a v Evropě*. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2004. 35 s.

Širučková, I., Kroutil, P. *Fuzariózy na obilninách (*Fusarium spp.*)*. Praha: Ministerstvo zemědělství ve spolupráci se Státní rostlinolékařskou správou, 2007. 8 s.

ASSESSMENT OF REDUCED DOSES EFFICACY OF GLYPHOSATE BY CHLOROPHYLL FLUORESCENCE MEASUREMENT

Kocurek V., Smutný V.

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

E-mail: vojtech.kocurek@seznam.cz

ABSTRACT

The aim of this work was to assess herbicide efficacy of reduced doses of herbicide 'Roundup klasik' with active ingredient glyphosate by measuring chlorophyll fluorescence compared to standard methods of assessing. FluorCam device was used for own measurement and three often used doses were tested. Registered 100% dose (3.00 l.ha^{-1}) and two reduced doses 75% (2.25 l.ha^{-1}) and 50% (1.50 l.ha^{-1}). Experimental plants of redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*) were grown in controlled laboratory conditions to stage of four right leaves and than treated by herbicide. Measurements were carried out in 0, 1, 2, 3, 6, 9 and 15 days after treatment (DAT). Fluorescence parameter called Quantum yield (QY) was selected for the assessment of herbicide efficacy by FluorCam device. Achieved results were compared with subjective assessment and growth parameters.

The obtained results showed that we are able to detect significant differences and the effect of selected herbicide by chlorophyll fluorescence measurement. We can detect significant difference in QY values compared to control variant in 2-DAT for all variants, for subjective assessment in 1-DAT. Statistically significant difference for QY values between 100% and other doses occurred in 3-DAT, for subjective assessment in 2-DAT. Final effect of herbicide was the same for all doses, 100% of weed plants died. Correlation coefficient between QY values and subjective assessment was 0.93 what means strong correlation and resemblance in results assessed by these two methods.

Key words: herbicide efficacy, chlorophyll fluorescence, fluorcam, glyphosate

Acknowledgements: This study was supported within project No. 2205 - Innovation of herbology subject by visualization of the effects affecting the application of herbicides which is financed by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

ÚVOD

Účinnost herbicidů je posuzována především subjektivním hodnocením ošetřených rostlin. Při tomto hodnocení mohou nastat určité nepřesnosti. 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 (Kocurek, 2008).

Současný trend, nejen v aplikaci herbicidů, je snižování množství účinných látek aplikovaných na zemědělské plochy a tím také snížení zatížení životního prostředí pesticidy a v neposlední řadě úspora finančních nákladů. Sledování účinnosti herbicidů při nižších dávkách než jaké jsou registrovány je jednou z možností, jak toho dosáhnout. Možnost snížení aplikované dávky však záleží na mnoha dalších okolnostech jako jsou například růstová fáze plevele, teplota při a po aplikaci, množství vody aplikované na 1 ha atd. Nicméně využití měření pomocí fluorescenčních parametrů v porovnání se subjektivním hodnocením nám skýtá velmi zajímavou možnost, jak přesněji hodnotit herbicidní účinnost.

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 Tremblin (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).

MATERIÁL A METODIKA

Vlastní pokusy měření byly realizovány v herbologické laboratoři Ústavu agrosystémů a bioklimatologie MZLU v Brně. Jako pokusný materiál byly vypěstovány rostliny laskavce ohnutého (*Amaranthus retroflexus*) do fáze 4 plně vyvinutých pravých listů. Tyto rostliny byly pěstovány v růstovém boxu v kontrolovaných a stálých pěstebních podmínkách. Osivo laskavce bylo získáno z rostlin v plné zralosti na pokusné stanici v Žabčicích. Semena byla vyseta do plastových květináčů černé barvy o straně 8 cm s perforovaným dnem. Do každého květináče bylo vyseto 5 - 10 semen. Laskavec byl vyset do směsi zahradnického substrátu a písku v poměru 2:1. Z několika vzešlých rostlin byla ponechána vždy 1 rostlina / květináč. Květináče byly umístěny na plastových platech s nasákovou textilií na dně, která po pravidelném zalévání sloužila jako dlouhodobější zdroj vody pro rostliny laskavce. Pro postřik byl použit ruční elektrický postřikovač SOLO SPRAYSTAR 460 o objemu 1 litr (Kocurek, 2008). Výsledky byly statisticky vyhodnoceny pomocí analýzy variance a na základě korelačních koeficientů (viz. tab. 2.).

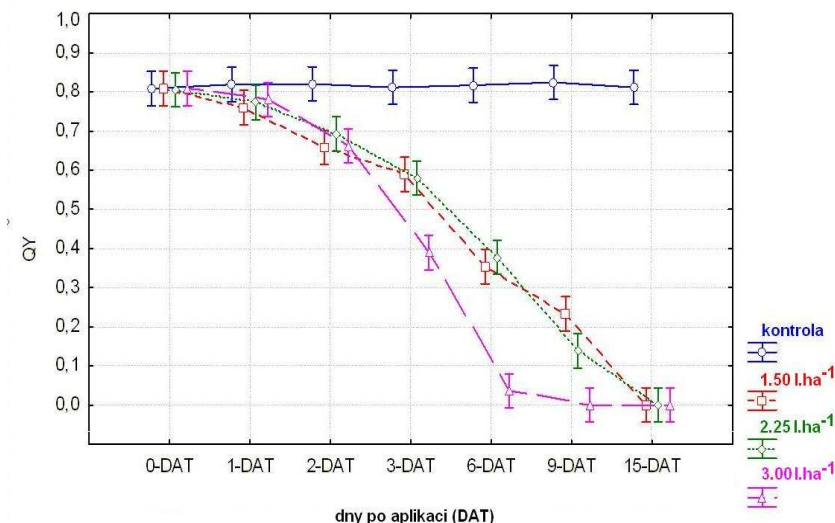
Herbicid Roundup klasik je postřikový neselektivní herbicid se systémovým účinkem pro aplikaci na list, určený k hubení širokého spektra jednoletých a víceletých plevelů. Obsahuje účinnou látku

glyphosate-IPA (480g) a je řazen do skupiny derivátů kyseliny fosforečné. Pro tento pokus byly sledovány 3 různé dávky tohoto herbicidu (3,00 l.ha⁻¹ / 200 l vody, 2,25 l.ha⁻¹ / 200 l a 1,50 l.ha⁻¹ / 200 l). Je používán k hubení vytrvalých a jednoletých plevelů na orné půdě, v ovocných sadech, vinnohradech, v okrasných kulturách a k likvidaci nežádoucí vegetace na ostatních plochách. Rostliny ho přijímají výhradně zelenými částmi, listy a oddenky a asimilačním prouděním je rozveden do celé rostliny. Příznaky působení jsou postupně vadnutí, žloutnutí, zasychání až zhnědnutí zasažených rostlin během 10 - 14 dnů.

Samotné měření probíhalo s měřicím přístrojem „FluorCam“. Jako hodnotící parametr byl vybrán kvantový výtěžek fluorescence QY (quantum yield), který je vypočítán ze vzorce $QY = (Fm - Fo) / Fm$, kde Fm je maximální fluorescence a Fo minimální fluorescence snímaného objektu. Tento parametr je v současnosti nejvíce prostudován a také je nejvíce využíván. Pro zjednodušení lze říci, že hodnota QY 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 (viz. graf 1.) a současně byly také hodnoceny růstové charakteristiky (výška rostlin, počet listů větších než 5 mm) (viz tab. 2.) a subjektivní hodnocení poškození rostlin (viz. graf 2.) podle vytvořené desetibodové stupnice (10 = zdravá rostlina, 1 = mrtvá rostlina), která zohledňuje typ herbicidu a jeho charakteristický způsob účinku (Kocurek, 2008).

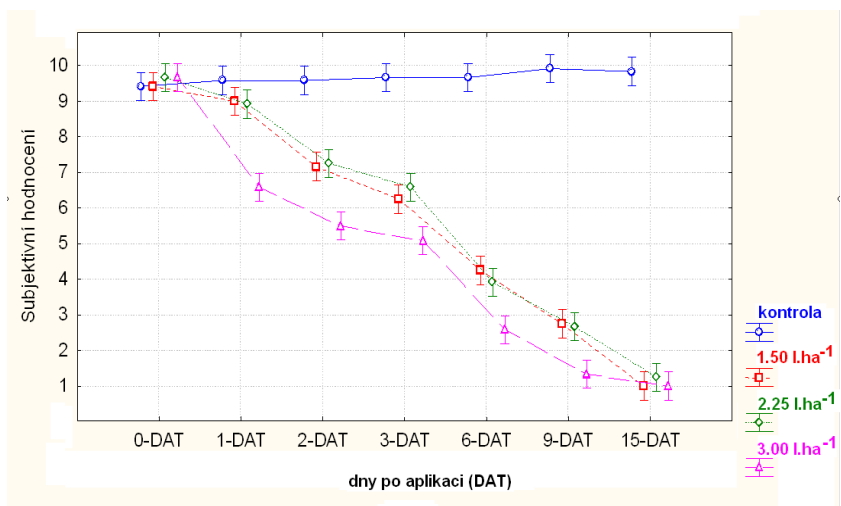
VÝSLEDKY A DISKUZE

Graf 1 Průměrné hodnoty kvantového výtěžku (QY) pro jednotlivé dávky herbicidu Roundup Klasik ($p < 0,05$)



Z naměřených hodnot vyplývá, že hodnoty QY se statisticky průkazně lišily od kontrolní varianty již ve 2-DAT u všech dávek herbicidu Roundup klasik. Statisticky průkazný rozdíl mezi jednotlivými dávkami byl zjištěn ve 3-DAT, kdy se lišila nejvyšší dávka ($3,00 \text{ l.ha}^{-1}$) od obou nižších dávek ($2,25 \text{ l.ha}^{-1}$ a $1,50 \text{ l.ha}^{-1}$). V 9-DAT již byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl mezi všemi variantami. V termínu 15-DAT už všechny varianty nejevily žádný statistický rozdíl, protože rostliny u všech variant byly usmrceny.

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



Pomocí subjektivního hodnocení ošetřených rostlin bylo zjištěn statisticky průkazný rozdíl od kontroly již v 1-DAT pro nejvyšší dávku ($3,00 \text{ l.ha}^{-1}$), pro dávky $1,50 \text{ l.ha}^{-1}$ a $2,25 \text{ l.ha}^{-1}$ byl tento rozdíl zjištěn až 2-DAT. Statisticky průkazný rozdíl mezi jednotlivými dávkami herbicidu Roundup klasik byl zjištěn již 1-DAT u dávky ($3,00 \text{ l.ha}^{-1}$), mezi dávkami $1,50 \text{ l.ha}^{-1}$ a $2,25 \text{ l.ha}^{-1}$ nebyl v průběhu sledování zjištěn žádný statisticky průkazný rozdíl. V termínu 15-DAT již došlo k usmrcení rostlin ve všech ošetřených variantách a nebyly tudíž zjištěny statistické rozdíly mezi jednotlivými dávkami

Tab. 1 Hodnoty korelačních koeficientů ($p < 0,05$) mezi hodnotami QY a ostatními hodnocenými parametry

	Výška rostlin	Subjektivní hodnocení	Prům. šířka 4 nejstarších listů	Počet listů > 5mm
QY - kvantový výtěžek	0,79 *	0,93 *	0,50 *	0,63 *

Z hodnot uvedených v tab. 2. vyplývá, že nejvyšší korelační koeficient byl zjištěna mezi hodnotami QY a subjektivního hodnocení. Pro ostatní parametry byla hodnota korelačního koeficientu s hodnotami QY také průkazná, ale nedosahovala takové síly jako u subjektivního hodnocení.

Tab. 2. Zobrazení statisticky průkazných rozdílů jednotlivých variant ($p < 0,05$) pro všechny sledované parametry v 1-15 DAT

DAT	Výška rostlin							Subjektivní hodnocení							QY							Počet listů > 5mm						
	0	1	2	3	6	9	15	0	1	2	3	6	9	15	0	1	2	3	6	9	15	0	1	2	3	6	9	15
kontrola	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
3,00 l.ha ⁻¹	a	b	b	bc	b	b	b	a	b	b	b	b	b	b	a	a	b	b	b	b	b	a	a	a	b	b	b	b
2,25 l.ha ⁻¹	a	a	a	bc d	b	b	b	a	a	b	b	b	b	b	a	a	b	b	b	c	b	a	a	a	a	b	b	b
1,50 l.ha ⁻¹	a	a	a	d	b	b	b	a	a	c	c	c	c	b	a	a	b	c	c	d	b	a	a	a	a	c	c	c

* pozn.- stejné písmeno znamená, že nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl

* parametry QY a subjektivní hodnocení jsou již popsány v grafech 1 a 2

U výšky rostlin, jako dalšího sledovaného parametru, byl statisticky průkazný rozdíl od kontroly u dávky 3,00 l.ha⁻¹ od 1-DAT, u ostatních dávek ve 3-DAT. Jednotlivé ošetřené varianty se od sebe průkazně liší pouze v termínech 1, 2-DAT (dávka 3,00 l.ha⁻¹ se liší od dávek 1,50 l.ha⁻¹ a 2,25 l.ha⁻¹) a v termínu 3-DAT, kde se od sebe průkazně liší varianty 3,00 l.ha⁻¹ a 1,50 l.ha⁻¹). U parametru počet listů větších než 5mm byl sledován statisticky průkazný rozdíl až v termínu 3-DAT (dávka 3,00 l.ha⁻¹ se lišila od všech ostatních variant včetně kontroly). V termínech 6, 9, 15-DAT byl průkazný rozdíl všech ošetřených variant oproti kontrole a zároveň se dávka 3,00 l.ha⁻¹ průkazně lišila od dávek 1,50 l.ha⁻¹ a 2,25 l.ha⁻¹).

ZÁVĚR

Na základě získaných výsledků získaných z pokusu bylo zjištěno, že působení herbicidu Roundup klasik se prokazatelně projevilo ve změně hodnot kvantového výtěžku (QY), subjektivního hodnocení a všech hodnocených růstových charakteristik. Měření parametrů fluorescence chlorofylu pomocí kamery FluorCam je proto vhodné pro hodnocení účinnosti herbicidů s účinnou látkou glyphosate.

Dále bylo zjištěno, že změny hodnocené subjektivním hodnocením a pomocí QY jsou zaznamenatelné nejdříve ve všech sledovaných parametřích. Hodnoty všech parametrů statisticky průkazně korelují se standardním subjektivním hodnocením, přičemž QY vykazuje hodnoty nejvyšší, což znamená vysokou vypovídací schopnost tohoto parametru.

Jednotlivé dávky herbicidu Roundup klasik se od sebe odlišují především v rychlosti nástupu účinnosti a jejího průběhu v období 2-9 DAT. Nejrychlejší efekt v tomto pokusu nastal u nejvyšší dávky (3,00 l.ha⁻¹). Pro dosažení cíleného efektu herbicidu (jímž je smrt rostliny) dostačují všechny testované dávky. Termín pro usmrcení 100 % testovaných rostlin byl 15-DAT.

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 OLCJIP 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*, 14s.

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.

Kocurek, V., Smutný, V., Křen, J. (2008): Hodnocení účinnosti herbicidů pomocí měření fluorescence chlorofylu. *Sborník konference MendelNet '08Agro*, [CD-ROM] str. 1-7, ISBN 978-80-7375-239-2.

THE ROOT SYSTEM CAPACITY DEVELOPMENT IN RELATION TO NUTRITION AND FERTILIZATION AND TILLAGE METHODS CONCERNING THE AMOUNT OF GRAIN PRODUCTION OF SPRING BARLEY

Kupecsek A., Molnárová J.

Department of Crop Production, Faculty of agrobiolgy and food resources, Slovak university of Agriculture in Nitra, A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

E-mail: andrej.kupecsek@uniag.sk

ABSTRACT

The aim of the study was to monitor the development of the root system capacity (RSC) in relation to nutrition and fertilization and tillage impact on the amount of grain production of spring barley. The task was solved using polyfactorial field trials in agroecological conditions of warm corn production area in Slovakia in 2009. We monitored four spring barley varieties, two tillage methods, four variants of nutrition and fertilization. The RSC measurements were done using the LCR – meter in growth stages of BBCH 13 – 15; 23 – 25; 51; 85 – 89. Achievements were statistically evaluated in the program package Statistica 8. The results affirmed a positive correlation relationship between grain yield and fertilization ($r = 0.44^{***}$). Due to the different types of the fertilization the highest values of the RSC were found at the variant with saltpetre nitrate with limestone. Conventional tillage had a favourable impact on RSC till the growth stage of tillering (BBCH 23-25) by all observed varieties, which also statistically affected the grain yield. The varieties were characterized by different RSC. The results showed that the highest RSC did not achieve the highest grain yield.

Key words: spring barley, nutrition and fertilization, tillage methods, root system electrical capacity, grain yield

Acknowledgments: Paper was elaborated due to financial support from VEGA 1/0551/08.

INTRODUCTION

Spring Barley crop is difficult crop for all of the factors affecting the yield forming process, particularly on nutrition and fertilization. (Laco and Kováčová 2002). Nutrients uptake by plants is conditional particularly on the available nutrient content in soil, dose and form of fertilizer, depth and activity of root system as well as density of vegetation (Baier, 1999). Yield and quality of all cereals is heavily dependent on the availability of an adequate supply of soil mineral nutrients throughout the growing season. The higher the yield potential of the variety, the higher are the demands for nutrients (Morris and Bryce 2002). N uptake is influenced by available water degree of association between the roots and the soil, the supply of genotype, requirements and efficiency of N use, and other properties of the genotype and conditions of growing (Pruzulja and Momčilović 2003). Nitrogen taken from the fertilizers or from the soil is definitely applying to form the quality quantity of crops (Ložek 2000; Pruzulja and Momčilović 2003). Based on the analysis of plant nutrition condition is good to respond with leaf fertilizer. Plant leaf nutrition is based on the law of minimum, therefore together with nitrogen there is added an element, which the plant doesn't receive (Černý, 2007). Reduced and no tillage may give more yield than conventional tillage, especially in dry years. The no tillage system led to occasionally diminished yield through decreased N availability, which suggests that cereals under reduced tillage and no tillage may require additional N fertilizer to reach production levels similar to those of conventional tillage (Małecka and Blecherzik 2008). The primary beneficiaries of the minerals are the underground parts of plants, the roots. For this reason the plants fundamental need of NPK is supplied by classical fertilization through soil (Csekes 2002). Time and expense are major constraints limiting the detection of genotypic differences in the length, structure and growth rate of root system. A conceptual model is presented that provides a rational basis for using plant root capacitance as an in-situ measurement for assessing plant root development. Capacitance meters may facilitate the non-destructive identification of genotypes with root characteristics that confer adaptation to various environments (van Beem, Smith and Zobel 1998; Dalton 1995). The electrical capacitance method is based on the polarization of biological membranes in the root system, and is dependent on the geometric and dielectric properties of the root system. The electrical capacitance or LCR meter measures the amount of electric charge stored by the root system for a given electric potential (in farads), which is dependent on the active root surface area and root length (McBride, Candido and Ferguson 2007). The aim of the study was to obtain knowledge about the influence of different variants of nutrition and fertilization, tillage methods on crop varieties and on the root system capacity (RSC).

MATERIAL AND METHODS

The task was solved within polyfactorial field trials in agroecological conditions of warm corn production area at Malanta in 2009. The trials were established by split plot method in three repetitions. According to the 50 years climate normal, the average annual rainfall is 532.5 mm, the average annual air temperature is 9.8 °C (Špánik, Repa and Šiška 2002). We studied four spring barley varieties: Bojos, Kangoo, Marthe, Xanadu; two tillage methods: conventional tillage (ploughing to the depth

of 0.18 meters) and minimize tillage (disk harrowing to the depth of 0.10 to 0.12 meters). Also we studied four variants of fertilization. The first was unfertilized. The second was fertilized with an organic fertilizer Condit mineral at a dose of 1 t.ha⁻¹ before sowing. On the third variant we applied 60 kg N as saltpetre nitrate with limestone + leaf fertilizer (Hakofyt extra), and on the fourth 60 kg N as NH₄NO₃ + leaf fertilizer (Hakofyt extra). Foliar fertilizer Hakofyt extra we applied on the base of leaf analysis. Soil samples were taken to determine the N_{an}, P and K content before fertilization. Doses of P and K of fertilizers were calculated according to substitution system for yield level of 7.0 t ha⁻¹. The root system capacity (RSC) measurements were done using LCR - meter type ELC – 133A at a frequency of 1 kHz. Measurements have taken place in four growth stages. At leaf development, in the stage of four leaves (BBCH 13 - 15), in full tillering (BBCH 23 - 25), in the stage heading (BBCH 51) and at the stage of ripening (BBCH 85 - 89). Measurements were made on all variants of nutrition and fertilization, and tillage methods. Achievements were statistically evaluated by multi-factorial analysis (ANOVA) in the program package Statistica 8 (Tukey test), and the relationship between grain yield, RSC, tillage methods and fertilization were expressed by correlation coefficient (r).

RESULTS AND DUSCUSION

The nutrition and fertilization had a statistically significant influence on the grain yield ($p = 0.0000$) and RSC ($p = 0.004843$). Due to the different types of fertilization the highest yield (4.74 t.ha⁻¹) was achieved at the third variant in combination of saltpetre nitrate with limestone and the leaf fertilizer Hakofyt extra (Table 1). This testifies the values of the RSC in all growth stages, where this variant dominated. RSC at the variants fertilized with Condit was compared with other variants of fertilization lower, but differences were not statistically significant beside the growth stage of heading. The grain yield of this variant was compared with variants fertilized with commercial fertilizers in combination with leaf fertilizer significantly lower (Table 1). A positive relationship between yield and fertilization was proved ($r = 0.4400^{***}$) (Table 4).

Table 1 Effect of nutrition and fertilization on the RSC (ηF) and grain yield

	BBCH 13 -15	BBCH 23 - 25	BBCH 51	BBCH 85 - 89	Yield t.ha ⁻¹
unfertilized control	0.50 a	0.86 b	0.35 a	0.16 b	3.52 b
Condit 1 t.ha ⁻¹	0.55 ab	0.99 a	0.37 b	0.18 ab	4.20 c
LAV (60 kg.ha ⁻¹)+ Hakofyt extra	0.61 b	1.05 a	0.40 a	0.19 a	4.74 a
NH ₄ NO ₃ (60 kg.ha ⁻¹)+ Hakofyt extra	0.60 ab	1.04 a	0.36 a	0.20 a	4.65 a

There was not a significant difference between the figures in the columns that are coded by the same letter ($\alpha < 0.05$).

The tillage methods had a statistically significant influence on the grain yield ($p = 0.01414$) and the RSC ($p = 0,00000$). Conventional tillage had a favourable impact on RSC till the growth stage of tillering (BBCH 23-25) by all observed varieties. The conventional tillage had a significantly greater yield compared to the minimized tillage by 0.20 t.ha⁻¹ (Table 2). A negative relationship between tillage methods and RSC at the growth stage of tillering was proved ($r = 0.6460^{***}$) (Table 4).

Table 2. Effect of tillage methods on the RSC (ηF) and grain yield

	BBCH 13 -15	BBCH 23 - 25	BBCH 51	BBCH 85 - 89	Yield t.ha ⁻¹
Conventional tillage	0.57 a	1.17 a	0.35 a	0.18 a	4.44 b
Minimized tillage	0.56 a	0.80 b	0.38 b	0.18 a	4.14 a

There was not a significant difference between the figures in the columns that are coded by the same letter ($\alpha < 0.05$).

The varieties were characterized by different RSC. Results showed that the highest RSC did not achieve the highest grain yield as Cerkal et al. (2008) states. The difference is probably contingent by a nature of other biological material and different conditions of a site. CRS by the highest yield by the variety Kangoo (4.50 t.ha⁻¹) was compared to the highest achieved CRS, achieved by the variety Bojos, 9.8 to 18.7% lower. The obtained results indicate a different adaptability of observed varieties on the uneven distribution of rainfall during the vegetation.

Table 3. Effect of variety on the RSC (ηF) and grain yield

	BBCH 13 -15	BBCH 23 - 25	BBCH 51	BBCH 85 - 89	Yield (t.ha ⁻¹)
Xanadu	0.51 a	1.04 a	0.38 a	0.18 ab	4.13 a
Bojos	0.63 b	1.07 a	0.41 a	0.21 b	4.18 a
Marthe	0.58 ab	0.96 ab	0.31 b	0.16 a	4.35 a
Kangoo	0.52 a	0.87 b	0.37 a	0.18 ab	4.50 a

There was not a significant difference between the figures in the columns that are coded by the same letter ($\alpha < 0.05$).

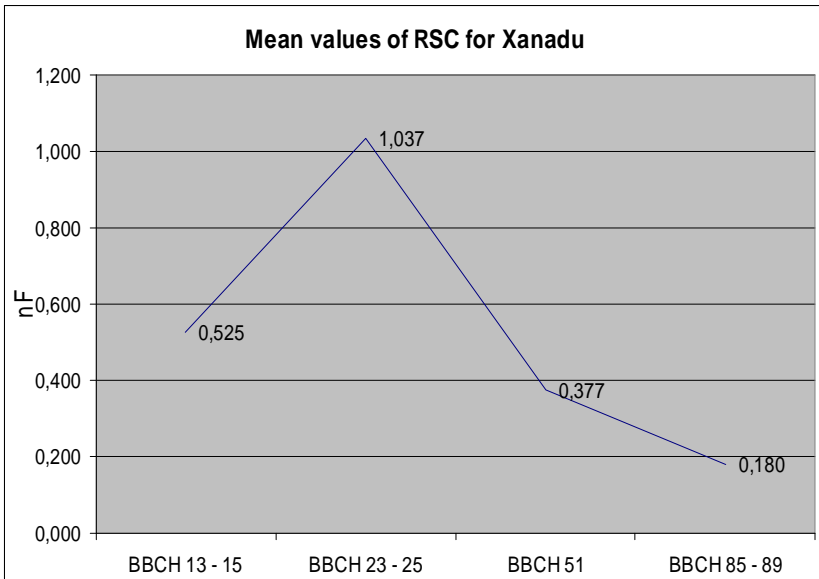
Table 4. Correlation coefficient among yield, RSC at the growth stages, variety, tillage and fertilization ($n = 96$)

	BBCH 13 - 15	BBCH 23 - 25	BBCH 51	BBCH 85 - 89	Variety	Tillage	Fertilization
Yield	0,1572	0,2344*	0,0818	0,1036	0,1157	-0,1575	0,4400***
BBCH 15-15		0,2122*	0,1715	-0,0876	-0,0341	-0,0423	0,1605
BBCH 23 - 25			0,0310	0,1438	-0,2441*	-0,6460***	0,2363*
BBCH 51				0,1212	-0,1305	0,1685	0,0604
BBCH 85 - 89					-0,1043	0,0731	0,2843**

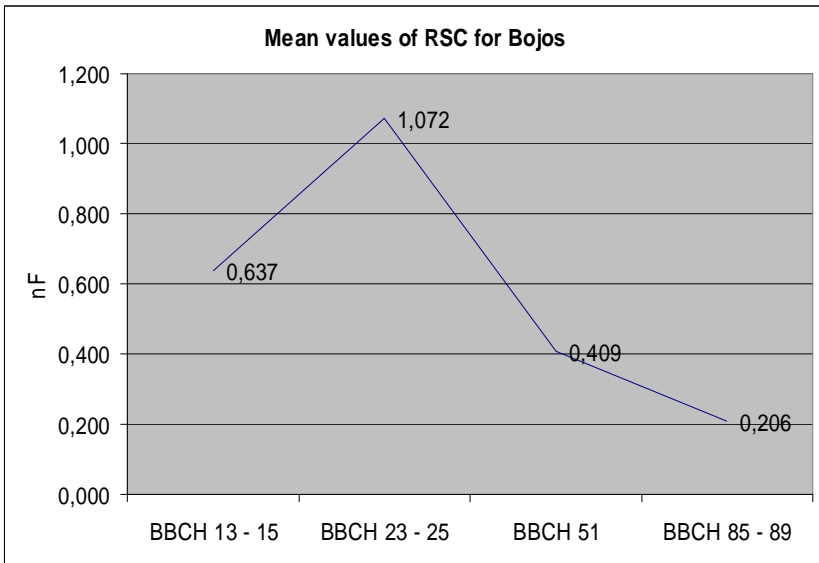
* Represents significance level of 0.05-0.01, ** 0.01-0.001, and *** <0.001.

Course development of RSC is demonstrated with Graphs 1 to 4. The curve has an almost identical course for each variant. The highest values were measured during the growth stage of tillering and at the other stages the RSC values decreased. According to Pietola (2005), after grain formation the root numbers decreased toward full ripeness.

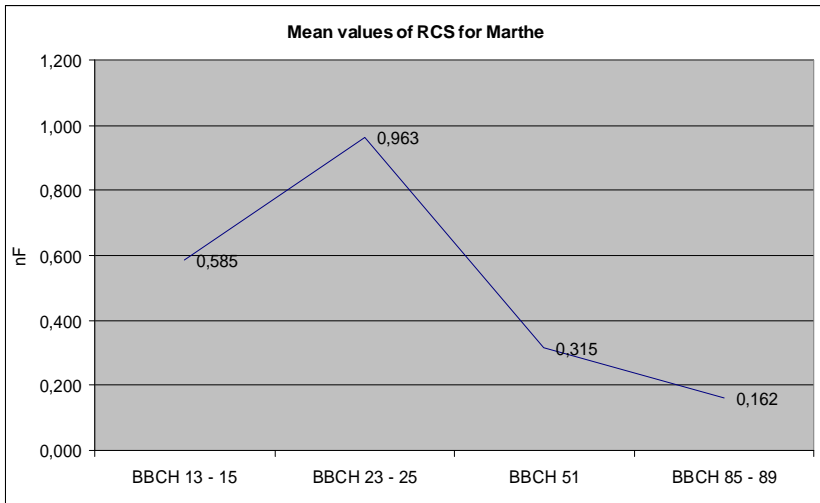
Graph 1



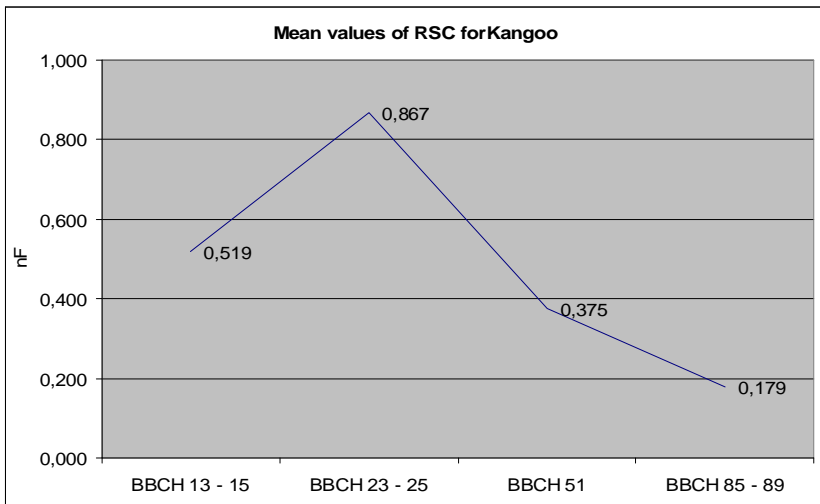
Graph 2



Graph 3



Graph 4



CONCLUSION

1. In terms of reached yield and RSC the application of chemical fertilizers in combination with leaf fertilizer Hakofyt extra compared with the Condit application was advantageous,

2. The conventional tillage had a favourable effect on the grain yield compared to the minimized tillage till the growth stage of tillering and ensured a statistically higher yield (by 0.20 t.ha⁻¹)
3. The greater RSC doesn't leads to higher yields.

REFERENCES

- Been van J., Smith M.E., Zobel R.W. (1998): Estimating root mass in maize using portable capacitance mater. *Agronomy Journal* 94 (4): 566 – 570. ISSN: 0002 – 1962.
- Baier J. (1999): Soudobý přínos mimokořenová výživy obilnin. Výzkumný ústav rostlinné výroby Praha.
- Cerkal R., Vejražka K., Ryant P., Hřivna L., Prokeš J. (2008): Root capacity and its influence on nutrient uptake by malting barley grain. *Cereal research communications* (36): 111 - 114. ISSN: 0133 – 3720.
- Černý L., Vašák J., Křováček J., Hájek M. (2007): Jerní sladovnický ječmen. ČZU Praha, 39 s, ISBN 978-80-87111-04-8.
- Dalton, F.N. (1995): In-situ root extent measurement by electrical capacitance methods. *Plant and soil* (173): 157 – 165. ISSN: 0032 – 079X.
- Csekes Z. (2000): Všeobecná rastlinná výroba. SPU Nitra, 2000. 160 s. ISBN 80-7137-695-7.
- Laco O., Kováčová E. (2002): Vzťah medzi úrodou, kvalitou a hnojením jarného jačmeňa. *Agrochémia* (42): s. 18.
- Ložek O., (2000): Racionálna výživa a hnojenie jarného jačmeňa so zreteľom na sladovnícku kvalitu zrna. Jačmeň - výroba a zhodnotenie. SPU Nitra, 2000. str. 81. ISBN 80-7137-681-7.
- Malecka I., Blecharczyk K. A. (2008): Effect of tillage systems, mulches and nitrogen fertilization on spring barley (*Hordeum vulgare*). *Agronomy Research* 6 (2): 517–529.
- McBride R , Candido M., Ferguson J., (2008): Estimating root mass in maize genotypes using the electrical capacitance method. *Agronomy and Soil Science* (54): 215 – 226. ISSN 1476-3567.
- Morris P.C., Bryce J.H. (2002): *Cereal Biotechnology*. Woodhead Publishing . 252 p. ISBN 978-1-59124-026-6.
- Pietola L.M. (2005): Root growth dynamics of spring cereals with discontinuation of mouldboard ploughing. *Soil & Tillage Research* (80): 103 – 114. ISSN: 0167-1987.
- Pruzulja N., Momčilović V. (2003): Dry matter and nitrogen accumulation and use in spring barley. *Plant, Soil and Environment* (49): 36-47. ISSN 1214-1178.
- Špánik F., Repa Š., Šiška B. (2002): Agroklimatické a fenologické pomery Nitry (1991-2000). SPU Nitra, 20s. ISBN 80-7137-987-5.

EFFICACY COMPARISON OF CONVENTIONAL AND ORGANIC FUNGICIDAL SYSTEMS AGAINST POWDERY MILDEW (*PODOSPHAERA LEUCOTRICHA*)

Psota V.

Department of Zoology, Fisheries, Hydrobiology and Apiculture, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: vaclav.psota@mendelu.cz

ABSTRACT

Organic (sulphur, lime-sulphur, copper hydroxide, aluminium sulphate, sodium bicarbonate) and conventional (copper hydroxide, pyraclostrobin, dithianon, sulphur, fluquinconazole, pyrimethanil, thiram, trifloxystrobin, difenoconazole) fungicidal systems were compared in terms of apple powdery mildew (*Podosphaera leucotricha*) infection in the Czech Republic (south Moravia). The trial has been done according to EPPO 1/69(2) method on apple variety Idared during spring and summer 2009. Secondary powdery mildew infection level was evaluated according to 4-scale graduation (1= no mildew, 4 = over 50% of leaf covered by mildew). During the first evaluation (May 19) secondary infection reached following levels 1.68 (conventional system) and 2.17 (organic system). During the second evaluation (June 17) secondary infection reached following levels 1.87 (conventional system) and 2.25 (organic system). The difference between systems was statistically high significant.

Key words: apple, powdery mildew, organic agriculture, conventional agriculture, *Malus domestica*

ÚVOD

Padlí jabloně (*Podospaera leucotricha*) patří soplů se strupovitostí jabloně (*Venturia inaequalis*) k hlavním houbovým chorobám jabloní. Každoročně si tyto houbové choroby vyžadují v komerčních sadech několik fungicidních ošetření. Množství postřiků závisí na infekčním tlaku, odrůdě, na samotné strategii ochrany a také na ekonomických možnostech sadaře.

Padlí jabloně přezimuje jako mycelium v infikovaných pupenech. Tyto pupeny jsou pak zdrojem primární infekce, kdy již rašící letorosty jsou pokryty padlím (Grove et al., 2003). Spotts et al. (1981) prokázali, že $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ zabíjí přezimující mycelium v pupenech a $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$ již může kompletně zničit pupen napadený padlím. Zdrojem sekundární infekce jsou konidie, které se uvolňují z konidioforů vytvořených na letorostech napadených primární infekcí (Ackermann, 2008). Sekundární infekce může mít i několik cyklů za sezónu. Nejdůležitějším faktorem je teplota. Optimum pro klíčení konidií je $20 - 22\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Grove et al., 2003) a 70 % relativní vzdušná vlhkost (Lind et al., 2003). Padlí napadá listy, letorosty, květy i plody.

Při plánování ochrany by měl být brán důraz hlavně na citlivé odrůdy jako je například Idared, Jonathan a Průsvitné letní (Ackermann, 2008). V konvenční a integrovaných sadech je vhodné použít v systému ošetření proti padlí fungicidy s účinnými látkami z různých skupin (Grove et al., 2003). V opačném případě hrozí vznik rezistentní rasy. V ekologickém zemědělství je výběr přípravku omezený. Je možné využít insekticidy na bázi síry a mědi. V Polsku byl v letech 2005 - 2007 zkušeno fungicidní program, založený pouze na mědi a síře proti strupovitosti a padlí v ekologickém jabloňovém sadě. Ve všech třech letech se padlí udrželo v přijatelné míře napadení (Bryk & Broniarek-Niemiec, 2008). V poslední době se hodně pozornosti upírá na některé bikarbonátové soli, jako je například klasická jedlá soda - hydrogenu-bikarbonát sodný. Princip těchto solí spočívá především ve změně pH na povrchu listu, čímž vzniknou podmínky nepříznivé pro rozvoj mycelia houbových chorob. Například Jamar et al. (2003) prokázali velmi dobrý účinek různých bikarbonátových solí proti strupovitosti jabloně.

Cílem pokusu bylo vyhodnotit účinnost konvenčního a ekologického fungicidního systému na výskyt padlí jabloně (*Podospaera leucotricha*).

MATERIÁL A METODIKA

Experiment probíhal formou poloprovazního pokusu na jižní Moravě (okres Břeclav). Sad měl rozlohu 14 hektarů. Plocha sadu byla rozdělena na dvě části (obr. 1) z hlediska fungicidní ochrany proti strupovitosti jabloně (*Venturia inaequalis*) a padlí jabloně (*Podospaera leucotricha*). Větší část (13 ha) byla ošetřována dle provozní praxe konvenčními fungicidy. Zbývající plocha (1 ha) byla ošetřována přípravky, které jsou povolené dle směrnice IFOAM a používají se takto v ekologických sadech v Německu. V sadě byla pěstována odrůda Idared v sponu $3 \times 4,5\text{ m}$ ($740\text{ stromů ha}^{-1}$).

Obr. 1 Červeně je orámovaná konvenčně ošetřovaná plocha, zeleně plocha ošetřovaná ekologicky



Ošetření byla primárně cílena na strupovitost, avšak všechny použité fungicidy mají účinnost i na padlí. V tabulce 1, je systém ošetření na konvenční i ekologické ploše. Dávka postřikové kapaliny byla 400 l.ha⁻¹.

Tab. 1 Sled fungicidních ošetření na konvenční a ekologické ploše

Ekologický			Konvenční		
7.4.2009	Funguran-OH 50WP (5 kg/ha)	hydroxid měďnatý	6.4.2009	Funguran-OH 50WP (5 kg/ha)	hydroxid měďnatý
14.4.2009	Mycosin(10 kg/ha) + Sulikol K (1,5 %)	síran hlinitý + síra	14.4.2009	Tercel (2,5 kg/ha)	pyraclostrobin, dithianon
20.4.2009	Mycosin (10 kg/ha) + Sulikol (1,5 %)	síran hlinitý + Síra	16.4.2009	Kumulus WG (1 %)	síra
28.4.2009	Mycosin (10 kg/ha) + Sulikol K (1,5 %)	síran hlinitý + Síra	23.4.2009	Clarinet (0,15 %)	fluquinconazole, pyrimethanil
7.5.2009	Kumulus WG (1 %)	síra	4.5.2009	Thiram Granuflo (0,3%) + Kumuls WG (1 %)	thiram + síra
15.5.2009	Lime sulphur	polysulfid vápenatý	13.5.2009	Zato 50 WG (0,15 kg/ha) + Kumulus WG (1 %)	trifloxystrobin + síra
22.5.2009	Lime sulphur	polysulfid vápenatý	20.5.2009	Talent (0,045 %) + Kumulus WG (1%)	myclobutanil + síra
28.5.2009	Lime sulphur	polysulfid vápenatý	28.5.2009	Score (0,02 %) + Kumulus WG (1 %)	difenoconazole + síra
5.6.2009	Kumulus WG (1 %) + Vitisan (2 kg/ha)	síra + hydrogen bikarbonát draselný	9.6.2009	Kumulus WG (1 %)	síra
18.6.	Kumuls WG (1 %)	síra			

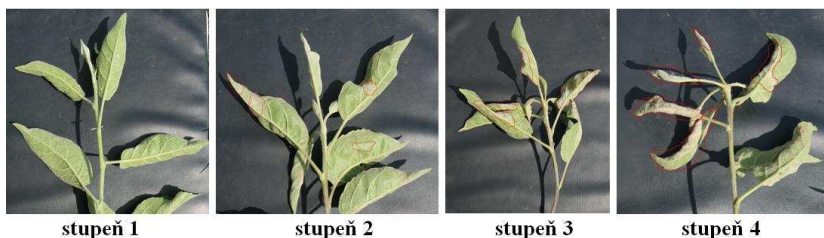
Výskyt padlí byl hodnocen dle metodiky EPPO 1/69(2). Každá varianta měla vždy 4 opakování (4 stromy). Dne 19. května bylo provedeno hodnocení primárního napadení padlím (obr. 2). V rámci každého opakování byl na všech stromech spočítán počet letorostů s primárním napadením padlí.

Obr. 2 Primární infekce padlí jabloně



Sekundární padlí bylo hodnoceno na letorostech, které nebyly napadeny primární infekcí. V rámci každého opakování byl vybrán pro účely hodnocení centrální strom. Na vybraném stromě bylo hodnoceno 15 letorostů, které byly poté označeny barevným provázekem. Sekundární padlí bylo hodnoceno vždy na 5 nejmladších listech. Úroveň napadení byla hodnocena podle následující 4-bodové stupnice (obr. 3): 1 = žádné napadení, 2 = slabé napadení (roztrošené skvrny padlí), 3 střední až silné napadení (až polovina listu pokryta padlím), 4 = velmi silné napadení (více jak polovina listu pokryta padlím, listy zasychají a zakrucují se). Proběhli dvě hodnocení sekundárního padlí, vždy na stejných letorostech a to ve dnech 19. 5. a 17. 6. 2009.

Obr. 3 Stupnice napadení padlím. Červeně jsou označena napadená místa



Získaná data byla statisticky vyhodnocena analýzou variance v programu Statistica 8.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Primární infekce

Na konvenčně ošetřované ploše se v průměru vyskytovalo 23,5 letorostů/strom napadených primární infekcí padlím. Na ekologicky ošetřované ploše to bylo 19 letorostů na jeden strom.

Zdrojem primární infekce jsou pupeny infikované v předešlé sezóně (Grove *et al.*, 2003). Podle zjištěné úrovně napadení primární infekcí tedy nelze usuzovat na účinnost systému. Avšak dle získaných údajů lze říct, že v roce 2009 byl na testovaných parcelách relativně významný zdroj pro šíření sekundární infekce.

Sekundární infekce

Při prvním hodnocení dne 19. května bylo zjištěno, že napadení sekundární infekcí na ekologické variantě dosahuje v průměru stupně 2,17 na 4 bodové stupnici. Na ploše ošetřované konvenčně to bylo pouze 1,68 (tab. 2). Za měsíc později, tedy 17. června bylo sekundární napadení padlím na ekologické variantě na úrovni 2,25 a na konvenční variantě to bylo 1,87 (tab. 3).

Bylo zjištěno, že oba dva fungicidní systémy se v rámci zjištěné úrovně sekundárním napadení padlím vysoce statisticky průkazně liší (tab. 4).

Idared je odrudou citlivou k napadení padlím jabloně (Jeger & Butt, 1986), také proto došlo na sledované ploše k vysokému napadení sekundární infekcí. Na většině letorostů bylo různým rozsahem zasaženo alespoň několik listů. To se následně projevilo i výskytem síťové rzivosti na plodech (obr. 4), která byla před sklizní pozorována ve vysoké míře.

Úroveň napadení byla na konvenčně ošetřované ploše nižší. V prvním termínu (19. 5.) to bylo v průměru o 0,49 stupně. Dne 17. 6. byl tento rozdíl nižší a činil 0,38 stupně. Konvenční fungicidy mají zpravidla silnější účinek, a proto bylo dosaženo na této variantě nižší úrovně napadení. Určitou roli mohlo sehrát i mikroklima, které bylo díky přiléhajícímu lesu (obr. 1) příhodnější pro rozvoj padlí na ekologicky ošetřované ploše.

Tab. 2 Hodnocení sekundární infekce padlím dne 19. května

letorost	Napadení sekundární infekcí padlím dle stupnice							
	plocha ošetřovaná ekologicky				plocha ošetřovaná konvenčně			
	opak. 1	opak. 2	opak. 3	opak. 4	opak. 1	opak. 2	opak. 3	opak. 4
1	2	3	1	1	1	1	1	2
2	3	2	3	2	1	3	1	1
3	2	2	1	2	2	3	2	2
4	2	2	1	2	2	1	1	1
5	3	3	3	2	2	2	1	1
6	3	1	2	3	1	2	1	2
7	3	2	2	2	2	1	3	1
8	1	2	2	2	2	2	2	1
9	2	2	2	3	3	1	2	1
10	3	2	3	3	3	3	2	2
11	2	3	2	3	1	2	3	1
12	2	3	1	2	1	2	1	1
13	2	3	3	2	2	1	2	2
14	1	2	1	1	2	2	1	2
15	2	2	3	3	2	2	2	1
průměr	2,20	2,27	2,00	2,20	1,80	1,87	1,67	1,40
průměr celkem	2,17				1,68			

Tab. 3 Hodnocení sekundární infekce padlím dne 17. června

letorost	Napadení sekundární infekcí padlím dle stupnice							
	plocha ošetřovaná ekologicky				plocha ošetřovaná konvenčně			
	opak. 1	opak. 2	opak. 3	opak. 4	opak. 1	opak. 2	opak. 3	opak. 4
1	2	2	3	1	1	2	3	2
2	1	1	2	1	2	1	2	1
3	1	1	1	3	1	1	1	1
4	3	2	3	4	1	2	1	1
5	2	2	1	3	1	2	2	1
6	4	4	3	4	2	1	2	4
7	1	2	4	1	2	2	1	1
8	2	4	3	2	2	3	1	2
9	2	2	3	3	2	1	4	3
10	2	2	3	4	1	2	4	2
11	2	4	2	1	1	2	1	1
12	3	3	3	2	4	3	1	2
13	2	2	3	1	4	4	1	1
14	1	2	1	2	1	2	1	2
15	2	1	2	2	3	2	2	3
průměr	2,00	2,27	2,47	2,27	1,87	2,00	1,80	1,80
průměr celkem	2,25				1,87			

Tab. 4. Výsledná tabulka ANOVA. Jako závisle proměnná byl zvolen stupeň napadení

	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Systém ošetření	11,2667	1	11,2667	15,599	0,000104
Opakování	1,0833	3	0,3611	0,5	0,682663
Termín hodnocení	1,0667	1	1,0667	1,477	0,225527
Chyba	163,95	227	0,7222		

Obr. 4 Síťová rzivost plodů způsobená myceliem padlí jabloně



ZÁVĚR

V rámci pokusu bylo zjištěno, že na konvenčně ošetřované ploše bylo dosaženo nižší úrovně napadení sekundární infekcí padlím jabloně než na ploše ošetřované ekologicky. Tento rozdíl byl statisticky průkazný.

V případě ekologického fungicidního systému bude potřeba pro lepší účinnost precizně sledovat vývoj patogena a přesněji určovat termín ošetření. Pro potvrzení výsledků bude potřeba zopakovat pokus ještě minimálně v jedné vegetační sezóně.

LITERATURA

Ackermann, P.: Padlí jabloně. In: Hluchý, M., Ackermann P., Zacharda, M., Laštůvka, Z., Bagar, M., Jetmarová, E., Vanek, G., Szőke, L & Plíšek, B., 2008: Ochrana ovocných dřevin a révy v ekologické a integrované produkci. Biocont Laboratory, Brno. s 38-39.

Bryk, H., Broniarek-Niemiec, A., 2008: Three years of experience with apple disease control in an organic orchard. *Zemdirbyste - Agriculture* 95. s 395-400.

Grove G. G., Eastwell, K. C., Jones, A. L., Sutton, T. B.,: Diseases of apple. In.: Ferree, D. C. & Warrington, I. J. (Eds.), 2003: Apples: botany, production and uses. CABI Publishing, Warrington. s 459-488.

Jamar, L., Lefrancq, B., & Lateur, M., 2007: Control of apple scab (*Venturia inaequalis*) with bicarbonate slats under controlled environment. *Journal of Plant Diseases and Protection* 114 (5). s 221-227.

Jeger, M. J. & Butt, D. J., 1986: Epidemics of apple powdery mildew (*Podosphaera leucotricha*) in a mixed cultivar orchard. *Plant pathology* 35: 498-505.

Lind, K., Lafer, G., Schloffer, K., Innerhofer, G. & Mister, H., 2003: Organic fruit growing. CABI Publishing, Warrington. 281 s.

Spotts, R. A., Covey, R. P. & Chen, P. M., 1981: Effect of low temperature on survival of apple buds infected with the powdery mildew fungus. *HortScience* 16: 781-783.

USE OF MEAT AND BONE MEAL IN THE NUTRITION OF CORN FOR GRAIN

Rada V., Ryant P.

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

E-mail: xrada@node.mendelu.cz

ABSTRACT

Meat and bone meal (MBM) is known since first quarter of 20th century. It is made in veterinary manufacture from animal by-product. After the using of MBM as feed was forbidden, there is an alternative to use MBM like organic fertilizer for agricultural crops. In 2007 and 2008, the effect of the fertilisation by meat and bone meal on the yield and quality of corn was observed. Then was watched the influence of the application of MBM on agrochemical properties of the soil. The experiment included 4 alternatives of MBM: 1. control unmanured, 2. low amount 1 t.ha⁻¹, 3. medium amount 2 t.ha⁻¹ and 4. high ration amount 4 t.ha⁻¹. In both harvests the yield of crops and its quality were evaluated. The statistical impact was proved by the fertilising by meat and bone meal for the yield of crops of corn, when in second year, the yield was higher in comparison with the control at 18.7% with 1 t.ha⁻¹, at 42.4% with 2 t.ha⁻¹ and at 65.5% with 4 t.ha⁻¹. The other impact was put on the content of amyloid and ash in the corn. With remaining amount of MBM it was proved the dropping exchange soil relation and the growing content of phosphorus level in the soil. The fertilisation by MBM had statistically very high significant impact on the growing content of mineral nitrogen in the soil. The control variant had 8.73 mg.kg⁻¹ of mineral nitrogen, whilest variant MBM 4 t.ha⁻¹ was of 176% higher (24.10 mg.kg⁻¹ of soil). In the end we can say that application of meat and bone meal improves and increases yield, increases the content of soil phosphorus and mineral nitrogen without any negative impact on the content of certain heavy metals in soil.

Key words: meat and bone meal, fertilization, corn, yield, qualitative parameters.

ÚVOD

Masokostní moučky (MKM) jsou u nás vyráběny již od roku 1961 (v Anglii již od dvacátých let minulého století) z kafilerní suroviny při teplotách 130 – 140 °C, tlaku 0,3 MPa a po dobu 30 minut a to nikoli z důvodů BSE, která v té době ještě nebyla známa (poprvé popsána v roce 1986), ale z důvodů zneškodnění sporulujících bakterií (zárodků rodu *Clostridium*). Pozdější legislativa upřesnila tyto podmínky zpracování kafilerních mouček v souladu s legislativou EU na 133 °C, 0,3 MPa a 20 minut. Zkrmování masokostních mouček skotu Státní veterinární správa ČR zakázala nařízením ústředního ředitele č. 7 dne 4. 6. 1991. Vyhláška MZe ČR č. 362/1992 platná od 1. 6. 1992 pak stanovuje závazné receptury krmných směsí pro skot - jako povolená součást zde není zmíněna masokostní moučka vůbec. 1. listopadu 2003 vstoupilo v platnost ustanovení vyhlášky č. 284/2003 Sb., kterou se mění vyhláška č. 451/2000 Sb., kterou se provádí zákon č. 91/1996 Sb., o krmivech, ve znění pozdějších předpisů. Podle těchto právních předpisů se v ČR zakazuje použití kostních a masokostních mouček ke krmení hospodářských zvířat. Tímto rozhodnutím vznikl problém jak využívat masokostní moučku nadále. Ročně se v České republice zpracovává asi 300 tis. tun vedlejších živočišných produktů (VŽP), z toho je asi 20 tis. tun SRM – specifikovaný rizikový materiál (mozek, mícha, uzliny, část střeva), asi 50 tis. tun kadáverů a asi 230 tis. tun materiálu 3. kategorie (dle nařízení ES č. 1774/2002). Celkem je tedy roční produkce asi 78 tis. tun masokostních mouček a z toho je cca 22 % masokostních mouček vyrobených z rizikových materiálů. Běžně se v minulosti MKM využívala a dodnes využívá ve vápenkách a cementárnách jako palivo (především masokostní moučky z rizikových materiálů). Od roku 2003 se začalo uvažovat o MKM jako o hnojivu polních plodin, kdy tehdy Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský (ÚKZÚZ) začal provádět nádobové zkoušky. Následně, v roce 2006, vyšlo Nařízení komise (ES) č. 181/2006, které povoluje využívání MKM jako hnojiva polních plodin.

Cílem práce bylo provést polní poloprovozní pokus při využití MKM jako hnojiva při hnojení kukuřice pěstované na zrno a následné statistické zhodnocení vlivu různých dávek MKM na výnos a vybrané kvalitativní parametry zrna a dále zjištění uvolňování dusíku a dalších živin do půdy, tohoto organického hnojiva.

MATERIÁL A METODIKA

Masokostní moučka je produkt po zpracování živočišného odpadu v kafilériích. Vyrábí se z celých zvířecích trupů, nevhodných k lidskému požívání, a z různých jatečných odpadů. Nesmí tam však přijít mozek a mícha přežvýkavců. Složení MKM se může výrazně lišit především v obsazích minerálních podílů podle povahy zpracovávaných vstupů. Moučky s vyšším podílem kostí vykazují i více jak dvojnásobné obsahy minerálních látek. Přesné složení masokostní moučky kolísá podle podílu svalových částí a jiných složek trupu (tuku a kostí) v počáteční surovině. Z živin, z hlediska výživy zvířat, moučka obsahuje hlavně kvalitní, dobře stravitelné bílkoviny v rozmezí 48 – 62 %, tuk 8 – 18 % (čím méně tuku, tím je moučka trvanlivější) a ostatní makro i mikroprvky. Z živin přístupných pro rostlinu obsahuje masokostní moučka dusík (N) 3 – 10 %, fosfor (P_2O_5) 2,6 – 6,5 %, vápník (CaO) min. 10 % a další. Masokostní moučky jsou obvykle nahnědlé, neměly by být tmavé, připálené. Nej kvalitnější jsou moučky, z nichž byla většina tuku vyextrahována organickými rozpouštědly.

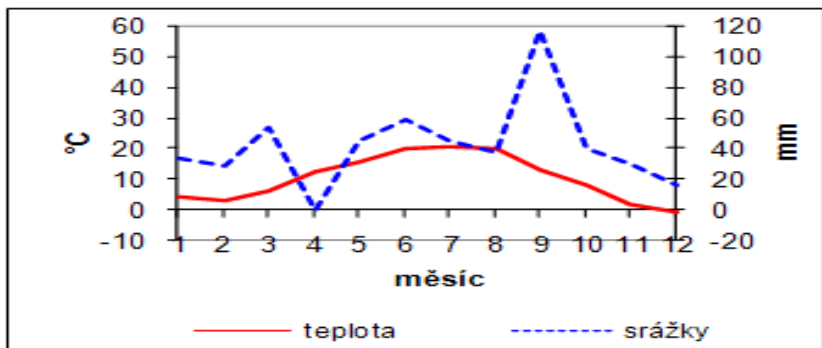
Problematika byla řešena formou dvouletého poloprovozního polního pokusu. Setí kukuřice bylo provedeno v prvním roce 30. 4. 2007 a ve druhém roce 6. 5. 2008. Jako pokusný materiál byl použit hybrid kukuřice od společnosti KWS Graneros (FAO 270) a hnojivo masokostní moučka z asanačního ústavu Agris Medlov a. s.

Tab. 1 Chemické složení masokostní moučky

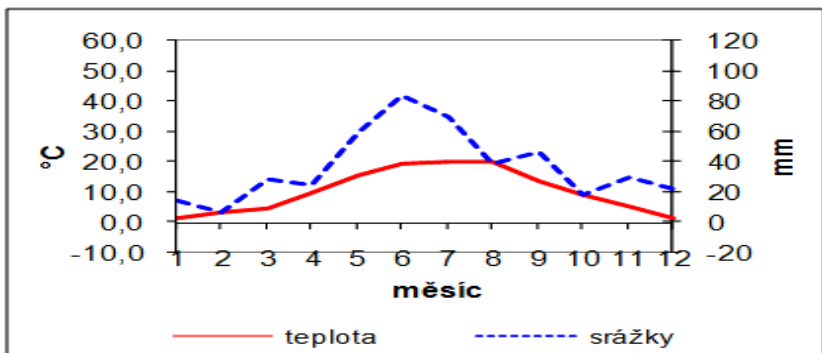
Masokostní moučka	Vlhkost	N	Tuk	Ca	P	Na	Mg
	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]
	6,96	9,31	14,46	5,82	3,47	0,73	0,18
	K	S	Cu	Mn	Fe	Zn	
	[%]	[%]	[mg.kg ⁻¹]	[mg.kg ⁻¹]	[mg.kg ⁻¹]	[mg.kg ⁻¹]	
	0,68	0,42	10,51	855,30	28,45	123,20	

Experiment byl založen na pozemku o výměře 8 ha v bramborářské výrobní oblasti (360 m. n. m.), po předplodině ozimé pšenici v prvním roce. Na pozemku bylo vytyčeno 12 parcel o šířce 12 metrů a délce 60 metrů, tedy 720 m². Každá z variant hnojení byla opakována třikrát v řadě za sebou tak, aby se co nejvíce vyloučil případný rozdíl ve složení půdy, tzn. vliv půdní heterogenity.

Graf 1 Klimadiagram 2007 Kuchařovice 334 m.n.m (prům. teplota 10,4 °C a srážky 513 mm)



Graf 2 Klimadiagram 2008 Kuchařovice 334 m.n.m (prům. teplota 10,3 °C a srážky 445 mm)



Agrochemické vlastnosti půdy před založením pokusu uvádí tabulka 2. Hnojení masokostní moučkou bylo provedeno 9. 4. 2007. Varianty pokusu byly odlišné v rozdílných dávkách masokostní moučky, kdy první byla kontrolní nehnojená, druhá hnojená MKM v dávce 1 t.ha⁻¹, třetí hnojená MKM v dávce 2 t.ha⁻¹ a čtvrtá hnojená MKM v dávce 4 t.ha⁻¹.

Tab. 2 Agrochemické vlastnosti půdy před založením pokusu

předplodina	pH	P (mg.kg ⁻¹)	K (mg.kg ⁻¹)	Ca (mg.kg ⁻¹)	Mg (mg.kg ⁻¹)
pšenice	6,02	51	225	4081	974

Obr. 1 Schéma poloprovozního pokusu

nehnojeno	1 t MKM/ha	2 t MKM/ha	4 t MKM/ha
0 kg/ha N	93,1 kg/ha N	186,2 kg/ha N	279,3 kg/ha N
0 kg/ha P	34,7 kg/ha P	69,4 kg/ha P	104,1 kg/ha P
0 kg/ha K	6,8 kg/ha K	13,6 kg/ha K	20,4 kg/ha K
0 kg/ha Ca	58,2 kg/ha Ca	116,6 kg/ha Ca	174,6 kg/ha Ca
0 kg/ha Mg	1,8 kg/ha Mg	3,6 kg/ha Mg	5,4 kg/ha Mg
0 kg/ha Na	7,3 kg/ha Na	14,6 kg/ha Na	21,9 kg/ha Na
0 kg/ha S	4,2 kg/ha S	8,4 kg/ha S	12,6 kg/ha S
60 m	60 m	60 m	60 m
12 m	12 m	12 m	12 m

Sklizeň byla prováděna za pomoci sklízecí mlátičky New Holland CX860 s úpravou na sklizeň kukuřice a kukuřičným adaptérem v prvním roce 28. 11. 2007 a druhém roce 5. 12. 2008. Výnos zrna byl vyjádřen v t.ha⁻¹ a následně byl proveden rozbor zrna na obsah tuku, škrobu, popele, N-látek, fosforu, draslík, vápníku, hořčíku, síry, mědi, železa, zinku a manganu.

Získané výsledky byly vyhodnoceny statisticky jednofaktorovou popřípadě vícefaktorovou analýzou variance s použitím softwaru STATISTICA version 8.0 a následně testování bylo provedeno Tukeyovým testem významnosti rozdílů.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Výnos a kvalitativní parametry zrna

Míru ovlivnění výnosu a kvalitativních parametrů kukuřice hnojením masokostní moučkou uvádí tabulky 3 – 5. Průměrné výnosy a průměrné hodnoty jednotlivých kvalitativních parametrů zrna včetně variability vyjádřené směrodatnou odchylkou uvádí tabulky 6 – 9.

Tab. 3 Výsledky analýzy variance výnosu a obsahu N-látek, tuku, škrobu a popele

Faktor	Stupně volnosti	Průměrný čtverec				
		výnos zrna	% tuk	% škrob	% popel	% N-látek
Ročník	1	33,135 ***	8,64 ***	22,10 ***	0,01215 *	0,047 NS
Varianta hnojení	3	4,9628 ***	0,0477 NS	2,04 ***	0,00558 *	0,212 NS
Rok x Varianta	3	2,8775**	0,1497 NS	2,08 ***	0,00169 NS	0,102 NS
Chyba	16	0,5314	0,0465	0,22	0,0017	0,068
Celkem	23					

Vliv faktoru: NS – nevýznamný, * - významný vliv faktoru ($\alpha \leq 0,05$), ** - vysoce významný vliv faktoru ($\alpha \leq 0,01$), *** - velmi vysoce významný vliv faktoru ($\alpha \leq 0,001$)

Tab. 4 Výsledky analýzy variance obsahu Ca, P, Mg a K

Faktor	Stupně volnosti	Průměrný čtverec			
		% P	% K	% Ca	% Mg
Ročník	1	0,002091 *	0,000136 NS	0,000002 NS	0,000593 ***
Varianta hnojení	3	0,000032 NS	0,000087 NS	0,000001 NS	0,000039 NS
Rok x Varianta	3	0,000042 NS	0,000133 NS	0,000004 NS	0,000006 NS
Chyba	16	0,000271	0,000167	0,000001	0,000033
Celkem	23				

Vliv faktoru: NS – nevýznamný, * - významný vliv faktoru ($\alpha \leq 0,05$), *** - velmi vysoce významný vliv faktoru ($\alpha \leq 0,001$)

Na výnos zrna kukuřice měly statisticky velmi vysoce významný vliv ročníku a hnojení masokostní moučkou. U interakce těchto faktorů byl zjištěn statisticky vysoce významný vliv (viz tab. 3). Významně vyšších výnosů bylo dosaženo u jednotlivých variant hnojení MKM v roce 2008 oproti kontrole v daném roce a zároveň oproti kontrole a variantám hnojení roku 2007. To pravděpodobně způsobilo příznivější počasí pro pěstování kukuřice (především srážky a jejich lepší rozvrstvení během roku, viz graf 1 a 2). V roce 2007 můžeme pozorovat pouze mírný nárůst výnosu, o 8,7 % u dávky 4 t.ha⁻¹, než tomu bylo zjištěno u kontroly. Za to v roce 2008 je nárůst výnosů oproti kontrole značný, u dávky 1 t.ha⁻¹ je to o 18,7 %, dávky 2 t.ha⁻¹ o 42,4 % a u nejvyšší dávky MKM až o 65,5 % výnosu zrna více, než u kontroly. K podobným výsledkům dospěli i Čermák a Smatanová (2005), kteří uvádí, že aplikovaná masokostní moučka v dávce 1,5 t.ha⁻¹ zvýšila výnos téměř o 50 %. Jens et al. (2007) u hnojení MKM k ozimé pšenici, ječmene a žita uvádí statisticky průkazný vliv na zvyšování výnosu s rostoucími dávkami MKM (500, 1000 a 2000 kg.ha⁻¹), u pšenice potom lineární růst výnosu.

Zvýšení výnosů v druhém roce lze opět přisuzovat výhodnějším klimatickým podmínkám roku 2008, ale dalo by se i uvažovat o lepším přístupu živin masokostní moučky v druhém roce, z hlediska její rozložitelnosti. Například Lošáková et al. (2007) uvádí ve svých výsledcích příznivé působení masokostních mouček ještě ve třetím roce po jejich aplikaci. Výnosy zrna kukuřice v roce 2007 a 2008 uvádí graf 3.

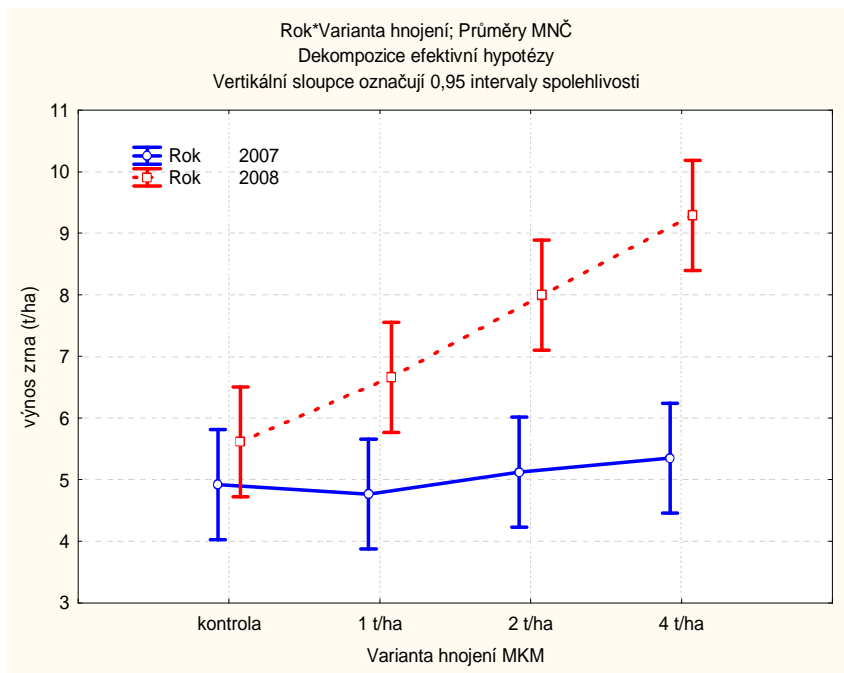
Při analýze variability hodnot chemického rozboru zrna byl zaznamenán statisticky velmi významný vliv roku na obsah tuku v zrnu kukuřice (viz tab. 3). To lze přiřazovat zvýšenému výnosu v roce 2008 v průměru asi o 46 %. V jednotlivých letech se obsah tuku v zrnu mezi variantami hnojení a kontrolou téměř neliší.

Tab. 5 Výsledky analýzy variance obsahu S a základních mikroelementů

Faktor	Stupně volnosti	Průměrný čtverec				
		% S	Cu (mg.kg ⁻¹)	Fe (mg.kg ⁻¹)	Mn (mg.kg ⁻¹)	Zn (mg.kg ⁻¹)
Ročník	1	0,000060 NS	0,0030 NS	271,35 *	2,1456 **	3,61 NS
Var. hnojení	3	0,000083 NS	0,0699 NS	83,92 NS	0,1530 NS	6,91 NS
Rok x Varianta	3	0,000046 NS	0,1172 NS	95,44 NS	0,1459 NS	17,60 NS
Chyba	16	0,000053	0,0992	39,21	0,2482	9,59
Celkem	23					

Vliv faktoru: NS – nevýznamný, * – významný vliv faktoru ($\alpha \leq 0,05$), ** – vysoce významný vliv faktoru ($\alpha \leq 0,01$)

Graf 3 Výnos zrna kukuřice v jednotlivých letech v závislosti na dávce hnojení MKM



Analýzou rozptylu byl zjištěn velmi vysoce průkazný vliv ročníku, varianty hnojení i jejich kombinace na obsah škrobu. Stejně jako u obsahu tuku, lze vlivu ročníku na zvýšený obsah škrobu přisuzovat vyššímu výnosu v roce 2008. Dle tabulky 6 je zřejmé, že statisticky významně vyšší obsah škrobu byl zjištěn u vyšších dávek MKM (2 a 4 t.ha⁻¹) a v roce 2008 než tomu bylo u kontroly a dávky 1 t.ha⁻¹ v roce 2007. Vyšší obsah škrobu, i když statisticky neprůkazný, uvádí po hnojení masokostní moučkou (MKM Věž) Kubík (2008) ve vypěstovaných bramborách.

Tab. 6 Průměrné hodnoty výnosu, tuku a škrobu v zrně a průkaznosti jejich rozdílů dle Tukeye

Rok	dávka MKM	n	výnos zrna				% tuk				škrob			
			t.ha ⁻¹			rel.	% v sušině			rel.	% v sušině			rel.
			x	±	S _x		x	±	S _x		x	±	S _x	
2007	kontrola	3	4,92 ^a	±	0,362	100,0	3,07 ^a	±	0,08	100,0	60,91 ^a	±	0,27	100,0
	1 t MKM	3	4,77 ^a	±	0,122	96,9	3,24 ^a	±	0,27	105,5	60,69 ^a	±	0,62	99,6
	2 t MKM	3	5,12 ^a	±	0,172	104,1	2,98 ^a	±	0,10	97,0	62,70 ^b	±	0,46	102,9
	4 t MKM	3	5,35 ^a	±	0,201	108,7	3,07 ^a	±	0,42	100,0	62,85 ^b	±	0,77	103,2
2008	Kontrola	3	5,62 ^a	±	1,014	100,0	4,18 ^b	±	0,12	100,0	63,56 ^b	±	0,52	100,0
	1 t MKM	3	6,66 ^{ab}	±	1,029	118,7	4,18 ^b	±	0,21	100,0	63,87 ^b	±	0,11	100,5
	2 t MKM	3	7,99 ^{bc}	±	0,991	142,4	4,64 ^b	±	0,06	110,9	63,43 ^b	±	0,46	99,8
	4 t MKM	3	9,29 ^c	±	0,982	165,5	4,16 ^b	±	0,21	99,5	63,97 ^b	±	0,10	100,6

Pozn.: n – počet pozorování; průměry jednotlivých variant se významně (P>0,95) neliší, pokud je za nimi uveden shodný horní index, (x = aritmetický průměr).

U snižujícího se obsahu popele byl sledován statisticky významný vliv jak ročníku a tak varianty hnojení. U varianty hnojení to lze přisuzovat jednotlivým zvyšujícím se výnosům oproti kontrole v daném roce a stejně tak v porovnání obou roků vyšším výnosům v roce 2008 než v roce 2007 a tím nižším procentem popele (viz tab. 7). Významně nižší obsah popele oproti kontrole v roce 2007 měla pouze varianta s dávkou 2 t.ha⁻¹ v roce 2008.

Tab. 7 Průměrné hodnoty obsahu popele, N-látek a P a průkaznosti jejich rozdílů dle Tukeye

Rok	dávka MKM	n	popele				N-látek				P			
			% v sušině			rel.	% v sušině			rel.	% v sušině			rel.
			x	±	S _x		%	x	±		S _x	%	x	
2007	kontrola	3	1,30 ^b	±	0,06	100,0	8,87 ^a	±	0,36	100,0	0,275 ^b	±	0,019	100,0
	1 t MKM	3	1,26 ^{ab}	±	0,04	96,7	8,83 ^a	±	0,14	99,6	0,279 ^b	±	0,014	101,5
	2 t MKM	3	1,23 ^{ab}	±	0,05	94,1	9,21 ^a	±	0,05	103,8	0,274 ^b	±	0,013	99,5
	4 t MKM	3	1,23 ^{ab}	±	0,04	94,4	9,29 ^a	±	0,46	104,8	0,275 ^b	±	0,009	99,9
2008	kontrola	3	1,22 ^{ab}	±	0,03	100,0	8,77 ^a	±	0,24	100,0	0,262 ^a	±	0,009	100,0
	1 t MKM	3	1,24 ^{ab}	±	0,04	101,1	8,96 ^a	±	0,28	102,1	0,256 ^a	±	0,003	97,6
	2 t MKM	3	1,16 ^a	±	0,04	94,8	9,28 ^a	±	0,14	105,7	0,258 ^a	±	0,034	98,6
	4 t MKM	3	1,22 ^{ab}	±	0,04	99,7	8,84 ^a	±	0,15	100,8	0,252 ^a	±	0,012	96,1

Pozn.: n – počet pozorování; průměry jednotlivých variant se významně (P>0,95) neliší, pokud je za nimi uveden shodný horní index, (x = aritmetický průměr).

Vliv hnojení MKM na obsah N-látek v zrně kukuřice nebyl statisticky významný. Stejně tak tomu bylo u vlivu ročníku interakce vlivu roku a varianty hnojení.

Vysoký obsah fosforu v masokostní moučce se významně neprojevil u obsahu fosforu v zrně kukuřice v porovnání variant hnojení MKM ani vzhledem ke kontrole. Statisticky významný byl sledován pouze vliv ročníku. Hodnoty obsahu fosforu v roce 2007 byly významně vyšší než v roce 2008. To koresponduje s rozdílnými výnosy a obsahem popele.

Tab. 8 Průměrné hodnoty obsahu K, Ca a Mg v zrnu a průkaznosti jejich rozdílů dle Tukeye

Rok	dávka MKM	n	K				Ca				Mg			
			% v sušině			rel.	% v sušině			rel.	% v sušině			rel.
			x	±	s _x		x	±	s _x		x	±	s _x	
2007	kontrola	3	0,389 ^a	±	0,021	100,0	0,007 ^a	±	0,002	100,0	0,118 ^b	±	0,005	100,0
	1 t MKM	3	0,384 ^a	±	0,007	98,7	0,008 ^a	±	0,001	108,0	0,113 ^{ab}	±	0,004	95,7
	2 t MKM	3	0,389 ^a	±	0,020	99,9	0,006 ^a	±	0,001	86,3	0,112 ^{ab}	±	0,007	94,7
	4 t MKM	3	0,379 ^a	±	0,009	97,4	0,007 ^a	±	0,001	102,8	0,110 ^{ab}	±	0,011	93,0
2008	kontrola	3	0,388 ^a	±	0,012	100,0	0,007 ^a	±	0,000	100,0	0,105 ^{ab}	±	0,004	100,0
	1 t MKM	3	0,378 ^a	±	0,001	97,5	0,006 ^a	±	0,001	84,2	0,103 ^{ab}	±	0,005	97,8
	2 t MKM	3	0,371 ^a	±	0,009	95,8	0,008 ^a	±	0,001	114,9	0,103 ^{ab}	±	0,003	98,2
	4 t MKM	3	0,384 ^a	±	0,011	99,0	0,008 ^a	±	0,002	111,8	0,101 ^a	±	0,002	96,2

Pozn.: n – počet pozorování; průměry jednotlivých variant se významně (P>0,95) neliší, pokud je za nimi uveden shodný horní index, (x = aritmetický průměr).

Při analýze variability hodnot koncentrací draslíku, vápníku a síry nebyly zjištěny statisticky průkazné vlivy varianty hnojení ani ročníku, jak tomu ukazují tabulky 4 a 5. Taktéž významně vyšší rozdílů obsahů těchto makroelementů v zrnu jednotlivých variant nebyly pozorovány (viz tab. 8 a 9). Lze jen vyzvednout vyšší hodnoty vápníku u vyšších dávek MKM (2 a 4 t.ha⁻¹) v roce 2008.

Na koncentraci hořčičku v zrnu kukuřice měl statisticky velmi vysoce průkazný vliv pouze rok. Významně nižší hodnoty hořčičku jsou v zrnu kukuřice (viz tab. 8) u dávky MKM 4 t.ha⁻¹ v roce 2008 oproti kontrole v roce 2007 a v této souvislosti je nutné vzít v potaz vysokou zásobu hořčičku v půdě na začátku pokusu (viz tab. 2). Pokles obsahu hořčičku souvisí mimo jiné, se zvýšením výnosu a naředěním jeho obsahu (viz tab. 14).

Tab. 9 Průměrné hodnoty obsahu Na, S a Cu v zrnu a průkaznosti jejich rozdílů dle Tukeye

Rok	dávka MKM	n	S				Cu			
			% v sušině			rel.	mg.kg ⁻¹			rel.
			x	±	s _x		x	±	s _x	
2007	kontrola	3	0,074 ^a	±	0,012	100,0	2,26 ^a	±	0,27	100,0
	1 t MKM	3	0,075 ^a	±	0,006	101,8	2,01 ^a	±	0,31	88,8
	2 t MKM	3	0,074 ^a	±	0,005	99,5	1,82 ^a	±	0,06	80,6
	4 t MKM	3	0,076 ^a	±	0,006	103,2	2,22 ^a	±	0,51	98,3
2008	kontrola	3	0,079 ^a	±	0,002	100,0	2,14 ^a	±	0,18	100,0
	1 t MKM	3	0,076 ^a	±	0,005	95,8	2,17 ^a	±	0,17	101,8
	2 t MKM	3	0,071 ^a	±	0,004	89,9	2,06 ^a	±	0,52	96,3
	4 t MKM	3	0,086 ^a	±	0,013	109,3	1,85 ^a	±	0,15	86,7

Pozn.: n – počet pozorování; průměry jednotlivých variant se významně (P>0,95) neliší, pokud je za nimi uveden shodný horní index, (x = aritmetický průměr).

Tab. 10 Průměrné hodnoty obsahu Fe, Mn a Zn v zrnu a průkaznosti jejich rozdílů dle Tukeye

Rok	dávka MKM	n	Fe				Mn				Zn			
			mg.kg ⁻¹			rel. %	mg.kg ⁻¹			rel. %	mg.kg ⁻¹			rel. %
			x	±	s _x		x	±	s _x		x	±	s _x	
2007	kontrola	3	23,62 ^a	±	1,65	100,0	4,63 ^a	±	0,58	100,0	20,45 ^a	±	0,06	100,0
	1 t MKM	3	25,63 ^a	±	0,59	108,5	4,94 ^{ab}	±	0,02	106,8	22,70 ^a	±	1,67	111,0
	2 t MKM	3	26,58 ^{ab}	±	1,77	112,5	4,84 ^{ab}	±	0,47	104,6	22,86 ^a	±	1,33	111,8
	4 t MKM	3	28,02 ^{ab}	±	1,19	118,6	4,94 ^{ab}	±	0,46	106,9	20,53 ^a	±	0,41	100,4
2008	kontrola	3	29,48 ^{ab}	±	2,28	100,0	5,36 ^{ab}	±	0,25	100,0	21,16 ^a	±	1,47	100,0
	1 t MKM	3	43,89 ^b	±	17,05	148,9	5,67 ^b	±	1,01	105,9	22,24 ^a	±	0,93	105,1
	2 t MKM	3	27,84 ^{ab}	±	2,32	94,4	5,64 ^b	±	0,21	105,4	20,23 ^a	±	1,46	95,6
	4 t MKM	3	29,54 ^{ab}	±	2,21	100,2	5,08 ^{ab}	±	0,31	94,8	26,01 ^a	±	8,17	122,9

Pozn.: n – počet pozorování; průměry jednotlivých variant se významně (P>0,95) neliší, pokud je za nimi uveden shodný horní index, (x = aritmetický průměr).

Obsahy mikroelementů (Cu, Fe, Mn a Zn) byly sledovány z hlediska dodání těchto živin v MKM, ale také z důvodu možného rizika zatížení vybranými těžkými kovy (Cu, Zn). Chemický rozbor zrna ukázal, že hnojení masokostní moučkou nijak výrazně nezvyšuje obsah těchto prvků v zrně kukuřice (viz tab. 9 a 10). U hodnot mědi a zinku nebyl zjištěn statisticky významný vliv varianty hnojení či ročníku. Stejně tak i obsahy na jednotlivých variantách se významně nelišily.

U železa byl zjištěn statisticky významně průkazný vliv ročníku na obsah železa v zrnu (viz tab. 5). Oproti kontrole a dávce 1 t.ha⁻¹ v roce 2007 byla významně vyšší hodnota zjištěna pouze u dávky 1 t.ha⁻¹ v roce 2008. To lze přisuzovat chybě, která mohla nastat při odběru vzorků, kterých se při provádění poloprovodních pokusů můžeme dopustit. Odpovídá tomu i značný nárůst oproti kontrole v daném roce 2008 o 48 % (viz tab. 10), což se nezdá běžné.

Na obsah manganu měl statisticky vysoce významný vliv ročník (viz tab. 5). Výrazně vyšších koncentrací manganu v zrnu kukuřice měly varianty hnojení 1 a 2 t.ha⁻¹ v roce 2008 než kontrola v roce 2007. Dále lze pozorovat mírný nárůst obsahu manganu mezi variantami hnojení v jednotlivých letech (viz tab. 10), což mohl způsobit relativně vyšší obsah manganu v masokostní moučce.

Agrochemické vlastnosti půdy na konci pokusu

Míru ovlivnění jednotlivých agrochemických vlastností půdy různými dávkami masokostní moučky po dvouletém působení uvádí tabulky 11 a 12. Tabulky 13 – 15 uvádí průměrné hodnoty chemického rozboru půdy včetně variability hodnot vyjádřené směrodatnou odchylkou.

Tab. 11 Výsledky analýzy variance rozboru půdy – pH, obsah P, K, Ca a Mg

Faktor	Stupně volnosti	Průměrný čtverec				
		pH (CaCl ₂)	P (mg.kg ⁻¹)	K (mg.kg ⁻¹)	Ca (mg.kg ⁻¹)	Mg (mg.kg ⁻¹)
Varianta	3	0,1278 *	3638,5 *	1354 NS	601133 *	93195 NS
Chyba	8	0,0242	863,87	1141	94700	44099
Celkem	11					

Vliv faktorů: NS – nevýznamný, * - významný vliv faktoru ($\alpha \leq 0,05$)

Tab. 12 Výsledky analýzy variance agrochem. vlastností půdy – obsah humusu a min. dusíku

Faktor	Stupně volnosti	Průměrný čtverec			
		Humus (%)	N-NH ₄	N-NO ₃	N _{min}
Varianta	3	0,3184 NS	120,54 **	3,45 NS	164,736 ***
Chyba	8	0,1266	8,353	1,007	7,113
Celkem	11				

Vliv faktorů: NS – nevýznamný, ** - vysoce významný vliv faktoru ($\alpha \leq 0,01$), *** - velmi vysoce významný vliv faktoru ($\alpha \leq 0,001$)

Po aplikaci MKM na slabě kyselé půdě měla výměnná půdní reakce se zvyšující se dávkou MKM klesající charakter, řádově o jednotky procent. Statisticky průkazně nižší pH bylo prokázáno u dávky MKM 4 t.ha⁻¹ (6,0) oproti kontrole (6,4) (viz tab. 11). Analýzou rozptylu byl zjištěn statisticky významný vliv hnojení MKM na snižující se hodnotu pH.

Zásoba přístupného fosforu vzrostla u všech variant hnojení MKM. U kontroly byl stanoven obsah fosforu v půdě (dle vyhlášky Mze č. 245/1998 Sb.) za nízký (méně než 50 mg.kg⁻¹), u dávky 1 t.ha⁻¹ za vyhovující (51 – 80 mg.kg⁻¹), u dávky 2 t.ha⁻¹ za dobrý (81 – 115 mg.kg⁻¹) a u dávky 4 t.ha⁻¹ za vysoký (116 – 185 mg.kg⁻¹). Oproti kontrole vzrostla zásoba fosforu v půdě až o 154 % u nejvyšší dávky MKM. Dle tabulky 13 je zřejmé, že obsahy fosforu v půdách hnojených dávkami 2 a 4 t.ha⁻¹ jsou statisticky významně vyšší než u kontroly a dávky 1 t.ha⁻¹. Opět se prokázal statisticky významný vliv hnojení MKM na zvyšující se obsah fosforu v půdě (viz tab. 11). Obdobné výsledky vlivu hnojení MKM na pH a obsahu fosforu v půdě uvádí Smatanová (2005). Taktéž Lošáková et al. (2007) uvádí příznivé působení hnojení MKM na zvyšování zásoby fosforu v půdě.

Tab. 13 Průměrné hodnoty pH, obsahu P a K v půdě a průkaznosti jejich rozdílů dle Tukeye

Faktor	Úroveň faktoru	n	pH				P				K			
			x		rel. %	mg.kg ⁻¹ suš. %		rel. %	mg.kg ⁻¹ suš. %		rel. %			
			x	s _x		x	s _x		x	s _x				
Varianta	kontrola	3	6,4 ^b	±	0,12	100	47,27 ^a	±	14,75	100	340,00 ^a	±	15,00	100
	1 t MKM	3	6,20 ^{ab}	±	0,10	96	63,33 ^a	±	18,34	134	353,00 ^a	±	17,58	104
	2 t MKM	3	6,07 ^{ab}	±	0,06	94	107,57 ^b	±	47,32	228	364,33 ^a	±	17,50	107
	4 t MKM	3	6,00 ^a	±	0,26	93	120,17 ^b	±	25,75	254	390,00 ^a	±	61,02	115

Pozn.: n – počet pozorování; průměry jednotlivých variant se významně (P>0,95) neliší, pokud je za nimi uveden shodný horní index, (x = aritmetický průměr).

U obsahu přístupného draslíku v půdě nebyl (viz tab. 11) stanoven průkazný vliv hnojení MKM. To je možné přisuzovat celkovému vysokému obsahu draslíku v půdě. I když lze pozorovat (viz tab. 13) mírný nárůst obsahu draslíku v půdě (až o 15 % u nejvyšší dávky MKM) oproti kontrole. Naopak Smatanová (2007) uvádí, že se zásoba půdního draslíku snížila v průběhu tří pokusných let na polovinu, oproti počátečnímu stavu.

Vzhledem ke kontrole obsah přístupného vápníku statisticky významně klesal se zvyšující se dávkou hnojení. Tabulka 14 uvádí významně nižší obsah Ca u nejvyšší dávky MKM oproti kontrole. Tento výsledek koresponduje se snižující se hodnotou pH.

Tab. 14 Průměrné hodnoty obsahu Ca, Mg a humusu v půdě a průkaznosti jejich rozdílů dle Tukeye

Faktor	Úroveň faktoru	n	Ca				Mg				Humus			
			mg.kg ⁻¹ sušiny		rel. %	mg.kg ⁻¹ sušiny		rel. %	%		rel. %			
			x	± s _x		x	± s _x		x	± s _x				
Varianta	kontrola	3	3473,33 ^b	± 496,62	100	1041,33 ^a	± 240,47	100	2,07 ^a	± 0,19	100			
	1 t MKM	3	2923,33 ^{ab}	± 193,99	84	882,67 ^a	± 298,04	85	2,51 ^a	± 0,19	121			
	2 t MKM	3	3153,33 ^{ab}	± 305,51	91	731,00 ^a	± 124,01	70	2,71 ^a	± 0,16	131			
	4 t MKM	3	2410,00 ^a	± 34,64	69	638,33 ^a	± 119,85	61	2,80 ^a	± 0,64	135			

Pozn.: n – počet pozorování; průměry jednotlivých variant se významně (P>0,95) neliší, pokud je za nimi uveden shodný horní index, (x = aritmetický průměr).

Počáteční zásoba hořčíku u kontroly byla velmi vysoká a vlivem hnojení MKM se postupně snižovala v řádu desítek procent, avšak statisticky neprůkazně. To bylo pravděpodobně příčinou vyššího nárůstu rostlinné hmoty u parcel hnojených masokostní moučkou. Podobné výsledky uvádí i Smatanová (2008). Nižší obsah přístupných živin (P, K, Ca, Mg) v půdě po hnojení masokostní moučkou uvádí také Kubík (2008) v pokusu na bramborách.

Tab. 15 Průměrné hodnoty minerálního dusíku v půdě a průkaznosti jejich rozdílů dle Tukeye

Faktor	Úroveň faktoru	n	NH ₄				NO ₃				N _{min} celkem			
			mg.kg ⁻¹		rel. %	mg.kg ⁻¹		rel. %	mg.kg ⁻¹		rel. %			
			x	± s _x		x	± s _x		x	± s _x				
Varianta	kontrola	3	1,93 ^a	± 0,81	100	6,80 ^a	± 0,78	100	8,73 ^a	± 1,59	100			
	1 t MKM	3	1,47 ^a	± 0,15	76	6,60 ^a	± 0,17	97	8,07 ^a	± 0,31	92			
	2 t MKM	3	5,77 ^a	± 5,40	298	7,37 ^a	± 0,91	108	13,13 ^a	± 4,85	150			
	4 t MKM	3	15,13 ^b	± 1,89	783	8,97 ^a	± 1,60	132	24,10 ^b	± 1,51	276			

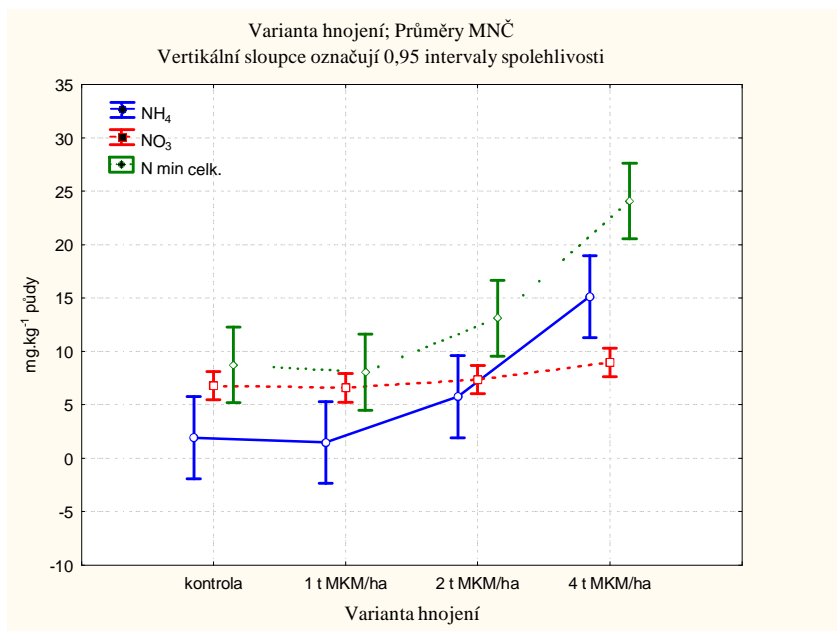
Pozn.: n – počet pozorování; průměry jednotlivých variant se významně (P>0,95) neliší, pokud je za nimi uveden shodný horní index, (x = aritmetický průměr).

Obsah humusu v půdě (viz tab. 12) nebyl hnojením MKM statisticky průkazně ovlivněn. Přesto můžeme dle tabulky 14 pozorovat nárůst obsahu humusu od kontroly (2,07 %) k nejvyšší dávce hnojení (2,8 %) o 35 %.

Analýzou rozptylu hodnot obsahu minerálního dusíku (N_{min}) v půdě po sklizni ve 2. roce (viz tab. 12) byl zjištěn velmi vysoce průkazný vliv hnojení MKM. Z celkového obsahu minerálního dusíku byl vysoce průkazný vliv hnojení MKM na obsah amonného dusíku (NH₄) v půdě ale na obsah nitrátového dusíku (NO₃) vliv hnojení statisticky průkazně nebylo. Z tabulky č. 14 vyplývá, že obsah minerálního dusíku při nejvyšší dávce hnojení MKM je statisticky významně vyšší (24,10 mg.kg⁻¹) než při nižších dávkách MKM a kontrole. Taktéž obsah amonného dusíku (NH₄) je statisticky významně vyšší u nejvyšší dávky MKM oproti ostatním dávkám MKM i kontrole.

Prokazatelný vliv hnojení masokostní a krevní moučkou na zvyšování obsahu minerálního dusíku v půdě dosáhl i Cauyela et al. (2009). Mandini et al. (2008) taktéž uvádí pozitivní vliv MKM na obsah NH₄ a NO₃ dusíku v půdě, kdy u neodtučené MKM bylo využití minerálního dusíku o 50 % větší než u neodtučené MKM.

Graf 3 Průměrné hodnoty minerálního dusíku v půdě v závislosti na hnojení MKM



ZÁVĚR

Výnos a kvalita zrna kukuřice

V obou letech poloprovozního pokusu mělo hnojení masokostní moučkou pozitivní vliv na zvyšování výnosu zrna kukuřice, avšak až v druhém roce pokusu byl tento vliv hnojení statisticky průkazný. V prvním roce činilo zvýšení výnosu 4,1 % u dávky MKM 2 t.ha⁻¹ a 8,7 % u dávky MKM 4 t.ha⁻¹. V roce 2008 byl výnos zvýšen o 18,7 % u dávky 1 t.ha⁻¹, o 42,4 % u dávky 2 t.ha⁻¹ a o 65,5 % u dávky 4 t.ha⁻¹.

Statisticky průkazný vliv aplikace MKM na kvalitativní parametry byl zjištěn pouze u zvyšující se koncentrace škrobu a popela v zrna kukuřice. Zastoupení ostatních složek zrna se vlivem hnojení MKM výrazně neměnilo. Průkazný vliv na procentické zastoupení tuku, škrobu, fosforu, hořčíku, železa a manganu měl ročník.

Rozebírá půdy po sklizni ve 2. roce

V půdě po sklizni ve druhém roce sledování byl zjištěn průkazný vliv hnojení masokostní moučkou na snížení pH, kdy oproti kontrole (6,47) došlo ke snížení u dávky MKM 1 t.ha⁻¹ v průměru o 0,27, u dávky MKM 2 t.ha⁻¹ o 0,40 a u nejvyšší dávky MKM 4 t.ha⁻¹ ke snížení o 0,47. S tím korespondoval snižující se obsah přístupného vápníku v půdě u jednotlivých variant až o 31 % u nejvyšší dávky MKM. Průkazný vliv hnojení MKM byl zaznamenán také na obsah přístupného

fosforu v půdě, kdy u kontroly s nízkou zásobou fosforu v půdě (47,27 mg.kg⁻¹) bylo dosaženo zvýšení jeho obsahu u dávky 1 t.ha⁻¹ na vyhovující (63,33 mg.kg⁻¹), u dávky 2 t.ha⁻¹ na dobrý (107,57 mg.kg⁻¹) a u dávky 4 t.ha⁻¹ na vysoký obsah fosforu v půdě (120,17 mg.kg⁻¹). Statisticky vysoce průkazný vliv mělo hnojení masokostní moučkou na obsah minerálního dusíku v půdě, kdy oproti kontrole došlo ke zvýšení o 50 – 176 %. Pozitivní vliv lze také sledovat na množství humusu v půdě, kdy se zvýšení pohybovalo v rozmezí 21 až 35 % jeho obsahu.

Celkově lze říci, že hnojení masokostní moučkou působí příznivě na zvyšování výnosu, zvyšování obsahu přístupného fosforu a minerálního dusíku v půdě bez negativního projevu na obsah vybraných těžkých kovů.

LITERATURA

Anonym: *Sortiment hybridů kukuřice*. [on-line], [cit. 22. 3. 2009] Dostupné na http://www.kws.de/aw/KWS/czechia/Produkty/Kuku_ice/-bnqf/Sortiment_hybrid_/

Anonym: *Masokostní moučka*. [on-line], [cit. 10. 2. 2009] Dostupné na http://cs.wikipedia.org/wiki/Masokostn%C3%AD_mou%C4%8Dka

BUDŇÁKOVÁ, M. (2005): *Využití odpadů v zemědělství*. Biom.cz [on-line]. 2005-09-12 [cit. 26.4.2009]. Dostupné na <http://biom.cz/cz-biodpady-a-kompostovani/odborne-clanky/vyuziti-odpadu-v-zemedelstvi>

CAUYELA, M. L., SINICCO, T., MONDINI, C. (2009): *Mineralization dynamics and biochemical properties during initial decomposition of plant and animal residues in soil*. Elsevier science BV, Amsterdam, [on-line]. [cit. 28. 5. 2009]. Dostupné na http://apps.isiknowledge.com/full_record.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&qid=1&SID=R1bjh7CdMaKIDbK2@LD&page=1&doc=1.

ČERMÁK, P., SMATANOVÁ, M. (2005): *Ověření využití kostních a masokostních mouček ke hnojení*. [online]. [cit. 15. 3. 2009]. Dostupné na http://www.ukzuz.cz/pdf/pudy/zmeny_moucky.pdf

FORMÁNEK, J. (2007): *Logistika při nakládání s vedlejšími živočišnými produkty*. Sborník z konference a odborného semináře „Právní požadavky využívání vedlejších živočišných produktů v podmínkách bioplynových stanic, kompostáren a asanačních podniků“, MZLU v Brně, 7.-8. 6. 2007, s. 35-41. ISBN: 978-80-7375-072-5

JENS, A. S., HARALDSEN, T. K., GRONLUND, A., PEDERSEN, P. A. (2007): *Meat and bone meal as nitrogen and phosphorus fertilizer to cereals and rye gras*. Norwegian Ctr Soil & Environm Res. [online]. [cit. 28. 5. 2009]. Dostupné na: http://apps.isiknowledge.com/full_record.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&qid=2&SID=R1bjh7CdMaKIDbK2@LD&page=1&doc=1.

KUBÍK, L. (2008): *Ověření účinnosti organominerálních hnojiv na bramborách*. Bulletin Sekce úřední kontroly XVI (2): 11-22.

LOŠÁKOVÁ, J., TURKOVÁ, V., SMATANOVÁ, M., FLORIÁN, M., LOŠÁK, T. (2007): *Použití živočišných mouček na zemědělské půdě*. In Sborník z mezinárodní konference "Výživa rostlin a její perspektivy". Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2007, s. 359-362. ISBN 978-80-7375-068-8.

- MATYÁŠ, Z. et al. (2002): *Podklady pro zavedení HACCP do oboru zpracování surovin a potravin živočišného původu*. Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno, vydání 1, 141 s.
- MONDINI, C., CAYUELA, M. L., SINICCO, T., SANCHEZ-MONEDERO, M. A., BERTOLONE, E., BARDI, L. (2008): *Soil application of meal and bone meal. Short-term effects on mineralization dynamics and soil biochemical and microbiological properties*. Ist Spérimentale Nutr Piante, Gorizia, Italy. [online]. [cit. 28. 5. 2009]. Dostupné na: http://apps.isiknowledge.com/full_record.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&qid=3&SID=R1bjh7CdMaKIDbK2@LD&page=1&doc=1
- NAŘÍZENÍ (ES) 1774/2002 ze dne 3. října 2002 kterým se stanoví hygienická pravidla týkající se vedlejších živočišných produktů, které nejsou určeny k lidské spotřebě
- NEHASILOVÁ, D. (2006): *Masokostní moučka na pole?* [online]. [cit. 26. 4. 2009]. Dostupné na <http://www.agronavigator.cz/default.asp?ch=1&typ=1&val=46261&ids=114>
- POPOV, I. S. (1954): *Krmení hospodářských zvířat*, Státní zemědělské nakladatelství Praha, Praha, vydání 1, 627s,
- RYANT, P. (2007): *Možnosti využití masokostního uhlí jako ekologického sorbetu a hnojiva*. Biom.cz [on-line], [cit. 28. 4. 2009]. Dostupné na http://www.mze.cz/attachments/Studie_FINAL.pdf
- SKLÁDANKA, J., RYANT, P. (2007): *Vliv hnojení odpadními surovinami na produkci a kvalitu píce travního porostu*. In Sborník z mezinárodní konference "Výživa rostlin a její perspektivy". Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2007, s. 376-378. ISBN 978-80-7375-068-8.
- SLEJŠKA, A. (2003): *Malá rešerše ke zkrmování biologicky rozložitelných odpadů*. Biom.cz [on-line], [cit. 26. 4. 2009]. Dostupné na <http://biom.cz/cz/odborne-clanky/mala-reserse-ke-zkrmovani-biologicky-rozlozitelnych-odpadu>
- SMATANOVÁ, M. (2005): *Vliv kostních a masokostních mouček na změny agrochemických vlastností půdy*. Bulletin Odboru agrochemie, půdy a výživy rostlin, XIII (2): 14-34.
- SMATANOVÁ, M. (2007): *Vliv kostních a masokostních mouček na změny agrochemických vlastností půdy*. Bulletin Sekce úřední kontroly, XV (2): 30-39.
- SMATANOVÁ, M. (2008): *Ověření účinnosti organominerálních hnojiv Omifos-A*. Bulletin Sekce úřední kontroly XVI (2): 4-10.
- ZBÍRAL, J. (2002): *Analýza půd I – Jednotné pracovní postupy*. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Brno, 197 s.
- ZBÍRAL, J. (1999): *Analýza půd II – Jednotné pracovní postupy*. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Brno, 195 s.
- ZBÍRAL, J. (2004): *Analýza půd III – Jednotné pracovní postupy*. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Brno, 195 s.
- ZBÍRAL, J. et al., (2005): *Analýza rostlinného materiálu – Jednotné pracovní postupy*. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Brno, 192 s.
- ZEMAN, L. et al. (2006): *Výživa a krmení hospodářských zvířat*, Profi Press Praha, ISBN 80-86726-17-7, Praha.

EFFECT OF SULPHUR APPLICATION ON MALTING BARLEY QUALITY

Radoch T., Hřivna L.

Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xradoch@mendelu.cz

ABSTRACT

In 2005-2008 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 nitrogenous fertilisers on yields and technological parameters of barley grain. The weather conditions of the year considerably affected yields and technological parameters of grain.

The application of nitrogenous fertilisers with sulphur in dose of 30 kg.ha⁻¹ N and 50 kg.ha⁻¹ N increased grain yields by 4.0% and 2.1%, respectively, compared to variants without sulphur. Decreased dose of N in combination with sulphur made the content of starch going down in average for 0.17%. Other way by increased dose of N the sulphur helps the content of starch going up for 0.43%. Fertilizing with N and S decreased content of N substance in seed for 0.1%, by contrast combination of increased N and sulphur conducted to grow of 0.06% against non sulphur fertilized variety.

Key words: barley, fertilisation, nitrogen, sulphur, quality

ÚVOD

Sladovnický ječmen u nás v současnosti představuje jednu z nejvýznamnějších obilovin. Má zde velmi vhodné podmínky (půda, klima apod.) pro pěstování, což potvrzuje silná tradice jeho pěstování a vývoz kvalitního sladu. Za sladovnický ječmen se považuje ječmen jarní dvouřadý *Hordeum vulgare* varieta nutans, určený na výrobu pivovarského sladu, povolených odrůd, splňující při dodávce jakost dle normy.

S rozvojem vědeckých poznatků, neustálým vývojem technologií ve výrobě sladu a piva a důrazem na kvalitu sladu se dnes sladovnický ječmen hodnotí podle mnoha ukazatelů jako je například klíčivost, HTZ, objemová hmotnost, podíl plných zrn, obsah N-látek, obsah škrobu, vlhkost a jiné. Pozornost se začala věnovat také obsahu dimethylsulfidu a jeho prekurzorů obsahujících síru. Tj. látek, které mohou nepříznivě ovlivnit některé senzorké vlastnosti piva, především jeho chuť a vůni.

Správný výběr odrůdy, způsobu hnojení, ošetřování a vhodná předplodina vedou jak ke zvýšení výnosu, tak i k dosažení lepší kvality zrna. Záleží tedy, mimo jiné, na výběru vhodného hnojiva a výpočtu dávky potřebných živin s ohledem na použitou předplodinu (Moštek, 1976).

Tato práce vznikla s finančním přispěním MŠMT v rámci Výzkumného centra pro studium obsahových látek ječmene a chmele 1M0570.

MATERIÁL A METODIKA

Cílem této práce bylo posoudit, jak se může diferencovaná výživa dusíkem a sírou projevit na technologické kvalitě zrna ječmene.

Pokus byl založen jako maloparcelní v letech 2005 až 2008 v katastru Velká Bystřice v Olomouckém kraji. Pozemky se nacházejí v klimatickém regionu mírně teplém a mírně vlhkém. Půda je středně těžká, půdní typ hnědozem. Všechny posklizňové zbytky byly zaorány.

Při předseťové přípravě pozemků byly odebrány vzorky zeminy z profilu 0 - 30cm pro stanovení obsahu přístupných živin. Obsah živin byl stanoven dle Melicha III, síra pak ve vodném výluhu (Zbíral 1996).

Pro pokus byl vybrán ječmen jarní dvouřadý, odrůda Jersey. Jedná se o polopodzimní sladovnickou odrůdu. Ve všech čtyřech letech byl ječmen pěstován po předplodině cukrovce. Chrast byl střední orbou zaorán.

V rámci pokusu byly zvoleny dvě hladiny hnojení dusíkem 30 a 50 kg N.ha⁻¹ a pro každou variantu byla zvolena jiná hladina hnojení sírou. Aplikace hnojiv proběhla ve dvou termínech v průběhu vegetace. V době vzházení porostu (DC 13) byla aplikována tuhá dusíkatá hnojiva (LAV), tuhá dusíkatá hnojiva se sírou (SA a DASA) a kapalná dusíkatá hnojiva se sírou (SAM). Na variantách 10 - 13 bylo provedeno hnojení elementární sírou. Druhá aplikace hnojiv proběhla v období počátku sloupkování porostu (DC 31) u variant s vyšší dávkou dusíku a to hnojivy kapalnými (DAM a SAM). Zastoupení hnojiv v jednotlivých variantách a schéma hnojení uvádí tabulka 1.

Tab. 1 Varianty pokusu

Termín aplikace	Po vzejití (DC13)		Sloupkování (DC 31)	Celkem (kg.ha ⁻¹)		
Varianta	Typ hnojiva	N (kg.ha ⁻¹)	Typ hnojiva	N (kg.ha ⁻¹)	N	S
1	-	0	0		0	0
2	LAV 27	30			30	0
3	LAV 27	30	DAM	20	50	0
4	SA	30			30	36
5	SA	30	SAM	20	50	42
6	DASA	30			30	15
7	DASA	30	SAM	20	50	21
8	SAM	30			30	10
9	SAM	30	SAM	20	50	16
10	LAV + S1	30			30	30
11	LAV + S1	30	DAM	20	50	30
12	LAV + S2	30			30	50
13	LAV + S2	30	DAM	20	50	50

Pozn.: LAV 27 (27 % N, 20 % Ca), SA (20,3 % N, 24 % S), DASA (26 % N, 13 % S), SAM (19 % N, 6 % S).

DAM (30 % N), S1, S2 (1, 2 - značí velikost dávky).

Každá varianta byla 4x opakována. Velikost parcel při aplikaci hnojiv byla 21,6 m² a po sklizni byla upravena na 14,3 m² (13 x 1,1 m).

Porost ječmene byl ve všech letech sklizen v plné zralosti. U všech variant byl na místě stanoven výnos a vlhkost zrna. Ze všech variant pokusu byly odebrány vzorky zrna, u kterých byla stanovena objemová hmotnost, podíl předního zrna, obsah N-látek (dle Kjeldahla) a škrobu (dle Ewerse) (Basařová a kol., 1992).

Hodnocení získaných dat bylo provedeno metodou analýzy variace na hladině významnosti 95 % s následným testováním dle Tuckeye.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Ječmen je plodinou, která je velmi náročná na podmínky pěstování. Významnou roli zde hraje i průběh povětrnosti během vegetace. Vliv kvality ročníku na výnos a technologické parametry ječmene uvádí i (Prugar a kol., 2008), (Zimolka a kol., 2006) aj. Významný vliv povětrnosti se projevil i v našich pokusech.

V roce 2008 pak došlo k výraznému polehnutí porostu, což se projevilo negativně na technologických parametrech zrn ječmene.

Výsledky všech variant byly zpracovány do tabulek a grafů v rámci jednotlivých let i jako průměr za celé období. Porovnávaly se také celé ročníky mezi sebou. Dále pak byly výsledky jednotlivých variant tříděny a porovnávány podle dávek dusíku (N 0, N 30 a N 50), podle poměru dusíku a síry (N1, N2, N1S2, N2S1 a N2S2) a formy použitého hnojiva (kapalná hnojiva, tuhá hnojiva a elementární síra).

Z výsledků uvedených v grafu 1 je zřejmé, že rok 2008 velmi významně ovlivnil hodnotu čtyřletého průměru. Z toho důvodu jsme se v dalším hodnocení zaměřili na výsledky tříleté (2005-2007). Největší rozdíl mezi tří a čtyřletým průměrem činil u varianty sedm 0,338 t.ha⁻¹. Nejvyšší výnos dosáhly v průměru za první 3 roky varianty 7, 9, 11 a 13 a rozdíly mezi nimi byly nepatrné (0,084 t.ha⁻¹). Naopak nejnižší výnos za tříleté období dosáhla varianta 2. Potvrdilo se, že u všech variant s nižší dávkou N byl stanoven nižší výnos. K podobným závěrům dospěl i Čermák (2000).

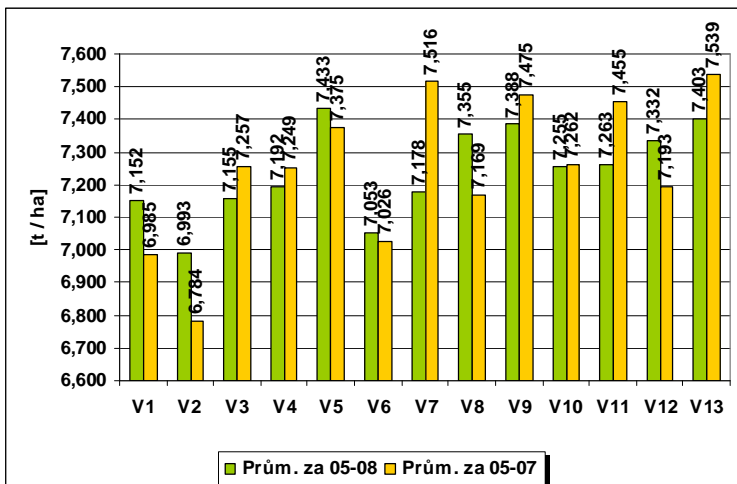
Závislost objemové hmotnosti na dávce dusíku v jednotlivých letech a v průměru za sledované období uvádí graf 2. V roce 2005 byla objemová hmotnost zrna u všech hladin hnojení vyrovnaná. Rozdíl mezi nejvyšší hodnotou (N30) a nejnižší (N50) byl pouze 0,16 kg.hl⁻¹. Také v roce 2006 byla nejvyšší objemová hmotnost zrna u variant s nižší dávkou dusíku, která byla oproti nejnižší hodnotě dosažené u variant s vyšší dávkou dusíku o 0,38 kg.hl⁻¹ vyšší. Největší rozdíly byly zaznamenány v roce 2007, ve kterém jako jediném byla stanovena nejvyšší objemová hmotnost zrna u kontroly (65,88 kg.hl⁻¹). Stejně jako u ostatních letech dopadla nižší dávka dusíku lépe (64,60 kg.hl⁻¹), než dávka N50 (64,13 kg.hl⁻¹). Výsledky v roce 2008 kopírovaly první dva roky, pouze absolutní hodnoty u všech hladin hnojení byly výrazně nižší z důvodu polehnutí porostu, který měl vliv na tvorbu zrna.

Průměr za všechny 4 ročníky pak potvrzuje negativní dopad hnojení vyšší dávkou dusíku na objemovou hmotnost. Dávka 30 kg N pak ve třech letech přispěla k nejlepším výsledkům, pouze v roce 2007 byly nejlepší podmínky pro tvorbu tohoto parametru u kontroly. Neplatí tedy zcela závěr Kandery (1994), který uvádí vliv dávky dusíku jako negativní pro tvorbu objemové hmotnosti zrna. Racionální dávka dusíku v našem případě byla 30 kg.ha⁻¹ N, naopak měla ve 3 letech pozitivní efekt.

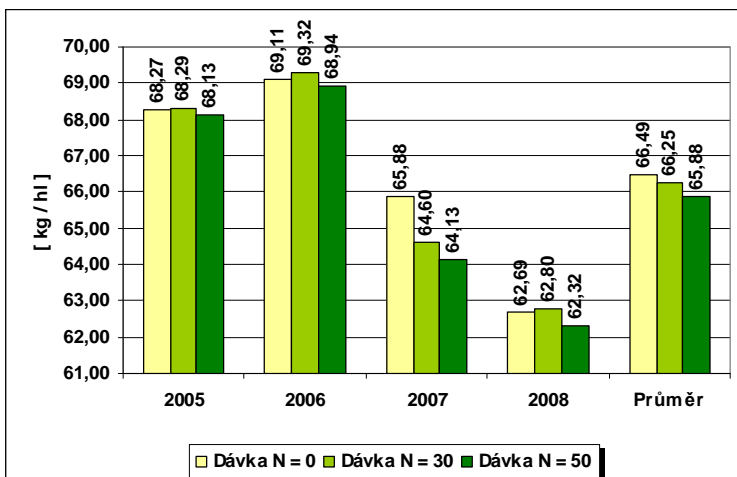
Průměrný obsah škrobu dle skupin je uvedený v grafu 3. Nejnižší obsah škrobu byl pozorován u skupiny N2 s 63,76 %. Následuje kontrolní skupina s obsahem 63,86 %. Nejvyššího obsahu pak dosáhla skupina N1 se škrobnatostí 64,38 %. Varianty se sírou při nižší dávce dusíku dosáhly nižšího obsahu než varianta bez síry (N1). Naopak při vyšší intenzitě hnojení dusíkem přispěla aplikace síry k vyšší škrobnatosti. Skupina N2S1 i N2S2 měla o více jak 0,4 % vyšší škrobnatost než skupina N2.

Posledním testovaným parametrem byl obsah N-látek. Výsledky prezentuje graf 4 a je z nich patrný vliv kapalných hnojiv se sírou na snižování obsahu N-látek. Skupina tuhých hnojiv se sírou měla nejvyšší obsah v letech 2005 a 2008. V letech 2006 a 2007 byl obsah N-látek nejvyšší u hnojiv s elementární sírou. V průměru za celý pokus dosáhla kapalná hnojiva se sírou nejnižšího obsahu N-látek (10,57 %). Skupina hnojiv bez síry měla o 0,1 % vyšší obsah N-látek než průměr skupin se sírou. Aplikace síry tedy snižovala obsah N-látek, což můžeme považovat zvláště v letech, kdy hrozí vyšší obsah N-látek v zrně za pozitivní.

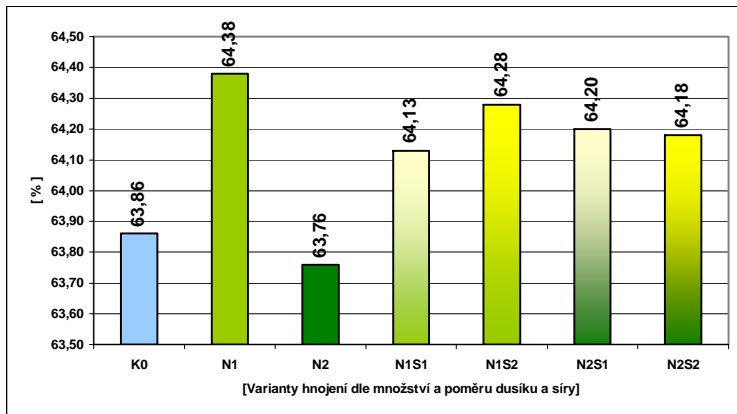
Graf. 1 Hodnocení výnosu zrna u jednotlivých variant jako průměr let 05-08 a 05-07



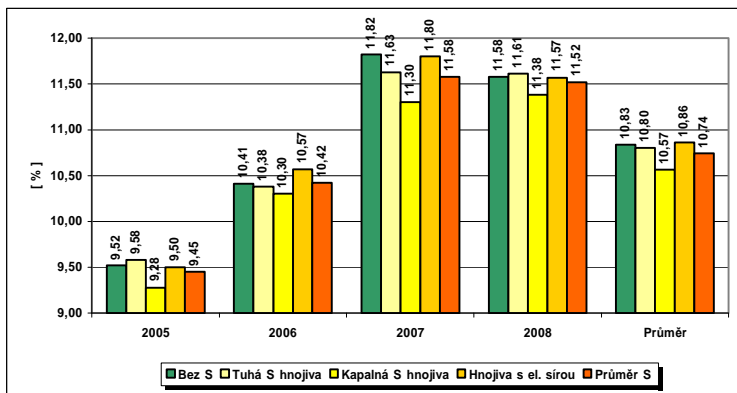
Graf. 2 Hodnocení objemové hmotnosti podle dávky dusíku



Graf. 3 Průměrný obsah škrobu dle dávek dusíku a síry



Graf. 4 Hodnocení obsahu N-látek podle způsobu hnojení sírou



ZÁVĚR

V rámci čtyřletého pozorování byl hodnocen výnos i technologické parametry zrna ječmene. Negativní roli v celkovém hodnocení sehrál rok 2008, kdy porost polehнул a výsledky získané v tomto ročníku pak částečně zkrusly průměrné čtyřleté hodnoty a proto do některých hodnocení nebyl tento rok zahrnut.

neoznačně nejlepších výnosů za období 2005 – 2007 dosáhly varianty 7, 9, 11 a 13 (vyšší sířku se sířrou), kde se výnos pohyboval na úrovni 7,496 t.ha⁻¹. Nejnižší výnos byl zaznamenán y 2 s dávkou dusíku 30 kg.ha⁻¹. Výnos byl kladně ovlivněn vyšší intenzitou hnojení dusíkem v kombinaci se sířrou.

V průměru všech let (2005 - 2008) byl výnos u variant bez sířry o 226 kg.ha⁻¹ nižší než skupiny se sířrou. Ze skupin hnojených sířrou pak nejlépe dopadly varianty hnojené kapalnými hnojivy se sířrou, kde byl výnos vyšší o 372 kg.ha⁻¹ než u skupiny bez sířry.

Nižší dávky sířry snižovaly objemovou hmotnost zrna u nižší (30 kg.ha⁻¹ N) i vyšší (50 kg.ha⁻¹ N) dávky dusíku. Při vyšší dávce sířry rostla objemová hmotnost o 0,13 kg.hl⁻¹ a při dávce 50 kg.ha⁻¹ došlo ke zvýšení o 0,2 kg.hl⁻¹ ve srovnání s variantami hnojenými pouze dusíkem.

Vyšší dávky sířry v případě 30 kg.ha⁻¹ N zvyšovaly podíl plných zrn o 2,15 %. Naproti tomu u 50 kg.ha⁻¹ N snižovaly vyšší dávky sířry podíl plných zrn o 0,72 %.

V průměru za celý pokus byla škrobnatost zrna o 0,12 % vyšší u skupin hnojených sířrou a o 0,19 % vyšší u variant hnojených kapalnými hnojivy se sířrou oproti sířrou nehnojeným variantám.

V průměru za celý pokus dosáhla kapalná hnojiva se sířrou nejnižšího obsahu N-látek (10,57 %). Skupina hnojiv bez sířry měla o 0,1 % vyšší obsah N-látek než průměr skupin se sířrou.

LITERATURA

BASAŘOVÁ a kol.: 1992. *Pivovarsko-sladařská analytika*, Merkanta s r.o. Praha.388 s.

ČERMÁK, P., 1999 Vliv stupňovaného hnojení dusíkem na výnos a sladařské vlastnosti jarního ječmene na příkladu odrůdy Fórum. In *Ječmenářská ročenka 2000*. Praha: VÚPS, a.s., s.135-140, ISBN 80-902658-2-0

KANDERA M., 1994: Účinek hnojení dusíkem na úrody zrna jarního ječmene a jeho kvalitu. *Rostlinná výroba*, roč. 40, č.7, s.577-585

MOŠTEK J., 1975: Sladařství – biochemie a technologie sladu. Praha: SNTL, 480 s.

PRUGAR, J. a kol., 2008: *Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí*. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s. Praha, 327s. ISBN 978-80-86576-28-2

ZBÍRAL J. 1996. Stanovení vodorozpuštěné sířry v půdě. *Analýza půd II*. s. 5/24.

ZIMOLKA, J. a kol., 2006: *Ječmen – formy a užitkové směry v České republice*. Profí Press s r.o. Praha. 200 s.

THE ENERGY INTENSITY OF DIFFERENT CULTIVATION METHODS OF WINTER WHEAT

Režo L., Pospíšil R.

Department of Crop Production, Faculty of Agrobiolgy and Food Resources, Slovak university of Agriculture in Nitra, A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

E-mail: Ladislav.Rezo@uniag.sk

ABSTRACT

The work deals with the evaluation of energy efficiency of cultivation of winter wheat in the used of different production technologies. In the experiment were included three tillage methods: conventional, reduced and minimization. For each tillage method, we applied a variant without fertilization, rational (balance), balance fertilization to expeted yield and balance fertilization with incorporation of remains after harvest. The highest energy gain (223.08 GJ.ha⁻¹) and the highest energy efficiency (22.53) we have the minimization method of tillage. The lowest energy gain (181.28 GJ.ha⁻¹) and low energy efficiency (17.39) were recorded in conventional tillage method.

Key words: winter wheat, tillage, fertilization, energy balance

ÚVOD

Porasty poľných plodín sú zložité biologicko – ekologické systémy premeny slnečného žiarenia, ktoré sú schopné existovať len vďaka dodatkovým formám energie (Kostrej a Danko, 1996). Poľnohospodárstvo je, podobne ako každá výrobná činnosť, procesom energetickej premeny surovín a cielenej zmeny ich vlastností. Produkčný proces môže prebiehať optimálne len za cenu vkladov tzv. dodatkovej energie, ktorá sa do tohto procesu dostáva vo forme osív, hnojív, herbicídov, ľudskej práce, fosilnej energie a pod. (Kotorová et al., 1999). V súčasnej dobe neustáleho nárastu cien vstupov do poľnohospodárskej prvovýroby, keď prvovýrobca musí zväziť každú investovanú korunu, získavajú alternatívne pestovateľské systémy čoraz väčšiu popularitu nielen z pohľadu ekonomického, ale aj environmentálneho (Miština a Bušo, 2005). Hĺbka a intenzita obrábania pôdy vplýva aj na intenzitu rozkladu a transformácie organickej hmoty v pôde. Pri minimalizačnom spôsobe obrábania klesá intenzita rozkladu organickej hmoty, čo sa prejavuje zvýšením celkového uhlíka v pôde (Hao et al., 2001). Cieľom práce bolo zhodnotiť energetickú efektívnosť pestovania pšenice letnej f. ozimnej v závislosti od rôznych spôsobov obrábania pôdy a hnojenia.

MATERIÁL A METODIKA

Pokus bol založený metódou dlhých pásov s kolmo-delenými blokmi. V každom bloku sú zastúpené všetky pokusné varianty. V tomto prípade sú usporiadané vedľa seba. Pokus bol založený v troch opakovaniach. Veľkosť zberovej plochy je 10 x 3,5 m.

Geograficky sa územie nachádza v západnej časti Žitavskej pahorkatiny, ktorej charakteristický trojuholníkový tvar vymedzuje pohorie Tribeč a rieky Nitra a Žitava. Lokalita výskumnej bázy má charakter roviny s nevýrazným sklonom k juhu. Nadmorská výška experimentálnej bázy Dolná Malanta je 175 – 180 m n. m., pričom výšková členitosť územia v juhovýchodnej a východnej časti vzrastá.

Faktory pokusu

Faktor 1: Obrábanie pôdy

- O 1 – konvenčné
- O 2 – redukované
- O 3 – minimalizačné

Faktor 2: Hnojenie

- H 1 – bez hnojenia
- H 2 – racionálne (bilančné) hnojenie na priemernú úrodnú hladinu:

pšenica letná f. ozimná (*Triticum aestivum* L.) 6 t.ha⁻¹

hrach siaty (*Pisum sativum* L.) 4 t.ha⁻¹

kukurica siata na zrno (*Zea mays* L.) 7 t.ha⁻¹

jačmeň siaty jarný (*Hordeum sativum* L.) 5 t.ha⁻¹

- H 3 – hnojenie priemyselnými hnojivami (bilančné) + zapravenie pozberových zvyškov

Faktor 3: Plodina

Ďatelina lúčna, pšenica letná f. ozimná, hrach siaty, kukurica siata na zrno, jačmeň siaty jarný.

Odroda pestovaných plodín nie je faktorom pokusu.

Pri jednotlivých plodinách evidujeme:

- *vstupy hmoty a energie do jednotlivých pestovateľských technológií:*
 - použité priemyselné a organické hnojivá v čistých živinách NPK v $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$
 - použité osivá v $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$
 - použité pesticídy v $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$
 - spotrebované pohonné hmoty v $\text{l}\cdot\text{ha}^{-1}$
 - množstvo ľudskej práce vyjadrené v $\text{h}\cdot\text{ha}^{-1}$
 - globálne žiarenie v $\text{kWh}\cdot\text{ha}^{-1}$
- *výstupy hmoty z jednotlivých pestovateľských technológií:*
 - produkcia nadzemnej fytomasy v $\text{t}\cdot\text{ha}^{-1}$
 - hlavný produkt v $\text{t}\cdot\text{ha}^{-1}$
 - vedľajší produkt v $\text{t}\cdot\text{ha}^{-1}$
 - pozberové zvyšky v $\text{t}\cdot\text{ha}^{-1}$

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tab. 1 uvádzame prehľad štruktúry vkladov dodanej energie pri pestovaní pšenice letnej f. ozimnej za rok 2008. V priemere najvyššie vklady energie sme zaznamenali pri konvenčnom spôsobe obrábania pôdy ($11,06 \text{ GJ}\cdot\text{ha}^{-1}$). Na tomto variante obrábania pôdy sa vklady energie pohybovali od $8,60 \text{ GJ}\cdot\text{ha}^{-1}$ (variant hnojenia H1) do $12,74 \text{ GJ}\cdot\text{ha}^{-1}$ (variant hnojenia H2). Pri redukovanom spôsobe obrábania pôdy boli vklady energie do pestovateľskej technológie pšenice letnej f. ozimnej v rozpätí od $8,38 \text{ GJ}\cdot\text{ha}^{-1}$ (variant hnojenia H1) do $12,19 \text{ GJ}\cdot\text{ha}^{-1}$ (variant hnojenia H2), s priemernou hodnotou $10,85 \text{ GJ}\cdot\text{ha}^{-1}$. Najnižšie vklady energie boli zaznamenané pri minimalizačnom spôsobe obrábania pôdy. Tieto hodnoty sa pohybovali v intervale od $8,01 \text{ GJ}\cdot\text{ha}^{-1}$ (variant hnojenia H1) do $11,81 \text{ GJ}\cdot\text{ha}^{-1}$ (variant hnojenia H2), s priemernou hodnotou $10,36 \text{ GJ}\cdot\text{ha}^{-1}$. V porovnaní s našimi výsledkami vyššie hodnoty spotrebovanej energie dosiahli Tuleja (1998), Kostrej a Danko (1996). Dôvod vyšších hodnôt vstupov energie v prácach Tuleja (1998) je potrebné chápať jednak v rozdielnych pôdnych podmienkach a v rozdielnom hnojení a výžive rastlín. Z hľadiska štruktúry jednotlivých zložiek dodaných vkladov energie, najvyšší podiel predstavovali vklady energie osív ($2,94 \text{ GJ}\cdot\text{ha}^{-1}$) a najnižší podiel predstavovali vklady energie práce ($0,09 \text{ GJ}\cdot\text{ha}^{-1}$).

Tab. 1 Prehľad štruktúry vkladov energie pri pestovaní pšenice letnej f. ozimnej za rok 2008 v GJ.ha⁻¹

Obrábanie	Hnojenie	Vklady energie v roku 2008						
		PHM	Práca	Stroje	Osivá	Hnojivá	Pesticídy	Spolu
O 1	H 1	2,30	0,10	2,34	2,94	0,00	0,92	8,60
	H 2	2,30	0,10	2,87	2,94	3,61	0,92	12,74
	H 3	2,30	0,10	2,32	2,94	3,27	0,92	11,85
	x	2,30	0,10	2,51	2,94	2,29	0,92	11,06
O 2	H 1	2,13	0,09	2,30	2,94	0,00	0,92	8,38
	H 2	2,13	0,09	2,84	2,94	3,27	0,92	12,19
	H 3	2,13	0,09	2,30	2,94	3,61	0,92	11,99
	x	2,13	0,09	2,48	2,94	2,29	0,92	10,85
O 3	H 1	1,86	0,08	2,21	2,94	0,00	0,92	8,01
	H 2	1,86	0,08	2,74	2,94	3,27	0,92	11,81
	H 3	1,86	0,08	2,19	2,94	3,27	0,92	11,26
	x	1,86	0,08	2,38	2,94	2,18	0,92	10,36

Najvyššiu produkciu sušiny fytomasy (tab. 2) sme dosiahli pri minimalizačnom spôsobe obrábania pôdy (13,25 t.ha⁻¹). Produkcia sušiny fytomasy sa na tomto variante pohybovala v rozpätí od 12,65 t.ha⁻¹ (variant hnojenia H1) do 14,22 t.ha⁻¹ (variant hnojenia H3). Najnižšiu produkciu sušiny fytomasy sme zaznamenali pri konvenčnom spôsobe obrábania pôdy (10,92 t.ha⁻¹). Dosiagnuté hodnoty na tomto variante boli v intervale od 9,76 t.ha⁻¹ (variant hnojenia H1) do 11,62 t.ha⁻¹ (variant hnojenia H3). Pri redukovanom spôsobe obrábania pôdy sme dosiahli priemernú produkciu sušiny fytomasy na úrovni 12,00 t.ha⁻¹, s najnižšou hodnotou pri variante hnojenia H1 (11,13 t.ha⁻¹) a najvyššou hodnotou pri variante hnojenia H3 (12,86 t.ha⁻¹).

Tab. 2 Energetická bilancia pestovania pšenice letnej f. ozimnej za rok 2008

Obrábanie	Hnojenie	Produkcia sušiny fytomasy [t.ha ⁻¹]	Produkcia sušiny fytomasy [GJ.ha ⁻¹]	Energetický zisk [GJ.ha ⁻¹]	Energetická efektívnosť
O 1	H 1	9,76	172,17	163,57	20,02
	H 2	11,33	199,86	187,12	15,69
	H 3	11,62	204,98	193,13	17,30
	x	10,92	192,34	181,28	17,39
O 2	H 1	11,13	196,33	187,95	23,43
	H 2	12,02	212,03	199,84	17,40
	H 3	12,86	226,86	214,87	18,92
	x	12,00	211,74	200,89	19,52
O 3	H 1	12,65	223,15	215,14	27,86
	H 2	12,83	226,32	214,51	19,16
	H 3	14,22	250,84	239,58	22,28
	x	13,23	233,44	223,08	22,53

Najvyšší energetický zisk (tab. 2) sme dosiahli na variante O3H3 (239,58 GJ.ha⁻¹). Naopak, najnižší energetický zisk sme dosiahli pri variante O1H1 (165,57 GJ.ha⁻¹). Nehnojený variant minimálneho obrábania pôdy vyprodukoval viac energetického zisku ako hnojené varianty konvenčného a redukovaného spôsobu obrábania pôdy. V priemere najvyššiu energetickú efektívnosť sme dosiahli pri minimálnom spôsobe obrábania pôdy (22,53). Najnižšiu priemernú energetickú efektívnosť sme dosiahli pri konvenčnom spôsobe obrábania pôdy (17,39). Pri redukovanom spôsobe obrábania pôdy sme dosiahli v priemere energetickú efektívnosť na úrovni 19,52.

ZÁVER

Na základe jednoročných výsledkov hodnotenia energetickej bilancie v pestovateľskom systéme pšenice letnej f. ozimnej možno vyvodit' predbežné závery:

- najvyššia produkcia sušiny fytomasy (14,22 t.ha⁻¹) bola zistená pri konvenčnom spôsobe obrábania pôdy v rámci variantu hnojeného priemyselnými hnojivami so zapravením pozberových zvyškov.
- najvyššia energetická efektívnosť bola dosiahnutá pri minimalizačnom spôsobe obrábania pôdy (22,53)
- najvyššie vklady dodatkovej energie (11,06 GJ.ha⁻¹) bolo potrebné vynaložiť pri konvenčnom spôsobe obrábania pôdy
- najnižšie vklady dodatkovej energie (10,36 GJ.ha⁻¹) bolo potrebné vynaložiť pri minimalizačnom spôsobe obrábania pôdy
- minimalizačné a redukované spôsoby obrábania pôdy umožňujú významné úspory v spotrebe pohonných hmôt (1,86 – 2,13 GJ.ha⁻¹) a práce (0,08 – 0,09 GJ.ha⁻¹)

LITERATÚRA

Hao, X. – Chang, C. – Lindwall, C. W. 2001. Tillage and crop sequence effects on organic carbon and total nitrogen content in an irrigated Alberta soil. In *Soil & Tillage Research*, vol. 62, 2001, n. 3 – 4, p. 167 – 169. ISSN 0167-1987.

Kostrej, A. – Danko, J. 1996. Analýza a modelovanie energetických ukazovateľov produkčného procesu poľných plodín. 1. vydanie, Nitra : VŠP, 1996, 81 s.

Kotorová, D. – Kováč, L. – Balla, P. 1999. Energetická bilancia osevných postupov na fluvizemi glejovej. In *Zborník vedeckých prác, OVÚA Michalovce*, 2001, s. 169 – 175. ISBN 80-968438-7-7.

Mišťina, T. – Bušo, R. 2005. Vplyv rôzneho obrábania pôdy na úrodu pšenice letnej formy ozimnej. In *Realizáciou poznatkov vedy a výskumu k trvalo udržateľnému poľnohospodárstvu: Zborník referátov z vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou, Michalovce*, 5. a 6. októbra 2005, Piešťany: VÚRV, s. 104 – 111, ISBN 80-88790-40-9.

Tuleja, J. 1998. Energetická náročnosť pestovania kukurice na fluvizemi. In *Zborník vedeckých prác, Michalovce: OVÚA*, 1998, s. 111 – 116.

ROOT SYSTEM AS A FACTOR OF OILSEED RAPE YIELD FORMATION

Středa T., Dostál V., Ullmannová K.

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

E-mail: streda@mendelu.cz

ABSTRACT

During the vegetation the crops are influenced by numerous of the factors which may cause a stress. In recent years, the main stress factor is a lack of water in the soil. To elimination the water scarcity in the soil the plants need to have a sufficiently developed root system that is able to receive the optimal amount of water and nutrients. Abroad, the root system is studied in detail and is the main aim of breeding programs, particularly in relation with predicted climate change. In the experiments at Department of Crop Science, Breeding and Plant Medicine of MUAf in Brno the size of the root system through its electrical capacity in relation to the yield and quality of winter rape and cereals varieties is evaluated. The experiments with nine varieties were established in 2008 in Opava. The size of the root system was measured three times during the growing period with the apparatus LCR Meter ELC 131 D. The differences in the size of the root system between varieties in single terms of measurement were found. In the experimental year negative correlation between the root system size and yield of winter rape were found. This influence could be explained by the fact that the water stress did not occur during the vegetation. The varieties with bigger root system consumed more nutrients for root creation, without its using to obtain water and nutrients. The assimilates invested in the roots could not be used to create an yield.

Key words: root system size, oilseed rape, yield, electric capacity

Acknowledgments: This paper was supported by project MEB060811 "Root System as a Factor of Yield Formation and Quality of Barley and Oilseed Rape".

ÚVOD

Velký kořenový systém je zpravidla předpokladem pro rychlý počáteční růst rostlin a stabilní výnos. Délka kořenů, jejich plocha, průměr a kořenové vlášení jsou důležitými indikátory pro příjem vody a živin. Velikost kořenového systému plodin je ovlivňována řadou faktorů jako je odrůda, půda a její vlhkost a teplota, obsah živin v půdě a technologie zpracování půdy. Výkonnost kořenového systému řepky olejné (*Brassica napus* L. subsp. *napus*) je vyšší než u většiny ostatních plodin. Ve srovnání s pšenicí je stejná povrchová jednotka kořene více než třikrát výkonnější. Kořen řepky je tak výrazně určujícím faktorem při tvorbě výnosu. To potvrzují například Toorchí et al. (2005), kteří zjistili u odrůd řepky s největší délkou, objemem a tloušťkou kořenů nejvyšší hodnoty výšky rostlin, celkové hmotnosti sušiny biomasy a počtu šesulí. V suchém prostředí řepka zvyšuje poměr biomasy kořenů k nadzemní biomase. Řepka vytváří křulovitý kořen, který je z naprosté většiny dislokován v ornici. Více než 90 % kořenové biomasy se nachází v hloubce do 23 cm, přibližně 5 % v hloubce 23 – 30 cm a zbytek proniká hlouběji. Maximální hloubka zakořenění je udávána v rozmezí 110 – 312 cm. Množství kořenových zbytků zanechaných řepkou v půdě je udáváno v rozmezí 1520 – 4780 kg sušiny na 1 ha (Baranyk et al., 2005). Jako nutnost pro úspěšné přezimování, rychlou jarní regeneraci a vysoký výnos uvádí Vašák et al. (1998) hmotnost kořenů na podzim převyšující 200 – 300 g.m⁻². U polotrasličích hybridů řepky je kořenový systém stejně mohutný jako u tradičních hybridů. I když je množství nadzemní biomasy o cca 25 % nižší, vytváří polotrasličí hybridy výnosy srovnatelné s hybridytradičními.

Konvenční zpracování půdy podporuje růst kořenů do hloubky a je předpokladem pro stabilizaci výnosů řepky v praxi. Minimalizační zpracování významně ovlivňuje vlhkost půdy a v obdobích, kdy je vlhčí počasí, řepka omezuje růst a její kořenový systém je málo rozvinutý a nedochází k prokořeňování do hlubších vrstev půdního profilu (Vašák et al. 2001). Při bezorebném systému jsou tak preferovány hybridy se silně vyvinutým kořenovým systémem. Růžek et al. (2006) zjistili u řepky vyšší prokořeňování u minimalizačních varianty ve vrstvě 0 – 10 cm než po orbě. V půdních vrstvách 10 – 20 cm a 20 – 30 cm bylo vyšší prokořeňování po orbě. V hloubce 30 – 60 cm nebyly zjištěny v prokořeňování žádné rozdíly.

Intenzita hnojení je další důležitý faktor působící na kořenový systém. Foehse (1983) uvádí, že hustota kořenových vlásků je ovlivněna přítomností fosforu a dusíku u mnoha rostlin. Pokud mají rostliny dostatečně vyvinuté kořeny, jsou schopny odčerpávat živiny z půdy a nedochází k vyplavování např. dusíku z půdy.

Lze předpokládat, že význam kořenů jako osvojovacího aparátu poroste v budoucnu s rostoucí teplotou prostředí a současnou změnou distribuce srážek v průběhu roku, tak jak předpokládají klimatické modely. Na Ústavu pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně je ve spolupráci se šlechtitelskými podniky využívána jako sekundární selekční kritérium velikost kořenového systému. Kořenový systém je hodnocen na základě měření jeho elektrické kapacity. Jednoduchá, levná, nedestruktivní metoda umožňuje změřit velikost kořenů u tisíců jedinců během jednoho dne in situ, tj. v místě růstu rostlin. Z tohoto pohledu se jedná o ideální metodu pro hodnocení meziodrůdových rozdílů ve velikosti kořenového systému v případné vazbě na kvantitativní a kvalitativní znaky. Na rostlinu je upevněna elektroda (kleště) a druhá elektroda je zasunuta do půdy. V obvodu, kde prochází střídavý proud o frekvenci 1 kHz mezi kořenovým systémem a půdou se měří paralelní kapacita (Cp). Jednu desku představuje povrch kořenového

systému a druhou tvoří substrát, v němž kořeny rostou. Proud musí být uveden na bázi stonku jedné rostliny (Chloupek, 1977; Dalton, 1995). Hodnocena je tak pouze živá část kořene, která vykazuje určitou elektrickou aktivitu na membránách mezi buňkami, protože dochází k polarizaci živých membrán nebo živých buněk. Proto největší kapacitu mají mladé kořeny a kořenové vlásky, které nemají suberinizované buněčné stěny. Kořeny jsou v těsném kontaktu s půdou nebo substrátem a jejich povrch má vysoký obsah vody. Starší kořeny, které mají suberinizované buněčné stěny mají větší vzdálenost mezi „deskami“, proto je měřena menší elektrická kapacita.

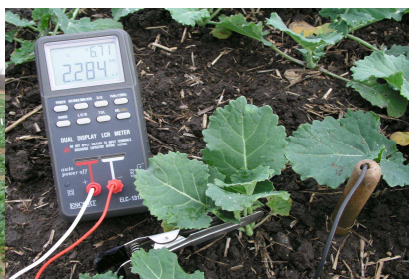
MATERIÁL A METODIKA

Pokusy s odrůdami řepky ozimé byly založeny v roce 2008 u Opavy v řepařské výrobní oblasti, na středně těžké hlinité půdě v nadmořské výšce 273 m n. m. Bylo hodnoceno devět odrůd ve třech opakováních. Sledované odrůdy byly pěstovány v odrůdových pokusech v systému s nižší intenzitou vstupů (bez fungicidního ošetření). Elektrická kapacita kořenového systému řepky byla měřena přístrojem LCR METER ELC 131D při měřicí frekvenci 1 kHz v jednotkách kapacity nF (nanofarady). Na rostlinu řepky se upevnily kleště asi 2 cm nad povrchem půdy a druhá elektroda byla zasunuta do půdy v blízkosti rostliny asi 5 cm. Rostliny řepky ozimé byly měřeny třikrát během vegetace. První měření bylo na podzim ve fázi listové růžice (17. 11. 2008), druhé měření během butonizace (10. 4. 2009) a třetí v plném květu (6. 5. 2009).

Obr. 1 Pokusy s ozimou řepkou, Opava



Obr. 2 LCR METER ELC 131D



VÝSLEDKY A DISKUZE

Z výsledků měření byly zjištěny odrůdové rozdíly ve velikosti kořenového systému (VKS) ve všech třech termínech měření (Tab. 1). V prvním termínu měření bylo rozpětí hodnot elektrické kapacity kořenového systému 1,639 – 2,070 nF. Nejmenší kořenový systém byl u odrůdy Merano (1,693 nF), odrůda CWH 086D měla kořenový systém největší (2,070 nF). Na podzim nebyly zjištěny významné rozdíly mezi odrůdami. V butonizaci byly zjištěny vyšší hodnoty elektrické kapacity kořenového systému řepky v rozsahu 2,299 – 2,962 nF. Rostliny na počátku jarního období intenzivně přijímají vodu a živiny, proto byly zjištěny vyšší hodnoty el. kapacity kořenů. Nejmenší kořenový systém měla odrůda WRH 302 a odrůda Merano, která měla nejmenší kořenový i na podzim, největší kořeny měla odrůda Cadeli. Ve třetím termínu měření byly průměrné hodnoty el. kapacity kořenů podobné jako

v ostatních termínech. Odrůda Merano (1,880 nF) měla znovu nejmenší kořenový systém, největší kořeny měla odrůda X06W176C (2,757 nF).

Tab. 1 Srovnání elektrické kapacity kořenového systému (nF) u 9 odrůd řepky ozimé na lokalitě Opava v roce 2009. Fisherův LSD test; hodnoty označené stejnými písmeny nejsou statisticky významné ($P = 0,05$).

Odrůda	1 měření	2 měření	3 měření
Merano	1,693 ^a	2,416 ^{ab}	1,880 ^a
NSA 06/137	1,819 ^{ab}	2,735 ^{cd}	2,365 ^d
RNX1628	1,941 ^{bc}	2,601 ^{bc}	1,978 ^{ab}
Mickey	1,985 ^c	2,726 ^{cd}	2,472 ^{de}
Cadeli	2,025 ^c	2,962 ^d	2,249 ^{bcd}
WRH 302	2,033 ^c	2,299 ^a	2,018 ^{abc}
X06W176C	2,039 ^c	2,596 ^{bc}	2,757 ^e
SW 05020 A	2,067 ^c	2,479 ^{ab}	2,287 ^{cd}
CWH 086D	2,070 ^c	2,596 ^{bc}	2,306 ^{cd}
Variabilita (nF)	1,693 – 2,070	2,299 – 2,962	1,880 – 2,757

Byly zjištěny průkazné korelace mezi termíny měření. Mezi prvním a druhým termínem byla korelace statisticky nevýznamná $r = 0,106$. První a třetí termín byl statisticky významně korelovan $r = 0,455^*$ (21 % z celkové proměnlivosti), mezi druhým a třetím termínem byla zjištěna významná korelace $r = 0,412^*$ (17 % proměnlivosti).

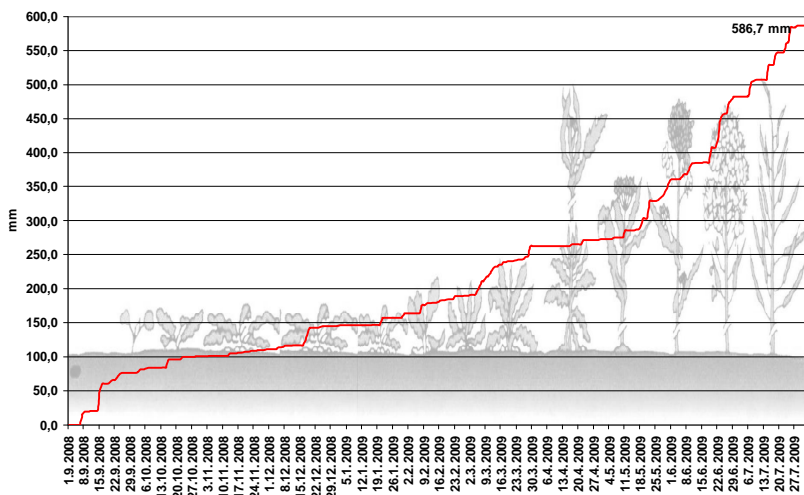
V tabulce 2 jsou odrůdy řepky rozděleny do tří skupin podle průměrných hodnot elektrické kapacity kořenů ve vztahu k výnosu. První skupina s nízkou, druhá se střední a třetí skupina s velkou el. kapacitou kořenů. Z tabulky je patrné, že odrůdy malým a středním kořenem dosáhly vyššího výnosu než odrůdy s velkými kořeny (4,89; 4,78 a 4,57 t.ha⁻¹). Důvodem je zřejmě relativní dostatek srážek na lokalitě v hospodářském roce 2008/2009 (Graf 1). Dubnový a květnový přísušek (během čtyřiceti dnů spadlo 13 mm srážek) byl vyrovnán výrazně nadnormálními srážkami od druhé dekády května do konce vegetace. Předčasně rozkvetlé a málo větvičí rostliny řepky tak vykompenzovaly nízkou úroveň ostatních výnosových prvků rekordními hodnotami HTS a dubnová epizoda sucha se tak na výnosu semen řepky v oblasti neprojevila.

Zjištěn byl negativní vztah elektrické kapacity kořenů a výnosu řepky, což naznačují i korelační koeficienty pro jednotlivé termíny měření -0,175; -0,183 a -0,085. Koeficienty jsou velmi nízké a nejsou statisticky průkazné. Z dosažených (jednoletých) výsledků lze usuzovat, že na úrodnějších půdách anebo v období, kdy rostliny nejsou stresovány suchem je velký kořenový systém nevýhodou a spotřebovává asimiláty, které mohou být využity pro tvorbu výnosu.

Tab. 2 Rozsah elektrické kapacity kořenového systému ve vztahu k výnosu řepky ozimé.

El.kap.koř.	Odrůda	Průměrný výnos
2,00 – 2,17	Merano	4,89
	WRH 302	
	RNX1628	
2,18 – 2,32	SW 05020 A	4,78
	NSA 06/137	
	CWH 086D	
2,33 – 2,46	Mickey	4,57
	Cadeli	
	X06W176C	

Graf 1 Kumulovaný průběh srážek během vegetace řepky olejné v roce 2008/2009 – Opava Otice



ZÁVĚR

Kořenový systém aktivně ovlivňuje příjem vody a živin a má značný význam pro růst rostlin. S ohledem na zvyšující se počet epizod sucha roste význam kořenů jako výnosotvorného faktoru. V příspěvku jsou uvedeny výsledky pokusů s řepkou olejnou z roku 2009. Byla sledována velikost kořenového systému u devíti odrůd řepky ozimé v polních podmínkách, tedy v přirozeném prostředí pro rostliny. Zjištěny byly odrůdové rozdíly ve velikosti kořenového systému ve všech třech termínech měření. Nejmenší kořenový systém měla odrůda Merano v prvním a třetím termínu (1,693 a 1,880 nF). Největší kořeny měly odrůdy CWH 086D (2,070 nF), Cadeli (2,962 nF) a odrůda NSA 06/137 (2,365 nF) pro jednotlivé termíny měření. Hodnocen byl i vztah velikostí kořenů s výnosem. Z výsledků je patrné, že odrůdy s většími kořeny měly nižší výnos. Toto zjištění lze vysvětlit vyšší úrodností lokality a tím, že rostliny nebyly ovlivněny stresovým faktorem – suchem, což dokládají i meteorologické údaje. V případě výskytu výraznějšího vláhového deficitu lze však zřejmě očekávat opačnou, tj. pozitivní korelaci ve vztahu velikost kořenového systému a výnos semen.

LITERATURA

Dalton F. N. (1995): In-situ root extent measurement by electrical capacitance methods, *Plant Soil*, 173, 157-165.

Foehse D., Jungk A. (1983): Influence of phosphate and nitrate supply on root hair formation of rape, spinach and tomato plants, *Plant and Soil*, 74, 359-368.

Chloupek O. (1977): Evaluation of size of a plant's root system using its electrical capacitance, *Plant Soil*, 48, 525-532.

Růžek P. et al. (2006): Výživa a hnojení řepky ozimé při různých technologiích zpracování půdy. Sborník z konference „Prosperující olejnin“, Praha 13.-14.12. 2006, ČZU v Praze. S. 51-54. ISBN 80-213-1581-4.

Toorchi M. et al. (2005): Association of root morphological characters with resistance to water deficit in some rapeseed genotypes (*Brassica napus* L.). *Agricultural Science (Tabriz)*. 15: 3, 15-25.

Vašák J, Nerad D., Fogl J., Hyklová I. (2001): Sucho, vzcházení řepky, plevele. Sborník - *Agricultura-Sciencia- Prosperitas - I.Intenzivní olejnin*, Česká zemědělská univerzita v Praze, s. 64-68, ISBN 80-213-0847-8.

Vašák J. et al. (1998): Variantní pěstitelské technologie řepky ozimé (*Brassica napus* L.). In: Zamyšlení nad rostlinnou výrobou 1998. Sborník referátů. Praha, ČZU, katedra rostlinné výroby 1998, s. 75-79.

THE RESISTANCE OF POLLEN BEETLES (*MELIGETHES AENEUS* FABRICIUS 1775) TO PYRETHROIDS IN THE ENVIRONS OF BRNO

Škutová J.¹, Kolaříková E.¹, Mlýnská J.¹, Hrudová E.¹, Seidenglanz M.², Poslušná J.², Kolařík P.³

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

²AGRITEC, Research, Breeding & Services, Sumperk, Czech Republic

³Research Institute for Fodder Crops, Zahradni 1, 664 41 Troubsko, Czech Republic

E-mail: xskutova@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The results of pollen beetle pyrethroids resistance tests in 2009 year are given. The testing population of pollen beetles (*Meligethes aeneus*) came from environs of Brno, total of 12 locations.

For testing of in successive steps rising doses (rates: 0%, 4%, 20%, 100% = European registered dose 7.5 g.ha⁻¹, 500%) of insecticides the adult-vial-test (Met. 11, IRAC) was used. As referential active ingredients *Lambda-cyhalothrin* (the active represents esteric pyrethroid group, type II). We worked with analytical samples of the actives and with their solutions in acetone. Contact effects were assessed after 1, 5 and 24 hours.

Key words: oilseed rape, pollen beetles, resistance, pyrethroids

Acknowledgments: Supported by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic, Project No. QH 81218.

ÚVOD

V České republice jsou pyrethroidy typu II. (lambda-cyhalothrin, deltamethrin, alpha-cypermethrin, zeta-cypermethrin, cypermethrin, esfenvalerate) používány na blýskáčky více jak 20 let. A v podstatě ani v současné době nemají plnohodnotnou alternativu. Problematika vývoje rezistence proti těmto účinným látkám u blýskáček je tedy poměrně naléhavým a aktuálním tématem. V našem pokusu jsme se zabývali rezistencí blýskáček na účinnou látku lambda-cyhalothrin v okolí Brna. Lambda-cyhalothrin je v Evropě v těchto testech nejvíce využívaný pyreteroid (Seidenglanz et al., 2008). Sběr imág a laboratorní pokusy probíhaly na jaře roku 2009.

MATERIÁL A METODIKA

Ke sběru brouků jsme použili metody smýkání či sklepávání. Metoda musí být co nejšetrnější k odebráným jedincům. Z jedné lokality se k danému termínu hodnocení odebralo cca 500 jedinců. Takto připravené vzorky jsou po odběru transportovány do laboratoře k testům (brouci mohou být uloženi v chladničce pouze jednu noc). Skladování brouků se doporučuje na místě s teplotou kolem 10 °C. Ke každému odebranému vzorku jsou zaznamenány tyto údaje: datum sběru, místo sběru, plodina, stručný popis pesticidní historie porostu a lokality.

Jako testovací metoda byl využit lahvičkový test (adult-vial test: Met No.11 dle IRAC). Metodika je využívána v řadě evropských zemí. Testované pyrethroidy byly aplikovány do skleněných lahviček s vnitřním povrchem 37,97 cm² ve velmi nízkých koncentracích pomocí dávkovacích pipet. Jako rozpouštědlo byl využit aceton. Lambda-cyhalothrin byl aplikován v těchto dávkách:

0 µg.cm² (pouze aceton)

0,003 µg.cm² (4 % podíl z evropské i české registrované dávky, což je v přepočtu 7,5 g.l cyhalothrinu.ha⁻¹)

0,015 µg.cm² (20 % dávka)

0,075 µg.cm² (100 % dávka)

0,375 µg.cm² (500 % dávka)

Otevřené lahvičky se po vnesení roztoku (řádně označené) nechají rotovat (rolling bank), tak aby roztok omýval jejich vnitřní stěny až do vyschnutí rozpouštědla. Cílem je vytvoření rovnoměrného filmu rozprostřené účinné látky na vnitřní stěně a dně lahvičky.

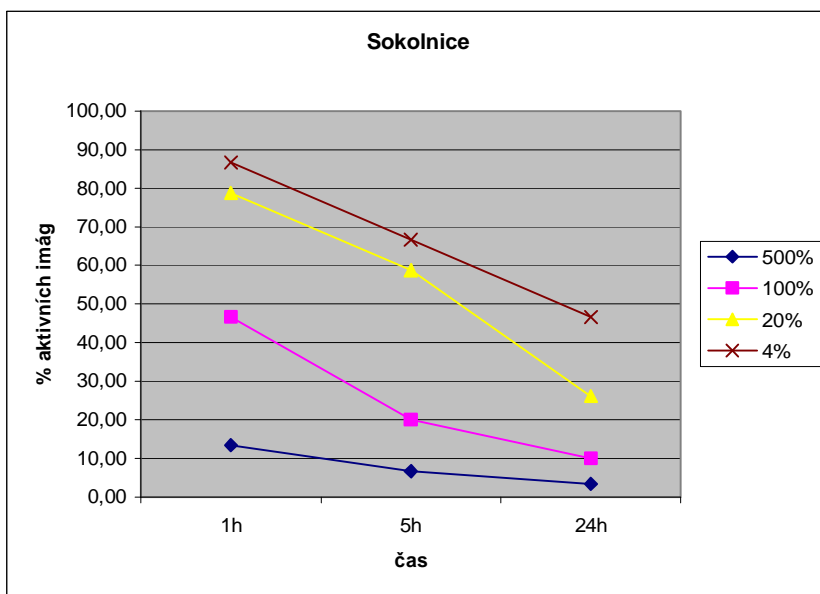
Do každé z testovacích lahviček se pak umístí 10 imág blýskáček (pouze ti jedinci, kteří se jeví jako aktivní a nijak nepostižení). Pokus probíhá vždy ve třech opakováních. Po vložení imág do lahviček byly reakce brouků hodnoceny po 1, 5 a 24 hodinách. Po uplynutí daného intervalu se zatře lahvičkou a spočítají se mrtví, těžce postižení a živí (aktivní) jedinci. Rozhodující nárůst % mortality je očekáván mezi 1. - 5. hodinou trvání testu. V našem experimentu je srovnáváno % aktivních jedinců.

VÝSLEDKY A DISKUZE

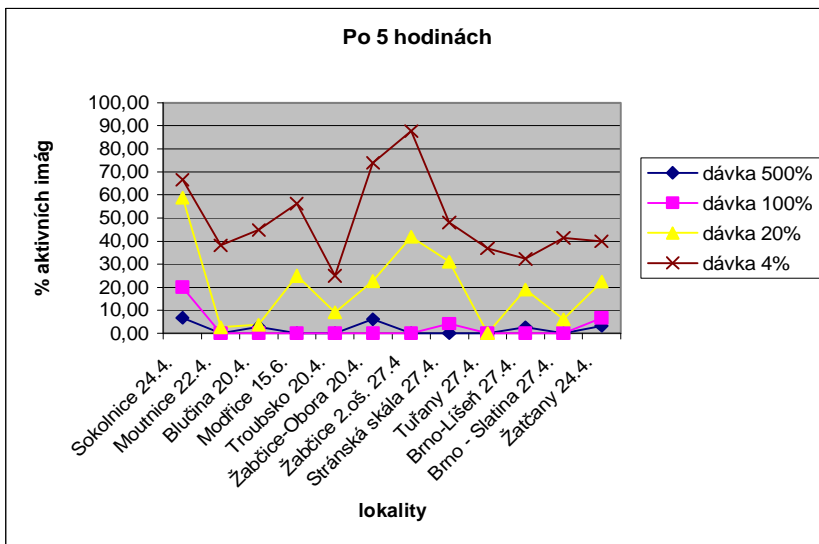
Mezi reakcemi na lambda-cyhalothrin byly u brouků odebraných z různých lokalit (celkem 12 lokalit) v průběhu dubna (výjimkou jsou Modřice, zde byl odběr proveden v červnu na hořčici) zjištěny výrazné rozdíly. Největší rozdíl byl mezi lokalitou Troubsko a Žabčice 2. ošetření. Z grafu 2 lze vyčíst, že v Troubsku je ze všech testovaných lokalit největší % mortality jedinců. Už při 4 % dávce je aktivních brouků pouze 25 %. Naopak v Žabčicích po 2. ošetření je počet aktivních jedinců při dávce 4 % lambda-cyhalothrinu 87,7 %. Z toho lze předpokládat, že v této oblasti jsou blýskáčci více rezistentní k účinné látce. Rovněž sběry z jiných lokalit vykazují rozdíly v reakcích na účinnou látku (Seidenglanz et al., 2009). Další lokalitou, kde byl poměrně vysoký počet aktivních jedinců jsou Sokolnice. Zde dokonce při 100 % dávce účinné látky bylo stále 20 % aktivních blýskáčků. Do 10 % aktivních jedinců při 100 % dávce mají lokality Stránská skála a Žatčany. Ostatní oblasti nemají při této dávce žádné aktivní jedince.

Problematika rezistence je sledována i v Evropě, kdy Wegorek and Zamojska (2008) uvádějí vysokou rezistenci populací blýskáčků k tam používaným insekticidům. Také v sousedním Německu je rezistence blýskáčků k pyretroidům velkým problémem (Müller, 2008).

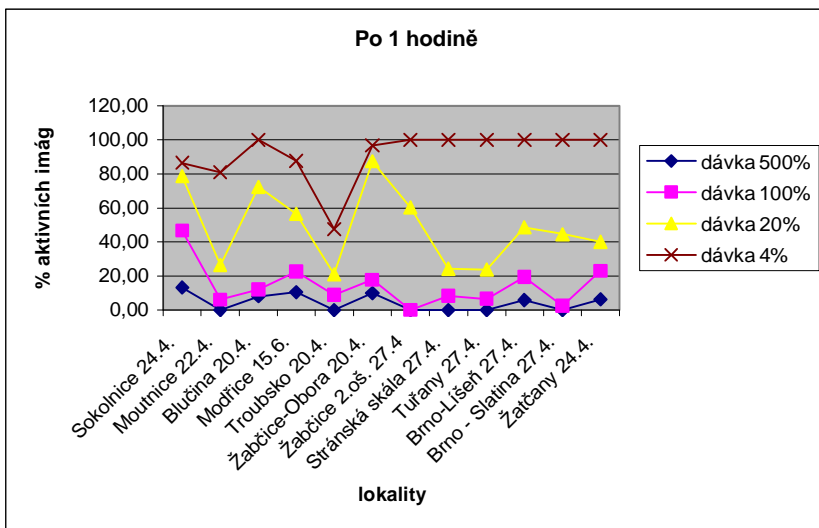
Graf 1 Sokolnice- vývoj mortality po 1, 5 a 24 hodinách



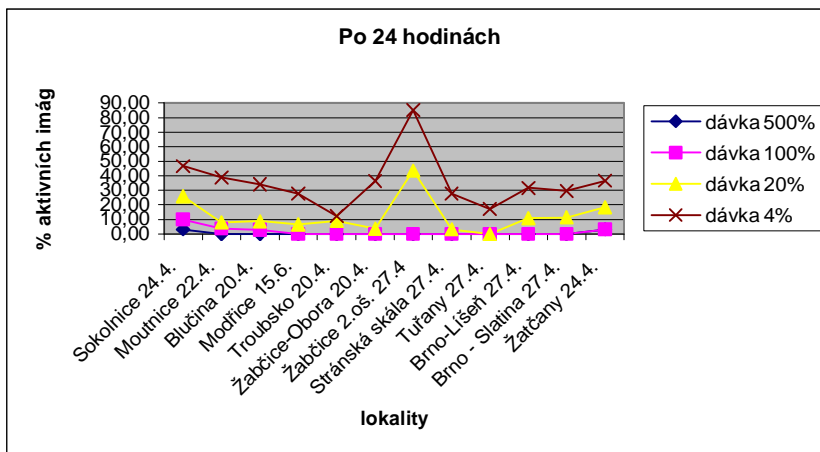
Graf 2 Aktivní imága po 5 hodinách



Graf 3 Aktivní imága po 1 hodině



Graf 4 Aktivní imága po 24 hodinách



ZÁVĚR

Na žádné ze sledovaných lokalit nebyla zjištěna plně rezistentní populace blýskáčků, rovněž tak nebyly zjištěny populace plně citlivé k pyretroidům. Na lokalitě Žabčice, kde proběhlo testování před i po ošetření pyrethroidem, jsou zde změny v citlivosti populací. Populace testovaná před ošetřením je citlivější k účinné látce než populace po ošetření. Je zde však jistá pravděpodobnost, že mohlo dojít i k náletu nových jedinců a ne jen k selekci jedinců z původní populace v daném porostu. Výsledná citlivost po druhém testování tak mohla být zkreslena.

LITERATURA

Müller A., Heimbach U., Thieme T.: Pyrethroid sensitivity monitoring in Germany of oilseed rape pest insects other than pollen beetle. OEPP/EPPO Bulletin 38, 2008: 85–90

Seidenglanz M., Poslušná J., Rotrekl J., Kolařík P., Havel J., Hrudová E.: První výsledky monitoringu výskytu rezistentních blýskáčků (*Meligethes aeneus*, Fabricius 1775) v České republice.

Seidenglanz, M., Poslušná, J., Hrudová, E., Havel, J., Rotrekl, J., Kolařík, P., Spitzer, T., Kolaříková, E., Mlýnská, J., Škutová, J.: Posuny v citlivosti blýskáčka řepkového (*Meligethes aeneus*) proti pyrethroidům v ČR. In ŠAFRÁNKOVÁ, I., ŠEFROVÁ, H. Sborník abstraktů XVIII. Česká a slovenská konference o ochraně rostlin. 1. vyd. Brno: MZLU v Brně, 2009, s. 171. ISBN 978-80-7375-316-0.

Wegorek P., Zamoyska, J.: Current status of resistance in pollen beetle (*Meligethes aeneus* F.) to selected active substances of insecticides in Poland Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 38, 2008, 91–94

IRAC Susceptibility Test Methods Series Method No: 11 Version: 1 Dostupné http://www.irac-online.org/crop_protection/methods.asp [1.10.2009]

THE FOOD PREFERENCE OF GRANARY WEEVIL (*SITOPHILUS GRANARIUS* L.) TO DIFFERENT WHEAT VARIETIES

Tóth P.¹, Hrudová E.¹, Vejražka K.²

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

²Research Institute for Fodder Crops, Zahradni 1, 664 41 Troubsko, Czech Republic

E-mail: Drumi@atlas.cz

ABSTRACT

The aim of this work are food preferences of granary weevil (*Sitophilus granarius*) to different varieties of wheat and evaluation of influence such as harvest year, growing locality and inner structure of grain palatability for granary weevils.

These varieties were used for food preference evaluation: Akteur, Clarus, Cubus, Darwin, Eurofit, Florett, Globus, Hedvika, Ludwig, Meritto, Rheia, Samanta, Sulamit and Svitava. The artificial infestation was used in experiment. The 50 randomly chosen specimens of weevils were used for each variant. The weevil population development according to growth of weevils number, the living rests as well as grains weight was evaluated 40, 70 and 100 days after infestation. We observed different variety preferences in our trial. The harvest year, growing locality and wheat variety had influence on palatability of grain for grain weevils.

Key words: Storage pests, stocks, granary weevil (*Sitophilus granarius*), winter wheat, grain quality

Acknowledgments: These results were supported by project no. MSM2629608001.

ÚVOD

Produkce kvalitních a zdravotně nezávadných surovin je jedním z hlavních cílů zemědělské praxe. Kvalita produkce může být výrazně snížena během skladování a to nejen nevhodnými skladovacími podmínkami, ale také z důvodu napadení skladovaného materiálu škůdci.

Škůdci zásob jsou zastoupeni zejména skupinami hmyzu a roztočů, kteří každoročně způsobují škody na skladovaných zemědělských produktech (např. obiloviny, olejiny) a na nejrůznějších výrobcích jako jsou mouka, krmné směsi a jiné potravinářské výrobky (STEHLÍK et al., 1984).

Dosud se jen málo autorů (např. STEJSKAL, 1998; WARCHALEWSKI, 1993) zabývalo problematikou chutnosti jednotlivých odrůd pro pilouse černého (*Sitophilus granarius*), jednoho z nejvýznamnějších škůdců skladovaného obilí v ČR. Současným zájmem výzkumu je převážně sledování vlivu poškození škůdci na kvalitu skladovaných produktů a míra ztrát.

Pokud by se však prokázal vliv odrůdy (fyzikální vlastnosti obilí, resp. kvalitativní složení zrna) na její palatabilitu (chutnost) mohlo by to vést k některým praktickým doporučením pro skladování zrna těchto odrůd zejména ve vztahu k jeho délce.

MATERIÁL A METODIKA

V experimentu byla použita populace dospělců pilouse černého (*Sitophilus granarius*) z laboratorního chovu MZLU v Brně. Laboratorní chov pilouse černého probíhal při teplotě 21 – 23 °C a relativní vlhkosti vzduchu 69 – 70 % a to jak chov udržovací, tak i pro experimenty s palatabilitou jednotlivých odrůd pšenice.

K pokusům a pozorování sloužila vybavená a větratelná laboratoř se stejnými podmínkami prostředí jako vlastní chov. Nutné pomůcky k pokusům a vyhodnocování výsledků: Skleněné nádoby o objemu 230 ml pro realizaci pokusných chovů, prázdné skleněné nádoby pro usnadnění manipulace s brouky, měkká pinzeta, Petriho misky, kádinky, síta pro prosévání obilí s průměrem ok 1,2 mm a 2 mm, laboratorní váhy.

V pokusu bylo použito osm odrůd pšenice obecné (*Triticum aestivum*) pěstované jako ozim v různých lokalitách České republiky. Volba odrůdy probíhala s důrazem na odlišné fyzikální vlastnosti zrna a pekařskou kvalitu. Pozorované odrůdy byly sklizeny v lokalitách: Čáslav, Hradec nad Svitavou, Oblekovice, Věrovany, Žabčice Obora, Žabčice Písky. Vlhkost zrna odrůd použitých v pokusu se pohybovala od 15 do 16 %. Vzorky pšenice s nižší vlhkostí byly dokrápěny na požadované procento vlhkosti destilovanou vodou.

Do skleněných nádob o objemu 230 ml bylo naváženo po 100 g pšenice obecné odrůd Akteur, Darwin, Globus, Hedvika, Ludwig, Rheia, Sulamit, Svitava vždy ve třech opakováních. Každá nádoba byla infestována 50 jedinci pilouse černého. Dospělci byli vybírání náhodně, nebylo rozlišováno pohlaví ani stáří brouků. 40, 70 a 100 dnů po infestaci byl vždy proveden odpočet dospělců pilouse černého a stanovena váha propadu v gramech. Propad byl stanoven proséváním na sítech o průměru ok 2 mm.

Vliv jednotlivých faktorů byl zhodnocen analýzou variance s následným testováním dle Tukeye na hladině významnosti 0,05. Vztahy mezi sledovanými ukazateli byly hodnoceny korelační analýzou. Všechna hodnocení probíhala v prostředí statistického programu Statistica v. 8.0.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Z výsledků korelační analýzy vyplývá, že se stoupajícím množstvím dospělců pilouse černého se obecně zvyšuje váha propadu po 40, 70 a 100 dnech pokusu (Tabulka 1).

Byl zjištěn statisticky průkazný vliv ročníku, odrůdy a lokality na váhu propadu. STEJSKAL a KUČEROVÁ (1994) ve svých experimentech uvádějí, že tvrdé, vysoce kvalitní, mlynářské odrůdy jsou 1,3 až 3 krát odolnější k napadení pilousem černým. Jako nejodolnější označili ve svých pokusech odrůdu pšenice tvrdé (*Triticum durum*) S-d-211. Podle tohoto tvrzení by měla být nejméně napadena odrůda Rheia a Sulamit (Tabulka 2, Tabulka 3), což se v našich pokusech nepotvrdilo. Průměrné váhy propadu po 100 dnech (Graf 1) ukazují tyto odrůdy jako spíše náchylnější k napadení. Naopak odrůdy s měkčí obilkou Akteur a Globus se chovaly odlišně. Odrůda Akteur byla napadána méně, zatímco odrůda Globus více (posuzováno vahou propadu).

Roky pěstování pšenice 2004, 2007, 2008 ovlivňovaly statisticky průkazně počet dospělců po 70 a 100 dnech pokusu. Nebyl zjištěn statisticky průkazný vliv odrůdy na počet dospělců pilouse černého. Byl zjištěn statisticky průkazný vliv lokality pěstování na počet dospělců 100 dní po infestaci.

Na základě výsledků mnoha autorů má rok sklizně a lokalita pěstování vliv na fyzikální a kvalitativní charakteristiky zrna pšenice. Kombinace těchto charakteristik ztěžují interpretaci výsledků.

ZÁVĚR

V experimentech bylo zjištěno, že odrůdy vykazují různou odolnost k infestaci (zamoření) pilousem černým (*Sitophilus granarius*). Již dříve uváděli KUČEROVÁ, STEJSKAL (1994) vliv odrůdy lišící se svým vnitřním uspořádáním na citlivost k napadení pilousem černým. Tato citlivost je dána vyšším procentem sklovitosti, vyššími hodnotami tzv. mokrého lepku a obsahu bílkovin.

Některé vnitřní charakteristiky zrna, které mohou někdy výrazně ovlivnit preferenci odrůdy pilousem černým a její citlivost k tomuto škůdci, jsou velmi podmíněně vnějšími podmínkami. Jiné jsou dány genetiky. Jelikož dochází v posledních letech k poměrně rychlým změnám na trhu s odrůdami, bylo by vhodné, i přes zjištěné závěry o preferencích pilouse černého, případně dalších důležitých skladištních škůdců k jednotlivým odrůdám, v pokusech pokračovat s novými odrůdami a zjistit, zda je hypotéza potvrzená experimentem u stávajících odrůd přijatelná obecně pro určité odrůdy s určitou hodnotou tvrdosti případně dalšími vhodnými ukazateli kvality.

LITERATURA

KUČEROVÁ, Z., STEJSKAL, V.: Susceptibility of wheat cultivars to postharvest losses caused by *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of plant Diseases and Protection*, June 1994, vol. 101, no. 6, p. 641-648

STEHLÍK, V. et al. (1984). *Naučný slovník zemědělský 5 n-o*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství-ústav vědeckotechnických informací, 759 s.

Ukazatele odrůdy Svitava [online]. [Česká republika] [cit. 10. října 2008]. Dostupné na World Wide Web: www.selgen.cz/pkmrjak.php

Tab. 1 Koefficienty korelace mezi váhami propadu a počty dospělců pilouse černého

Proměnná	Korelace (Tabulka1) Označ. korelace jsou významné na hlad. p < ,05000 N=27 (Celé případy vynechány u ChD)					
	vaha propadu po 40 dnech	počet brouků po 40 dnech	vaha propadu po 70 dnech	počet brouků po 70 dnech	vaha propadu po 100 dnech	počet brouků po 100 dnech
vaha propadu po 40 dnech	1,00					
počet brouků po 40 dnech	0,32	1,00				
vaha propadu po 70 dnech	1,00	0,29	1,00			
počet brouků po 70 dnech	0,15	0,24	0,15	1,00		
vaha propadu po 100 dnech	1,00	0,29	1,00	0,15	1,00	
počet brouků po 100 dnech	0,36	0,38	0,35	0,62	0,35	1,00

Tab. 2 Stupnice tvrdosti zrna obilnin

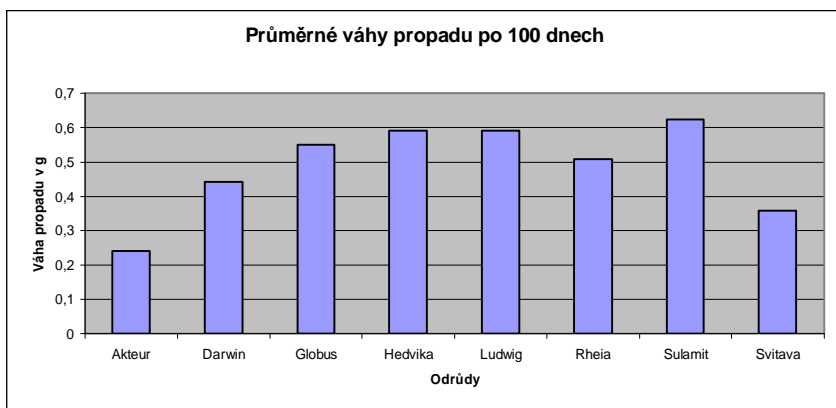
STUPNICE TVRDOSTI	PSI %
Extra tvrdá	pod 7
Velmi tvrdá	8-12
Tvrdá	13-16
Sřadně tvrdá	17-20
Sřadně měkká	21-25
Měkká	26-30
Velmi měkká	31-35
Extra měkká	nad 35

Tab. 3 Zařazení odrůd dle pekařské jakosti

Odrůda	Pekařská jakost	Tvrdost- PSI (%)
Akteur	E	14
Darwin	A	12
Globus	B	14
Hedvika	B	12
Ludwig	E	13
Rheia	B	10
Sulamit	E	11
Svitava	B	*

*- kvalitativní parametry této odrůdy byly zkoušeny Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským v letech 1998-2000 a nejsou dostupné bohužel všechny. Zdroj ze kterého byly údaje čerpány: www.selgen.cz/pkmrjak.php(2008)

Graf 1 Průměrné váhy propadu pozorovaných odrůd po 100 dnech



Obr. 1 Dospělec pilouse černého



Obr. 2 Dospělí brouci pilouse černého při požití obilí pšenice



YIELD OF BIOMASS AND NUTRIENTS AT THE RENEWED PASTURE

Urbanová P.¹, Veselý P.¹, Skládanka J.¹, Čáp J.²

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

²Agency for Nature Conservation and Landscape Protection of the CR, Kotlarska 51, 657 20 Brno, Czech Republic

E-mail: petra.urbanova@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of the study was to estimate the production of plant biomass of a test pasture and its nutritional values. This was realized in 2008 on the 6 ha pasture. The pasture was situated in the area of the "Drahanska Highlands" in the altitude of about 500 - 520 m. Since 2008, the part of the pasture grazed, another part moved. Two different biotopes for taking the samples were chosen to be able to assess the role of both production and non-productive grasslands. There were habitat with majority of graminoids (*Poa pratensis*, *Festuca pratensis*, *Dactylis glomerata*, *Trisetum flavescens* and *Cynosurus cristatus*) and habitat of common bentgrass with the majority of the herbs on the fallow land (*Agrostis capillaris*, *Hypericum perforatum* L., *Dianthus carthusianorum* and *Hieracium pilosella*). The productivity of grassland and nutrient composition from the samples collected from the yield's fences (4 m²) were evaluated. There were different fellings depending on productivity (graminoid's habit with 4 cuts, herb's habit with 3 cuts). These were taken in May, July, August and October. After the drtyny, the collected samples were tested for the quantity of dry matter, the fiber, the crude protein, the fat and the ash. Total yield of the biomass of the graminoid's habitat was 3 645 kg of dry matter per hectare and the herb's habitat 1 825 kg of dry matter per hectare. Higher crude proteins content was expressed in the habitat with grass community. Regarding this fact, higher content of non nitrogen extracted matter in habitat with a higher proportion of herbs was found.

Key words: production of biomass, nutrients

Acknowledgments: This work was prepared with the support of the Research project No. MSM6215648905 "Biological and technological aspects of sustainability of controlled ecosystems and their adaptation to climate change " granted by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

ÚVOD

Významnou složkou agrosystému jsou travní porosty, které kromě svojí produkční role se také významně podílejí na tvorbě krajiny a ochraně její biodiverzity (Veselý et al., 2009). V regionech s vyšším množstvím marginalních ploch se proto začínají rozšiřovat plochy trvalých travních porostů, respektive dochází k obnovování travních ploch, které byly dlouhodobě nevyužívané. Jako jedna z forem jejich obhospodařování se osvědčila pastva.

Pasení jako přímé zkrmování rostlinných druhů, které jsou schopné se rychle regenerovat a vegetativně lehce rozmnožovat, ovlivňuje travní porost jiným způsobem než kosení. Novák (2008) konstatuje, že ne všechny druhy rostlin jsou vhodné na krmení zvířat. Výživová hodnota pastevního porostu tak primárně závisí na floristickém složení a následně i na jeho růstové fázi. Základ pastevního porostu by proto měly do 70 % tvořit vysokohodnotné trávy, které svým obsahem živin nejvíce ovlivňují jeho nutriční hodnotu. Podle Veselého (2002) je výnos a kvalita pastevních porostů ovlivňována řadou vzájemně korelujících faktorů, z nichž mezi nejdůležitější je možno zařadit botanické složení porostů, hnojení a ošetřování pastevní plochy, způsob využití porostů a vývojové stádium při jejich spásání.

Louky a pastviny poskytují velké množství krmiva při minimu investované energie (Rychnovská et al., 1985). Travní porosty jsou i bez pratotechnických zásahů schopné poskytovat každoročně 1,5 – 3 t ha⁻¹ sena (Holúbek et al., 2007). Dodává-li se jim jen minimum energie jednou až dvěma sečemi bez zásahu do drnu, zůstanou ve formě stabilizovaných květnatých luk, u kterých nabývá na významu jejich mimoprodukční role. Při dodání většího množství energie vzniknou píceinářské, nutričně kvalitní a výnosné porosty (Veselý et Skládanka, 2008). Rozdílný management uplatňovaný při využití travních porostů významně ovlivňuje jejich produkční i nutriční potenciál. Hejduk et Mládek (2005) uvádí, že uvedený rozdíl mezi pící druhově bohatých travních porostů a pící z intenzivních travních porostů je způsoben především nízkou zásobou přijatelných živin v půdě (zejména P), která limituje výskyt nutričně hodnotných kulturních druhů trav a jetelovin a následně i produkční potenciál porostů. Jako pozitivní faktor naopak uvádí, že kvalita píce u druhově bohatých travních porostů neklesá tak rychle jako u kulturních porostů, což může umožnit oddálení první sklizně bez ekonomických ztrát pro chovatele.

MATERIÁL A METODIKA

Posouzení výnosu nadzemní části biomasy a nutriční hodnoty trvalých travních porostů bylo prováděno v roce 2008 na cca 6 ha pastvině na farmě u Šebetova. Pastvina leží v nadmořské výšce 500-520 m Drahanské vrchoviny a spadá do významného krajinného prvku „Kráváčův žleb“. Jedná se o obnovenou pastvinu mezofytního charakteru, s občasně vyskytujícími se podmáčenými místy. Pastvina tvoří mozaiku esteticky velmi působivých trvalých vegetačních forem extenzivních luk a pastvin s vysokým podílem jednotlivě i skupinovitě rozptýlené dřevinné vegetace. Od roku 2008 je část pastviny ve vegetačním období přepásávána, další část kosena.

Pro možnost posouzení produkční i mimoprodukční role travních porostů byly pro odběr jejich vzorků vybrány 2 odlišné biotopy. Stanoviště s převažujícím zastoupením travního společenstva (lipnice luční – *Poa pratensis*, kostřava luční – *Festuca pratensis*, srha laločnatá – *Dactylis glomerata*, trojštět žlutavý – *Trisetum flavescens* a pohánka hřebenitá – *Cynosurus cristatus*) a stanoviště psinečkového lada s převažujícím zastoupením bylinného patra (psineček obecný – *Agrostis capillaris*,

třezalka tečkovaná - *Hypericum perforatum L.*, hvozdík kartouzek - *Dianthus carthusianorum* a jestřábník chlupáček - *Hieracium pilosella*).

Produktivita porostů a nutriční skladba byly hodnoceny ze vzorků odebíraných z výnosových ohrad o velikosti 4 m². V závislosti na produktivitě (růstové dynamice) byly pak porosty odebírány 4x (1. stanoviště) a nebo 3x (2. stanoviště) za rok, vždy ve fázi pastevní zralosti. Odběry byly realizovány v měsíci květnu, červenci, srpnu a říjnu. Z odebrané hmoty byl po jejím zvážení odebrán poměrný vzorek na stanovení její nutriční hodnoty. Po usušení bylo u odebraných vzorků stanoveno množství sušiny, vlákniny, dusíkatých látek, tuku, popela, Ca, P, Na, K, Mg, Fe, Mn, Cu a Zn. (Anonym, 2008). Předkládaná práce se zaměřuje jen na vybrané ukazatele – výnos porostu a z nutričních charakteristik na obsah sušiny v porostu a obsah N-látek, vlákniny, tuku, popele a BNLV v sušině porostů.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Území České republiky leží v oblasti přechodného středoevropského klimatu, kde se roční produkce sušiny píce z travních porostů pohybuje zhruba od 0,5 do 15 t.ha⁻¹ v závislosti na ekologických podmínkách, obhospodařování a hnojení. Průměrné výnosy nehojených pastvin se pohybují od 2 do 4 t sušiny.ha⁻¹ (Pavlů et al., 2006).

Přehled výnosu nadzemní biomasy a její nutriční hodnota (obsah sušiny a vybraných organických a anorganických živin) jsou uvedeny v tabulce 1.

Tab. 1 Hodnoty živin a výnos biomasy vyjádřené v absolutní sušině při jednotlivých sečích (Šebetov, 2008)

Ukazatel	Stanoviště ¹⁾						
	1.			2.			
	Seč ²⁾						
	I	II	III	IV	I	II	III
	Obsah sušiny v porostech (g/kg)						
Sušina	247,0	415,6	291,9	255,1	337,4	315,9	378,3
	Obsah živin v sušině porostů (g/kg)						
N-látky	198,4	76,4	137,8	152,5	145,0	108,5	119,0
Vláknina	208,4	310,9	287,2	249,7	229,7	269,7	248,8
Tuk	50,7	30,8	39,8	51,7	41,9	39,0	49,3
BNLV	471,5	518,8	450,1	451,3	514,1	504,2	501,6
Popel	71,1	63,1	85,1	94,7	69,3	78,6	81,3
	Výnos sušiny (kg.ha ⁻¹)						
Výnos	690,4	2010,7	561,2	382,7	549,1	860,7	415,2

- 1) stanoviště 1: s převahou travního společenstva
stanoviště 2: psinečkového lada s převahou bylinného patra
- 2) stanoviště 1: I - květen, II - červenec, III - srpen, IV - říjen
stanoviště 2: I - květen, II - srpen, III - říjen

Celkový výnos sušiny jednotlivých sečí pro stanoviště s travním společenstvem činil 3 645 kg.ha⁻¹ a u stanoviště psinečkového lada 1 825 kg.ha⁻¹. Rozdílný výnos z jednotlivých stanovišť vykazuje interakci mezi botanickou skladbou daných stanovišť a tím také rozdílnou produkční schopnost. Podle Hraběte et Buchgrabera (2009) trvalá společenstva polopřirozeného charakteru představují porosty s kombinovanou produkční a ekologickou funkcí. Charakteristická pro extenzivnější využívané porosty je široká druhová diverzita se 40 - 80 druhů, s převahou travní složky v produkci, malým podílem jetelovin (5 – 15 %) a 20 - 30 % bylin, a stabilizovanou produkční a kvalitativní úrovní. Nachází se většinou na tzv. absolutních stanovištích bez rekultivačního zásahu, s nižší přirozenou půdní úrodností, často kolísavým vodním režimem, s produkcí v rozmezí 3,5 t sena z 1 ha bez hnojení a až 7 – 10 t sena při semioptimální úrovni hnojení. Homolka (2000) ve své práci na obnovené horské pastvině v Krkonoších uvádí hodnotu výnosu travní hmoty ze dvou sečí 6 646 kg.ha⁻¹ sušiny, což vzhledem ke klimatickým podmínkám dané lokality shledává jako poměrně vysokou produkci. Podle Mládky a Hejcmana (2006) výnos sušiny nehnojených travních porostů mezi hodnotou 2 - 5 t.ha⁻¹ odpovídá trojštětovým loukám a mezi hodnotou 0,5 - 1,5 t.ha⁻¹ odpovídá mlíkovým trávníkům.

Co se týká sušiny má stanoviště psinečkového lada s převahou bylinného patra vyšší obsah sušiny při jednotlivých sečích než stanoviště s převahou travního společenstva. Obsah sušiny je u stanoviště s převahou trav vyšší jen při druhé červencové seči, která ale není adekvátně srovnatelná s psinečkovým stanovištěm, protože v daném měsíci nebyla odebrána. Vyšší obsah sušiny u těchto porostů může být způsoben stanovištními podmínkami zejména výskytem suchých živinami chudých půd, což ve své práci zjistil také Pozdíšek et al (2001).

Vyšší obsah dusíkatých látek se projevil u stanoviště s travním společenstvím. Adekvátně k této skutečnosti byl zjištěn vyšší obsah BNLV u porostů s vyšším zastoupením bylin. Vyšší obsah vlákniny stanoviště s převahou travní vegetace při červencové 2. seči mohl být dán raností přítomných druhů trav, která byla spojená s rychlejším stárnutím porostu, k čemuž došel také Holúbek et al. (2007). Tato seč se vyznačovala nejvyšším výnosem v porovnání s ostatními sečemi a měla také nejvyšší obsah BNLV, což bylo na úkor obsahu dusíkatých látek, které měly při této seči nejmenší hodnotu.

ZÁVĚR

Výsledky z tohoto příspěvku ukazují první rok hospodaření na obnovené pastvině u Šebetova. Výnos a kvalita píce ze stanoviště s převažujícím travním společenstvem se značně liší od píce z porostů psinečkového lada, kde je převaha bylinné vegetace. Vzhledem k nižší zásobě přijatelných živin v půdě psinečkového lada je zde limitována produkce a výskyt nutričně hodnotných kulturních druhů trav a jetelovin. Důležité bude sledovat další vývoj ve složení a nutriční hodnotě porostů tohoto biotopu ve vazbě na měnící se klimatické podmínky a v daných souvislostech se snažit najít optimální formu jejich managementu.

LITERATURA

ANONYM 2008 : Příloha k vyhlášce Ministerstva zemědělství č. 356/2008 Sb., Praha

Hrabě F., Buchgraber K. Pícníářství : *Travní porosty*. 2.vyd. Brno: ediční středisko MZLU v Brně, 2009. 154 s. ISBN 978-80-7375-305-4

Hejduk S., Mládek J. Kvalita píce méně produktivních typů trvalých travních porostů. In: Pastva jako prostředek údržby trvalých travních porostů v CHKO, zpráva k projektu VaV/620/11/03. Brno: MZLU 2005

Holúbek R., Jančovič J., Gregorová H., Novák J., Ďurková E., Vozár L. Krmovinárstvo-manažment pesovania a využívanía krmovín. 1.vyd. Preividza: Patria I. spol. s.r.o., 2007. 419 s. ISBN 978-80-8069-911-6

Novák J. Pasienky, lúky a trávničky . 1.vyd. Preividza: Patria I. spol. s.r.o., 2008. 708 s. ISBN 978-80-85674-23-1

Pavlů V., Gaisler J., Hejzman M. *Přírodní podmínky pro využití pastvy v ČR*. In: Mládek, J., Pavlů, V., Hejzman M., Gaisler, J. Pastva jako prostředek údržby trvalých travních porostů v chráněných územích. Praha: VÚRV Praha, 2006. 104 s. ISBN 80-86555-76-3

Pozdíšek J., Kohoutek A., Nerušil P., Odstrčilová V., Jakešová H. Forage Quality from Sequential Sampling Dates of Grasses and Legumes. (Kvalita píce u trav a leguminóz v závislosti na postupném vzorkování). In: Proceedings from 10th int. symp. „Forage konservation“, Brno: MZLU, 2001.

Rychnovská M., Balátová-Tuláčková E., Úlehlová B. Ekologie lučních porostů. Praha: Academia, 1985, 291 s.

Veselý P. Povrchová úprava pastvin. *Farmář*. 2002. sv. 8, č. 4, s. 28-30. ISSN 1210-9789.

Veselý P., Čáp J., Borkovcová M., Pospíšil J., Skládanka J., Urbanová P. Management využití trvalých travních porostů ve vztahu k udržitelnosti vybraných ekosystémů Moravského krasu. In: Management travních porostů krasových oblastí. Brno: MZLU, 2009. ISBN 80-86555-76-3

Veselý P., Skládanka J. Pastva v méně příznivých oblastech. *Zemědělec*. 2008, roč. 16, č. 10, s. 12-13. ISSN 1211-3816.

Section – Animal Production

INFLUENCE OF FEEDING RATION ON VALUES OF BLOOD PARAMETERS OF COWS ON FIRST LACTATION AND DAIRY COWS IN PERIOD AFTER CALVING

Balabánová M., Urbanová P., Lohniský A., Zeman L.

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

E-mail: xbalaba1@node.mendelu.cz

ABSTRACT

We would like to find out if there are appreciable level differences of blood parameters between cows on first lactation and dairy cows in the case that they receive the same food ration.

We analysed only ten blood parameters. They were triglycerides (TG), amylase, gamma glutamyltransferase (GGT), alkaline phosphatase (ALP), bilirubin, urea, haemoglobin, glutamate pyruvate transaminase (GPT, alanine aminotransferase), glutamate oxaloacetate transaminase (GOT, aspartate aminotransferase) and glucose

Our experiment was realized on school agricultural farm Žabčice. We had 11 cows of Holstein breed for our observation (5 cows on first lactation and 6 cows on third lactation) in time after calving (7 days after). We took blood to test tube with lithium heparin from *vena caudalis mediana*. These specimens were analysed by Reflovet Plus at laboratory of Mendel University.

During our observed, there were found to be exceeded physiological limits three-times. They were cases of TG, level of bilirubin and level of glucose. Physiological interval of TG is 0.17 - 0.51 mmol/l (cows had 0.8 mmol/l and cows on 1st lactation had 1.032 mmol/l), physiological limit of bilirubin is 8.6 µmol/l (cows had 13.38 µmol/l and cows on 1st lactation had 9.56 µmol/l). Higher values than normal are sign of dystrophy of liver, hepatic failure or icterus hemolyticus. Physiological interval of glucose is 3.5 - 5.8 mmol/l (cows had 2.71 mmol/l, cows on 1st lactation had 3.39 mmol/l).

Others limits were adhered. Physiological limit of GGT is 0.77 µkat/l, we do not afraid of cholestasis, because cows had 0.430 µkat/l and cows on first lactation had 0.361 µkat/l. Physiological limit of urea is 7.7 mmol/l (cows had 3.90 mmol/l and cows on first lactation had 3.52 mmol/l). Physiological interval of haemoglobin is 5.6 - 8.7 mmol/l (cows had 7.38 mmol/l and cows on first lactation had 7.01 mmol/l), physiological limit of GPT is 0.7 µkat/l (cows had 0.288 µkat/l and cows on first lactation 0.231 µkat/l) and physiological limit of GOT is 3.48 µkat/l (cows had 1.84 µkat/l and cows on first lactation 1.83 µkat/l).

Key words: cow, cows on first lactation, blood parameters

Acknowledgements: Financial support from grant IG 290091 DP10/2009 is greatly acknowledged.

ÚVOD

V současné době, kdy jedním z nejzásadnějších problémů zemědělece je ušetřit peníze, se snažíme hledat co nejvíce důvodů jak ušetřit. Jedním z mnoha způsobů, jak k tomu dopomoci, je prodloužit životnost dojníc ve stádě. Zemědělci mají zkušenosti, že starší dojnice, zvláště ty vysokoprodukční, mají s vyšším věkem větší zdravotní problémy. Jak uvádí Matějček (2004), produkční choroby mají velmi často subklinický průběh a přetrvávají v organismu velmi dlouho. Ve chvíli, kdy jsou diagnostikovány na základě klinických projevů, bývá již často pozdě a organismus je již nevratně těžce poškozen. Dojnice se pak vyřazují ze stáda z důvodů jejich sterility, nižší užítkovosti, onemocnění paznehtů či onemocnění různých orgánů především trávicího traktu a jater.

Nejčastějšími poruchami po otelení a na začátku laktace jsou poruchy energetického metabolismu, metabolismu sacharidů a tuků (STAUFENBIEL, 2007).

Tato onemocnění lze pozorovat ze změn krevních komponent. Rádi bychom porovnali krevní parametry mladého organismu se starším, proto jsme se zaměřili na jalovice – prvotelky a dojnice, které se nacházely již na nejméně třetí laktaci. Sledování probíhalo v době 7. dne po otelení. Sledovali jsme, jak se stejná krmná dávka odrazí v krevních parametrech u různých starého organismu.

Analyzovali jsme pouze 10 parametrů : TG, amylasu, GGT, ALP, bilirubin, ureu, hemoglobin, GPT, GOT a glukosu.

Triacylglyceroly (TG) jakožto hlavní složky lipoproteinů hrají důležitou roli v metabolismu dojnice jako zdroje energie a přenašeče výživového tuku. Obsahují více než dvojnásobek energie (cca 40 kJ/g) oproti sacharidům a bílkovinám. Do krve se dostávají absorpcí ze střeva a hlavně syntézou v játrech. Triglyceroly určují stupeň hyperlipoproteinemie. Nízká hladina v krvi signalizuje narušení lipomobilizaci tuků, tvorbu a uvolňování lipoproteinů, jako transportní formy pro tuky v játrech. Tato situace nastává, pokud je narušena funkce jater, nebo se rozvíjí steatóza či při dlouhodobém nedostatku energie v krmné dávce. Oproti tomu vysoká hladina TG bývá způsobena zvýšeným příjmem energie, hlavně v podobě tuků, a zvyšuje se tak riziko tloustnutí krav.

Amylasy (1,4- α -D-glycanohydrolasa, EC 3.2.1.1) katalyzuje hydrolytický rozklad amylosy, amylopektínu nebo glykogenu. Rozlišují se 2 typy a to P-typ, pankreatický, a S-typ, který pochází ze slinných žláz. Jsou využívány především k diagnostice a monitoringu akutního zánětu slinivky. Nicméně hyperamylasemie se nemusí vždy vyskytovat při akutním zánětu pankreatu či projevu chronické pankreatitidy, může být i projevem poruch ledvin (např. poruchy filtrační), plicního nádoru, pneumonie, poruchy slinných žláz, nebo ketoacidózy.

Gamma glutamyltransferáza (GGT) je enzymem, který se sleduje ve vztahu k diagnóze a posuzování onemocnění jater a žlučových cest. Pokud je jeho hladina vyšší, může to znamenat probíhající cholestázu.

Alkalická fosfatáza (ALP) je zastoupena v mnoha tkáních – játra, kosti, střeva, či placenta. Vyšší aktivita je znamením poruch jater a trávicího traktu. Také se projevuje při osteopatiích u mláďat a při nekrózách pankreatu. Vyšší hodnoty ALP jsou vykazovány v posledním trimestru březosti krav. Kdy jsou jako izoenzymy produkovány placentou.

Bilirubin (BIL) vzniká během rozkladu erytrocytů v retikuloendotelovém systému. Hladina bilirubinu je opět indikátorem poruch jaterního metabolismu, nebo hemolytické anémie či těžké žloutenky. Zvýšení bilirubinu značí dystrofii jater a jeho vysoké hladiny mohou předznamenávat jaterní selhání, až hemolytický ikterus

Urea, jako finální produkt degradace bílkovin, který je syntetizován v močovinovém cyklu v játrech, je ukazatelem příjmu a metabolismu dusíku a také je ukazatelem funkce jater a ledvin. Vysoké hodnoty značí nízký absolutní nebo relativní nedostatek energie a lehce stravitelných cukrů za předpokladu přebytku dusíkatých látek a varují před poruchami vylučování ledvinami, dehydratací, ketózami, katabolismu svalové tkáně až narušení centrální nervové činnosti. Nízká hladina opět upozorňuje na dysbalanci v krmné dávce, a to na přebytek energie a na nedostatek dusíkatých látek.

Hemoglobin (HB) v krvi společně s dalšími parametry jako s hematokritem a počtem erytrocytů nám říká, jak funguje krevní oběh, který je tak důležitý pro chod organismu (přenos kyslíku, CO₂, pH krve atd.). Stanovení nízké hladiny samotného hemoglobinu může znamenat anemii, hydremii, hemoglobinurii, nebo může být způsobena chronickou otravou olovem. Na druhé straně vysoká hladina tohoto parametru indikuje dehydrataci či methemoglobinemii.

Glutamat pyruvat transamináza (GPT, alanin aminotransferáza, ALT) patří do skupiny transamináz a vyskytuje se ve všech orgánech (ledviny, srdce, kosterní svalstvo, slinivka, slezina, plíce), zejména pak v játrech. Zvýšená koncentrace je první známkou akutní hepatitidy a je zvýšená i při chronickém poškození jater. Může to však znamenat také svalovou dystrofii a poškození ostatních orgánů. Glutamat oxaloacetat transamináza (GOT, aspartat aminotransferáza, AST) patří do stejné skupiny jako GPT a také se nachází v mnoha tkáních organismu : především srdce, kosterní svaly a játra, důležitou roli má také pro mozek, ledviny, tukovou tkáň a trávicí trakt. Zvýšená aktivita je indikátorem akutního poškození jater a jiných orgánů, svalové dystrofie i poruch srdce.

Glukosa je hlavním monosacharidem v krvi a představuje nezbytný zdroj energie pro buňky. Některá glukosa jde přímo k využití pro mozkovou činnost či pro krevtvorbu, zbytek jde do jater a svalů, kde je přeměněna na glykogen, nebo je v tukové tkáni uložena jako tuk. Glykogen, coby zásoba energie, je v době krize přeměněn opět na glukosu a využit jako energetický doping. Sledování glukosy v krvi vede k diagnostice a hodnocení metabolismu sacharidů a poruch jako hypoglykémie. Vysoké hladiny se vyskytují vzácně a jsou dány většinou stresem či aplikací léčiv. Nízké hodnoty znamenají nedostatek pohotové energie v krmné dávce, nízkou tvorbu kyseliny propionové (prekurzor v bachoru), ketózu či hepatopatii.

Mohlo by to vypadat tak, že produkční poruchy jsou způsobeny pouze výživou, ale není to pravda. Na jejich příčinách mají vliv i jiné faktory, jako např. plemenná příslušnost, výše produkce, technologie ustájení a v neposlední řadě genetická vybava jedince atd.

MATERIÁL A METODIKA

Naše sledování probíhalo na školním zemědělském statku Žabčice, kde jsme měli k dispozici 6 krav, které se nacházely na minimálně 3. laktaci, a 5 prvotetek. Všechny dojnice byly zástupkyně Holštýnského plemene. Tento malý počet je dán tím, že se v dané době nenacházelo ve stáde větší množství jedinců, kteří by vyhovovali našim požadavkům.

V rámci zachování co největšího klidu a maximálnímu zabránění stresorů jsme sledované kusy ponechali v jejich původním stáde. Jelikož všech 11 pozorovaných dojnic se pohybovalo ve stejném boxu, měly stejné vlhkostní, teplotní i prostorové podmínky. Stejně tak byla stejná i krmná dávka (Tab 1.) a proudění vzduchu ve stáji.

Tab 1. Charakteristika složení krmné dávky (TMR) vztažená ke 100% sušiny.

	NL [%]	T [%]	VL [%]	P [%]	BNLV [%]
TMR	13,28	3,70	15,33	7,76	59,93

Odběry krve byly prováděny v době 7. dne po porodu u každé dojnice a odebraná krev byla smíchána ve zkumavce s heparinovým antikoagulantem (lithium heparin). Krev byla odebírána z *vena caudalis mediana*. Jelikož se odběry konaly v polovině dubna, kdy nebyly vysoké venkovní teploty, stačilo jen krevní vzorky řádně označit a odvést do laboratoří Ústavu výživy zvířat a pčínářství (Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně), kde byly zanalyzovány.

K rozborům krevních parametrů byl použit plně automatizovaný hematologický přístroj Reflovet Plus. Tento přístroj pracuje na principu reflekační fotometrie za použití reagenčních proužků. Pro každou analýzu krevního vzorku je třeba 30 µl krve, toto množství se aplikuje speciálně kalibrovanou pipetou. Výsledky byly zpracovány do tabulky a grafů.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Během našeho sledování jsme zjistili, že fyziologické hladiny byly překročeny celkem 3x, a to v případě hodnot u triglyceridů, bilirubinů a glukosy (Tab 2).

Tab 2. Naměřené hodnoty krevních parametrů u sledovaných jalovic a krav.

		TG [mmol/l]	AMYL [µkat/l]	GGT [µkat/l]	ALP [µkat/l]	BIL [µmol/l]	UREA [mmol/l]	HB [mmol/l]	GPT [µkat/l]	GOT [µkat/l]	GLU [mmol/l]
Krávy	1	0,800	1,93	0,269	0,639	8,55	3,33	6,86	0,278	2,92	3,17
	2	0,800	1,05	0,326	0,549	32,70	3,33	7,89	0,305	1,34	2,33
	3	0,800	1,72	0,426	0,439	8,55	3,33	6,45	0,240	1,55	1,89
	4	0,800	4,01	0,374	0,755	8,55	5,43	6,97	0,308	1,59	3,86
	5	0,800	3,00	0,623	0,633	8,55	4,66	8,81	0,302	1,93	2,07
	6	0,800	3,54	0,563	0,949	8,55	3,33	7,28	0,294	1,73	2,94
	Průměr	0,800	2,54	0,430	0,661	13,38	3,90	7,38	0,288	1,84	2,71
SD	0,000	1,152	0,138	0,176	10,800	0,918	0,851	0,026	0,563	0,750	
Prvotelky	1	0,800	4,01	0,180	1,300	13,60	4,21	6,76	0,288	1,81	4,71
	2	0,800	3,41	0,446	0,842	8,55	3,33	7,67	0,162	1,78	4,35
	3	1,560	4,22	0,240	1,350	8,55	3,39	7,45	0,203	1,44	2,73
	4	0,800	1,55	0,667	1,280	8,55	3,33	6,59	0,208	1,86	2,60
	5	1,200	4,98	0,273	0,992	8,55	3,33	6,60	0,294	2,24	2,57
	Průměr	1,032	3,63	0,361	1,153	9,56	3,52	7,01	0,231	1,83	3,39
	SD	0,342	1,293	0,197	0,223	2,258	0,388	0,509	0,058	0,285	1,048

Jak parametry prvotek, tak i krav překračovaly limity, které jsou pro TG 0,17 - 0,51 mmol/l, u bilirubinu do 8,6 μ mol/l a u glukosy 3,5 - 5,8 mmol/l. Vyšší hladina TG může znamenat vyšší příjem energie (převážně tuků) a tloušťnutí krav, vyšší hladina bilirubinu poškození jater a nízká hladina glukosy v krvi může signalizovat nízkou dotaci energie v KD a tím nízkou produkci kyseliny propionové jako prekurzoru glukosy.

V tomto spojení, kdy je vysoký obsah TG, bilirubinu a nízký obsah glukosy by se však mohlo jednat o několik případů, proč tomu tak je. Za prvé je třeba si uvědomit, že se jedná o dojnice, které se nacházejí v poporodním období a na jejich organismus jsou kladeny vysoké nároky a nastupující vysokou laktací.

Druhým důvodem, který se na těchto fyziologických výkyvech může podílet je to, že vysoké hladiny bilirubiny jsou známkou poškození hepatocytů, které poté neplní správně svoji funkci a neprobíhá proces glukoneogeneze.

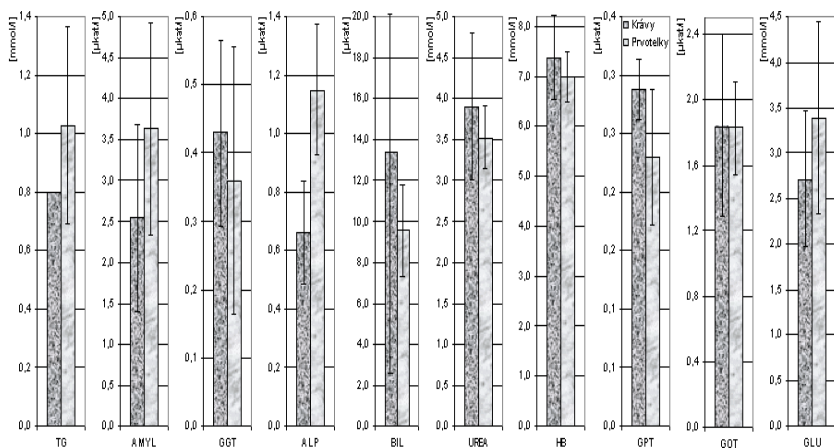
Stejně tak vysoké TG nemusí znamenat pouze energeticky nevyváženou krmnou dávku, nebo mohou být již ukazatelem probíhající lipolýzy. Triglyceridy podléhající lipolýze jsou štěpeny na glycerol a mastné kyseliny. Glycerol vstupuje do krve a je zachytáván v játrech nebo v ledvinách, kde se převádí stupňovitě přeměňuje až na glycerinaldehyd-3-fosfát, který vstupuje do glykolýzy a glukoneogeneze.

K potvrzení či vyvrácení těchto hypotéz by bylo třeba udělat další analýzy, které již nebyly k dispozici.

Další fyziologické limity byly již dodrženy. Pro GGT je to množství do 0,77 μ kat/l (hodnoty u krav byly 0,800 μ kat/l a u prvotek 1,032 \pm 0,342 μ kat/l), pro ureu do 7,7 mmol/l (krávy 3,90 \pm 0,918 mmol/l a prvotelky 3,52 \pm 0,388 mmol/l), hemoglobin má rozmezí 5,6 – 8,7 mmol/l (hodnoty krav byly 7,38 \pm 0,851 mmol/l a prvotek 7,01 \pm 0,509 mmol/l), GPT do 0,7 μ kat/l (krávy měly 0,288 \pm 0,026 μ kat/l a prvotelky 0,231 \pm 0,058 μ kat/l) a GOT má fyziologický limit do 3,48 μ kat/l (krávy dosahovaly průměrných hodnot 1,84 \pm 0,563 μ kat/l a prvotelky 3,39 \pm 1,048 μ kat/l).

Průměrné hodnoty jsou lépe znázorněny v grafu 1.

Graf 1 Průměrné hodnoty krevních parametrů u jalovic a krav Holštýnského plemene.



Z grafu 1 je znatelné, že je statisticky průkazný rozdíl ($p < 0,05$) v hodnotách alkalické fosfatázy u jalovic a u krav. V tomto ohledu byla aktivita ALP u jalovic vyšší než u krav. Lze to vysvětlit například tím, že mladé prvotelky byly zařazeny mezi další dojnice a tím se zvýšila jejich pohybová aktivita, která má také vliv na zvýšené vyplavování ALP do krevního oběhu. Nebo je také možné, vzhledem k velké škále využití indikačních schopností tohoto enzymu, že prvotelky jsou zvířata, která ještě neukončila svůj růst a může u nich docházet k osteopatiím.

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 nastávají stále větší fyziologické a metabolické změny, které nakonec vyústí v abnormalitu diskutovanou jako metabolická dysfunkce (Van Saun, 2004). A protože všechna tato fakta je nutné brát v úvahu při konečném vyhodnocování jednotlivých výsledků metabolických testů, snažili jsme se stresové faktory co nejvíce eliminovat.

ZÁVĚR

V praxi bývá častým problémem dodržovat správnou technologii krmení, kdy se zapomíná nebo nedbá základních zásady výživy (zkrmování krmiv narušených nebo jiným způsobem znehodnocených). Se vzrůstající užitkovostí se také zvyšují požadavky organismu zvířete, které lze ovlivnit kvalitou krmné dávky. Při špatné kvalitě krmné dávky se to promítne na zhoršujícím se celkovém zdravotním stavu zvířete.

Z výsledků je patrné, že se ve stádě může projevit problém týkající se poruchy jaterní činnosti. Jsme si vědomi toho, že sledované množství dojnic není velké, ale jedná se o vzorek, který byl vybírán tak, aby byl reprezentativní. Naše závěry jsou poněkud nekompromisní, o to více však alarmující, protože sledované dojnice viditelně nevykazovali žádné problémy. Rádi bychom sledovali tuto skupinu i nadále a pozdější výsledky porovnali s výsledky, které již máme. Zastáváme totiž 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 (např. budoucí náklady na ztráty na mléčné produkci - úhynem zvířete) a na druhé spočítat finanční přínos po uplatnění preventivních opatření (např. přehodnocení krmné dávky).

Na základě těchto porovnávání si pak snad chovatel uvědomí, že je lepší krmit kvalitně, než později hradit finančně nákladnější léčbu zdravotních problémů způsobených nekvalitním krmním.

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

MATĚJÍČEK, M. Využití metabolických testů k hodnocení výživy u skotu . *Informační magazín VVS Veměřovice* [online]. 2004 [cit. 2009-

08-10], p. 2-3. Available from WWW: <http://www.vvs.cz/vvs_info/jaro2004>.

STAUFENBIEL, R. *Metabolické testy* [online]. 2007 [cit. 2009-08-10]. Available from WWW: <<http://www.genoservis.cz/layout.php>>.

VAN SAUN, R. J. Výživa a management krav v přechodovém období : klíč k úspěšné reprodukci stáda. In *Sborník referátů z odborného semináře* . Hradec Králové : [s.n.], 17. 4. 2004.

THE CORN SILAGE DIGESTIBILITY BY HORSES

Blažková K.¹, Homolka P.¹, Maršálek M.²

¹Institute of Animal Science, Prague-Uhrineves, Czech Republic

²Faculty of Agriculture, University of South Bohemia in Ceske Budejovice, Czech Republic

E-mail: blazkova.katerina@vuzv.cz

ABSTRACT

Four mares were used in experiments to determine *in vivo* dry matter (DM) digestibility of corn silage and to evaluate the new *in vitro* system, DAISY^{II} incubator, to determine nutrient compound of corn silage. Horses were fed thrice daily at the amount 20 kg corn silage per day. All the diets, refusals and faecal samples were collected. Samples were analyzed for contents of DM, crude protein (CP), crude fiber (CF), organic matter (OM), crude fat, neutral detergent fiber (NDF) and acido detergent fiber (ADF). Further, faecal samples were taken from each horse to form inoculum. Forty nylon bags (0.25g corn silage) were placed in each vessel, and *in vitro* fermentation was carried out for 48 h to determine DM, CP, CF, OM, crude fat, NDF a ADF. Partial results from Exp. I indicated that nutrients composition of corn silage corresponding with previous determination of other authors. The estimation of DM and OM digestibility is comparable only with data for ruminants, which showed that horses have lower DM and OM digestibility of corn silage than ruminants. Probably this caused the fact that the ruminants have better digestion apparatus. *In vitro* method is still analyzed.

Key words: horses, digestibility, corn silage, *in vitro* system,

Acknowledgments: Supported by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic (Project MZE 0002701404) and the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (Project MSM 6007665806).

INTRODUCTION

Horses are classified anatomically as nonruminant herbivores or hindgut fermenters. Although horses can use hay and other roughage much more efficiently than do other nonruminants such as poultry or pigs, this ability is limited by the anatomy of the equine digestive tract and is less efficient than that of ruminants (Zeman, 2006). The stomach of the horse is small in relation to the size of the animal and makes up only 10% of the capacity of the digestive system. The small intestine of the horse is the major organ of digestion in the horse. There are many components to this digestive process.

The site of fermentation in horses is the cecum and large intestine, where large numbers of microorganisms digest hemicellulose and cellulose, utilize protein and nonprotein nitrogen, and synthesize certain vitamins. The by-products of this microbial fermentation provide the horse with source of energy and micro-nutrients. (Meyer and Coenen, 2002). The cecum and large colon are analogous to the rumen of the cow and sheep, and house billions of bacteria and protozoa which serve in a symbiotic relationship with the horse enabling the digestion of cellulose and other fibrous fractions of the feed (Pagan, 1998). The *in vivo* methods are optimal for determination and assessment digestibility of feedstuff for horses, but the ethics, high costs and labor intensiveness of determining the digestibility of feeds *in vivo* have led to the use of alternative, laboratory based techniques. (Stern et al., 1997). The use of *in vitro* fermentation procedures to study diet digestion and fermentative end products has become increasingly more popular in equine nutrition. The equine faeces is a suitable source of microbial inoculum for *in vitro* gas production studies and that *in vitro* batch culture technique evaluated has considerable potential as a routine predictor of the nutritive value of a wide range of equine feedstuffs (Lowman et al., 1999). Ringler et al. (2005a,b) reported that the combined use of equine faecal inoculum with a closed-system fermentation apparatus (Daisy^{II} incubator) yielded valid *in vitro* estimates of dry matter (DM), neutral detergent fiber (NDF), and acid detergent fiber (ADF) digestibility. The Daisy^{II} is an effective system for measuring *in vitro* DM digestibility and this system is more labor efficient than traditional methods and represents a significant advantage for analysis of forage, grain, and mixed samples (Holden, 1999). Brons and Plaizier (2005), King and Plaizier (2006) showed on their study that apparent *in vitro* DM digestibilities of grass/legume forages, grain crop silages, and TMR determined using the DAISY^{II} incubator are comparable with those determined using the Tilley and Terry method.

The objectives of this study were to determine *in vivo* dry matter digestibility of corn silage by horses and demonstrate that equine faeces is a suitable source of microbial inoculum for *in vitro* digestibility.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was performed at VÚŽV Uhřetěves, Czech Republic

Experiment 1 – in vivo

Four adult Czech Warmblooded mares with mean age of 11 yr (range 7 to 17 yr) and a mean initial body weight (BW) of 556 kg (range 500 to 585 kg) were used. Before the beginning of the experiment, all horses were dewormed, vaccinated, and their hooves were trimmed. The mares were kept

in individual stables 3.5 m x 4.0 m and were taken out daily for a 45-min exercise period between meals. During the diet-adaptation period (18 d), stables were bedded with sawdust. Horses had ad libitum access to fresh water and salt blocks. After the initial 18-d acclimation period, total faecal collections were conducted for 72 h. The corn silage was fed on an individual basis thrice daily (0700, 1300 and 1900) at the amount 20 kg per day (7 kg, 5 kg and 8 kg). Faeces were collected immediately after excretion and store daily for total weight determination and then a 10% representative sample for individual animals. All the diets, refusals and faecal samples were preserved in sealed polyethylene bags stored in freezers until chemical analyses.

Chemical analysis

Freeze-dried samples were analyzed for contents of DM, crude protein (CP), crude fiber (CF), crude fat, NDF, ADF. DM was determined after drying at 105 °C (Regulation No. 497/2004, 2004). Crude fat was extracted for 6 h with petroleum ether, whereas the Kjeldahl method was used to determine nitrogen (N) (AOAC, 1990). Crude protein was calculated as $N \times 6.25$. NDF, ADF were determined according to the methods of Van Soest et al. (1991) using an ANKOM 220 Fibre Analyzer (ANKOM Technology Corporation, NY, USA, 1998a,b).

Experiment II – in vitro

In vitro fermentation was carried out for 48 h using the Daisy II incubator. The complete unit consisted of 4 incubation vessels with a capacity of 2 litres each. Each vessel contained 1.6 L of buffer solution, 0.4 L of faecal inoculum, and 10 nylon bags. Grab samples were obtained throughout the acclimation period. These samples were ground to pass a 2-mm screen (RESCH Mill, Verder Praha s.r.o.). Ten nylon filter bags (Ankom F57, Ankom Technology, Fairpost, NY, USA, 1998a,b) per incubation vessel were rinsed in acetone and allowed to air dry. Bags were then placed into a 100°C oven for 24 h, after which their weight was recorded. A 0.25-g diet were weighed into 10 bags each, then heat-sealed. The microbial inoculum was prepared by collecting fresh faeces via a rectal grab sample using palpation sleeves. Faecal samples were placed into an air-tight freezer bag to maintain an anaerobic environment and transported to the laboratory in a cooler containing warm (39°C) water. Once in the laboratory, faeces from

each horse were prepared separately. A 40-g sample of faeces was placed in a blender with 360 mL of warm, distilled water. Samples were blended for 2 min while being gassed with CO₂, then strained through a double layer of cheesecloth directly into the prewarmed incubation jars (Hayes et al., 2003).

Each fermentation jar contained 400 mL of faecal inoculum and 1.600 mL of buffer solution. Buffers consisted of 2 solutions that were combined in the incubation jars immediately before the faecal inoculum. Buffer solution A (KH₂PO₄, 13.3 g/L; MgSO₄ x 7 H₂O, 0.665 g/L; NaCl, 0.655 g/L; CaCl₂ x 2 H₂O, 0.133 g/L; and urea, 0.665 g/L) was added at 1.330 mL to 266 mL of buffer solution B (Na₂CO₃, 15.0 g/L a Na₂S x 7H₂O, 1.0 g/L) to obtain a final pH of 6.8. The faecal inoculum was then added to each fermentation jar, after which the jars were purged with CO₂ for 30 s and then sealed. The sealed jars were placed into the prewarmed Daisy II incubator. The incubator maintained a constant temperature of 40°C throughout the incubation, and the jars were continuously agitated. The jars were

removed after 48 h, and the filter bags were immediately rinsed for 30 min with cold water to stop microbial activity.

RESULTS AND DISCUSSION

The nutrient composition of the test corn silage is presented in Table 1. Zeman et al. (1995) reported the same values for CP (8.79%), CF (25.76%) and fat (4.24%) for corn silage with 33% of DM content. But there is missing data about ADF and NDF. The average daily intake of corn silage was 15.6 kg for each horse. This result is in line with authors Meyer and Coenen (2002) whose recommended for riding horses 2 – 4 kg of corn silage on 100 kg BW. The same amount confirm Sitárová et. al (2009). The digestibility of DM and OM are presented in Figure 1 and Figure 2. These values are not possible to compare with others studies because there are no values of in vivo corn silage DM digestibility for horses. During these experiments none of the mares showed any digestive problems.

The results from Experiment II are not available because the analysis still run.

Table 1. Nutrient composition of com silage used in experiments I, II

Item	100,0	34,7
	% of DM	% of DM
<i>Organic matter</i>	4,2	1,5
<i>Crude protein</i>	8,8	3,0
<i>Crude fiber</i>	15,3	5,3
<i>Fat</i>	3,0	1,1
<i>Neutral detergent fiber</i>	37,5	13,0
<i>Acido detergent fiber</i>	20,8	7,2

Figure 1. The values of corn silage dry matter digestibility

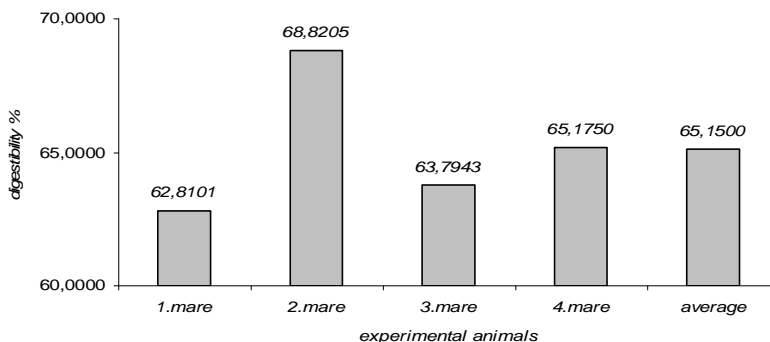
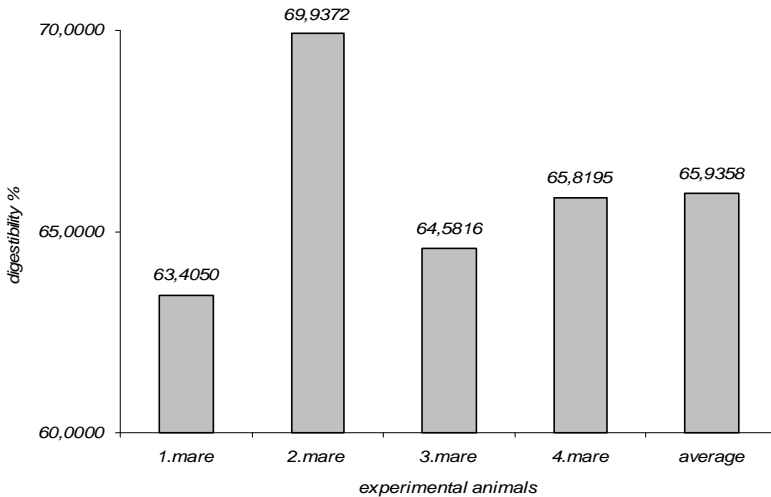


Figure2. The values of corn silage organic matter digestibility



CONCLUSION

The results of this study showed that corn silage is suitable feed for horses with dry matter digestibility 65.2%. But it is necessary to finishing the analyses and compare data with in vitro digestibility with Daisy^{II} incubator.

REFERENCES

Ankom Technology, 1998a: In vitro true digestibility using the Daisy II incubator. Frequently Asked Questions. Ankom Technology, Fairpost, NY, poslední revize 1.10.2003, dostupné z <http://www.ankom.com/10_faqs/faqs.shtml>

Ankom Technology, 1998b: Method for determining acid detergent fiber. Frequently Asked Questions. Ankom Technology, Fairpost, NY, poslední revize 1.10.2003, dostupné z <http://www.ankom.com/10_faqs/faqs.shtml>

AOAC (1990): Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists. 15th ed. Washington, USA

Brons, E. and Plaizier, J. C. 2005. Comparisons of methods for in vitro dry matter digestibility of ruminant feeds. Can J. Anim. Sci. 85: 243-245

Hayes, S., H. Werner, and L. Lawrence. 2003. In vitro assessment of fiber digestion capacity in foals. pp 273–274 in Proc. 18th Equine Nutr. Phys. Symp., East Lansing, MI.

- Holden, L.A., 1999: Comparison of methods of in vitro dry matter suggestibility for ten feeds. *J. Dairy Sci.*, 82, 1791-1794
- King, J. and Plaizier, J. C. 2006. Effects of source of rumen fluid on in vitro dry matter digestibility of feeds determined using the DaisyII incubator. *Can J. Anim. Sci* 86: 439-441
- Pagan, J.D. 1998. Forages for horses: More than just filler. pp13-41 in *Advances in Equine Nutrition*. J.D. Pagan, ed Nottingham Univ. Press, Nottingham, U.K.
- Lowman, R.S., Theodorou, M.K., Hyslop, J.J., Dhanoa, M.S.,Cuddeford, D., 1999.Evaluation of an in vitro batch technique for estimating the in vivo digestibility and digestible energy content of equine feeds using equine faeces as the source of microbial inoculum. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 80, 11–27
- Meyer H., Coenen M., 2002. *Pferdefütterung*. Georg Thieme Verlag, Berlin. pp 89-92., ISBN 3-8263-3398-5
- Regulation No. 497/2004 (2004): Requirements of samples taking, methods for estimation of the feeds, supplements and premixes and way of samples storage. Vollection of Law 2004. Czech Republic, part 172. (in Czech)
- Ringler, J., B. Cassill, S. Hayes, and L. Lawrence. 2005a: Comparison of in vitro digestibility estimates using the Daisy II incubator to in vivo digestibility estimates. pp 43–44 in *Proc. 19th Equine Sci. Soc.*, Tuscon, AZ.
- Ringler, J., B. Cassill, S. Hayes, and L. Lawrence. 2005b: Effect of incubation time on in vitro estimates of DM, NDF and ADF digestibility obtained using equine faeces as inoculum. pp 307–308 in *Proc. 19th Equine Sci. Soc.*, Tuscon, AZ.
- Sitárová et al.,2009. Possibilities of feeding corn silage to horses. *Ježdectví. Pražská vydavatelská s.r.o.*, Prague. pp 68-69., ISSN 1210-5406 (in Slovak)
- Stern, M.D., A. Bach, and S. Calsamiglia. 1997. Alternative techniques for measuring nutrient digestion in ruminants. *J. Anim. Sci.* 75:2256-2276.
- Van Soest P.J., Robertson J.B., Lewis B.A. 1991: Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.*, 74, 3583-3597
- Zeman, L., et al. 1995. *Feed Register*. VÚVZ Pohořelice. pp 465. ISBN 80-901598-3-4. (in Czech)
- Zeman, L., et al. 2006. *Nutrition and feeding of farm animal*. Profi Press, Prague. pp 360., ISBN 80-86726-17-7 (in Czech)

YEASTS IN DAIRY NUTRITION

Čermáková J.^{1,2}, Doležal P.¹, Kudrna V.²

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

²Institute of Animal Science, Pratelstvi 815, 104 00 Praha Uhřetives, Czech Republic

E-mail: xcerma19@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of yeast culture *Saccharomyces cerevisiae* in dairy nutrition. First the effect of the graduated dosing (0, 0.4, 0.6, 0.8 g) of the yeast culture on the in vitro digestibility of maize silage, lucerne silage and total mixed feed rations both in a rumen fluid and by a pepsin-cellulase method was studied. In laboratory experiments carried out no significant effect of the addition of yeast culture on in vitro digestibility of corn silage, lucerne silage and TMR was shown ($P > 0.05$).

Next the effect of the supplementation of two different yeast strains *Saccharomyces cerevisiae* in a diet on the milk yield, milk composition and health state of high producing dairy cows was examined. The 24 lactating dairy cows were allocated into three well balanced groups. Cows in the first experimental group were fed a supplement Biosaf Sc47 ("B"), cows in the second experimental group received a supplement Levucell 1020 ("L") and the last group of the cows was a control group ("K") without any supplementation of yeasts. All cows were fed a total mixed ration „ad libitum”. Dry matter intake, daily milk yields and the milk composition were recorded during the experiment. Although the addition of direct-fed yeast cultures in the ration of dairy cows did not increase the dry matter intake, there was a positive effect of yeasts on the increased daily milk yields when the group L produced in the average about 1.12 kg milk/day and the group B about 0.73 kg milk/day more than cows in the control group K ($P < 0.05$). On the other hand, the feeding of yeast cultures significantly ($P < 0.05$) decreased the milk fat content. Preferable seemed the yeast strain Sc1020, because cows fed the strain Sc1020 produced more milk, plus higher milk fat and protein to compare with cows receiving supplement Sc47. Differences between experimental groups however, were not statistically conclusive ($P > 0.05$). The addition of yeast cultures led to increased activity of cellulase in the rumen ($P < 0.05$). But there was no significant effect on the other observed physiological reference values in the rumen fluid and a blood serum.

Key words: yeast culture, rumen digestion, milk production, *in vitro*

Acknowledgments: This study was supported by the Research plan No. MSM 6215648905 „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 NAZV, The Czech Republic, as the project No. 1G46086.

ÚVOD

Kvasinky a kvasinkové kultury patří v současné době mezi nejrozšířenější mikrobiální krmná aditiva podávaná dojnícím. Jejich úkolem je ovlivnit bachorovou fermentaci žádoucím směrem, protože optimálně fungující bachor je klíčovou podmínkou vysoké užitkovosti a produkčního zdraví zvířat.

Výsledky dosavadních studií vlivu kvasinek na bachorovou fermentaci a užitkovost zvířat jsou ale často rozporuplné a nekonzistentní. Největší přínos kvasinkových kultur spočívá pravděpodobně v podpoře růstu a aktivity anaerobních, a zejména celulólytických, bakterií. Kvasinky využívají zbytkový kyslík v bachoru, který se do něho dostává především s krmivem, a udržují tak anaerobní prostředí (Calsamiglia et al., 2006; Wallace 1996). Navíc, odbouráváním lehce rozpustných cukrů kvasinkové kultury regulují rychlost fermentace a protože také stimulují bakterie využívající laktát, podílí se na stabilizaci pH v bachoru a omezují jeho kolísání v průběhu dne (Calsamiglia et al., 2006; Chaucheyras et al., 1995; Sauvant et al., 2007; Wallace, 1996; Williams et al., 1991). V důsledku zvýšené celulólytické aktivity v bachoru, často společně se zvýšením příjmu sušiny, se pak zvířeti dostává více živin i energie, umožňující zvýšení mléčné produkce. Řada autorů však nezaznamenala žádný pozitivní vliv kvasinkových kultur na příjem sušiny nebo na produkci a složení mléka u dojnic (Besong et al., 1997; Cooke et al., 2007; Dann et al., 2000; Soder a Holden, 1999; a další) a vliv kvasinek na zlepšenou stravitelnost krmiv je rovněž sporný. Novější výzkumy naznačují, že kvasinky produkují nízkomolekulární peptidy, které stimulují některé druhy bachorových bakterií (Denev et al., 2007; Girard a Dawson, 1995).

Při zařazení kvasinek do krmné dávky dojnic je však třeba věnovat pozornost výběru vhodného typu preparátu, protože ne všechny kvasinkové kmeny jsou schopny stimulovat bachorové trávení (Denev et al., 2007; Kutasi, et al., 2004, Newbold et al., 1996, Pinos-Rodríguez et al., 2008) a účinnost dané kultury dále závisí na podmínkách kultivace, koncentraci živých kvasinkových buněk (cfu) a dávce preparátu (Doležal, 2004).

Cílem experimentu bylo otestovat vliv kvasinkové kultury na stravitelnost organické hmoty vybraných krmiv *in vitro* a v dalším pokusu byl testován vliv dvou rozdílných kmenů *Saccharomyces cerevisiae* v krmné dávce vysokoužitkových dojnic na příjem sušiny, mléčnou užitkovost a fyziologický stav.

MATERIÁL A METODIKA

Studium vlivu kvasinek na stravitelnost organické hmoty vybraných krmiv *in vitro*

Vzorky kukuřičné siláže, vojtěškové siláže a směsných krmných dávek (TMR) o navážce 0,25 g byly inkubovány v přístroji Daisy¹¹ Incubator. Do digesčních nádob přístroje byl přidán termostabilní kvasinkový preparát Biosaf Sc47 v odstupňovaném dávkování 0; 0,4; 0,6 a 0,8 g. Po inkubaci v bachorové tekutině byla u vzorků stanovena neutrálně detergentní vláknina (NDF). Následně se vypočetla *in vitro* skutečná stravitelnost (IVTD) v původní hmotě a v sušině. Vedle stravitelnosti v bachorové tekutině byla u stejných druhů krmiv stanovena *in vitro* stravitelnost sušiny (DMD) a organické hmoty (OMD) prostřednictvím enzymů pepsin-celulázovou metodou.

Testování vlivu kvasinek na příjem sušiny a mléčnou užitkovost

Do pokusu bylo zařazeno 24 kusů dojnic holštýnského (15) a českého strakatého (9) plemene, které byly rozděleny do tří vyrovnaných skupin s ohledem na užitkovost, pořadí laktace, plemeno, živou hmotnost, apod. Na začátku pokusu byly dojnice průměrně 56 dní po otelení. Pokusné období trvalo 84 dnů. Krávy byly ustájeny volně v experimentální stáji vybavené počítačově řízenými krmnými boxy (RIC system). Pokusná skupina dojnic B dostávala v krmné dávce přípravek Biosaf Sc47 (s min. obsahem 8×10^9 CFU/g) v dávce 4 g/ks/den a pokusná skupina L přijímala doplněk Levucell Sc1020 (min. obsah 2×10^{10} CFU/g) v dávce 0,5 g/ks/den. Třetí, kontrolní skupina dojnic (K) žádný kvasinkový doplněk nedostávala. Dojnice byly krmeny 4x denně směsnou krmnou dávkou založenou na kukuřičné a vojtěškové siláži. Krmné dávky se zkrmovaly *ad libitum*. Zbytky byly vybírány po každém krmení. Krávy byly 2x denně dojeny v dojárně. V průběhu pokusu se sledovala spotřeba krmiv, resp. sušiny a průběh živé hmotnosti, kdy dojnice byly váženy po každém dojení. Vzorky mléka se odebíraly 1x týdně a byly analyzovány na obsah základních složek (tuku, bílkovin, laktózy a močoviny) a dále byla 3x v průběhu pokusu od všech dojnic jícní sondou odebrána bachorová tekutina a krev z ocasní žíly. V bachorové tekutině byla stanovena koncentrace těkavých mastných kyselin, pH a koncentrace amoniaku. U všech skupin byla sledována aktivita celulasy a počty nálevníků v bachorové tekutině. Analýzou krevní plazmy byly zjištěny koncentrace glukózy, celkových bílkovin, močoviny, cholesterolu, neesterifikovaných mastných kyselin (NEFA), Ca, P a Mg.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Průměrná *in vitro* stravitelnost v bachorové tekutině (IVTD) u všech druhů krmiv byla nejvyšší v kontrolní skupině (bez přídavku kvasinkové kultury), což se liší s výsledky pokusu Doležal et al. (2007), kteří zaznamenali po přídavku kvasinkové kultury *Saccharomyces cerevisiae* zvýšení *in vitro* stravitelnosti organické hmoty u TMR. Mezi stanovenými hodnotami IVTD, DMD a OMD v kontrolní skupině a s odstupňovaným přídavkem kvasinkové kultury však nebyl nalezen statisticky průkazný rozdíl ($P > 0,05$). Zjištěny byly pouze rozdíly ve stravitelnosti mezi jednotlivými druhy krmiv ($P < 0,05$), což mohlo být ovlivněno více faktory, jako je například chemické složení a způsob konzervace. Jouany (2001) konstatoval, že pozitivní vliv kvasinek spočívá spíše ve zvýšení příjmu sušiny, než ve zlepšení stravitelnosti.

Tab. 1 Průměrná *in vitro* stravitelnost kukuřičné siláže v bachorové tekutině (IVTD _{p.h.}) a pepsin-celulázovou metodou (DMD a OMD) (%)

Přídavek kvasinek	IVTD p.h.	DMD	OMD
0 g	84,50	81,51	79,69
0,2 g	84,07	79,25	77,40
0,4 g	82,64	81,19	80,42
0,8 g	82,87	80,13	78,33

Tab. 2 Průměrná *in vitro* stravitelnost vojtěškové siláže v bachorové tekutině (IVTD _{p.h.} a pepsin-celulázovou metodou (DMD a OMD) (%)

Přídavek kvasinek	IVTD p.h.	DMD	OMD
0 g	77,71	86,71	84,46
0,2 g	76,77	86,80	84,58
0,4 g	77,13	86,54	84,35
0,8 g	76,41	86,34	84,00

Tab. 3 Průměrná *in vitro* stravitelnost TMR v bachorové tekutině (IVTD _{p.h.} a pepsin-celulázovou metodou (DMD a OMD) (%)

Přídavek kvasinek	IVTD p.h.	DMD	OMD
0 g	82,63	86,44	85,55
0,2 g	82,04	86,15	85,14
0,4 g	81,63	85,14	84,20
0,8 g	81,04	85,88	84,96

Zařazení kvasinkových kultur do krmných dávek dojníc nevedlo ke zvýšení příjmu krmiv. Nejvyšší průměrný denní příjem sušiny (22, 80 kg/ks/den) vykázaly kontrolní dojnice (K), následovaly dojnice skupiny B s přídavkem kvasinkové kultury Sc1020 (22, 79 kg/ks/den) a nejnižší spotřebu sušiny měly dojnice ve skupině L s doplňkem Sc47 (22, 44 kg/ks/den). Rozdíly mezi skupinami nebyly statisticky průkazné ($P > 0,05$). Desnoyers et al. (2009), kteří porovnávali ve své srovnávací studii kvantitativní vlivy živých kvasinek na příjem krmiva, mléčnou produkci a bachorovou fermentaci, a i další autoři (např. Calsamiglia et al., 2006; Harrison et al., 2006; Nocek et al., 2001; Wallace, 1996) zaznamenali zvýšený příjem sušiny, ale v jiných experimentech, podobně jako v tomto pokusu, žádný pozitivní vliv kvasinkových kultur na příjem sušiny prokázán nebyl (Alshaikh et al., 2002; Garg et al., 2000; Soder a Holden, 1999; a další). Rozdílný příjem sušiny neprůkazně ($P > 0,05$) ovlivnil i příjem jednotlivých živin.

Ačkoli přídavek kvasinek nevedl ke zvýšení příjmu krmiva, projevil se na zlepšení mléčné užitkovosti, jak zaznamenali také Alshaikh et al. (2002) nebo Garg et al. (2000). Pokusná skupina L nadojila v průměru denně o 1,12 kg a skupina B o 0,73 kg mléka více než-li kontrolní skupina K ($P < 0,05$). Rozdíly v dojivosti mezi pokusnými skupinami statisticky průkazné nebyly ($P > 0,05$). Průkazné rozdíly ($P < 0,05$) mezi oběma pokusnými skupinami a mezi kontrolní skupinou a skupinou B však byly zaznamenány v produkci FCM. Nejvyšší tučnost mléka, obsah laktózy a koncentrace močoviny byla zjištěna u kontrolní skupiny. Neprojevila se zde tedy tendence ke zvýšení obsahu mléčného tuku, kterou uvádí Cooke et al. (2007) a Desnoyers et al. (2009). Významné ($P < 0,05$ až 0,001) byly zejména rozdíly ve složení mléka u pokusné skupiny B oproti kontrole. Skupina B vykazala kromě nejnižšího obsahu a produkce tuku i nejnižší produkci FCM, nejnižší obsah

bílkovin, nejnižší obsah laktózy a současně nejnižší koncentraci močoviny. Koncentrace močoviny v mléce byla u všech skupin v rámci fyziologického rozpětí.

Aktivita celulas v batoru byla u kontrolní skupiny na průměrné úrovni 8,922 $\mu\text{mol/ml/hod}$, zatímco u skupiny L 12,596 $\mu\text{mol/ml/hod}$ a u skupiny B 12,986 $\mu\text{mol/ml/hod}$. Počet nálevníků v batorové tekutině nebyl v pokusu ovlivněn, což konstatoval také Kamra et al. (2002). Zaznamenané hodnoty batorové tekutiny byly většinou v rámci fyziologických hodnot a s výjimkou koncentrace amoniaku nebyly mezi nimi nalezeny statisticky významné rozdíly. V případě koncentrace NH_3 v batorové tekutině byly zjištěny statisticky průkazné rozdíly ($P < 0,05$) u obou kmenů *Saccharomyces cerevisiae*, i když se zde mohl projevit i snížený příjem N-látek v krmné dávce oproti kontrolní skupině. Lepší využití NH_3 s následnou zvýšenou mikrobiální syntézou bílkovin po přidavku kvasinek uvádí Denev et al. (2007). Acidita batorové tekutiny byla jen nepatrně nižší u pokusných skupin, účinek kvasinek na stabilizaci batorového pH, který udávají například Desnoyers et al. (2009) a Mwenya et al. (2004), se tedy v tomto pokusu výrazněji neprojevil. Desnoyers et al. (2009) a i další autoři konstatují, že pozitivní vliv přidavku kvasinek na batorové pH stoupá s vyšším zastoupením koncentrátů v dietě a s hladinou příjmu sušiny.

U hodnot krevního séra nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi kontrolní a pokusnými skupinami.

Tab. 4 Průměrné hodnoty ukazatelů mléčné užitkovosti

Ukazatel	Skupina		
	K	B	L
Produkce mléka [kg/ks/den]	28,06	28,79	29,18
Obsah tuku [%]	4,34	3,69	4,00
Produkce tuku [kg/ks/den]	1,22	1,06	1,17
Produkce FCM [kg/ks/den]	29,53	27,41	29,18
Obsah bílkovin [%]	3,48	3,32	3,52
Produkce bílkovin [kg/ks/den]	0,98	0,96	1,03
Obsah laktózy [%]	4,84	4,76	4,79
Produkce laktózy [kg/ks/den]	1,36	1,37	1,40
Obsah močoviny [mmol/l]	4,32	3,93	4,17

Tab. 5 Průměrné hodnoty ukazatelů bacherové tekutiny

Ukazatel	Skupina		
	K	B	L
pH	6,51	6,54	6,57
Kys. octová	63,35	59,62	55,65
Kys. propionová	28,90	26,84	27,27
Kys. máselná	18,73	17,13	16,87
Celkové těkavé mastné kyseliny [mmol/l]	111,69	104,26	98,40
NH ₃ [mmol/l]	19,69	17,06	15,79

Tab. 6 Průměrné hodnoty ukazatelů krevního séra

Ukazatel	Skupina		
	K	B	L
Glukóza [mmol/l]	3,50	3,63	3,51
Celkové bílkoviny [g/l]	68,77	70,34	66,80
Močovina [mmol/l]	5,62	5,24	5,50
Celkové lipidy [g/l]	3,99	4,30	4,68
Cholesterol [mmol/l]	3,51	3,69	3,91
NEFA [mmol/l]	0,21	0,27	0,25

ZÁVĚR

V provedených laboratorních pokusech nebyl prokázán vliv přidavku kvasinkové kultury na *in vitro* stravitelnost organické hmoty kukuřičné siláže, vojtěškové siláže a TMR.

Přídavek kvasinkových kultur v krmné dávce dojnic nezvyšil příjem sušiny, ale měl pozitivní vliv na zvýšení průměrného denního nádoje mléka ($P < 0,05$). Současně však došlo ke snížení koncentrace mléčného tuku a u skupiny B i bílkovin v mléce oproti kontrolní skupině. Při porovnání účinku obou testovaných kvasinkových kultur na mléčnou užitkovost se výhodněji, zejména ve vyšší produkci FCM ($P < 0,05$), projevila varianta kvasinkového kmene Sc1020, zkrmovaná u pokusné skupiny L. Přídavek kvasinkových kultur se projevil ve vyšší aktivitě celulas v bacheru a snížení koncentrace NH₃ ($P < 0,05$). Ostatní zaznamenané hodnoty bacherové tekutiny a krevního séra byly většinou v rámci fyziologických hodnot a nebyl mezi nimi významný rozdíl.

LITERATURA

Alshaiikh, M. A., Alsiadi, M. Y., Zahran, S. M., Mogawer, H. H., Aalshowime, T. A. (2002): Effect of feeding yeast culture from different sources on the performance of lactating holstein cows in Saudi Arabia. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 15: 352-356.

Bach, A., Iglesias, C., Devant, M. (2007): Daily rumen pH pattern of loose-housed dairy cattle as affected by feeding pattern and live yeast supplementation. *Animal Feed Science and Technology*, 136(1-2): 146-153.

Besong, S., Jackson, J. A., Hicks, C. L., Hemken R. W. (1997): Effects of a supplemental liquid yeast product on feed intake, ruminal profiles, and yield, composition, and organoleptic characteristics of milk from lactating holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 79: 1654-1658.

Calsamiglia, S., Castillejos, L., Busquet, M. (2006): Alternatives to antimicrobial growth promoters in cattle. In Garnworthy, P. C., Wiseman, J. *Recent advances in animal nutrition 2005*. Nottingham, s. 129-167.

Cooke, K. M., Bernard, J. K., West J. W. (2007): Performance of lactating dairy cows fed whole cottonseed coated with gelatinized starch plus urea or yeast culture. *J. Dairy Sci.*, 90: 360-364.

Dann, H. M., Drackley, J. K., McCoy, G. C., Hutjens, M. F., Garrett, J. E. (2000): Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on prepartum intake and postpartum intake and milk production of Jersey cows. *J. Dairy Sci.*, 83: 123-127.

Denev, S. A., Peeva, Tz., Radulova, P., Stancheva, N., Staykova, G., Beev, G., Todorova, P., Tchobanova, S. (2007): Yeast cultures in ruminant nutrition. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 13: 357-374.

Desnoyers, M., Giger-Reverdin, S., Bertin, G., Duvaux-Ponter, C., Sauvant, D. (2007): Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. *J. Dairy Sci.*, 92: 1620-1632.

Doležal, J. (2004): Vliv termostabilního koncentrátu na bázi *Sacharomyces cerevisiae* (SC-47) na užítkovost a vybrané ukazatele bachorové fermentace krav. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně.

Doležal, J., Doležal, P., Vyskočil, I. (2007): Vliv přídatku kvasinkové kultury na in vitro stravitelnost organické hmoty směsných krmných dávek. In *Výživa dojnic a kvalita mléka (ekologické, zdravotní a hygienické faktory kvality a bezpečnosti mléka jako suroviny a potraviny)*. 1. vyd. Pohořelice, s. 57-61.

Garg M. R., Siddiqui, M. U., Singh, D. K., Bhandari, B. M. (2000): Effect of supplementing Yea Sacc-1026 in ration of Holstein Friesian cows on milk production. *Indian Journal of Animal Nutrition*, 17(2): 175-177.

Girard, I. D. and K. A. Dawson. (1995): Stimulatory activities from low-molecular weight fractions derived from *Saccharomyces cerevisiae* strain 1026. 23rd Biennial Conference on Rumen Function, Chicago, Illinois.

Chaucheyras, F., Fonty, G., Bertin, G., Salmon, J. M., Gouet, P. (1995): Effects of a strain of *Saccharomyces cerevisiae* (Levucell SC), a microbial additive for ruminants, on lactate metabolism in vitro. *Can. J. Microbiol.*, 42: 927-933.

Jouany, J. P. (2006): Optimizing rumen functions in the close-up transition period and early lactation to drive dry matter intake and energy balance in cows. *Animal Reproduction Science*, 96: 250-264.

Jouany, J. P. (2001): A new look at yeast cultures as probiotics for ruminants. *Feed Mix*, 9: 17-19.

Kamra, D. N., Chaudhary, L. C., Agarwal, N., Singh, R., Pathak, N. N. (2002): Growth performance, nutrient utilization, rumen fermentation and enzyme activities in calves fed on *Saccharomyces cerevisiae* supplemented diet, *Indian Journal of Animal Sciences*, 72: 472-475.

Kutasi, J., Jurkovich, V., Brydl, E., Könyves, L., Tirián, A. E., Bata, Á. (2004): Influence of different *Saccharomyces cerevisiae* strains on the oxygen concentration in the rumen fluid. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 13: 131-134.

McGilliard, M. L., Stallings, C. C. (1998): Increase in milk yield of commercial dairy herds fed a microbial and enzyme supplement. *Journal of Dairy Science* 81(5): 1353-1357.

Mwenya, B., Santoso, B., Sar, C., Pen, B., Morikawa, R., Takaura, K., Umetsu, K., Kimura, K., Takahashi, J. (2005): Effects of yeast culture and galacto-oligosaccharides on ruminal fermentation in holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 88: 1404-1412.

Newbold, C. J., Wallace, R. J., McIntosh F. M. (1996): Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants. *Brit. J. Nutr.*, 76: 249-261.

Nocek, J. E., Kautz, W. P., Leedle, J. A. Z., Block, E. (2003): Direct-fed microbial supplementation on the performance of dairy cattle during the transition period. *J. Dairy Sci.*, 86: 331-335.

Pinos-Rodríguez, J. M., Robinson, P. H., Ortega, M. E. Berry, S. L., Mendoza, G., Bárcena, R. (2008): Performance and rumen fermentation of dairy calves supplemented with *Saccharomyces cerevisiae* or *Saccharomyces boulardii*. *Animal Feed Science and Technology*, 140: 223-232.

Sauvant, D., Giger-Reverdin, S., Schmidely, P. (2007): Rumen acidosis: modeling ruminant response to yeast culture [online]. [cit. 15/09/2009]. Dostupné na: <http://en.engormix.com/MA-dairy-cattle/articles/rumen-acidosis-modeling-ruminant_378.htm>

Soder, K. J., Holden, L. A. (1999): Dry matter intake and milk yield and composition of cows fed yeast prepartum and postpartum. *J. Dairy Sci.*, 82: 605-610.

Tang, S. X., Tayo, G. O., Tan, Z. L., Sun, z. H., Shen, L. X., Zholu, C. S., Xiao, w. J., Ren, G. P., Han, X. F., Shen, S. B. (2008): Effects of yeast culture and fibrolytic enzyme supplementation on in vitro fermentation characteristics of low-quality cereal straws. *J. Anim. Sci.*, 86: 1164 -1172.

Tóthová, Z. (2008): Uplatnění in vitro techniky ke stanovení stravitelnosti vlákninového komplexu. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně.

Wallace, R. J. (1996): The mode of action of yeast culture in modifying rumen fermentation. In Lyons, T. P., Jacques, K. A. *Biotechnology in the Feed Industry: Proceedings of Alltech's Twelfth Annual Symposium*. 1. vyd. Nottingham, s. 217-232.

Williams, P. E., Tait, C. A., Innes, G. M., Newbold, C. J. (1991): Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers. *J. Anim. Sci.*, 69: 3016-3026.

Wohlt, J. E., Corcione, T. T., Zajac, P. K. (1998): Effect of yeast on feed intake and performance of cows fed diets based on corn silage during early lactation. *J. Dairy Sci.*, 81: 1345-1352.

INFLUENCE OF LACTATION SEQUENCE ON PERFORMANCE MILKS DAIRY COWS CZECH SPOTTED RACIAL BOVINE ANIMALS

Černý T., Chládek G.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00, Czech republic

E-mail: xcerny02@mendelu.cz

ABSTRACT

This work above all deal with owing to sequence lactation on performance milks near dairycows Czech spotted racial bovine animals.

Evaluation is conducted by near one's breeder double type different stable K - 166 a K - 360. Was analysed quantity milks on first, second plus third lactation from two already mentioned stable. To the rate with one another were to be arrange individual lactation first and second, first plus third. Data was extract from in-and-out card dairycows. For the purpose of analysis were chosen all female individuals that concluded standardized lactation i. e. 305 days on minimally two lactation. On the whole was included to the gathering 424 dairycows plus 1135 lactation.

Influence of sequence lactation on milk performance is essential especially juxta ratam 1:2 lactation and 1:3 lactation. In stable to K-360 here disply manifest general drift, that the dairycow on the average always raised efficiency in higher lactation compared to lactation previous, except by a few extract that an average high milk performance on previous lactation wasn't able this performance repeat or raisen. In those stable notably raisen performance of milk production amongst lactation. Namely: among 1. and 2. come to mark - up about 832 kg milks plus among 1. plus 3. about 1194 kg milks. In stable to K-166 was general tendency somewhat different. Much more often here happened to fall efficiency on resulting lactation if was previous lactation above - average in kg milks. However here too to stand on record expressive rise average performance milks on resulting lactation. Namely: among 1. and 2. about 839 kg milks plus among 1. and 3. about 878 kg milks. Growth performance milks among first and second lactation is in both stable almost coincident. However among first and third lactation noted stable K-360 higher growth. Records infer, that maximal demands on dairycow should not be required at once in first lactation, but rather be satisfied with first - lower lactation plus consequently escalate requirements overleaf and next lactation. As well as premature imposition first-calf cow at once along first lactation on the ground of starvation wages performance milks seems violent to me. Dairycow along first lactation yet complete their own growth, thus cannot quite maximize milks performance

Key words: lactation, milk yield, dairy.

ÚVOD

Chov skotu má v České republice mnohaletou tradici a je jeden z pevných pilířů nejen živočišné výroby, ale i celého zemědělství. Má nezastupitelnou funkci v celém zemědělském sektoru.

Český strakatý skot, o kterém pojednává tato práce, patří do skupiny strakatých plemen, která je celoevropsky i celosvětově rozšířená, mající shodný fylogenetický původ. Toto plemeno je velice oblíbené pro své užitkové vlastnosti a široké využití na většině kontinentech. Zpracovatelský průmysl oceňuje velice dobrou kvalitu dodávané suroviny. Mléko nejvyšší kvality a jakosti s daným obsahem složek a bez vysokých počtů SB nebo CPM.

V dnešní nelehké době je nejen pro chov skotu ale i pro ostatní odvětví zemědělského sektoru stěžejní ekonomická stránka chovu. Stále narůstající ceny vstupů, které nejsou ani zdaleka kompenzovány zvýšením cen výkupních spíše naopak. Dnešní nízká cena mléka je neúnosná pro většinu podniků v celé republice. Opominout se nemohou ani ztráty, které vznikají v rámci chovu. Úhyny telat, neuspokojivá reprodukce, zdravotní problémy, nekvalitní objemná píče apod. Nad chovem skotu v České republice visí otazník a jen čas ukáže, do jaké míry a v jakém množství bude nadále existovat.

Cílem pozorování bylo vyhodnotit vliv pořadí laktace na produkci mléka dojníc českého strakatého plemene skotu u jednoho chovatele, čímž bylo družstvo Zemspol České Meziříčí a.s., a to ve více stájích: České Meziříčí K-166, České Meziříčí K-360.

MATERIÁL A METODIKA

Zemspol České Meziříčí a.s. se nachází v kraji Východočeském, okresu Rychnovském. Akciová společnost byla založena roku 1997 transformací z tehdejšího družstva Meziříčsko. Hospodář na 2 457 ha zemědělské půdy v řepařské výrobní oblasti. Společnost se nachází v katastru obcí České Meziříčí, Rohenice, Skršice, Králova Lhota, Jílovice a Vysoký Újezd. Je zaměřena na živočišnou a rostlinnou výrobu.

Rostlinná výroba se specializuje především na výrobu objemných krmiv pro živočišnou výrobu a dále pak obilniny, olejiny a cukrovou řepu.

Živočišná výroba je zaměřena především na chov skotu. Dříve zde byl i chov prasat a výkrm brojlerů, ale z ekonomických důvodů byly tyto chovy zrušeny. Společnost vlastnila v roce 2008 celkem 800 krav základního stáda umístěných ve třech střediscích. Středisko Skršice, kde jsou dvě typové vazné stáje K – 96 a K – 108, dále pak středisko Rohenice, taktéž typová vazná stáj K – 108 a středisko České Meziříčí s dvěma stájemi, K – 160 vazná a K – 360 volně ustájení s boxovými ložemi. Všechny stáje jsou stlané slámou.

Stáj K – 166 je typová čtyřřadá vazná stáj. Dojnice jsou pevně fixovány řetězy „vazáky“ k zábranám. Stojí na středně dlouhém stání tj. 236 cm. Krmeny jsou pomocí krmného vozu, který zakládá objemnou krmnou dávku na krmný stůl dvakrát denně. Jádru se přidává i s mineráliemi ručně dle individuální užitkovosti. Hnět se odklízí nejprve ručně. Pomocí „škrabáků“ se nahrne do žlábků oběžného shrnovače a ten následně dopraví chlévskou mrvu do kontejneru. Dojí se zde na stání dojícími soupravami do trubek.

Stáj K – 360 je zrekonstruovaná typová stáj K – 174 v roce 1996 na volně ustájení. Kapacita míst se zvýšila z 174 míst možných ustájených dojníc na 220 míst a přestavbou skladu se navýšila kapacita

na 360 míst. Míchá se zde TMR krmná dávka v krmném vozu, který zakládá krmivo do krmných žlabů. Hnůj se jednou denně vyhrnuje pomocí UNC „bobku“ a nakládá se na kontejner. Nastývá se slámou jednou denně pomocí nastýlacího vozu. Dojí se zde v rybinové dojárně 2 x 10 značky Alfa Laval dvakrát denně.

Bylo analyzováno množství mléka na první, druhé a třetí laktaci ze dvou již zmíněných stájí. Data byla získávána z kontrolních lístků dojníc.

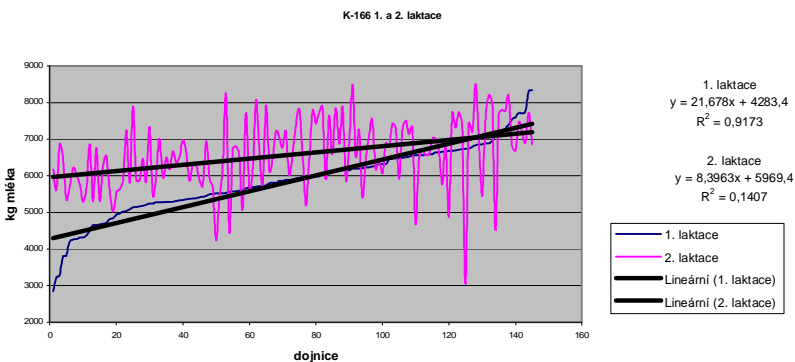
K analýze byli vybráni všichni samičí jedinci, kteří uzavřeli normovanou laktaci tj. 305 dní na minimálně dvou laktacích. Byl sledován vztah mezi jednotlivými laktacemi (I – II, I – III) v produkci kg mléka.

Zjištěné hodnoty byly rozříděny, zhodnoceny a statisticky zpracovány dle obvyklých variačně-statistických metod v programu MS Excel.

VÝSLEDKY A DISKUZE

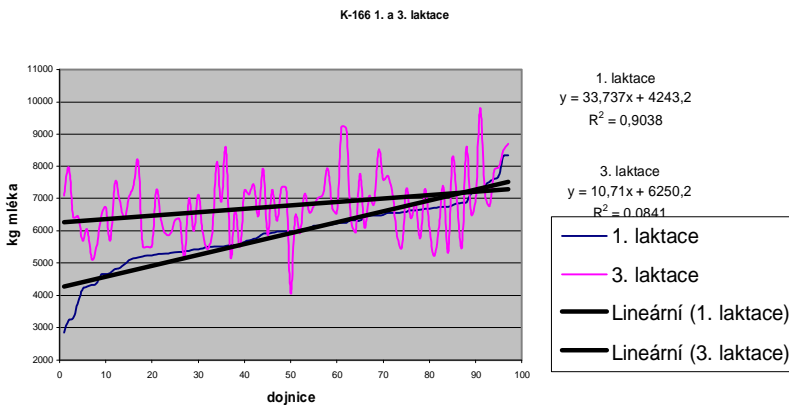
Vztah mezi mléčnou užitkovostí na první a druhé laktaci ze stáje K-166 je znázorněn v grafu 1. Z grafu je patrné dle lineárních přímk, že pokud dojnice na první laktaci měli nižší užitkovost, tak na druhé laktaci se užitkovost výrazně zvýšila a naopak, dojnice které na první laktaci měli užitkovost nadprůměrnou, tak na druhé laktaci mléčná užitkovost stagnovala nebo jsou dokonce zaznamenány propady v mléčné užitkovosti. Určitá část populace dojníc (20 ks) uvedené v tomto grafu průměrně snížila na následné laktaci užitkovost mléka cca o 240 kg. Přičemž nárůst užitkovosti celé populace na druhé laktaci je 839 kg mléka.

Graf 1 Mléčná užitkovost na 1. a 2. laktaci



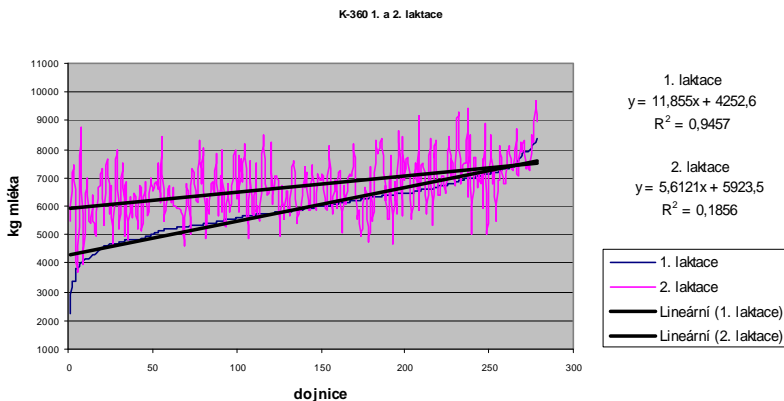
Následující graf 2 znázorňuje mléčnou užitkovost na 1. a 3. laktaci. Trend lineárních přímk je zde podobný jako u grafu č.1. Lineární přímk znázorňují, že u dojníc s nižší mléčnou užitkovostí na první laktaci se na třetí laktaci také zvýšila mléčná užitkovost ale s mnohem vyšším nárůstem užitkovosti než u předchozího grafu. Naopak dojnice s nadprůměrnou užitkovostí na první laktaci opět stagnují nebo jsou dokonce podprůměrné. Jejich průměrný pokles činí cca 230 kg mléka a to u 9 kusů. Celkový nárůst mezi první a třetí laktací činí v celé populaci 878 kg mléka.

Graf 2 Mléčná užitkovost na 1. a 3. laktaci



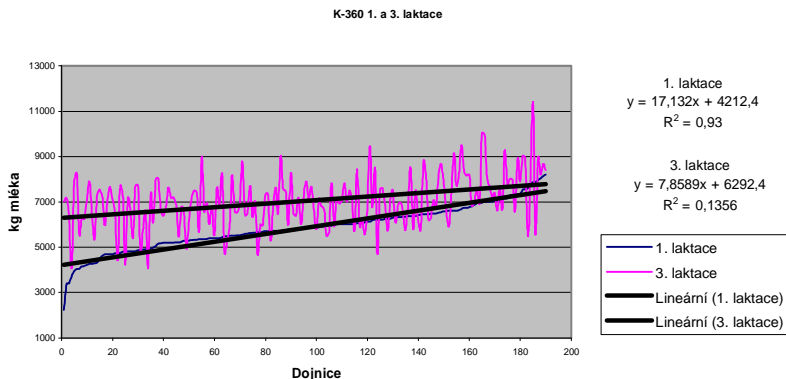
Graf 3 znázorňuje poměr mezi 1. a 2. laktací ve stáji K-360. Dle lineárních přímků můžeme pozorovat oproti předchozí stáji rozdíl v tom, že nejsou zde tak velké rozdíly při vyšší mléčné užitkovosti na 1. laktaci a na druhé laktaci. Užitkovost na následné laktaci se více stabilizuje a neklesá tak významně. Při nízkých hodnotách mléčné užitkovosti se na následné laktaci hodnoty podstatně zvyšují. Nárůst užitkovosti v populaci je 832 kg mléka přičemž asi 18 dojníc průměrně snížilo užitkovost na následné laktaci asi o 80 kg mléka.

Graf 3 Mléčná užitkovost na 1. a 2. laktaci



Poměr mezi 1. a 3. laktací znázorňuje následující graf 4. Přímky obou laktací mají vzestupný charakter. U nejvyšších hodnot mléčné užitkovosti na 1. laktaci není nárůst užitkovosti na 2. laktaci tak výrazný jako u nižších hodnot. U nižších hodnot je nárůst na 2. laktaci výrazně vyšší. Celkový průměrný nárůst je více jak 1194 kg mléka mezi první a třetí laktací.

Graf 4 Mléčná užitkovost na 1. a 3. laktaci



Narůstání mléčné užitkovosti u českého strakatého skotu je více méně zřejmé z uvedených grafů. Jakož i vztahy mezi laktacemi. Tento trend můžeme posoudit s následujícími autory.

První laktace má nižší užitkovost než ostatní (PYROCHTA, CHLÁDEK, 2004).

DOLEŽAL et al., (2000) uvádí, že mléčná produkce stoupá, i když se snižujícím se nárůstem, až asi do 8 roku věku krav v závislosti na plemeni a potom klesá zvýšeným stupněm.

Podobný názor mají CHLÁDEK a KUČERA (1999). Ti uvádějí, že je obecně známe, že množství nadojeného mléka je v silném vztahu k pořadí laktace.

Rozhodující je výživa a krmení dojnic. Optimální plnohodnotná výživa krav zajišťovaná pokud možno směsnou krmnou dávkou podle jednotlivých fází laktace a reprodukčního cyklu je podkladem pro dosažení vysoké produkce s optimálním složením jednotlivých složek mléka (VANĚK, ŠTOLC et al., 2002).

U dojnic s vysokou užitkovostí na první laktaci je tedy nutné uvažovat s nižšími nárůsty užitkovosti na dalších laktacích a naopak u dojnic, jejichž užitkovost na první laktaci je nižší, je možné předpokládat vyšší nárůsty užitkovosti na dalších laktacích (CHLÁDEK, KUČERA, 2003).

Se zvyšující užitkovostí klesá procento mléčných složek. To sledoval BURGERTA (2003), kde užitkovost v roce 1993 byla 5681 kg, procento tuku 4,59% a bílkovin 3,55%. V roce 1996 byla užitkovost 6716 kg, procento tuku 4,63% a bílkovin 3,39%. V roce 2002 byla užitkovost 10156 kg, procento tuku 4,22% a bílkovin 3,39%.

ZÁVĚR

Cílem tohoto pozorování bylo vyhodnotit vliv pořadí laktace na mléčnou produkci mléka u dojnic českého strakatého skotu. Byla využita populace jedinců v zemědělské společnosti ZEMSPOL České Meziříčí a.s.

Analyzováno bylo množství mléka na jednotlivých laktacích (1.-3.) u dojnic, které uzavřeli nejméně dvě normované laktace (305 dní). Dojnice byly rozděleny do dvou skupin dle stáje. K-166 je čtyřřadá vazná typová stáj, K-360 je volná boxová stáj s dojírnou. Celkem bylo zahrnuto do sběru dat 424 dojnic a 1135 laktací.

Vliv pořadí laktace na mléčnou produkci je významný především v poměru 1:2 laktaci, 1:3 laktaci. Ve stáji K-360 se zde projevil trend, že dojnice průměrně vždy zvýšily užitkovost ve vyšší laktaci oproti laktaci předchozí, vyjma několika málo výjimek, které při průměrně vysoké mléčné produkci na předchozí laktaci nebyly schopny tuto produkci zopakovat nebo navýšit. V této stáji se významně navýšovala produkce mléka mezi laktacemi. A to: mezi 1. a 2. došlo k navýšení o 832 kg mléka a mezi 1. a 3. o 1194 kg mléka. Ve stáji K-166 byl trend poněkud odlišný. Mnohem častěji zde docházelo k poklesu užitkovosti na následné laktaci pokud byla předchozí laktace nadprůměrná v kg mléka. Avšak i zde byl zaznamenán výrazný vzestup průměrné produkce mléka na následných laktacích. A to: mezi 1. a 2. o 839 kg mléka a mezi 1. a 3. o 878 kg mléka. Nárůst produkce mléka mezi první a druhou laktací je u obou stájí téměř shodný. Avšak mezi první a třetí laktací zaznamenala stáj K-360 vyšší nárůst.

Výsledky naznačují, že v praxi by se neměly maximalizovat požadavky na dojnice hned v první laktaci, ale raději se spokojit s první - nižší laktací a následně zvyšovat požadavky na druhé a další laktaci. Jakož i vyřazování prvotetek hned v průběhu první laktace z důvodu nízké produkce mléka, se mi zdá unáhlené. Dojnice v průběhu první laktace ještě dokončují svůj vlastní růst, tak nemohou zcela maximalizovat produkci mléka.

LITERATURA

BUNGERTA, P.: Lze dosáhnout vysokých mléčných složek i při vysoké mléčné užitkovosti? *Náš chov*, 2003, č.12, 46 s.

DOLEŽAL, O. et al.: *Mléko, dojení, dojírny*, Praha: Agrospoj, 2000. 239 s.

CHLÁDEK, G., KUČERA, J.: Relationships between milk yields in the first three lactations of Czech Pied cows, *Czech Journal Anim. Sci.*, 2002, č.47, 445-450 s.

CHLÁDEK, G., KUČERA, J.: Přepočtové koeficienty mezi laktacemi u českého strakatého plemene, *Náš chov*, 2003, č.2, 24-25 s.

PYROCHTA, V., CHLÁDEK, G.: *Vliv pořadí laktace na mléčnou užitkovost dojnic*, [cit. 2004] Dostupné z <http://old.af.mendelu.cz/mendelnet2004/obsahy/zoo/pyrochta.pdf>

VANĚK, D., ŠTOLC, L. et al.: *Chov skotu a ovcí*, Praha: ČZU a ISV, 2002, 199 s.

MONITORING AND ASSESSMENT OF THE NIGHT FEEDING BEHAVIOUR OF DAIRY COWS IN TWO DIFFERENT YEAR SEASONS

Erbez M., Falta D., Chládek G.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00, Czech Republic

E-mail: miljanerbez@gmail.com

ABSTRACT

Heat load impairs feed intake and milk production of dairy cows (Moody *et al.*, 1968; Berman *et al.*, 1985). Brosh *et al.* (1998) suggested that, in hot weather, feeding cattle at night might reduce the heat load imposed upon them by their increased heat production during the hours following a meal because this increased production is complemented by decreased heat output at other times of the day. Hence, animals would produce less metabolic heat during daytime and more during the cooler night hours. The objective of this research was to compare feeding night behaviour of Czech Pied cattle dairy cows in two different year season. Group was completely monitored with two outdoor network cameras VIVOTEK technology (IP7330 and PZ6122). Our assessment hypothesis was that captured cows standing in feeding area with the head on feeding channel in monitored hours was actively feeding. Statistically the highest difference was found in number of feeding cows in 04:00 a.m. on behalf of autumn period (2.08 cows) or 181 % higher, where we found $p < 0.057$. Between other assessed periods we didn't find any higher difference. In average, the percentage of feeding cows during assessed night hours was higher in autumn period, than the summer.

Key words: network camera, season, dairy cows, night feeding, summer and autumn

Acknowledgments: We would like to thank Mendel University for supporting this project from IGA grant scheme (IG 290191) and to owners and staff of Dairy Farm GenAgro Říčany a.s. for understanding and great help during research.

INTRODUCTION

Loose housing systems provide dairy cows with the possibility for locomotion and allow them to express a variety of natural behaviours. Furthermore, a well-established social environment may have a positive effect on the adjustment of individuals to the environment through social facilitation and learning, and it has been suggested that a stable social relationship within a herd may be beneficial in reducing the effect of generally stressful conditions (Bouissou et al., 2001).

Loose housing systems are preferred to reduce labour input with increasing herd size as well as to meet animal welfare requirements. In order to minimize investment costs for new or reconstructed stables these loose housing systems are often built in open-fronted buildings or even in buildings open to all sides (M. Zahner et al. 2004) as is case on farm where this research was conducted.

As a consequence of these housing systems, cows could suffer to a wide range of climatic conditions what could negatively influence their behaviour, feed intake, production and health.

This raises the question of whether dairy cows are able to cope with these housing conditions (M. Zahner et al. 2004).

Heat load impairs feed intake and milk production of dairy cows (Moody et al., 1968; Berman et al., 1985). Brosh et al.(1998) suggested that, in hot weather, feeding cattle at night might reduce the heat load imposed upon them by their increased heat production during the hours following a meal because this increased production is complemented by decreased heat output at other times of the day. Hence, animals would produce less metabolic heat during daytime and more during the cooler night hours.

The objective of this research was to compare feeding night behaviour of Czech Pied cattle dairy cows in two different year season.

MATERIAL AND METHODS

The aim of research was to investigate night feeding behaviour of cows in two different year seasons.

Housing system and animals. This research was conducted at Genagro a.s. dairy farm of Czech Pied (Flekvieh) breed. In the experiment barn is accommodate almost 400 dairy cows divided into four groups (each has about 100 heads). It's a modern construction type of cowshed, with cubicles housing. The barn has opened sides, without possibilities of closing. The research group of cows is placed on east-south part of cowshed, counts 98 (± 3) cows placed in 103 cubicles. Cows are bedded on separated manure which is partly mixed with straw, with approximately 6 m² living space per cow. Feeding is ad libitum and cows are fed with TMR. Feed was served two times per day about 04:30 in a.m. and 04:00 p.m. They had continual access to water.

Observation period. Test was managed in 2009, in months July, August and October, i.e. summer and autumn period.

Monitoring. Group is completely monitored with two outdoor network cameras VIVOTEK technology (IP7330 and PZ6122). The snapshots are captured four times per hour in the period from 01:00-22:00. In this research we investigated cow's feeding behaviour from 01:00-05:00 a.m. Numbers of cows

standing in feeding area was calculated from snapshots in full (± 10 min) hours, so in 01:00, 02:00, 03:00, 04:00 and 05:00. It was totally investigated 8 random chosen nights in hot (summer) and 8 random chosen nights in autumn period, when average daily temperatures were lower. Totally, it was examined 160 snapshots.

Our assessment hypothesis was that captured cows standing in feeding area with the head on feeding channel in monitored hours was actively feeding.

RESULTS AND DISCUSSION

The characteristics of night feeding distribution are presented in tables 1 and 2. Statistically the highest difference was found in number of feeding cows in 04:00 a.m. on behalf of autumn period (2,08 cows) or 181% higher, where we found $p < 0,057$ (Table 3). Between other assessed periods it we didn't found any higher difference.

On the base of chart 1, we see that the feeding frequency is similar in both period, with almost same tendency of decreasing of feeding cows, after 01:00 from 7,01% to 2,55% in 04:00 during summer days and little bit lighter decrease was found in autumn period from 6,5% at 01:00 to 4,63 at 04:00 (Tab 3.), and with increasing of number of feeding cows at 05:00 as consequence of feed serving time.

Feeding frequency was in almost all assessed hours lightly higher in autumn, than in summer period, except at 01:00.

CONCLUSION

In this work we did not find the significant differences in feeding behaviour of dairy cows, as a consequence of different environment conditions. Based on the literature, was expected that the night feeding frequency will be more expressed in summer period as a consequence of decrease feeding during hot daily period, but results was opposite. So, we can conclude that night activity of dairy cows in this case was more related to herd behaviour, than the environment. In average, the percentage of feeding cows during assessed night hours was higher in autumn period, than the summer.

SUPPLEMENT

Tab. 1 Distribution of night feeding in summer period and average daily temperature

Day/hour	1:00	%*	2:00	%	3:00	%	4:00	%	5:00	%
4.7.2009	10	10,2	9	9,18	6	6,12	3	3,06	24	24,48
8.7.2009	9	9,18	9	9,18	3	3,06	1	1,02	12	12,24
9.7.2009	8	8,16	9	9,18	5	5,1	3	3,06	9	9,18
14.7.2009	4	4,08	3	3,06	1	1,02	1	1,02	20	20,4
17.7.2009	5	5,1	3	3,06	1	1,02	4	4,08	11	11,22
14.8.2009	6	6,12	2	2,04	4	4,08	4	4,08	17	17,34
15.8.2009	9	9,18	3	3,06	4	4,08	3	3,06	9	9,18
16.8.2009	4	4,08	4	4,08	3	3,06	1	1,02	20	20,4

*from 98 cows

Tab. 2 Distribution of night feeding in autumn period and average daily temperature

Day/hour	1:00	%*	2:00	%	3:00	%	4:00	%	5:00	%
3.10.2009	12	12,24	10	10,2	4	4,08	3	3,06	11	11,22
4.10.2009	5	5,1	7	7,14	3	3,06	5	5,1	25	25,51
5.10.2009	6	6,12	7	7,14	5	5,1	4	4,08	19	19,38
6.10.2009	9	9,18	3	3,06	1	1,02	4	4,08	15	15,30
7.10.2009	3	3,06	7	7,14	6	6,12	4	4,08	13	13,26
8.10.2009	4	4,08	5	5,1	8	8,16	4	4,08	9	9,18
9.10.2009	6	6,12	8	8,16	8	8,16	6	6,12	20	20,4
10.10.2009	6	6,12	7	7,14	7	7,14	7	7,14	19	19,38

*from 98 cows

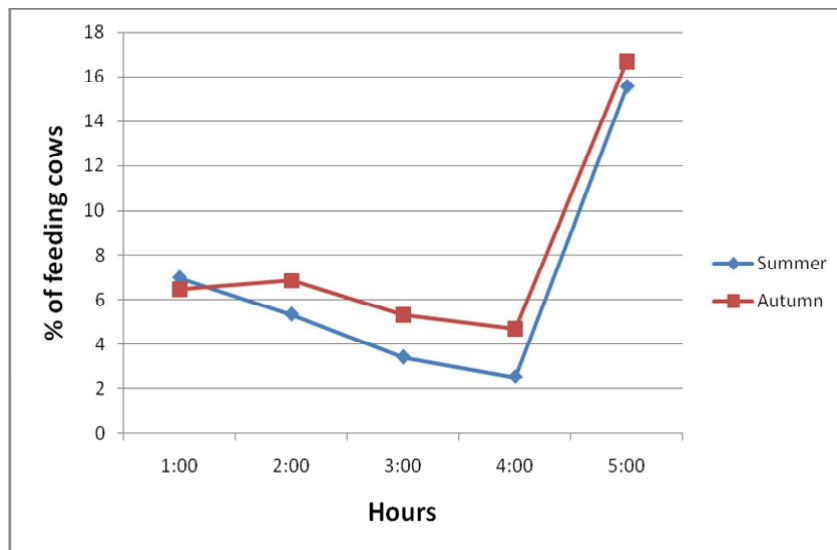
Tab. 3 Differences of night feeding behaviour of summer and autumn period

No.	Hours	01:00	02:00	03:00	04:00	05:00
1.	p<	0,712 [*]	0,278	0,104	0,057	0,69
2.	Av. S	7,01	5,36	3,44	2,55	15,56
3.	Av. A	6,50	6,89	5,36	4,63	16,70
4.	Dif. *	0,61	-1,53	-1,92	-2,08	-1,14

*S-A: summer – autumn difference

Dif. - Difference between summer and autumn period (columns 2nad 3).

Chart 1 Feeding trends in summer and autumn period in % of cow per hour



LITERATURE:

Berman et al., 1985 A. Berman, Y. Folman, M. Kaim, M. Mamen, Z. Hertz, D. Wolfenson, A. Arieli and Y. Graber, Upper critical temperatures and forced ventilation effects for high-yielding dairy cows in a subtropical climate, *J. Dairy Sci.* 68 (1985), pp. 1488–1495.

Bouissou et al., 2001 M.-F. Bouissou, A. Boissy, P. Le Neindre and I. Veissier, The social behaviour of cattle. In: L.J. Keeling and H.W. Gonyou, Editors, *Social Behaviour in Farm Animals*, CAB International, Wallingford, Oxon, UK (2001), pp. 113–145.

Brosh et al., 1998 A. Brosh, Y. Aharoni, A.A. Degen, D. Wright and B.A. Young, Effect of solar radiation, dietary energy, and time of feeding on thermoregulatory responses and energy balance in cattle in a hot environment, *J. Anim. Sci.* 76 (1998), pp. 2671–2677.

M. Zähler, L. Schrader, R. Hauser, M. Keck, W. Langhans and B. Wechsler, *J. Dairy Sci.*, The influence of climatic conditions on physiological and behavioural parameters in dairy cows kept in open stables, *British Society of Animal Science* (2004) 78: 139-147.

Moody et al., 1968 E.G. Moody, P.J. Van Soest, R.E. McDowell and G.L. Ford, Effects of high temperature and dietary fat on performance of lactating cows, *J. Dairy Sci.* 50 (1968), pp. 1909–1916.

T. J. DeVries, M. A. G. von Keyserlingk, and D. M. Weary, Effect of Feeding Space on the Inter-Cow Distance, Aggression, and Feeding Behaviour of Free-Stall Housed Lactating Dairy Cows, *J Dairy Sci* 2004 87: 1432-1438.

T. J. DeVries, M. A. G. von Keyserlingk, D. M. Weary, and K. A. Beauchemin, Validation of a System for Monitoring Feeding Behaviour of Dairy Cows, *J Dairy Sci* 2003 86: 3571-3574.

Y. Aharoni, A. Brosh, Y. Harari, Night feeding for high-yielding dairy cows in hot weather: effects on intake, milk yield and energy expenditure, *Livestock Production Science*, Volume 92, Issue 3, March 2005, Pages 207-219.

EFFECT OF FEEDING OF MOULDED MIXTURES ON GROWTH INTENSITY OF LABORATORY RATS

Horký P.

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

E-mail: pavel.horky@mendelu.cz

ABSTRACT

This thesis deals with the effect of various levels of moulded feedstuffs (with different mycotoxins' content) on production and health status of animals.

The whole work was focused on the evaluation of growth intensity of the outbred strain of laboratory male rat Wistar Albino. Animals were assigned to the trial at the age of 28 days and they were divided into four groups with seven animals at each.

Four different feed mixtures were used with moulded wheat as a mycotoxins carrier. Groups of animals were fed with mixture free of moulded wheat (control group). Other groups received diets varying in levels of moulded wheat (33%, 66% and 100%).

We studied the following indicators: intake of complete feed mixtures, live weight gain, animal health status and digestibility of organic nutrients (dry matter, crude protein, fat, ash and energy).

The experiment was conducted in compliance with law on animal abuse No. 246/1992 at the research facility of Department of Animal Nutrition and Forage Production at the Mendel University of Agriculture and Forestry Brno. At the end of our experiment we observed that groups with 100% and 66% content of moulded feed had significantly lower ($p < 0.05$) increase of body mass (180.81 and 197.77 g) comparing to control group (225.94 g) it means 19.98% and 12.5%, respectively. Between groups 100% and 33% was found significantly different ($p < 0.01$), group 33% had better increase of body mass (214.86 g) it means 4.91% difference comparing to group 100%.

It was discovered that live weight gains are in negative correlation with level of moulded wheat in the diet. Best results were found at the control group. Weight gain decreased with increasing level of moulded wheat in the diet. Similar results were obtained with digestibility of organic nutrients.

Key words: moulds, mycotoxin, growing trial, digestibility, laboratory rats

ÚVOD

Práce se snaží objasnit působení doposud známých a pro zemědělskou praxi více či méně škodlivých mykotoxinů u monogastričních zvířat.

V současné době existuje několik druhů mykotoxinů, které působí velké škody především na zdravotním stavu hospodářských zvířat. Řadu plísní nedokážeme ani analyzovat, natož abychom věděli, jaké konkrétní mykotoxiny produkují a jaký mohou mít vliv na zdravotní stav. Tato práce je zaměřena na hlavní rody plísní a jejich mykotoxinů, které mají význam v zemědělské praxi. Do této skupiny spadají deoxynivalenon, zearalenon, T2 toxin a aflatoxiny.

Mykotoxiny jsou sekundární metabolity jednoduchých hub, tzn. plísní. Tyto plísně produkují mykotoxiny jako ochranu před konkurenty, kterými jsou zejména bakterie. Musíme si uvědomit, že mykotoxiny přecházejí v různých poměrech do mléka, masa a jiných živočišných produktů, a tím se stávají nebezpečné i pro člověka. Proto je naší snahou zabránit kontaminaci mykotoxiny již na začátku potravinového řetězce, to znamená již při krmení hospodářských zvířat.

Tato práce se zabývá porovnáním účinků různého procentického zastoupení zaplísňeného krmiva v krmné dávce laboratorních potkanů kmene *Wistar Albino*. Fyziologické parametry těchto laboratorních potkanů jsou velmi blízké člověku a monogastričním zvířatům.

Právě z tohoto důvodu byli v našem pokusu použiti potkani outbredního kmene *Wistar Albino* s cílem aplikovat zjištěné výsledky do chovu prasat v zemědělské praxi.

MATERIÁL A METODY ZPRACOVÁNÍ

Pokus probíhal v jednom opakování, v němž byli laboratorní potkani rozděleni do 4 skupin. V každé skupině bylo 7 jedinců. Pokusné sledování trvalo 28 dní a bylo rozděleno do 4 týdnů. Každé období bylo ukončeno vážením zvířat. Pro přehledné individuální zjištění růstu a vývinu byla zvířata barevně odlišena. Spotřeba krmiva byla sledována skupinově. Pro vyloučení stresu způsobeného změnou vnějších podmínek, bylo po dobu pokusu zajištěno konstantní klimatické prostředí.

Do pokusu byli zařazeni samci laboratorního potkana outbredního kmene *Wistar albino* v průměrném věku 28 dní po odstavu. Skupiny byly sestaveny tak, aby bylo vše v souladu s normou požadující mezi pokusnými skupinami maximální rozdíly v hmotnosti 5 g (KACEROVSKÝ, 1990).

Krmné směsi byly sestaveny z přirozeně zaplesnivělé pšenice, jež byla do diet přidávána v zastoupení 0 %, 33 %, 66 % a 100 %. Před vlastním mícháním pokusných diet byla u této pšenice provedena analýza na stanovení zastoupení a hladin mykotoxinů deoxynivalenolu, zearalenonu, ochratoxinu a T-2 toxinu.

Po ukončení růstového pokusu byli z každé skupiny vybráni čtyři průměrně rostoucí jedinci, kteří byli umístěni do bilanční klece. Bilance byla rozdělena na fázi přípravnou (2 dny) a fázi vlastního bilančního pokusu, která trvala do té doby, než se od jednotlivých zvířat nezískalo 10 gramů výkalů.

Hmotnost zvířat byla sledována na počátku a na konci vlastního bilančního sledování. Výsledkem bilančního pokusu pak bylo stanovení stravitelnosti jednotlivých organických živin.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Z tabulky 1 lze vyčíst, že největší přírůstky měla kontrolní skupina v prvním, druhém a čtvrtém týdnu. Skupina, které bylo podáváno 66 % kontaminovaného krmiva, měla ve třetím týdnu v porovnání s ostatními skupinami nejvyšší přírůstek.

Podařilo se prokázat, že zvířata, která měla v krmných směsích zařazeno 66 % a 100 % zaplesnivělé pšenice, měla oproti kontrolní skupině nižší denní přírůstek živé hmotnosti (viz. tab. 1). Tento fakt byl statisticky významně průkazný. Dále bylo pozorováno, že skupina, které bylo podáváno 100 % zaplísňené krmné směsi, měla snížený denní přírůstek živé hmotnosti oproti skupině, které bylo do krmné směsi zamícháno 33 % kontaminovaného krmiva (viz. tab. 1). Tato skutečnost byla statisticky průkazná.

Můžeme si povšimnout, že s procentickým snižováním kontaminované pšenice v krmné směsi se zvyšuje i průměrný denní přírůstek. Tento trend pokračoval i u konverze krmiva, kdy nejvyšší konverzi měla skupina, která měla 100 % zaplísňenou krmnou směs (3,3), následována skupinou 66 % (3,1), po ní skupina 33 % (2,8) a konečně skupina kontrolní, která vykazala nejlepší konverzi, a to 2,7 za 28 dní trvání růstového pokusu.

Celkovou spotřebu krmné směsi za celou dobu trvání růstového pokusu mapuje tabulka 1, ze které lze vyčíst, že skupinou, která spotřebovala nejvíce krmiva, je skupina se 100 % zaplísňeným krmivem 4115,9 gramů, tato skupina ovšem vykazala nejhorší průměrné přírůstky živé hmotnosti 180,8 gramů, tzn. i nejvyšší konverzi krmiva (3,3). V celkové spotřebě krmiva dále následuje kontrolní skupina (4100,6 g), 33 % (4082,5 g), 66 % (4073,3 g). Nejlepší konverzi ze všech sledovaných zvířat měla kontrolní skupina (2,7)

Zdravotní stav zvířat v průběhu celého sledovaného období byl dobrý. Ve druhém a čtvrtém týdnu růstového pokusu byly odebrány výkaly pro stanovení koeficientu stravitelnosti jednotlivých živin, jejichž hodnoty uvádí tabulka 2 a 3.

Ve druhém týdnu (viz. tab. č. 2), měla nejvyšší hodnoty stravitelnosti (sušiny, NL, tuku, popela, energie) ze všech skupin kontrolní skupina. Naopak nejnižší stravitelnost všech sledovaných živin vykazovala skupina 100 %. Rozdíl ve stravitelnosti sušiny byl u těchto dvou sledovaných skupin zvířat 10 %, dusíkatých látek 13 %, tuku 8,8 %, stravitelnost popela byla nižší o 22,9 % a konečně stravitelnost energie byla u kontrolní skupiny vyšší o 8,5 %. Stravitelnost živin u skupin 33 % a 66 % byla zhruba na stejné hladině. Nejvyšší rozdíl ve stravitelnosti oproti kontrolní skupině byl u dusíkatých látek 33 % (8,7 %), u 66 % (10,4 %) a u stravitelnosti popela 33 % (14,1 %) a u 66 % (16,5 %).

Ve čtvrtém týdnu sledované hodnoty stravitelnosti, jak udává tabulka 3, nepokračovaly v nastoleném trendu z druhého týdne, ale skupina se 100 % zaplísňeného krmiva v krmné dávce se téměř vyrovnala ve všech hodnotách koeficientů stravitelnosti s ostatními skupinami. Největší stravitelnost sušiny ve čtvrtém týdnu vykazala kontrolní skupina (89,4 %), naopak nejhorší byla

zaznamenána u skupiny 66 % (83,6 %). Ostatní dvě skupiny nevykazovaly žádnou větší odchylku. Nejvyšší stravitelnost dusíkatých látek připadla na skupinu 100 %, jestliže uvážíme, že tato skupina měla stravitelnost této živiny ve druhém týdnu nejhorší, je to zajisté zajímavý fakt. Stravitelnost se zvýšila o 12,6 %. Ostatní skupiny vykazovaly zhruba stejné hodnoty stravitelnosti dusíkatých látek jako ve druhém týdnu. Nejhorší stravitelnost měla skupina 66 % (71,6 %). Nejlepší stravitelnost tuku měla v tomto týdnu na rozdíl od druhého týdnu skupina 100 %. Její stravitelnost této živiny se zvýšila o 8,8 %. Ostatní skupiny měly hodnoty stravitelnosti srovnatelné s hodnotami z druhého týdne. Nejhorší stravitelnost tuku připadla na skupinu 66 % (79,7 %). U stravitelnosti popela dosáhla opět nejlepšího koeficientu skupina 100 % (64,5 %) a zlepšila stravitelnost této živiny oproti druhému týdnu o 21 %. Pouze o 0,6 % zaostala za skupinou 100 % kontrolní skupina. Ostatní dvě skupiny měly srovnatelné hodnoty s hodnotami z druhého týdne. U koeficientu stravitelnosti energie dosáhla kontrolní skupina a skupina 100 % téměř totožných hodnot 89,3 % resp. 89,1 %. Skupina 100 % si polepšila stravitelnost této živiny o 7 % oproti druhému týdnu.

Závěrem lze konstatovat, že již koncentrace zaplísněného krmiva (33 %) v krmné dávce má negativní vliv na přírůstek živé hmotnosti a na stravitelnost organických živin. Tato skutečnost se potvrdila s rostoucí hladinou zaplísněného krmiva v krmné směsi u skupin, které měly ve své krmné dávce přimícháno 66 % a 100 % zaplísněného krmiva.

V provedeném experimentu jsme zjistili, že i relativně nízký obsah mykotoxinů může u zvířat díky velkému množství plísní způsobit zhoršení přírůstku i konverze krmiva, což jsou hlavní ekonomické aspekty chovu hospodářských zvířat. S tímto faktem se ztotožňují i výzkumní pracovníci PESTKA (2007) a SPRADO (2005), kteří došli ke stejným závěrům.

VAŠÁTKOVÁ a kol. (2009) tvrdí, že i takto nízké hladiny mykotoxinů mají vliv na změny hladin nádorových markerů v organismu. Vzhledem k tomu, že se v dnešní době setkáváme stále častěji s rakovinovým onemocněním u lidí, měla by být tomuto faktu přikládána vyšší váha a měly by být stanoveny pevné limity obsahu mykotoxinů v krmivu upravené platnou legislativou. Toto vše by mělo být v úzké souvislosti s dodržováním správné výrobní praxe, systémem HACCP a zásad správných hygienických principů.

Závěrem lze konstatovat, že laboratorní potkani po zahájení zkrmování zaplesnivělé pšenice ihned reagují depresí v růstu a jak lze pozorovat, pak se některá zvířata mohou přizpůsobit negativnímu vlivu zaplesnivělé. Podobný jev pozorovali ve své práci i SURAI aj. (2004). Konverze krmiva, která je odrazem metabolických a fyziologických vlivů v organismu, je negativně ovlivněna mnohem hlouběji a zákonitě se zkrmování (ZEMAN aj. 2007) zaplesnivělé pšenice musí projevit negativně.

ZÁVĚR

Plísně produkující mykotoxiny jsou v krmných dávkách u monogastrických zvířat nežádoucími látkami, které působí toxicky na organismus zvířat, zhoršují jejich zdravotní stav a jejich užitkovost. Této problematice je třeba v současné době věnovat zvýšenou pozornost z důvodu vysokého šlechtitelského pokroku a tudíž i vyššímu výskytu streslabilních zvířat, na která mohou mykotoxiny působit jako stresogenní faktor.

Tab. 1 Příjem krmiva v jednotlivých týdnech a jeho konverze

Skupina	n	Průměrný denní přírůstek	Spotřeba krmiva celkem za 28 dní (g)	Spotřeba krmiva na kus za 28 dní (g)	Spotřeba krmiva na kus a den (g)	Konverze krmiva (kg/kg)
Kontrola	7	225,94	4100,6	585,8	20,9	2,7
33 %	7	214,86	4082,5	583,2	20,8	2,8
66 %	7	197,71	4073,3	581,9	20,8	3,1
100 %	7	180,1	4115,9	588,0	21,0	3,3

Tab. 2 Vybrané koeficienty stravitelnosti ve druhém týdnu

SKUPINA	Jednotka	Sušina	NL	Tuk	Popel	Energie
Kontrola	%	90,6	84,0	86,6	66,4	90,6
33 %	%	86,4	75,3	83,6	52,3	86,7
66 %	%	84,4	73,6	83,8	49,9	85,1
100 %	%	80,6	71,0	77,8	43,5	82,1

Tab. 3 Vybrané koeficienty stravitelnosti ve čtvrtém týdnu

SKUPINA	Jednotka	Sušina	NL	Tuk	Popel	Energie
Kontrola	%	89,4	81,3	84,0	63,9	89,3
33 %	%	86,6	76,1	82,2	49,5	87,2
66 %	%	83,6	71,6	79,7	46,9	84,4
100 %	%	88,2	83,6	86,6	64,5	89,1

SEZNAM LITERATURY

PESTKA, J.J. Deoxynivalenol: Toxicity, mechanisms and animal health risks. *Animal Feed Science and Technology* . 2007, no. 137, s. 283-298.

SPRADO, R., et al. Characterization of the effect of deoxynivalenol on selected male reproductive endpoints.. *Food-and-Chemical-Toxicology*. 2005, no. 43, s. 623-635.

SURAI, P, DVORSKA, J, SPARKS, N. Natural antioxidants and mycotoxins: theoretical considerations and practical applications. *Poisonous-plants-and-related-toxins*. 2004, s. 494-503.

VAŠÁTKOVÁ , Anna, et al. Changes in Metallothionein Level in Rat Hepatic Tissue after Administration of Natural Mouldy Wheat. *Molecular Sciences*. 2009, no. 10, s. 1139-1160.

ZEMAN, Ladislav, KRATOCHVÍLOVÁ, Pavla, DOLEŽAL, Petr. Vliv mykotoxinů na parametry užítkovosti monogastrů. *Krmivářství*. 2007, č. 4, s. 9-11.

THE EFFECT OF AGE AND INTENSITY OF GROWTH UPON RETENTION OF CALCIUM IN BODY OF CHICKENS

Houserová J., Zelenka J.

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

E-mail: xhouser0@node.mendelu.cz

ABSTRACTS

The effect of age upon retention of calcium was studied in the experiment with 16 broiler type cockerels Ross 308 and 16 laying type cockerels Isa Brown from the 14th to the 70th day of age. Chickens were fed *ad libitum* on complete feed mixture containing 9.81 g of calcium per 1 kg. The weight of chickens, feed conversion and balance of calcium were investigated in three day periods. Utilisation of calcium was determined by the chromic oxide indicator method.

Fast-growing chickens Ross 308 utilised 43.2 ± 1.69 per cent of calcium and slow-growing chickens of laying type 38.1 ± 1.82 per cent; the difference was significant ($P < 0.05$). With the increasing age the utilisation of calcium linearly decreased, in chickens Ross 308 significantly ($P < 0.05$) and in chickens Isa Brown highly significantly ($P < 0.01$). Calcium requirement of chickens per kg of feed mixture declines with the increasing age.

One gram of live gain contained in broilers 9.2 ± 0.76 mg Ca and in laying type chickens 8.9 ± 0.36 mg Ca; the difference was insignificant ($P > 0.05$). With the increasing age the content of calcium in laying type chickens did not change and in chicks of meat type highly significantly ($P < 0.01$) increased.

Key words: calcium, poultry, calcium requirement, calcium metabolism, calcium retention

ÚVOD

V prvních 2 týdnech života se hodnoty bilančního využití živin a energie velmi výrazně mění, zejména pod vlivem vylučování živin původně obsažených ve žloutkovém vaku kuřat a přechodně uložených jinde v organismu (ZELENKA 1968, ZELENKA a JÍLEK, 1970). Využití vápníku v prvních dnech po vylíhnutí podrobně prozkoumali ZELENKA aj. (2001). Cílem našeho pokusu bylo zjistit, jak se ve 3. – 10. týdnu života kuřat s rozdílnou intenzitou růstu mění bilanční využití vápníku obsaženého v krmné směsi a jak se mění obsah tohoto prvku v přírůstcích.

MATERIÁL A METODIKA

Vlastní pokus jsme prováděli se 16 kohoutky hybridní kombinace Ross 308 a se 16 kohoutky nosného typu hybridní kombinace Isa Brown. Kuřata byla umístěna v bilančních klecích. Teplota prostředí byla z počátečních 35 °C denně snižována o 0,7 °C až do 21 °C. Relativní vlhkost vzduchu byla upravována rozléváním vody na podlahu místnosti a během pokusu kolísala mezi 50 – 72 %. Svítlo se nepřetržitě. Po celou dobu pokusu byla všechna kuřata krmena *ad libitum* netvarovanou kompletní krmnou směsí, jejíž složení je uvedeno v tab. 1.

Tab. 1 Složení krmné směsi

Komponenty	g/kg
Kukuřičný šrot	500
Pšeničný šrot	111
Sójový extrahovaný šrot	300
Rybí moučka	50
Řepkový olej	10
Krmný vápenec	18
Hydrogenfosforečnan vápenatý	3,5
Krmná sůl	1,5
DL-methionin	1
Premix krmných aditiv ¹⁾	5

- 1) Premix krmných aditiv doplňoval do 1 kg směsi 9,6 mg Cu; 19,2 mg Zn; 35,2 mg Fe; 64 mg Mn; 0,096 mg Co; 0,128 mg Se; 0,72 mg I; 12 000 m.j. vit. A; 2 400 m.j. vit. D₃; 32 mg vit. E; 0,8 mg vit. K₃; 2,4 mg vit. B₁; 4,8 mg vit. B₂; 4 mg vit. B₆; 0,0272 mg vit. B₁₂; 0,112 mg biotinu; 24 mg niacinu; 1,12 mg kyseliny listové; 9,6 mg pantothenanu vápenatého; 1,152 g L-lysinu.HCl; 80 mg monensinátu sodného.

Směs obsahovala v 1 kg sušiny 256 g dusíkatých látek, 42 g tuku, 37 g vlákniny, 75 g popela, 590 g bezdusíkatých látek výtažkových, 9,81 g vápníku, 7,0 g fosforu, 2,49 g hořčíku, 7,79 g draslíku, 1,93 g sodíku a 13,71 MJ ME_N.

Od 14. do 70. dne života byla ve tří denních intervalech evidována spotřeba směsi a hmotnost kuřat. Ve stejných intervalech bylo stanoveno využití vápníku. Bilance byly provedeny indikátorovou metodou s oxidem chromitým, který byl do krmné směsi přidán. Při použití této metody mohou

jednotlivé bilanční periody následovat bezprostředně za sebou bez období lačnění. Trus byl vážen a ukládán v mrazicím boxu. Před rozbořením byl lyofilizován a rozemlet. Obsah oxidu chromitého v krmivu a lyofilizovaném trusu byl stanoven jodometricky (MANDEL aj., 1960). Obsah vápníku byl stanoven mineralizací suchou cestou (APION, Tessek Praha, a.s., při 25 °C – 400 °C, s přídavkem oxidačního média O₃ + NO_x) plamenovou atomovou absorpční spektrofotometrií na absorpčním spektrometru variant Spectr AA-30 při vlnové délce 422,7 nm. Podrobnější popis metodik výpočtu stravitelnosti je popsán v práci HOUSEROVÁ (2009). Grafy a regresní rovnice byly sestaveny, resp. vypočítány pomocí počítačového programu Microsoft Excel.

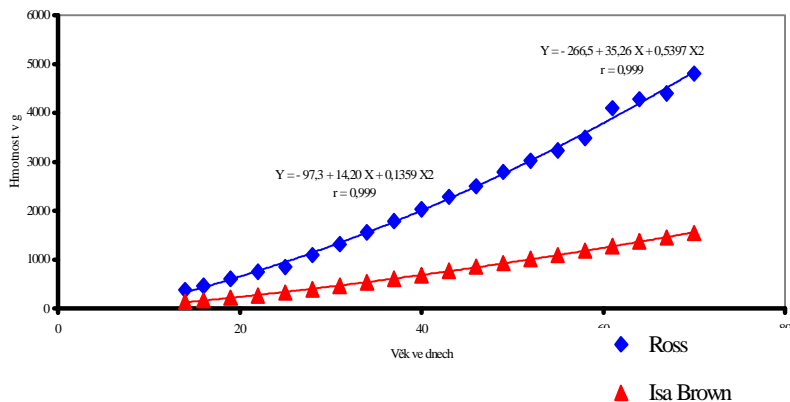
VÝSLEDKY A DISKUZE

Na počátku pokusu ve věku 14 dní byla průměrná hmotnost kohoutků Ross 382 g a kohoutků Isa Brown 147 g. Na konci pokusu ve věku 70. dní byla hmotnost kohoutků Ross 4809 g a kohoutků Isa Brown 1552 g. Průměrnou hmotnost a denní přírůstky kuřat znázorňuje graf 1 a 2. PLAVNIK a HURWITZ (1983), SHIRES *et al.* (1987) i ZELENKA aj. (2001) uvádějí, že v 70. dnech věku jsou brojlerová kuřata asi 3krát těžší než kuřata nosného typu. V našem pokusu jsme tuto skutečnost zaznamenali již ve věku 61. dnů.

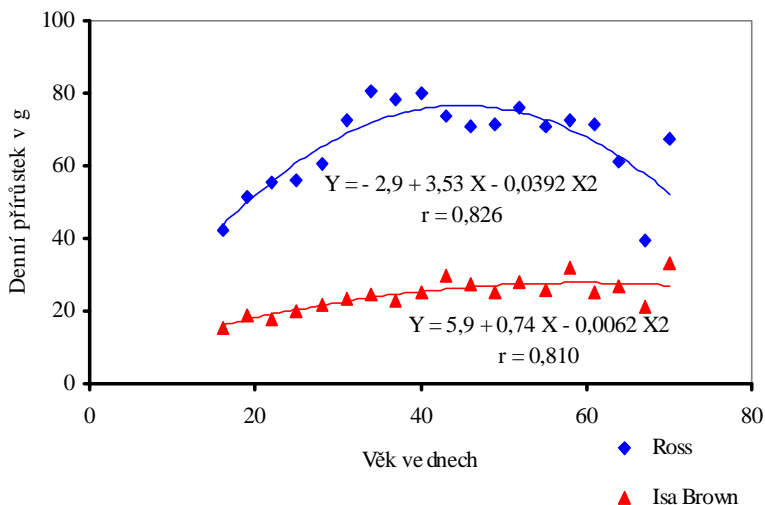
Závislost hmotnosti v gramech (Y) na věku kuřat ve dnech (X; 14 ≤ X ≤ 70) byla vyjádřena rovnicemi parabol druhého stupně $Y_{\text{Ross}} = - 266,5 + 35,26 X + 0,5397 X^2$; $r = 0,999$; $Y_{\text{Isa Brown}} = - 97,3 + 14,20 X + 0,1359 X^2$; $r = 0,999$, znázorněnými v grafu 1.

Závislost denních přírůstků kuřat v gramech (Y) na věku kuřat ve dnech (X) byla vyjádřena rovnicemi parabol druhého stupně $Y_{\text{Ross}} = - 2,9 + 3,53 X - 0,0392 X^2$; $r = 0,826$; $Y_{\text{Isa Brown}} = 5,9 + 0,74 X - 0,0062 X^2$; $r = 0,810$, znázorněnými v grafu 2.

Graf 1 Hmotnost kuřat



Graf 2 Denní přírůstek kuřat



Krmná směs obsahovala v sušině 1,0789 % oxidu chromitého a 0,981 % Ca. Ze zjištěných údajů o obsahu oxidu chromitého a vápníku v krmivu a v trusu kuřat v 19 bilančních obdobích byly vypočteny koeficienty bilanční retence vápníku a obsahu Ca v 1 g přírůstku. Od 14. do 70. dne života využívala brojlerová kuřata Ca z krmné směsi v průměru ze $43,2 \pm 1,69$ % a kuřata nosného typu z $38,1 \pm 1,82$ % (průměr \pm střední chyba průměru). Rozdíl 5,1 mezi využitelností Ca u rychle a pomalu rostoucích kuřat byl průkazný ($P < 0,05$). Kohoutci brojlerového typu tedy využívali Ca lépe než kohoutci hybridní kombinace Isa Brown.

Závislost využití Ca v organismu (Y) na věku kuřat (X) byla vyjádřena rovnicemi lineární regrese $Y_{\text{Ross}} = 52,98 - 0,227 X$; $r = 0,521$; $Y_{\text{Isa Brown}} = 53,27 - 0,354 X$; $r = 0,752$, znázorněnými v grafu 3.

Využití vápníku se u kohoutků Isa Brown denně snižovalo o 0,354 %, ze 47,6 % v 16 dnech věku až na 28,5 % na konci výkrmu v 70 dnech. Využití vápníku u kohoutků Ross se denně snižovalo o 0,227 %, ze 49,4 % na 37,1 % na konci výkrmu. Naše výsledky u kuřat starších více jak dva týdny se shodují s výsledky VOGTA aj. (1985), kteří uvádějí, že využití vápníku z krmiva se u kuřat s věkem snižuje. Výsledky se shodují také se sledováním retence Ca u kuřat ve věku od 3. do 22. dne života, prováděným ZELENKOU a FAJMONOVOU (2001), ve kterém se využitelnost Ca a obsah Ca v přírůstku mění také v závislosti na věku kuřat. Od 14. do 70. dne života využívali rychle rostoucí kohoutci masné hybridní kombinace Ca lépe než kuřata nosné kombinace. Krmná směs v našem pokusu obsahovala v 1 kg sušiny 9,81 g Ca. Využití vápníku se u kohoutků Ross od 14. do 70. dne života snižovalo. ZELENKA (1986) sledoval od 12. do 56. dne života u masných kuřat Ross vliv věku na využití vápníku z krmných směsí. U směsi s menším obsahem Ca (6,8 g Ca v 1 kg sušiny)

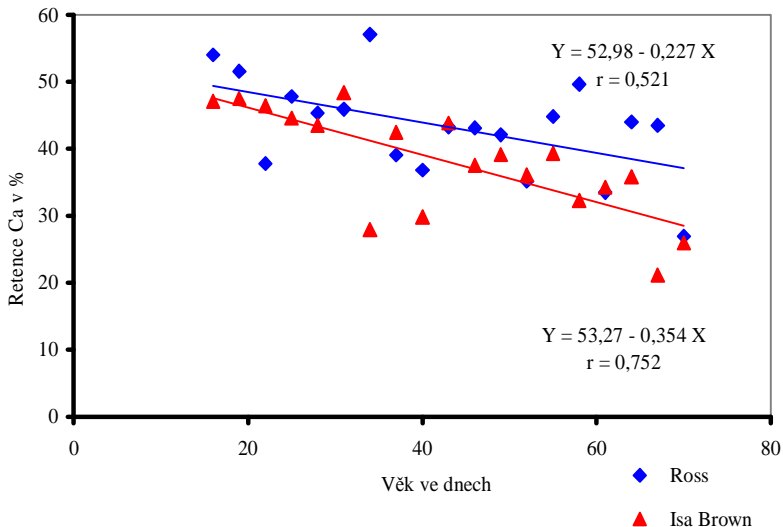
se jeho procentické využití s přibývajícím věkem zpočátku zvyšovalo, ve 33. dni života dosáhlo maxima, poté následoval pokles. Při vyšším obsahu Ca v krmivu (8,4 g Ca v 1 kg sušiny) se využití tohoto prvku během výkrmu vysoce průkazně lineárně snižovalo. Ze směsi bohatší na Ca bylo jeho procentické využití podstatně horší než ze směsi na vápník chudé. (HOUSEROVÁ, 2009)

V 1 g přírůstku bylo obsaženo u brojlerových kuřat $9,4 \pm 0,76$ mg Ca a u kuřat nosné hybridní kombinace $8,9 \pm 0,36$ mg Ca. Při hodnocení t-testem byla vypočtená t-hodnota 0,358, tabulková hodnota pro 36 stupňů volnosti byla 0,53, a proto byl tedy rozdíl mezi obsahem Ca v 1 kg přírůstku kuřat masné hybridní kombinace a kuřat nosných neprůkazný. Závislost obsahu Ca v přírůstku (mg/g) na věku kuřat ve dnech byla vyjádřena rovnicemi $Y_{\text{Ross}} = 3,31 + 0,136 X$; $r = 0,695$; $Y_{\text{Isa Brown}} = 7,76 + 0,027 X$; $r = 0,288$, znázorněnými v grafu 4.

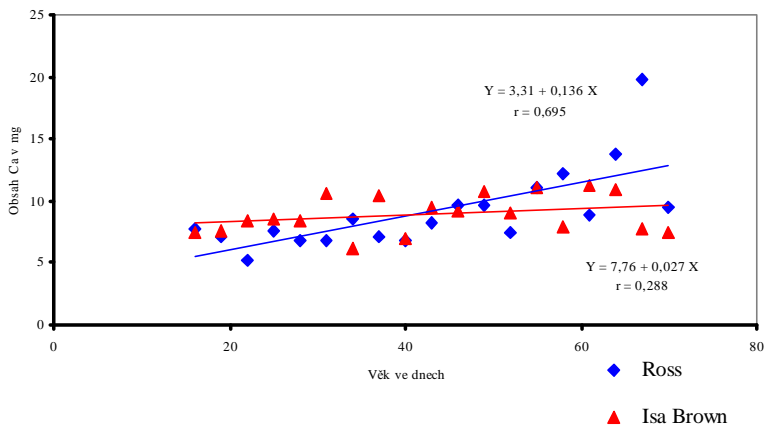
Obsah vápníku v přírůstku se u kohoutků Ross denně snižoval o 0,136 %, z 5,5 mg Ca v 16 dnech věku až na 12,8 mg Ca % na konci výkrmu. Obsah vápníku v přírůstku u kohoutků Isa Brown se denně snižoval o 0,027 mg, z 8,2 mg ve věku 16 dní na 9,7 mg na konci výkrmu.

Z výsledků vyplývá, že využitelnost Ca se mění v závislosti na věku, stejně jako obsah Ca v přírůstku. S věkem se retence Ca během celého pokusu u kohoutků nosného i brojlerového typu snižovala.

Graf 3 Využití vápníku



Graf 4 Obsah Ca v mg v 1 g přírůstku



ZÁVĚR

V pokuse se 16 kohoutky brojlerového typu hybridní kombinace Ross 308 a se 16 kohoutky nosného typu hybridní kombinace Isa Brown byla ve třídních intervalech od 14. do 70. dne života sledována hmotnost kuřat a konverze krmiva a byla provedena bilance vápníku. Kuřata byla krmena kompletní krmnou směsí obsahující v 1 kg sušiny 9,81 g vápníku. Využití vápníku bylo zjišťováno indikátorovou metodou s oxidem chromitým. Obsah oxidu chromitého v krmivu a lyofilizovaném trusu byl stanoven jodometricky a obsah vápníku v přírůstku atomovou absorpční spektrofotometrií.

Ve věku 70 dnů byla hmotnost brojlerových kuřat 4809 g a kuřat nosného typu 1552 g. Rychle rostoucí kuřata využívala vápník z krmné směsi v průměru ze $43,2 \pm 1,69$ % a kuřata nosného typu z $38,1 \pm 1,82$ %. Rozdíl byl při hodnocení t-testem průkazný ($P < 0,05$).

Závislost procentického využití Ca na věku kuřat ve dnech byla vyjádřena rovnicemi lineární regrese

$$Y_{\text{Ross}} = 52,98 - 0,227 X; r = 0,521$$

$$Y_{\text{Isa Brown}} = 53,27 - 0,354 X; r = 0,752$$

S každým dnem života se tedy snižovalo využití Ca u kuřat masného typu o 0,227 % a u kuřat nosného typu o 0,354 %.

V 1 g přírůstku bylo obsaženo u brojlerových kuřat $9,2 \pm 0,76$ mg Ca a u kuřat nosné hybridní kombinace $8,9 \pm 0,36$ mg Ca. Rozdíl byl neprůkazný. Závislost obsahu Ca v přírůstku (mg/g) na věku kuřat ve dnech byla vyjádřena rovnicemi

$$Y_{\text{Ross}} = 3,31 + 0,136 X; r = 0,695$$

$$Y_{\text{Isa Brown}} = 7,76 + 0,027 X; r = 0,288$$

Z našich výsledků vyplývá, že využitelnost vápníku se mění v závislosti na věku, stejně jako obsah vápníku v přírůstku. S věkem se retence Ca během celého pokusu u kohoutků nosného i brojlerového typu snižovala.

Protože kuřata využívají z krmiva tolik vápníku, kolik potřebují, vyplývá z našich výsledků, že obsah tohoto prvku v krmné směsi pro masné i nosné hybridy může s přibývajícím věkem klesat.

LITERATURA

- HOUSEROVÁ, J. Vliv věku a intenzity růstu na retenci vápníku v organismu kuřat. Diplomová práce, Brno: MZLU, 2009, 82 s.
- MANDEL, L., TURYNEK, V., TRÁVNÍČEK, J. Jodometrická metoda stanovení kyslíčnicku chromitého, použitého jako indikátoru při pokusech stravitelnosti. *Živočišná výroba*, 8, 1960, s. 645 - 652.
- PLAVNIK, L., HURWITZ, S. Organ weights and body composition in chickens as related to the energy and aminoacid requirements: Effect of Strain, sex and age. *Poultry Science*, 62, 1983, p. 152 - 163.
- SHIRES, A., *et al.* Rate of passage of corn-canola meal and corn-soybean meal diets through the gastrointestinal tract of broiler and white Leghorn chicken. *Poultry Science*, 66, 1987, p. 289 - 298.
- VOGT, H. aj. Mineral requirements for poultry. Mineral requirements and recommendations for growing birds. *World's Poultry Science*, 41, 1985, p. 252 - 258.
- ZELENKA, J. Influence of the age of chicken on the metabolisable energy values of poultry diets. *British Poultry Science*, 9, 1968, p. 135 -142.
- ZELENKA, J., JÍLEK, F. Contribution to studies on the yolk sac role in the nutrition of chickens. *Acta universitatisagriculturae*, 18, 1970, p. 439 - 448.
- ZELENKA, J. Vliv pohlaví a věku vykrmovaných kuřat na využití vápníku krmných směsí. *Acta universitatisagriculturae*, roč. 34, č. 2, 1986, s. 311 - 316.
- ZELENKA, J., FAJMONOVÁ, E. Calcium, magnesium and phosphorus retention in young chicks. *Czech Journal Animal Science*, 46, 2001 (1), p. 22 - 26.
- ZELENKA, J., FAJMONOVÁ, E. Retence vápníku, hořčíku a fosforu u kuřat s rozdílnou intenzitou růstu během výkrmu do vyššího věku. *Czech Journal Animal Science*, 46, 2001 (3): s. 118 - 121.
- ZELENKA, J., FAJMONOVÁ, E., KOMPRDA, T. Retention of protein and fat in the meat of fast and slow-growing chickens fattened to higher age. *Czech Journal of Animal Science*, 46, 2001, p. 533 - 538.

THE GROWTH INTENSITY OF PHEASANT CHICKENS FATTENED WITH DIFFERENT DIETS

Hudečková P.¹, Zapletal D.¹, Vitula F.², Kroupa L.¹

¹Department of Nutrition, Livestock Breeding and Hygiene, Faculty of Veterinary Hygiene and Ecology, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Palackeho 1-3, 612 42 Brno, Czech Republic

²Department of Veterinary Ecology and Environment Protection, Faculty of Veterinary Hygiene and Ecology, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Palackeho 1-3, 612 42 Brno, Czech Republic

E-mail: hudeckovap@vfu.cz

ABSTRACT

The aim of this experiment was to evaluate the effect of different diets on the growth intensity and feed conversion in the fattened pheasant chickens up to 80 days of age. The experimental animals were 600 no sexed chickens of common pheasant (*Phasianus colchicus*). The pheasants were housed on the floor under controlled temperature conditions. For the first 60 days of the experiment was used a *day-light regime* of 23/1 h and then up to the end of experiment (80th day) was used a day/light regime of 12/12 h. The chickens were equally divided into the three experimental groups (group 1, 2 and 3) and the each group (n=200) was fed with a different diet with respect to the level of crude protein, fat and metabolized energy. The diet for: group 1 contained a higher level of crude protein, group 2 contained the lowest level of fat, group 3 contained the highest level of fat. This design was respected in the each of used complete feeding mixtures for pheasants (BŽ) during the whole fattening period. Generally, in the each experimental group was fed four kinds of complete feeding mixtures: BŽ 1 up to day 20, BŽ 2 from 21st to 40th day of age, BŽ 3 from 41st to 60th day of age and BŽ 4 up to day 80. At regular 10-day intervals we observed the following characteristics: body weight, average daily gain (ADG), consumption of feeding mixtures and conversion of feeds. The pheasant chickens fed diet with a higher level of crude protein achieved the significantly higher average body weight in 10th, 20th, 30th, 50th, 70th and 80th day of age compared to both of the other experimental groups fed diets with a lower level of crude protein. Concerning the different level of fat in the diets for group 2 and group 3, no significant differences in the body weight were found during the whole period of experiment. Generally, a higher growth intensity of fattened pheasants in all groups was observed between 21st to 60th days of age, with the culmination in the period between 31-40 days (12.7 g of ADG). In the period from 21st to 80th days of age, the consumption of feeding mixtures was founding as the highest for pheasants fed diet with the highest level of fat, as the average for diet with the highest level of crude protein and as the lowest for the diet with the lowest level of fat. The feed consumption traced a tendency of the consumption of feeding mixtures in particular diets.

Key words: pheasants, growth intensity, fattening, different diets.

Acknowledgments: this study was supported by NAZV QH 91276.

ÚVOD

Bažantí maso představuje, zejména díky vysokému obsahu některých proteinů a nízkému obsahu tuku s vyšším zastoupením esenciálních mastných kyselin, velmi ceněnou potravinu, která tak díky své nutriční hodnotě převyšuje kvalitu masa kachen, hus či brojlerových kuřat (Adamski a Kuzniacka, 2006; Straková a kol., 2006).

Výkrm bažantů by tak mohl najít své opodstatnění v produkci kvalitního masa, což je již možné vidět v realizaci specializovaných farem pro výkrm bažantů, především v zahraničí. Praktický rozvoj výkrmu bažantů v intenzivní podobě obnáší celou škálu aspektů, počínaje selekcí chovného hejna a konče určením optimální porážkové hmotnosti, přičemž výživa jako taková patří bezesporu mezi prioritní pilíře efektivní produkce.

Výživou vykrmovaných bažantích kuřat se zabývaly již například práce Neto a kol. (1997), Ohlsson a kol. (2006) a Speranda a kol. (2008), ve většině případů se však jedná o práce, které principiálně hodnotí vliv rozdílného zastoupení pouze specifické živiny v dietě.

Cílem naší práce bylo zhodnotit vliv různých typů diet na intenzitu růstu a konverzi krmiva u vykrmovaných bažantích kuřat do 80 dní věku.

MATERIÁL A METODIKA

V pokusu byla použita kuřata bažanta obecného (*Phasianus colchicus*), která byla ustájena na hluboké podestýlce v akreditované experimentální stáji Ústavu výživy, zootechniky a zoohygieny FVHE VFU Brno. V průběhu experimentu byla kuřata v prostředí s řízeným teplotním režimem odpovídajícím jejich požadavkům v konkrétním věku. Délka experimentu byla 80 dnů, přičemž v období do 60 dní věku kuřat byl použit 23 hodinový světelný režim. Poté bylo použito 12 hodinového světelného režimu. Celkem bylo v pokusu zařazeno 600 kusů kuřat bez rozlišení pohlaví. Kuřata byla rozdělena po 200 kusech do tří skupin.

Každé pokusné skupině byla zkrmována dieta s odlišným zastoupením živin, především co se týče celkového obsahu NL (respektive aminokyselin), tuku a metabolizovatelné energie. Směs pro skupinu č. 1 obsahovala vyšší zastoupení proteinů, pro skupinu č. 2 měla nejnižší obsah tuku a krmná směs pro skupinu č. 3 měla naopak obsah tuku nejvyšší. Toto pravidlo bylo respektováno u všech použitých krmných směsí pro bažanty (BŽ). Celkem byly v průběhu výkrmu zkrmovány čtyři typy směsí, a to BŽ 1 do 20. dne věku, BŽ 2 od 21. do 40. dne věku, BŽ 3 od 41. do 60. dne věku a BŽ 4 od 61. do 80. dne věku. Zastoupení základních živin ve 100 % sušině u všech použitých krmných směsí je uvedeno v tabulce 1.

V průběhu pokusu bylo v pravidelných 10 denních intervalech prováděno vážení všech kuřat, zjišťována spotřeba krmných směsí a následně byl vypočten průměrný denní přírůstek v gramech a konverze krmiv v kg směsi na kg živé hmotnosti.

Statistické zhodnocení hmotností bažantích kuřat mezi pokusnými skupinami v 10 denních intervalech bylo provedeno analýzou variance s následným potvrzením průkaznosti mezi skupinami

pomocí Fisherova LSD testu. Všechny statistické charakteristiky byly provedeny v programu Unistat 5.6. Označení významnosti mezi průměry je následující: $P \geq 0,05$ - NS; $P \leq 0,05$ - *, ^{ab}; $P \leq 0,01$ ** , ^{A,B}.

Tab. 1 Živinné složení krmných směsí ve 100 % sušině v jednotlivých obdobích a v rámci konkrétních skupin vykrmovaných bažantích kuřat

Krmná směs Věk ve dnech	BŽ 1 1. - 20.			BŽ 2 21. - 40.		
	1	2	3	1	2	3
Skupina						
Živina						
Protein (g/kg)	327,5	277,8	270,2	271,3	222,4	224,5
Tuk (g/kg)	67,0	62,3	80,5	71,1	61,5	79,6
Škrob (g/kg)	268,5	325,3	339,8	374,4	414,1	391,2
Vláknina (g/kg)	35,7	38,4	37,4	35,9	39,3	38,8
Popel (g/kg)	83,9	79,3	76,2	73,3	69,7	69,2
ME (MJ/kg)	13,3	13,2	13,6	12,0	12,0	13,5
Krmná směs Věk ve dnech	BŽ 3 41. - 60.			BŽ 4 61. - 80.		
	1	2	3	1	2	3
Skupina						
Živina						
Protein (g/kg)	219,9	186,3	178,9	183,8	149,8	137,8
Tuk (g/kg)	75,9	57,3	81,3	72,3	62,4	73,8
Škrob (g/kg)	409,9	478,9	461,0	465,2	499,6	491,5
Vláknina (g/kg)	38,3	38,8	41,1	38,0	40,1	38,5
Popel (g/kg)	65,5	65,1	65,8	59,2	57,8	56,0
ME (MJ/kg)	13,5	12,4	13,4	13,4	13,0	13,3

VÝSLEDKY A DISKUZE

Průměrné hmotnosti bažantích kuřat při použití jednotlivých typů diet v průběhu pokusu jsou uvedeny v tabulce 2. Signifikantně rozdílná hmotnost bažantích kuřat krmných rozdílnými dietami byla zjištěna v 10., 20., 30., 50., 70. a 80. dnu věku. Ve všech případech dosáhla vyšší průměrné hmotnosti kuřata krmná dietou s vyšším zastoupením proteinů (skupina č. 1) oproti oběma dalším pokusným skupinám. Co se týče průměrných hmotností mezi kuřaty ve skupině č. 2 (nižší zastoupení

tuku v dietě) a kuřaty ve skupině č. 3 (vyšší obsah tuku v dietě), nebyl ani v jednom případě zjištěn statisticky významný rozdíl mezi jejich úrovní.

Tab. 2 Průměrné hmotnosti bažantích kuřat v gramech při použití různých typů krmných směsí v 10 denních intervalech

Věk (den)	Skupina			Signifikance
	1	2	3	
	x ± s.e.m.	x ± s.e.m.	x ± s.e.m.	
1.	21,2 ± 0,22	20,8 ± 0,18	21,3 ± 0,21	NS
10.	63,9 ± 0,5 ^b	62,3 ± 0,4 ^a	62,7 ± 0,5	*
20.	150,2 ± 1,3 ^b	148,2 ± 1,0	146,4 ± 1,2 ^a	*
30.	266,1 ± 2,1 ^{B,b}	259,5 ± 2,0 ^a	257,3 ± 2,1 ^A	**
40.	391,4 ± 3,3	386,9 ± 3,4	384,5 ± 3,5	NS
50.	510,1 ± 4,9 ^{B,b}	495,8 ± 4,9 ^a	486,1 ± 5,1 ^A	**
60.	613,5 ± 6,2	599,4 ± 6,0	596,5 ± 6,0	NS
70.	694,4 ± 7,7 ^b	679,2 ± 7,2	673,1 ± 7,6 ^a	*
80.	782,2 ± 9,6 ^b	754,3 ± 8,7 ^a	751,4 ± 9,6 ^a	*

x: aritmetický průměr; s.e.m.: střední chyba průměru.

Vyšší zastoupení proteinů ve všech použitých směsích pro výkrm bažantů v našem pokusu vyvolalo obecně vyšší průměrnou hmotnost v průběhu celého hodnoceného období. Naše výsledky jsou ve shodě s prací Neto a kol. (1997), kteří na základě výsledků vlastního experimentu doporučují obsah proteinů v dietě pro bažanty v úrovni 30 % do 35 dnů věku kuřat.

Co se týče samotných průměrných hmotností vykrmovaných bažantích kuřat ve sledovaném období, v našem pokusu byly dosaženy hodnoty obecně vyšší než uvádí Speranda a kol. (2008), v jejich případě byla dieta pro bažanty obohacena organickým selenem či mannonoligosacharidy. Tento rozdíl by však mohl být vysvětlen celou škálou vlivů, přičemž jako jeden ze základních by mohl být uveden zřejmě odlišný genotyp bažantů obecných. Ve snaze eliminovat ve srovnání odlišný původ bažantů je možné uvést hodnoty průměrných denních přírůstků u bažantích kuřat bez rozlišení pohlaví, jenž uvádí Suchý a kol. (2003) a Mikundová a Straková (2004). V jejich případě byla zjištěna nižší průměrná hmotnost bažantích kuřat ve věku 40 a 50 dní (354 g respektive 470 g), avšak v 70 dnech věku uvádí hodnoty vyšší (720 g) než dosáhli bažanti v našem pokusu.

Tabulka 3 znázorňuje průměrné denní přírůstky bažantích kuřat v jednotlivých skupinách za konkrétní 10 denní období výkrmu. Nejvyšší růstovou intenzitu dosáhli bažanti ve skupině č. 1, mimo období mezi 31. – 40. dnem a 51. – 60. dnem, tedy ve věku, kdy nebyla statisticky potvrzena jejich vyšší průměrná živá hmotnost. Daná skutečnost by například mohla být vysvětlena případným

zhoršením zdravotního stavu některých jedinců v této skupině (počátek projevu kanibalismu), nebo právě odlišnou potřebou živin především v období mezi 50. – 60. dnem věku. Obecně vyšší intenzita růstu u námi vykrmovaných bažantů byla zjištěna mezi 21. – 60. dnem věku s kulminací mezi 31. – 40. dnem jejich života.

Tab. 3 Průměrné denní přírůstky bažantích kuřat v gramech při použití různých typů krmných směsí v jednotlivých hodnocených obdobích

g/kus/den	Hodnocená období ve dnech								
	1. - 10.	11. - 20.	21. - 30.	31. - 40.	41. - 50.	51. - 60.	61. - 70.	71. - 80.	
Skupina	1	4,3	8,6	11,6	12,5	11,9	10,3	8,1	8,8
	2	4,1	8,6	11,1	12,7	10,9	10,4	8,0	7,5
	3	4,1	8,4	11,1	12,7	10,2	11,0	7,7	7,8
Průměr	4,2	8,5	11,3	12,7	11,0	10,6	7,9	8,0	

Použitím diety s vyšším obsahem tuku (skupina č. 3) vůči dietě s nízkým obsahem tuku (skupina č. 2) nedošlo ani v jednom případě k průkaznému zvýšení průměrných denních hmotností v těchto skupinách. I co se týče průměrných denních přírůstků hmotnosti v těchto skupinách jsou jejich úrovně téměř shodné, s výjimkou mezi 41. – 60. dnem. Ve věku 41 – 50 dnů byla dosažena vyšší intenzita růstu u bažantů s nižším obsahem tuku v dietě a naopak v období mezi 51. – 60. dnem věku byla zjištěna nejvyšší intenzita růstu u kuřat s vyšším zastoupením tuku v dietě.

Jak celkové spotřeby krmných směsí, tak také konverze krmných směsí na kg přírůstku živé hmotnosti jsou v rámci jednotlivých diet a konkrétního období výkrmu bažantích kuřat uvedeny v tabulce 4.

Během prvních 20 dnů pokusu nejevila celková spotřeba krmiv u všech hodnocených diet rozdíly. K diferenciaci spotřeby krmiv došlo od 21. dne věku zvířat, od kdy je již možné konstatovat, že nejvyšší příjem krmiv byl zjištěn u diety s vyšším zastoupením tuku (skupina č. 3), průměrný byl u směsí s vyšším obsahem proteinů (skupina č. 1) a nejnižší příjem krmiv byl zjištěn u bažantů krmných dietou s nízkým obsahem tuku (skupina č. 2). Tento trend setrval až do ukončení experimentu v 80 dnech věku. Úroveň konverze krmných směsí na jeden kilogram přírůstku živé hmotnosti, pak zcela kopírovala trend celkové spotřeby jednotlivých směsí v období mezi 21. – 80. dnem věku bažantích kuřat.

Pro srovnání úrovně konverze krmiv ve výkrmu bažantů lze uvést práce Suchého a kol. (2003) a Mikundové a kol. (2005). V 50. dnu věku výkrmu uvádějí Suchý a kol. (2003) konverzi krmiv v úrovni 3,2 kg a v 90. dnech věku bažantů zjistili Mikundová a kol. (2005) konverzi v úrovni 5,0 kg. V obou případech to jsou hodnoty nižší než výsledky zjištěné v našem pokusu u bažantích kuřat podobného věku. Nicméně, v případě obou výše citovaných prací byly použity krmné směsi používané pro výkrm brojlerových kuřat, což by tak alespoň částečně mohlo vysvětlovat dané rozdíly.

Tab. 4 Konverze a celková spotřeba krmných směsí v kilogramech za hodnocená období v jednotlivých skupinách

Hodnocená období ve dnech	Skupina	Konverze (kg/kg ž.hm.)	Celková spotřeba (kg)
1. - 10.	1	1,69	0,11
	2	1,74	0,11
	3	1,78	0,11
1. - 20.	1	2,10	0,30
	2	2,12	0,29
	3	2,08	0,29
1. - 30.	1	2,68	0,71
	2	2,66	0,69
	3	2,91	0,75
1. - 40.	1	3,57	1,41
	2	3,43	1,32
	3	3,84	1,47
1. - 50.	1	4,13	2,11
	2	3,96	1,96
	3	4,52	2,20
1. - 60.	1	5,04	3,10
	2	5,03	3,00
	3	5,43	3,23
1. - 70.	1	5,62	3,95
	2	5,47	3,73
	3	5,88	4,00
1. - 80.	1	5,78	4,52
	2	5,60	4,22
	3	6,17	4,63

ZÁVĚR

Průkazně vyšší průměrná hmotnost bažantích kuřat v 10., 20., 30., 50., 70. a 80.dnu jejich věku byla zjištěna v případě použití diety s vyšším obsahem proteinu oproti oběma dalším dietám s nižším zastoupením proteinu.

V případě srovnání diety s nejnižším a nejvyšším zastoupením tuku nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi průměrnými hmotnostmi bažantích kuřat v těchto skupinách během celého hodnoceného období.

Obecně k vyšší intenzitě růstu u všech vykrmovaných bažantů došlo mezi 21. – 60. dnem věku s kulminací mezi 31. – 40. dnem.

Od 21. do 80. dne věku bažantích kuřat byl zjišťován nejvyšší příjem krmiv u diety s vyšším zastoupením tuku, průměrný byl u směsí s vyšším obsahem proteinů a nejnižší byl u diety s nízkým obsahem tuku. Konverze krmiv pak zcela kopírovala trend celkové spotřeby krmiv.

LITERATURA

- Adamski M, Kuzniacka J. (2006): The effect of age and sex on slaughter traits of pheasants (*Phasianus colchicus* L.). *Animal Science Papers and Reports*, 24(Suppl. 2): 11-18.
- Mikundová M., Straková E. (2004): Vliv věku vykrmovaných bažantů na jatečné ukazatele. In *Proteiny*. Brno: MZLU v Brně, p. 242-247.
- Mikundová M., Straková E., Suchý P. (2005): Růstová intenzita bažantích kuřat při intenzivním výkrmu a chemické složení svaloviny bažantů. In *VII. Konference mladých vědeckých pracovníků s mezinárodní účastí*. Brno: VFU Brno, p. 128-131.
- Neto MG., Junqueira OM., Malheiros EB. (1997): Effect of dietary protein in the diets for growing ringneck pheasants. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 32(7): 669-672.
- Ohlsson T., Smith HG. (2001): Early nutrition causes persistent effects on pheasant morphology. *Physiological and Biochemical Zoology*, 74(2): 212-218.
- Speranda M., Florijancic T., Boskovic I., Bogut I., Gutzmirtl H., Grguric D., Sencic D., Antunovic Z. (2008): The effects of organic selenium and mannan oligosaccharides on the productivity and health of pheasant chicken (*Phasianus colchicus*). *Acta Veterinaria-Beograd*, 58(1): 63-73.
- Straková E., Suchý P., Vitula F., Večerek V. (2006): Differences in the amino acid composition of muscles from pheasant and broiler chickens. *Arch. Tierz.*, 49(5): 508-514.
- Suchý P., Pažout V., Straková E., Slezáčková I. (2003): Srovnání kvality jatečného těla u vykrmovaných kuřat a bažantů. In *Současnost a perspektivy chovu drůbeže*. Praha: ČZU v Praze, p. 71-82.

THE EFFECT COMPOSITION OF DIETS ON DIGESTIBILITY OF MINERALS

Jančíková P., Zeman L.

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

E-mail: xjancik5@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The objective of this experiment was to determine the influence of different diets on the digestibility of nutrients and minerals. Eight horses were used for trial conducted in stable Boudky – Velké Němčice. Basal diet was supplemented with mineral feed additive containing zinc and manganese in organic form.

Digestibility of nutrients and selected minerals was estimated through calculation of amount of indicator in feed and in faeces. Digestibility of dry matter was 88.7% for calcium (S_x 17.3), 77.1% for phosphorous (S_x 16.6), and 60.2% for magnesium (S_x 23.5). It is evident from our data that digestibility reached higher values (except for calcium) in horses fed by grain concentrates. On the contrary mares receiving whole oat and pellets had the lowest values. Group of horses receiving grain concentrates, whole oat and pellets showed mean values of digestibility. Digestibility of zinc and manganese from ration was 88.5% for zinc (S_x 7.0) and 75.5% for manganese (S_x 14.7). We discovered statistical increase of digestibility after addition of mineral feed additive by 11.37% and 37.25% for zinc respective manganese, compared with digestibility of basal ration. It can be concluded that digestibility is influenced by diet composition, individuality and form of minerals.

Key words: horses, diet, digestibility, nutrients, minerals, chelate.

ÚVOD

Vědecké znalosti o výživě koní nejsou tak rozvinuté jako u ostatních hospodářských zvířat. Je to částečně způsobeno nedostatkem peněz, ale také nedostatkem snadno měřitelných parametrů úspěšnosti. Protože vědecky zhodnotit vlivy krmných dávek z nepřesných parametrů je obtížné, je tendence přijímat jako důkaz účinnosti výpovědi namísto vědeckých důkazů (RODIEK, 2002).

Vzhledem ke stále vzrůstající oblíbě koní jako společníka pro volný čas se jejich stavy neustále zvyšují a tento trend se očekává i v letech následujících. V červnu 2006 uvádí soupis ústřední evidence koní již 56 721 koní (MACHEK a ROUBALOVÁ, 2006). V současné době (k 30. 11. 2008) je v Ústřední evidenci v ČR registrováno přes 66 tisíc ks koní (MACHEK a ŠILHÁNOVÁ, 2008).

Jak uvádějí DUŠEK et al. (1999) byla výživa vždy v dějinách chovu koní jedním z klíčových faktorů ovlivňujících jejich zdraví, sportovní výkony a reprodukci. Divocí předci koní byli malí, otužilí, odolní, s tvrdou konstitucí. Nebyli příliš podobní dnešním ušlechtilým koním, měřitelnou výkonností (rychlost, síla, obratnost, rychlostní vytrvalost) se jim nemohli rovnat. Dokázali přežít a rozmnožovat se. Po domestikaci se museli vyrovnávat s jinými nároky a působili na ně jiné selekční tlaky. Chovatelé si vybírali k dalšímu chovu zejména ta zvířata, která jim vzhledem, vlastnostmi nebo výkonností vyhovovala. A brzy těm nejpozornějším a také nejúspěšnějším chovatelům bylo jasné, že tak, jak koně slouží lidem, člověk musí sloužit i jim. Odhalili základní vztah: čím vyšší výkonnost, tím kvalitnější krmení (DRÁSAL, 2005).

MATERIÁL A METODIKA

Pokus jsme uskutečnili na farmě Boudky - Velké Němčice, v soukromé stáji pana Karla Růžičky. Ve stáji bylo celkem 44 koní různých kategorií. Do pokusu bylo vybráno osm koní plemene český teplotkrevník. Průměrný věk skupiny dosáhl 8,5 let, přičemž nejmladší kůň byl šestiletý a nejstarší měl čtrnáct let. Průměrná odhadovaná hmotnost koní byla stanovena na 550 kg (nejméně 444,6 kg a nejvíce 653,3 kg). Během bilance byl pro všechny koně využit boxový typ ustájení o rozměrech 3 * 3,5 m, vystlaný pilinami. Koním nebyl umožněn přístup na pastvu, čímž jsme znemožnili příjem jiných, než námi předkládaných krmiv. Zvířata zařazená do pokusu byla krmena pravidelně dvakrát denně a to vždy ráno v sedm hodin a večer v osmnáct hodin. Základem krmné dávky bylo seno ad libitum předkládané do sítěk, jehož příjem byl pečlivě evidován. Napájení koní bylo zajištěno automatickými napáječkami. Dále byla krmná dávka doplněna jadrným krmivem. Množství a složení bylo upraveno dle pracovního využití koní. Takto předkládaná krmná dávka byla považována za kontrolní. Základní krmná dávka byla doplněna přídatkem 25 g/den minerální přísady, což vedlo k navýšení obsahu zinku a manganu v organické formě. Koně byli v průběhu bilance lehce – středně pracovní využívaní.

V den 0 byly odebrány od pokusných koní výkaly, další odběr výkalů následoval po 5 dnech, třetí odběr byl 28. den bilance. Analýza krmiv a výkalů byla provedena dle metod používaných v laboratořích MZLU v Brně dle vyhlášky č. 124/2001 Sb. a v souladu s předpisy pro pokusy na zvířatech (zákon č. 91/1996 a č. 544/2002 Sb.). Popis metodiky sběru výkalů a analýz je podrobněji popsán v práci JANČÍKOVÁ (2009). Minerální látky byly stanoveny pomocí absorpční

spektrofotometrie na přístroji Milestone. Pomocí vzorce na výpočet stravitelnosti indikátorovou metodou (ZEMAN et al. 2006) s využitím popele nerozpustného ve 3 M HCl byly stanoveny koeficienty stravitelnosti pro minerální látky. Výsledky byly vyhodnoceny analýzou variance a souhrnných charakteristik dle SNEDECOR a COCHRAN (1971).

VÝSLEDKY A DISKUZE

U pokusných koní se v průběhu experimentu neprojeví žádné závažné zdravotní poruchy. Pokus trval 4 týdny, během nichž koně přijímali námi předkládané a přesně evidované kvalitní luční seno a jadrné krmivo. Na začátku pokusu byla odhadnuta hmotnost koní, která v průměru dosahovala 550 kg S_x (směrodatná odchylka) 60,0.

Množství předkládaných krmiv a celkový příjem sušiny v krmné dávce uvádí tabulka 1.

Tab. 1 Příjem krmiva a sušina v kilogramech na den

Jména koní	Spotřeba sena kg/den	Spotřeba sena v sušině kg/den	Příjem ovsu kg/den	Příjem ovsu v sušině kg/den	Příjem šrotu kg/den	Příjem šrotu v sušině kg/den	Příjem granulí kg/den	Příjem granulí v sušině kg/den	Celkový příjem sušiny kg/den
Eufra	10,41	8,95	2,02	1,78	0,00	0,00	1,38	1,20	11,93
Teny	10,30	8,86	0,00	0,00	3,48	3,06	0,00	0,00	11,92
Landar	14,73	12,67	1,01	0,89	1,74	1,53	1,38	1,20	16,29
Nika	12,95	11,14	1,01	0,89	1,74	1,53	1,38	1,20	14,76
Punc	15,48	13,31	1,01	0,89	1,74	1,53	1,38	1,20	16,93
Útora	11,89	10,23	1,01	0,89	1,74	1,53	1,38	1,20	13,84
Úskok	15,51	13,34	0,00	0,00	1,74	1,53	0,00	0,00	14,87
Selen	14,50	12,47	2,02	1,78	0,00	0,00	1,38	1,20	15,45

Poznámka: šrot = směs pšenice a ječmene

U všech sledovaných minerálních prvků byl zjištěn koeficient stravitelnosti indikátorovou metodou. Pro potřeby tohoto výpočtu musely být provedeny rozborů krmiv i výkalů. V tab. 2 je popsán vliv individuality zvířete a krmení na charakteristiky koeficientů stravitelnosti sledovaných minerálů. Charakteristika koeficientů stravitelnosti minerálních látek v celkové bilanci je shrnuta v tab. 3.

Tab. 2 Vliv individuality zvířete a krmení na charakteristiky koef. stravitelnosti minerálů v jednotlivých bilancích

Živina	Eufra ¹⁾		Teny ²⁾		Landar ³⁾		Nika ³⁾		Punc ³⁾		Utora ³⁾		Úskok ²⁾		Selen ¹⁾	
	pr.	Sx	pr.	Sx	pr.	Sx	pr.	Sx	pr.	Sx	pr.	Sx	pr.	Sx	pr.	Sx
Sušina (%)	76,4	4,6	97,7	0,1	88,4	1,8	89,1	1,5	91,0	1,4	87,2	1,2	97,4	0,4	82,5	4,7
Ca (%)	52,6	10,6	19,3	41,3	69,5	7,2	68,6	3,9	69,4	7,7	54,1	8,5	50,5	9,3	51,6	9,8
P (%)	47,9	10,2	95,8	0,9	80,4	1,6	84,2	2,4	84,3	2,9	74,4	10,3	93,9	2,3	56,3	15,8
Mg (%)	14,7	16,3	87,8	2,8	65,8	6,2	62,4	3,9	70,9	6,8	46,9	2,7	89,0	1,1	44,0	8,6
Zn (%)	78,3	5,3	97,7	0,4	88,0	4,9	90,0	1,9	90,5	1,4	86,9	3,8	97,0	1,0	79,3	5,3
Mn (%)	62,4	7,1	93,7	1,2	75,5	6,9	79,8	6,7	78,5	6,6	70,9	7,3	93,3	1,9	49,5	25,8

1) koně krmení ovsem a granulami

pr. - průměr

2) koně krmení šrotem

Sx – směrodatná odchylka

3) koně krmení ovsem, granulami a šrotem

Tab. 3 Charakteristika koeficientů stravitelnosti minerálů

Koeficienty stravitelnosti minerálních látek v %					
Živina	minimum	MAXIMUM	Rozdíl	Průměr	Sm.odch.
Sušina	71,3	97,9	26,6	88,7	6,8
Ca	-38,9	79,7	118,5	54,5	17,3
P	34,4	96,8	62,4	77,1	16,6
Mg	1,6	91,1	89,5	60,2	23,5
Zn	72,1	98,2	26,1	88,5	7,0
Mn	13,9	95,0	81,1	75,5	14,7

Koeficient stravitelnosti sušiny v našem pokusu, byl stanoven kolem 88,7 % (S_x 6,8). PAGAN (1998) uvedl hodnotu koeficientu stravitelnosti sušiny asi 62 %. HOMOLKA et al. (1995) zjistili při pokusech na koních plemene český teplokrevník průměrný koeficient 58,72 %. TOMANOVÁ (1994) ve své práci uvedla hodnoty v rozmezí 65 – 80 %. V našem pokusu byly zjištěny vyšší hodnoty, než uvádějí citovaní autoři.

Hodnota stravitelnosti vápníku v naší bilanci (Tab. 3) byla odhadnuta na 54,5 % (S_x 17,3). PAGAN (1998) ve své publikaci stanovil koeficient stravitelnosti vápníku v rozmezí 29,7 – 58,3 %. TOMANOVÁ (1994) zjistila stravitelnost tohoto prvku na úrovni 68,82 %. ŠAJDLER (2003) 78 – 82 %. Dle ZEMANA et al. (2002) se průměrný koeficient stravitelnosti Ca pohybuje kolem 60 %. Námí zjištěné hodnoty kolísají v rámci stanoveném citovanými autory.

Zjištěný koeficient stravitelnosti fosforu v našem pokusu (Tab. 3) dosáhl 77,1 % (S_x 16,6). PAGAN (2000) uvedl výrazně nižší hodnotu 25,2 %. ZEMAN et al. (2002) stanovili hodnotu 45 %.

ŠAJDLER (2003) ve své práci publikoval výsledek 47,9 - 58,8 %. FRAPE (2004) uvedl koeficient stravitelnosti na úrovni 45 - 50 %. Námi zjištěné hodnoty byly výrazně vyšší.

Koeficient stravitelnosti hořčíku jsme odhadli na 60,2 % (S_x 23,5). FRAPE (2004) publikoval hodnotu 70 %, TOMANOVÁ (1994) ve své práci uvedla koeficient stravitelnosti Mg 60,2 % a ŠAJDLER (2003) stanovil rozmezí 59,9 – 71,1 %. Dle ZEMANA et al. (2002) se průměrný koeficient stravitelnosti hořčíku pohyboval kolem 17 %. PAGAN (2000) publikoval hodnotu 51,8 %. Námi stanovené hodnoty se nejvíce shodují s výsledky, které uvádí TOMANOVÁ (1994) a ŠAJDLER (2003).

Vypočtená hodnota stravitelnosti zinku (Tab. 3) v pokusné krmné dávce dosahovala 88,5 % (S_x 7,0). Při hodnocení vlivu individuality zvířat, vyšlo opět najevo, že nejnižší hodnoty stravitelnosti byly dosaženy u klisen s příjmem ovsu a granulí (78,8 %) a nejvyšší u koní s příjmem šrotu (97,3 %), jak uvádí tab. 2. ŠAJDLER (2003) publikoval hodnoty stravitelnosti Zn v rozmezí 86,0 – 89,9 %. TOMANOVÁ (1994) uvedla 71,93 %. PAGAN (2000) stanovil koeficient stravitelnosti Zn pouze 20,8 %. Dle ZEMANA et al. (2002) se může hodnota pohybovat kolem 60 %. Zjištěné hodnoty z naší bilance jsou srovnatelné s hodnotami, které uvádí ŠAJDLER (2003), ostatní autory převyšují, to může být způsobeno přidávkem chelátové formy Zn do naší pokusné krmné dávky, která pravděpodobně zvýšila jeho stravitelnost.

Průměrná stravitelnost manganu se v pokusné krmné dávce pohybovala kolem 75,5 % (S_x 14,7). ŠAJDLER (2003) ve své práci uvedl hodnotu stravitelnosti Mn v rozmezí 39,0 – 55,4 %. TOMANOVÁ (1994) určila stravitelnost Mn 64,7 %. PAGAN (2000) publikoval 20,5 %. ZEMAN et al. (2002) uvedli průměrný koeficient stravitelnosti manganu kolem 32 %. Naše hodnoty opět převyšují hodnoty stravitelnosti uváděné citovanými autory, i zde se zřejmě na vyšší stravitelnosti podílela organická forma přidávaného manganu. Ze základní krmné dávky byl odhadnut koeficient stravitelnosti manganu pouze 38,3 %.

ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo stanovit koeficienty stravitelnosti vybraných minerálních prvků v krmných dávkách koní, sledovat vliv krmné dávky na hodnoty stravitelnosti a zhodnotit vliv přídatku zinku a manganu v organické formě na jejich stravitelnost. Bilanční pokus byl proveden na skupině osmi koní, plemene český teplokrevník, na farmě Boudky – Velké Němčice. Během čtyř týdenního pokusu byly třikrát odebrány výkaly a jedenkrát vzorky krmiv pro potřebné analýzy.

Indikátorovou metodou byly stanoveny koeficienty stravitelnosti vybraných minerálních prvků. Koeficient stravitelnosti sušiny se v našem pokusu pohyboval kolem 88,7 % (S_x 6,8), vápníku 54,5 % (S_x 17,3), fosforu 77,1 % (S_x 16,6), hořčíku 60,2 % (S_x 23,5), zinku 88,5 % (S_x 7,0) a manganu 75,5 % (S_x 14,7).

Ze zjištěných údajů je patrné, že koeficienty stravitelnosti (s výjimkou vápníku) dosáhly vyšších hodnot u koní, jejichž jadné krmivo bylo tvořeno šrotem, naopak klisny, které přijímaly oves a granule měly hodnoty nejnižší, středních hodnot bylo dosaženo u skupiny koní, která přijímala šrot, oves i granule.

Stravitelnost zinku a manganu se po přidavku minerální krmné přísady, obsahující Zn a Mn v organické formě, zvýšila o 11,37 % u zinku a 37,25 % u manganu oproti stravitelnosti stanovené ze základní krmné dávky.

Z našeho pokusu vyplývá, že koeficienty stravitelnosti jsou ovlivněny složením krmné dávky, individualitou koně i formou doplňovaných minerálních látek.

LITERATURA

DRÁSAL, M. Magické slovo endurance : IV. část. *Iifauna* [online]. 1999, roč. 10, č. 7 [cit. 2008-11-24]. Dostupný z WWW: <www.ifauna.cz>.

DUŠEK, J., et al. *Chov koní*. Praha : Nakladatelství Brázda, s. r. o., 1999. 404 s., 28. ISBN 80-209-0352-6.

FRAPE, D. *Equine Nutrition and Feeding*. 3rd edition. Blackwell Publishing, 2004. 664 s. Dostupný z WWW: <<http://books.google.cz/books?id=Dz41ERHOHmcC>>. ISBN 1405105984

HOMOLKA, P., KUDRNA, V., PLUHAŘOVÁ, H. Stravitelnost živin a energie krmných dávek u českého teplotkrevníka. *Živočišná výroba*. 1995, č. 2, s. 75-78.

JANČÍKOVÁ, P. *Vlím minerální krmné přísady na stravitelnost*, 2009. 85 s. Diplomová práce

MACHEK, J., ROUBALOVÁ, M. *Situační a výhledová zpráva : Koně 2006*. Praha : Ministerstvo zemědělství, 2006. 69 s. ISBN 80-7084-532-5

MACHEK, J., ŠILHÁNOVÁ, D. *Situační a výhledová zpráva : Koně 2008*. Praha : Ministerstvo zemědělství, 2008. 98 s. Dostupný z WWW: <<http://www.mze.cz>>. ISBN 80-7084-768-8.

RODIEK, A.: Speciální diety pro koně. *www.biofaktory.cz* [online]. 2002 [cit. 2008-10-16]. Dostupný z WWW: <http://www.biofaktory.cz/clanky/dieta_kone.htm>.

SNEDECOR, G.W, COCHRAN, W.G. *Statistical Methods*. 6rd edition. Iowa : The Iowa States University Press, 1971. 593 s.

ŠAJDLER, P., ZEMAN, L. Stravitelnost dusíkatých látek u koní. In FAJMONOVÁ, E. *Mezinárodní konference "Výživa hospodářských zvířat 2003"*. 1. vyd. Ústav výživy a krmení hospodářských zvířat, AF, MZLU v Brně, 2003, s. 149-151. ISBN 80-7157-663-8.

PAGAN, J. D. *Advances in Equine Nutrition*. Kentucky Equine Research Inc., Versailles, Kentucky, USA, 1998. 564 s.

PAGAN, J. D. *Recent Advances in Equine Nutrition Research*. From Foal to Finish, the Equine Athlete. Interactive CD116, version 1.0. Kentucky Equine Research, Inc., Alltech, Inc., Versailles, Kentucky, USA, 2000.

TOMANOVÁ, M. *Studium stravitelnosti živin a energie u koní*, 1994. 109 s. Diplomová práce

ZEMAN, L., et al. *Výživa a krmení hospodářských zvířat*. 1. vyd. Praha : Profí Press, s. r. o., 2006. 360 s.

ZEMAN, L., DOLEŽAL, P., ŠAJDLER, P., SMETANOVÁ, M. Minerální prvky ve výživě koní. *Krmivářství*. 2002, č. 6, s. 24-26.

THE NUTRIENTS INTAKE FROM FARM FODDERS USED FOR SUPPLEMENTAL FEEDING OF EUROPEAN BISON

Jendroszczyk R., Wiliczekiewicz A.

Department of Animal Nutrition and Feed Quality, Wrocław University of Environmental and Life Sciences, 51– 630 Wrocław ul. Chelmońskiego 38D

E – mail: ren_ia@yahoo.de, andrzej.wiliczekiewicz@up.wroc.pl

ABSTRACT:

The source materials (the animals' state and the quantity of applied farm fodders) come from the forest district Kobiór and enclose the period from 2002 to 2007. These information were the basis for an evaluation of the nutritional value of fodders used in supplemental feeding of European bison in the "Zubrowsko" Reserve. In the sequence of the entire year meadow hay and mixture of crops (maize, wheat, oat, barley, wheaten brans) were the ground of applied farm fodders. In the period from October to April European bison had access to root crops (beets and carrots) which were an additional source of nutrients. Dietary evaluation took into account the following nutrients: dry meter intake [DMI], netto energy lactation [NEL], intestinal digestible protein [PDI], organic meter [OM], crude protein [CP], crude fiber [CS], neutral detergent fiber [NDF], fill units for cattle [CFU]. The largest consumption of fodder components was affirmed in January, and the smallest in July. Late in spring and in summer months the level of nutrients intake (from farm fodders) by European bison was similar to nutritional needs of ruminant suggested in norms INRA and DLG. In remaining months especially in winter the level of nutrients intake, except for fill units for cattle, was high. Additional the coefficients of correlation were enumerated between components of fodders and the temperature of the environment. A close relationship exists between the quantity of nutrients eaten by European bison, and the time of year. Minimum value of the coefficient of correlation (- 0.35) was noted for neutral detergent fiber [NDF], and highest (- 0.87) for cattle fill units [CFU]. Together with growth of the temperature of surroundings the quantity of taken alimentary components gets smaller.

Key words: European bison, supplemental feeding, nutritional value, "Zubrowsko" Reserve.

INTRODUCTION

In Poland Bison bonasus is protected by the law (Law on protection of nature and Regulations of the Environment Secretary determining the list of protected native wild appearing animals species). Thanks to its legal position the European bison is being held in so-called farm centers witch purposes are to support the kind and to increase the population of Bison bonasus. In conditions of the maintenance animals live in allocated areas of the forest. Excess quantities of eaten local plants can cause irreversible changes in the environment. Natural fodder base in the Natural Reserve „Zubrowsko ” isn't covering nutritional needs of Bison bonasus so there is a need to feed animals with country fodders. In available literature there is little information about flushing Bison bonasus.

The purposes of the research were an evaluation of the nutritional value of fodders used in feeding European bison and relations between the amount of nutrients intake and the environment temperature.

MATERIAL AND METHODS

Their research was conducted in forest of Pszczyna. European bison were held in two herds - in homestead open for tourists (8) and homestead opened to the reserve (27). Animals were fed in the sequence of the entire year with concentrate - corn (maize, wheat, oat, barley, wheat bran) and hay. Moreover in the period from October to April root crops were given to the animals – beets and carrot.

Source material (the state of animals and amounts of distributed fodders in feeding European bison) was from the forest district Kobiór and concerned the period 2002 – 2007. These information was the basis for carrying out an analyses of contents of nutrients in fodders used in feeding European bison. Applied fodders in feeding European bison were systematized taking into account the kind and their amount in single months. The body weight of European bison was calculated on the basis of structure of the herd and body mass presented in the study Krasnińska i Krasniński (2002). The number of animals was determined in each month assuming the value of 500 kg as average mass. Nutritional value of individual farm fodders (table 1) was taken from Norms of feeding ruminants INRA (1993) and studies of Redondo (1997) and Chamberlain (2008).

Table 1. Nutritional value of farm fodders from Norms of feeding ruminants INRA (1993) and studies of Redondo (1997) and Chamberlain (2008).

Nutrition	Farm Fodders							
	Maiz	Wheat	Barley	Oat	Wheaten brans	Beets	Carrots	Meadow hay
Dry meter intake(kg)	0,86	0,86	0,87	0,87	0,87	0,13	0,13	0,85
Netto energy lactation	1,10	1,03	1,00	0,90	0,78	0,15	0,14	0,54
PDIN (g)	70	70	70	70	100	10	10	50
PDIE (g)	100	100	90	70	80	10	10	60
Organic meter (kg)	0,85	0,84	0,85	0,85	0,81	0,12	0,11	0,78
Crude protein (g)	90	110	110	100	150	10	10	70
Crude fiber(g)	20	20	40	120	80	10	10	300
Neutral detergent fiber (g)	110	120	170	290	330	20	10	590
Fill units for cattle	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,09	1,11

The following nutrients were taken into consideration: dry meter intake [DMI], netto energy lactation [NEL], intestinal digestible protein [PDI], organic meter [OM], crude protein [CP], crude fiber [CS], neutral detergent fiber [NDF], fill units for cattle [CFU]. These information allowed an enumeration of average quantity of energy and alimentary components taken by European bison with 500 kg body mass. The graphs were prepared on basis of numeric data calculated from individual months. The Silesia Meteorological Centre in Katowice provided data concerning average temperatures for the region. This information allowed an enumeration of coefficients of correlation between individual nutrients in fodder taken by European bison (mean in years 2002 - 2007), and the temperature of environment. Valuation of the Pearsona coefficient of correlation was accomplished with help of the student t test. Other calculations were performed in the spreadsheet Excel of the package Microsoft Office 2007.

RESULTS AND DISCUSSION

The largest consumption of fodder components was affirmed in January, and the smallest in July.

In July dry matter intake (DMI) amounted 4.23 kg per 500 kg European bison, and in January 13.25 kg, however average dry matter intake in the entire period of examinations was about 8.24 kg (Fig. 1). Examinations on buffalo kept in natural conditions conducted by Miller and Anderson (1996) are pointing, that largest intake of dry matter is being observed in autumn(10.2 kg), and smallest in winter (7.8 kg). Miller and Anderson (1995; 1996) are stating that by buffalos there are important differences between intake of dry matter in summer-autumn and spring. Needs of dry matter intake for young breeding cattle is 9 – 10 kg (Zarudzki 1999). Average dry matter intake applied in farm fodders used in supplemental feeding of European bison was located in norms for ruminants.

The energy expressed in NEL taken of fodders applied in flushing European bison in July amounted 3.95 MJ/kg, and in January 11.31 MJ/kg (Fig. 2). However average netto energy lactation taken by European bison about the body weight of 500 kg amounted 7.19 MJ/kg, which was higher than the needs for young breeding cattle that demand 4.7 MJ/kg (INRA 1993). Olech (2008) is stating that the average accepted needs for European bison amounts to 5.0 MJ/kg for males, and for females 4.8 MJ/kg. However for mother cows with calves demand amounts to 7.4 MJ/kg.

In July average PDIN intake amounted to 338 g per 500 kg European bison, whereas PDIE to 384 g, and in January 899 g PDIN and 1088 g PDIE. However average intake for PDIN for the entire period of examinations amounted about 597 g, and PDIE 698 g (Fig. 3 and 4). Intestinal digestible protein needs for young breeding cattle amounts to 345 g (INRA 1993). It is possible and so to assume that average PDI intake by European bison was slightly higher than in norms for ruminants. Olech (2008) is stating that the average accepted needs of intestinal digestible protein for European bison males amounts to 425 g (body weight of the about 500 kg), for females (body weight of the about 450 kg), and for mother cows with calves even to 790 g.

In July organic meter (OM) intake amounted 4.02 kg per 500 kg European bison, and in January 12.42 kg, however average dry matter intake in the entire period of examinations was about 7.73 kg (Fig. 5).

European bison about the body weight of 500 kg in July ate 503 g crude protein (CP), and in January 1382 g, however average intake amounted about 908 g (Fig. 6). Needs of crude protein intake for young breeding cattle is 780 g (Zarudzki and in. 1999). And so

average intake of crude protein by European bison was higher than numbers in norms for ruminants. Dymmicka and Olech (2000) in the research on feeding European bison in "Zubrowisko" Reserve showed, that cereal crops were applied in bulks and they contained much of crude protein.

Average intake of crude fiber (CS) from applied farm fodders in feeding European bison about body weight 500 kg in July amounted 0.69 kg, and in January 2.95 kg, however average crude fibre intake in the entire period of examinations was about 1.66 kg (Fig. 7).

In July neutral detergent fiber intake amounted 0.75 kg per 500 kg European bison, and in January 1.20 kg, however average NDF intake in the entire period of examinations was about 1.05 kg (Fig. 8).

Taking fill units for cattle (CFU) by European bison about body weight 500 kg in July was 1.78 kg, and in January 10.28 CFU. Average CFU intake for the entire period of examinations amounted to 5.28 CFU (Fig. 9). Needs of CFU for young breeding cattle is 10.4 kg (INRA 1993). From here average intake of CFU by European bison was also clearly lower. One should however mark that with both the summer and the winter animals are eating the natural food in the pszczyna forest which in these examinations wasn't taken into account. Mean of intaken nutrients and the energy concern only farm fodders, with which European bison were fed in years 2002 - 2007.

Calculated coefficients of correlation in the arrangement temperature (the average temperatures for individual months in the year) – nutrients (DMI, NEL, PDI, OM, CP, CS, NDF, CFU) and presented in table 2.

Table 2. Coefficients of correlation in the arrangement temperature – alimentary component

Alimentary components	Coefficients of correlation
Dry meter intake	-0,85*
Netto energy lactation	-0,84*
PDIN	-0,82*
PDIE	-0,83*
Organic meter	-0,85*
Crude protein	-0,83*
Crude fiber	-0,86*
Neutral detergent fiber	-0,35
Fill units for cattle	-0,87*

* $p \leq 0,01$

Minimum value of the coefficient of correlation (-0.35) was noted for neutral detergent fiber. However for fill units for cattle the value of the coefficient of correlation was the highest and amounted (-0.87). For remaining nutrients coefficients of correlation were located in range from -0.82 to -0.86. It shows that together with growth of the temperature of surroundings the quantity of taken alimentary components gets smaller. In winter period on account of low temperatures in the environment European bison are satisfying their living demand for nutrients from supplemental feeding. However in summer the natural nutritional base is the primary source of nutrients for European bison.

Fig. 1. Dry mater intake by *E. bison* (kg/500 kg body weight)

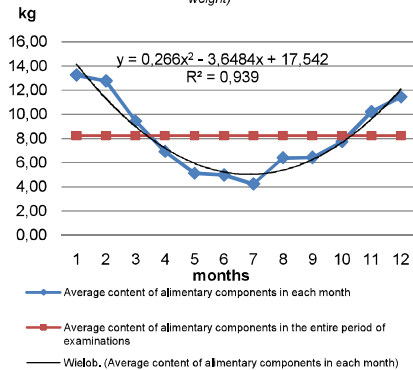


Fig. 2. Netto energy lactation intake by *E. bison* (MJ/kg/500 kg body weight)

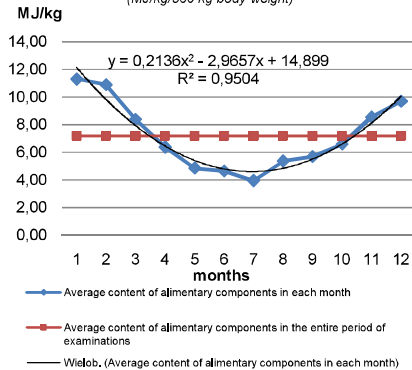


Fig. 3. PDIN intake by *E. bison* (g/500 kg body weight)

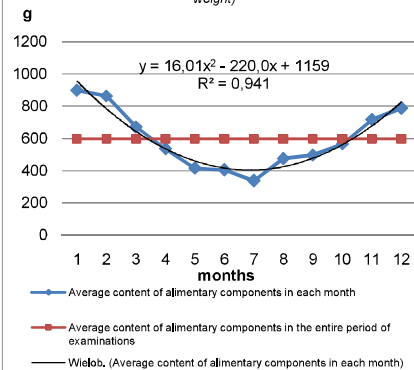


Fig. 4. PDIE intake by *E. bison* (g/500 kg body weight)

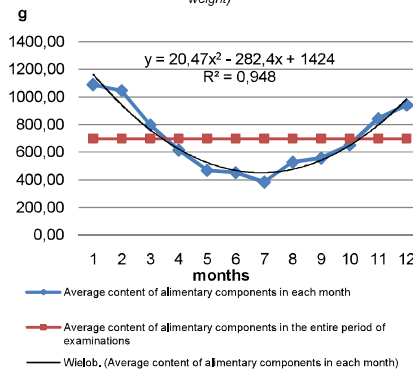


Fig. 5. Organic meter intake by *E. bison* (kg/500 kg body weight)

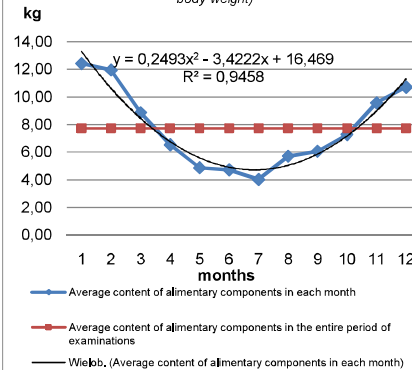
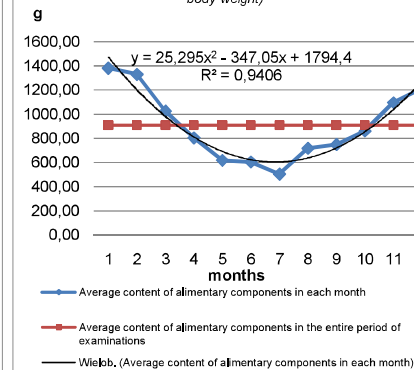
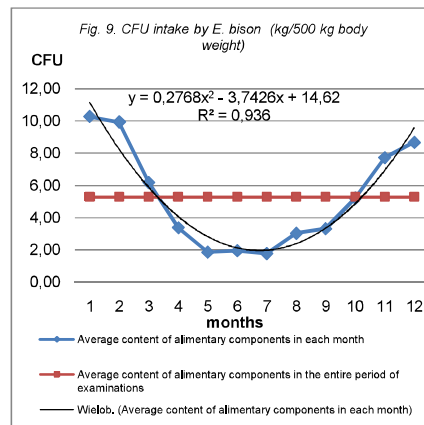
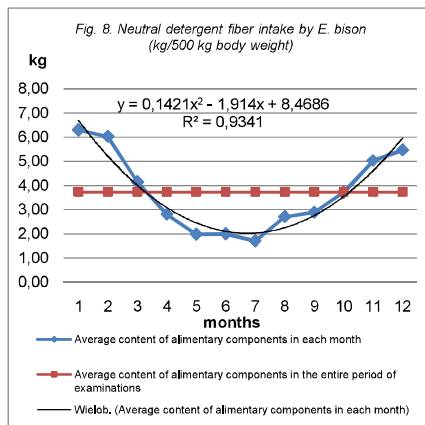
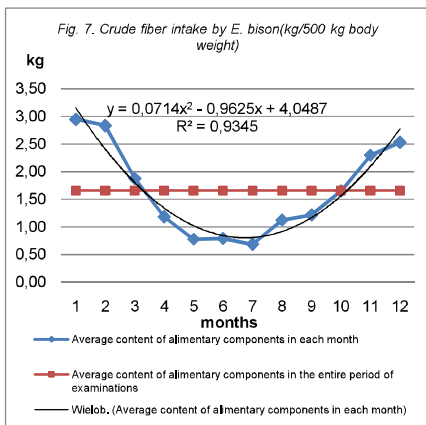


Fig. 6. Crude protein intake by *E. bison* (g/500 kg body weight)





SUMMARY

In feeding European bison in the Forest of Pszczyna the primary source of the energy and nutrients coming from applied from fodders were cereal crops and meadow hay, although in winter season the animals had also access to root crops - beets and carrots. The nutrients analysis of farm fodders showed that a close relationship exists between the quantity of nutrients taken by European bison, and the time of year. The amount of nutrients taken by *E. bison* clearly depended on the temperature of surroundings. The largest consumption of fodder components was affirmed in January, and the smallest in July. Supplementing feeding European bison in the Natural Reserve „Zubrowisko” delivered nutrients in amounts surpassing nutritional needs of ruminant animals with 500 kg body weight.

Literatura:

- Chamberlain A. T., Wilkinson J. M. 2008. Feeding the Dairy Cow. Chalcombe Publications, Southampton, UK.
- Dymnicka M., Olech-Piasecka W. 2000. Charakterystyka dokarmiania żubrów w krajowych ośrodkach hodowli. Materiały na konferencję naukową. 1-11.
- INRA, Alimentation des bovins, ovins et caprins – Besoins des animaux – Valeurs des aliments 1993
- Kraśnińska M., Kraśniński Z.: 2002. Body mass and measurements of the European bison during postnatal development. Acta Theriol. 47, 85-100
- Miller B., Anderson V. 1995. Effects of season and diet, including costs on feedlot performance of bison. Prof. An. Sci. (in review).
- Miller B., Anderson V. 1996. Comparison of energy level, corn, type, and corn processing for bison bulls in the feedlot during four seasons of the year. Carrington Research Extension Center-NDSU Beef and Bison Field Day Proceedings 19:21-24.
- Olech W. (red), Bloch W., Bolbot A., Bukowczyk I., Dackiewicz J., Dymnicka M., Hławiczka M., Kraśniński Z., Nowak Z., Raczynski J., Tęsiorowski W., Wyrobek K. 2008. Hodowla Żubrów. Poradnik utrzymania w niewoli. Stowarzyszenie Miłośników Żubrów, Warszawa, 1-100.
- Redondo A., Villanueva M. J., Rodriguez M. D., Saco M. D. 1997. Autoclaving effects on the dietary fibre content of carrots (*Daucus carota*) and turnips (*Brassica napus*): an evaluation of different methods. Z. Lebensm. Unters. Forsch. A 205:457-463.
- Zarudzki R., Traczykowski A., Mroczko L. 1999. DLG - Tabele Wartości Pokarmowej Pasz i Norm Żywienia Przeżuwaczy. PPH VIT-TRA. Kusowo.

CHANGES IN MILK YIELD AND BASIC PARAMETERS OF SHEEP MILK IN CROSSBREEDS WITH DOMINANT SHARE OF LACAUNE BREED DEPENDING ON THE STAGE LACTATION

Konečná L., Kuchťík J.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: konecna@mendelu.cz

ABSTRACT

The main aim of the study was the evaluation of the effect of the stage of lactation on milk yield and chemical composition (total solids (TS), fat (F), protein (P), caseine (C) and lactose (L)) of organic sheep milk. The study was carried out on organic sheep farm where were reared the crossbreeds (n = 79) of Lacaune, East Friesian and Improved Wallachian breeds. The milk recordings and samplings were carried out five times during the whole lactation. The stage of lactation had a highly significant effect ($P \leq 0.01$) on milk yield and contents of all milk components under study. The average daily milk yield was 0.67 l whilst the average contents of TS, F, P, C and L were 18.04%, 6.61%, 6.05%, 4.45% and 4.67%. The contents of TS gradually grew during lactation, whereas the contents of L gradually decreased. The contents of F, P and C were slightly variable during lactation, however in the end of lactation were found the tendency of growing of contents of F, P and C. The daily milk yield was relatively stable till the 120th day of lactation, however afterwards was found the decline of daily milk yield till the end of lactation.

Key words: sheep milk, stage of lactation, composition of milk

Acknowledgments: The research has been supported by project of Ministry of Agriculture of the Czech Republic – QH91271

ÚVOD

Početní stavy ovcí v České republice zaznamenaly od roku 2000 nárůst, za posledních osm let vzrostly na dvojnásobek (z 84 000 ks v roce 2000 na cca 180 000 ks ovcí v roce 2008). Přesto, že hlavním produkčním zaměřením v chovu ovcí je produkce jatečných jehňat, mírně vzrostly i počty dojných plemen ovcí. Podnikání v této oblasti se stává pro chovatele ovcí ekonomicky zajímavým, neboť roste poptávka po ovčích sýrech, které u našich producentů dosahují vysoké kvality a hygienické úrovně při nižších cenách. Realizační cena hrudkového sýra se pohybuje v rozmezí 150 – 180 Kč/kg oproti výrobkům importovaným (Bucek et al., 2007). Nejvýznamnějším zástupcem dojených stád je plemeno východofirská ovce (VF), které se podílelo na vzniku mnoha dalších plemen. Patří mezi nejužitkovější plemena na světě, proto bylo i u nás využito ke křížení za účelem vyšší produkce mléka. Plemeno zušlechtná valaška (ZV) je československého původu, s kombinovanou užitkovostí, rovněž dobře přizpůsobeno salašnickému způsobu chovu v podhorských a horských oblastech a mléko těchto ovcí je svým složením vhodné k výrobě sýrů. V posledních letech získávají chovatelé zkušenosti s importovaným francouzským plemenem lacaune (L), které je rovněž využíváno k zušlechťovacímu křížení a jeví se, že bude pro naše chovy přínosem. Výroba sýrů z mléka tohoto plemene má zejména ve Francii dlouholetou tradici.

Dojivost, složení a kvalita mléka ovlivňují následně výtěžnost a kvalitu ovčích sýrů a tím samozřejmě i ekonomiku chovů. Mezi faktory, které mají na kvantitu a kvalitu mléka zásadní vliv řadíme plemeno, věk a pořadí laktace, četnost vrhu, výživu a zdraví bahnic. Vlivem těchto faktorů a rovněž vlivem stadia laktace se zabývali Bencini a Pulina (1997), Hassan (1995), Aganga et al. (2002), efekt stadia laktace na obsah základních složek ovčího mléka sledovali Kuchtík et al. (2001), Kuchtík et al. (2008), Pokorná et al. (2009).

MATERIÁL A METODIKA

Do sledování, jež bylo realizováno v roce 2008, bylo zařazeno stádo bahnic chované na ekologické farmě ve Valašské Bystřici (n = 79), která se specializuje na výrobu ovčích sýrů. Jednalo se o trojplemenné kříženko L, VF a ZV s převažujícím podílem plemene L. Bahnění probíhalo v měsíci lednu (29 bahnic), únoru (41 bahnic) a březnu (9 bahnic) v ovčíně. Zimní KD se skládala z lučfního sena dobré kvality (*ad libitum*) a organického minerálního lizu MIKRO Mg Super (*ad libitum*). Zde byly bahnice spolu s jehňaty ustájeny až do odstavení jehňat, který proběhl v poslední dekádě měsíce dubna. Po odstavení byly bahnice přemístěny na celodenní pastvu na trvalých travních porostech, kde byly chovány až do konce sledování. Po odstavení bylo také započato strojní dojení dvakrát denně. V průběhu pastevního období a rovněž i celého našeho sledování, se denní krmná dávka bahnic skládala z pastvy na trvalých travních porostech (*ad libitum*), organického ovsa (0,05 kg/kus) a organického minerálního lizu MIKRO Mg Super (*ad libitum*). Měření dojivosti a rozborů mléka byly uskutečněny pětkrát v průběhu laktace v pravidelných intervalech počínaje měsícem květnem 2008. Zjištěné údaje byly následně pomocí lineární interpolace přepočteny na průměrný 90., 120., 150., 180. a 210. den laktace bahnic.

Vzorky mléka byly odebrány z ranního dojení, rozborů byly realizovány v laboratořích MZLU v Brně na Ústavu chovu a šlechtění zvířat a na Ústavu technologie potravin. Denní dojivost byla sumarizována

z ranního a večerního dojení. Všechny vzorky mléka byly ihned po nadojení vychlazeny na teplotu 5 – 8 °C a v termoboxu převezeny do rozborových laboratoří.

Při laboratorních analýzách na MZLU v Brně byly zjišťovány obsahy sušiny (S), tuku (T), bílkovin (B), kaseinu (K) a laktózy (L). Obsah sušiny v % byl stanoven dle ČSN ISO 6731 vážkovou metodou při teplotě 103 ± 2 °C. Obsah tuku v % byl stanoven dle ČSN ISO 2446 acidobutyrometrickou metodou dle Gerbera. Obsah bílkovin a kaseinu v % byl stanoven dle ČSN 57 0530 na přístroji Pro-Milk. Obsah laktózy v % byl stanoven dle ČSN 57 0530 polarimetricky.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Zhodnocení vlivu stadia laktace na dojivost a procentické zastoupení základních složek ovčího mléka je uvedeno v tab. 1.

Z této tabulky je zřejmé, že stadium laktace mělo statisticky vysoce průkazný vliv ($P \leq 0,01$) na všechny sledované ukazatele.

Denní dojivost byla nejvyšší při prvním odběru (0,88 l), pak se pozvolna snižovala, hodnota v 150. a 180. dni laktace byla prakticky stejná (0,64 l) a poté klesla při posledním odběru na nejnižší hodnotu (0,49 l).

U obsahu sušiny se projevil opačný trend, bylo zaznamenáno postupné zvyšování od nejnižšího procentického obsahu při prvním odběru (17,07 %) k nejvyššímu při posledním odběru (19,03 %). Tento trend uvádějí rovněž Pavic et al. (2002), Aganga et al. (2002), Kuchtík et al. (2001), Kuchtík et al. (2008).

Procentický obsah tuku byl nejnižší v 90. dni laktace (5,76 %), nejvyšší hodnoty dosáhl při posledním odběru (7,02 %). 120. až 180. den laktace jeho obsahy mírně kolísaly, nicméně byly téměř vyrovnané. Obdobný vývoj koncentrace tuku v průběhu laktace prezentují ve své studii rovněž Ploumí et al. (1998), Kuchtík et al. (2008), Hassan (1994), Fuertes et al. (1998).

U obsahu bílkovin došlo nejprve k mírnému poklesu ve 120. dni a následně k postupnému zvyšování až na hodnotu 6,8 % v 210. dni laktace. Podobný trend uvádějí Aganga et al. (2002), Pokorná et al. (2009).

Zastoupení kaseinu bylo nejnižší v 90. dni laktace (4,18%), nejvyšší v závěru laktace, kdy ve 210. dni dosáhlo hodnoty 4,96%. Ve 120. až 180. dni byly obsahy kaseinu variabilní. Kuchtík et al. (2008) zaznamenal trend kontinuálního zvyšování obsahů bílkovin resp. kaseinu.

Obsah laktózy zaznamenal trend postupného snižování od nejvyšší hodnoty v 90. dni laktace (4,82 %) po nejnižší ve 210. dni (4,49 %), podobně jako ve studii Pavice et al. (2002), Ploumího et al. (1998).

Tab. 1 Vliv stadia laktace na denní dojivost a základní složky organického ovčeho mléka

	Denní dojivost (kg) LSM	Sušina (%) LSM	Tuk (%) LSM	Bílkoviny (%) LSM	Kasein (%) LSM	Laktóza (%) LSM
Odběr	**	**	**	**	**	**
90.den (A)	0,88 ^{CDE}	17,07 ^{ABCD}	5,76 ^{BCDE}	5,75 ^{bcDE}	4,18 ^{bCDE}	4,82 ^{ABCD}
120.den (B)	0,79 ^{CDE}	17,78 ^{AdE}	6,83 ^A	5,58 ^{aCDE}	3,98 ^{aCDE}	4,68 ^{AE}
150.den (C)	0,64 ^{ABE}	18,12 ^{AE}	6,81 ^A	5,94 ^{aBDE}	4,72 ^{ABDE}	4,67 ^{AE}
180.den (D)	0,64 ^{ABE}	18,32 ^{AbE}	6,69 ^A	6,28 ^{ABCE}	4,46 ^{ABCE}	4,63 ^{AE}
210.den (E)	0,49 ^{ABCD}	19,03 ^{ABCD}	7,02 ^A	6,80 ^{ABCD}	4,96 ^{ABCD}	4,49 ^{ABCD}
Celá laktace	0,67	18,04	6,61	6,05	4,44	4,67

ZÁVĚR

Byl prokázán statisticky vysoce průkazný rozdíl ($P \leq 0,01$) v obsahu základních komponent organického ovčeho mléka v závislosti na stádiu laktace a rovněž vysoce průkazný vliv fáze laktace na dojivost. Byla zjištěna průměrná denní dojivost 0,67 l, organické ovčí mléko obsahovalo v průměru 18,04 % sušiny, 6,61 % tuku, 6,05 % bílkovin, 4,45 % kaseinu a 4,67 % laktózy.

LITERATURA

- Aganga A. A., Amarteifio J. O., Nkile N. (2002): Effect of Stage of Lactation on Nutrient Composition of Tswana Sheep and Goat's Milk. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15: 533-543
- Bencini R., Pulina G. (1997): The Quality of sheep Milk: a Review. *Wool technology and Sheep Breeding*, 45 (3):182 - 220
- Bucek P. et al, (2007): Ročenka chovu ovcí a koz v České republice za rok 2006, SCHOK v ČR: 8-11
- Fuertes J. A., Gonzalo C., Carriedo J. A., San Primitivo F. (1998): Parameters of Test Day Milk Yield and Milk Components for Dairy Ewes. *Journal of Dairy Science*, 81: 1300 – 1307
- Hassan H. A., (1995): Effects of Crossing and Environmental Factors on Production and Some Constituents of Milk in Ossimi and Saidi Sheep and their crosses with Chios. *Small Ruminant Research*, 18: 165 – 172
- Kuchtík J., Kašíková I., Řezníčková H., Gajdůšek S. (2001): Zhodnocení základních parametrů kvality ovčeho mléka při aplikaci polointenzivní výživy. In *Den mléka 2001, sborník AF ČZU Praha*: 63 - 64
- Kuchtík J., Šustová K., Urban T., Zapletal D. (2008): Effect of the Stage of Lactation on Milk Composition, its Properties and the Quality of Rennet Curdling in East Friesian Ewes. *Czech Journal of Animal Science*, 53: 55 – 63

Pavic V., Antunac N., Mioč B., Ivankovič A., Havranek J. L. (2002): Influence of Stage of Lactation on the chemical Composition and physical Properties of Sheep Milk. *Czech Journal of Animal Science*, 47: 80 – 84

Ploumi K., Belibasaki S., Triantaphyllidis G. (1998): Some Factors affecting daily Milk Yield and Compositions in a Flock of Chios Ewes, *Small Ruminant Research*, 28: 89 – 92

Pokorná M., Kuchtík J., Šustová K., Lužová T., Filipčák R.:(2009): Dojivost, složení mléka a kvalita ekologického mléka kříženek ovcí plemen lacaune, východofříská ovce a zušlechtěná valaška v průběhu laktace. *Acta universitatis agriculturae et silviculturae Mendelianae Brunensis*, ročník LVII,2: 87 – 93

PODĚKOVÁNÍ

Sledování bylo realizováno s podporou MZe QH 91271

MINERAL COMPOSITION OF THE TISSUES AND THE SKELETON OF TWO SPECIES OF FISH

Kubizna J., Jamroz D.

The Faculty Of Biology And Animal Science, Wrocław University Of Environmental And Life Sciences, J. Chełmońskiego 38C Street, 51-630 Wrocław, Poland

E-mail: joannakubizna@gmail.com

ABSTRACT

Each year the total fish consumption increases (FAO, 2003; European Commission, 2004). Also, the human awareness increases when it comes to the influence of the environment – the nutrition, pollution and interaction with other organisms – on the health and productivity of the fish. The studies of the fish nutrition started more than 70 years ago. Due to the specific – aquatic environment of life - to evaluate the digestion of the feeds in fish, the procedures appropriate for homeothermic animals: sheep, cattle, chicken – were used. Therefore, the evaluation of the proper digestion, metabolism, requirement of energy and growth was connected with a certain constant mistake. Now the procedures are perfected due to the years of the examinations and the clarity of the result was improved (Belal, E. H. I, 2005). The knowledge on the fish nutrition notably increased (Craig S., Helfrich L.A., 2002), and also the meaning of the individual minerals in various stages of life of fish has been analyzed (Rainuzzo et al. 1997; Rønnestad et al., 1999). Still, there is the need of precisising and analyzing acquired information.

Key words: mineral composition, *Oncorhynchus mykiss*, *Barbus barbus*. feeding

AIM OF THE STUDY

The aim of the study is to measure the changes of the chemical composition of the tissues and the skeleton on different stages of fish life.

MATERIAL AND METHODS

Two representative species of fish were chosen for the investigations. One is rainbow trout - *Oncorhynchus mykiss*, representative for the familia *Salmonidae*, second – barbel (*Barbus barbus*), a species of freshwater fish in the *Cyprinidae* family of minnows and carps. Fish were obtained from the breeding grounds where they were kept in pools with closed water flow and fed feed mixtures. Also total chemical composition, especially the mineral content of the feeds, was examined. The experiment is carried on the animals in successive stages of development.

First stage of the experiment was to obtain data about the natural mineral content of the fish depending on the age of the animals. So far two age groups of salmon were examined. First group consisted of 56 fish at the age of 6 months divided into 28 samples. Second group consisted of 28 fish at the age of 9 months. Also 28 individuals of barbel at the age of 18 months were examined. Two series of the feed examinations were carried.

RESULTS

The mean and standard deviation of the first group of examined fish are presented in Table 1.

Table 1. Average values of the examined parameters in the meat of salmon

Weight	Concentration in salmon meat (g/kg)										
	Dry matter	Protein	Ca	P	Na	K	Mg	Cu	Zn	Mn	Fe
85.71	24.45	17.85	0.698	2.355	0.579	3.444	2.6543	0.4221	0.153	0.042	0.3058

EXPECTED RESULTS

It is expected to verify if it is possible to influence the natural mineral composition of fish by feeding. The obtained data will allow to determine in what degree is mineral composition dependant on nutrition. The second stage of the experiment will consist of the same species of fish kept in the similar conditions. After finishing the first stage of the experiment, the modified composition of the feed will be determined and given to the fish of both species from early stage of life. The experimental groups will be examined at the same age as the control group.

LITERATURE

„Aquaculture rapidly growing” <http://www.fao.org/english/newsroom/news/2003/14203-en.html>

Belal E.H.I, “A review of some fish nutrition methodologies”, Bioresource Technology 96 (2005) 395–402

European Commonwealth, 2004, <http://europa.eu>

Craig S., Helfrich L.A. "Understanding Fish Nutrition, Feeds, and Feeding" Virginia Tech, Publication Number 420-256, 2002

Rainuzzo J.R., Reitan K. I, Olsen Y. "The significance of lipids at early stages of marine fish: a review" *Aquaculture* 155 (1997) 103 – 115

Rønnestad I, Thorsen A, Finn R. N. "Fish larval nutrition: a review of recent advances in the roles of amino acids", *Aquaculture* 177_1999.201–216

ELECTROPHYSICAL PROPERTIES OF THE STALLION EJAKULATE

Mamica O., Máchal L., Severa L., Švábová L.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: mamica@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

Cílem práce je sledování elektrofyzikálních vlastností ejakulátu hřebců. Pomocí fenotypových korelací zjišťujeme vztah naměřených hodnot elektrické vodivosti od každého odebraného ejakulátu k vybraným kvalitativním ukazatelům ejakulátu.

MATERIÁL A METODIKA

Pozorování elektrofyzikálních vlastností ejakulátu probíhalo u deseti klinicky zdravých plemenných hřebců různých plemen a různého věku. Sledování se uskutečnilo ve čtyřech odběrových termínech, přičemž každý odběrový termín bylo provedeno deset odběrů. Dle metodiky byl předpoklad, že pro další vyšetření bude k dispozici čtyřicet vzorků ejakulátu, u kterých bude provedeno měření sledovaných elektrických vlastností ejakulátu. V některých případech nemohly být změřeny a vypočteny všechny veličiny, z důvodu nedostatečného množství odebraného ejakulátu. Sperma bylo od hřebců získáváno 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 čtyřelektrodevým konduktometrem.

Získané hodnoty pH, objemu ejakulátu, aktivity a koncentrace spermií i zkoumané hodnoty elektrických 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 rozdílů 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 10,00 ml až 200,00 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 vyrovnána 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:

Průměrné hodnoty vybraných kvalitativních ukazatelů 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 $0,397 \text{ S.m}^{-1}$

Vztahy mezi jednotlivými průměrnými hodnotami měrné elektrické vodivosti a průměrnými hodnotami kvalitativních ukazatelů ejakulátu byly vyhodnoceny 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 ($\cdot 10^9 \cdot \text{cm}^{-1}$)	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 ($\cdot 10^9 \cdot \text{cm}^{-1}$)
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.: Umělá inseminácia a andrologia hospodárskych zvierat, Príroda Bratislava, 1976, m 574 s.

GAMČÍK, P., KOZUMPLIK, J. a kol.: Andrologia a umelá inseminácia hospodárskych zvierat. Príroda Bratislava, 1976, 574 s.

KLIMENT, J.: Reprodukcia hospodárskych zvierat, Príroda Bratislava, 1989

KOZUPLÍK, J.: Morfologické zmeny a dekapitace spermií jako příčina poruchy plodnosti plemenků, 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

MÁCHAL, L., KŘIVÁNEK, I., CHLÁDEK, G., DOLEŽAL, P.: Correlation between the relative permittivity and electric conductivity, and qualitative indicators of bull and boar ejaculates. J. Anim. Feed Sci., 1997, 6, 13-22.

MARVAN, F. a kol.: Morfologie hospodárskych zvierat, ZN Brázda Praha, 1992, 303 s.

VĚŽNÍK, Z.: (cit. MASSANYI, L., TRANDŽIK, J.: Analyzovanie pohyblivosti býčích spermií v čerstvých ejakulátoch komputerovou 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 FACTORS INFLUENCING THE NUMBER OF INSEMINATIONS NECESSARY TO FERTILIZE A MARE

Novohradská V., Jiskrová I.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xnovohra@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of my study was to compare the factors influencing the number of inseminations needed to fertilize a mare. I used the data from Equine reproduction centre in Pardubice-Mnětice (ERC Mnětice), data base from the period of seven seasons February 2002 to August 2008. The data base included 3 967 mares, from which 3 693 were inseminated with the fresh sperm and 274 were inseminated with the frozen sperm. The data obtained was analysed by GLM (general linear model) in the statistic program UNISTAT version 5.1. The differences were established between the insemination by fresh sperm and insemination by frozen sperm, breed, age of stallions, mating seasons and the individual stallions by the method of multiplicity's calibration. The number of inseminations needed to obtain gravidity and the influence of the mating season are statistically significant, the highest were reached in year 2002 (1.8) and the lowest on the other hand in 2006 (1.5). The statistically significant differences were found between the breeds: Holstein warmblood horse and Oldenburg warmblood horse, Hafling, Selle Francois and Westfalen horses. The frozen sperm insemination (1.2 ID/gravidity/mare) proved to be more successful method, than the one using fresh sperm insemination (1.6 ID/gravidity/mare). The age of stallion has a significant influence on the number of inseminations needed for gravidity of the mare (inseminations by fresh sperm). When the age of stallion increases, the number of inseminations necessary to fertilize a mare increases too.

Key words: mare, stallion, gravidity, pregnancy, insemination, fresh sperm, frozen sperm, insemination's dosage

ÚVOD

V současné době, kdy jsou koně využíváni hlavně ve sportovních činnostech, je nutno zaměřit plemenářskou práci na vyšlechtění kvalitních výkonných koní specializovaných na jednotlivé sportovní disciplíny, z nichž nejlepší budou schopni úspěšně obstát v mezinárodní konkurenci. V posledních několika letech je do České republiky dováženo mnoho zahraničních hřebců, kteří by zde měli působit jako zlepšovatelé a postupně pozdvihnout kvalitu našeho chovu na evropskou úroveň. Jednou z možností, jak přispět k produkci kvalitních koní se stala umělá inseminace, která se řadí mezi moderní biotechnologické metody, využívané v reprodukci a šlechtění koní. V dnešní době se inseminace stala nedílnou součástí plemenářské práce v chovu koní, kde se využívá imigrace genů a zvýšení genetického pokroku v chovu špičkových sportovních koní.

MATERIÁL A METODIKA

Práce vycházela z databáze, která byla vytvořena z plemenářské dokumentace Equininhoreprodukčního centra v Pardubicích Mněticích (ERC Mnětice) za období sedmi připouštěcích sezón od února 2002 do srpna 2008. Databáze obsahovala 3 967 klisen z nichž 3 693 klisen bylo inseminováno čerstvým spermatem a 274 klisen bylo inseminováno zmrazeným spermatem.

Data byla zpracována za použití obecného lineárního modelu (GLM), vycházejícího z metody nejmenších čtverců, ve statistickém programu UNISTAT verze 5.1

VÝSLEDKY A DISKUZE

Vysoce průkazný rozdíl ($P < 0,01$) byl zjištěn u faktoru připouštěcí sezóna nebo-li rok, který patří mezi faktory vnějšího prostředí společně s ročním obdobím, teplotou, vlhkostí vzduchu a světlem ovlivňující plodnost hřebců i klisen. Největší statisticky průkazný rozdíl jsme zjistili mezi připouštěcí sezónou 2002 a 2006, kdy v roce 2002 bylo potřeba 1,8 inseminací na zabřezení klisny a v roce 2006 1,5 inseminací. Tento rozdíl si vysvětlujeme délkou zimního období. V roce 2002 bylo 90 zimních dní, kdy průměrná teplota vzduchu dosahoval $-4,56$ °C, což bylo nejvíce zimních dní s nejnižší teplotou v námi sledovaném období, a naopak v roce 2006 bylo 36 zimních dní s průměrnou teplotou vzduchu $3,30$ °C, což bylo nejméně zimních dní s nejvyšší průměrnou teplotou za sledované období. Délka zimního období ovlivňuje plodnost, se kterou souvisí i počet inseminací potřebných na zabřezení klisny, především délkou světelného dne (fotoperiodu) a teplotou (Buiten a Westers, 2003).

Průkazný rozdíl v počtu inseminací potřebných na zabřezení klisny byl zjištěn mezi plemeny holštýnský kůň a selle francais. Rozdíl je s největší pravděpodobností způsoben rozdílným počtem zapuštěných klisen. Holštýnskými hřebci za sledované období bylo zapuštěno 1 010 klisen a hřebci selle francais 519 klisen. V současné době se v českém chovu z hlediska početního zastoupení uplatňují německá plemena koní a to především holštýnský kůň.

Rozdíl v počtu inseminací potřebných na zabřezení klisny jsme zjistili mezi 5 letými a 21 letými hřebci, kdy 5 letí dosahují průměrné hodnoty 1,4 inseminací potřebných na zabřezení a 21 letí dosahují 1,9 inseminací, což odpovídá autorům (Buiten a Westers, 2003; Dušek a kol., 1999; Louda a kol., 2001;

Věžník a kol., 2008), kteří uvádějí, že se zvyšujícím se věkem hřebce se plodnost snižuje. Podle Müllera (1999) je horní hranice plodnosti hřebců 30 – 40 let.

Vysoce průkazný rozdíl ($P < 0,01$) byl zjištěn u efektu hřebec. Rozdíly v počtu inseminací potřebných na zabřezení klisny mezi jednotlivými hřebci jsou zřejmě ovlivněny počtem zapuštěných klisen, s čímž souvisí plemenná příslušnost hřebce. Jak uvádí Krčová (2007), v posledních letech chovatelé upřednostňují k zapouštění svých klisen holštýnské hřebce s cílem odchovat hříbata s vynikajícím sportovním potenciálem.

Zjistili jsme, že statisticky průkazně lepší způsob je inseminace zmrazeným spermatem, což uvádí i Kuisma a Andersson, 2006. Při použití tohoto způsobu bylo zapotřebí 1,2 inseminací na zabřezení klisny. Při inseminaci čerstvým spermatem bylo třeba 1,6 inseminací na zabřezení klisny, což je o 0,4 inseminací více než bylo zapotřebí na zabřezení klisny po inseminaci zmrazeným spermatem. Lepší výsledky v počtu inseminací potřebných na zabřezení vykazuje metoda inseminace zmrazeným spermatem, což neodpovídá tvrzení některých autorů, tento výsledek je pravděpodobně způsoben tím, že většina klisen, byla inseminována pouze jednou v první říji, kdy zabřezlo 69 %. Jen velmi málo klisen bylo po neúspěchu v první říji nadále inseminováno zmrazeným spermatem a to z důvodů finanční náročnosti této metody. Při inseminaci zmrazeným spermatem musí chovatel předem zakoupit několik inseminačních dávek. Cena zmrazené ID je dána výkonností hřebce a pohybuje se od 7 000 Kč do 68 000 Kč v některých případech však může přesáhnout i tuto částku. Zmrazené ID chovatelům umožňují využívat nejcennější hřebce (osvědčeného a ve světě prověřeného genofondu) v mezinárodním měřítku (Loomis a Squires, 2008).

ZÁVĚR

Práce se zabývá problematikou moderní biotechnologické metody umělé inseminace koní a hodnocením počtu inseminací potřebných na zabřezení klisny za období 2002 – 2008 při zohlednění efektů plemenná příslušnost hřebce, věk hřebce, přípouštěcí sezóna, hřebec a způsob inseminace..

Na základě statistického zpracování jsme zjistili průkazný rozdíl mezi počtem inseminací a přípouštěcí sezónou, tento rozdíl byl největší v roce 2002 (1,8) a naopak nejmenší v roce 2006 (1,5). Rozdíl si vysvětlujeme délkou zimního období, která ovlivňuje plodnost, se kterou souvisí i počet inseminací potřebných pro zabřezení klisny, především délkou světelného dne (fotoperiodu) a teplotou tzn., že ovlivňuje délku anestrů klisen. Fotoperiodismus je rozhodujícím faktorem ovlivňující roční rozmnožovací cykly.

Dále jsme zjistili statisticky průkazné rozdíly mezi plemeny, holštýnský kůň a oldenburský kůň, hafling, selle francais a westfálským koněm. V současné době se v českém chovu z hlediska početního zastoupení uplatňují německá plemena koní a to především holštýnský kůň. Holštýnskými hřebci chovatelé zapouští své klisny za účelem odchovat hříbata s vynikajícím potenciálem a tím šlechtit na sportovní výkonnost.

Počet inseminací potřebných na zabřezení průkazně ovlivňuje stáří hřebce (při inseminaci čerstvým spermatem), kdy se zvyšujícím se věkem hřebce stoupá počet inseminací potřebných na zabřezení.

Statisticky průkazně lepší je způsob inseminace zmrazeným spermatem, kdy za sledované období bylo zapotřebí 1,2 inseminací na zabřeznutí klisny, kdežto při inseminaci čerstvým spermatem bylo třeba 1,6 inseminací. Na základě našeho zjištění, kdy inseminací zmrazeným spermatem je dosahováno lepších výsledků než při inseminaci čerstvým spermatem, bych doporučila chovatelům věnovat vyšší úroveň přípravy klisen před inseminací čerstvým spermatem, jako v případě inseminace zmrazeným spermatem, která zahrnuje využití služeb inseminační technika, který disponuje sonografem. Sonografie je moderní metoda umožňující spolehlivé určení optimální doby k inseminaci klisny, rannou diagnostiku březosti (od 12tého dne od posledního připuštění), detekci, případně následnou redukci dvojčat, včasné odhalení patogenních stavů a reprodukčních anomálií pohlavních orgánů klisny - možnost předcházení reprodukčním problémům, případně možnost včasného terapeutického zásahu (Grygar a Kudláč, 1997). Vzhledem k těmto skutečnostem je v dnešní době provádění inseminace klisen bez využití sonografického přístroje prakticky nemyslitelné.

V praktických podmínkách chovu koní se v současné době nejvíce uplatňuje inseminace krátkodobě konzervovaným spermatem. Tato reprodukční metoda je ve srovnání s přirozenou plemenitbou mnohem náročnější na znalosti a zkušenosti, i když v podmínkách široké praxe přináší dobré výsledky březosti klisen a předčí přirozenou plemenitbu, je třeba hledat zdroje dalšího zlepšení.

LITERATURA

Buiten van A., Westers, P.: Male, female and management risk factors for non – return to service in Dutch mares. Preventive Veterinary Medicine., vol. 61, 2003, s. 17 - 26.

Dušek, J., a kol.: Chov koní. Praha: Nakladatelství Brázda. 1999. 341 s. ISBN 80-209-0282-1.

Grygar, I., Kudláč, E.: Ultrasonografie ve veterinárním porodnictví a gynekologii. Hlučín: Slezan.1997. 247 s. ISBN 80-901948-6-9.

Krčová, S.: Zhodnocení významu hannoverského koně ve šlechtění českého teplokrevníka. Brno: Diplomová práce, Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2007.

Kuisma, P., Andersson, M.: Fertility of frozen-thawed stallion semen cannot be predicted by the currently used laboratory methods. Acta Vet Scand., 48 (1), 2006

Loomis, P. R., Squires, E. L.: Frozen semen management in equine breeding programs, 2005. Dostupné z <<http://www.sciencedirect.com/>>, citováno 2008.

Louda, F., a kol.: Inseminace hospodářských zvířat. Praha: Česká zemědělská univerzita. 2001. 225 s. ISBN 80-213-0702-1.

Müller, Z.: Nové reprodukční metody v Plemenitbě koni. Sborník referátů ze semináře: Chov koní v současných ekonomických podmínkách. Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, NH Kladruby nad Labem. 2006. ISBN 80-7357-006-6.

Věžník, Z. a kol.: Současné problémy v reprodukci koní v ČR. Sborník referátů ze semináře: Aktuální problémy chovu a šlechtění koní v ČR. Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, NH Kladruby nad Labem – hřebčín Slatiňany 2008. ISBN 80-978-80-7375-241-5.

EVALUATION OF PERFORMANCE HORSES IN WESTERN COMPETITIONS IN THE CZECH REPUBLIC

Petlachová T., Jiskrová I.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: terka.petlachova@centrum.cz

ABSTRACT

The goal of the diploma paper is to evaluate the performance of various horse breeds entering western riding classes in the Czech Republic approved by WRC CR. The statistical analysis is based on the data collected between the years 2004 - 2008. The criterion was the placing order of each breed within the monitored classes. The analysis using the GLM proved that the breed, class, the owner and the location of the show highly significantly affect the placing order of the horses. Factors such as the show year and sex were insignificant. Consequent Scheffé's multiple comparison test didn't show any significant differences between the individual factors. However, there appeared to be two significantly different pairs according to the Tukey multiple comparison test. It was the age factor where the most successful were the horses of the age of ten (67.25) whereas the most numerous was the group of the five year olds (15%). The second one was the factor of the owner with the highest performance level (80.62) reached by the horses of Pavel Málek and the most numerous (67) being the horses owned by ing. Klára Šalková. Other groups, that didn't prove any differences in accordance with Scheffé's and Tukey's test respectively, were assessed by comparing the mean score values. The breed with the highest mean score is the hucul (71.11), the most numerous one is the quarter horse (38%). The highest number of horses entered the Open Trail All Ages class, Youth Pole Bending is the class with the highest mean score (78.95). Most of the competitors (67%) entered the venues in Rožnov pod Radhoštěm, most successful ones (mean score 70.24) competed in Kostelany.

Key words: western riding, disciplines, horses, breeds, performance

ÚVOD

V České republice se první zmínky o westernovém ježdění datují do roku 1981. Westernové soutěže v České republice pořádá celá řada organizací. Nejstarší sportovní organizací, zabývající se westernovým sportem u nás, je Western Riding Club České Republiky (WRC ČR), jehož pravidla vychází z pravidel American Quarter Horse Association (AQHA). Disciplína cutting se pak řídí pravidly převzatými od National Cutting Horse Association (NCHA). Pravidla pro reining jsou nyní sjednocena s AQHA. Dříve bývala pro potřeby WRC ČR přebírána od National Reining Horse Association (NRHA). Disciplína reining byla jako jediná westernová disciplína uznána Českou jezdeckou federací a tak se jezdí podle pravidel Federation Equestre Internationale (FEI).

Další poměrně mladou organizací pořádající westernové soutěže v ČR je tzv. skupina JUJU Brno, která umožňuje účastnit se disciplín westernového sportu bez nutnosti vlastnit westernovou licenci jezdce. Tato organizace pořádá závody pro mladé a začínající jezdce a koně. Celé závody a vypsání disciplín se mohou, ale nemusejí řídit pravidly WRC.

Westernový styl ježdění si v České republice získává stále více příznivců a počty westernových koní i jezdců se v posledních letech neustále zvyšují.

MATERIÁL A METODIKA

Databáze pro následné statistické zpracování vznikla manuálním vkládáním údajů zveřejněných na internetových stránkách WRC ČR v členské sekci, během let 2004 až 2008. Chybějící data byla doplněna pomocí dotazníků adresovaných přímo majitelům koní. Hodnotícím znakem bylo pořadí jednotlivých plemen koní ve sledovaných disciplínách. Jednalo se o 19 plemen koní se 1496 starty, ve 25 disciplínách, rozdělených do 14ti věkových kategorií a podle pohlaví. O každém koni byly zaznamenány následující údaje: plemeno koně, umístění, disciplína, místo konání soutěží, rok konání závodů, rok narození, pohlaví, věk koně v roce startu, jméno koně a jméno majitele.

Pro zhodnocení výkonnosti koní ve westernových soutěžích jsme zvolili charakteristiku umístění koně v soutěži. Z důvodu získání větší variability v souboru jsme zvolili systém pomocných bodů, kdy byla jednotlivá místa bodově ohodnocena dle následujícího systému:

* první místo = 100 bodů * druhé místo = 80 bodů * třetí místo = 60 bodů

* čtvrté místo = 40 bodů * páté místo = 20 bodů * šesté místo = jeden bod

Při rozdělení základního souboru dle plemenné příslušnosti byli brány v úvahu všechny koně, kteří se umístili ve sledovaném období do 6. místa včetně. Koně byli rozděleni do 11 skupin podle četnosti startů. Skupina odpovídá plemenné příslušnosti nebo typu koní. Některé skupiny vznikly sloučením zástupců jednotlivých plemen z důvodů nízké četnosti některých dat v souboru. Pro třídění dle věku v roce konání soutěže bylo vytvořeno celkem 14 věkových skupin, kde byla porovnávána výkonnost na základě získaných zkušeností koní a stupně jejich výcviku.

Data byla statisticky zpracována lineárním modelem GLM ve statistickém programu UNISTAT 5.1 s pevnými efekty.

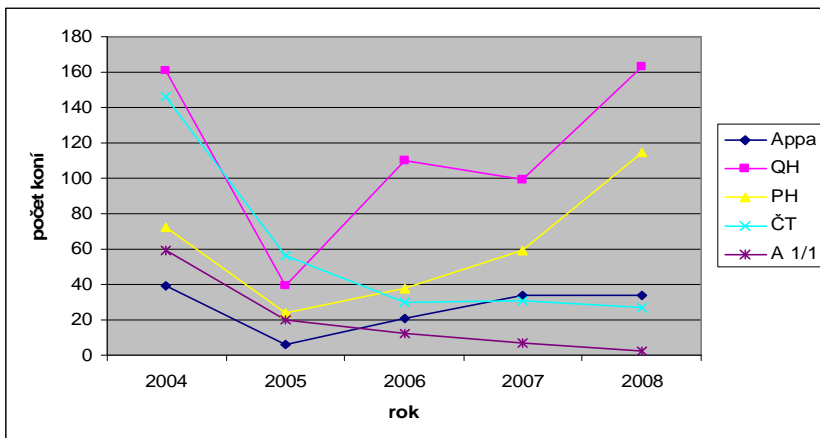
VÝSLEDKY A DISKUZE

ZACHOVÁ a LEČÍKOVÁ (2004) uvádějí, že každé plemeno může najít uplatnění a i se umísťovat na předních místech v jednotlivých disciplínách westernového sportu. Například ČT s vysokým rychlostním indexem může vítězit i v rychlostních soutěžích nebo hafling je díky své velikosti na předních místech v trailu.

Přesto je patrné, že od roku 2005 se na českých kolbištích zvyšuje obliba amerických westernových plemen a naopak se snižuje účast ostatních plemen. Z grafu 3 je dále patrný velký propad počtu zástupců českého a slovenského teplokrevníka – v roce 2004 bylo dekorováno 146 koní, v roce 2008 už jen 27 koní z této skupiny plemen. Největší propad v počtu účastníků však zaznamenala skupina anglického plnokrevníka – v roce 2004 se soutěží typu A účastnilo a bylo dekorováno 59 koní; v roce 2008 už jen 2 zástupci. Důvodem vysokého celkového početního stavu v roce 2004 byl především fakt, že v počátcích westernového sportu u nás byly nejdostupnějšími plemeny ČT a A1/1. Každým rokem jsou z dostihového sportu vyřazováni méně úspěšní A1/1, které můžeme po rekvalifikaci potkávat v dalších jezdeckých odvětvích včetně westernového sportu (BÍLKOVÁ, 2007). A1/1 nacházel uplatnění především v rychlostních disciplínách, kde bylo využíváno jeho rychlosti a rychlých reakcí. Dalším nejdostupnějším plemenem v ČR v roce 2004 byl ČT. Ten měl oproti rychlému, ale většinou i často nervóznímu A1/1 výhodu v menší vzrušivosti a tím větší soustředěnosti na jezdcovy pobídky.

Ostatní skupiny plemen byly a stále jsou během celého sledovaného období zastoupeny na národních a mezinárodních typech soutěží bez větších početních výkyvů.

Graf 3 Pět nejvíce početně zastoupených skupin plemen koní v letech 2004 - 2008



Statistickým zpracováním bylo zjištěno, že vysoce průkazný vliv na pořadí má plemenná příslušnost, disciplína, místo konání a majitel. Věk koně v roce startu vykazuje průkazný rozdíl. Dále se statisticky neprůkazné ukázaly faktory rok konání a pohlaví.

Tab. 2 Průkaznost vlivu sledovaných efektů na pořadí

Zdroj variability	St. vol.	Stat F	Významn.
PLEMENO	10	2,607	0,0040
DISCIPLÍNA	24	4,348	0,0000
MÍSTO KONÁNÍ	6	3,329	0,0029
ROK KONÁNÍ	4	0,753	0,5472
POHLAVÍ	2	1,207	0,2985
VĚK	13	1,934	0,0223
MAJITEL	148	2,673	0,0000

Následným mnohonásobným porovnáním dle Scheffeho nebyly zjištěny žádné vysoko průkazné ani průkazné rozdíly mezi jednotlivými faktory. Proto bylo v některých případech přihlédnuto i k výsledkům následného mnohonásobného porovnávání dle Tukeye – B, kde se vyskytlo několik významně odlišných párů. Jedná se o faktor věk koně v roce startu, kde nejlepší výkonnost prokázali koně desetiletí (67,25), nejpočetnější skupinou byli koně pětiletí (15%) a faktor majitel koně s nejvyšší prokázanou výkonností u koní pana Málka (80,62). Nejvíce startujících koní (67) bylo v majetku paní ing. Šálkové.

U faktorů, kde nebyly zjištěny vzájemné rozdíly dle Scheffeho resp. dle Tukeye, jsme výkonnost porovnávali na základě průměrných hodnot. Nejvyšší průměr (71,11) mezi sledovanými plemeny vykazují zástupci plemene hucul a nejpočetnější skupinou je QH (38 %). Nejvíce koní startovalo v disciplíně Otevřená Trail All Ages (7 %), disciplína s nejvyšší průměrnou hodnotou 78,95 je Mládež Pole Bending. Rožnov pod Radhoštěm byl místem konání s největším počtem soutěžících (67 %), nejvyššího průměrného hodnocení 70,24 dosáhly Kostelany.

ZÁVĚR

Základem úspěchu ve westernovém sportu je především výběr vhodného koně pro každou disciplínu. Důležitý je i trénink. Avšak i výborně trénovaný kůň například na reining, který má spíše konstituční i povahové předpoklady stát se výborným pleasurovým koněm, bude dosahovat jen průměrných výsledků a nikdy se nestane vítězem v královské disciplíně westernového sportu. Ve westernovém sportu stejně jako v anglickém „Není kůň jako kůň“. Čeští jezdci si tak stále více uvědomují, že existují krevní linie určené ke konkrétnímu využití a při výběru a nákupu koně se začínají tímto faktem řídit. Mezi nejvýznamnější krevní linie patří cuttingová, reiningová, halterová, pleasurová, hunterová, rychlostní barelová a dostihová linie a dobytkařská linie koní.

Tomuto myšlenkovému posunu vpřed ohledně výběru koně, správného chovu a efektivního tréninku přispěl i vznik českých asociací chovatelů amerických westernových koní. PHC ČR = Paint Horse Club ČR funguje již od roku 1995, zakladateli byli manželé Polákové a prezidentkou klubu je paní Silvie Lečíková. V současné době je v České republice registrováno bezmála 500 koní plemene Paint Horse. CZQHA = Czech Quarter Horse Association byla založena v roce 2001, prezidentkou je paní Jitka Kynclová a v České republice se v současné době registruje 337 členů a okolo 1000 koní plemene Quarter Horse. Ve stejném roce jako CZQHA byl založen i klub ApHCCZ = Appaloosa Horse

Club Czech, který v roce 2008 registroval 123 členů a okolo 400 koní plemene Appaloosa. Prezidentkou ApHCCZ je paní Esther Weberová.

LITERATURA

BÍLKOVÁ, J. (2007): *Americké asociace v ČR*. Ústní sdělení, Brno

ZACHOVÁ, M., LEČÍKOVÁ, S. (2004): *Výcvik a využití koní pro westernový sport*. 1. vyd. Brno: MZLU v Brně, 184 s. ISBN: 80-7157-802-9

EVALUATION OF BASIC BODY MEASURES OF THE WELSH PONIES AND COBS

Příšová M., Jiskrová I.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: marketa.pisova@centrum.cz

ABSTRACT

At my diploma thesis I was engaged in evaluation of basic body measures of breed Welsh pony and cob. Our aim was evaluation of effects to basic body measures by sex, age of registrated in studbook, year of registrated in studbook and domicile of origin. I used the linear method GLM. We were evaluated basic body measures of Welsh ponies and cobs by domicile of origin too. We used 373 welsh ponies and cobs, 75 stallions and 298 mares. The dates were provided from Association of breeding horses (ASCHK) and The evidention of horses in Slatiňany (ÚEK). In the database were 4 body measures: stick-measure, tape-measure, girth of bone and girth of chest.

The results of my diploma thesis were shown that present numbers of Welsh ponies in the Czech studbook are not enough for demonstration of some significant effects. We detected significantly results ($P \leq 0,05$) for domicile of origin effect at the total herd of withers The circuit of chest was significantly ($P \leq 0,05$) for the age of registrated in studbook. I haven't found any more significantly results in the others effects.

Key words: The welsh pony, cob, body measures, domicile of origin, studbook

ÚVOD

Velšský pony je jedno z nejznámějších plemen pony na světě. Z malého zavalitého ponyho, který běhal po rozsáhlých pláních Walesu, se stal v současnosti vytrvalý, energický sportovní pony nejen pro děti. Jeho počátek se traduje až do roku 55 př. n. l. Plemeno velšský pony a kob je rozděleno do několika sekcí, přičemž nejpočetnější sekce ve světě je A, tedy velšský horský pony. Během staletí se exteriér velšských pony měnil, především ve 20. století vlivem stále většího tlaku na produkci jezdeckých pony z původních kočárových (Davies, 2006).

V České republice se tyto ponyové začali chovat od 70. let minulého století a jejich obliba stále roste. To nejen díky výborným jezdeckým schopnostem, ale i kvůli jejich dobrému charakteru, nenáročnosti a mnohdy jsou využíváni i jako společníci. Toto plemeno stále častěji ovlivňuje i chov ostatních plemen ponyů, v České republice pak především českého sportovního pony. Proto je velmi důležitý chovný materiál, který je založen nejen na kvalitních klisnách, ale také potenciálu hřebců a jejich schopnosti předávat typické vlastnosti. Především je nutné zabývat se stavbou těla tohoto plemene vzhledem k jeho standardu, který vyžaduje koně s vynikající a mohutnou stavbou těla. Tohoto se nám často u koní nedostává a především obvod holeně a obvod hrudníku jsou často nedostatečné.

METODIKA A MATERIÁLY

Pro práci byla zpracována data na podkladě české plemenné knihy velšských pony. Data obsahovala základní tělesné míry, které naměřili inspektoři chovu koní při zařazování koní do plemenitby. Údaje poskytla Asociace svazů chovatelů koní v Písku a Ústřední evidence chovu koní ve Slatiňanech.

Do databáze bylo zařazeno 373 koní velšských plemen pony a kob, z toho 75 hřebců a 298 klisen. V databázi bylo 45 pony velšského horského ponyho, 47 pony velšského ponyho, 3 pony velšského ponyho v typu koba, 34 koní velšského koba a 244 koní podílového velšského ponyho.

Srovnávací základna zahrnovala tyto efekty:

- věk při zařazení do plemenitby
- rok zařazení do plemenitby
- příslušnost k pohlaví
- zemi odkud kůň pochází.

Třídění do skupin dle věku při zařazení do plemenitby:

Pony a koně byli zařazováni ve věku : 2, 3, 4,...16, 18, 19, 22

n = 19

Třídění do skupin dle roku zařazení do plemnitby:

Pony a koně byli zařazováni od roku 1989 – 2008.

n = 19

Třídění do skupin dle pohlaví:

H – hřebec

K – klisna

Třídění do skupin dle země původu:

C – Česká republika

D – Německo

NL – Nizozemí

GB – Velká Británie

AUT – Rakousko

DNK - Dánsko

Byly vymezeny 4 základní tělesné rozměry, které byly naměřeny inspektory chovu při zařazování koní do plemnitby. Z těchto rozměrů byly dva obvodové (obvod hrudníku, obvod holeně) a dva výškové (kohoutková výška hůlková a kohoutková výška pásková).

Jednotlivá data byla zpracována v programu UNISTAT verze 5.1, v programu Statsoft STATISTICA verze 8.

U databáze byl zjišťován vztah mezi základními tělesnými mírami (kohoutková výška hůlková, kohoutková výška pásková, obvod hrudníku a obvod holeně) a rokem zařazení do plemnitby, věkem při zařazení do plemnitby, příslušností k pohlaví a zemi původu.

Data byla vyhodnocena lineárním modelem s pevnými efekty (GLM):

$$y_{ijkl} = \mu + a_i + b_j + c_k + d_l + e_{ijkl}$$

Kde:

μ = celkový průměr

a_i = efekt pohlaví koně ($i = 1,2$)

b_j = efekt roku zařazení do plemnitby ($j = 1,2,\dots,19$)

c_k = efekt věku při zařazení do plemnitby ($k = 1,2,\dots,19$)

d_l = efekt země původu ($l = 1,2,\dots,5$)

e_{ijkl} = reziduální efekt

Srovnání kohoutkové výšky hůlkové velšských plemen pony metodou GLM

Srovnávací analýzou dat kohoutkové výšky hůlkové dle zvolených efektů věku při zařazení do plemnitby, roku zařazení do plemnitby, pohlaví a země původu. U efektu země původu jsme zjistili statisticky průkazný vliv ($P \leq 0,01$). Výsledná průkaznost je uvedena v tabulce 1.

Tab. 1 Vliv jednotlivých efektů na kohoutkovou výšku hůlkovou

Kohoutková výška hůlková		
Závislá	F	p
Proměnná		
Pohlaví	0,993437	0,49251
Rok zařazení	1,116453	0,2806
Věk při zařazení	0,793492	0,84623
Země původu	1,673513	0,00401

U ostatních efektů, jakým je pohlaví, rok zařazení do plemnitby a věk při zařazení do plemnitby jsme nezjistili průkazný vliv. To je dáno pravděpodobně přísně daným standardem plemene a striktně standardizovanou kohoutkovou výškou hůlkovou.

Odlišnost kohoutkové výšky hůlkové v závislosti na efektu pohlaví, ve své práci prokázala Matoušová (2003) u huculských koní.

Kohoutková výška hůlková u sekcí A, B, C, D je v jednotlivých letech velmi málo odlišná, což je dáno přísným standardem s omezenou kohoutkovou výškou. Naproti tomu u sekce WPBR dochází u KVH k mírnému zvýšení.

Srovnání kohoutkové výšky páskové metodou GLM

Srovnáním dat kohoutkové výšky páskové dle zvolených efektů věku při zařazení do plemnitby, roku zařazení do plemnitby, pohlaví a země původu jsme nezjistili průkazný vliv. Dle našich výsledků nemá na kohoutkovou výšku páskovou vliv žádný z námi sledovaných efektů.

Neřivá (2008) naopak uvádí, že kohoutková výška pásková se u českých sportovních koní zvyšuje s rokem zařazení do plemnitby. Tato skutečnost může být ovlivněna tím, že český sportovní pony je mladé plemeno, které se teprve vyvíjí, naproti tomu velšská plemena pony a kob mají svůj daný standard již od roku 1901.

Srovnání obvodu holeně metodou GLM

Pomocí lineárního modelu jsme porovnali hodnoty podle jednotlivých efektů a zjišťovali statistickou průkaznost ($P \leq 0,05$). Pro efekt pohlaví, rok zařazení do plemnitby, věk při zařazení do plemnitby a země původu jsme nezjistili žádnou statisticky významnou průkaznost.

Významnou průkaznost mezi pohlavím však prokázala ve své práci Sobotková (2006) u měření starokladrubských koní i Prausová (2006) u achaltekinských koní.

Srovnání obvodu hrudníku metodou GLM

Srovnáním dat obvodu hrudníku dle zvolených efektů věku při zařazení do plemnitby, roku zařazení do plemnitby, pohlaví a země původu jsme zjistili průkazný vliv.

U obvodu hrudníku byla statisticky zjištěná průkaznost ($P \leq 0,005$) u efektu věku při zařazení do plemnitby. U efektu věk při zařazení do plemnitby má velký vliv vývoj kostry. To je patrné i ve zvyšování se hodnot indexu mohutnosti, dle věku při zařazení do plemnitby. U koní Kinských, jak uvádí Večerek (2005), nebyla sice prokázána statistická průkaznost ve věku při zařazení do plemnitby, ale statisticky průkazný byl efekt věku u indexu mohutnosti, v jehož výpočtu je obvod hrudníku jednou z hodnot.

Ve své práci Nevřivá (2008) statisticky prokázala, že obvod hrudníku se mění v závislosti na roku zařazení do plemnitby, i když jeho hodnoty markantně nenarůstají. U ostatních efektů statistická průkaznost zjištěna nebyla.

ZÁVĚR

V naší práci jsme se zabývali zhodnocením exteriéru pomocí tělesných měr velšských plemen pony a kob chovaných v České republice a zařazených do plemenné knihy velšského ponyho pod Asociací svazů chovatelů koní a porovnáním současné populace pocházející z České republiky s pony, kteří pocházejí ze zahraničí. Jako efekty jsme si zvolily pohlaví, věk při zařazení do plemnitby, rok zařazení do plemnitby a zemi původu.

Do databáze bylo zařazeno 373 koní všech sekcí velšských plemen pony a kob. U těchto koní byly zjištěny 4 tělesné rozměry. Byly zvoleny 4 efekty: pohlaví, věk při zařazení do plemnitby, rok zařazení do plemnitby a země původu. Vliv jednotlivých efektů jsme prokázali pomocí statistické metody obecného lineárního modelu GLM.

Výsledky práce ukazují, že vliv jednotlivých efektů je při současném počtu koní v České republice velmi málo průkazný. Průkazný vliv ($P \leq 0,05$) jsme zjistili pouze efektu země původu u tělesné míry kohoutková výška hůlková a u obvodu hrudníku to byl efekt věk při zařazení do plemnitby. U ostatních zjišťovaných tělesných měr byly efekty neprůkazné.

Z výsledků je patrné, že chov v České republice je na základě naměřených tělesných hodnot srovnatelný se zahraničím. Otázkou je, zda nejsou ze zahraničí importováni koně horší kvality, díky neznalosti našich chovatelů. Je nutné vybírat exteriérově typické jedince a využívat je v plemnitbě. Chovatelé by měli dbát při využívání koní v plemnitbě na vynikající původ koní, ale také na typický exteriér spolu s danými plemennými znaky a tělesnými mírami a nejen na výstavní úspěchy.

LITERATURA

DAVIES, W. (2006): *The welsh pony*, J. A. Allen, London, s. 232, ISBN 0-85131-870-3

MATOUŠKOVÁ, Z. (2003): *Analýza genetické rezervy huculského koně*. Doktorská disertační práce, Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha, 143 s.

NEVŘIVÁ, L. (2008): *Intraplemenná diverzita plemene český sportovní pony a její vztah ke sportovní výkonnosti*, diplomová práce, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Brno, 77s.

PRAUSOVÁ, M. (2006): *Chov achaltekinského koně v ČR*, diplomová práce, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Brno, 133 s.

SOBOTKOVÁ, E. (2006) : *Analýza populace starokladrubského koně z hlediska tělesné stavby*, Disertační práce, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Brno, 132 s.

VEČEREK, M. (2005): *Analýza šlechtitelského postupu chovu koní Kinských*, diplomová práce, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Brno, 66 s.

INFLUENCE OF APPLICATION OF HORMONE ON HEAT SYNCHRONIZATION AT CROSSBRED GILTS [POLISH LARGE WHITE X POLISH LANDRACE]

Plazak E., Gajewczyk P.

Department of Pig Breeding, Animal Husbandry, Wrocław University of Environmental and Life Science, C. K. Norwida 25/27, 50-375 Wrocław, Poland

E-mail: edytoplazak@tlen.pl

ABSTRACT

The research was conducted on the Pol-Lean Ltd. Farm in Łosice. The research was carried out on 624 crossbreed gilts (Polish Large White x Polish Landrace) with body weight of 120-140 kg and aged 7-9 months, inserted into the basic herd of sows in Łosice farm in 2008 year. The experiment aimed to determine the effect of the oestrus induction by Serodin and Dinolytic preparations in gilts. The hormone preparations were given to gilts in form of injection to stimulating development and ripening of Graafian follicles. All gilts received on a one-off basic Dinolytic and Serodin. After the pass at 83.49% of them manifestation the oestrus appeared. The rest of gilts at which the oestrus didn't appeared after 14 days the Serodin was being given them again in amount of 2 ml and an appearance of the oestrus was being observed. And all after giving hormones the oestrus appeared at 91.82%. Obtained results proved that the oestrus induction in gilts in a big farm simplifies the technological groups formation in the stage of mating and pregnancy and causes that more sows with the oestrus induced stay in basic herd to the third reproductive cycle.

Key words: oestrus synchronization, gilts, reproduction performance

ÚVOD

The occurrence of the first oestrus in gilts is very important in organizing reproduction, particularly in big farms. The possibility of stimulating the sexual maturity of gilts allows to have them covered in the second oestrus, which can reduce the costs of their covering (fodder consumption and workloads). The biological methods used for stimulating the ovulation the following: improvement on feeding (the amount and quality of fodder, the addition of vitamins A, D₃, E), contact with the boar, changing the environment or term stress reduction as well as proper hormones application.

MATERIÁL A METODIKA

The research carried out on 624 crossbreed gilts (Polish Large White x Polish Landrace), inserted into the basic herd of sows in Łosice farm in 2008 year. The gilts were in age from 7 up to 9 months, and the body weight was from 120 up to 140 kg. At forming a group the quantity sorting technological sows of sows were chosen from the fattening and the hormonal preparations (Dinolytic and Serodin) were being given them in form of injection to stimulating development and ripening of Graafian follicles. Serodin contained in its composition the chorionic gonadotrophin (HCG, hCG -200 IU) and the pregnant mare serum gonadotrophin (PMSG, eCG- 400 IU). The aim of giving hormones were stimulating the development of Graafian follicles, what should also support luteinization and ovulation. Serodin was given in amount 2 ml per one gilt. Dinolytic have in its composition the prostanglandyne F₂ - α , which have property luteinizing hormone. A dose 10 mg was being given to gilts. The gilts at which the oestrus didn't appear, the preparation be called Serodin were being given them through injections once again after 14 days. All of gilts which were using in research were inseminated.

VÝSLEDKY A DISKUZE

The results were presented in the table 1. Out of 624 gilts 521 demonstrated with appearance of the oestrus. All gilts received on a one-off basic Dinolytic and Serodin. After the pass at 83,49 % of them manifestation the oestrus appeared. The rest of gilts at which the oestrus didn't appeared after 14 days the Serodin was being given them again in amount of 2 ml and an appearance of the oestrus was being observed. And all after giving hormones the oestrus appeared at 91,82 %. The number of live born piglets were 11,20 in farrow with primiparas with synchronization oestrus. In practice different specificities are applied to the purpose of the synchronization of the oestrus. The case of the lack of the appearance of the oestrus in gilts in farm can be low or high temperature in accommodations in farms what was earlier repaid attention by: [Kołacz R., Dobrzański Z., 1988], [Pejsak and others, 1991]. The effectiveness of administered means triggering oestrus can be diversified what was presented in the following researches: [Britt J.H. and others, 1989], [Pejsak Z. and others, 1991], [Kania B.F. and others, 1999], [Borowiecka E. De Martin, 2002],[Zięcik A.J., 2004] and [Walkiewicz A. , 2003]. In own research the efficiency of covering the gilts was in 91,82 %.

Table 1.

Details	Number of gilts	% appearance the oestrus	The others gilts
Dinolytic + Serodin	521	83,49	103
Serodin	52	50,48	51
total	573	91,82	51

ZÁVĚR

The possibility of stimulating the sexual maturity of gilts affected to better work planning in farm Łosice. The hormone preparations (Dinolytic + Serodin and Serodin) which provoked the heat was very helpful to introduction gilts to foundation stock and it was very useful to created a new technological cluster. Thanks to that method to stimulating the sexual maturity of gilts there was always the possibility to create technological group of gilts in the stage of mating and pregnancy in 7 days rhythm of production.

LITERATURA

Borowiecka E. De Martin, 2002. Technika wspomagania rozrodu świń. Mater. Konf., 3-4 lipca 2002, ART., Bydgoszcz, 55-62.

Britt J.H., Day B.N., Webel S.K., Brauer M.A., 1989. Induction of fertile oestrus in prepubertal gilts by treatment with a combination of pregnant mare's serum gonadotrophin and human chorionic gonadotrophin. J.Anim.sci. 67,1148

Kania B.F. 1999. Hormony wpływające na rozród zwierząt. Cz.1 Farmakologia ogólna. Nowa wet., I, 4-7

Kołacz R., Dobrzański Z., 1988. Fizjologia i patologia rozrodu oraz sztuczne unasienianie loch. Med. Wet.43, 745.

Pejsak Z., Dzieciuchowicz M., Tarasiuk K., Bulzacki K., Wałachowski M., 1991. Zastosowanie altrenogestu (regumate) w celu lepszego wykorzystania potencjału rozrodczego loszek. Med. Wet. 47 (5), 209-211.

Walkiewicz A., Kamyk P., Kasprzak A., Babicz M., 2003. Wpływ stymulacji hormonalnej procesów rozrodu u loch na wskaźniki reprodukcji. UMCS, SECT. EE.21(1), 31, 237-243.

Zięcik A.J., 2004. Zastosowanie osiągnięć badań podstawowych we współczesnej biotechnice rozrodu świń. Mater.Zootech.Zesz. Spec. 15, 47-51.

DYNAMIC OF CHANGES OF DAILY MILK YIELD AND BASIC MILK COMPONENTS IN EAST FRIESIAN EWES DURING LACTATION

Pokorná M., Kuchtlík J.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: michaela.pokorna@mendelu.cz

ABSTRACT

Dynamic of changes of daily milk yield (DMY) and basic milk components (total solids (TS), fat (F), protein (P), casein (C) and lactose (L)) in East Friesian ewes (n=34) during lactation was carried out on organic farm in Habří in 2009. Seventeen ewes were on the 2nd lactation and seventeen ewes were on the 3rd lactation. The milk recordings and samplings were carried out five times during the whole lactation (on 70th, 100th, 130th, 160th and 190th day of lactation). During the study the daily feeding ration consisted of permanent pasture (*ad libitum*), meadow hay (*ad libitum*), haylage (*ad libitum*) and concentrate on the base of barley and oat (0.1 kg). The average DMY was 1,05 litre whilst the average contents of TS, F, P, C and L were 17.30%; 5.66%; 5.75%; 3.96% and 5.00%. The stage of lactation had a highly significant effect ($P \leq 0,01$) on DMY and contents of all milk components. DMY was relatively steady between 70th and 130th day of lactation and after gradually increased. The contents of TS a F were relatively very variable during lactation. The contents of P and C gradually increased during lactation however the content of L was relatively very well-balanced.

Key words: Sheep milk, East Friesian sheep, stage of lactation.

Acknowledgments: The research has been supported by project of Ministry of Agriculture of the Czech Republic - QH91271.

ÚVOD

Přestože chov ovcí představuje v České republice pouze okrajovou komoditu v živočišné výrobě, získává tato komodita na stále větším zájmu. Na rozdíl od snižujících se stavů prasat i dojných krav, stavy ovcí v ČR zaznamenávají od roku 2000 pozvolný nárůst. V roce 2009 bylo v ČR chováno 183 084 ks ovcí, kdy oproti roku 2000 (84 108 ks) se jedná o zvýšení o 117,7 % (Holá, 2009). Dojná plemena ovcí, spolu s plodnými plemeny, představují zatím pouze 10 % ze všech plemen ovcí chovaných v ČR. V kontrole užitkovosti dojných plemen (východofříská ovce a lacaune) zaujímají východofříské ovce 70,3 % z celkového stavu. Východofříské plemeno patří mezi nejužitečnější plemena ovcí na světě (Horák et al., 2004) a je proto ideální volbou pro tvorbu stád na produkci ovčího mléka a následnou výrobu sýrů. V ČR je vysoký zájem o ovčí sýry a potřeby domácího trhu nejsou stále dostatečně pokryty. Nicméně východofříské ovce se řadí mezi plemena ovcí s vysokými nároky na výživu a nedostatečná či nekvalitní výživa velmi negativně ovlivňuje zejména jejich produkci mléka. Proto se východofříské plemeno nedoporučuje do oblastí s častými změnami počasí, dlouhými suchými obdobími či jinými extrémními životními podmínkami. Mezi nejvýznamnější faktory ovlivňující produkci a složení ovčího mléka patří fáze laktace. Vlivem fáze laktace na výše uvedené ukazatele se mimo jiné zabývali Sahan et al. (2005), Gonzalo et al. (1994), Novotná et al. (2006), Kuchťák et al. (2006) a Pavic et al. (2002). Vliv fáze laktace se pro jeho velký význam stal i předmětem naší studie.

MATERIÁL A METODIKA

Zhodnocení dynamiky změn dojivosti a základních složek ovčího mléka v průběhu laktace bylo realizováno na ekologickém statku Habří v kraji Vysočina v průběhu roku 2009. Sledováno bylo 34 ovcí (n=34) východofříského plemene (VF), kdy 17 ovcí bylo na druhé laktaci a 17 ovcí na třetí laktaci. Z pohledu četnosti vrhu porodilo 9 ovcí jedináčky, 19 ovcí dvojčata a 6 ovcí trojčata. Porody bahnic probíhaly ve stáji na přelomu měsíců únor a březen. Odstav jehňat a začátek dojení proběhl dne 7. května, poté byly bahnice dojeny vždy jednou denně, a to v 6 hodin ráno. Pastva na začátku pastevního období byla velmi chudá (dlouhodobé sucho) a ovce musely být příkrmovány jetolotravní senází a senem. Během dojení dostávaly ovce přídavek jadrného krmiva, a to směs mačkaného ovsu a ječmene v množství cca 10 kg/ks/den. Všechny bahnice byly po celou dobu sledování chovány v identických podmínkách a během celého sledování byly v dobrém zdravotním stavu.

Zjišťování dojivosti a jednotlivé odběry mléka byly realizovány pětikrát v průběhu měsíců květen až září 2009. Vzorky mléka pro následné analýzy byly ihned po odebrání zchlazeny na 5-8 °C v termoboxu a převezeny do rozborové laboratoře na Ústavu technologie potravin MZLU. V rámci laboratorních analýz byly zjišťovány obsahy sušiny (S), tuku (T), bílkovin (B), kaseinu (K) a laktózy (L) pomocí standardních laboratorních metod.

Zjištěné údaje byly následně přepočteny pomocí lineární interpolace na průměrný 70., 100., 130., 160. a 190. den laktace. Analýza dat byla provedena s využitím statistického balíku Statistica 8.0., prostřednictvím analýzy variance.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Výsledky zhodnocení dynamiky změn dojivosti a základních složek mléka východofrišských ovcí v průběhu laktace jsou prezentovány v tabulce 1. Fáze laktace měla statisticky vysoce průkazný ($P \leq 0,01$) vliv jak na dojivost, tak na obsahy všech sledovaných složek (sušina, tuk, bílkoviny, kasein a laktóza) ovčího mléka. Také ve studii Kuchtíka et al. (2008) měla fáze laktace vysoce průkazný vliv na všechny výše uvedené ukazatele.

Průměrná denní dojivost sledovaných ovcí za celou laktaci byla 1,05 litru, což je hodnota srovnatelná s údajem, jež uvádějí Fuertes et al. (1998). Během prvních tří měsíců sledování (70. až 130. den laktace) se průměrná denní dojivost udržovala na relativně nízké úrovni a pohybovala se mezi 0,76 a 0,87 litru ovčího mléka za den. Poté průměrná denní dojivost paradoxně vzrostla na 1,42 litru a na této úrovni se udržela až do konce sledování. Tento trend je v rozporu s trendy, jež ve svých studiích publikovali Kuchtík et al. (2008), Gonzalo et al. (1994) a Ploumí et al. (1998), kdy v jejich studiích docházelo k pozvolnému snižování denní dojivosti v průběhu celé laktace. Naše vysvětlení pro relativně nízkou průměrnou denní dojivost v průběhu prvních tří měsíců sledování a její následný relativně vysoký nárůst spočívá především v nedostatečné výživě na počátku sledování. V tomto období panovalo relativně vysoké (dlouhodobé) sucho, které způsobilo nedostatečný nárůst pastevního porostu a jeho nízkou kvalitu a bahnice proto byly po dojení omezeně přikrmovány jetelotravní senází a senem v blízkosti dojírny. Také bylo s bahnice nadměrně často manipulováno při přehánění mezi jednotlivými vzdálenějšími pastvinami.

Průměrný obsah sušiny za celé sledované období byl 17,30 %, což je hodnota srovnatelná s údaji Sahana et al. (2005), avšak nižší, než uvádějí Novotná et al. (2006), Fuertes et al. (1998) a Pavic et al. (2002). Obsah sušiny byl po dobu sledování značně variabilní. Mezi 70. a 100. dnem laktace se udržoval obsah sušiny na stejné hladině (17,12 – 17,33 %), následně došlo k jeho snížení na 16,43 %, poté došlo naopak k jeho zvýšení na 18,16 % a ke konci sledování se snížil na 17,46 %. Značně variabilní obsah sušiny v průběhu laktace byl zjištěn také ve studii Novotné et al. (2006). Naproti tomu Kuchtík et al. (2001), Kuchtík et al. (2008) a Pavic et al. (2002) uvádějí postupný vzestup obsahů sušiny v průběhu celé laktace.

Průměrný obsah tuku za sledované období byl 5,66 %, což je hodnota nižší, než uvádějí Fuertes et al. (1998), Sahan et al. (2005), Pavic et al. (2002) a Bianchi et al. (2004). Vývoj obsahu tuku za celou laktaci byl stejný jako v případě sušiny. Na začátku sledování se pohyboval mezi 5,98 až 5,89 %, poté se snížil na 5,15 %, následně se naopak zvýšil na 6,04 % a na konci laktace se opět snížil na 5,22 %. Značně variabilní obsah tuku v průběhu laktace byl zaznamenán také ve studii Novotné et al. (2006). Naproti tomu ve studii Kuchtíka et al. (2001), Ploumího et al. (1998), Kuchtíka et al. (2008), Pavice et al. (2002) a Bianchiho et al. (2004) se obsah tuku pozvolna zvyšoval v průběhu celé laktace.

Průměrný obsah bílkovin za celou laktaci dosahoval 5,75 %, což je hodnota srovnatelná s údaji, jež uvádějí Fuertes et al. (1998) a Sahan et al. (2005). Oproti tomu Novotná et al. (2006) a Pavic et al. (2002) uvádějí průměrný obsah bílkovin vyšší, když Bianchi et al. (2004) uvádějí průměrný obsah bílkovin nižší. Obsah bílkovin se rovnoměrně zvyšoval v průběhu celého sledování, stejně jako ve studiích Kuchtíka et al. (2001), Kuchtíka et al. (2008), Pavice et al. (2002)

a Gonzala et al. (1994). Nejnižší obsah bílkovin u námi sledovaných bahnic (5,18 %) byl zjištěn na počátku sledování (70. den laktace) a nejvyšší obsah (6,30 %) byl zjištěn na konci sledování (190. den laktace).

Průměrný obsah kaseinu za celé sledování byl 3,96 %, což je hodnota výrazně nižší, než uvádějí Fuertes et al. (1998), Novotná et al. (2006) a Bianchi et al. (2004). U obsahu kaseinu byl sledován stejný trend postupného zvyšování v průběhu celé laktace jako v případě bílkovin. Nejnižší obsah kaseinu (3,39 %) byl zjištěn na začátku sledování a nejvyšší obsah kaseinu (4,37 %) byl zjištěn na konci sledování. Stejný trend postupného zvyšování obsahu kaseinu v průběhu laktace také zaznamenali Novotná et al. (2006) a Kuchčík et al. (2008).

Průměrný obsah laktózy za celou laktaci činil 5,00 %, což je hodnota nižší, než uvádějí Fuertes et al. (1998), avšak vyšší, než uvádějí Sahan et al. (2005), Novotná et al. (2006), Pavic et al. (2002) a Bianchi et al. (2004). Obsahy laktózy byly poměrně stabilní v průběhu celé laktace, přičemž průměrné obsahy se pohybovaly v rozmezí 4,87 až 5,09 %. Oproti tomu ve studiích Kuchčíka et al. (2001), Bianchiho et al. (2004) a Pavice et al. (2002) obsah laktózy pozvolna klesal v druhé polovině laktace.

Tab. 1 Vliv fáze laktace na dojivost a základní složky ovčího mléka.

		Průměrný den laktace					Průměr za celou laktaci	F test
		70. (A)	100. (B)	130. (C)	160. (D)	190. (E)		
Dojivost	Ø	0,76 ^{DE}	0,87 ^{DE}	0,76 ^{DE}	1,42 ^{ABC}	1,45 ^{ABC}	1,05	55,72
	S_x	0,213	0,244	0,224	0,286	0,377	0,417	**
Sušina	Ø	17,12 ^{CD}	17,33 ^{CD}	16,43 ^{ABDE}	18,16 ^{ABCE}	17,46 ^{CD}	17,30	20,76
	S_x	0,722	1,017	0,725	0,880	0,598	0,971	**
Tuk	Ø	5,98 ^{CE}	5,89 ^{CE}	5,15 ^{ABD}	6,04 ^{CE}	5,22 ^{ABD}	5,66	12,39
	S_x	0,692	0,879	0,629	0,772	0,567	0,807	**
Bílkoviny	Ø	5,18 ^{BCDE}	5,60 ^{ADE}	5,51 ^{ADE}	6,16 ^{ABC}	6,30 ^{ABC}	5,75	109,69
	S_x	0,190	0,217	0,276	0,336	0,256	0,492	**
Kasein	Ø	3,39 ^{BCDE}	3,87 ^{ADE}	3,78 ^{ADE}	4,39 ^{ABC}	4,37 ^{ABC}	3,96	96,72
	S_x	0,200	0,233	0,298	0,282	0,229	0,453	**
Laktóza	Ø	5,06 ^C	4,93 ^d	4,87 ^{ADc}	5,09 ^{bc}	5,04 ^c	5,00	5,55
	S_x	0,166	0,202	0,173	0,296	0,276	0,241	**

*^{bcde} $P \leq 0,05$; **^{ABCDE} $P \leq 0,01$

ZÁVĚR

Z hodnocení dynamiky změn dojivosti a základních složek mléka východofríských ovcí v průběhu laktace především vyplývá, že fáze laktace měla statisticky vysoce průkazný ($P \leq 0,01$) vliv na dojivost

i obsahy všech sledovaných složek mléka. Denní dojivost se v průběhu sledování nejprve udržovala na stálé hladině, po 130. dni laktace došlo k jejímu zvýšení. Tato skutečnost byla dle našeho názoru ovlivněna rozdílnou produkcí a kvalitou pastevního porostu na začátku sledování, kdy panovalo dlouhodobé sucho oproti posledním dvěma měsícům sledování. Obsahy sušiny a tuku byly v průběhu sledování značně variabilní. Obsahy bílkovin a kaseinu se pozvolna zvyšovaly po celou dobu laktace. Obsah laktózy byl ze všech sledovaných ukazatelů v průběhu laktace nejstabilnější.

Zpracováno s podporou MZe QH91271.

LITERATURA

Bianchi L., Bolla A., Budelli E., Carovi A., Casoli C., Pauselli M., Duranti E. (2004): Effect of Udder Health Status and Lactation Phase on the Characteristics of Sardinian Ewe Milk. *Journal of Dairy Science*, 87:2401-2408.

Fuertes J. A., Gonzalo C., Carriedo J. A., San Primitivo F. (1998): Parameters of test Day Milk Yield and Milk Components for Dairy Ewes. *Journal of Dairy Science*, 81: 1300-1307.

Gonzalo C., Carriedo J. A., Baro J. A., San Primitivo F. (1994): Factors Influencing Variation of Test Day Milk Yield, Somatic Cell Count. Fat and Protein in Dairy Sheep. *Journal of Dairy Science*, 77: 1537-1542.

Holá J. *Situace a výhledová zpráva ovce-kozy*. Praha: Ministerstvo zemědělství ČR. 2009. 87 s. ISBN 978-80-7084-815-9.

Horák F. et al. *Ovce a jejich chov*. Praha: Nakladatelství Brázda, 2004. ISBN 80-209-0328-3. s. 95.

Kuchtík J., Kašíková I., Řezníčková H., Gajdůšek S. (2001): Zhodnocení základních parametrů kvality ovčího mléka při aplikaci polointenzivní výživy. *Den mléka* 2001: 63-64.

Kuchtík J., Šustová K., Urban T., Zapletal D. (2008): Effect of the Stage of Lactation on Milk Composition, its Properties and the Quality of Rennet Curdling in East Friesian Ewes. *Czech Journal of Animal Science*, 53, 2008 (2):55-63.

Novotná L., Kuchtík J., Zajícová P. (2006): Vliv laktační fáze na chemické složení ovčího mléka. *MendelNet* 06: 48.

Pavic V., Antunac N., Mioc B., Ivankovic A., Havranek J. L. (2002): Influence of Stage of Lactation on the Chemical Composition and Physical Properties of Sheep Milk. *Czech Journal of Animal Science*, 47, 2002 (2):80-84.

Ploumi K., Belibasaki S., Triantaphyllidis G. (1998): Some factors Affecting Daily Milk Yield and Composition in a Flok of Chios Ewes. *Small Ruminant Research*, 28 (1998): 89-92.

Sahan N., Say D., Kacar A. (2005): Changes in Chemical and Mineral Contents of Awassi Ewes' Milk During Lactation. *Turkish Journal of Animal Science*, 29 (2005): 589-593.

THE EFFECT OF TREATMENT OF MAIZE AGAINST EUROPEAN CORN BORER (*OSTRINIA NUBILALIS*) ON THE RUMEN DEGRADABILITY OF STARCH IN THE MAIZE SILAGE

Poštulka R., Doležal P.

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

E-mail: roman.postulka@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this work was to detect the influence of treatment of the maize plants against European corn borer on the rumen degradability of starch in the maize silage. In this experiment were used 3 hybrids (FAO 230, 260, 270). Each hybrid was treated against European corn borer by a chemical preparation (a), the second group (b) was control. At the silage production was further the matter treated (chemical or microbial additive) or did not treated (control). After the opening of the silages were taken the samples and analyzed through the rumen degradability by the method "in sacco". The data were evaluated by the program Statistica 8 CZ through the method ANOVA. Between the treated and untreated groups was detected a significant different ($P < 0,05$) in the rumen degradability. The controls silages had the higher rumen degradability (55.06% vs. 47.6%).

Key words: Maize, rumen degradability, starch, corn borer

Acknowledgments: The work was written within the framework of Grant IG290081 "The influence of hybrid, silage preparate and locality on the rumen degradability of starch of maize silage", funded by the Internal grant Agency MZLU in Brno (IGA).

ÚVOD

Kukuřice patří k plodinám pěstovaným převážně pro zajištění krmivové základny. Kukuřice se vyznačuje nejvyšším výnosem energie a nejnižšími náklady na jednotku energie na hektar. Výroba kukuřičných siláží se tímto stává jednou ze stěžejních činností každého zemědělského podniku chovající skot. Ve výživě skotu má kukuřičná siláž velký význam, je to totiž zdrojem energie (by-bass), struktury, zapomínat bychom neměli ani na její stabilizační funkci. Hlavním zdrojem energie je škrob, která však z velké části přechází do postruminálního traktu. Udává se, že dojnice dokáží využít maximálně 1,6 kg škrobu vstupujícího do tenkého střeva (DREVJANY, 2004). Výsledná kvalita kukuřičné siláže tímto ovlivňuje užitek, zdravotní stav a rentabilitu výroby mléka. Kvalita je dána kromě technologie silážování také výchozí hmotou. Hmota, která je sklizena ve špatné vegetační fázi, nebo má nízkou hygienickou jakost, se těžko stane kvalitní siláží. Nízká hygienická jakost může být způsobena napadením rostlin kukuřice škůdci. V poslední době je velmi rozšířeným škůdcem zavíječ kukuřičný. Jeho škodlivost spočívá v porušování celistvosti rostlin, lámavost stébel (problémy při sklizni). Narušená pletiva jsou potom otevřena invazi plísní a kvasinek. Ochrana proti zavíječi spočívá v použití GMO (MON 810), biologické ochraně rostlin (trichograma) nebo v chemickém ošetření. Cílem práce bylo zjistit vliv ošetření kukuřice proti zavíječi na bacherovou degradovatelnost škrobu kukuřičné siláže.

MATERIÁL A METODIKA

Pokus probíhal na 3 různých stanovištích (Senice na Hané, Starojická Lhota, Záblatí) a bylo v něm použito tří hybridů kukuřice s čísly FAO 230, 260, 270. První skupina těchto tří hybridů (v rámci každého stanoviště) byla ošetřena chemicky proti zavíječi (dávka 0,7l/ha; účinná látka Integro), druhá zůstala neošetřena. Při sklizni kukuřice byla hmota pořezána na délku 1-2 cm a řezanka byla následně pro potřeby silážování buďto ošetřena chemickým konzervantem (2l/t hmoty – směs organických kyselin – přípravek *Kemisile*), nebo mikrobiálním preparátem (15g/t – přípravek *Microsil*), nebo nebyla ošetřena vůbec. Hmota byla pečlivě udusána a zakonzervována do plastových soudků (cca 7,5 kg hmoty/válec). Po otevření (60 – 80) dní byly vzaty vzorky siláží a analyzovány na bacherovou degradovatelnost škrobu metodou „in sacco“.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Mezi kukuřičnými silážemi, které byly ošetřeny vůči zavíječi a silážemi neošetřenými byl zjištěn statisticky významný rozdíl ($P < 0,05$) v bacherové degradovatelnosti škrobu (55,06 % vs. 47,6 %). DOLEŽAL et al. (2004) udávají hodnotu bacherové degradovatelnosti škrobu kukuřičné siláže 45,94 %. SCHWARTZ et al. (2000) poukázali na vliv vegetační fáze kukuřice při sklizni na bacherovou degradovatelnost škrobu. Tito autoři uvádějí, že se zvyšující se vegetační fází porostu roste současně bacherová degradovatelnost, pozitivní vliv má však také proces silážování. To se však v našem pokusu nepotvrdilo, degradovatelnost škrobu u původních hmot kukuřice byla u obou variant vyšší, než hodnoty degradovatelnosti škrobu siláží (původní hmoty – ošetřená 56,7%; kontrolní 55,12% versus ošetřená siláž 47,2%, kontrolní siláž 55,06%).

Vyšší bacherová degradovatelnost škrobu byla zjištěna u siláží, které nebyly proti zavíječi ošetřeny. Vliv hybridu a ošetření chemickým aditivem na bacherovou degradovatelnost škrobu nebyl v našem pokusu prokázán (Ošetřené: hybridy I – 43,27%; II – 46,2%; III - 47,1%; kontrolní I – 52,05%; II - 54,33%; III – 58,61 %). Výše uvedení autoři však také na základě výsledků svých pokusů došli k závěru, že i hybrid kukuřice může, na rozdíl od typu kukuřice (stay green versus klasické hybridy), mít vliv na hodnotu bacherové degradovatelnosti škrobu. Zjištěné hodnoty škrobu a jeho degradovatelného podílu v absolutní sušině jsou uvedeny v tab. 1.

Tab. 1 – naměřené hodnoty celkového a degradovatelného škrobu u různých variant siláží

Stanoviště	Varianta	škrob %	D. škrob %	%-ní podíl
Senice	neošetřená	25,43	13,96	55,00
	ošetřená	25,68	11,67	45,55
Starojicko	ošetřená	24,99	11,83	47,38
	neošetřená	25,19	13,86	54,99
Záblatí	neošetřená	25,06	13,74	55,20
	ošetřená	26,21	12,87	50,12

ZÁVĚR

Bylo potvrzeno, že ošetření porostu kukuřice proti zavíječi kukuřičným ovlivňuje bacherovou degradovatelnost škrobu, která udává poměr mezi škrobem, který je v bacheru fermentován a škrobem, který bacherovému trávení uniká. Neošetřené siláže vykazovaly vyšší bacherovou degradovatelnost škrobu, tzn. byl v bacheru více využit mikroorganismy. Škrob, který unikne bacherovému trávení je v post ruminálním traktu efektivněji využit. Vliv hybridu, použitého silážního aditiva ani stanoviště nebyl statisticky průkazný.

POORE, et al (1993) porovnával celkovou stravitelnost škrobu zrn čiroku, které byly zkrmovány buďto v původní formě zrna, nebo ve formě vloček. Z jejich sledování vyplývá, že vločkováním zrn čiroku došlo k celkovému zvýšení stravitelnosti škrobu (80 – 97%), což také vedlo ke zvýšení v bacheru nedegradovatelného podílu škrobu (tj. snížení bacherové degradovatelnosti). V tomto pokusu docílili u dojníc vyšší denní mléčné užitkovosti (+ 3,4Kg/den) a mléčných bílkovin (+110g/d).

LITERATURA

KACEROVSKÝ, O. a kol.: Zkoušení a posuzování krmiv. Praha SZN 1990, 214 s.

DOLEŽAL, P. a kol.: Výživa zvířat a nauka o krmivech. MZLU v Brně, 2004, 292s.

DREVJANY, L, KOZEL, V, PADRŮNĚK, S. *Holštýnský svět*. ZEA Sedmihorky. 1. vyd. Turnov : UNIPRESS Turnov, 2004. 345 s

Nové způsoby hodnocení kukuřičných siláží. *Nutriver* [online]. 2007 [cit. 2009-10-14]. Dostupný z WWW: <http://www.nutriver.cz/nutriver/poradenstvi/6_kukuricne-silaze/9_nove-zpusoby-hodnoceni-kukuricnych-silazi.html>.

DOLEŽAL, Petr, et al. *Konzervace a skladování krmiv*. 1. vyd. Brno : MZLU v Brně, 2006. 247 s. ISBN 80-7157-993-9.

SCHWARTZ, FJ, ETLLE, T. Time of harvest and hybrid and their effects on chemical composition, digestibility and in situ degradability of starch in silage maize. *Web of science* [online], 2000 [cit. 2009-11-10], s. 102-115. Dostupný z WWW: <http://apps.isiknowledge.com/full_record.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&qid=1&SID=Y1kJgapdB9aGLb6MCnk&page=2&doc=14>. ISSN 3-933140-39-0.)

POORE, MH, et al. RESPONSE OF LACTATING HOLSTEIN COWS TO DIETS VARYING IN FIBER SOURCE AND RUMINAL STARCH DEGRADABILITY. *Web of science* [online], 1993 [cit. 2009-11-17]. Dostupný z WWW: <http://apps.isiknowledge.com/full_record.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&qid=1&SID=R2ej4jkCjdgDiBokmnI&page=4&doc=32>. ISSN 0022-0302 .

THE DYNAMICS OF OCCURRENCE OF SPERMATOZOA WITH PATHOLOGIC CHANGES AND EJACULATE QUALITY INDICATORS IN COCKEREL

Švábová L.¹, Máchal L.¹, Severa L.², Mamica O.¹

¹Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

²Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xsvabova@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of the study was to estimate and to compare the quality of cockerel ejaculates in different time of semen collection and to find out the influence of cock age on the occurrence of pathologic changes in spermatozoa. Cocks of three breeds were tested - Rhode Island Red, Barred Plymouth Rock and Sussex. Semen was collected four times (in the age of 173, 239, 315 a 391 days) and it was done during production period of cockerel. The semen quality was evaluated by determinating of basic spermatologic parameters – sperm motility, sperm concentration, ejaculate volume and by morphologic examination of spermatozoa. Average volume of ejaculate was the highest in the first time of collection in the age of 173 days and it was 0.64 cm³. Ejaculate volume decreased in relation to growing age of cockerel. Average sperm motility ranged from 53,3 % (in the age of 239 days) to 78.4% (in the age of 391 days). Motility increased in relation to growing age of cocks, except the second term of collection, lower motility was evaluated here. Average sperm concentration ranged from 2.07 to 2.52 10⁶ mm⁻³. The second time of semen collection (in the age of 239 days) had statistically highly significant ($P \leq 0.01$) influence on the occurrence of sperm morphological abnormalities in ejaculate and it was 61.5%. Generally, the most morphological changes were on tails. The least sperm morphological changes were in the last time of semen collection (in the age of 391 days) and it was only 36.5%. It can be mentioned the highest occurrence of pathologic spermatozoa was found out in the time of the lowest sperm motility in 239 days of cock age, it was time when the ejaculate was collected irregularly. Therefore, we recommend also off-season ejaculate collection as a convenient precaution.

Key words: cockerel, age, ejaculate, sperm, pathologic sperm, ejaculate volume, sperm concentration, sperm motility.

Acknowledgments: The results were obtained with financial support by the Research plan No. MSM 6215648905.

ÚVOD

Na reprodukční výkonnosti kohoutů se podílí mnoho vnějších a vnitřních faktorů, jako je zdravotní stav, věk, genotyp, výživa, technologie chovu a úroveň ošetřování (Tůmová a Jeřábek, 2006). Aviární spermie se liší od savčích spermií některými morfologickými a biologickými znaky. Tyto zvláštnosti vyplývají jednak z rozdílné stavby reprodukčních orgánů a jednak z rozdílnosti spermatogeneze (Ledeč a kol., 1981). Samčí pohlavní buňka domácích ptáků je dlouhá, cylindrická a na obou koncích zúžená. Délka spermie u kohouta je asi $100\mu\text{m}$ a šířka je $0,5\mu\text{m}$. Aviární ejakulát obsahuje málo semenné plazmy a proto je semeno husté (Etches, 2000). Koncentrace spermií v ejakulátu u kohoutů je variabilní a pohybuje se od $1,00 - 12,40 \cdot 10^6 \cdot \text{mm}^{-3}$ (Ledeč a kol., 1981), respektive $0,50 - 7,00 \cdot 10^6 \cdot \text{mm}^{-3}$ (Gamčík a kol., 1992) a při každodenním odběru se koncentrace postupně snižuje (Šmerha a kol., 1980). Důležitým spermatologickým ukazatelem je také motilita spermií. Máchal a kol. (1996) uvádějí hodnoty motility spermií u kohoutů $62,4 - 88,3 \%$ a zmiňují, že motilita spermií se mění v závislosti na věku a liniové příslušnosti kohoutů. Významným kvantitativním ukazatelem ejakulátu je jeho objem, ten se u kohoutů pohybuje mezi $0,20$ a $0,62 \text{ cm}^3$ (Máchal a Křivánek, 2002).

Barth a Oko (1989) zmiňují důležitost zjišťování počtu abnormálních spermií při morfologickém vyšetření, které hraje nepostradatelnou roli pro stanovení fertility. Vyšší procento výskytu morfologicky změněných spermií může mít za následek poruchu plodnosti (Saacke a kol., 2000). Anomálie spermií vznikají především v procesu spermatogeneze v důsledku degenerativních změn zárodečného epitelu, na který mají vliv toxické, aklimatizační a infekční faktory, použítá insemináčnická technika, sezóna, znečištění ejakulátu, ředidla a jiné (Ledeč a kol., 1981).

Cílem sledování bylo stanovit a zhodnotit kvalitu ejakulátu u kura domácího a zjistit, zda věk kohoutů při odběru má vliv na výskyt patologicky změněných spermií a kvalitu ejakulátu.

MATERIÁL A METODIKA

Ejakuláty byly získány ve šlechtitelském a rozmnožovacím chovu drůbeže Integra Žabčice, a.s. K experimentu byli vybráni snáškové linie kohoutů tří plemen (Rhode Island Red, Barred Plymouth Rock a Sussex). Tyto linie jsou využívány pro tvorbu finálních hybridních kombinací Moravia. Všichni kohouti byli označeni rodokmenovými značkami. Ve věku 16 týdnů byli kohouti přemístěni z odchovny do klecových technologií pro dospělé kohouty, kde byli individuálně umístěni. Krmení bylo zajištěno kompletní krmnou směsí s kvantitativním omezením krmné dávky 120 g na kg/den . Napájení bylo zajištěno kapátkovými napajecčkami. Světelný režim zajišťoval 12 hodin nepřetržitého svitu za den.

Odběry ejakulátu od kohoutů byly uskutečněny ve čtyřech termínech v průběhuprodukčního období a to ve věku 173, 239, 315 a 391 dní. Pro odběry ejakulátu bylo vybráno 63 kohoutů, vždy 21 kohoutů z každé snáškové linie. Celkem bylo takto získáno 246 ejakulátů. V průběhu experimentu došlo k početní redukci kohoutů z původních 63 při prvním odběru na 58 při posledním odběru.

Odběry ejakulátu byly provedeny dorso-abdominální masáží. Bezprostředně po odběru byly stanoveny základní spermatologické ukazatele: motilita a koncentrace spermií a objem ejakulátu. Motilita spermií byla stanovena subjektivním zhodnocením, objem ejakulátu byl stanoven pomocí

kalibrační pipety, koncentrace spermií byla stanovena hemocytometrickou metodou. V ejakulátu byl také sledován výskyt morfologicky změněných spermií. Z naředěného ejakulátu, v poměru 1:5 (0,5 % fyziologickým roztokem NaCl), byly zhotoveny preparáty, u kterých bylo provedeno mikroskopické vyšetření morfologie spermií. U každého preparátu bylo zhodnoceno 100 spermií a byly posuzovány tyto morfologické změny: vývojové anomálie a degenerované spermie, změny na hlavičce, změny na spojovací části spermie a změny na bičíku. Jednotlivé patologické změny byly vyjádřeny procenticky. Mezi změny na hlavičce spermie byly řazeny malé či velké hlavičky, hlavičky stočené, zakřivené nebo chybějící. Změny na spojovací části měly zúženou, ztlustělou či zkroucenou podobu. U bičíku bylo hodnoceno jeho svinutí, ohnutí či torze anebo chybějící bičík. Za degenerované byly považovány spermie s vývojovými abnormalitami.

Statistické zhodnocení bylo provedeno pomocí počítačového programu Statistica 8.0, prostřednictvím analýzy variance, kdy jako pevné efekty byly zvoleny termíny odběrů. Sledované charakteristiky byly vyjádřeny váženým průměrem a směrodatnou odchylkou.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Zjištěné průměrné hodnoty spermatologických ukazatelů ejakulátu kohoutů výchozích snáškových linií v průběhu produkčního období, ve věku 173, 239, 315 a 391 dnů, jsou prezentovány v Tab. 1. Průměrný objem ejakulátu byl nejvyšší při prvním odběru ve věku 173 dnů a to $0,64 \text{ cm}^3$ a postupně se zvyšujícím se věkem kohoutů se objem ejakulátu snižoval a v 391 dnech věku kohoutů dosáhl hodnoty pouze $0,45 \text{ cm}^3$, mezi těmito hodnotami byl zjištěn statisticky vysoce průkazný rozdíl ($P \leq 0,01$). Podobné hodnoty objemu ejakulátu u snáškových linií kohoutů zjistili Máchal a Krivánek (2002). Klesající tendence objemu ejakulátu se ovšem u nich nepotvrdila, naopak autoři uvádějí opačný trend, kdy nejnižší objem byl na začátku sledování a nejvyšších hodnot dosáhl v posledním termínu odběru. Tento fakt mohl být způsoben tím, že kohouti v našem experimentu byli odebráni ve vyšším věku, než ve sledování Máchala a Krivánka (2002), kteří ejakuláty získávali od kohoutů ve věku 143 až 240 dní. Průměrná motilita spermií se pohybovala v rozmezí od 53,3 % do 78,4 %. Na začátku sledování byla průměrná motilita spermií 63,0 %, v 239 dnech došlo ke snížení cca o 10 % a v dalších termínech odběru se motilita opět zvyšovala. Toto zjištění je v souladu s údaji Máchala a kol. (1995), který ve své publikaci také uvádí pokles motility okolo 256. dne věku kohoutů a uvádí podobné hodnoty motility spermií a v některých případech dokonce o něco vyšší. Průměrná koncentrace spermií v ejakulátu byla nejvyšší v prvním termínu odběru a byla $2,52 \cdot 10^6 \cdot \text{mm}^{-3}$. Koncentrace spermií se se zvyšujícím věkem kohoutů mírně snižovala na 2,26 mil. spermií v mm^3 v 239 dnech věku a na $2,07 \cdot 10^6 \cdot \text{mm}^{-3}$ v 315 dnech, tento trend byl ovšem narušen na konci sledování, kdy se koncentrace opět zvýšila na hodnotu $2,29 \cdot 10^6 \cdot \text{mm}^{-3}$. Froman a Feltmann (2000) uvádějí průměrnou koncentraci spermií u kohoutů v rozmezí $0,52$ až $0,95 \cdot 10^6 \cdot \text{mm}^{-3}$. Tyto hodnoty jsou výrazně nižší v porovnání s naším zjištěním nebo s výsledky, které publikoval Máchal a kol. (1996), který uvádí průměrnou koncentraci spermií v rozmezí hodnot $0,88$ až $3,05 \cdot 10^6 \cdot \text{mm}^{-3}$. Při morfologickém vyšetření spermií bylo zjištěno nejvíce změn v utváření bičíku a spojovací části spermie. Toto zjištění se liší s tím, co uvádí Alkan a kol. (2002), který zjistil nejvíce morfologických defektů v utváření spojovací části a akrozómu. Celkově nejnižší byl výskyt spermií s vývojovými anomáliemi a spermií degenerovaných. Nejvyšší průměrný výskyt patomorfologických změn spermií byl zaznamenán ve druhém odběru, ve věku 239 dní, což bylo 61,5 %. Podobné hodnoty zjistili i Omeje a Marire (1990),

kteří jako nejvyšší výskyt u zkoumaného nosného plemene kohoutů uvádějí nižší výskyt morfologicky abnormálních spermií a to 48 %.

Tab. 1 Kvalitativní a kvantitativní ukazatele ejakulátu kohoutů snáškových linií BPR, SU a RIR v průběhu produkčního období ve věku 173, 239, 315 a 391 dní

	Jednotky	173 dní n=63		239 dní n=63		315 dní n=62		391 dní n=58	
		\bar{X}	s \bar{X}	\bar{X}	s \bar{X}	\bar{X}	s \bar{X}	\bar{X}	s \bar{X}
Objem ejakulátu	[cm ³]	0,64 _{AB}	± 0,20	0,61 _{Ca}	± 0,17	0,52 _{Aa}	± 0,18	0,45 _{BC}	± 0,20
Motilita spermií	[%]	63,0 ^a	± 30,6	53,3 _{AB}	± 28,6	71,6 _A	± 26,4	78,4 _{Ba}	± 24,9
Koncentrace spermií	[10 ⁶ .mm ⁻³]	2,52 ^a	± 0,87	2,26	± 0,60	2,07 ^a	± 0,68	2,29	± 1,13
Patologicky změněné spermiie	Hlavička	3,0 ^{ab}	± 4,1	2,8 ^c	± 2,9	1,4 ^a	± 2,3	1,2 ^{bc}	± 3,5
	Spojovací část	19,6 _{ABC}	± 10,6	31,9 _{ADE}	± 12,7	12,8 _{BD}	± 6,5	11,7 _{CE}	± 5,7
	Biččík	29,8 _{AB}	± 12,3	26,4	± 8,8	24,0 _A	± 10,6	23,6 _B	± 8,6
	Vývojové anomálie	0,7 ^{Aa} _b	± 1,1	0,4 ^a	± 0,7	0,3 ^b	± 0,7	0,1 ^A	± 0,3
	Změny celkem	53,1 _{ABC}	± 9,8	61,5 _{ADE}	± 11,0	38,5 _{BD}	± 11,1	36,5 _{CE}	± 9,6
Normálně utvářené spermiie	[%]	46,9 _{ABC}	± 9,8	38,5 _{ADE}	± 11,0	61,5 _{BD}	± 11,1	63,5 _{CE}	± 9,6

a,b,c – mezi hodnotami ve sloupcích se stejnými písmeny byly prokázány statisticky průkazné rozdíly ($P \leq 0,05$)

A,B,C,D,E – mezi hodnotami ve sloupcích se stejnými písmeny byly prokázány statisticky průkazné rozdíly ($P \leq 0,01$)

ZÁVĚR

Z hodnocení kvalitativních a kvantitativních ukazatelů ejakulátu kohoutů snáškových linií vyplývá, že jsou zřejmé rozdíly v kvalitě ejakulátu mezi jednotlivými termíny odběru. Nejvyšší průměrný objem ejakulátu byl u kohoutů prokázán na začátku sledovaného období a to v 173 dnech věku, kdy činil 0,64 cm³, objem se postupem věku kohoutů snižoval a nejnižší průměrný objem ejakulátu byl zjištěn na konci sledování, tedy v 391 dnech (0,45 cm³), kdy byl statisticky vysoce průkazně nejnižší ($P \leq 0,01$). Naopak motilita spermií se, až na mírný pokles ve druhém termínu odběru, s věkem kohoutů zvyšovala a nejlepší hodnoty byly zjištěny při posledním odběru. Nejvyšší výskyt patomorfoloogických změn spermií byl zaznamenán ve druhém odběru, což bylo 61,5 %, a tato hodnota byla statisticky vysoce průkazná ($P \leq 0,01$). Nejméně abnormalit bylo zjištěno v posledním odběru ejakulátu. Nejvíce defektů se vyskytovalo na biččících a ve spojovací části spermií, naopak nejmenší byl výskyt degenerovaných spermií, kdy jejich výskyt v ejakulátu klesal postupně se zvyšujícím se věkem kohoutů. Lze tedy konstatovat, že nejvyšší výskyt patologicky změněných spermií byl zjištěn v době

nejnižší motility spermií ve 239 dnech věku, tj. v době, kdy kohouti nejsou pravidelně odebíráni. Doporučujeme provádět tzv. kondiční odběry i mimo sezónu.

LITERATURA

Alkan S., Baran A., Ozdas, O.B., Evecen M. (2002): Morphological defects in Turkey semen. Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences 26: 1087-1092.

Barth A.D., Oko R.J. (1989): Abnormal Morphology of Bovine Spermatozoa. Ames: Iowa State University Press, 285s.

Etches J.D. (2000): Reproduction in Poultry. Wallingford: CAB International Publishing, UK, 318s.

Froman D.P., Feltmann A.J. (2000): Sperm mobility: phenotype in roosters determined by concentration of motile sperm and straight line velocity. Biology of Reproduction 62: 303-309.

Gamčík P. a kol. (1992): Andrológia a umelá inseminácia hospodárskych zvierat. Bratislava: Príroda Bratislava, 299s.

Ledeč M. a kol. (1981): Inseminácia hydiny. Bratislava: Príroda Bratislava, 109s.

Máchal L., Křivánek I. (2002): Indicators of semen quality of roosters of three parental layer lines and specific conductivity of the semen. Acta Veterinaria Brno 71: 109-116.

Máchal L., Kalová J., Juráň P., Jeřábek S. (1996): The dynamics of the relationship between ejaculate quality and cholesterol and total lipids concentration in the blood plasma in two lines of the cocks. Archiv für Tierzucht 39: 61-68.

Máchal L., Křivánek I., Kalová J., Jeřábek S. (1995): Between-lines difference of the relationships in ejaculate quality and volume in the cocks during the season. Živočišná výroba 40: 541-545.

Omeje S.S.I., Marire B.N. (1990): Evaluation of the semen characteristics of adult cocks of different genetic backgrounds. Theriogenology 34: 1111-1118.

Saacke R.G., Dalton J.C., Nadir S., Nebel R.L., Bame J.H (2000): Relationship of seminal traits and insemination time to fertilization rate and embryo quality. Animal Reproduction Science 60: 663-667.

Šmerha J. a kol. (1980): Reprodukce hospodárskych zvířat I. VŠZ Brno, 270s.

Tůmová D., Jeřábek S. (2006): Reprodukce v chovech drůbeže. Náš chov 12: 82 – 83.

THE EVALUATION OF PROGRESS OF BODY PARAMETERS IN BELGIAN SHEPHERD GROENENDAEL AND TERVUEREN IN CZECH REPUBLIC IN 1999 – 2006

Vágenknechtová M., Hošek M.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xvagenkn@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this study was to make the result database of breeding and to localize the selection of breeding of Belgian shepherd – tervueren and groenendael in Czech Republic. Our aim was concentrated to basic body measures (stick-measure, body length and index of frame). 81 results of groenendael and 222 results of tervueren were evaluated. The basic linear model (GLM), the effects of sex, the year of birth and varieties were used for evaluation. During the analysis of dog exterior it was found that tervueren females (59.43 cm) were taller in average of about 0.9 cm than females of groenendael (58.53 cm). The height of groenendael females was close to the standard (58 cm).

Groenendael males (63.44cm) were taller in average of 1.4 cm and tervueren males (63.77 cm) were taller in average of 1.8 cm when the standard stick measure is 62 cm. These facts were induced by the breeders preferences of taller males. Effect of the year of birth had an influence on index of frame and body length however sex had not. The difference between both sexes was statistically high significant ($P \leq 0.01$) in body length and withers height but there were not found significant differences between the years. The results show us balance in population and in varieties. The basic body measures were in balance with the breeding selection. The breeding selection is sufficient for body measures in groenendaels and tervuerens. It need not to implement any proceeding measures.

Key words: Belgian shepherd, tervueren, groenendael, exterior, index of frame, body length, withers height

Acknowledgments: The research has been supported by project of MSMT of the Czech Republic - MSM 6215648905.

ÚVOD

Belgický ovčák je jedno z plemen ovčáckých psů, které vzniklo na přelomu 19. a 20. století v Belgii. Postupem času se ustálilo na čtyřech varietách, které se jmenují: groenendael, lakenois, malinois a tervueren.

Roku 1891 bylo vytyčeno několik znaků plemene, což byla kohoutková výška 50 - 55 cm, srst dlouhá, hrubá a hladká, barva černá, žíhaně hnědá, tmavošedá a žlutá (Andrews - Cloutt, 1986).

Během let 1939 – 1945 byla Evropa sužována 2. světovou válkou a vzhledem k nevhodným podmínkám byl chov značně ztížen. Na konci 2. světové války přijímali chovatelé opatření, jak s chovem dále pokračovat.

Standard byl obnoven 21. října 1945 a upravoval standard z února roku 1920. Barevné rozdíly a plemenitba mezi různými barvami a typy srsti byla znovu dovolena. Jen kohoutková výška musela být změněna, a to 60 až 66 cm pro psy a 56 až 62 cm pro feny (Bossi, 1990).

V roce 1978 FCI uznala následující barvy (variety):

- groenendael – černá, dlouhá srst,
- tervueren – všechny odstíny červené a šedé s černou maskou, dlouhá srst,
- malinois – červenohnědá, krátká srst,
- lakenois – červenohnědá, hrubá srst (Bossi, 1990).

Práce se bude zabývat pouze dlouhosrstými varietami a to groenendaelem a tervuerenem.

Práce se snaží zmapovat chov v ČR v oblasti exteriéru a poskytnout tak tyto informace pro další práci chovatelů.

Sledované znaky exteriéru

Rozměry těla

Na psovi se měří kohoutková výška a délka těla. Měření se provádí hůlkovou mírou na dřevěné desce při popisných přehlídkách (Pisarčíková, 2004). Tělesné rozměry jsou dědičné polygenné (Dostál, 2007). K měření se používá hůlková míra (Procházka, 1994).

Kohoutková výška

Což je délka kolmice spuštěné z nejvyššího bodu kohoutku psa na podložku (Procházka, 1994).

Standard uvádí: ideální výška psa plemene Belgického ovčáka je 62 cm a to v intervalu 60 – 66 cm a u feny 58cm s rozmezím 56 – 62 cm. Za vadu je považována jakákoli výška mimo těchto intervalů (Anonym 1, 2001).

Délka těla – délka trupu

Délku trupu měříme od předního výběžku kosti prsní k sedacímu hrbolu příslušné strany (Procházka, 1994). Belgický ovčák má mít délku těla shodnou s kohoutkovou výškou, chybou je pokud délka přesáhne kohoutkovou výšku (Anonym 1, 2001)

Index tělesného formátu – tělesný rámec

Index formátu se vypočítává z kohoutkové výšky dělené délkou trupu (Procházka, 1994)

Belgický ovčák je pes kvadratického rámce, neboli čtvercového formátu těla. Poměr kohoutkové výšky ku délce trupu je roven jedné, za vadu je považován nekvadratický formát těla. (Anonym 1, 2001).

MATERIÁL A METODIKA

Vymezení srovnávací základy

Byla zpracována data na podkladě plemenné knihy belgických ovčáků a výsledků uchovnění.

Do databáze bylo zařazeno celkově 81 groenendaelů a 222 tervuerenů, kteří prošli uchovněním v letech 2001 - 2008. Srovnání bylo provedeno podle ročníku narození a variety a podle pohlaví.

Hodnocené znaky

Exteriér dle znaků:

Kohoutková výška – měřeno hůlkovou mírou v nejvyšším bodě hřebenu lopatky, měřených při popisných přehlídkách KCHBO

Délka těla – měřeno hůlkovou mírou od ramenního kloubu po sedací hrbol, měření proběhlo při popisných přehlídkách KCHBO

Z těchto dvou měř byl spočítán tělesný rámec (délka těla/ kohoutková výška) = formát těla.

Statistické zpracování dat

Databáze byla zpracována v programu Microsoft Office Excel.

Jednotlivá data byla zpracována v programu Statsoft STATISTICA verze 8.

U databáze byla zjišťována lineární vztahy mezi základními sledovanými znaky (kohoutková výška, tělesný formát, index formátu těla) variety, rokem narození, pohlaví.

Data byla vyhodnocena lineárním modelem s pevnými efekty (GLM):

$$y_{ijkl} = \mu + a_i + b_j + c_k + d_{ijkl}$$

Kde:

μ = celkový průměr

a_i = efekt pohlaví ($i = 1,2$)

b_j = efekt roku narození ($j = 1,2,\dots,19$)

c_k = efekt variety ($k = 1,2$)

d_{ijkl} = reziduální efekt

VÝSLEDKY

Tělesné rozměry - kohoutková výška u groenendaelů

Podíváme-li se na průměrné výsledky výšky (graf 1) vidíme, že ve všech námi sledovaných ročních se pohybujeme průměrem ve standardní kohoutkové výšce. Feny se v ročních 2000 až 2004 blíží ideálu, který je 58 cm. U psů je chovateli preferována výška nad ideálem (62 cm), což se odráží i na průměrné výšce, která je u předvedených psů 63,44 cm.

Jak ukazuje tabulka 1, statisticky průkazné jsou rozdíly mezi fenami a psy.

Tab. 1 Statistická průkaznost kohoutková výška BOG (pohlaví)

pohlaví	F	P
F		0,000109
P	0,000109	

Průkazné / neprůkazné

Tělesné rozměry – délka těla u groenendaelů

Jak je patrné z grafu 2, u průměrné délky těla sledovaných ročníků jsou větší rozdíly než u kohoutkové výšky. Přesto se ale pohybuje v rozmezí udávaném standardem. Průměrná délka u fen je 58,72 cm. Výjimkou byly ročníky 2005 (61,50 cm) a 1997 (63,00 cm, jedna fena) kde průměr dosáhl nebo překročil horní povolenou hranici. Délka těla se jinak pohybuje okolo 58 cm, avšak s větším rozptylem než je tomu u kohoutkové výšky.

U psů je průměr 63,3088 cm což je 1 cm nad ideálem. Podíváme-li se na výsledky jednotlivých ročníků, jsou zde viditelné větší rozdíly mezi jednotlivými ročníky. Ročník 2000 má průměrný výsledek 60 cm, což je dolní hranice, naproti tomu ročníky 2002 a 2005 se pohybují těsně pod horní hranicí délky těla.

Statistická průkaznost je uvedena v tabulce 2.

Tab. 2 Statistické průkaznosti délka těla BOG (pohlaví)

pohlaví	1	2
F		0,000109
P	0,000109	

Průkazné / neprůkazné

Tělesné rozměry – formát těla u groenendaelů

Formát těla neboli tělesný rámec je u BOG dalším ukazatelem tělesné stavby. Průměrný tělesný rámec u námi sledované populace je 1,0012, což se velmi blíží ideálu, který se rovná 1. Tato hodnota je shodná jak pro psy, tak pro feny, podíváme-li se na výsledky pohlaví (graf 2), tak celkový průměr u fen je 1,0033 a u psů je 0,9983

Tento znak nebyl u belgických ovčáků nikdy hodnocen, i když je na výstavách a při chovu značně sledován, požadavek je kladen na co nejkratší formát, bez ohledu na možné důsledky. Vyskytují se zvířata, která mají tento index i kolem 0,90, což lze považovat za velmi rizikové pro další chov a využití těchto zvířat ve sportu.

Statisticky nebyl prokázán rozdíl mezi jednotlivými ročníky ani pohlavími.

Tělesné rozměry – kohoutková výška u tervuerenů

V námi sledovaných ročnících bylo změřeno celkem 210 jedinců, z toho bylo 94 psů a 116 fen.

U psů byl průměrný výsledek 63,7447 cm, což je 1,7447 cm nad ideální výškou pro psa. Celkově u psů je vidět snaha chovatelů vybrat pro chov vyšší zvířata. Podíváme-li se na průměry, tak od ročníku 1999 se nám pohybují dokonce nad 64cm (výjimkou je zde ročník 2005 s průměrem 63,92 cm a ročník 2005 kde se průměr pohybuje těsně pod ideální výškou). Vývoj tělesných rozměrů vidíme v grafu 1.

U fen je průměrná výška 59,44 cm což je také mírně nad ideálem. Prohlédneme-li si průměry jednotlivých ročníků, zjistíme, že nejvyšším ročníkem je ročník 2001, který má průměrnou výšku u fen 60,12 cm. Nejnižším ročníkem je 1998, kdy průměr je 57,63. Zde je vidět snaha chovatelů o menší feny, kohoutková výška postupně, i když nevýrazně klesá. Naproti tomu u psů kohoutková výška spíše stoupá.

Statisticky je průkazný rozdíl mezi kohoutkovými výškami u jednotlivých ročníků psů a fen, ale jednotlivé ročníky stejného pohlaví se statisticky neliší. Statisticky průkazné výsledky uvádím v tabulce 3.

Tab. 3 Průkaznosti kohoutková výška u BOT (pohlaví)

pohlaví	P	F

P		<i>0,000009</i>
F	<i>0,000009</i>	

Průkazné / neprůkazné

Tělesné rozměry – délka těla u teruuerenů

Jak nám ukazuje graf 2 průměrná délka těla je u psů 63,38 cm a u fen 59,52 cm, což je mírně nad ideálem. V tomto znaku jsou větší rozdíly mezi jednotlivými ročníky než u kohoutkové výšky, stále ale v mezích daných standardem.

Průkazné výsledky vidíme v tabulce 4.

Tab. 4 Statistická průkaznost délka těla u BOT (pohlaví)

pohlaví	P	F
P		<i>0,000009</i>
F	<i>0,000009</i>	

Průkazné / neprůkazné

Tělesné rozměry – formát těla u teruuerenů

Formát těla je třetím námi sledovaný rozměr. Psi dosáhli v námi sledovaných ročnících průměru 0,9948, což se blíží ideálu a fen byl průměr 1,0016. Ideální formát je roven 1.

Hlavně u psů pozorujeme značnou snahu chovatelů chovat co nejkratší jedince. Zde vidíme hrozící nebezpečí pro další chov, protože neustálé zkracování může vést k problémům a zdravotním potížím. Feny této snaze prozatím odolávají, tělesný rámec těsně nad hodnotou 1 se nám jeví jako ideální zejména pro chovné feny. Vývoj jednotlivých ročníků je uveden v grafu 3.

Mezi jednotlivými ročníky ani mezi pohlavími nebyla zjištěna statistická průkaznost.

Srovnání kohoutkové výšky

Jak ukazuje graf 1 výraznější rozdíly jsou viditelné u fen, kdy feny variety teruueren jsou průměrně vyšší o 1cm než feny groenendael. U psů je výška srovnatelná. Je jasné vidět snaha chovatelů chovat psy, kteří jsou větší než je standardem stanovený ideál, což pro psy je 62 cm, a to u obou variet.

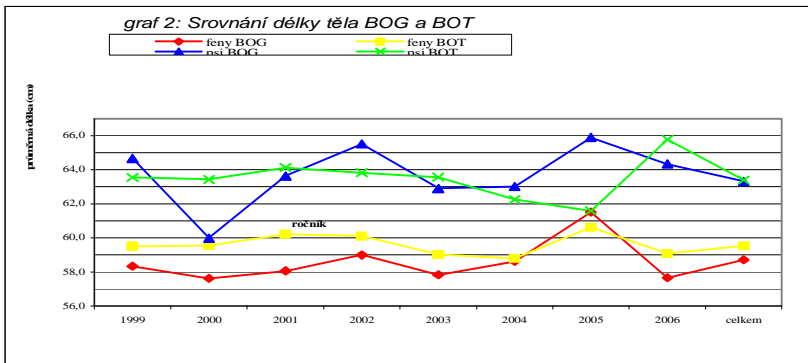
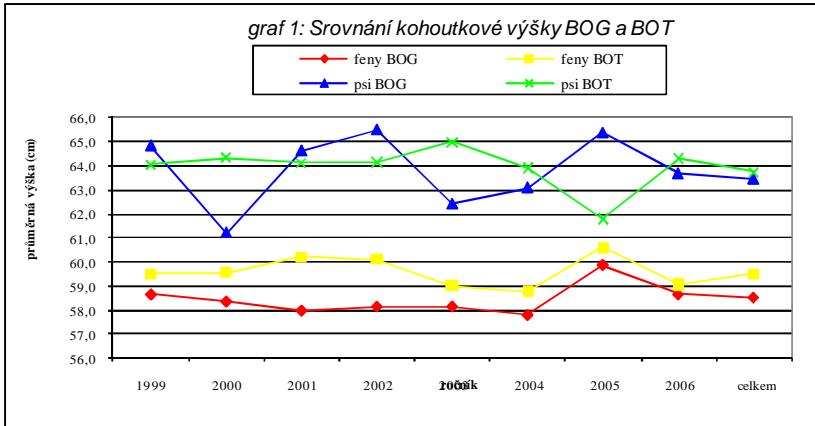
Srovnání délky těla

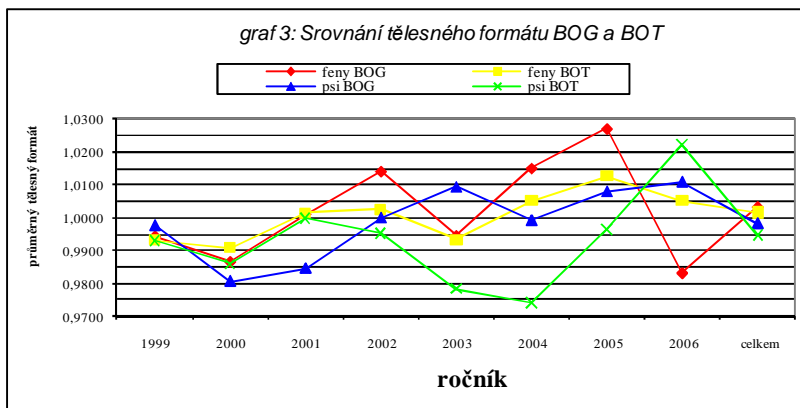
Při pohledu na graf 2 zjistíme, že výsledky jsou vyrovnanější, co se týká srovnání variet, jinak jsou výsledky rozptýlenější. Délka u psů je srovnatelná u obou variet, u fen je délka větší u variety teruueren, což odpovídá výsledkům kohoutkové výšky (když je vyšší kohoutková měla by být větší i délka těla). Výsledky jsou statisticky neprůkazné.

Srovnání tělesného formátu

Jak ukazuje graf 3. V tělesném rámci je celkově jen velmi malý rozdíl mezi varietami. Kdy feny obou variet jsou jen velmi nepatrně nad ideálem a psi jak BOG tak i BOT nepatrně pod ideálem. Jedná

se tedy o takřka ideální stav a je vidět, že snaha chovatelů chovat kvadratická zvířata tak, jak požaduje standard se nám v ČR daří.





ZÁVĚR

Belgický ovčák vznikl na konci 19. století a do České republiky byl poprvé importován v roce 1978.

Belgický ovčák se chová ve čtyřech varietách. Práce se zabývala vyhodnocením chovu variety groenendaelů a tervuerenů.

V práci byly zpracovány výsledky bonitací 81 groenendaelů a 222 tervuerenů.

Z výsledků vyplývá, že obě populace jsou exteriérově vyrovnané, jak spolu navzájem, tak uvnitř jednotlivých variet.

Při vyhodnocení exteriéru bylo zjištěno, že feny tervuerena jsou průměrně o 0,9 cm větší než feny groenendaela, které se pohybují v těsné blízkosti ideálu (58 cm). U psů byla vidět preference větších jedinců a průměry se pohybovaly častěji 1 – 2 cm nad ideálem (62 cm). U výsledků délky a tělesného formátu nebyly rozdíly tak výrazné a byli zde vidět větší rozdíly výsledků u jednotlivých ročníků.

Ze sledování vyplývá, že ve sledovaném období byly tělesné rozměry stále, tzn. že uplatňovaný selekční tlak je dostatečný pro udržení požadovaných tělesných rozměrů u groenendaelů i tervuerenů a není potřeba přijímat žádná opatření ke změně tohoto stavu.

LITERATURA

Andrews, J., Cloutt, J.(1986): The Belgian Shepherd Dog

Bossi, E. (1989):The Belgian Shepherd Dog and its History,

Bossi, E. (1990): Geschichte und Standard des Belgischen Schäferhundes

Dostál, J. (2007):Genetika a šlechtění plemen psů, Dona České Budějovice, ISBN 978-80-7322-104-1

Pisarčíková, H. (2004): 20 LET CHOUVU BO V ČR, Zpravodaj klubu chovatelů belgických ovčáků, 4/04

Procházka, Z. (1994):Chov psů, vydáno vlastním nákladem autora, Brno, str. 16, ISBN 80-209-0015-2
Standard plemene číslo 15/2001 (Anonym 1), (2001): Generální sekretariát FCI, Belgie 10str.

EFFECT OF CONSERVATION ADDITIVE ON FERMENTATION PROCESS QUALITY OF BREWER GRAINS' SILAGE WITH ADDITION OF ABSORBENT HUMIDITY

Vyskočil I., Doležal P., Dvořáčková J., Poštulka R.

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

E-mail: ivo.vyskocil@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of the work was to evaluate the effect of chemical conservation additive on fermentation process quality of brewer grains' silage with addition of humidity absorbent (malt sprouts). In a model experiment the fresh brewer grains were used. A dry matter (DM) content of brewer grains was 221.9 g/kg. The brewer grains' were supplied by malt sprouts to reach DM content of conserved matter on level 320 – 350 g/kg. Three treatments with three repetitions were prepared. The treatment A was a control treatment were supplied by humidity absorbent, but without any additive. The treatment B was supplied by chemical additive with its dose 3.5 l per tone. Chemical conservation additive was based on formic acid, propionic acid, benzoic acid and formamide content. The treatment C was supplied by microbiology additive with its dose 2 g per tone. Microbiology additive contains *Lactobacillus paracasei* (DSM 16245), *Lactobacillus lactis* (NCIMB 30160) and *Pediococcus acidilactici* (DSM 16243). Model silages were evaluated after 112 days of conservation at average laboratory temperature 26–28 °C, from each treatment were the final laboratory samples taken and analyzed. In the experiment were monitored following parameters: Dry matter, pH, acid water extract quality, lactic acid content, propionic acids content, acetic acid content, butyric acid content and ammonia and alcohol content. During conservation of treatments A, B and C were no drain recognized. The malts sprouts addition eliminates waste fluid drain. The butyric acid was not detected and propionic acid was detected only treatment C.

Key words: fermentation quality, brewers' grains, silage

Acknowledgments: The work was funded from Project NAZV no. 4027 "Utilizing wastes from malting and brewing industries as a source of proteins for animal nutrition with respect to environment".

ÚVOD

Pivovarské mláto jako zbytek po vyluhování šrotovaného sladu při výrobě piva představuje významné bílkovinné krmivo s roční produkcí v ČR okolo 380 tis. tun. Sušené pivovarské mláto je cennou surovinou při výrobě krmných směsí; čerstvé mláto při sušině 200–220 g/kg se využívá buď k přímému krmení skotu a prasat, nebo se silážuje (Lohnert et al., 1996; Nishino et al., 2003; Doležal et al., 2005 a jiní). Chemické složení a stravitelnost pivovarského mláta studovala řada autorů (Amari a Purnomoadi, 1996; Lohnert et al., 1996; Daccord et al., 1997 et al.). Pivovarské mláto se vyznačuje vysokou výživnou hodnotou a rozdílnou bacherovou degradovatelností proteinu (Costa et al., 1995; Costa et al., 1994).

Obsah netto energie se pohybuje v rozmezí 6,1–6,7 MJ NEL v kg sušiny (Lohnert et al., 1996; Spann, 1993). Costa et al. (1994) uvádějí, že v 1 kg sušiny mláta je obsaženo 161,9 g/kg vlákniny, 386,3 g/kg BNLV, 486,0 g/kg NDF a 188,3 g/kg ADF. Mláto má výborné dietetické vlastnosti, související především s vyšším obsahem vitaminů skupiny B (Spann, 1993).

Specifickou vlastností kvalitního pivovarského mláta je pozitivní vliv na bacherové prostředí dojníc, zejména na bacherovou mikrobiální aktivitu a na tvorbu mikrobiálního proteinu.

Pivovarské mláto je krmivem, které se velmi rychle znehodnocuje, zvláště v letních měsících. Gruber et al. (1997), Doležal et al. (2006) uvádějí, že čerstvé nekonzervované mláto vydrží ve zkrmitelném stavu zpravidla nejdéle 48 hodin. Při skladování dochází k závažným smyslovým, nutričním, ale zejména mikrobiálním změnám. Nízký obsah sušiny čerstvého mláta způsobuje rozsáhlé uvolňování a odtok tekutin. Z důvodu zamezení odtoku silážních šťáv lze dle Buchgrabera a Resche (1997) čerstvé mláto lisovat na vyšší obsah sušiny 350–400 g/kg, nebo jej silážovat v kombinaci s přísádkem různého nasávacího materiálu (Pereira et al., 1998; Tanaka et al., 2001).

Cílem modelového pokusu bylo stanovení vlivu přísádku různých silážních aditiv na kvalitu fermentačního procesu pivovarského mláta s přísádkem sorbentu vlhkosti.

MATERIÁL A METODIKA

V modelovém pokusu bylo použito čerstvého pivovarské mláto, které mělo sušinu 221,9 g/kg, jako sorbent vlhkosti byl použit sladový květ. Mláto bylo homogenně promícháno s přísádkem sladového květu tak, aby výsledná sušina byla v rozmezí 32–35 %. Byly založeny tři pokusné varianty ve třech opakováních. U varianty A bylo použito čerstvé mláto s přísádkem sorbentu vlhkosti bez jakéhokoliv ošetření. U varianty B bylo provedeno ošetření směsí organických kyselin (účinnou látkou byly kyselina mravenčí, kys. propionová, kys. benzoová, mravenčan amonný) v dávce 3,5 l/t. U variant C byl použit biologický preparát, který obsahuje kmeny bakterií mléčného kvašení -- *Lactobacillus paracasei* (DSM 16245), *Lactobacillus lactis* (NCIMB 30160), *Pediococcus acidilactici* (DSM 16243), dávka byla 2 g/t. Modelové siláže byly uskladněny v laboratoři při průměrné laboratorní teplotě 26–28 °C po dobu 112 dní. Při hodnocení kvality fermentačního procesu po 112 dnech byly hodnoceny následující faktory: obsah sušiny siláže, pH, kyselost vodního výluhu (KVV), množství kyseliny mléčné, octové, propionové, máselné, obsah alkoholu a amoniaku. Analytické postupy byly popsány v naší dřívější práci (Doležal, 2002). Výsledky byly statisticky zpracovány metodou analýzy variance a rozdílů mezi

jednotlivými skupinami byly analyzovány Scheffeho testem v programu STATISTICA 8. Data v textu jsou prezentována jako průměr \pm směrodatná odchylka.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Sušina siláží pivovarského mláta se při odběru po 112 dnech skladování pohybovala od $300,32 \pm 8,46$ g/kg u varianty C do $324,13 \pm 5,1$ g/kg u varianty B. Vlivem použití sorbentu vlhkosti – sladového květu, nedošlo u žádné z modelových siláží k odtoku silážních šťáv.

Při hodnocení kvality fermentace byl prokázán vliv silážního aditiva na hodnotu pH siláží. Nejnižší hodnota pH, $3,71 \pm 0,01$ pH, byla stanovena u varianty B, nejvyšší u kontrolní siláže ($4,39 \pm 1,64$ pH). Kyselost vodního výluhu nekorelovala s hodnotou pH. U varianty C byla hodnota KVV nejvyšší ($2124 \pm 21,84$ mg KOH/100 g). Mezi variantou B, u které byla stanovena nejnižší hodnota KVV ($1801,33 \pm 45,34$ mg KOH/ 100 g), a variantou A i C byl statisticky vysoce průkazný rozdíl ($P < 0,01$).

Tab. 1 Kvalita fermentačního procesu siláže pivovarského mláta (g/kg sušiny)

Varianta	Varianta A		Varianta B		Varianta C	
Parametr	Prům. \pm sm. odch.	Pozn.	Prům. \pm sm. odch.	Pozn.	Prům. \pm sm. odch.	Pozn.
Sušina	$315,81 \pm 3,4$	A	$324,13 \pm 5,1$	A	$300,32 \pm 8,46$	B
pH	$4,39 \pm 1,64$	a	$3,71 \pm 0,01$	a	$4,2 \pm 0,01$	a
KVV	$2071,5 \pm 51,27$	A	$1801,33 \pm 45,34$	B	$2124 \pm 21,84$	A
Kys. mléčná	$110,5 \pm 3,32$	A	$68,12 \pm 2,35$	B	$75,15 \pm 2,47$	C
Kys. octová	$26,55 \pm 0,45$	A	$16,1 \pm 0,43$	B	$42,43 \pm 1,33$	C
Kys. Propion.	0 ± 0	A	0 ± 0	A	$7,37 \pm 0,74$	B
Suma kys.	$137,04 \pm 3,66$	A	$84,22 \pm 2,39$	B	$124,95 \pm 4,18$	C
KM:TMK	$4,16 \pm 0,09$	A	$4,23 \pm 0,18$	A	$1,51 \pm 0,03$	B
Etanol	$11,66 \pm 0,5$	Aa	$10,65 \pm 0,54$	ABb	$9,72 \pm 0,47$	Bc
Amoniak	$2,64 \pm 1,17$	a	$3,14 \pm 0,24$	a	$3,5 \pm 0,21$	a

KVV – kyselost vodního výluhu; KM – kyselina mléčná; TMK – těkavé mastné kyseliny
Rozdíly jsou statisticky významné, když jsou průměry označeny různými písmeny. Velká písmena označují vysoce průkazné rozdíly ($p < 0,01$) a malá písmena průkazné rozdíly ($P < 0,05$)

V obsahu kyseliny mléčné i octové byl statisticky vysoce průkazný rozdíl ($P < 0,01$) mezi všemi sledovanými variantami. Kyselina propionová byla detekována pouze u varianty C v množství $7,37 \pm 0,74$ g/kg sušiny. Nishino et al. (2003) konstatovali, že s dobou skladování dochází k metabolizaci kyseliny mléčné na kyselinu octovou a propionovou.

Nejvyšší množství kvasných kyselin bylo stanoveno v kontrolní variantě A ($137,04 \pm 3,66$ g/kg sušiny) a naopak nejnižší u varianty B ($84,22 \pm 2,39$ g/kg sušiny), ale statisticky vysoce průkazné rozdíly ($P < 0,01$) byly mezi všemi sledovanými variantami.

Při vyhodnocení kvality fermentačního procesu z pohledu poměru množství kyseliny mléčné k těkavým mastným kyselinám byl nejnižší poměr u varianty C $1,51 \pm 0,03$. Nejvyšší a nejlepší poměr byl stanoven u varianty B ($4,23 \pm 0,18$). Uvedený rozdíl byl statisticky vysoce průkazný ($P < 0,01$) stejně jako rozdíl mezi variantou C a kontrolní variantou u které byl stanoven poměr KM:TMK $4,16 \pm 0,09$.

I přes poměrně vyrovnané množství etanolu byly mezi všemi sledovanými variantami statisticky průkazné rozdíly ($P < 0,05$). Statisticky vysoce průkazný rozdíl ($P < 0,01$) byl mezi kontrolní variantou A, kde bylo stanoveno množství etanolu $11,66 \pm 0,5$ g/kg sušiny, a variantou C ($9,72 \pm 0,47$).

Množství amoniaku bylo u všech variant nízké a rozdíly nebyly statisticky významné.

ZÁVĚR

Cílem modelového pokusu bylo stanovení vlivu přídatku různých silážních aditiv na kvalitu fermentačního procesu pivovarského mláta s přídatkem sladového květu jako sorbentu vlhkosti. Z výsledků vyplývá, že dávka silážního aditiva u varianty B byla vysoká, protože došlo k potlačení fermentačního procesu čemuž odpovídá i přes nízké pH prokazatelně ($P < 0,01$) nízký obsah kvasných kyselin. Ale i přesto tuto siláž můžeme hodnotit velice pozitivně právě pro nízkou hodnotu pH, a nižší KVV a velice dobrý poměr kvasných kyselin respektive kyseliny mléčné k těkavým mastným kyselinám. Naopak u varianty C je pH poměrně vysoké, také množství kyseliny octové je vysoké a jako u jediné varianty zde byla detekována kyselina propionová.

LITERATURA

AMARI, M., PURNOMOADI, A., 1996: Chemical and digestive characteristics of brewers' grain for feed of cattle. *Bulletin of National Institute of Animal Industry*, No. 57: 39–46.

BUCHGRABER, K., RESCH, R., 1997: Conservation of pressed brewers' grains and their utilization in cattle feeding. 1. The conservation of pressed brewers' grains with and without additives. *Bodenkultur*, 48: 1, 33–41.

COSTA, J. M. B., MATTOS, W. R. S., BIONDI, P., CARVALHO, D. D., De-CARVALHO, D. D., 1994: Chemical composition of wet brewers' grains. *Boletim de Industria Animal*, 51: 1, 21–26.

COSTA, J. M. B., MATTOS, W. R. S., BIONDI, P., CARVALHO, D. D., De-CARVALHO, D. D., 1995: Ruminant degradability of wet brewers' grains. *Boletim-de-Industria-Animal*, 52: 1, 87–94.

DACCORD, R., ARRIGO, Y., AMRHYN, P., 1997: Nutritive value of brewers' grains for ruminants. *Revue Suisse d'Agriculture*, 29: 3, 111–113.

DOLEŽAL, P., 2002: Vliv přídatku *Lactobacillus plantarum* DSM 12771 na kvalitu siláží silně zavádě vojtěšky a trávy (Effect of supplements of *Lactobacillus plantarum* DSM 12771 on the quality of ensiled alfalfa and grass with a high content of dry matter). *Acta universitatis agriculturae et silviculturae Mendelianae Brunensis* Brno, 5, p. 37–44.

DOLEŽAL, P., ZEMAN, L., PYROCHTA, V., DOLEŽAL, J., 2005: Nutriční a technologické problémy spojené s konzervací pivovarského mláta. (Nutritional and technological problems related to the conservation of brewer's grains.) In: *Dni výživy zvířat* (Days of animal nutrition), Proceedings from international scientific conference. 1st edition Nitra: Slovak University of Agriculture Nitra, p. 31–35. ISBN 80-8069-529-6.

DOLEŽAL, P., VYSKOČIL, I., ZEMAN, L., KALHOTKA, L., DOLEŽAL, J., PYROCHTA, V., 2006: Kvalitativní změny čerstvého a silážovaného mláta. (Qualitative changes in fresh and ensiled brewer's grains.) *Náš chov*, no. 1, p. 32–34. ISSN 0027-8068.

GRUBER, L., STOGERER, R., STEINWIDDER, A., LETTNER, F., 1997: Konservierung von Presstrebern sowie deren Einsatz in der Rinderfütterung. 2. Mitteilung: Einsatz von gepressten silierten oder getrockneten Biertebern in der Milchviehfütterung. *Bodenkultur*, 48: 3, 173–188.

LOHNERT, H. J., RICHTER, G. H., OCHRIMENKO, W. I., FLACHOWSKI, G., KAMPHUES, J., 1996: Investigations on the storage and feeding value of fresh and preserved brewers' grains. Braunschweig–Volkenrode (FAL), 10–11th April, *Landbauforschung–Volkenrode, Sonderheft*, No. 169: 275–279.

NISHINO, N., HARADA, H., SAKAGUCHI, E., 2003: Evaluation of fermentation and aerobic stability of wet brewers' grains ensiled alone or in combination with various feeds as a total mixed ration. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83: 557–563.

PEREIRA, J. C., CARRO, M. D., GONZALES, J., ALVIR, M. R., RODRIGUEZ, C. A., (1998): Rumen degradability and intestinal digestibility of brewers' grains as affected by origin and heat treatment and of barley rootlets. *Animal Feed Science and Technology*, 74: 2, 107–121.

SPANN, B., 1993: Fütterungsberater Rind. *Verlagsunion Agrar*, BLV Verlagsgesellschaft München GmbH, 183 pp.

TANAKA, O., AKIYAMA, F., YAMADA, A. et al., 2001: Effect of gamma irradiation on microflora and fermentation quality of silages containing tofu cake or brewers' grain. *Grassland Science*, 47: 3, 274–282.

SUITABILITY OF ELAND (*TAUROTRAGUS ORYX*) FOR FULL DOMESTICATION

Zejdová P.¹, Kotrba R.^{2,3}, Chládek G.¹

¹Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

²Department of Animal Science and Food Processing in Tropics and Subtropics, Institute of Tropics and Subtropics, Czech University of Life Sciences Prague, Kamycka 129, 165 21 Praha 6- Suchdol, Czech Republic

³Institute of Animal Science, Prague-Uhrineves, Přátelství 815, 104 00 Praha Uhřetěves, Czech Republic

E-mail: xzejdova@node.mendelu.cz

ABSTRACT

Our objective was to approve existence of follow – the – leader dominance hierarchy in the herd of farmed elands as reaction to article of Diamond (2002). He stated that one of obstacles for domestication on species basis was “the lack of follow-the-leader dominance hierarchies”. Moreover the index of activity synchronisation should be over 80 % if the herding instinct is high as we can assume on the basis of Grove’s conclusions (1999).

Data were obtained by scan observations during changes of activities (grazing and resting) and during movement along pasture where we determined the animal who leads during changes in herd of 26 elands. We used SAS 9.1., Generalized Linear Mixed Models (GLMM), Pearson’s correlation and index of synchronisation. The most changes of activities from grazing to resting, from resting to grazing and movements along the pasture were initiated by adult high ranked females ($p < 0.0001$). High rate of synchronization of activities (over 80%) related to grazing and resting were dependent on age ($p < 0.04$) not on the sex of subject. The adult females (81.7%) and yearlings (82.3%) were more synchronized with herd members than calves (75.3%).

On the basis of results and with regard to gained theoretical findings about eland we should believe that Diamond’s assumptions are not correct at least for elands. This species seems to have a good potential for full domestication as suitable animal species.

Key words: eland farming, domestication, dominance hierarchy

ÚVOD

První záznamy o chovu antilop v zajetí pocházejí již z roku 2400 př. n. l. Do Evropy byly první antilopy losí dovezeny a chovány v zajetí od roku 1842 (Spinage, 1986). První zmínka o vhodnosti antilopy losí k domestikaci je od Methuena (1948). I když většina domestikáčnických pokusů byla z Afriky (Carles et al, 1981; Field, 1974; Lightfoot, 1977; Posselt, 1963; Retief, 1971; Roth, 1970; Skinner, 1967), jako nejdéle trvajících je z jižní Ukrajiny, který byl založen v roce 1892 a během níž byly antilopy losí chovány a dojeny jako skot (Treus, Kravchenko, 1968). Antilopa losí byla popsána jako druh velmi dobře ochočitelny a vhodný pro plnou domestikaci (Lightfoot, Posselt 1977) také pro její mírný temperament (Hansen et al, 1985). Díky zkušenostem s domestikací doporučila FAO antilopu losí jako vhodný druh k domestikaci (Scherf, 2000).

V úplném protikladu vyšla v prestižním časopise Nature práce Diamonda (2002), která zobecňuje předpoklady a důvody proč některé druhy nebyly dosud domestikovány. Antilopy uvedl jako příklad, kde díky chybějící „follow – the – leader dominance hierarchy“ nebyl žádný druh plně domestikován. Rovněž druhy, které byly domestikovány, většinou tvoří velké skupiny/stáda (Groves, 1999), kde můžeme předpokládat velkou synchronizaci související s příjmem a zpracováním potravy.

K potvrzení či vyvrácení vhodnosti antilopy losí pro domestikaci jsme si položili několik hypotéz souvisejících s přítomností fungujících stádové hierarchie ve vztahu k vůdcovství ve stádě a synchronizace aktivit:

H1. Antilopa či antilopy, které budou v hierarchii postaveny výše, budou iniciovat více změn aktivit z pasení na odpočinek, z odpočinku na pasení a přesunů po pastvině.

H2. Nejvyšší synchronizaci se stádem by měla mít mláďata (nedokáží se bránit predátorům a proto by měla využít „bezpečí“ stáda a s jeho členy se synchronizovat v aktivitách).

H3. Ve skupině antilop losích bude vysoká míra synchronizace aktivit (nad 80 %) souvisejících s pasením a odpočinkem závislá na věku (aby se mohla projevit vůdcí dominance jedince či jedinců, stádo se musí synchronizovat a dominantního jedince následovat. Zároveň by to mělo být zvíře zkušené, tedy starší).

MATERIÁL A METODIKA

Všechna sledování probíhala ve farmovém chovu antilop losích na Školním zemědělském podniku České zemědělské univerzity v Lánech. Celková rozloha 2 výběhů (včetně plochy stáje) je cca 2,5 ha. Ve stáji, která slouží k příjmu krmiva, napájení a jako zimoviště, jsou zvířata chována ve volném skupinovém ustájení na hluboké podestýlce. Přirozené štěrbínové větrání je uzpůsobeno tak, aby teplota v zimě neklesala pod 5° C. Krmení zvířat je zajištěno z prostoru centrálně umístěné krmné chodby, která má funkci krmného stolu. Antilopám je třikrát denně přihříváno objemné krmivo založené na kukuřičné siláži, vojtěškové senáži a senu.

Pozorování probíhala na přelomu června a července 2008. Sledované stádo čítalo 26 jedinců (11 dospělých samic a 15 mladých antilop (4 ♂ + 11 ♀) ve věku od jednoho dne až do 15 měsíců).

Údaje o synchronizaci a rozhodování v pastevním chování u antilop losích byly získávány přímým pozorováním všech zvířat tzv. skenováním po 1 minutě (Altmann, 1974). Jednotlivá pozorování byla adlibitně rozložena do 1 měsíce (celkem 88,25 hodin sledování v průběhu 15 dnů). Čas pozorování byl vždy mezi 8.00 hod a 18.30 hod. Pro účely tohoto pokusu byly stáj a výběh opticky rozděleny na čtyři zóny. Stáj představovala zónu 1. Zbýlé tři oblasti byly ve výběhu. Během sledování pak byly do tabulek zaznamenávány přesuny zvířat mezi jednotlivými zónami a činnost antilop (zda odpočívaly, nebo se pásly). Cílem pozorování bylo především zjistit, které zvíře nejčastěji určuje směr přesunu nebo je iniciátorem změny činnosti a také, kolik jedinců se nechá tímto vůdčím zvířetem ovlivnit.

Synchronizace byla určena jako společná aktivita alespoň čtrnácti zvířat, tj. nadpoloviční většiny zvířat (Ruckstuhl, 1999). Synchronizovaná zvířata byla ta, která změnila aktivitu do pěti minut od doby, kdy ji změnil iniciátor změny aktivity. Za iniciátora změny aktivity jsme považovali zvíře, které ostatní antilopy při změně následovaly. To bylo zaznamenáno pouze v případě jednoznačného určení. Pro zjištění hierarchie bylo použito jednoduchého pokusu s využitím atraktivního krmiva, na základě vzájemných interakcí, kdy se hodnotila zvířata, která zvířezila (trknutí, přiblížení se, naznačení trknutí) a zvířata, která prohrála (ustoupila).

Ke statistickému vyhodnocení bylo využito programu SAS 9.1 (SAS Inst. Inc., Cary, NC). K vyhodnocení získaných dat jsme použili Zevšeobecných lineárních smíšených modelů (GLMM) ke zjištění závislosti počtu změn aktivit na postavení v hierarchii a dále vlivu věku a pohlaví na stupeň synchronizace vyjádřené indexem synchronizace (podíl synchronizovaných aktivit k počtu všech aktivit za každou minutu pozorování). Ke zjištění míry závislosti indexu synchronizace na počet změn aktivit jsme využili Pearsonovy korelace. V modelu o více jak jednom pevném efektu aritmetický průměr ne plně popisuje chování souboru, proto byla použita metoda nejmenších čtverců (LSMEAN). LSMEAN byl vypočítán pro každý efekt a jejich rozdíly byly testovány t-testem. Pro mnohonásobné porovnání bylo použito Tukey - Kramerova testu.

VÝSLEDKY A DISKUZE

H1 se potvrdila.

Nejvíce změn aktivit iniciovaly hierarchicky nejvýše postavené dospělé samice $33,8 \pm 3,18$ (LSmean \pm směrodatná odchylka) ($F= 17,99$; d.f. = 3; 22; $p < 0,0001$), méně dospělé níže postavené $28,16 \pm 2,9$, ještě méně roční samičky $14,85 \pm 2,69$ a nejméně mláďata $7,75 \pm 2,51$.

Závislost mezi počtem změn a indexem synchronizace vyšla na nižší úrovni ($r = 0,42$, $p = 0,0324$, $n = 26$), kdy více změn iniciovala zvířata s vyšším indexem synchronizace.

H2 se nepotvrdila pro mláďata, ale platí pro juvenilní jedince kolem jednoho roku života.

U antilop losích se v tomto experimentu pohyboval index synchronizace v závislosti na věku zvířat. Nejvyšší index synchronizace se skupinou měly roční samičky $0,823 \pm 0,023$ (LSmean \pm směrodatná odchylka), nižší dospělé samice $0,817 \pm 0,020$ a nejnižší mláďata $0,7534 \pm 0,016$. Byl prokázán rozdíl v synchronizaci mezi skupinou mláďat a ročními i dospělými samicemi ($F = 3,71$; d.f. = 2; 22,1; $p = 0,0409$).

H3 se potvrdila.

Pozorování prokázala, že u antilopy losí dominantní hierarchie ovlivňuje rozhodování zvířat ve stádě v chování spojeném s příjmem a zpracováním potravy (iniciace změn aktivit a následování po pastvině), kdy nejvýše postavení jedinci nejčastěji iniciují změnu aktivity. Z tohoto pohledu by tedy tento druh mohl splňovat jeden ze základních předpokladů k domestikaci. Další důležité vlastnosti, zvyšující snadnou domestikovatelnost druhu, jsou podle Grovese (1999): adaptabilita na krmivo, dobrá odolnost vůči prostředí, spíše větší velikost stáda (ale ne větší než u nedomestikovaných druhů), menší agilnost zvířat, krátká úniková vzdálenost, převažující promiskuitní chování samců v období páření (samec si hlídá skupinu samic, která se však může variabilně měnit během několika hodin, či dní) a způsobilost mláďat k umělému odchovu. Tyto předpoklady byly již pro antilopu losí prokázány v řadě jiných experimentů a proto nebyly posuzovány touto prací.

Pokud bychom se tedy řídili těmito požadavky, pak lze antilopu losí označit za vhodného kandidáta k úplné domestikaci, protože kromě přítomnosti hierarchie, vyhovuje i ve vlastnostech, jako je adaptabilita na krmivo a odolnost vůči prostředí. Zvířata lze chovat v podobně velkých skupinách jako konvenční skot (Treus, Lobanov; 1971). Umělý odchov mláďat je také možný (Treus, Lobanov; 1971). Samci antilopy losí jsou promiskuitní (Kingdon, 1997). Agilnost zvířat a úniková vzdálenost je sice větší než u domestikovaného skotu, ale u krotkých jedinců se úniková vzdálenost do značné míry snižuje (Veselovský, 2005) a při použití krmiva jako atraktantu zvířata přijdou až ke stojícímu člověku (Tománková, 2006). Tyto 2 vlastnosti by tedy neměly v případě domestikace antilop způsobovat nějaký větší problém.

Diamond (2002) označil snahy moderních chovatelů dobytka domestikovat antilopu losí jako neúspěch a to proto, že tento druh údajně postrádá vůdčí hierarchii a má tendenci panikařit v nezvyklých situacích. Jak však plyne z výsledků této práce, u antilopy losí existuje dobře fungující vůdčí hierarchie a proto se dá s tímto Diamondovým tvrzením nesouhlasit. Je to možná dáno tím, že antilopy losí jsou někdy systematicky řazeny k antilopám do podčeledi lesoňů a někdy k pravým turům (Wilson, Reeder, 2005).

Antilopy losí by mohly být samozřejmě poněkud plašší, než domestikovaný skot, ale během našich pozorování jsme nezaznamenali jediný případ paniky ve stádě. Navíc, v průběhu domestikace skotu probíhala negativní selekce na povahu zvířat, což u antilop neprobíhala. Také chovné prostředí, intenzita či způsob kontaktů s ošetřovateli by mohl být důležitý pro projevy antilop. Tendence k panikaření v ohradě nebo při střetu s predátorem se možná může vyskytnout u volně žijících antilop odchycených z přírody, ale není to případ zvířat, která jsou (podobně jako námi sledované antilopy) chována již několikátou generací v zajetí a jsou od narození zvykána jak na kontakt s člověkem, tak i na množství rušivých jevů v okolí.

Makovcová (2005) se ve své práci zabývala pozorováním stejného stáda antilop, jaké bylo sledováno i v tomto poklusu. Ovšem Makovcová (2005) prováděla svá sledování v době, kdy byla zvířata ještě umístěna na jiné farmě a stádo čítalo pouze 11 jedinců. Zmiňovaná autorka se zaměřila na sociální vztahy v pastevním chování antilop losích. Mimo jiné hodnotila také synchronizaci a iniciaci při změně aktivity. Makovcová (2005) ve výsledcích své práce uvádí, že nejvyšší index synchronizace měly roční samičky a nejméně synchronní se stádem byla malá mláďata, což jsou stejné závěry, ke kterým jsme došli i v tomto poklusu. Zajímavé ovšem je, že v případě iniciace změny aktivity, byla podle Makovcové (2005) nejčastějším iniciátorem samice, která byla v té době v hierarchii dospělých nejnižše postavená.

Autorka to ve své práci vysvětluje skutečností, že zvířata, která iniciují přesun a jdou tedy v čele stáda, by mohla být více ohrožena při případném útoku predátora. Při našich pozorováních jsme však zjistili, že nejčastějším iniciátorem byla zvířata s vysokým hierarchickým postavením. Tato změna v hierarchii zvířat, která iniciují změnu aktivit, by tedy mohla mít i jiný význam než antipredační a může souviset s reprodukčním stavem, energetickými potřebami atd. Tento experiment by tedy mohl naznačit, že antilopa losí má hierarchii založenou na dominanci, kterou by bylo možné využít při efektivnější domestikaci a pastevním odchovu - přítomnost člověka jako vůdce a dobře informovaného jedince o potravních zdrojích. Tento prvek dominantního postavení člověka se objevuje i u některých afrických kmenů při pastvě skotu, kdy díky svému postavení je člověk schopen stádo plně ovládat (Lott a Hart; 1979).

ZÁVĚR

Výsledky této studie i dosavadní zkušenosti s chovem antilopy losí v zajetí naznačují, že by tento druh mohl být vhodným kandidátem na úplnou domestikaci.

LITERATURA

- Altmann, J. (1974): Observational study of behaviour: sampling methods. *Behaviour*, 49 : s. 227-267.
- Carles, A. B., King, J. M., Heath B. R. (1981): Game domestication for animal production in Kenya: an analyses of growth in oryx, eland and zebu. *J. Agric. Sci.* 97: s. 453- 463.
- Diamond, J. (2002): Evolution, consequences and future of plant and animal domestication. *Nature* 418 (8 August 2002): s. 700–707.
- Field, C. R. (1974). Scientific utilization of wildlife for meet in East Africa: a review. *J. Sth. Afr. Wildl. Mgmt. Ass.*, 4: s. 177-183.
- Groves, C. P. (1999): The advantages and disadvantages of being domesticated. *Perspectives in Human Biology* (1999), Vol 4 (1): s. 1–12.
- Hansen, R. M., Skovlin, J. M., Chimwani, D. M. (1985): Ability of eland and cattle to rumen digest forage. *East African Agricultural and Forestry Journal* 51: s. 63-65.
- Kingdon, J. (1997): *The Kingdon field guide to African mammals*. Academic Press, San Diego, California.
- Lightfoot, J. G. (1977): Eland (*Taurotragus-oryx*) as a ranching animal complementary to cattle in Rhodesia . 3. production and marketing. *Rhodesia Agricultural Journal*, 74: s. 85-91 .
- Lightfoot, C. J.; Posselt, J. (1977): Eland (*Taurotragus oryx*) as a ranching snímal complementary to cattle in Rhodesia. 2. Habitat and diet selection. *Rhodesia. Agricultural Journal*, 74: s. 53-61.
- Lott, D., F.; Hart, B., L., (1979): Applied ethology in a nomadic cattle culture. *Applied Animal Ethology*, 5: s. 309-319.
- Makovcová, K. (2005): Sociální vztahy v pastevním chování antilopy losí na farmě Březová ČR. Diplomová práce, ITS ČZU Praha. 49 s.

- Methuen, H. H. (1948): Life in the wilderness: or wandering in South Africa. Richard Bentley, London. UK.
- Posselt, J. (1963): The domestication of the eland. *Rhod. J. agric. res.*, 1: s. 81-88.
- Retief, G. P. (1971): The potential of game domestication in Africa, with special reference to Botswana. *J. S. Afr. Vet. Med. Ass.* 42: s. 119- 127.
- Roth, H. H. (1970): Studies on the utilisation of semi-domesticated eland (*Taurotragus oryx*) in Rhodesia- 1. Introduction. *Rhodesian Journal of Agricultural Research*, 8: s. 67-70.
- Ruckstuhl, K. E. (1999): To Synchronise Or Not To Synchronise: A Dilemma For Young Bighorn Males? *Behaviour* 136, 1999, s. 805-818.
- Scherf, B. E. (2000): World watch list for domestic animal diversity, pp. 676. Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Roma, Italy.
- Skinner, J. D. (1967): An appraisal of the eland as a farm animal in Africa. *Animal Breeding Abstracts*, 35: s. 177-186.
- Spinage, C. A. (1986): The natural history of antelopes. Croom Helm Publ., London. 198 s.
- Tománková, I. (2006): Antelope Behavior in Captivity: Common Eland – Human Interaction. Diplomová práce, ITS ČZU Praha. 68 s.
- Treus, V., Kravchenko, D. (1968): Methods of rearing and economic utilization of eland in the Askaniya-Nova Zoological Park. *Symposium Zoological Society of London* 21: s. 395-411.
- Treus, V. D.; Lobanov, N. V. (1971): Acclimatisation and domestication of the eland *Taurotragus oryx* at Askaniya-Nova Zoo. *Int. Zoo Yearbook* 11: s. 147-156.
- Veselovský, Z. (2005): Etologie: biologie chování zvířat. 1. vydání, Academia, Praha, 408 s., ISBN 80-200-1331-8.
- Wilson, D. E.; Reeder, D. M. (2005): *Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference* (3rd ed), Johns Hopkins University Press, 2, 142 s.

Section – Agroecology

END OF LIFE TYRE – A VALUABLE RESOURCE WITH GROWING POTENTIAL

Adamcová D., Kotovicová J.

Department of Applied and Landscape Ecology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: dana.adamcova@mendelu.cz

ABSTRACT

The worldwide production of waste tyres (so called "end of life tyres" - ELT) grows every year. The same situation is in the Czech Republic and in the countries of the European Union, but also in the world. „Every year about 3.4 million tonnes of used tyres (part worn + end of life tyres) are generated in Europe, of which 3 million tonnes are either recycled or recovered. This amounts to approximately 300 million units. The composition and energy characteristics of tyres are a significant source of material, energy and also raw material. Calorific value tyres ranges from approximately 32 MJ.kg⁻¹. Calorific value is one of the important properties of waste tires.

The aim of the research is focused on the second part of product life cycle - the tyre at the end of lifetime. The main possibilities of utilization of used up tyres 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 objective of the work is to describe the situation of waste tyres in the Czech Republic in the European Union and the world and focus on the issue of return. The return of waste tyres in the Czech Republic due to legislation (Act on Waste No. 185/2001 Coll., As amended, § 38, and others). The return of waste tyres is very important. Retrospectively collected tyres can be re-used, not become waste in nature.

Key words: tyre, waste, recycling, retreading, legal conditions, resource, ELTs management systems

ÚVOD

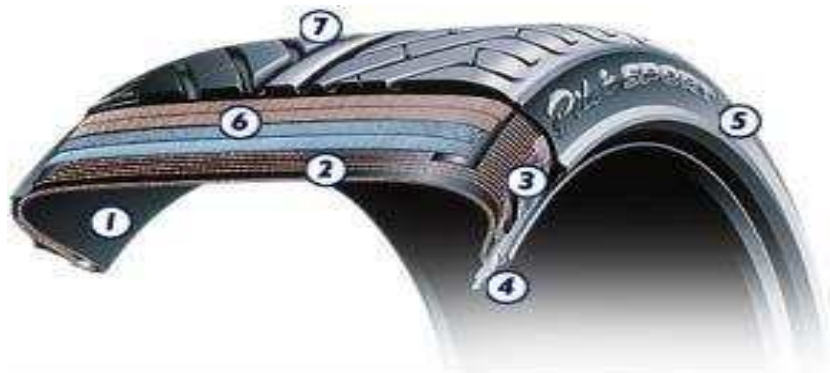
Pneumatiky jsou významnou součástí běžného života každého člověka. Setkáváme se s nimi téměř každodenně, ať již při jízdě osobním automobilem či při jízdě autobusem hromadné dopravy, ale i v hojně využívané letecké dopravě. V neposlední řadě nelze opomenout pneumatiky nákladních automobilů, které mají důležitý význam při přepravě různých materiálů, výrobků či jiných zařízení. Dnes si asi málo kdo z nás umí představit život bez pneumatik, ale bývaly doby kdy pneumatika byla vzácností. V posledních letech ve světě v důsledku rozvoje společnosti stoupá poptávka po pneumatikách a s tím úměrně souvisí i nárůst produkce odpadních pneumatik. Jeden z hlavních problémů, který souvisí s odpadními pneumatikami, je najít vhodný způsob nakládání s nimi. Nakládání s odpadní pneumatikou je specifické tím, že již na současné úrovni techniky, kterou člověk disponuje, je možné s ní pracovat v souladu s principy trvale udržitelného rozvoje. To znamená, že výrobně a energeticky náročný výrobek lze po skončení jeho použití 100% recyklovat a získané komponenty se mohou výhodně znovu využít.

Práce „Pneumatika na konci životnosti – cenný zdroj s rostoucím potenciálem“ je zejména zaměřena na problematiku, týkající se odpadní pneumatiky jako cenného zdroje. Cílem je popsat situaci nakládání s pneumatikami na konci životnosti v České republice, v zemích Evropské unie (dále jen EU – od roku 2004 25 členských států, od roku 2007 27 členských států) a také ve světě. Práce se následně zaměřuje na problematiku, týkající se zpětného odběru pneumatik v České republice.

MATERIÁL A METODIKA

Pro přesnost je vhodné, spíše nutné specifikovat pojem pneumatika. Pneumatiku lze charakterizovat následujícím způsobem: „Jedná se o dutou pryžovou obruč kol silničních vozidel, která je naplněna stlačeným vzduchem. Pneumatika vede směr jízdy vozidla a u vozidel na poháněných kolech přenáší hnací sílu.,[7] Slouží k tlumení nárazů a ořesů na nerovnostech vozovky a musí odolávat smyku za běžných povětrnostních podmínek a musí být odolná proti průrazům a oděru. Pneumatika má celou řadu velice důležitých funkcí, například vedení směru, nesení zátěže, tlumení nárazů, valivý pohyb, přenos výkonu, životnost. Pneumatika se skládá a je tvořena několika součástmi (viz Obr. 1).

Obr. 1 – Části pneumatiky [4]



Části pneumatiky:

- 1) „Vnitřní vložka – Vrstva vzduchotěsné syntetické pryže. Nachází se uvnitř pneumatiky a má stejnou funkci jako duše, která se používala u starších typů pneumatik.
- 2) Vrstva kostry - Tato kostra se skládá z tenkých textilních vláken, uložených rovnoběžně vedle sebe a zalitých do pryže. Tyto textilní vlákna jsou klíčovou složkou ve struktuře pneumatiky a zajišťují její odolnost proti tlaku. Tkanina jedné automobilové pneumatiky obsahuje asi 1400 vláken, z nichž každé může odolávat síle 15 kg.
- 3) Patka pláště – Její úlohou je přenášet točivý moment motoru a brzdění z ráfku pneumatiky až na styčnou plochu pneumatiky s vozovkou.
- 4) Patní lana – Jimi je patka vyztužena. Pomáhají držet pneumatiku na ráfku. Mohou nést zátěž až 1800 kg bez rizika přetržení.
- 5) Ohebné pryžové bočnice - Pomáhají chránit pneumatiku proti nárazům které by mohly poškodit plášť, například proti menším nárazům o obrubníky, výmoly atd.
- 6) Nárazníky – Jsou zpevněně jemnými, velmi pevnými ocelovými lanky mezi dvěma vrstvami pryže.
- 7) Na náraznicích leží běhoun - To je vzorkovaná část pneumatiky, která je v kontaktu s vozovkou. V místě kontaktu musí být běhoun schopen odolávat značným tlakům. Směs běhounu musí být schopna uchycení na všech typech povrchu, odolávat opotřebování a obrušování a měla by se co nejméně zahřívat.“[4]

Důležitým parametrem u pneumatik je hmotnost a složení pneumatik. Hmotnost pneumatik závisí na jejich typu. V Tab. 1 jsou uvedeny rozsahy hmotností nejužívanějších pneumatik na našem trhu.

Tab. 1 – Hmotnost pneumatik dle typu dopravního prostředku [5]

Skupina plášťů (pneumatik)	Rozsah hmotnosti [kg]
Osobní	4,5 – 13,9
Dodávkové	8,1 – 22,4
Nákladní	20,7 – 96,5
Autobusové	39,8 – 70,0
Ostatní	1,0 – 430,0

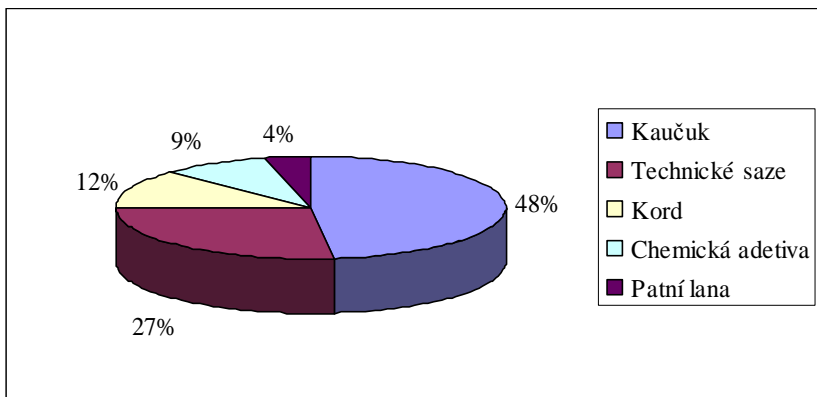
„Průměrná hmotnost pneumatik se uvažuje pro osobní auto cca 7 kg, lehké nákladní automobily cca 11 kg, těžké nákladní automobily 50 kg, kamiony cca 70 kg, zemědělské prostředky 100 kg. V průběhu používání se u pneumatiky otírá a obrušuje vrchní část – běhoun. Postupně se tak snižuje jejich hmotnost o cca 10 – 15 %.

Mezi další významný parametr odpadních pneumatik patří její výhřevnost. Výhřevnost pneumatik se pohybuje od cca 25 do cca 32 MJ. kg⁻¹. Tato výhřevnost je srovnatelná s běžnými fosilními palivy, což je dáno vysokým podílem uhlovodíků (nad 75 %). Z těchto důvodů pneumatiky představují alternativu fosilních paliv.“[5]

„Pneumatika se skládá z různých materiálů a strukturních složek, které přispívají ke zlepšení jejich užitkových vlastností. Složení pneumatik závisí na jejich typu. Počet různých typů pneumatik, které jsou používány v České republice se pohybuje řádově ve stovkách a se zaváděním nových výrobků se stále zvyšuje. Přibližně 80 % celkové hmotnosti pneumatik osobních automobilů a 75 % hmotnosti pneumatik nákladních automobilů tvoří směs pryže z vulkanizovaných přírodních a syntetických kaučuků, sazí a dalších minoritních přísad. Pneumatiky nákladních automobilů obsahují všeobecně více přírodní pryže než pneumatiky osobních automobilů. Zpevňovací materiály pneumatik (výztuž) tvoří ocel a textil. Dříve používané textilní materiály z přírodních surovin (bavlna) byly postupně nahrazovány viskózou, polyamidem a také ocelí (celoocelové pláště all-steel).“[5]

„Složení směsí používaných při výrobě pláště patří mezi přísně střežená tajemství jednotlivých výrobců. Velice obecně se dá říct, že z materiálového hlediska objemově tvoří pneumatiku: kaučuk, technické saze, kord, chemická aditiva, patní lana atd. Procentické vyjádření zastoupení materiálu je uvedeno v Grafu 1.“[6]

Graf 1 – Materiálové složení pneumatiky [6]



VÝSLEDKY A DISKUZE

Produkce odpadních pneumatik

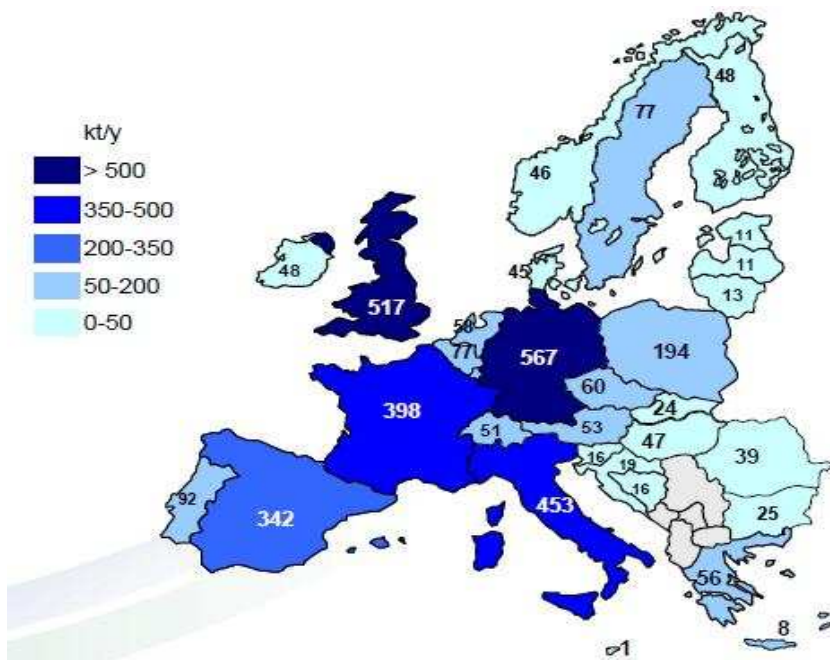
„Více než 1 miliarda pneumatik je prodávána po celém světě každý rok a následně stejné množství spadá do kategorie vyřazených pneumatik. I díky rozvoji vědy a technologiím, dochází ke zvyšování životnosti pneumatik, přesto množství odpadních pneumatik neustále narůstá, další příčinou je narůstající počet vozidel a zvyšování dopravního provozu na celém světě. [3]

V období 1992 až 2002 nedošlo k významnějšímu vzrůstu objemu produkce vyřazených pneumatik v rámci Evropské unie. Tato produkce v těchto letech činila asi 2 500.10³ tun za rok. Hodnota popisuje situaci v 15 členských státech Evropské unie (dále jen EU 15). Jedná se o tyto státy Rakousko, Belgie, Dánsko, Finsko, Francie, Německo, Řecko, Irsko, Itálie, Lucembursko, Nizozemsko, Portugalsko, Španělsko, Švédsko a Spojené království (dále jen UK). V EU 15 v roce 1994 činila produkce

použitých pneumatik $2\,100 \cdot 10^3$ tun a v roce 2006 činila tato produkce již $2\,780 \cdot 10^3$ tun, což představuje průměrný roční nárůst o 2,6 %.

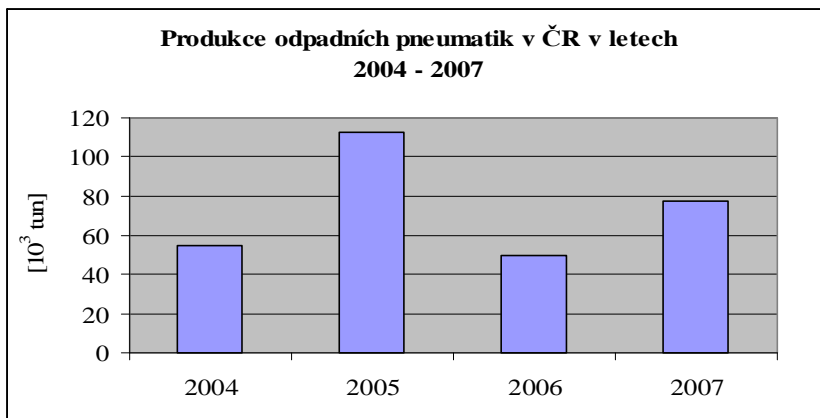
„V roce 2006 činila produkce použitých pneumatik v EU více než $3\,230 \cdot 10^3$ tun. Předpokládané roční náklady v rámci EU na nakládání s pneumatikami na konci životnosti se odhadují na 600 milionů eur. Kromě toho má EU miliony použitých pneumatik, které byly nelegálně dumpingované. Tyto historické zásoby mohou v některých případech představovat potenciální hrozbu pro lidské zdraví (nebezpečí požáru, útočiště pro hlodavce a jiné škůdce, jako jsou např. komáři, ...). Současný odhad pro tyto historické zásoby v celé EU činí $5\,500 \cdot 10^3$ tun“ [3]. V roce 2007 činila produkce, v EU 15, vyřazených pneumatik $2\,928 \cdot 10^3$ tun za rok. V rámci EU produkce vyřazených pneumatik v roce 2007 měla hodnotu $3\,396 \cdot 10^3$ tun za rok. V následujícím obrázku (viz Obr. 2) je pro přehlednost zobrazena produkce vyřazených pneumatik v jednotlivých zemích EU v roce 2007 v 10^3 tun za rok.

Obr. 2 - Produkce vyřazených pneumatik v zemích EU v roce 2007 v 10^3 tun za rok [3]



Nepřehledný a těžko kontrolovatelný tok opotřebovaných pneumatik (v důsledku špatné legislativní úpravy) od zdroje ke zpracovatelům způsobuje, že reálná data o jejich množství jsou těžko dostupná. Existuje několik zdrojů kde lze získat informace o produkci odpadních pneumatik v České republice. V následujícím grafu (Graf 2) je zobrazena produkce odpadních pneumatik v České republice v letech 2004 až 2007 (zdroj CENIA), množství odpadních pneumatik je uváděno v 10^3 tun. Jak vyplývá z grafu, produkce odpadních pneumatik se v České republice v letech 2004 – 2007 pohybovala v rozpětí od $49,5 \cdot 10^3$ tun do $112,6 \cdot 10^3$ tun.

Graf 2 – Produkce odpadních pneumatik v ČR v letech 2004 – 2007 [1]

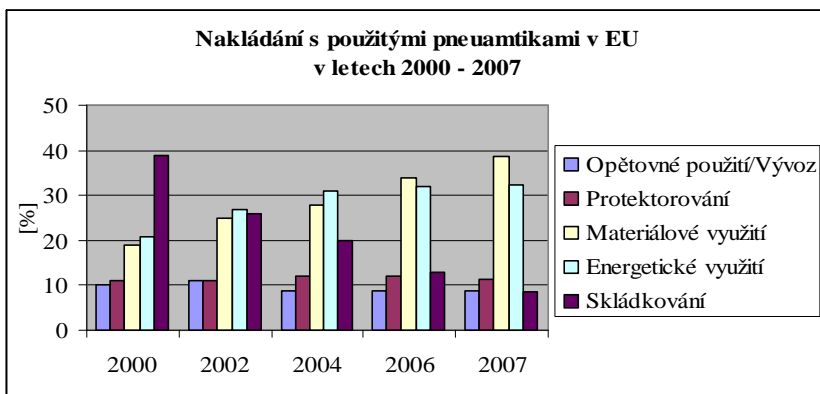


Ale jiný zdroj uvádí hodnotu $60 \cdot 10^3$ tun odpadních pneumatik vzniklých na území České republiky v roce 2007. Tím zdrojem je European Tyre & Rubber Manufacturers' Association, známá pod zkratkou ETRMA. Údaje o produkci odpadních pneumatik jsou rozporuplné v důsledku neexistujících kolektivních systémů, které by řešily většinu problémů (např. informovanost). Povinnosti plnění prostřednictvím kolektivních systémů budou lépe čitelné a umožní sběr přesných dat.

Nakládání s odpadními pneumatikami

Procentické zastoupení způsobů nakládání s použitými pneumatikami v rámci Evropské unie v letech 2000 – 2007 zobrazuje následující Graf 3. Mezi základní způsoby nakládání s použitými pneumatikami v rámci Evropské unie patří tyto způsoby: skládkování, energetické využití, materiálové využití, protektorování a opětovné použití/vývoz.

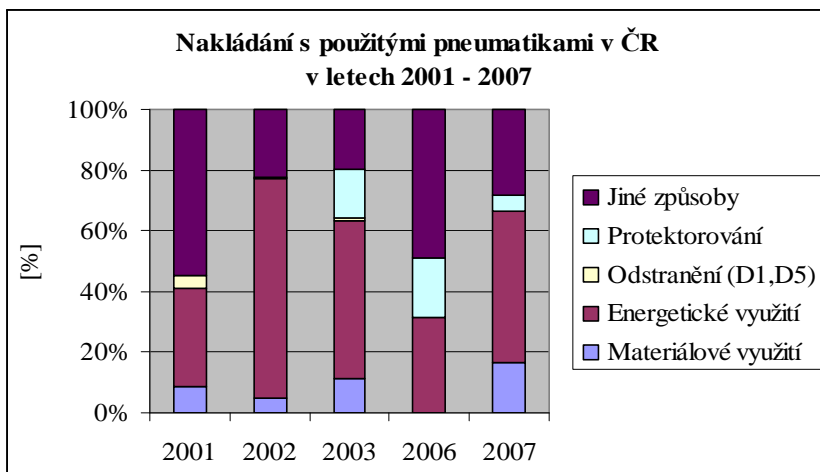
Graf 3 – Nakládání s použitými pneumatikami v EU v letech 2000 – 2007



Jak je z Grafu 3 patrné, došlo v Evropské unii v posledních let (2004 – 2007) oproti předcházejícím rokům ke změnám ve způsobech nakládání s použitými pneumatikami. Ve způsobech nakládání s použitými pneumatikami v těchto letech převládá materiálové a energetické využití nad protektorováním, skládkováním a možností opětovného použití/vývoz. A dále je patrný odklon od možnosti skládkování použitých pneumatik, jak lze vidět z daného grafu. Mezi největší producenty použitých pneumatik v Evropské unii v roce 2007 se řadí tyto země: Německo, UK, Itálie, Francie, Španělsko.

Nakládání s odpadními pneumatikami v České republice se řídí platnou příslušnou legislativou. Způsoby nakládání s použitými pneumatikami jsou obdobné jako způsoby využívané v Evropské unii. Nakládání s odpadními pneumatikami v České republice je zastoupeno energetickým využitím, materiálovým využitím, protektorováním, či jinými způsoby. V minulých letech bylo také využíváno skládkování, ale v současné době je „skládkování použitých pneumatik zakázáno vyhláškou MŽP č. 383/2001 Sb., ve znění pozdějších právních předpisů, s výjimkou pneumatik používaných jako materiál pro technické zabezpečení skládky v provozním řádem skládky.“[5] Graf 4 popisuje procentické zastoupení jednotlivých způsobů nakládání s použitými pneumatikami v České republice v období 2001 – 2007.

Graf 4 – Nakládání s použitými pneumatikami v ČR v letech 2001 - 2007

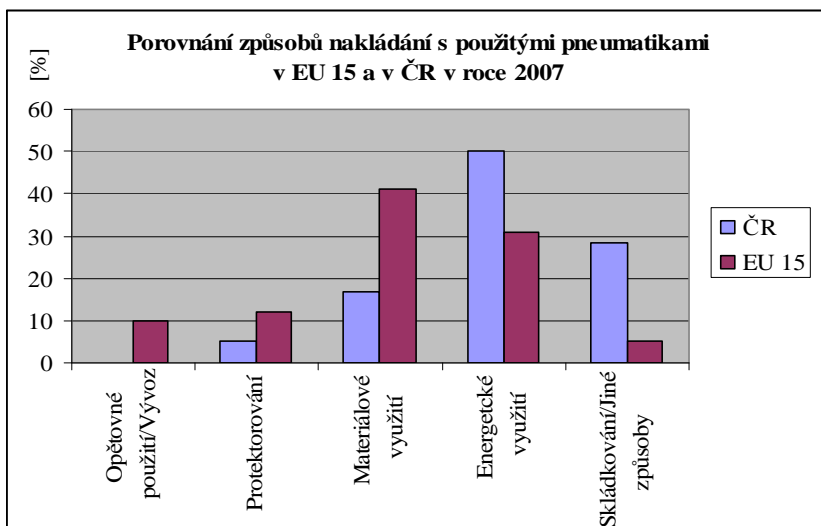


Pozn.: „Jiné způsoby = rekultivace terénu, předprava, skládkování“[zdroj: VÚV], „Odstranění D1, D5 = ukládání v úrovni nebo pod úrovní terénu (např. skládkování); ukládání do speciálně technicky provedených skládek (např. ukládání do oddělených, utěsněných, zavřených prostor izolovaných navzájem i od okolního prostředí apod.“[zdroj:Úplné znění zákona č. 185/2001 Sb., o odpadech a o změně některých dalších předpisů]

Z Grafu 4 lze určit pořadí způsobů nakládání s použitými pneumatikami v České republice v letech 2001 – 2007, pořadí je následující: Na prvním místě je to energetické využití, na druhém místě jsou to jiné způsoby, na třetím a čtvrtém místě je to materiálové využití a protektorování a na posledním pátém místě je to odstranění (D1, D2).

Porovnáme-li Českou republiku s Evropou, přesněji se zeměmi EU 15, získáme následující informace, které jsou zobrazeny v Grafu 5. V roce 2007 v zemích EU 15 převládalo zpracování formou materiálového využití použitých pneumatik, oproti České republice kde v témže roce bylo nejvíce uplatňováno energetické využití použitých pneumatik. Na rozdíl od zemí EU 15 je dále nejvíce v České republice využita kategorie jiné způsoby při využití použitých pneumatik. V rámci EU 15 je to materiálové využití, které je v České republice až na třetím místě ze způsobů využití použitých pneumatik. Lze tedy konstatovat, že v porovnání České republiky se zeměmi EU 15, existují rozdíly v pořadí způsobů využití použitých pneumatik.

Graf 5 – Porovnání způsobů nakládání s použitými pneumatikami v EU 15 a v ČR v roce 2007



Zpětný odběr pneumatik

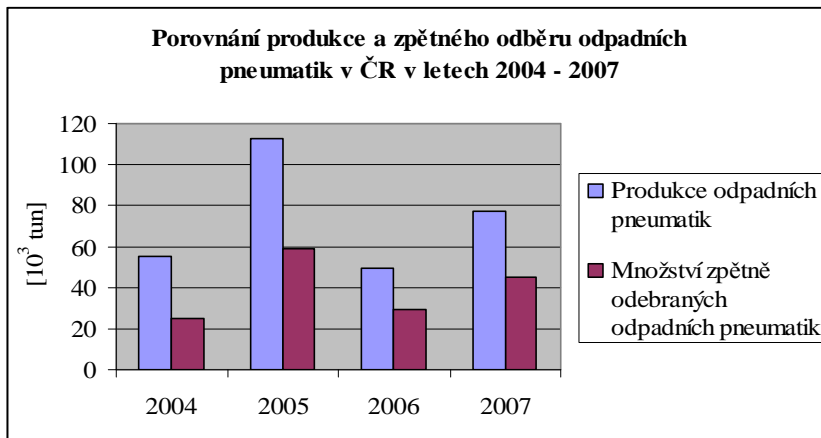
Problematicku související se zpětným odběrem použitých pneumatik upravuje v České republice právní rámec. Právní rámec zpětného odběru použitých pneumatik v České republice tvoří následující právní předpisy. Jedná se o zákon č. 185/2001 Sb., o odpadech, ve znění pozdějších předpisů, který zavedl novou povinnost – povinnost zpětného odběru výrobků s ukončenou životností, tedy tato povinnost se vztahuje i na použité pneumatiky, konkrétně se jedná o §38 daného zákona. Odpovědnost za nakládání s použitými pneumatikami v podmínkách ČR náleží jejich výrobcům. Tato povinnost platí od 23. února 2002. Povinnost zpětného odběru upravuje Vyhláška Ministerstva životního prostředí č. 237/2002 Sb., o podrobnostech způsobu provedení zpětného odběru některých výrobků, která byla novelizována Vyhláškou 505/2004 Sb., ve znění pozdějších předpisů. „Tato novelizace spočívá v tom, že zpětně odebraný výrobek se stává odpadem až ve chvíli předání osobě oprávněné k jeho využití nebo odstranění. Povinnost zajistit zpětný odběr vyřazených pneumatik má povinná osoba, tj. právnická osoba nebo fyzická osoba oprávněná k podnikání, která pneumatiky vyrábí nebo dováží. Tato osoba musí zajistit, aby byl spotřebitel informován o způsobu zpětného odběru. Prodejce je povinen

při prodeji pneumatik informovat spotřebitele o způsobu zpětného odběru vyřazených pneumatik. V případě, že tak prodejce neučiní, je povinen vyřazené pneumatiky odebrat přímo v provozovně, a to bez nároku na úplatu a bez vázání odebraných vyřazených pneumatik na nákup zboží. Místa zpětného odběru musí být pro spotřebitele stejně dostupná jako místa prodeje nových pneumatik. Zpětný odběr vyřazených pneumatik musí být proveden bez nároku na úplatu za tento odběr od spotřebitele. Povinná osoba musí zajistit využití nebo odstranění zpětně odebraných vyřazených pneumatik v souladu se zákonem o odpadech a jeho prováděcími předpisy. Kontrolu, zda prodejci naplňují své povinnosti, je pověřena Česká inspekce životního prostředí (dále jen ČIŽP), kam se může nespokojený občan obrátit s podnětem ke kontrole.

Dále zákon o odpadech stanovuje povinným osobám povinnost odevzdat do 31. března Ministerstvu životního prostředí roční zprávu o plnění zpětného odběru za minulý rok.“[6] K legislativě související se zpětným odběrem použitých pneumatik patří také, vyhláška č. 381/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady, ve znění pozdějších předpisů a dále také vyhláška č. 294/2005 Sb., o podmínkách ukládání odpadů na skládky a jejich využití na povrchu terénu – příloha č. 5 Seznam odpadů, které je zakázáno ukládat na skládky všech skupin nebo využívat na povrchu terénu a odpady, které lze na skládky ukládat jen za určitých podmínek. „Okamžikem, kdy se použitá pneumatika stane odpadem, na rozdíl od ostatních výrobků, na které se vztahuje povinnost zpětného odběru, není zařazena mezi vybrané ani nebezpečné odpady. Stane se odpadem kategorie ostatní a je uvedena pod katalogovým číslem 16 01 03.“[1]

V následujícím Grafu 6 je zobrazena situace porovnání produkce a množství zpětně odebraných odpadních pneumatik v České republice.

Graf 6 – Porovnání produkce a zpětného odběru odpadních pneumatik v ČR v letech 2004 - 2007 [1]



Z grafu lze vyčíst, že úspěšnost zpětného odběru odpadních pneumatik v České republice rok od roku stoupá. V roce 2004 činila úspěšnost zpětného odběru odpadních pneumatik 45,1% a v roce 2007 již měla hodnotu 58,1%. Tedy nárůst za sledované období činí 13%. V roce 2006 došlo k mírnému

poklesu (1,7 %) v úspěšnosti zpětně odebraných odpadních pneumatik, daný pokles si lze odvodit z problémů, které doprovází zpětný odběr pneumatik, a na některé z nich bylo v rámci konference Zpětný odběr 2009, kterou pořádala v květnu společnost Asekol, s.r.o., upozorněno. „V diskusi na dané konferenci, se na přednášející snesla kritika kvůli nedostatečně průkazným číslům ze statistik a nedůslednosti kontrolních orgánů při jejich získávání a celkově při posuzování zákonů. Dále bylo ze strany účastníků upozorněno na problém, že lze plnit povinnost zpětného odběru v České republice pouze formálně. V praxi lze uzavřít smlouvy, opotřeбенé pneumatiky od zákazníků odmítnat a pouze jednou ročně sepsat hlášení, že nikdo o zpětný odběr nepožádal.“[1]

„Zpětný odběr pneumatik v České republice nezajišťují kolektivní systémy. Barum Continental je výrobce s dominantním postavením na trhu s pneumatikami. Ročně vyrobí v závodě v Otrokovicích přes 20 milionů kusů osobních i nákladních pneumatik (22 tisíc tun) a zároveň zajišťuje pro ně zpětný odběr. Používá k tomu svou maloobchodní síť a provozovny svých partnerů.“[1] Všechna prodejné servisní místa Barum Continental jsou označena nálepkou "Místo zpětného odběru upotřeбенých pneumatik" (viz Obr. 3). Tato nabídka platí především pro konečného spotřebitele, který chce odevzdat vlastní pneumatiky.“ [2]

Obr. 3 – Označení místa zpětného odběru upotřeбенých pneumatik [2]



„Tímto způsobem získávají ročně zpět přes 20 tisíc tun, tedy úspěšnost jejich zpětného odběru činí kolem 90 %. Roční náklady na zpětný odběr použitých pneumatik stojí firmu Barum Continental okolo 75 milionu korun.“[1]

ZÁVĚR

Produkce použitých pneumatik je stále dosti značná jak v zemích EU tak i v samotné České republice. I když se může zdát, že v důsledku vlivu posledních světových událostí, vliv světové hospodářské krize, se výroba pneumatik mírně pozastavila, bude se problematika využití odpadních pneumatik stejně tak řešit, jako před nástupem zmiňované krize. Již delší dobu jsou vedeny pře o možnostech zpracování použitých pneumatik. Některé zdroje upřednostňují materiálové využití, ale většina zpětně odebraných použitých pneumatik je energeticky využita, především v cementářských rotačních pecích. Aby

se využití pneumatiky mohly využít, musí být nejprve co v největší návratnosti zpětně odebrány. Tento princip má u nás značné nedostatky, dost často se můžeme setkat s použitými pneumatikami volně vhozenými v příkopcích u silnic nebo při procházce lesem. Tomu to problému by měl zabránit správně zřízený a fungující kolektivní systém na zpětný odběr použitých pneumatik.

LITERATURA A ZDROJE

- [1] Zpětný odběr pneumatik. *Odpadové fórum*. 2009, č. 10, s. 26-30..
- [2] *Barum : Pneuservis-autoservis* [online]. 2009 , 2009 [cit. 2009-10-12]. Dostupný z WWW: <<http://www.contitrade.cz/nabidka/sluzby/zpetny-odber-upotrebenych-pneu.html>>.
- [3] *End of life tyres : A valuable resource with growing potential*. Brussels : ETRMA, 2008. 15 s. Dostupný z WWW: <<http://etrma.org/public/activitieseofletts.asp>>.
- [4] *Michelin : Nejlepší cesta do předu* [online]. 2004 , 2004 [cit. 2009-10-06]. Dostupný z WWW: <http://www.michelin.cz/cz/auto/auto_cons_bib_qu_est_pne.jsp>.
- [5] Pneumatiky. *Odpadové fórum*. 2004, č. 01, s. 10-19..
- [6] *Stanovení procenta recyklace pneumatik ve vazbě na technické a ekonomické možnosti získaných produktů : Projekt VaV/720/4/03*. Praha : ECO trend s.r.o., 2004. 170 s.
- [7] *Všeobecná encyklopedie : V osmi svazcích*. Praha : Diderot, 1999. 158. ISBN 80-902555-8-2.

THE APPLICATION OF PROFILE CHARACTERISTICS OF SOIL PHYSICS PARAMETERS IN ARCHEOLOGICAL RESEARCH ON THE EXAMPLE OF MIKULČICE LOCALITY

Hladký J., Pokorný E.

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

E-mail: hladkyjan@atlas.cz

ABSTRACT

The objective of mentioned work is – above all – to take pedology samples from uncovered archaeological excavation. Subsequently, to submit acquired samples of soil to physical analysis in the laboratory and to evaluate them for purpose of the using of the pedology and other natural sciences in the archaeological research. Common methods, used in agricultural research, were used for laboratory analysis. Physical analysis of intact sample, graining analysis by means of pipette methods and identification of mass density whit the help of Gay-Lussac density bottle. By means of these seemingly simple methods, cultural layer from the period of Great Moravia was identified, most probably the remainders of building and possible dunghill.

Key words: Great Moravia, Mikulčice, cultural layer, mass density, bulk density, granularity, Great Moravia dunghill, Great Moravia building, stables isotopes, edaphic probe, non-destructive archeology

Acknowledgments: This study was supported by research plan No. MSM6215648905 „Biological and technological aspects of sustainability of controlled ecosystems and their adaptability to climate change“ of the Ministry of Education, Youth and Sports.

ÚVOD

Mikulčice – Valy jsou jednou z nevýznamnějších archeologických památek na našem území. Archeologické naleziště Na Valech je na okraji katastru obce Mikulčice přibližně 500 m od dnešního koryta řeky Moravy. I přesto, že řeka Morava je dnes již velmi silně regulovaná, dochází zde každoročně k jarním záplavám. Katastr obce Mikulčice náleží do Dyjsko - moravského bioregionu. Geomorfologie je nivní s meandry řek. Časté jsou výskyty tzv. hrúd. Podkladem bioregionu jsou převážně písky a štěrkopísky, povrch však tvoří 2 m – 5 m mocné nivní hlíny. Z půd se v bioregionu nejčastěji vyskytují: glejové fluvizemě na bezkarbonátových sedimentech, ve vyšších částech typické fluvizemě, v nivě Moravy glejové černice, v mrtvých ramenech gleje a hnilokaly, na hrúdách převažují málo arenické kambizemě nebo rankery.

Tento příspěvek je výstupem diplomové práce, kterou autor obhájil v roce 2009 a která svým tématem navazovala na práci bakalářskou. Hned v úvodu je nutné podotknout, že při používání pedologických metod nelze provádět pouze fyzikální či pouze chemické rozbor. Proto bude zejména v diskuzi často citována diplomová práce E. Ďurišové, která se věnovala chemickým analýzám. V České republice se zatím pedologickým rozborům zemin pro účely archeologie věnovala velmi malá pozornost. Tomu odpovídá i velmi málo literárních zdrojů. Zájemce lze odkázat na dílo M. Kuny (2004), kde je uvedenou i několik málo příkladů praktického využití. Zahraničních zdrojů se také mnoho nedostává.

Pedologické rozbor. mohou být archeologům velice nápomocné. S jejich pomocí je možné potvrdit výskyt podlahové úpravy, provádět průzkum hrobů, určit účel kanálů a identifikovat odpadní jámy či hnojiště. Nejčastěji se v archeologii sledují následující ukazatelé: množství fosforu, pH a obsah vápni. množství organické hmoty. Je možné sledovat i obsah dalších prvků. Případně provádět testy biologické aktivity mikroorganismů. Z fyzikálních parametrů to jsou především objemová hmotnost redukovaná a zrnitost (Kuna, 2004).

MATERIÁL A METODIKA

Materiál pro rozbor byl odebrán 17. 6. 2008 z archeologického odkryvu označeného B 2006 – 08 (č. 82). Místo odběru bylo určeno po konzultaci s vedoucím výzkumu Mgr. Markem Hladíkem. V daném výkopu byla vybrána celkem tři místa. Na jednotlivých místech (sondách) byly vzorky odebírány vždy ze tří hloubek. Jednalo se o archeologický odkryv na lokalitě, která je označována jako SZ podhradí. V současné době je tato plocha zatravněná. Rozloha areálu je přibližně 1,1 ha. Reliéf je plochý až mírně zvlněný a nadmořská výška je 159 – 160 m n. m. Samotný výkop byl orientovaný na SV – JV. Rozměry výkopu byly 32 m * 2 m a průměrná hloubka 1 m.

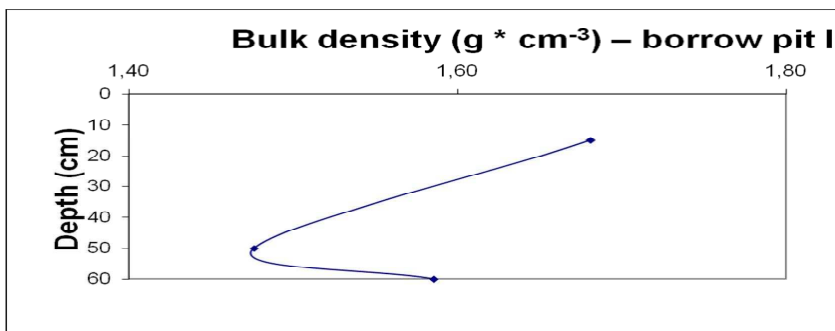
Nejdříve tedy byla vybrána místa odběru. Poté byla provedena fotodokumentace a následoval samotný odběr vzorků. Pro účely fyzikálních rozborů byl odebírán neporušený půdní vzorek do Kopeckého válečku. Následně byla laboratorně stanovena měrná hmotnost a proveden zrnitostní rozbor. Měrná hmotnost byla stanovena pomocí Gay-Lussacova pyknometru. K zrnitostnímu rozboru byla užitá pipetovací metoda. Zrnitostní klasifikace byla provedena podle Nováka i podle tzv. trojúhelníkového diagramu (NRSCS USDA). Dále byl proveden rozbor neporušeného půdního vzorku.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Jako hlavní antropogenní ukazatel byla zvolena objemová hmotnost redukováná. Ta by měla směrem do hloubky horizontu stoupat. Není-li tomu tak, lze usuzovat na nadměrné zhutnění spodních horizontů, které může být způsobeno antropogenní činností.

Sonda I

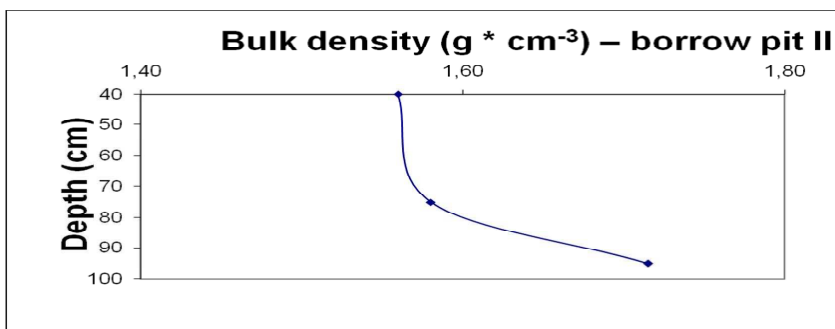
Graf 1 Objemová hmotnost redukováná ($\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$) – sonda I



Jak je patrné z grafu 1, objemová hmotnost do hloubky klesá. Mělo by tomu ovšem být přesně naopak. To může být způsobeno jednak efektem drnového pokryvu, který je více nakypřen a jednak velkým rozestupem mezi hloubkami odběru. Pravděpodobně se zde uplatňují oba faktory. Nicméně je zcela zřejmé, že v hloubce kolem 50 cm dochází ke změně. Samotný průběh objemové hmotnosti by v tomto případě neměl žádnou vypovídající hodnotu. Jak ovšem uvádí Ďurišová (2009), přibližně v této hloubce dochází i k nárůstu množství fosforu a poklesu humusu, jehož množství poté opět narůstá. Na základě zvyšujícího se zastoupení fosforu lze vyvodit, že se jedná o antropogenně ovlivněnou plochu a výkyv v obsahu humusu ukazuje, že se zde nevyskytovala vegetace. Mohlo se tedy jednat o budovu. Tento výsledek potvrzuje předpoklad archeologů.

Sonda II

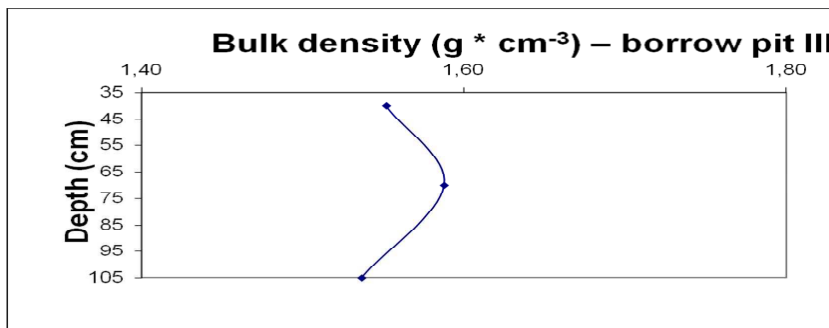
Graf 2 Objemová hmotnost redukováná ($\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$) – sonda II



V případě této sondy se neprojevily žádné anomálie a ani archeologové nepředpokládali nějaký nález.

Sonda III

Graf 3 Objemová hmotnost reduková (g * cm⁻³) – sonda III



Na grafu 3 je opětovně patrný atypický průběh objemové hmotnosti, který je zřejmě také způsoben kombinací vlivu drnového horizontu a příliš velkého rozestupu mezi odběry neporušeného vzorku. Ovšem Ďurišová (2009) uvádí ve své diplomové práci, že v hloubce kolem 75 cm – 80 cm dochází k razantnímu nárůstu množství fosforu. Dále uvádí, že takový nárůst má pravděpodobně původ ze živočišných produktů nebo fekálií. Je tedy možné, že se nám podařilo identifikovat odpadní jámu či jímku na fekálie.

ZÁVĚR

Archeologové stanovili hypotézu, že v případě sondy I se v hloubce okolo 50 cm vyskytuje podlahová úprava domu. Tento fakt potvrzují nejen výsledky fyzikálních rozborů, ale i výše zmíněné výsledky chemických rozborů. Zejména nárůst fosforu a pokles humusu. Tento předpoklad se podařilo potvrdit. Další cenná informace je zjištění, že kulturní vrstva stará přibližně 1100 let se nachází v hloubce 50 cm – 60 cm. Můžeme tedy konstatovat, že za 1100 let došlo k usazení přibližně 60 cm vrstvy říčních náplav. V případě sondy II se nepodařilo identifikovat žádné antropogenní ovlivnění. Pro sondu III nebyl archeology vysloven žádný předpoklad. Ovšem na základě výsledků objemové hmotnosti a zejména analýzy fosforu, lze vyslovit domněnku, že se zde mohlo nacházet např.: hnojiště, odpadní jáma či jímka na fekálie. Tato záležitost bude ze strany archeologů podrobena dalšímu bádání. Zejména z průběhu výsledků sondy I je patrné, že příště bude nutné odebírat vzorky po menších vzdálenostech (5 cm – 10 cm). To by mělo zaručit přesnější určení místa anomálie.

LITERATURA

ĎURIŠOVÁ, E. *Pedologická charakteristika objektů archeologického výzkumu v Mikulčicích – chemické parametry*. Bakalářská práce MZLU v Brně, 2007, 61 S.

ĎURIŠOVÁ, E. *Využití profilových charakteristik chemických vlastností půdy v archeologickém výzkumu na příkladu lokality Mikulčice*. Diplomová práce MZLU v Brně, 2009, 70 S.

HAVLÍČEK, P. Geologie soutokové oblasti Dyje s Moravou. IN: Lužní les v Dyjsko-moravské nivě, str. 2 – 17. BŘECLAV: MORAVIAPRESS, 2004, 591 S. ISBN: 80-86181-68-5.

HLADKÝ, J. *Pedologická charakteristika objektů archeologického výzkumu v Mikulčicích – fyzikální parametry*. Bakalářská práce MZLU v Brně, 2007, 61 s.

HLADKÝ, J. *Využití profilových charakteristik fyzikálních vlastností půdy v archeologickém výzkumu na lokalitě Mikulčice*. Diplomová práce MZLU v Brně, 2009, 60 S.

JANDÁK, J. *Cvičení z půdoznalství*. BRNO: MZLU, 2003, 92 S. ISBN: 80-7157-733-2.

NEUSTUPNÝ, E. *Metoda archeologie*. PLZEŇ: VYDAVATELSTVÍ A NAKLADATELSTVÍ ALEŠ ČENĚK, 2007, 206 S. ISBN: 978-80-7380-075-8.

OPRAVIL, E. *Údolní niva v době hradištní: (ČSSR - povodí Moravy a Poodří)*. PRAHA: ACADEMIA, 1983, 77 S.

PRAX, A. *Půdoznalství*. BRNO: MZLU, 1995, 153 S. ISBN: 80-7157-145-8.

TOMÁŠEK, M. *Půdy České republiky*. PRAHA: ČESKÁ GEOLOGICKÁ SLUŽBA, 2007, 67 S. ISBN: 978-80-7075-688-1.

KUNA, M. *Nedestruktivní archeologie*. Praha: Academia, 2004, 555 s. ISBN: 80-200-1216-8

THE STUDY ALTERNATIVE OPTIONS TO THE PROSPECTIVE ACCUMULATION OF SURFACE WATER LOKATIONS SKRYJE

Knížková T., Hubáčíková V.

Department of Applied and Landscape Ecology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xknizko@node.mendelu.cz

ABSTRACT

Our objective was to design a replacement variant of surface water accumulation of the prospective Skryje location and compare it with the original proposed variant derived in the 70ies in the document Technical-economic evaluation of water reservoirs in the 70ies, processed by Water Development and Construction, Engineering Company in Prague. The fundamental objective is to propose a new option to place the tank to prevent flooding of villages so people living in Skryje do not have to be evicted. The tank has to fill its purpose simultaneously.

There were used literary and internet resources dealing with the issues, map data, photographs and information provided by Povodí Moravia in the experiment. Own field research was carried out and the relevant photographic documentation. The alternative options of the prospective surface water accumulation of the Skryje locality was created. It included the necessary calculations and drawings processed in the map form by ArcGIS program which enabled the detection of some required parameters. At the end the two options were compared and conclude.

The proposed option is shifted up against the flow of water, above the residential part, and its volume is significantly smaller, nevertheless it would meet the basic purpose, namely emendation of the Svratka flow and flood protection of the Bobřůvka (Loučka) valley and of the river Svratka. 51 objects would disappear below the surface of the original variant. A new variant will flood only 20 of them, which are only temporarily occupied cottages and a recreation center. This prospective locality is ideal for the dam location. There are suitable conditions in terms of morphological (knockouts deep, narrow valley) and demographic (sparsely populated area, the preponderance of chat objects). Due to overlook change climate, that occurs, the possibility of dam reservoirs in this area was not completely rejected.

Key words: village Skryje, Bobřůvka River, major river basin plan, the prospective site for the accumulation of surface water, replacement alternative.

Acknowledgments: . Authors would like to thank Mr. Ing. Martin Borák for providing the necessary information.

ÚVOD

„Počátkem všech věcí je voda, z vody je vše a do vody se vše vrátí...“ Broža (2005)

V posledních letech se do popředí dostává stále závažnější otázka změny klimatu. Názory na toto téma se různí, ale nikdo z nás nemůže popřít, že se něco děje. S tímto problémem úzce souvisí neustálý úbytek pitné vody a její hrozící nedostatek na celém světě, Českou republiku nevyjímaje. Naše republika patří do oblastí s mírně podprůměrnou zásobou vody, avšak předpokládá se, že do budoucna i ji zasáhne nedostatek vody a proto je potřeba tento problém nepřehlížet, ale řešit.

Vodní hospodářství České Republiky se v současné době stále řídí starými vodohospodářskými plány, které byly vytvořeny v 70. letech minulého století. Jde o tzv. Směrný vodohospodářský plán (SVP), naposledy aktualizovaný v roce 1988 v publikaci č. 34 „Vodní nádrže“ (a z důvodů nepřijetí Plánu hlavních povodí v roce 2006 zůstává v platnosti až do roku 2009). Podle těchto plánů se v koncepci Plánu hlavních povodí má na území České republiky vybudovat více než dvě stovky přehrad (návrhy byly vypracovány prakticky pro každou větší říčku, jedná se o seznam 201 vodních nádrží, definující jejich přesné umístění, výšku hladiny, plochu zatopeného území a další technické parametry). Na základě těchto dokumentů mají oficiálně stavební a územně-plánovací úřady všechny tyto lokality dodnes územně hájit (skutečnost je ale jiná). V roce 2006 byl tento seznam přehrad z Plánů hlavních povodí odstraněn, ovšem nenápadně zmínky tam stále najdeme.

Plán hlavních povodí České republiky (zpracovaný dle zákona č. 254/2001 Sb. o vodách, vydaný 23. 5. 2007) představuje dlouhodobou koncepci v oblasti vod se zaměřením pro šestileté období 2007 – 2012. Jeho pořizovatelem je Ministerstvo zemědělství ve spolupráci s Ministerstvem životního prostředí, dotčenými ústředními správními úřady a krajskými úřady. Je součástí procesu plánování v oblasti vod, jako soustavné koncepční činnosti garantované státem, který byl zaveden do českého právního řádu podle směrnic Evropského parlamentu a Rady 2000/60/ES ze dne 23. října 2000, kterou se stanoví rámec pro činnost Společenství v oblasti vodní politiky. Plánu hlavních povodí České republiky stanovuje rámcové cíle, hlavní principy a zásady státní politiky v oblasti vod pro území České republiky, případně pro jednotlivá hlavní povodí pro dlouhodobé zajištění veřejných zájmů. Má být obnovován každých 6 let.

Na území obce Skryje má vzniknout podle tohoto plánu přehrada o objemu 20,30 mil. m³, která by zatopila celou obec a bez střechy nad hlavou by tak zůstalo 66 stálých obyvatel, které obec momentálně čítá. Původní účel přehrady měl být zásobárna pitné vody pro Brno.

MATERIÁL A METODIKA

V experimentu bylo použito literárních a internetových zdrojů zabývajících se danou problematikou, mapových podkladů, fotografií a informací poskytnutých Povodím Moravy. V průběhu roku byla provedena obchůzka lokality a pořizena příslušná fotodokumentace. Pomocí získaných materiálů bylo provedeno zhodnocení současného stavu zájmové lokality a jejího blízkého okolí. Na základě tohoto pak byl vytvořený návrh náhradní varianty akumulace povrchových vod výhledové lokality Skryje, včetně potřebných výpočtů a nákresů. Vlastní návrh byl zpracovaný do mapové podoby pomocí počítačového programu ArcGIS, který umožní také zjištění některých potřebných parametrů.

Na konci byla tato navržená varianta vodní nádrže porovnána s variantou původní, která pochází ze 70. let minulého století a jejíž parametry jsou uvedeny v dokumentu Technicko-ekonomické vyhodnocení vodních nádrží, a byly vyvozeny důsledky a závěr.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Bylo provedeno porovnání původní varianty akumulace povrchových vod v podobě přehradní nádrže na území obce Skryje a navrhované náhradní varianty. Hráz náhradní varianty se nachází výše proti proudu řeky, 1 km nad obcí. Vzhledem k jejímu posunutí do jiných míst, tak, jak to umožnila členitost terénu (do nejužšího možného místa), a aby nedošlo k zatopení obce, se veškeré její rozměry změnily. Původně by bylo zničeno 51 převážně trvale obydlených stavení. Náhradní varianta nabízí redukci pouze na 20 chatových objektů a jedno menší rekreační středisko, z nichž není ani jedna budova trvale obydlena. Vodní hladina by zaplavila celkem 51,50 ha půdy, místo původních 123,50 ha. Vzhledem k tomu, že je skalní podklad je tvořený silně magmatizovanou dvojslídlnou ortorulou až migmatitem, byla navržena přímá, betonová, gravitační hráze oproti původní přímé, heterogenní, zemní hrázi s jílovitým těsněním. Důvodem je také morfologie zdejší krajiny a nedostatek místních materiálů. Byla situována do nejužšího možného úseku tak, aby měla co nejmenší rozměry a tím byla finančně dostupnější a nepoškodila by tolik okolní přírodu. Šířka koruny hráze byla zachována 5 m z důvodu umožnění přejezdu automobily. Sklony hráze se určují podle použitého materiálu z normovaných tabulek. Tyto sklony, kubatura ani doprovodné objekty hráze nebyly v této práci určeny, jedná se pouze o jednoduchou studii náhradní varianty, ne o detailní projekt.

Kóta hladiny zásobního prostoru je ponechána 265,70 m n. m. a na základě této hodnoty byly určeny ostatní parametry. Byl stanovený menší celkový objem, který činí 8,75 mil. m³, to proto, že původní účel nádrže při vzniku Plánu hlavních povodí, v roce 1969, byl zásobárna pitné vody pro Brno. Avšak v roce 2006 došlo ke změně na nalepšení průtoku řeky Svratky, a proto není tak značný objem a značná celková velikost nádrže zapotřebí. Rozdíl v objemu činí 20,55 mil. m³. Plocha zátopy byla navržena o 72 ha menší a její tvar je pouze úzký, korytový, kopírující rozložení údolí. Rozdílné parametry obou nádrží jsou zobrazeny ve srovnávací tabulce umístěné za textem.

Obec se jednoznačně vyjádřila proti výstavbě přehradu a nepočítala s ní ani při tvorbě a schválení svého územního plánu. Přestože byla v 70. letech ve všech těchto hájených lokalitách vyhlášena stavební uzávěra, docházelo zde ke stavbě nových objektů, z nichž je mnoho (hlavně chatových) bez stavebního povolení. Obec Skryje i okolní obce vyjádřily své nesouhlasy s návrhem přehradu a žádný z územních plánů ji nezahrnuje. Navíc v době vzniku Plánů hlavních povodí byla tato oblast mnohem méně obydlená a zastavěná, a kdyby se začalo realizaci nádrže tehdy, nebyly by následky tak značné jako dnes.

I když by díky náhradní variantě nebyla vesnice zatopená a lidé by nebyli připraveni o střechu nad hlavou, je potřeba zvážit psychické riziko, které sebou přináší situace bydlení v bezprostřední blízkosti přehradní hráze. Otázkou zůstává, zda by se lidé ze strachu z protržení hráze nezačali hromadně stěhovat pryč až by došlo k úplnému vylištění a tato náhradní varianta by byla zbytečná. Naopak je nutné zdůraznit, že už dnes tvoří většinu obyvatelstva lidé v důchodovém věku a celkově dochází v celé oblasti ke stárnutí populace. Nikdo nový se do obce Skryje nestěhuje, spíše naopak. Proto je jedna z možných vizí jejího budoucího vývoje ta, že dojde k transformaci na chatovou

oblast či dokonce k úplnému zániku vzhledem k nedostatečné vybavenosti a infrastruktuře, a to i bez možné hrozby stavby přehradní nádrže, která nicméně nad celou oblastí stále visí a všichni lidé o ní vědí. Navíc je realizace nádrže plán uskutečnitelný až během příštích 30 – 50 let, což už současní občané nezažijí. Je možné, že budoucí generace budou na tuto možnost pohlížet zcela odlišným způsobem.

Mapové podklady byly poskytnuty Českým zeměměřičským a katastrálním úřadem a následně zpracovány v počítačovém programu ArcGis. Souřadnicový systém byl zvolený S-JTSK Krovak EastNorth. Základní informace o Plánech hlavních povodí České Republiky a především údaje o původní navrhované variantě poskytnul pracovník Povodí Moravy a. s.

Přestože do roku 2012 mají být spory o výhledových lokalitách na území celé České republiky vyřešeny, v současné době je nedostatek lidí, kteří by nové stavy Plánu hlavních povodí revidovali. Je potřeba provést nová vyhodnocení vytipovaných území, protože původní záměry jsou více než 30 let staré a během těchto zde došlo k celé řadě přírodních, antropogenních i demografických změn. Díky těmto změnám je pravděpodobné, že celá řada původně určených lokalit je nyní již zcela nevhodná. Z těchto důvodů je nezbytné celý dokument Plán hlavních povodí České Republiky aktualizovat.

Tab. 5 Srovnání parametrů přehrady (Zdroj: Technicko-ekonomické vyhodnocení vodních nádrží 1969 + autor)

Název parametru	Původní varianta	Náhradní varianta
Celkový objem	29,30 mil. m ³	8,75 mil. m ³
Plocha zatopení při hladině zásobního prostoru	123,50 ha	51,5 ha
Kóta dna nádrže	320,60 m n. m.	348,70 m n. m.
Kóta hladiny zásobního prostoru	365,70 m n. m.	365,70 m n. m.
Výška max. hladiny zásobního prostoru	45,1 m	17 m
Délka zátopy	5, 80 km	3,86 km
Typ hráze	přímá, heterogenní zemní s jílovým těsněním	přímá, betonová, gravitační
Kóta koruny hráze	373 m n. m.	370 m n. m.
Maximální výška hráze	53 m	21,3 m
Délka v koruně	236 m	153 m
Šířka v koruně	5 m	5 m

ZÁVĚR

Bylo potvrzeno, že výhledová lokalita akumulace povrchových vod Skryje je pro umístění přehradní nádrže ideálním místem. Jsou zde vhodné podmínky z hlediska morfologického (dané hluboce zaříznutým, úzkým údolím) i demografického (řídce obydlená oblast, stárnutí obyvatelstva, převaha chatových objektů). Nenachází se zde žádný průmyslový areál, zemědělské družstvo, skládka odpadů či jiný problémový útvar. Oblastí prochází několik prvků systému ÚSES, avšak není zde žádný významný chráněný přírodní nebo historický celek. Řeku lemují pouze nezapomenutelná turistická stezka, která je pro auta neprůjezdná (v zimních měsících není často průchozí vůbec), proto ani tento prvek není problém. Území je tvořeno loukami, trvalými travními porosty a hlubokými smíšenými lesy. Krajina je otevřená na jih.

Jedná se sice o malou obec, kterou v současné době obývá pouze 66 obyvatel, ale díky nepatrným antropogenním vlivům je velmi atraktivní z estetického i ekologického hlediska. Má však špatnou občanskou vybavenost a infrastrukturu (chybí obchod, restaurace, pošta apod.). Bylo by škoda tuto unikátní krajinu zničit a znemožnit tak budoucím generacím vidět to, co jsme mohli my. Proto byla navržena náhradní varianta přehradní nádrže, která by zabránila zatopení této možná ne tolik významné, ovšem neopomenutelné obce. Tato varianta je posunuta výše proti toku, až nad obytnou zástavbu a její objem je výrazně menší, ovšem i přesto by splňoval základní účel, tedy nalepšení Svatky a ochrana údolí Bobrůvky (Loučky) a Svatky před povodněmi. Původní záměr přehradní nádrže byl zásobárna pitné vody pro Brno a vody pro závlahy pod Brnem. Tento záměr však pochází z roku 1969, kdy ještě nebyly vybudovány přehradní nádrže Vír I. a Vír II., které nyní slouží jako zdroj pitné vody. Jakmile došlo k jejich realizaci a uvedení do provozu, jsou zcela postačující a není proto potřeba budovat další nádrž tak velkých parametrů. Pod hladinou původní varianty by zmizelo 51 objektů, nová varianta jich zatopí pouze 20, přičemž se jedná jen o chaty a rekreační středisko bez trvaného obývání.

Vzhledem k neopomenutelné změně klimatu, ke které zcela jistě dochází, nebyla možnost realizace přehradní nádrže v této oblasti zcela zamítnutá. Česká republika spadá do oblasti s mírným podprůměrem zásoby vody a stále více zde dochází také k úbytku podpovrchových zdrojů, které jsou hlavně v letních měsících málo zásobené. Proto bylo doporučeno, aby zde nádrž v budoucnu vznikla.

LITERATURA

BLAŽEK, V., et al. Voda v České Republice. Němec Jan. 1. vyd. Praha: Consult Praha, 2006. 253 s. ISBN 80-903482-1-1.

BROŽA, V., SATRAPA, L. Navrhování přehrad: Komplexní projekt. 1. vyd. Praha 6 : ČVUT, 1996. 127 s.

BROŽA, V., et al. Přehrady. 1. vyd. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1987. 548 s.

BROŽA, V., et al. Přehrady Čech, Moravy a Slezska. 1. vyd. Liberec: Knihy 555, 2005. 256 s. ISBN 80-86660-11-7.

BROŽA, V., et al. Vodohospodářské stavby. 1. vyd. Praha 6 : ČVUT, 1997. 162 s.

CULEK, M. Biogeografické členění České Republiky. 1. vyd. Praha: Enigma, 1995. 347 s. ISBN 80-85368-80-3.

ČAMROVÁ, L., JÍLKOVÁ, J. a kolektiv. Povodňové škody a nástroje k jejich snížení 2006, 417 s. ISBN 80-86684-35-0.

KREJČÍ, L. Co je Rámcová směrnice vodní politiky. In Řeky pro život-plánování v oblasti vod. 1. vyd. Brno: Unie pro řeku Moravu, 2007. Plánování v oblasti vod a zapojení veřejností. 1s.

VALÍČEK, Ondřej. Vyhodnocení využití území pro akumulaci povrchových vod výhledové lokality Skryje. [s.l.], 2008. 58 s. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. Vedoucí diplomové práce Ing. Věra Hubačková

SMĚRNICE MINISTERSTVA LESNÍHO A VODNÍHO HOSPODÁŘSTVÍ ČSR č. 9/1973 Ú.v., pro výpočet potřeby pitné vody při navrhování vodovodů a kanalizačních zařízení a posuzování vydatnosti vodních zdrojů

STARÝ, M. Nádrže a vodohospodářské soustavy. 2. přeprac. vyd. Brno: Rektorát Vysokého učení technického v Brně, 1990. 165 s. ISBN 80-214-0191-5.

TLAPÁK, V., HERYNEK, J. Malé vodní nádrže. 1. vyd. Brno: MZLU, 2002. 200 s. ISBN 80-7157-635-2.

TLAPÁK, V., ŠÁLEK, J., LEGÁT, V. Voda v zemědělské krajině. 1992. vyd. Praha: Zemědělské nakladatelství Brázda, 1992. 320 s. ISBN 80-209-0232-5

VODOHOSPODÁŘSKÝ ROZVOJ A VÝSTAVBA. Technicko-ekonomické vyhodnocení vodních nádrží. Brno, 1969. 38 s.

INTERNETOVÉ ODKAZY:

ČESKÝ STATISTICKÝ ÚŘAD. Vybrané statistické údaje za obec [online]. Český statistický úřad, c2009 [cit. 2009-02-12]. Dostupný z WWW: <http://www.vdb.czso.cz/vdbvo/tabdetail.jsp?cislotab=MOS+ZV01&kapitola_id=5&kontext=t&razeni=ta&pro_3980560=549894>

Geoportál ČUZK [online]. ČUZK, c2009 [cit. 2009-03-20]. Dostupný z WWW: <<http://geoportal.cuzk.cz/>>

Charakteristiky toků a povodí ČR [online]. Výzkumný ústav vodohospodářský T.G.Masaryka, 2007 [cit. 2009-02-14]. Dostupný z WWW: <<http://www.vuv.cz/oddeleni-gis/index.php?id=24&PHPSESSID=cca77c6e7b3189739dcbd3e9a80827e9>>

JEŘÁBKOVÁ, J. Obec Skryje [online]. Obec Skryje, 2007 [cit. 2009-02-06]. Dostupný z WWW: <<http://www.obceskryje.cz/>>

Libochůvka [online]. Wikipedie, 2008 [cit. 2009-02-20]. Dostupný z WWW: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Libochůvka>>

VLACHOVÁ, M. Matematicko-fyzikální web [online]. 2003 [cit. 2009-04-02]. Dostupný z WWW: <<http://mfweb.wz.cz/astronomie/82.htm>>

MZe. Plánování v oblasti vod [online]. 2007 [cit. 2009-02-05]. Dostupný z WWW: <<http://www.mze.cz/index.aspx?ch=79&typ=1&val=42462&ids=1148>>

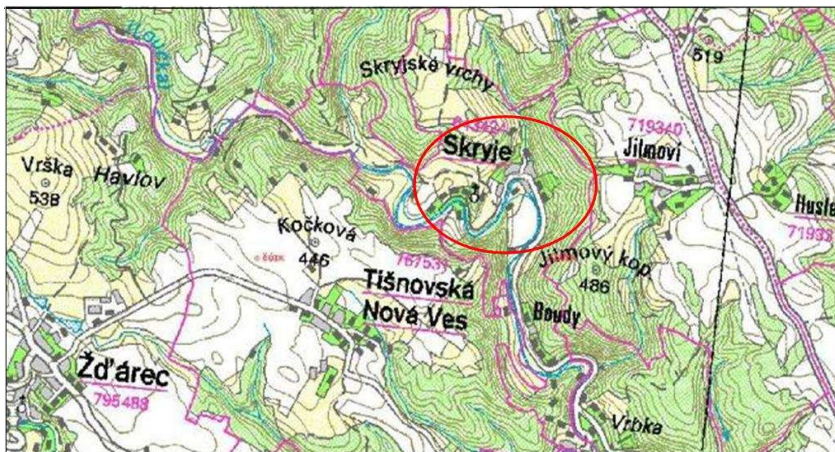
POVODÍ MORAVY. Informace o povodí Moravy [online]. Povodí Moravy, 2001 [cit. 2009-03-15]. Dostupný z WWW: <http://www.pmo.cz/zp/2004/O_povodi.pdf>

Presra de Sadd-el-kafara (Egipto) [online]. c2009 [cit. 2009-04-10]. Dostupný z WWW: <<http://www.flickr.com/photos/maikelnai71/3276200731/>>

Města a obce online [online]. 1996 [cit. 2009-02-10]. Dostupný z WWW: <<http://www.mesta.cz/images/mapky/549894.gif>>

PŘÍLOHY

Příloha č. 1 Katastrální mapa obce Skryje a okolí M 1:22 000 (Zdroj: geoportal.cuzk.cz)



Příloha č. 2 Ortofotomapa Skryjí (Zdroj: geoportal.cuzk.cz)



Příloha č. 3 Fotodokumentace (Zdroj: Autor)

Fotografie č. 1 Pozůstatky protipovodňové zídky kolem řeky Bobrůvky



Fotografie č. 2 Skalnaté svahy údolí řeky Bobrůvky



Fotografie č. 3 Řeka Bobrůvka a souběžně tekoucí náhon na pilu



Fotografie č. 4 Meandrující řeka Bobrůvka



Fotografie č. 5 Souběžně s tokem vede místní komunikace



Fotografie č. 6 Obecní úřad a hasičská zbrojnice



Fotografie č. 7 Řídce osídlené údolí řeky Bobrůvky



Fotografie č. 8 Kaplička Cyrila a Metoděje tyčící se nad obcí Skryje



THE EFFECT OF FERTILIZATION WITH BIODEGRADABLE WASTE COMPOSTS ON FRACTIONAL COMPOSITION OF SOIL HUMUS

Koncewicz-Baran M., Gondek K.

Department of Agricultural and Environmental Chemistry, Faculty of Agriculture and Economics, University of Agriculture in Cracow, Al. Mickiewicza 21, 31-120 Cracow, Poland

E-mail: koncewicz_m@wp.pl

ABSTRACT

The investigations, conducted on the basis of two-year pot experiment, aimed at an assessment of the effect of fertilization with composts prepared of plant and mixed municipal wastes on fractional composition of humus compounds in soil. The point of reference for the analyzed features was the soil fertilized with farmyard manure and mineral salts. The composition of humus compounds was determined using Kononowa and Bielczikowa's method. Compost admixture led to elevated organic carbon content in comparison with the concentrations assessed in soil fertilized with mineral salts. The smallest quantities of carbon were extracted by means of $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ and NaOH mixture after the first year of the experiment from the soil fertilized with mixed municipal waste compost. After two years, the content of this humus fraction diminished most in the soil receiving plant waste compost. Value of $C_{\text{KH}}:C_{\text{KF}}$ ratio was generally lower than one and compost fertilization affected this parameter more favourably than farmyard manure treatment. Values of $E_4:E_6$ of released humic acids evidences their simple structure. The content of non-hydrolyzing carbon in individual treatment soils did not differ significantly.

Key words: compost, fertilization, soil, humus compounds

INTRODUCTION

Organic substance plays a key role in soil shaping its productive potential through a positive influence on physical, chemical and biological properties [Dziadowiec 1993, Mazur 1995]. Soil abundance in organic matter depends on habitat conditions (the soil and climate), and anthropogenic factors (plant cultivation, agrotechnological measures, irrigation, mineral, organic and natural fertilizer application) [Gonet 1997]. The kind and dose of fertilizers affect not only the quantity but also the quality of soil humus [Strączyńska 1993].

A necessity of diminishing organic substance deficit in the soils of Poland caused among others by a deficiency in organic matter abundant fertilizers and necessity of managing the resulting organic wastes, aroused interest in possible including these waste materials in fertilizer balance [Żukowska et al. 2002]. Composting is one of the methods of waste disposal and producing organic materials which may find applications in agriculture. The concept of composting results not only from the necessity of managing wastes containing considerable amounts of organic matter but also from compulsory rationalization of fertilizer component and organic matter economy and from economic reasons [Rosik-Dulewska 2006]. Considerable amounts of materials for composting and numerous possibilities of compost utilization encourage research on their effect on physical, chemical and biological properties of soils.

Presented investigations aimed at an assessment of applied fertilization with compost prepared of plant and other biodegradable wastes and of mixed municipal wastes on fractional composition of humus compounds in soil.

MATERIAL AND METHODS

Pot experiment was conducted in the years 2006-2007. The experimental design comprised 8 treatments in four replications: A- unfertilized soil, B – soil with mineral salts admixture, C – soil with farmyard manure supplement (1.00g N in FYM), D – soil with farmyard manure (0.50 g N + 0.50 g N in NH_4NO_3), E – soil with added compost prepared of plant and other biodegradable wastes (I) (1.00 g N in the compost), F – soil with plant and other biodegradable waste compost (I) (0.50 g N in the compost + 0.50 g N in NH_4NO_3), G – soil with a supplement of mixed municipal waste compost (II) (1.00 g N in the compost), H – soil with an admixture of mixed municipal wastes compost (II) (0.50 g N in the compost +0.50 g N in NH_4NO_3).

The experiment was set up on soil with granulometric composition of sandy silt loam with 26 % of particles with <0.002 mm diameter collected from the arable soil layer (0-20 cm) of arable fields in the vicinity of Krakow. Value of pH measured in 1 mol·dm⁻³KCl solution was 5.69, hydrolytic acidity (Hh) assessed in 1 mol · dm⁻³ CH₃COONa solution was 23.91 mmol (+) · kg⁻¹soil d.m. Organic carbon content, assessed using Tiurin's method was 15.99 g · kg⁻¹soil d.m. and total nitrogen determined using Kjeldahl's method was 1.54 g · kg⁻¹ soil d.m. The soil revealed high abundance in available potassium and phosphorus assessed using Egner-Riehm's method. Heavy metal contents determined using ICP-AES method after sample organic substance incineration (500 °C for 8 hours)

and the remains solution in concentrated nitric (V) and chlorous (VII) acids (2:1) (v/v) ranged within the natural contents values and were as follows ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ soil d.m.): Cu 8.00; Pb 30.2; Zn 104.3, Cr 14.1; Cd 1.14; Ni 11.2.

Compost prepared of plant and other biodegradable wastes (compost I) originating from the composting plant situated in Krakow-Plaszow, where the wastes are composted using Mut-Kyberferm technology and compost produced of mixed municipal wastes (compost II) originating from a composting plant in Katowice, operating in Dano system were used for the experiment. The reference material for features analyzed in the experiment was medium processed farmyard manure from a pig farm. Chemical composition of organic materials was given in Table 1.

Tab.1 Chemical composition of organic materials used for the experiment

Determination	Unit	Compost I	Compost II	FYM	Determination	Unit	Compost I	Compost II	FYM
Dry matter	$\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	475.9	563.4	224.8	Cu	$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ d.m.	41.74	291.75	72.72
pH (H ₂ O)		7.30	7.18	8.06	Cd		1.51	6.28	0.61
Organic C	$\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ d.m.	515.8	246.1	823.3	Cr		22.58	76.61	13.13
Electrolytic conductivity	$\text{mS} \cdot \text{cm}^{-1}$	3.80	1.41	4.57	Pb		14.66	343.67	4.28
Total N	$\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ d.m.	35.61	6.78	27.31	Ni		9.67	32.87	4.93
P		7.17	2.29	13.09	Zn		282.5	1835.5	636.9
K		25.57	11.16	23.65	Hg		0.092	2.21	0.060
Ca		22.57	34.31	2.01	Mn		347.0	351.2	338.2
Mg		15.17	4.72	3.24	Fe		4585	10927	2924
Na		1.26	1.85	2.59					

PVC pots used in the experiment contained 8.60 kg of air-dried soil material. Organic materials were used once in the first year of the experiment. Total nitrogen dose applied in the first year of the experiment was $1.00 \text{ g} \cdot \text{pot}^{-1}$. Phosphorus (to $0.48 \text{ g P} \cdot \text{pot}^{-1}$) and potassium (to $1.64 \text{ g K} \cdot \text{pot}^{-1}$) were supplemented on all treatments (except the unfertilized object) to the equal level supplied with fertilizers, using chemically pure salts [$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, KCl]. On the treatment where only mineral salts were used as fertilizers (B), nitrogen, phosphorus and potassium were applied respectively as chemically pure salts: [NH_4NO_3 , $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, KCl]. In the second experimental year supplementary mineral fertilization was applied on all treatments using solutions of chemically pure salts: nitrogen doses $0.70 \text{ g} \cdot \text{pot}^{-1}$ [NH_4NO_3], phosphorus dosed $0.10 \text{ g} \cdot \text{pot}^{-1}$ [$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$] and potassium in a dose of $1.60 \text{ g} \cdot \text{pot}^{-1}$ [KCl].

Both in the first and second year of the experiment the test plant was maize, San c.v. Soil samples were collected from each pot separately after plant harvesting. Carbon concentrations were assessed using Tiurin's method and total nitrogen using Kjeldahl's method. Fractional composition of soil humus compounds was determined by means of Kononowa-Bielczikowa's method [Kononowa 1968]. Humus compounds were extracted with a mixture of $0.1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ and $0.1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ NaOH. Total carbon was determined in the obtained extracts, whereas humic acid

carbon was obtained additionally from alkaline extracts (after precipitation from the extract using sulphurous acid) by means of Tiurin's method. Fulvic acid carbon was computed from the difference between total carbon content in the extract and its content in humic acids. Carbon remains after extraction (non-hydrolyzing carbon) was computed from the difference between total content of organic carbon in soil and carbon content in alkaline extracts.

In the obtained humic acid extracts darkening coefficients were determined at the wavelength of 465 nm (E4) and 665 nm (E6). E4:E6 ratio was computed on the basis of obtained results.

Obtained results (organic C and total N) were verified statistically using two way ANOVA (factors: year and fertilization). Significance of differences between arithmetic means were estimated using NIR Fisher test at a significance level $\alpha < 0.05$. Statistical calculations were made using Statistica 7.1 pl package.

RESULTS AND DISCUSSION

The biggest quantities of organic carbon were assessed after the first year of the experiment in the soil of the treatment where municipal waste compost II was used (object G) (Tab. 2). After the second year bigger amounts of organic carbon were found in the soil where half of nitrogen dose was supplied with organic materials and half in a mineral form, than when exclusively organic materials were used for the treatment. The highest N content was registered in the farmyard manure treatment soil (object D). Increasing organic carbon content in soil due to municipal waste compost application was also noted in the field experiments conducted by Łabętowicz and Ożarowski [2000] and Convertini et al. [2004].

Total nitrogen content in soil after the first year of the experiment ranged between $1.68 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ soil d.m. (unfertilized object soil) to $1.77 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ soil d.m. (soil from G and H treatments, where compost II was used) (Tab. 2). Applied fertilization did not diversify significantly total nitrogen content in soil from treatments after the second year of the experiment.

The basic indicator of changes in soil organic matter is carbon to nitrogen ratio (C:N) [Kononowa 1968, Kopeć et al. 2000]. In the presented experiment the value of this indicator in soil after the first year of the experiment ranged from 8.74 (unfertilized object A soil) to 9.51 (object C soil) (Tab. 2). After the second year of the investigations, C:N ratio value generally increasing in comparison with this parameter value in soil after the first year of the research, was registered on the treatments where organic materials were used, whereas an opposite tendency was observed in the unfertilized object soil and on the treatment receiving mineral salts.

Table 2 Contents of organic carbon, total nitrogen and values of C:N ratio in soil after the first and second year of the experiment

Objects		Organic C		Total N		Ratio C:N	
		g · kg ⁻¹ d.m.				1 st year	2 nd
		1 st year	2 nd year	1 st year	2 nd		
A. Unfertilized soil		15.21 ^{a*}	14.94 ^a	1.74 ^{bcd}	1.69 ^{ab}	8.74	8.84
Soil with addition of	B. Mineral salts	15.56 ^{abc}	15.21 ^a	1.68 ^a	1.71 ^{abcd}	9.26	8.89
	C. FYM	16.45 ^{cde}	16.34 ^{bcde}	1.73 ^{abcde}	1.73 ^{abcde}	9.51	9.45
	D. FYM	16.31 ^{bcde}	16.84 ^e	1.76 ^{de}	1.73 ^{abcde}	9.27	9.73
	E. Plant waste compost (I)	16.27 ^{bcde}	16.22 ^{bcde}	1.78 ^e	1.76 ^{cde}	9.14	9.22
	F. Plant waste compost (I)	15.45 ^{ab}	16.55 ^{de}	1.74 ^{bcde}	1.68 ^a	8.88	9.85
	G. Municipal waste compost (II)	16.60 ^{de}	16.23 ^{bcde}	1.77 ^e	1.73 ^{abcde}	9.38	9.38
	H. Municipal waste compost (II)	15.73 ^{abcd}	16.18 ^{bcde}	1.77 ^e	1.70 ^{abc}	8.89	9.52

*means marked with the same letters do not differ significantly according to NIR Fisher test at $\alpha < 0.05$; factors: fertilization x year

A mixture of $0.1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ and $0.1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ NaOH}$ was used for extracting from the soil free humus compounds and compounds bound to calcium and nonsiliceous iron and aluminium forms (R2O3) [Kononowa 1968]. Applied fertilization significantly increased the content of carbon extracted with a mixture of sodium pyrophosphate and sodium base in comparison with the unfertilized soil (Tab. 3). Considering the applied fertilization, plant waste compost (compost I) most positively affected an increase in the amount of extracted carbon on the treatment where the whole nitrogen dose was supplemented with this material (object E). Irrespective of the experimental treatment, the content of this humus fraction carbon in soil after the second year of the experiment was generally slightly higher than concentrations assessed after the first year of research. The share of carbon of this humus compound fraction in the soil from compost II treatments (objects G and H) slightly increased after the second year of the experiment. On the other hand, in the soil of compost I treatments (objects E and F) a decreased share of this fraction carbon in total organic carbon content in soil was registered, respectively by 1 % and 3 %. Convertini et al. [2004] noted approximate contents of carbon extracted with a mixture of $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ and NaOH after application of solid municipal waste compost.

The share of humic acid carbon in total soil carbon content after the first year of the experiment ranged from 19.35 to 21.8 % (Tab. 3). After the second year, on average 1 % decrease in CKH was noted in soil with added organic materials, whereas in soils of unfertilized and mineral salt treatment this content was increasing by about 2 % in comparison with the concentrations assessed in soil after the first year of research.

Table 3. Fractional composition of humus compounds extracted from soil using $0.1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ Na}_2\text{P}_2\text{O}_7$ and $0.1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ NaOH}$ mixture (in per cent of organic C).

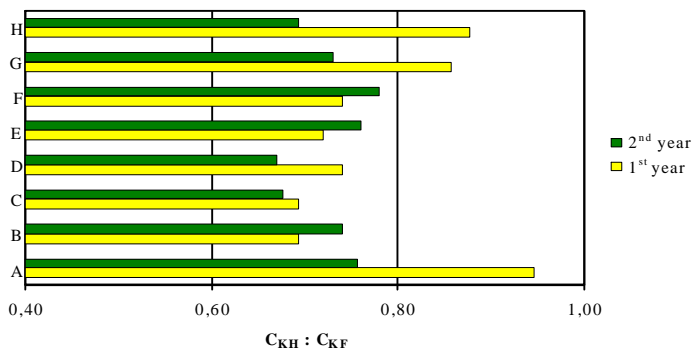
Objects		C extracted						C non-hydrolyzing	
		C of the extract		Humic acids C_{KH}		Fulvic acids C_{KF}			
		% of total C							
		1 st year	2 nd year	1 st year	2 nd year	1 st year	2 nd year	1 st year	2 nd year
A. Unfertilized soil		41.7	50.1	19.6	21.4	22.0	28.7	58.3	48.9
B. Mineral salts		47.2	51.0	19.3	21.6	27.9	29.3	52.8	49.1
C. FYM		47.4	47.4	19.4	19.1	28.0	28.3	52.6	52.6
D. FYM		47.3	47.6	20.0	19.1	27.2	28.5	52.7	52.4
E. Plant waste compost (I)		50.5	49.3	21.1	21.3	29.3	28.0	49.6	50.7
F. Plant waste compost (I)		49.8	46.8	21.1	20.4	28.7	26.4	50.2	53.2
G. Municipal waste compost (II)		44.9	48.4	20.7	20.3	24.2	28.1	55.1	51.7
H. Municipal waste compost (II)		46.8	47.3	21.8	19.3	25.0	28.1	53.2	52.7

Proportional share of fulvic acid carbon in total organic carbon content in soil was diversified among individual treatments soils and ranged from 21.9 % in unfertilized soil to 29.3 % in soil with plant waste compost I supplement, where the whole nitrogen dose was added in the first year with this material (Tab. 3). A smaller share of this fraction of humus compounds was registered in the soil with an admixture of municipal waste compost II (objects G and H) than in the soil with farmyard manure supplement (objects C and D) or plant waste compost (objects E and F). An increase in CKF share was observed in the soil on a majority of treatments after the second year of the experiment, and the greatest change was noticed in the soil of the unfertilized object (7 % increase). An opposite tendency was visible only in the soil with added plant waste compost (I). The highest share of CKF in organic carbon content was registered after the second year of the research in the soils fertilized with mineral salts.

CKH:CKF ratio characterizes the quality of humus through the share of humic and fulvic acid type compounds [Niemyska-Łukaszuk et al. 1999]. Irrespective of the experimental year, values of this indicator were lower than one in soils of all treatments, therefore fulvic acids should be regarded as the dominant fraction (Fig. 1). After the first year values of this indicator were the highest in soil from the control treatment and in soil with municipal waste compost (II) supplement. After the second year of the investigations the value of CKH:CKF ratio was increasing slightly only in the soil of treatments where compost I and mineral salt fertilization were used (objects E and F). On the other treatments this indicator value diminished almost by 0.20 unit. Soil fertilization with composts influenced the value of CKH:CKF ratio more favourably than farmyard manure fertilization. Żukowska et al. [2000] obtained similar value of CKH:CKF ratio after application of fermented and composted

municipal sewage sludge and Filipek-Mazur et al. [1999] after using tannery sludge composts as fertilizers.

Figure 1. Value of $C_{KH}:C_{KF}$ ratio in humus compounds after extraction from soil using a mixture of $0.1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ and $0.1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ NaOH}$ after the first and second year of the experiment



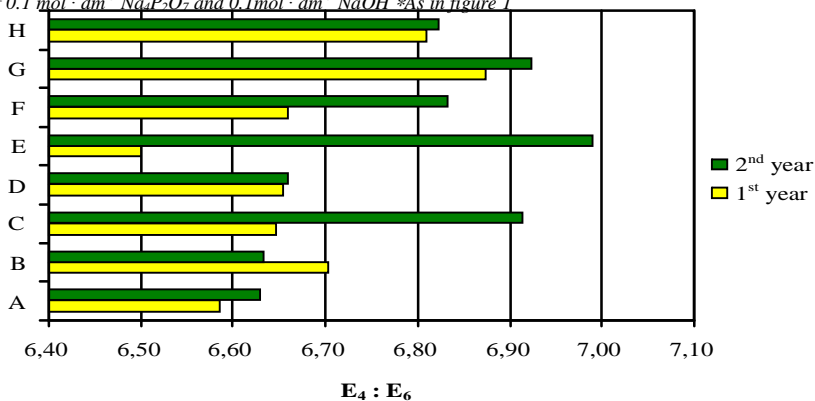
A - unfertilized soil, B – soil with mineral salts admixture, C – soil with farmyard manure supplement (1.00 g N in FYM), D – soil with farmyard manure (0.50 g N + 0.50 g N in NH_4NO_3), E – soil with added compost prepared of plant and other biodegradable wastes (I) (1.00 g N in the compost), F – soil with compost made of plant and other biodegradable wastes(I) (0.50 g N in the compost + 0.50 g N in NH_4NO_3), G – soil with a supplement of compost made of mixed municipal wastes (II) (1.00 g N in the compost), H – soil with an admixture of compost prepared of mixed municipal wastes (II) (0.50 g N in the compost + 0.50 g N in NH_4NO_3).

Humus compounds, which do not undergo extraction from soil with a mixture of sodium pyrophosphate and sodium base, constituted generally over 50 % of total organic carbon in soil (Fig. 3). The biggest share of this fraction in total organic carbon content in soil was assessed in the unfertilized objects (58.3 %), whereas on the organic material treatments, it was noted after application of municipal waste compost (II), where the whole nitrogen dose was supplied with this material in the first year (object G). Percent share of non-hydrolyzing carbon in total organic carbon content in soil changed after the second year of research. On the treatments where compost (I) was applied, a slight increase in the share of carbon that is not undergoing hydrolysis with $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ and NaOH mixture was observed both when the whole nitrogen dose was supplied with this compost (object E) as well as after the application of a half of N dose in a mineral form and the other half in a compost (object F). On the other hand, fertilization with municipal waste compost (II) caused a decline in non-hydrolyzing carbon share in total carbon content in soil. A similar relationship was observed in the soil of treatments receiving mineral fertilization and in unfertilized soil. Over 50 % of carbon not undergoing hydrolysis with a mixture of sodium pyrophosphate and sodium base was also found in the research conducted

by Żukowska et al. [2000] after the application of fermented and composted municipal sewage sludge. Filipek-Mazur et al. [1999] and Gonddek and Filipek-Mazur [2003] also received similar results in the first year of their experiments where tannery sludge composts were used as fertilizers.

Absorbance coefficients E4:E6 of visible light through humic acid solution extracted from the soil of all treatments in the first year were higher than 5, which evidences a simpler structure of humic acid molecules (Fig. 2). The values were the highest for humic acids extracted from the soil fertilized with municipal waste compost (II) on the treatment where the whole nitrogen dose was supplied in this compost – object G (6.87) and on treatment where half nitrogen dose was used in a mineral form and half as a compost (I) – object F (6.81). On the other treatments these values were approximate and ranged from 6.50 to 6.70. After the second year, increased values of this ratio were registered, except the soil fertilized with mineral salts. This parameter value increased most after application of plant waste compost (I) and farmyard manure in variants, where the whole nitrogen dose was supplied with these materials (objects C and E). Value of E4 : E6 ratio of humic acids in soil fertilized with municipal waste composts – 4.33 assessed by Campitelli et al. [2006] was considerably lower than the values obtained in the Authors' own investigations. Research conducted by Żukowska et al. [2000] and Kalembasa and Wiśniewska [2004] revealed considerable divergences in values of the discussed parameter in soils fertilized with vermicomposts and municipal sewage sludge composts. Czekala [2000] and Żukowska et al. [2000] registered considerably smaller dispersion of results after the application of stabilized sewage sludge.

Figure 2. Values of E₄:E₆ ratio of humic acids after extraction from soil using a mixture of 0.1 mol · dm⁻³ Na₂P₂O₇ and 0.1 mol · dm⁻³ NaOH *As in figure 1



CONCLUSIONS

1. Fertilization with composts caused increased content of organic carbon in soil in comparison with this component content in soil from mineral salt treatment.
2. After the first year of the experiment the smallest amounts of carbon extracted from soil using a mixture of sodium pyrophosphate and sodium base were assessed after the application of municipal waste compost. After two years the content of this humus fraction diminished most in soil after the application of compost made of plant and other biodegradable wastes.
3. Value of $C_{KH}:C_{KF}$ ratio in the soil of all treatments was generally lower than one, however soil fertilization with composts visibly improved this parameter value in comparison with the soil fertilized with farmyard manure.
4. Irrespectively of the applied fertilization, the value of absorbance coefficient $E_4:E_6$ of extracted humic acids evidences their simple structure, low nucleus condensation level, prevalence of aliphatic structures over cyclic ones and their greater mobility.
5. The content of non-hydrolyzing carbon in the soils of individual treatments did not differ significantly and generally exceeded 50 % of total organic carbon content in soil.

REFERENCES

- Campitelli P.A., Velasco M.I., Ceppi S.B. 2006. Chemical and physicochemical characteristics of humic acids extracted from compost, soil and amended soil. *Talanta* 69(5), 1234-1239.
- Convertini G., Ferri D., Montemurro F., Maiorana. 2004. Effects of municipal solid waste compost on soils cropped with tomato and sunflower in rotation with durum wheat. Proc. of the 13th International Soil Conservation Organization Conference - Brisbane, Paper No. 628, 1-4.
- Czekała J. 2000. Wartość próchnicotwórcza i działanie nawozowe osadu ściekowego. *Folia Univ. Agric. Stetin.* 211 *Agricultura* 84, 75-80.
- Dziadowiec H. 1993. Ekologiczna rola próchnicy glebowej. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 411, 269-282.
- Filipek-Mazur B., Mazur K., Gondek K. 1999. Skład frakcyjny próchnicy w glebie nawozonej obornikiem oraz osadem z oczyszczalni ścieków garbarskich i uzyskanymi z niego kompostami. *Zesz. Nauk. AR w Krakowie*, 349, 89-96.
- Gondek K., Filipek-Mazur B. 2003. Kształtowanie się niektórych właściwości gleby i składu frakcyjnego próchnicy pod wpływem nawożenia kompostem i wermikompostem z osadu garbarskiego. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 493, 767-776
- Gonet S. S. 1997. Wpływ czynników siedliskowych i antropogenicznych na materię organiczną gleb. *Humic Substances In The Environment*, 1, Wyd. PTSH Bydgoszcz, 17-24.
- Kalembasa D., Wiśniewska B. 2004. Ilość i jakość kwasów huminowych wydzielonych z gleb piaszczystych nawożonych wermikompostami. *Annales UMCS, Sec. E*, 59, 4, 19111-1917.
- Kononowa M. 1968. Substancje organiczne gleby, ich budowa, właściwości i metody badań. *Wyd. PWRiL, Warszawa*, ss. 554

Kopeć M., Mazur K., Gondek K. 2000. Wpływ nawożenia łąki górskiej odpadami i osadami ścieków garbarskich oraz ich kompostami na zmiany zawartości węgla i azotu w glebie. *Folia Univ. Agric. Stetin.* 211, *Agricultura* 84, 167-174.

Łabętowicz J., Ożarowski G. 2000. Porównanie kompostu ze śmieci miejskich (Dano) i obornika w aspekcie oddziaływania na plon i zawartość metali ciężkich w roślinach. *Folia Univ. Agric. Stetin.* 211 *Agricultura* 84, 233-240.

Mazur T. 1995. Stan i perspektywa bilansu substancji organicznej w glebach uprawnych. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 421 a, 267-276.

Niemyska-Łukaszuk J., Filipek-Mazur B., Nicia P. 1999. Zawartość i skład frakcyjny próchnicy w glebie łąki górskiej w 30-tym roku statycznego doświadczenia nawozowego. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 465, 569-578.

Rosik-Dulewska Cz. 2006. *Podstawy gospodarki odpadami.* Wyd. Nauk. PWN, Warszawa, ss. 359

Strączyńska S. 1993. Wpływ nawożenia na właściwości związków próchnicznych gleby piaszczystej. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 411, 37-41.

Żukowska G., Fis-Bujak M., Baran S. 2002. Wpływ nawożenia osadem ściekowym na substancję organiczną gleby lekkiej pod uprawą wikliny. *Acta Agroph.* 73, 357-367.

Żukowska G., Flis-Bujak M., Baran S. 2000. Zmiany składu frakcyjnego próchnicy gleby lekkiej nawożonej osadami ściekowymi. *Folia Univ. Agric. Stetin.* 211 *Agricultura* 84, 551-556.

PROPOSAL OF ANTIEROSION SOIL PROTECTION IN TROSKOTOVICE CADASTRAL TERRITORY

Lipovská Z., Toman F.

Department of Applied and Landscape Ecology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: zdenka.lipovska@uake.cz

ABSTRACT

This paper analyzes the current status and the use of the Troskotovice cadastral territory in terms of its threat to water and wind erosion. The final objective was to design a system of organizational, technical and agro-technical measures and assess their effectiveness with regard to the permissible soil loss.

The field research was realized to explore more terrain. The Universal Soil Loss Equation by Wischmeier and Smith (1978) was used to calculate the average long-term soil loss. The method developed by the Research Institute for Soil Amelioration and Conservation (Podhrázká et al., 2008) was used to determine the potential wind erosion vulnerability.

The result is a design of measures system and the assessment of their effectiveness with regard to the permissible soil loss and the ecostability increase. The belt rotation was chosen as organizational measure, the conservation tillage (erosion maize and sugar beet cultivation, crops adding) as agrotechnical measure and the contour furrow system and the dirt road with erosion control features (obtaining trees) as technical measure.

There were proposed two variants of the erosion-control measures that can be combined with each other. Both variants reduce the overall soil erosion portorage at about half the value compared to the original state. Some of measures that were designed for protection against water erosion affect reducing wind erosion simultaneously. A set of measures needed for the recovery of windbreaks were also suggested.

The measures should help to increase the overall value of the landscape as they were designed to reduce erosion processes in the most effective way and improve the ecological stability of the territory. The interests of agricultural entities were also considered.

Key words: Erosion, Soil, Antierosion Soil Protection

Acknowledgments: The paper was prepared with the support of the Research Project No MSM6215648905 "Biological and technological aspects of sustainability of controlled ecosystems and their adaptation to climate change" issued by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

ÚVOD

Půdní eroze je proces oddělování, transportu a ukládání materiálu erozními činiteli.

Eroze se vyskytuje jako dlouhodobý činitel, který modeluje povrch planety ve všech geologických dobách. Erozní procesy probíhají v nenarušených přírodních podmínkách velmi pozvolna bez škodlivých důsledků. V zemědělsky intenzivně využívané krajině se však mnohonásobně zrychlují.

Z hlediska zemědělské výroby znamená eroze kromě nenávratné ztráty půdy a přímého poškození pěstovaných plodin i negativní změny fyzikálních, chemických a biologických vlastností půdy s konečným důsledkem snížení půdní úrodnosti.

Erozi můžeme nejčastěji dělit na erozi vodní, větrnou, ledovcovou, sněhovou, zemní, antropogenní. V našich podmínkách působí největší škody v zemědělství eroze vodní, méně pak větrná.

MATERIÁL A METODIKA

Podklady a jejich zpracování

Pro účely této práce byly použity mapové podklady (základní mapa, mapa BPEJ, ortofotomapa) a materiály uvedené v literatuře. Pro bližší prozkoumání terénu byly provedeny pochůzky terénem.

Území bylo nejdříve rozděleno na dílčí povodí, určeny jednotlivé hřbetnice a údolnice. Pro každý pozemek pak byla určena vždy minimálně jedna odtoková linie. Ty jsou vyznačeny v mapové příloze V.

Pro účely posouzení stavu a druhového složení ochranných lesních pásů byly tyto označeny číselnou řadou a proveden terénní průzkum.

Vyhodnocení jednotlivých erozních faktorů

Pro výpočet průměrné dlouhodobé ztráty půdy byla použita tzv. univerzální rovnice pro výpočet průměrné dlouhodobé ztráty půdy z pozemků dle Wischmeiera a Smithe (1978), která je považována za zatím nejdokonalejší vyjádření kvantitativního účinku hlavních faktorů ovlivňujících vodní erozi způsobovanou přívalem deště:

$$G = R \times K \times L \times S \times C \times P$$

G = průměrná dlouhodobá ztráta půdy ($t \cdot ha^{-1} \cdot rok^{-1}$),

R = faktor erozní účinnosti dešťů vyjádřený v závislosti na jejich četnosti výskytu, úhrnu, intenzitě a kinetické energii,

K = faktor erodovatelnosti půdy vyjádřený v závislosti na textuře a struktuře ornice, obsahu organice hmoty a zrnitosti,

L = faktor délky svahu vyjadřující vliv nepřerušené délky svahu na velikost ztráty půdy erozí,

S = faktor sklonu svahu vyjadřující vliv sklonu svahu na velikost ztráty půdy erozí,

C = faktor ochranného vlivu vegetačního pokryvu vyjádřený v závislosti na vývoji vegetace a použité agrotechnice,

P = faktor účinnosti protierozních opatření.

Použitím uvedené rovnice se zjistí dlouhodobá průměrná roční ztráta půdy.

Faktor erozní účinnosti přívalového deště R

Pro tento faktor byla použita průměrná roční hodnota pro stanici Pohořelice, která je podle Podhrázké a Dufkové (2005) $26,0 \text{ MJ} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{cm} \cdot \text{h}^{-1}$ (dále bráno jako bezrozměrné číslo).

Faktor erodovatelnosti půdy K

K přibližnému a generalizovanému určení K-faktoru byly užity mapy bonitovaných půdně ekologických jednotek (BPEJ) a hodnoty K-faktoru určeny podle tab.1. Pokud se erozní uzavřený celek nachází na rozhraní více BPEJ, byl výsledný faktor K vypočten jako vážený průměr podle procentického podílu plochy, na které se daná BPEJ nachází.

Tab. 1 Hodnoty faktoru erodovatelnosti půdy K podle bonitovaných půdně ekologických jednotek (BPEJ) (Podhrázká, Dufková, 2005)

Druhé a třetí místo pětimístného kódu	Faktor K ornice
01	0,41
03	0,39
04	0,17
05	0,40
08	0,65
21	0,16
60 dle Janečka (2002)	0,23
62 dle Janečka (2002)	0,28

Topografický faktor – součin faktorů L a S

Faktor délky svahu L

Přímo lze hodnoty faktoru L odečíst z tabulky. Pro hodnoty délky svahu, které nejsou přímo v tabulce, byla použita interpolace.

Tab. 2 Hodnoty faktoru délky svahu L pro přímé svahy (Janeček a kol., 2002)

l_d (m)	5	10	15	20	30	40	50
L	0,48	0,68	0,82	0,95	1,17	1,35	1,52
l_d (m)	60	80	100	150	200	250	300
L	1,66	1,91	2,13	2,61	3,02	3,38	3,69
l_d (m)	350	400	450	500	600	700	800
L	3,99	4,27	4,52	4,77	5,22	5,62	6,04
l_d (m)	900	1000	1100	1200	1300	1400	1500
L	6,39	6,75	7,07	7,39	7,69	7,98	8,26

Faktor sklonu svahu S

Hodnoty faktoru S lze také odečíst z tabulky. Pro hodnoty sklonu svahu, které nejsou přímo uvedeny v tabulce, byla použita interpolace.

Tab. 3 Hodnoty faktoru sklonu svahu S (Janeček a kol., 2002)

s (%)	2	3	4	5	6	7	8
S	0,18	0,26	0,35	0,45	0,57	0,70	0,84
s (%)	9	10	11	12	13	14	15
S	1,0	1,17	1,35	1,55	1,75	1,97	2,21
s (%)	16	17	18	19	20	21	22
S	2,46	2,72	2,99	3,27	3,57	3,86	4,21
s (%)	23	24	25	26	27	28	29
S	4,55	4,90	5,26	5,64	6,03	6,43	6,85

Protože jsou přírodní svahy zpravidla nepravidelné, je určení topografického faktoru tímto způsobem nepřesné. Proto byly svahy o nepravidelném sklonu rozděleny do úseků o přibližně stejném sklonu.

K vyjádření vlivu změn půdních vlastností a sklonů na svažitém pozemku byla použita následující tabulka, kde v prvním řádku je uvedeno pořadí desetiny délky pozemku po spádnicí a ve druhém podíl vlivu této části na příslušné faktory S a K.

Tab. 4 Vliv vzdálenosti úseku svahu od horního okraje pozemku na faktory S a K (Janeček a kol., 1992)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0,03	0,06	0,07	0,09	0,10	0,11	0,12	0,13	0,14	0,15

Pro sklon svahu menší než 2 % byl použit výpočet faktoru S podle následujícího vztahu:

$$S = \frac{0,43 + 0,30s + 0,043s^2}{6,613}, \text{ kde}$$

s - sklon svahu v % (Pasák a kol., 1984).

Faktor účinnosti protierozních opatření P

Za protierozní opatření jsou považovány konturové obdělávání pozemku, pásové střídání plodin, hrázkování a terasování. Pokud žádné z těchto opatření není provedeno, faktor P = 1.

Faktor ochranného vlivu vegetace C

Údaje o pěstovaných plodinách za období 2002 – 2008 byly poskytnuty Zemědělským družstvem Jiřice. U pozemků, na kterých hospodaří soukromí zemědělci, byly předpokládány stejné osevní postupy jako na přilehlých blocích.

Faktor C byl určen pro každý osevní postup zvlášť podle následujícího postupu:

Stupeň ochranného účinku plodin a jejich posklizňových zbytků rozdělili Wischmeier a Smith (1978) do pěti období:

1. období podmínky a hrubé brázdy,
2. období od přípravy pozemku k setí do jednoho měsíce po zasetí nebo sázení,
3. období po dobu druhého měsíce od jarního nebo letního setí či sázení, u ozimů do 30.4.,
4. období od konce 3. období do sklizně,

5. období strniště.

Hodnoty faktoru C v jednotlivých pěstebních obdobích, které jsou podle oblastí různé, je nutno korigovat procentickým rozdělením R faktoru v průběhu roku.

Pro každý osevní postup se zpracovává samostatná tabulka. V první a druhé kolonce je předtištěný měsíc a jemu odpovídající procentický podíl faktoru R. Procentické rozdělení faktoru R je podle Metodiky ÚVTIZ č. 5/92 a bylo stanoveno pro střední Čechy (Podhrázká, Dufková, 2005).

Kolona každé plodiny je rozdělena do tří sloupců. V prvním sloupci je uvedeno období vegetačního vývoje plodiny, ve druhém je vypsána hodnota podílu faktoru C odpovídající plodině, agrotechnice a období. Ve třetím se zapíše součin procentického podílu faktoru R a faktoru C jednotlivých období plodiny. Sečítáním hodnot sloupce %R x C a podělením 100 dostaneme celoroční hodnotu faktoru C pro danou plodinu a rok osevního postupu. Průměrnou hodnotu faktoru C za celý osevní postup dává aritmetický průměr všech plodin (roků) v osevním postupu.

Příklady tabulek výpočtů průměrných hodnot C za celý osevní postup jsou uvedeny v příloze I.

Přípustná ztráta půdy vodní erozí

Přípustná ztráta půdy vodní erozí pro hluboké půdy je $10 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$ (Janeček, 2002).

Pokud však chceme respektovat udržitelný rozvoj zemědělství a využívání krajiny, je třeba se zamyslet nad bilancí tvorby a odnosu půdy. Pokud vyhodnotíme údaje řady autorů, zjistíme, že průměrná rychlost tvorby půd se pohybuje okolo $1 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$ (Šarapatka, 2008). Pokud chceme půdu obhospodařovat opravdu udržitelným způsobem, rozhodně bychom neměli připustit desetkrát (!) vyšší hodnotu odnosu půdy, kterou uvádí metodiky.

Vypracované návrhy proto počítají s přípustnou hodnotou, která je stanovena pro půdy středně hluboké ($4 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$).

Východiskem pro jednotlivé návrhy byly jednak teoretické poznatky, jednak konzultace se zástupci ZD Jiřice.

Výsledky práce byly zpracovány v prostředí ArcGis. Vznikly tak tři mapy: mapa landuse a ohroženost půdy vodní erozí (příl. V), návrh protierozních opatření – varianta 1 (příl. VI) a varianta 2 (příl. VII).

Vyhodnocení větrné eroze

Stanovení potenciální ohroženosti území větrnou erozí

Pro stanovení potenciální ohroženosti území větrnou erozí byla použita metoda vypracovaná VÚMOP (tab. 8).

Vyhodnocení stavu jednotlivých ochranných lesních pásů

Posouzení druhového složení a stavu ochranných lesních pásů bylo provedeno terénním průzkumem.

VÝSLEDKY

Stanovení stupně erozního ohrožení pozemků pomocí univerzální rovnice

Tab. 5 Původní stav

ČP	Odtok. linie	Výměra ha	R	K t. ha ⁻¹ .rok ⁻¹	L	S	C	P	G t. ha ⁻¹ .rok ⁻¹	GP t. ha ⁻¹ .rok ⁻¹	St. eroze	Eroze celkem t.rok ⁻¹
8	a	101,70	26	0,48	6,85	0,11	0,44	1	4,15	10	1	302,89
	b		26	0,48	3,38	0,57	0,44	1	10,62	10	2	305,95
18	a	57,57	26	0,46	4,82	0,29	0,17	1	2,83	10	1	87,89
	b		26	0,46	5,58	0,26	0,17	1	2,94	10	1	77,86
19	a	54,50	26	0,51	3,78	0,54	0,37	1	9,94	10	1	192,86
	b		26	0,51	5,34	0,25	0,37	1	6,50	10	1	228,03
20		11,24	26	0,46	5,18	0,20	0,26	1	3,21	10	1	36,05
20/1		6,74	26	0,41	3,99	0,27	0,26	1	2,99	10	1	20,12
21	a	26,92	26	0,41	3,38	0,28	0,28	1	2,82	10	1	44,58
	b		26	0,41	3,87	0,29	0,28	1	3,35	10	1	37,32
22		7,40	26	0,41	3,44	0,22	0,40	1	3,23	10	1	23,88
23		13,44	26	0,41	3,09	0,23	0,40	1	3,03	10	1	40,73
25	a	98,71	26	0,39	4,52	0,44	0,24	1	4,79	10	1	164,83
	b		26	0,39	6,91	0,20	0,24	1	3,33	10	1	166,17
	c		26	0,39	4,32	0,30	0,24	1	3,12	10	1	44,89
26	a	32,36	26	0,48	4,37	0,48	0,15	1	3,94	10	1	29,85
	b		26	0,48	5,38	0,32	0,15	1	3,24	10	1	80,23
26/1		26,49	26	0,41	5,34	0,24	0,19	1	2,60	10	1	68,76
27		107,83	26	0,41	5,18	0,17	0,29	1	2,72	10	1	293,54
28		14,14	26	0,39	5,30	0,40	0,44	1	9,36	10	1	132,37
28/1		13,44	26	0,41	4,37	0,08	0,44	1	1,64	10	1	22,04
29		24,32	26	0,41	5,04	0,34	0,33	1	6,03	10	1	146,60
30	a	127,66	26	0,41	5,96	0,09	0,29	1	1,66	10	1	62,70
	b		26	0,41	3,75	0,15	0,29	1	1,74	10	1	156,24
31		80,98	26	0,41	6,57	0,08	0,46	1	2,58	10	1	208,71
32		67,42	26	0,41	6,57	0,23	0,09	1	1,45	10	1	97,74
33		13,39	26	0,49	3,38	0,33	0,35	1	5,01	10	1	67,14
34		4,67	26	0,65	2,86	0,42	0,24	1	4,87	10	1	22,75
35		15,75	26	0,46	4,37	0,28	0,25	1	3,64	10	1	57,37
37	a	51,26	26	0,42	6,91	0,19	0,47	1	6,77	10	1	295,26
	b		26	0,42	4,52	0,34	0,47	1	7,93	10	1	60,63
40		57,46	26	0,36	7,13	0,32	0,33	1	6,95	10	1	399,32
41		4,64	26	0,39	3,44	0,15	0,45	1	2,36	10	1	10,95
44	a	46,57	26	0,43	4,57	0,13	0,37	1	2,48	10	1	44,90
	b		26	0,43	3,75	0,14	0,37	1	2,19	10	1	34,19
	c		26	0,43	3,50	0,38	0,37	1	5,55	10	1	71,47
45	a	66,85	26	0,42	5,04	0,23	0,29	1	3,69	10	1	180,11
	b		26	0,42	2,77	0,31	0,29	1	2,73	10	1	49,24
46	a	36,74	26	0,46	3,99	0,35	0,34	1	5,65	10	1	117,89
	b		26	0,46	2,61	0,84	0,34	1	8,88	10	1	91,96
	c		26	0,46	3,69	0,26	0,34	1	3,88	10	1	21,48
47		13,32	26	0,43	4,52	0,56	0,43	1	12,28	10	2	163,59
48	a	56,15	26	0,43	5,38	0,43	0,39	1	10,18	10	2	262,87
	b		26	0,43	4,72	0,25	0,39	1	5,19	10	1	157,50
48/1		37,69	26	0,43	5,96	0,30	0,45	1	9,08	10	1	342,19
S1		8,91	26	0,41	3,24	0,23	0,40	1	3,18	10	1	28,31
S2	a	6,41	26	0,41	3,44	0,20	0,40	1	2,93	10	1	7,13
	b		26	0,41	2,23	0,22	0,40	1	2,09	10	1	8,33
S3	a	20,19	26	0,41	3,24	0,45	0,24	1	3,73	10	1	43,87
	b		26	0,41	3,16	0,22	0,24	1	1,78	10	1	14,99
S4	a	31,21	26	0,41	3,99	0,17	0,29	1	2,10	10	1	44,68
	b		26	0,41	3,87	0,19	0,29	1	2,27	10	1	22,50
S5	a	38,48	26	0,41	3,75	0,09	0,29	1	1,04	10	1	20,91
	b		26	0,41	3,87	0,11	0,29	1	1,32	10	1	24,27
S6		9,55	26	0,41	4,67	0,18	0,33	1	2,96	10	1	28,24
Celkem												5766,87

Návrh systému organizačních, agrotechnických a technických opatření

Při návrhu opatření na jednotlivých pozemcích byla snaha zabezpečit jejich co nejlepší možnou účinnost s přihlédnutím k technické a ekonomické stránce tak, aby byla přijatelná pro družstvo na daných pozemcích hospodařícím.

Pro družstvo není přijatelné úplně vyloučit pěstování erozně nepříznivých plodin kukuřice a cukrovky, proto byla navržena minimalizace zpracování půdy.

Minimalizace zpracování půdy je dnes poměrně populárním tématem. Názory na ni se však velmi různí. Pozitivy jsou především právě lepší ochrana půdy před erozí, zlepšení struktury půdy, zvýšená schopnost retence vody v půdě, snížení nákladů na pohonnou hmotu, úspora času ad. Nevýhodou je naopak větší zaplevelenost půdy a tím pádem vyšší spotřeba herbicidů.

Bloky 8 a 28

Varianta 1

Na těchto blocích bylo navrženo setí kukuřice a cukrovky do celoplošně kypřeně přemrzlé meziplodiny a ponechaných rostlinných zbytků. Dále pak ponechání slámy po sklizni obilovin. Tím se průměrná hodnota faktoru vegetačního krytu a agrotechniky (dále jen faktor C) sníží za celý osevní postup z 0,44 na 0,09 (viz příloha II, tab.1).

Varianta 2

Jako druhá varianta bylo u bloku 8 navrženo pásové střídání okopanin a víceletých pícnin. Tím se sníží hodnota faktoru účinnosti protierozních opatření (P) na 0,3. Sklon pozemku je maximálně 6 %, proto je navržena šířka pásů 40 m (viz příl. II, tab. 2).

Pod svaahem pozemku 28 je umístěna nová zástavba, proto jsou navrženy zasakovací průlehy, aby nedocházelo ke smyvu půdy na území intravilánu. Maximální přípustná délka svahu pro přípustnou hodnotu $G_{přip}$ 4 t.ha⁻¹.rok⁻¹, byla vypočtena ze vztahu:

$$l_{přip} = \frac{22,13 \cdot G_{přip}}{R \cdot K \cdot S \cdot C \cdot P} = 49,60 \text{ m.}$$

Délka svahu je 480 m. Bude tak vytvořeno deset průlehů o vzdálenosti jejich os 48 m. Hodnota faktoru L se tak sníží na 2,17.

Bloky 19, 40 a 44

Varianta 1

Na těchto blocích byl navržen výsev cukrové řepy do mulče z vymrzajících meziplodin a ponechání slámy po sklizni obilovin.

Faktor C se tak sníží pro bloky 19 a 44 z 0,37 na 0,11 (viz příl. II, tab. 2) a pro blok 40 z 0,33 na 0,09.

Varianta 2

U bloků 19 a 40 se budou střídát pásy cukrovky a vojtěšky. Faktor P se zde sníží na 0,3. U bloku 44 je navrženo pásové střídání slunečnice a ozimé pšenice. Faktor P se sníží na 0,5. Pozemky mají svažitost do 6 %, proto je navržena šířka pásů 40 m.

Blok 25

Varianta 1

Na bloku 25 bylo navrženo setí kukuřice do celoplošně kypřené přemrzlé meziplodiny a ponechaných rostlinných zbytků. Dále byla před ječmen jarní zařazena meziplodina. Průměrná hodnota faktoru C se tak sníží z 0,24 na 0,07 (příl. II, tab.3).

Varianta 2

Druhá varianta zahrnuje spojení varianty 1 a návrh polní cesty. Tento blok má plochu téměř 100 ha. Podle Janečka a kol. (2002) při velikosti pozemku nad 30 ha jsou všechny druhy mechanizačních prostředků již využity v dostatečné míře a ani z ekonomického hlediska nemá smysl vytvářet pozemky větší. Z hlediska obdělávatelnosti pozemku a hlavně z hlediska funkčnosti i estetiky krajiny je proto navržena polní cesta rovnoběžná s polní cestou dělící blok 25 a 26 ve vzdálenosti 700 m od ní. Ta pak bude dále vedena i přes pozemek 48 až ke konci větrolamu 18.

Cesta zároveň přeruší odtokovou linii b a sníží se tak faktor L.

Blok 29 a 37

Varianta 1

Setím kukuřice do celoplošně kypřené přemrzlé meziplodiny a jejich rostlinných zbytků a ponecháním slámy po sklizni obilovin se průměrná hodnota faktoru C sníží u bloku 29 z 0,33 na 0,09 a u bloku 37 z 0,47 na 0,08.

Varianta 2

Pásové střídání kukuřice a ozimého ječmene o šířce pásů 40 m sníží hodnotu faktoru P na 0,5. Sklon svahu je u obou pozemků do 7 %, proto je navržena šířka pásů 40 m.

Bloky 33 a 34

Varianta 1

Setím kukuřice do celoplošně kypřené přemrzlé meziplodiny a ponechaných rostlinných zbytků se průměrná hodnota faktoru C pro blok 33 sníží z 0,35 na 0,10 a pro blok 34 z 0,24 na 0,08.

Varianta 2

Na bloku 33 je navrženo pásové střídání kukuřice a pšenice ozimé. Šířka pásů je 40 m (sklon do 5 %). Sníží se faktor P na 0,5.

Blok 34 se svažuje přímo k rybníku, proto jsou navrženy zasakovací průlehy. Maximální přípustná délka svahu je zde 52 m. Celkem bude blok přetát čtyřmi průlehy. Rovnoběžná vzdálenost podélných os bude 45 m. Faktor L se tak sníží na 2,03.

Blok 46

Varianta 1

Na tomto bloku byl navržen výsev cukrové řepy do mulče z vymrzajících meziplodin a ponechání slámy po sklizni obilovin. Dále byla před ječmenem jarním zařazena meziplodina. Faktor C se tak sníží z 0,34 na 0,11.

Varianta 2

V této variantě je navrženo pásové střídání cukrové řepy a vojtěšky v pásech po 40 m (sklon do 4 %). Sníží se faktor P na 0,3.

Blok 47

Varianta 1

U tohoto bloku bylo navrženo pásové střídání slunečnice a víceleté pícniny. Pozemek má svažítost do 5 %, proto je navržena šířka pásů 40 m. Sníží se faktor P na 0,3.

Varianta 2

Další možností je návrh technického opatření - průlehy. Délka nejdelší spádnice je 450 m. Maximální přípustná délka svahu je 32,88 m.

Bylo navrženo celkem patnáct průlehy o šířce 10 m a vzdálenosti mezi sebou 30 m. Faktor L se tak sníží na 1,35.

Průlehy mohou být vytvořeny a udržovány jako nebezpečně obdělávatelné mělké příkopy, lépe však vegetačně stabilizované trvalými travními porosty.

Blok 48

Varianta 1

Na tomto bloku bylo navrženo pásové střídání cukrové řepy a víceleté pícniny. Pozemek má maximální svažítost 4,22 %, proto je navržena šířka pásů 40 m. Sníží se hodnota faktoru P na 0,3.

Varianta 2

Druhá varianta je kombinací varianty 1 a polní cesty. Polní cesta pokračující z pozemku 25 protne celý pozemek 48 a bude ukončena u větrolamu 18. Cesta je vedena údolnicí a opatřena zasakovacími průlehy po obou stranách svahu, povrchově odtékající voda je tak přeměněna v podpovrchový odtok.

Blok 48/1

Varianta 1

Návrh zahrnuje protierozní setí kukuřice a slunečnice do celoplošně kypřené přemrzlé meziplodiny a jejich rostlinných zbytků a ponechání slámy po sklizni obilovin. Faktor C se sníží z 0,45 na 0,20.

Varianta 2

Další variantou je pásové střídání kukuřice a víceleté pícniny v pásech po 40 m (sklon do 4 %, snížení hodnoty faktoru P na 0,3).

Stanovení účinnosti navržených opatření s ohledem na přípustnou ztrátu půdy

Snížení hodnot jednotlivých erozních faktorů, průměrné dlouhodobé ztráty půdy a celkové eroze je zachyceno v následujících dvou tabulkách.

Tab. 6 Varianta 1

ČB	Odtok.linie	Výměra	R	K t.ha ⁻¹ .rok ⁻¹	L	S	C	P	G t.ha ⁻¹ .rok ⁻¹	GP t.ha ⁻¹ .rok ⁻¹	St. eroze	Eroze celkem t.rok ⁻¹
8	a	101,70	26	0,48	6,85	0,11	0,09	1	0,85	4	1	61,95
	b		26	0,48	3,38	0,57	0,09	1	2,17	4	1	62,58
18	a	57,57	26	0,46	4,82	0,29	0,17	1	2,83	4	1	87,89
	b		26	0,46	5,58	0,26	0,17	1	2,94	4	1	77,86
19	a	54,50	26	0,51	3,78	0,54	0,11	1	2,95	4	1	57,34
	b		26	0,51	5,34	0,25	0,11	1	1,93	4	1	67,79
20		11,24	26	0,46	5,18	0,20	0,26	1	3,21	4	1	36,05
20.I		6,74	26	0,41	3,99	0,27	0,26	1	2,99	4	1	20,12
21	a	26,92	26	0,41	3,38	0,28	0,28	1	2,82	4	1	44,58
	b		26	0,41	3,87	0,29	0,28	1	3,35	4	1	37,32
22		7,40	26	0,41	3,44	0,22	0,40	1	3,23	4	1	23,88
23		13,44	26	0,41	3,09	0,23	0,40	1	3,03	4	1	40,73
25	a	98,71	26	0,39	4,52	0,44	0,07	1	1,40	4	1	48,08
	b		26	0,39	6,91	0,20	0,07	1	0,97	4	1	48,47
	c		26	0,39	4,32	0,30	0,07	1	0,91	4	1	13,09
26	a	32,36	26	0,48	4,37	0,48	0,15	1	3,94	4	1	29,85
	b		26	0,48	5,38	0,32	0,15	1	3,24	4	1	80,23
26/1		26,49	26	0,41	5,34	0,24	0,19	1	2,60	4	1	68,76
27		107,83	26	0,41	5,18	0,17	0,29	1	2,72	4	1	293,54
28		14,14	26	0,39	5,30	0,40	0,10	1	2,13	4	1	30,08
28/1		13,44	26	0,41	4,37	0,08	0,44	1	1,64	4	1	22,04
29		24,32	26	0,41	5,04	0,34	0,09	1	1,64	4	1	39,98
30	a	127,66	26	0,41	5,96	0,09	0,29	1	1,66	4	1	62,70
	b		26	0,41	3,75	0,15	0,29	1	1,74	4	1	156,24
31		80,98	26	0,41	6,57	0,08	0,46	1	2,58	4	1	208,71
32		67,42	26	0,41	6,57	0,23	0,09	1	1,45	4	1	97,74
33		13,39	26	0,49	3,38	0,33	0,10	1	1,43	4	1	19,18
34		4,67	26	0,65	2,86	0,42	0,08	1	1,62	4	1	7,58
35		15,75	26	0,46	4,37	0,28	0,25	1	3,64	4	1	57,37
37	a	51,26	26	0,42	6,91	0,19	0,08	1	1,15	4	1	50,26
	b		26	0,42	4,52	0,34	0,08	1	1,35	4	1	10,32
40		57,46	26	0,36	7,13	0,32	0,09	1	1,90	4	1	108,91
41		4,64	26	0,39	3,44	0,15	0,45	1	2,36	4	1	10,95
44	a	46,57	26	0,43	4,57	0,13	0,11	1	0,74	4	1	13,35
	b		26	0,43	3,75	0,14	0,11	1	0,65	4	1	10,17
	c		26	0,43	3,50	0,38	0,11	1	1,65	4	1	21,25
45	a	66,85	26	0,42	5,04	0,23	0,29	1	3,69	4	1	180,11
	b		26	0,42	2,77	0,31	0,29	1	2,73	4	1	49,24
46	a	36,74	26	0,46	3,99	0,35	0,11	1	1,83	4	1	38,14
	b		26	0,46	2,61	0,84	0,11	1	2,87	4	1	29,75
	c		26	0,46	3,69	0,26	0,11	1	1,26	4	1	6,95
47		13,32	26	0,43	4,52	0,56	0,43	0,3	3,68	4	1	20,38
48	a	56,15	26	0,43	5,38	0,43	0,24	0,3	3,05	4	1	78,86
	b		26	0,43	4,72	0,25	0,24	0,3	1,56	4	1	47,25
48/1		37,69	26	0,43	5,96	0,30	0,07	1	1,41	4	1	42,84
S1		8,91	26	0,41	3,24	0,23	0,40	1	3,18	4	1	28,31
S2	a	6,41	26	0,41	3,44	0,20	0,40	1	2,93	4	1	7,13
	b		26	0,41	2,23	0,22	0,40	1	2,09	4	1	8,33
S3	a	20,19	26	0,41	3,24	0,45	0,24	1	3,73	4	1	43,87
	b		26	0,41	3,16	0,22	0,24	1	1,78	4	1	14,99
S4	a	31,21	26	0,41	3,99	0,17	0,29	1	2,10	4	1	44,68
	b		26	0,41	3,87	0,19	0,29	1	2,27	4	1	22,50
S5	a	38,48	26	0,41	3,75	0,09	0,29	1	1,04	4	1	20,91
	b		26	0,41	3,87	0,11	0,29	1	1,32	4	1	24,27
S6		9,55	26	0,41	4,67	0,18	0,33	1	2,96	4	1	28,24
celkem												2818,47

Tab. 7 Varianta 2

ČB	Odtok.linie	Výměra	R	K t.ha ⁻¹ .rok ⁻¹	L	S	C	P	G t.ha ⁻¹ .rok ⁻¹	GP t.ha ⁻¹ .rok ⁻¹	St. eroze	Eroze celkem t.rok ⁻¹
8	a	101,70	26	0,48	6,85	0,11	0,44	0,3	1,25	4	1	90,87
	b		26	0,48	3,38	0,57	0,44	0,3	3,19	4	1	91,79
18	a	57,57	26	0,46	4,82	0,29	0,17	1	2,83	4	1	87,89
	b		26	0,46	5,58	0,26	0,17	1	2,94	4	1	77,86
19	a	54,50	26	0,51	3,78	0,54	0,37	0,3	2,98	4	1	57,86
	b		26	0,51	5,34	0,25	0,37	0,3	1,95	4	1	68,41
20		11,24	26	0,46	5,18	0,20	0,26	1	3,21	4	1	36,05
20/1		6,74	26	0,41	3,99	0,27	0,26	1	2,99	4	1	20,12
21	a	26,92	26	0,41	3,38	0,28	0,28	1	2,82	4	1	44,58
	b		26	0,41	3,87	0,29	0,28	1	3,35	4	1	37,32
22		7,40	26	0,41	3,44	0,22	0,40	1	3,23	4	1	23,88
23		13,44	26	0,41	3,09	0,23	0,40	1	3,03	4	1	40,73
25	a	98,71	26	0,39	4,52	0,44	0,07	1	1,40	4	1	48,08
	b		26	0,39	5,22	0,20	0,07	1	0,73	4	1	12,45
	c		26	0,39	4,32	0,30	0,07	1	0,91	4	1	13,09
25/1		32,95	26	0,39	4,52	0,20	0,07	1	0,64	4	1	20,93
26	a	32,36	26	0,48	4,37	0,48	0,15	1	3,94	4	1	29,85
	b		26	0,48	5,38	0,32	0,15	1	3,24	4	1	80,23
26/1		26,49	26	0,41	5,34	0,24	0,19	1	2,60	4	1	68,76
27		107,83	26	0,41	5,18	0,17	0,29	1	2,72	4	1	293,54
28		14,14	26	0,39	2,17	0,40	0,44	1	3,83	4	1	54,20
28/1		13,44	26	0,41	4,37	0,08	0,44	1	1,64	4	1	22,04
29		24,32	26	0,41	5,04	0,34	0,33	0,5	3,01	4	1	73,30
30	a	127,66	26	0,41	5,96	0,09	0,29	1	1,66	4	1	62,70
	b		26	0,41	3,75	0,15	0,29	1	1,74	4	1	156,24
31		80,98	26	0,41	6,57	0,08	0,46	1	2,58	4	1	208,71
32		67,42	26	0,41	6,57	0,23	0,09	1	1,45	4	1	97,74
33		13,39	26	0,49	3,38	0,33	0,35	0,5	2,51	4	1	33,57
34		4,67	26	0,65	2,03	0,42	0,24	1	3,46	4	1	16,15
35		15,75	26	0,46	4,37	0,28	0,25	1	3,64	4	1	57,37
37	a	51,26	26	0,42	6,91	0,19	0,47	0,5	3,39	4	1	147,63
	b		26	0,42	4,52	0,34	0,47	0,5	3,96	4	1	30,31
40		57,46	26	0,36	7,13	0,32	0,33	0,3	2,08	4	1	119,80
41		4,64	26	0,39	3,44	0,15	0,45	1	2,36	4	1	10,95
44	a	46,57	26	0,43	4,57	0,13	0,37	0,5	1,24	4	1	22,45
	b		26	0,43	3,75	0,14	0,37	0,5	1,10	4	1	17,10
	c		26	0,43	3,50	0,38	0,37	0,5	2,78	4	1	35,73
45	a	66,85	26	0,42	5,04	0,23	0,29	1	3,69	4	1	180,11
	b		26	0,42	2,77	0,31	0,29	1	2,73	4	1	49,24
46	a	36,74	26	0,46	3,99	0,35	0,34	0,3	1,70	4	1	35,37
	b		26	0,46	2,61	0,84	0,34	0,3	2,66	4	1	27,59
	c		26	0,46	3,69	0,26	0,34	0,3	1,17	4	1	6,44
47		13,32	26	0,43	1,35	0,56	0,43	1	3,67	4	1	48,86
48	a	56,15	26	0,43	5,38	0,43	0,39	0,3	3,05	4	1	78,86
	b		26	0,43	4,72	0,25	0,39	0,3	1,56	4	1	47,25
48/1		37,69	26	0,43	5,96	0,30	0,45	0,3	2,72	4	1	102,66
S1		8,91	26	0,41	3,24	0,23	0,40	1	3,18	4	1	28,31
S2	a	6,41	26	0,41	3,44	0,20	0,40	1	2,93	4	1	7,13
	b		26	0,41	2,23	0,22	0,40	1	2,09	4	1	8,33
S3	a	20,19	26	0,41	3,24	0,45	0,24	1	3,73	4	1	43,87
	b		26	0,41	3,16	0,22	0,24	1	1,78	4	1	14,99
S4	a	31,21	26	0,41	3,99	0,17	0,29	1	2,10	4	1	44,68
	b		26	0,41	3,87	0,19	0,29	1	2,27	4	1	22,50
S5	a	38,48	26	0,41	3,75	0,09	0,29	1	1,04	4	1	20,91
	b		26	0,41	3,87	0,11	0,29	1	1,32	4	1	24,27
S6		9,55	26	0,41	4,67	0,18	0,33	1	2,96	4	1	28,24
Celkem												3229,86

Všechna navržená opatření splňují požadavek účinnosti pro zvolené kritérium přípustné ztráty půdy erozí 4 t.ha⁻¹.rok⁻¹.

Graficky jsou opatření znázorněna v přílohách VI a VII.

Vyhodnocení větrné eroze

Stanovení potenciální ohroženosti území větrnou erozí

Tab. 8 Hodnoty součinů faktorů půdy a klimatických regionů použitých pro výpočet potenciální erozní ohroženosti větrnou erozí (dle Podhrázké, 2008)

Kód BPEJ 2. a 3. místo	Faktor půdy	Faktor klimatického regionu pro kód 0	Součin faktoru půdy a klimatického regionu	Procentuální zastoupení na k.ú.
001	2	6	12	90 %
003	2	6	12	1 %
004	6	6	36	2 %
005	4	6	24	0,5 %
008	2	6	12	5 %
060	0	6	0	0,5 %
062	0	6	0	1 %
Koeficient ohrožení k.ú.				12,36

Pro určení potenciální ohroženosti území větrnou erozí byla použita metoda vypracovaná VÚMOP. Tímto postupem bylo k.ú. Troskotovice vyhodnoceno jako kategorie 4, tedy půdy ohrožené.

To se shoduje s vyhodnocením v problémové studii „Větrná eroze půdy v Jihomoravském kraji a návrh jejího řešení“. V rámci této studie byla určena ohroženost větrnou erozí pro všechny k.ú. v Jihomoravském kraji.

Hodnocení ohroženosti k.ú. Troskotovice větrnou erozí a účinnosti stávajícího systému ochranných lesních pásů dle studie „Větrná eroze půdy v Jihomoravském kraji a návrh jejího řešení“ (Doležal a kol., 2005)

V této kapitole bylo čerpáno z výsledků výše uvedené studie.

Pro k.ú. Troskotovice bylo určeno, že z 1496,46 ha orné půdy je 1468 ha, tj. 98,1 % ohroženo stupněm 4, 5 a 6 větrné eroze (tj. patří mezi půdy ohrožené až nejohroženější).

Na k.ú. se nachází přes 21 km ochranných lesních pásů o celkové rozloze 34,9 ha. Ochranné lesní pásy byly zařazeny do kategorií z hlediska účinnosti jejich systému v krajině. Bylo vyhodnoceno, že prvky jsou uspořádány v systému, přičemž více než 50 % neodpovídá optimu, prvky jsou z 31 - 50 % vhodně začleněny do terénu s vazbou na směry větru a že prvky mají parametry okolního biokoridoru lesního typu jen z méně než 30 %. Celkově byl systém ochranných lesních pásů vyhodnocen jako podměně funkční.

Chráněno stávajícími bariérami je tak jen 38,8 % orné půdy. Zbývá tak 898,42 ha ohrožené až nejohroženější půdy, která zůstává nechráněná.

Katastrální území je z pohledu odolnosti proti větrné erozi vyhodnoceno jako částečně stabilní.

Hodnocení stavu jednotlivých OLP

Druhové složení a další parametry jednotlivých OLP jsou uvedeny v tabulce v příloze III. Hodnoceny byly i OLP, které tvoří hranice k.ú. nebo na něj těsně přiléhají, a tudíž se ve značné míře podílí na protierozní ochraně daného k.ú.

Větrolamy jsou průměrné kvality s malým podílem domácích dřevin. Jsou to především jasan ztepilý (*Fraxinus excelsior*), javor klen (*Acer pseudoplatanus*), lípa srdčitá (*Tilia cordata*), dub letní (*Quercus robur*), v podrostu především bez černý (*Sambucus nigra*), ptačí zob obecný (*Ligustrum vulgare*), brslen evropský (*Euonymus europaeus*), slivoň trnka (*Prunus spinosa*).

Z tabulky je patrný vysoký podíl introdukovaných dřevin. Jsou to javor jasanolistý (*Acer negundo*), ořešák černý (*Juglans nigra*) a v podrostu čičkař stromovitý (*Caragana arborescens*), netvařec křovitý (*Amorpha fruticosa*) a pajasan žláznatý (*Ailanthus altissima*).

Javor jasanolistý je v nadpoloviční většině zastoupen ve větrolamech č. 3, 5 a 6 (zde dokonce 95 % zastoupení), 10 a 17. Ořešák černý tvoří základní dřevinu OLP 12a, 12b a je přítomen také ve větrolamech 1 a 11. Ve většině OLP jsou v keřovém patře zastoupeny čičkař stromovitý nebo netvařec křovitý, místy se vyskytují nálety pajasanu.

Snad u všech OLP je dnešní šířka větrolamů mnohem větší než bylo původně vymezeno. Tento stav tak neodpovídá požadovaným funkčním a prostorovým parametrům. Přerůstání je problémem především u OLP 4, 5, 10, 13, 16 a 17, kde je šířka nad 20 m. V některých místech přerostlé stromy odumřely a vylámáním vzniká mezernatost. Tam, kde je plně vyvinuté keřové patro, je problémem naopak neproduktivnost.

Dalším negativem je pak nefunkčnost některých větrolamů, kde chybí keřové patro. Jsou to především OLP, kde hlavní podíl tvoří jasan a ořešáky (OLP 8, 12a, 12b, 19).

U větrolamů 1, 3, 4, 7 a 15 je problémem přerůstání topolů, které měly být dávno odstraněny.

Návrh opatření proti větrné erozi

Návrh organizačních a agrotechnických opatření

Ke zlepšení ochrany půdy proti větrné erozi přispějí opatření, která již byla navržena výše:

Z organizačních opatření je to pásové střídání plodin, pokud se bude směr vrstevnic shodovat se směrem alespoň přibližně kolmým k převládajícímu směru větru.

Z agrotechnických opatření je to setí kukuřice a cukrové řepy do celoplošně kypřené přemrzlé mezplodiny a jejich rostlinných zbytků, ponechání slámy po sklizni obilovin a zařazení mezplodiny před jařiny.

Dále je navrženo trvalé udržování půdy ve strukturálním stavu s dostatečnou vlhkostí a to především hnojením organickými látkami a kultivace půd při optimální vlhkosti.

Návrh opatření pro OLP

V první řadě jsou nezbytné zdravotní a sanační probírky poškozených stromů.

Je navržena obnova stávajících větrolamů, která spočívá v odstranění všech krátkověkých dřevin (topolů). Z hlediska ekologického je pak třeba odstranit také introdukované dřeviny (především javory jasanolisté, ořešáky černé, čimšiňky stromovité, pajasany žlázkaté a netvařce křovité). Je navržena dosadba domácích dlouhověkých dřevin, především dubu letního, lípy malolisté a javorů klenů a babyky. Tato změna musí být plynulá, aby docházelo k co nejmenším omezením funkcí větrolamů.

Zároveň je potřeba upravit parametry větrolamů tak, aby co nejlépe plnily protierozní funkci.

Velmi důležité je také zvýšení ekostabilizační funkce větrolamů. Ty je možno zčásti využít při tvorbě územních systémů ekologické stability na místní úrovni. V tomto případě však musí dojít ke skloubení parametrů OLP z hlediska protierozního a z hlediska dodržení minimálních rozměrů místních biokoridorů.

Celkové zajištění optimální ochrany půdy proti větrné erozi je velmi složité a bude potřeba nejen obnova stávajících OLP, ale i navržení nových, tak aby byla chráněna veškerá půda.

DISKUZE

Při určování ohroženosti půdy vodní erozí byla zvolena nižší hodnota přípustné ztráty půdy vodní erozí než je připouštěna v metodikách z důvodu předběžné opatrnosti a udržitelného hospodaření v krajině.

Přesnější výpočty odnosu půdních částic větrnou erozí jsou velmi náročné na terénní a laboratorní šetření a jejich výsledky nejsou vždy zcela přesné. Proto bylo v této práci působení větrné eroze zhodnoceno na základě stanovení potenciální ohroženosti území větrnou erozí a dále byl zhodnocen stav stávajících ochranných lesních pásů. Pro doplnění celkového obrazu o ohroženosti řešeného území větrnou erozí byly pak použity závěry uvedené ve studii „Větrná eroze půdy v Jihomoravském kraji a návrh jejího řešení“.

Při návrhu opatření bylo hlavním cílem snížit co nejučinněji erozní procesy a zároveň zvýšit ekologickou stabilitu území. Opatření by měla přispět ke zvýšení celkové hodnoty krajiny. Zároveň však musí být brán zřetel na zájmy hospodářských subjektů. Proto zde byla snaha o zachování pěstovaných plodin pro družstvo zásadních a to i těch erozně nepříznivých. Byla tak navržena taková opatření, která umožní pěstovat tyto plodiny a zároveň snížit jejich negativní vliv na odnos půdy (především setí do mulče z meziplodin, pěstování meziplodin před jařinami a pásové střídání plodin).

Setí do mulče z vyzrálých meziplodin má mimo omezení půdní eroze i řadu dalších výhod jako je ochrana půdy před zhuňováním omezením přejezdů po půdě, zlepšení půdních vlastností, snížení nákladů na pohonné hmoty ad.

Pěstování meziplodin mj. omezuje průnik sloučenin dusíku do podzemních vod a na podzim rozvoj plevelů. Doporučovány jsou především hořčice bílá a svazanka vratičolistá.

Tato opatření mají příznivý účinek při ochraně půdy jak před erozí vodní, tak i větrnou.

Problém, který musí být brán v úvahu, je finanční situace družstva. Všechna opatření byla konzultována s vedoucím rostlinné výroby. Pásové střídání plodin, zařazení meziplodin či setí do mulče je technicky i ekonomicky možné. Jako problémové je vnímáno hlavně chemické ošetřování plodin

při jejich pásovém střídání. U pěstování mezíplodin je pak obava z nedostatečného vzejití porostu při suchém počasí. Vybudování systému průlehu naráží na vysokou finanční náročnost.

Průlehy však neslouží jen jako opatření proti erozi, ale v ideálním případě by měly být zakládány jako vegetačně stabilizované trvalými travními porosty doplněné dřevinami. Tak by opatření přispěla i ke zvýšení diverzity a estetiky krajiny.

Významnými prvky z hlediska zajištění ekologické stability území jsou také ochranné lesní pásy. Ty byly zakládány v padesátých letech a jejich účelem bylo vytvoření příznivého klimatu pro pěstované plodiny a snížení eroze půdy. Dnes se staly významným prvkem krajiny a plní i další funkce. Problémem však je, že v dobách výsadby se nebralo v potaz ekologické a estetické hledisko. Bylo tak vysázeno velké množství nepůvodních druhů dřevin. Dalším problémem je pak údržba a obnova, která sice byla vypracována, ale v praxi většinou nebyla prováděna.

Ani dnes, kdy ochranné lesní pásy spadají pod Správu lesů České republiky, se údržba téměř neprovádí, a tak se rozšiřují, prosychají a přestávají plnit i funkci protierozní.

Velmi potřebné je na území katastru provést pozemkové úpravy a vyřešit jak uspořádání pozemků, rozdělení velkých bloků půdy, vytvoření polních cest, tak i obnovu stávajících a výsadbu nových větrolamů.

ZÁVĚR

Cílem této práce bylo provést rozbor současných podmínek a analýzu současného stavu využití katastrálního území Troskotovice z hlediska jeho ohrožení vodní a větrnou erozí.

Byly vyhodnoceny jednotlivé erozní faktory a určena průměrná dlouhodobá ztráta půdy. Přípustná ztráta půdy byla pro půdy hluboké (hloubka nad 60 cm), které se zde vyskytují, překročena jen u bloků 8, 47 a 48.

Z důvodu předběžné opatrnosti a snahy trvale udržitelného hospodaření s půdou byla pro návrh protierozních opatření určena jako hodnota přípustné ztráty místo $10 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$ $4 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$, což je hodnota, která je běžně stanovena jako přípustná pro půdy středně hluboké (hloubka 30 – 60 cm).

Výsledkem je návrh systému organizačních, agrotechnických a technických opatření. Z organizačních opatření bylo zvoleno pásové střídání plodin, z opatření agrotechnických ochranné obdělávání půdy (protierozní pěstování kukuřice a cukrové řepy, zařazení meziplodiny) a z technických průlehy a polní cesta s protierozní funkcí (opatřená dřevinami).

Ve dvou navržených variantách protierozních opatření, které lze navzájem kombinovat, se snížil celkový odnos půdy erozí zhruba na poloviční hodnotu oproti původnímu stavu.

Opatření byla konzultována s vedoucím rostlinné výroby družstva. Všechna opatření vyžadují v první řadě především vůli zemědělců překonat nedůvěru v nové postupy a možné prvotní neúspěchy. Účelné je čerpat ze zahraničních zkušeností, které mají v případě minimalizačních technologií i pásového střídání plodin tradici několik desetiletí.

Některá opatření, která byla navržena pro ochranu proti vodní erozi, mají vliv i na snížení eroze větrné. Dále byl nastíněn systém opatření potřebných pro obnovu ochranných lesních pásů.

Návrhy opatření proti odnosu půdy vodní erozí jsou vyznačeny v mapách v přílohách VI a VII. Systém ochranných lesních pásů je vyznačen v mapě v příloze VIII a výsledky hodnocení jednotlivých prvků systému jsou shrnuty v příloze III.

LITERATURA

DOLEŽAL, P., PODHRÁZSKÁ, J., NOVOTNÝ, I. *Problémová studie „Větrná eroze půdy v Jihomoravském kraji a návrh jejího řešení“*. Brno: VÚMOP, 2005. 97 s.

JANEČEK, M. a kol. *Ochrana zemědělské půdy před erozí*. Praha: ISV nakladatelství, 2002. 201 s. ISBN-85866-85-8.

JANEČEK, M. a kol. *Ochrana zemědělské půdy před erozí. Metodika ÚTVIZ. 5/1992*.

PASÁK, V. a kol. *Ochrana půdy před erozí*. 1.vyd. Praha: SZN, 1984. 164 s.

PODHRÁZSKÁ, J., DUFKOVÁ, J. *Protierozní ochrana půdy*. Brno: MZLU v Brně, 2005. 99 s. ISBN 80-7157-856-8.

PODHRÁZSKÁ, J. a kol. *Optimalizace funkcí větrořadů v zemědělské krajině*. Praha: VÚMOP, 2008. 52 s. ISBN 978-80- 904027-1-3.

SKIDMORE, E.L. *Criteria for assesing wind erosion*. Report of an FAO/UNEP Expert Consultation, Rome, 18-20 January, 1977, FAO, Rome (Italy). Land and Water Development Div.; United Nations Environment Programme, Nairobi (Kenya) – Rome (Italy): FAO, 1977, p. 52. ISBN 92-5-100410-2.

ŠARAPATKA, B. Fyzikální degradace půdy a způsob ochrany. *Ekozemědělci přírodě*. 12/2008, s. 26-27. Dostupný z WWW: <http://www.bioinstitut.cz/documents/bio0812_ZPRAVODAJ.pdf>.

WISCHMEIER, W.H., SIMTH, D.D. *Predicting rainfall erosion losses from cropland east of the Rocky Mountains. Agric. Handbook 282*, Washington, D.C., 1978.

SEZNAM TABULEK

Tab. 9 Hodnoty faktoru erodovatelnosti půdy K podle bonitovaných půdně ekologických jednotek (BPEJ) (Podhrázká, Dufková, 2005)

Tab. 10 Hodnoty faktoru délky svahu L pro přímé svahy (Janeček a kol., 2002)

Tab. 11 Hodnoty faktoru sklonu svahu S (Janeček a kol., 2002)

Tab. 12 Vliv vzdálenosti úseku svahu od horního okraje pozemku na faktory S a K (Janeček a kol., 1992)

Tab. 13 Původní stav

Tab. 14 Varianta 1

Tab. 15 Varianta 2

Tab. 16 Hodnoty součinů faktorů půdy a klimatických regionů použitých pro výpočet potenciální erozní ohroženosti větrnou erozí (dle Podhrázké, 2008)

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha I Příklad tabelárního zpracování výpočtů faktoru C pro jednotlivé bloky půdy

Příloha II Příklad tabelárního zpracování výpočtů faktoru C pro protierozní návrhy

Příloha III Tabelární zpracování základních údajů o jednotlivých OLP

Příloha IV Obrázkové přílohy

Příloha V Landuse a ohroženost půdy vodní erozí

Příloha VI Návrh protierozních opatření – Varianta 1

Příloha VII Návrh protierozních opatření – Varianta 2

Příloha VIII Ochranné lesní pásy

PŘÍLOHY

PŘÍLOHA I

PŘÍKLAD TABELÁRNÍHO ZPRACOVÁNÍ VÝPOČTŮ FAKTORU C PRO JEDNOTLIVÉ BLOKY PŮDY

Tab. 1 Blok 8 a 28

měsíc	%R	pšenice ozimá			cukrovka			ječmen jarní			pšenice ozimá			kukuřice na zrno			ječmen jarní		
		obd.	C	%R. C	obd.	C	%R. C	obd.	C	%R. C	obd.	C	%R. C	obd.	C	%R. C	obd.	C	%R. C
IV.	0,5	3	0,4 5	0,22	2	0,80	0,40	2	0,70	0,35	3	0,45	0,22	2	0,90	0,45	2	0,75	0,38
V.	7,0	4	0,0 8	0,56	3	0,65	4,55	3	0,45	3,15	4	0,08	0,56	2	0,90	6,30	3	0,50	3,50
VI.	26, 8	4	0,0 8	2,14	4	0,30	8,04	4	0,08	2,14	4	0,08	2,14	3	0,70	18,8	4	0,08	2,14
								5	0,25	6,70							5	0,25	6,70
VII.	32, 2	4 5	0,0	0,32	4	0,30	9,66	1	0,65	20,9	4	0,08	2,57	4	0,35	11,3	1	0,65	20,9
			0,2	8,05							5	0,25	8,05						
VIII.	31, 1	1	0,6 5	20,2	4	0,30	9,33	1	0,65	20,2	1	0,70	21,8	4	0,35	10,9	1	0,65	20,2
IX.	2,0	1	0,6 5	1,30	4	0,30	0,60	1	0,65	1,30	1	0,70	1,40	4	0,35	0,70	1	0,65	1,30
X.	0,4	1	0,6 5	0,26	1	0,70	0,28	2	0,70	0,28	1	0,70	0,28	4	0,35	0,14	2	0,70	0,28
celoroční C		0,331			0,329			0,551			0,370			0,485			0,554		

Průměrná hodnota C za celý osevní postup:

0,44

Tab. 2 Blok 18

měsíc	% R	ječmen jarní			cukrovka			ječmen jarní			vojtěška			vojtěška			vojtěška		
		obd	C	%R .C	obd	C	%R .C	obd	C	%R .C	obd	C	%R .C	obd	C	%R .C	obd	C	%R .C
IV.	0,5	2	0,55	0,28	2	0,80	0,40	2	0,75	0,38	-	0,02	0,01	-	0,02	0,01	-	0,02	0,01
V.	7,0	3	0,30	2,10	3	0,65	4,55	3	0,50	3,50	-	0,02	0,14	-	0,02	0,14	-	0,02	0,14
VI.	26,8	4	0,05	1,34	4	0,30	8,04	4	0,08	2,14	-	0,02	0,54	-	0,02	0,54	-	0,02	0,54
		5	0,20	5,36				5	0,25	6,70									
VII.	32,2	1	0,65	20,9	4	0,30	9,66	-	0,02	0,64	-	0,02	0,64	-	0,02	0,64	-	0,02	0,64
VIII.	31,1	1	0,65	20,2	4	0,30	9,33	-	0,02	0,62	-	0,02	0,62	-	0,02	0,62	-	0,02	0,62
IX.	2,0	1	0,65	1,30	4	0,30	0,60	-	0,02	0,04	-	0,02	0,04	-	0,02	0,04	-	0,02	0,04
X.	0,4	1	0,65	0,26	1	0,70	0,28	-	0,02	0,01	-	0,02	0,01	-	0,02	0,01	1	0,50	0,20
celoroční C		0,518			0,329			0,140			0,020			0,020			0,022		

Průměrná hodnota C za celý osevní postup:

0,17

Tab. 3 Blok 19 a 44

měsíc	% R	ječmen jarní			cukrovka			ječmen jarní			pšenice ozimá			řepka ozimá			pšenice ozimá		
		obd	C	%R .C	obd	C	%R .C	obd	C	%R .C	obd	C	%R .C	obd	C	%R .C	obd	C	%R .C
IV.	0,5	2	0,70	0,35	2	0,80	0,40	2	0,75	0,38	3	0,45	0,23	3	0,00	0,00	3	0,45	0,23
V.	7,0	3	0,45	3,15	3	0,65	4,55	3	0,50	3,50	4	0,08	0,56	4	0,04	0,31	4	0,08	0,56
VI.	26,8	4	0,08	2,14	4	0,30	8,04	4	0,08	2,14	4	0,08	2,14	4	0,04	1,18	4	0,08	2,14
		5	0,20	5,36				5	0,25	6,70									
VII.	32,2	1	0,65	20,9	4	0,30	9,66	1	0,65	20,9	4	0,08	2,14	4	0,04	1,18	4	0,08	2,14
											5	0,20	5,36						
VIII.	31,1	1	0,65	20,2	4	0,30	9,33	1	0,65	20,2	1	0,14	4,20	1	0,65	20,2	1	0,65	20,2
IX.	2,0	1	0,65	1,30	4	0,30	0,60	1	0,65	1,30	2	0,09	0,70	1	0,65	1,30	1	0,65	1,30
X.	0,4	1	0,65	0,26	1	0,70	0,28	2	0,70	0,28	3	0,00	0,00	2	0,70	0,28	1	0,65	0,26
celoroční C		0,550			0,329			0,554			0,179			0,256			0,353		

Průměrná hodnota C za celý osevní postup:

0,37

PŘÍLOHA II

PŘÍKLAD TABELÁRNÍHO ZPRACOVÁNÍ VÝPOČTŮ FAKTORU C PRO PROTIEROZŇNÍ NÁVRHY

Tab. 1 Blok 8 a 28

měsíc	% R	pšenice ozimá			cukrovka			ječmen jarní			pšenice ozimá			kukuřice na zrno			ječmen jarní		
		obd	C	%R .C	obd	C	%R .C	obd	C	%R .C	obd	C	%R .C	obd	C	%R .C	obd	C	%R .C
IV.	0,5	3	0,45	0,23	2	0,05	0,03	2	0,70	0,35	3	0,45	0,23	2	0,05	0,03	2	0,75	0,38
V.	7,0	4	0,08	0,56	3	0,05	0,35	3	0,45	3,15	4	0,08	0,56	2	0,05	0,35	3	0,50	3,50
VI.	26,8	4	0,08	2,14	4	0,05	1,34	4	0,08	2,14	4	0,08	2,14	3	0,05	1,34	4	0,08	2,14
		5	0,04	1,07	5	0,04	1,07	5	0,04	1,07	5	0,04	1,07	5	0,04	1,07	5	0,04	1,07
VII.	32,2	4	0,08	0,32	4	0,05	1,61	5	0,04	1,29	4	0,08	2,58	4	0,05	1,61	5	0,04	1,29
		5	0,04	1,29	5	0,04	1,29	5	0,04	1,29	5	0,04	1,288	5	0,04	1,288	5	0,04	1,29
VIII.	31,1	1	0,05	1,56	4	0,05	1,56	5	0,04	1,24	1	0,05	1,56	4	0,05	1,56	5	0,04	1,24
IX.	2,0	1	0,05	0,10	4	0,05	0,10	1	0,65	1,30	1	0,05	0,10	4	0,05	0,10	1	0,65	1,30
X.	0,4	1	0,05	0,02	1	0,70	0,28	2	0,70	0,28	1	0,05	0,02	4	0,05	0,02	2	0,70	0,28
celoroční C		0,062			0,053			0,108			0,085			0,050			0,112		

Průměrná hodnota C za celý osevní postup:

0,08

Tab. 2 Blok 19 a 44

měsíc	% R	ječmen jarní			cukrovka			ječmen jarní			pšenice ozimá			řepka ozimá			pšenice ozimá		
		obd	C	%R .C	obd	C	%R .C	obd	C	%R .C	obd	C	%R .C	obd	C	%R .C	obd	C	%R .C
IV.	0,5	2	0,70	0,35	2	0,05	0,03	2	0,75	0,38	3	0,45	0,23	3	0,05	0,03	3	0,45	0,23
V.	7,0	3	0,45	3,15	3	0,05	0,35	3	0,50	3,50	4	0,08	0,56	4	0,04	0,32	4	0,08	0,56
VI.	26,8	4	0,08	2,14	4	0,05	1,34	4	0,08	2,14	4	0,08	2,14	4	0,04	1,28	4	0,08	2,14
		5	0,04	1,07	5	0,04	1,07	5	0,04	1,07	5	0,04	1,07	5	0,04	1,07	5	0,04	1,07
VII.	32,2	1	0,05	1,56	4	0,05	1,56	5	0,04	1,29	4	0,08	2,58	4	0,04	1,28	4	0,08	2,58
		5	0,04	1,29	5	0,04	1,29	5	0,04	1,29	5	0,04	1,29	5	0,04	1,29	5	0,04	1,29
VIII.	31,1	1	0,05	1,56	4	0,05	1,56	5	0,04	1,24	5	0,04	1,24	1	0,65	1,30	5	0,04	1,24
		5	0,04	1,24	5	0,04	1,24	5	0,04	1,24	5	0,04	1,24	5	0,04	1,24	5	0,04	1,24
IX.	2,0	1	0,05	0,10	4	0,05	0,10	5	0,04	0,8	2	0,09	0,17	1	0,65	1,30	5	0,04	0,8
X.	0,4	1	0,05	0,02	1	0,70	0,28	2	0,70	0,28	3	0,05	0,02	2	0,70	0,28	5	0,04	0,02
celoroční C		0,100			0,053			0,100			0,082			0,256			0,081		

Průměrná hodnota C za celý osevní postup:

0,11

Tab. 3 Blok 25

měsíc	% R	vojtěška			vojtěška			vojtěška			pšenice ozimá			jetmen jarní			kukuřice na zrno		
		obd .	C	%R .C	obd .	C	%R .C	obd .	C	%R .C	obd .	C	%R .C	obd .	C	%R .C	obd .	C	%R .C
IV.	0,5	-	0,02	0,01	-	0,02	0,01	-	0,02	0,01	3	0,30	0,15	2	0,70	0,35	2	0,05	0,03
V.	7,0	-	0,02	0,14	-	0,02	0,14	-	0,02	0,14	4	0,05	0,35	3	0,45	3,15	2	0,05	0,35
VI.	26,8	-	0,02	0,53	-	0,02	0,53	-	0,02	0,53	4	0,05	1,34	4	0,08	2,14	3	0,05	1,34
VII.	32,2	-	0,02	0,64	-	0,02	0,64	-	0,02	0,64	4	0,05	1,61	1	0,05	1,61	4	0,05	1,61
											5	0,20	6,44						
VIII.	31,1	-	0,02	0,62	-	0,02	0,62	-	0,02	0,62	m	0,05	1,56	1	0,05	1,56	4	0,05	1,56
IX.	2,0	-	0,02	0,04	-	0,02	0,04	1	0,50	1,00	m	0,05	0,10	1	0,05	0,10	4	0,05	0,10
X.	0,4	-	0,02	0,01	-	0,02	0,01	2	0,55	0,22	m	0,05	0,02	1	0,05	0,02	4	0,05	0,02
celoroční C		0,020			0,020			0,032			0,116			0,156			0,050		

Průměrná hodnota C za celý osevní postup:

0,07

PŘÍLOHA III

TABELÁRNÍ ZPRACOVÁNÍ ÚDAJŮ O JEDNOTLIVÝCH VĚTROLAMECH

Číslo OLP	Délka	Šířka	Dřeviny	Zastoupení v %
1	1550	15	<i>Fraxinus excelsior</i>	60
			<i>Populus nigra</i>	20
			<i>Tilia cordata</i>	10
			<i>Juglans nigra</i>	10
keř. p.	plně vyvinuté		<i>Euonymus europaeus, Sambucus nigra, Ligustrum vulgare, Amorpha fruticosa</i>	
2	450	14	<i>Fraxinus excelsior</i>	50
			<i>Acer negundo</i>	40
			<i>Acer pseudoplatanus</i>	10
			keř. p.	plně vyvinuté
3	1100	20	<i>Acer negundo</i>	70
			<i>Acer pseudoplatanus</i>	20
			<i>Populus nigra</i>	10
			keř. p.	plně vyvinuté
4	2050	22	<i>Acer pseudoplatanus</i>	50
			<i>Acer negundo</i>	30
			<i>Populus nigra</i>	20
			keř. p.	plně vyvinuté
5	1350	25	<i>Acer negundo</i>	95
			<i>Acer pseudoplatanus</i>	5
			keř. p.	plně vyvinuté
6	830	15	<i>Acer negundo</i>	90
			<i>Acer pseudoplatanus</i>	10

kef. p.	stř. vyvinuté		<i>Sambucus nigra</i>	
7	800	13	<i>Acer pseudoplatanus</i>	50
			<i>Acer negundo</i>	30
			<i>Populus nigra</i>	20
kef. p.	plně vyvinuté		<i>Ailanthus altissima, Ligustrum vulgare, Caragana arborescens, Sambucus nigra, Prunus spinosa</i>	
8	1220	20	<i>Fraxinus excelsior</i>	50
			<i>Acer negundo</i>	25
			<i>Acer pseudoplatanus</i>	20
			<i>Tilia cordata</i>	5
kef. p.	málo vyvinuté, místy nevyvinuté		<i>Ligustrum vulgare</i>	
9	1600	15	<i>Tilia cordata</i>	70
			<i>Fraxinus excelsior</i>	10
			<i>Acer pseudoplatanus</i>	10
			<i>Quercus robur</i>	10
kef. p.	plně vyvinuté		<i>Caragana arborescens</i>	
10	1100	22	<i>Acer negundo</i>	50
			<i>Acer pseudoplatanus</i>	30
			<i>Fraxinus excelsior</i>	15
			<i>Tilia cordata</i>	5
kef. p.	vyvinuté jen místy		<i>Ligustrum vulgare</i>	
11	1400	12	<i>Tilia cordata</i>	70
			<i>Juglans nigra</i>	30
kef. p.	stř. vyvinuté		<i>Caragana arborescens</i>	
12a	1200	15	<i>Juglans nigra</i>	60
			<i>Tilia cordata</i>	30
			<i>Quercus robur</i>	10
kef. p.	málo vyvinuté		<i>Euonymus europaeus, Sambucus nigra, Caragana arborescens, Ligustrum vulgare</i>	
12b	1200	15	<i>Juglans nigra</i>	70
			<i>Quercus robur</i>	15
			<i>Acer negundo</i>	15
kef. p.	nevyvinuté			
13	1060	23	<i>Quercus robur</i>	60
			<i>Acer negundo</i>	40
kef. p.	plně vyvinuté		<i>Sambucus nigra, Amorpha fruticosa</i>	
14	1220	20	<i>Tilia cordata</i>	60
			<i>Acer negundo</i>	40
kef. p.	plně vyvinuté		<i>Sambucus nigra</i>	
15	1950	20	<i>Tilia cordata</i>	50
			<i>Fraxinus excelsior</i>	40
			<i>Quercus robur</i>	5
			<i>Populus nigra</i>	5
kef. p.	plně vyvinuté		<i>Euonymus europaeus, Caragana arborescens, Sambucus nigra</i>	
16	1260	22	<i>Tilia cordata</i>	50
			<i>Fraxinus excelsior</i>	35
			<i>Quercus robur</i>	15
kef. p.	plně vyvinuté		<i>Sambucus nigra, Amorpha fruticosa</i>	
17	1500	21	<i>Acer negundo</i>	70

			<i>Acer pseudoplatanus</i>	30
keř. p.	plně vyvinuté		<i>Euonymus europaeus</i>	
18	670	16	<i>Fraxinus excelsior</i>	50
			<i>Acer pseudoplatanus</i>	45
			<i>Ulmus laevis</i>	5
keř. p.	stř. vyvinuté		<i>Euonymus europaeus, Caragana arborescens</i>	
19	1620	20	<i>Fraxinus excelsior</i>	40
			<i>Tilia cordata</i>	30
			<i>Quercus robur</i>	20
			<i>Acer pseudoplatanus</i>	10
keř. p.	málo vyvinuté		<i>Caragana arborescens, Sambucus nigra</i>	
20	640	20	<i>Fraxinus excelsior</i>	50
			<i>Acer negundo</i>	30
			<i>Tilia cordata</i>	20
keř. p.	vyvinuté		<i>Euonymus europaeus, Sambucus nigra, Amorpha fruticosa, Ligustrum vulgare</i>	

PŘÍLOHA IV OBRÁZKOVÉ PŘÍLOHY

Obr. 1 OLP 8 – nefunkční část

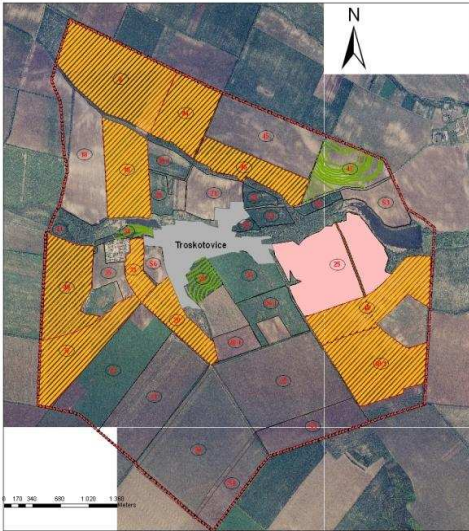


Obr. 2 OLP 12a – prodouvaný bez keřového patra



Obr. 3 OLP 5 – „ošetření“ dřevin zasahujících do evidované orné půdy



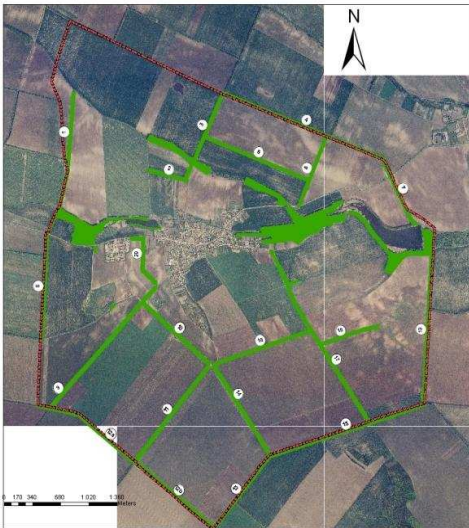


PŘÍLOHA VII NÁVRH PROTIEROZNÍCH OPATŘENÍ - VARIANTA 2

Vypracovala Zdeňka Lipovská
Podkladovou ortofotomapu
zapůjčil Zeměměřičský úřad

LEGENDA

- příjezd
- povolené stáčení plochy
- rovina pomezí i místa s pažetou
- proterozní přístavové kulturní + zřídlení mezoprostoru před paláci



PŘÍLOHA VIII OCHRANNÉ LESNÍ PÁSY

Vypracovala Zdeňka Lipovská
Podkladovou ortofotomapu
zapůjčil Zeměměřičský úřad

LEGENDA

- OLP
- les

APPLICATION LIFE CYCLE ASSESSMENT OF INDUSTRIAL FLOORS IN AGRICULTURAL PRODUCTION

Malý K., Kotovicová J.

Department of Applied and Landscape Ecology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: kmaly@centrum.cz

ABSTRACT

The article is concerned with problems in the application of the life cycle analysis (LCA) method in the course of production of floor systems for agricultural and industrial premises. The process was based on international norms, and within the interpretation of results the method of multi-criterion evaluation was used to achieve higher objectivity.

For the purpose of this research, floors on the base of concrete, dry-shake and asphalt have been selected from a wide range of different floors as they are commonly considered the most often used and sold ones. Taking solely the environmental aspect into consideration, the production of classical concrete floors has proved to cause the least environment damage, the dry-shake floors cause slightly higher environment damage and the asphalt floors, as regards this aspect, seem to be the least suitable.

The obtained results along with the proposed method can be useful criteria for decision-making processes within the incorporation of environmental safety of similar construction methods.

Key words: asphalt, concrete, dry-shakes, industrial floors, agricultural premises, LCA.

ÚVOD

Díky rostoucímu povědomí veřejnosti o kvalitě životního prostředí a postupné aplikaci nástrojů environmentální politiky, lze pozorovat zvyšující se zájem průmyslových podniků, ale i laické veřejnosti o sledování environmentálních dopadů výroby a služeb na životní prostředí, a také snahu o jejich minimalizaci. Reakcí na vzniklou situaci byl vývoj různých metod a přístupů k hodnocení dopadů výroby a služeb na životní prostředí, který lze datovat do počátku 60. let. Cílem těchto snah je zvolit, propagovat a realizovat ekologicky nejpříznivější výrobek nebo pracovní postup. Vyvinuté metody však vyžadovaly značné množství informací a často také poskytovaly odlišné a nesrovnatelné výsledky. K provedení kompletní charakteristiky environmentálních dopadů chování lidské společnosti bylo nutno sjednotit dosud používané metodiky a vytvořit víceméně jednotný aparát, který je dnes znám pod názvem posuzování životního cyklu – LCA (Life Cycle Assessment). Tato metoda studuje environmentální aspekty výroby a její možné dopady na životní prostředí v průběhu celého života výrobku, od získání surovin, přes výrobu, užívání až po zneškodnění a nakládání s odpadem, tzv. „od kolébky do hrobu“.

CÍL PRÁCE

Pro tento výzkum byla z celé řady aspektů vybrána podlaha na bázi betonu, asfaltu a vsypů. Byl vybrán pouze tento úzký výběr tří typů průmyslových podlah z hlediska podrobnější analýzy těchto třech druhů. A to z důvodu, že pokud by se srovnávalo více druhů průmyslových podlah, nedosáhlo by se tak velké a podrobné analýzy, jako v tomto případě. Vybrány byly tři typy průmyslových podlah, které jsou obecně považovány za nejpoužívanější a z hlediska výrobních firem za nejprodávanější. Betonové a asfaltové podlahy byly v minulosti i dnešní době jsou hojně využívány zvláště do zemědělských objektů pro jejich nenáročnost a relativně nízké pořizovací náklady. Vsypy byly vybrány, poněvadž jsou hojně využívány, a patří mezi typy průmyslových podlah, které mají dlouhou životnost s ohledem na vyšší vstupních nákladů.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Využití metody LCA předpokládá s pomocí input-output analýzy zhodnotit surovinové a energetické vstupy včetně zatížení životního prostředí v průběhu jejich získávání, vlastní výroby a odstranění produktu. Tak lze kvantifikovat surovinové a energetické toky vztažené na jednotku výrobku, spolu s množstvím emitovaných látek a energií do jednotlivých složek životního prostředí, počínaje získáváním surovin a konče odstraněním výrobku.

V předkládané práci jsou hranice systému v souladu s příslušnou normou² omezeny výhradně na environmentální posouzení technologie výroby a odstranění odpadu, zatímco environmentální aspekty spojené s těžbou surovin byly zanedbány. Důvodem byla neznalost energetických a materiálových toků v průběhu získávání surovin.

Pokud se týká narušení krajiny těžbou surovin, lze konstatovat, že v mnoha případech je lokalita po těžbě z hlediska životního prostředí dokonce cennější, než před počátkem těžby. Důvodem je fakt, že v rámci technické rekultivace jsou zde budovány vodní plochy, zakládány lesní porosty, zpevňovány

běhy apod., které jsou začleňovány do okolní krajiny vše v návaznosti na regionální biokoridory v daném území. Proto ani narušení krajiny těžbou surovin nebyl v rámci životního cyklu zvažován.

Do hranic posuzovaného systému byla naopak zahrnuta spotřeba elektrické energie a pohonných hmot. Vzhledem k tomu, že smyslem článku nebylo detailně analyzovat posuzovaný systém, nýbrž předložit čtenáři obecný postup aplikace LCA na konkrétní výrobní proces, jako vzor využití v rozhodovacím procesu, byla v rámci hodnocení provedena určitá zjednodušení:

- a) Předpokládalo se, že veškerá spotřebovaná energie je vyrobena v tepelných elektrárnách;
- b) Ze škodlivin emitovaných při výrobě elektrické energie byly hodnoceny pouze emise CO₂, zatímco od emisí dalších polutantů (CO, NO_x, SO₂, tuhé znečišťující částice aj.), které při výrobě elektrické energie termickým způsobem vznikají, bylo absentováno.
- c) Analogické zjednodušení bylo provedeno i při hodnocení zátěže životního prostředí v důsledku emisí vzniklých při spalování pohonných hmot. Opět byly pro přehlednost zvažovány výhradně emise CO₂, přestože spaliny obsahují jiné polutanty (SO₂, CO, NO_x, C_xH_y, PM2,5, PM10), které zatěžují životní prostředí často relevantně vyšším dopadem, jako jsou například ozon nebo polycyklické aromatické uhlovodíky.

Použitý beton ztrácí po určité době vlastnosti, které měl při své pokládce, protože dochází k jeho korozi. Jde o degradaci spojenou se ztrátou pevností, delaminace výztuže, vzniku trhlin apod. Vlivem provozu dochází rovněž k opotřebení v podobě výtlučků, trhlin aj. Je tudíž nezbytné podlahy časem recyklovat nebo reparovat a to buď formou odstranění a následné recyklace nebo sanace (pomocí stěrky nebo nové vrstvy betonu). Proto i tato fáze životního cyklu byla akceptována s obdobnými zjednodušeními, jako tomu bylo v případě vlastní výroby.

MATERIÁL A METODIKA

Potřebná data o jednotlivých tocích v hodnocených systémech byla získána z podnikových evidencí, technologických popisů, výpočty s využitím emisních faktorů, z evidence vedené firemním ekologem a metodou on-site interview. Pro potřeby inventarizační analýzy byla hodnota spotřebované energie, pohonných hmot a vzniklých odpadů pro jednotlivé fáze výroby a odstranění kalkulována z reprezentativní plochy 1000 m² podlahy a pro další zpracování přepočtena na jeden m². Hodnoty emisí CO₂ byly vypočteny na základě odpovídajících emisních faktorů^{5, 6, 7} a hluková zátěž odečtena z katalogů výrobců stavebních strojů a zařízení.

Příslušné hodnoty včetně sumace jsou přehledně prezentovány v tabulce 4 pro výrobu betonové podlahy, v tabulce 5 betonové podlahy se vsypem a v tabulce 6 pro výrobu asfaltové podlahy. Hodnoty uvedené v kolonce odpadů se při výrobě betonových směsí týkají odpadní hlušiny, pro kterou se nepředpokládá další využití, analogicky jako pro odpad asfaltu při odstraňování staré podlahy. V tabulce 1 je výčet výhod a nevýhod jednotlivých posuzovaných podlah.

Rozsah operací je vzhledem k rozdílům v technologických postupech stanoven zvlášť pro výrobu betonu, vsypů i asfaltu. Následující tabulky č. 2 a 3 zobrazují seznam operací a jejich charakteristiku tak, jak byla uvedena a popsána v odpovídajících technologických dokumentech. Červeně jsou zobrazeny ty operace, které se vyskytují u výroby vsypů.

Tab. 1 Výhody a nevýhody porovnávaných průmyslových podlah

	Beton	Vsypy	Asfalt
Výhody	cena	vysoká životnost	odolnost proti opotřebení
	pevnost	odolnost proti obrusu	tlumí hluk
	tuhost	bezprašnost	vodotěsný
	rovinnost		odolný proti střídání tepla a mrazu
Nevýhody	prašnost	technologická náročnost	deformace
	nízká odolnost v obrusu	cena	další rekonstrukce pouze asfaltem
	nasákavost		teplná nestálost

Tab. 2 Seznam operací a jejich charakteristika podle technologického popisu (TP) pro výrobu betonu a vsypů

Operace podle technologického předpisu	činnost
sběr a odvoz ornice	práce dělníků a těžké techniky
dovoz kameniva a jeho rozvoz	práce dělníků a těžké techniky
hutnění, izolace geotextílie, fólie	úprava a nanesení folií
míchání a dovoz betonu	nákladní automobil hotovou směs míchá a následně ji přiveze na místo určení
Zpracování betonu	beton „rozprostře se„ na místo určení
strojní hlazení, fáze tuhnutí	lidská obsluha
sypání vsypu	na rozlitý beton se vsype směs (vsyp)
hlazení, leštění	přístroje leští určenou plochu
těsnící nátěr	práce dělníků
řezání podlahy	vyřezání částí podlahy (např. 15 cm vrstva, vyřeže se 10 cm)
provoz	
poruchy + opotřebení	působení různých vlivů a ztráta kvality podlahy
likvidace	odstranění povrchu či zanechání podlahy pro další využití

Tab. 3 Seznam operací a jejich charakteristika podle technologického popisu (TP) pro výrobu asfaltu

Operace podle technologického předpisu	Činnost
sběr a odvoz ornice	práce dělníků a těžké techniky
dovoz kameniva a jeho rozvoz	práce dělníků a těžké techniky
úprava povrchu	práce dělníků a těžké techniky
namíchání asfaltu	těžká speciální technika připravující obalovací směs
fáze tuhnutí	po nanesení se uhladí a tuhne
užívání	
opotřebení	časté využití vede ke ztátě kvality
vyřezování celého povrchu a odvoz	část povrchu se vyjme a nahradí novou asfaltovou vrstvou
použití jako podklad pro další úpravu povrchu	ponechá se původní a na ni se položí další vrstva

Tab. 4 Inventarizační matice pro výrobu betonu

Technologické operace	VSTUPY			VÝSTUPY		
	Benzín [dm ³ .m-2]	Nafta [dm ³ .m-2]	Elektrická energie [kWh.m-2]	Emise CO ₂ [g.m-2]	Hluk [dB]	Odpad [kg.m-2]
Sběr zeminy	-	0,03200	-	84,34944	0,10700	-
Odvoz zeminy	-	0,19425	-	512,02746	0,08500	4,00000
Dovoz kameniva	-	0,16650	-	438,88068	0,08500	-
Rozvoz kameniva	-	0,01300	-	34,26696	0,10700	-
Hutnění kameniva	-	0,00500	-	13,17960	0,06300	-
Míchání betonu	-	-	0,13135	0,15368	-	0,07600
Dovoz betonu	-	0,17760	-	468,13939	0,08500	0,12000
Pokládka betonu	-	-	0,08750	0,10238	0,07300	0,15000
Vibrování betonu	-	-	0,00150	0,00176	0,03000	0,00200
Hlazení	0,06000	-	-	138,46050	-	0,00200
Řezání dilatačních spár	0,02420	-	-	55,84574	0,10800	-
Odstranění	-	0,05200	-	137,06784	0,11000	375,00000
Vážený průměr	-	-	-	-	0,09343	-
Celkem	0,08420	0,64035	0,22035	1 882,47542		379,35000

Tab. 5 Inventarizační matice pro výrobu betonu se vsypem

Technologické operace	VSTUPY			VÝSTUPY		
	Benzín [dm ³ .m-2]	Nafta [dm ³ .m-2]	Elektrická energie [kWh.m-2]	Emise CO ₂ [g.m-2]	Hluk [dB]	Odpad [kg.m-2]
Sběr zeminy	-	0,03200	-	84,34944	0,10700	-
Odvoz zeminy	-	0,19425	-	512,02746	0,08500	4,00000
Dovoz kameniva	-	0,16650	-	438,88068	0,08500	-
Rozvoz kameniva	-	0,01300	-	34,26696	0,10700	-
Hutnění kameniva	-	0,00500	-	13,17960	0,06300	-
Míchání betonu	-	-	0,13135	0,15368	-	0,07600
Dovoz betonu	-	0,17760	-	468,13939	0,08500	0,12000
Pokládka betonu	-	-	0,08750	0,10238	0,07300	0,15000
Vibrování betonu	-	-	0,00150	0,00176	0,03000	0,00200
Aplikace vsypu	-	-	-	-	-	-
Rozprašování emulzí	0,00500	-	-	11,53838	-	-
Hlazení	0,06000	-	-	138,46050	-	0,00200
Řezání dilatačních spár	0,02420	-	-	55,84574	0,10800	-
Odstranění	-	0,05200	-	137,06784	0,11000	375,00000
Vážený průměr	-	-	-	-	0,09343	-
Celkem	0,08920	0,64035	0,22035	1 894,01380		379,35000

Tab. 6 Inventarizační matice pro výrobu asfaltu

Technologické operace	VSTUPY			VÝSTUPY		
	Zemní plyn [m ³ .m ⁻²]	Nafta [dm ³ .m ⁻²]	Elektrická energie [kWh.m ⁻²]	Emise CO ₂ [g.m ⁻²]	Hluk [dB]	Odpad [kg.m ⁻²]
Sběr zeminy	-	0,032	-	84,34944	0,10700	-
Odvoz zeminy	-	0,19425	-	512,02746	0,08500	4,00000
Dovoz kameniva	-	0,1665	-	438,88068	0,08500	-
Rozvoz kameniva	-	0,013	-	34,26696	0,10700	-
Hutnění kameniva	-	0,005	-	13,1796	0,06300	-
Míchání asfaltu	1,25000	-	0,12600	69,52242	-	-
Dovoz asfaltu	-	0,1776	-	468,139392	0,08500	-
Pokládka asfaltu	-	0,054	-	142,33968	0,08600	-
Válcování asfaltu	-	0,026	-	68,53392	0,07400	-
Odstranění	-	0,068	-	179,24256	0,10200	250,0000 0
Vážený průměr	-	-	-	-	0,08659	-
Celkem	1,25000	0,73635	0,12600	2010,482112		254,0000 0

Pro komplexní posouzení environmentálních dopadů hodnocených variant, označených jako X₁ - betonová podlaha, X₂ - betonová podlaha se vsypem a X₃ - asfaltová podlaha byla zvolena metoda vícekritériálního hodnocení. Jako kritéria byla zvolena, kritérium A₁ reprezentující sumární hodnotu spotřebovaných pohonných hmot, zatěžujících životní prostředí těžbou fosilní suroviny, ropy, kritérium A₂ představující sumární hodnotu příspěvku ke skleníkovému efektu CO₂ vzniklého spalováním pohonných hmot a výrobou elektrické energie, kritérium A₃ značící sumární hodnotu vyprodukovaného odpadu a konečně kritérium A₄, které reprezentuje vážený průměr hlukové zátěže, ve kterém váhy tvořily průměrnou dobu provozu jednotlivých strojů pro jednotlivé hodnocené fáze.

Váhy jednotlivých kritérií byly získány jako vážený průměr bodových hodnot získaných pomocí brainstormingu v pracovním kolektivu tří osob. Zainteresované osoby stanovily pro každé kritérium bodové ohodnocení z intervalu <1; 5> přirozených čísel, přičemž vyšší hodnota bodového ohodnocení reprezentuje, že kritérium je pro danou osobu významnější. Přehled bodového ohodnocení je evidentní z tabulky 4 a výpočet jednotlivých vah pro uvažovaná kritéria je patrný z tabulky 5.

Tab. 7 Přehled bodového ohodnocení kritérií

Označení kritéria*	Osoba 1	Osoba 2	Osoba 3
A ₁	5	4	5
A ₂	4	3	3
A ₃	3	3	3
A ₄	1	1	1
CELKEM	13	11	12

A₁ – sumární hodnota spotřeby pohonných hmot; A₂ – sumární hodnota příspěvku ke skleníkovému efektu CO₂; A₃ – sumární hodnota produkce odpadu; A₄ – vážený průměr hlukové zátěže;

Tab. 8 Výpočet vah stanovených kritérií

Kritérium (vij)	Osoba 1	Osoba 2	Osoba 3		Celková váha (vi)
A1	0,385	0,364	0,417	1,166	0,390
A2	0,308	0,273	0,250	0,831	0,277
A3	0,231	0,273	0,250	0,754	0,250
A4	0,077	0,091	0,083	0,251	0,083

Každá úloha vícekritériálního hodnocení je charakterizována tzv. kritériální maticí, kde v našem případě sloupce odpovídají kritériím A₁ - A₄ a řádky hodnoceným variantám X₁, X₂ a X₃. Prvky matice vyjadřují ohodnocení i-té varianty podle j-tého kritéria a ve všech případech jsou minimalizační. Kritériální matice má následující tvar:

$$Y = \begin{matrix} & \begin{matrix} A_1 & A_2 & A_3 & A_4 \end{matrix} \\ \begin{matrix} X_1 \\ X_2 \\ X_3 \end{matrix} & \begin{bmatrix} 0,724 & 1\,882 & 379,350 & 93,43 \\ 0,729 & 1\,894 & 379,350 & 93,43 \\ 1,986 & 2\,010 & 254,000 & 86,59 \end{bmatrix} \end{matrix}$$

Dále je nutno stanovit ideální a bazální variantu. Ideální variantou se rozumí hypotetická nebo reálná varianta, která dosahuje ve všech kritériích nejlepší možné hodnoty. V zadané úloze je ideální variantou vektor H = (0,724; 1 882; 254,0; 86,59) a bazální variantou vektor D = (1,986; 2 010; 379,35; 93,43).

Dále je nezbytné z jednotlivých prvků y_{ij} matice Y kalkulovat odpovídající prvky z_{ij} normalizované matice Z s využitím bazální, d_j a ideální h_j varianty dle vztahu (1)

$$z_{ij} = (y_{ij} - h_{ij}) \cdot (d_j - h_j)^{-1} \quad (1)$$

$$Z = \begin{bmatrix} 0 & 0 & 1 & 1 \\ 0,003961965 & 0,09375 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 0 & 1 \end{bmatrix}$$

S využitím znalosti vah jednotlivých kritérií v_j (viz tabulka 5) a prvků z_{ij} normalizované matice Z se vypočte hodnota váženého součtu $u(x_i)$ pro jednotlivé varianty x_i , kde $i \in \{1; 3\}$ přirozených čísel dle rovnice (2):

$$u(x_i) = \sum_{j=1}^n z_{ij} \cdot w_j \quad (2)$$

Varianta podlahových systémů s minimálním environmentálním dopadem bude varianta s minimální hodnotou váženého součtu, protože byla aplikována minimalizační kritéria. Pro jednotlivé hodnoty $u(x_i)$ vážených součtů platí:

$$u(x_1) = 0,333$$

$$u(x_2) = 0,361$$

$$u(x_3) = 0,667$$

ZÁVĚR

Cílem této studie bylo na konkrétním příkladu z technologické praxe ukázat možnosti aplikace metodiky životního cyklu za účelem ekologizace výroby a snížení zátěže životního prostředí. Cíl se v podstatných rysech splnilo naplnit. Bylo prokázáno, že metodologie LCA je využitelná pro srovnání environmentálních impaktů tří technologických procesů. Řešení práce však komplikovalo několik skutečností, mezi něž patří zejména neexistence obdobných materiálů v dostupné literatuře a dále pak nedostupnost některých údajů z partnerské firmy, které jsou předmětem obchodního tajemství. Velkou překážkou bylo také obtížné získávání konkrétních požadovaných informací od výrobců stavebních strojů a mechanizací. Předpokladem splnění primárního cíle bylo naplnění cílů sekundárních. Mezi nimi bylo nejkomplicovanější získání potřebných dat a jejich následný přepočet na stanovenou funkční jednotku, kdy v některých případech bylo nutno využít kvalifikovaného odhadu odborných pracovníků.

Výsledky prokázaly, že optimální variantou je technologie výroby betonových podlah. Jako druhá neoptimálnější varianta je technologie výroby vsypových podlah a jako třetí je technologie asfaltových podlah.

V současnosti stále není stanoven jednotný metodický postup, který by hodnocení vlivů upravoval. Relevantní část úvah byla tedy založena na subjektivním přístupu zpracovatele, který byl diskutován s experty v daných oblastech v teoretické i praktické rovině.

K rozhodovacímu procesu, do kterého se dostávají především investoři, jsou však nutné další aspekty, zejména ekonomické informace týkající se hlavně provozních a investičních nákladů, popř. velikosti trhu, dále pak možné sociální dopady a bezpečnostní opatření. Velmi důležitým kritériem, které při rozhodovacím procesu je nutno zohlednit je celková životnost výrobku, v tomto příkladu podlah v zemědělských objektech. U betonových podlah se uvažuje s životností cca 30 let. Vyspová úprava betonových podlah finančně zvyšuje náklady na realizaci podlahy (cca o 60 – 100 Kč/m²), nicméně vysoce zvyšuje technické vlastnosti výsledného výrobku, především odolnost proti vnějším vlivům, trvanlivost a únosnost. Díky této úpravě vsypové podlahy dosahují mnohem delší životnosti než běžné betonové podlahy. U asfaltových podlah se uvažuje s životností cca 25 let.

Předpokládané využití výsledků získaných řešením této studie je v managementu dané firmy pro další zkvalitnění ekologicko - ekonomických charakteristik technologií výroby podlah v zemědělských objektech. Výsledky studie poskytují současně i primární návod pro použití metodiky LCA v oblasti technologie výroby různých průmyslových podlah.

LITERATURA

OBRŠÁLOVÁ, I., MACHAČ, O. Ekonomika a řízení tvorby a ochrany životního prostředí, Vysoká škola chemicko-technologická v Pardubicích, Pardubice 1993

ČSN EN ISO 14040: Environmentální management – Posuzování životního cyklu – Zásady a osnova, Český normalizační institut 1998.

http://www.panbex.cz/data/tech_data/IU_Cds_cz_12.pdf, staženo 2. března 2009

BOŽEK, F., URBAN, R., ZEMÁNEK, Z. Recyklace, MORAVIATISK Vyškov s. r. o., Pustiměř 2003

<http://www.cpu.cz/webmagazine/kategorie.asp?idk=179>, staženo 27. srpna 2009

<http://www.mpo.cz/dokument6794.html>, staženo 27. srpna 2009

<http://www.cdv.cz/podil-dopravy-na-produkci-sklenikovych-plynu/>, staženo 27. srpna 2009

Bičík, J., Dohnal, J.: Sanace betonových konstrukcí, Jaga group, Bratislava 2003, ISBN 80-88905-24-9

Aitcin, P. C. : Vysokohodnotný beton, Edice betonové stavitelství, Praha 2005, ISBN 80-86769-39-9

BODNÁROVÁ L.: Kompozitní materiály ve stavebnictví, VUT v Brně FAST 2002, ISBN 80-214-2266-1

ČSN EN ISO 14042 Environmentální management – Posuzování životního cyklu – Hodnocení dopadů životního cyklu. Český normalizační institut. 2001.

DROCHYTKA, R.: Atmosférická koroze betonů, IKAS Praha 1998 ISBN 80-902558-0-9

Kotovicová, J. a kol.: Odpady biodegradabilní - energetické a materiálové využití - III. ročník konference. 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2008. 109 s. ISBN 978-80-7375-229-3

MALÝ, K.: Životní cyklus průmyslových podlah pro zemědělství a potravinářství, Sborník Manažérstvo životného prostredia, Materiálovotechnologická fakulta Slovenskej technickej univerzity v Trnave, 2008 ISBN 80-89281-02-08

RUSKO, M., KURACINA, R., KOTOVICOVÁ, J., - KREČMEROVÁ, T. : Kapitoly z bezpečnostného a environmentálneho manažérstva. - Žilina: Strix et VeV, Edícia EV-20, Prvé slovenské vydanie, ISBN 978-80-89281-17-6. 2007

Státní politika životního prostředí (dokument schválený vládou ČR). Praha. MŽP ČR. 1999.

Svoboda, L. a kol.: Stavební hmoty, Bratislava 2007, Jaga group, ISBN 978-80-8076-057-1

VÁLEK J.: Vliv rozptýlené výztuže na vybrané vlastnosti betonu, Brno 2007

BUFFERING ABILITY OF SOIL TYPES REGOSOL AND PHAEOZEMS

Martinec J.

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

E-mail: xmartin9@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 regosols (RG) and phaeozems (PH). Other monitored soil properties included pH/H₂O, pH/KCl, Cox, Q4/6.

Samples of individual soil types were collected in eight localities largely with arable soil. The soil samples were taken at depths equivalent to the depth of topsoil.

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 regosols has the lowest. Regosols, on the other hand, has the best ability to buffer bases, while phaeozems has the worst.

Key words: soil, buffering ability, chemical soil properties

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

Tlumivost půdy je její schopnost udržovat svou reakci (pH) při přidávání roztoků kyselin nebo zásad. Je tak jedním z předpokladů trvale udržitelného hospodaření na intenzivně i extenzivně obhospodařovaných půdách (PLÁT A KOL., 2008).

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

Tato schopnost závisí na celé řadě faktorů. Mezi nejdůležitější řadíme obsah a kvalitu koloidní frakce, stupeň nasycení sorpčního půdního komplexu, obsah karbonátů, množství organické hmoty a její kvalita 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 zásaditě působících průmyslových hnojiv (JANDÁK A KOL., 2003).

Naším cílem bylo sledování dvou rozdílných půdních typů (regozem a černice), měření jejich pufovačnické síly a hledání významných statistických korelací mezi jednotlivými půdními vlastnostmi. Dalšími sledovanými půdními vlastnostmi byly: pH/H₂O, pH/KCl, C_{ox}, Q_{4/6}, půdní zrnitost, resp. množství jílnatých částic (částice menší než 0,01 mm).

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky jednotlivých půdních typů byly odebrány celkem na 8 lokalitách, na území České republiky. Vždy se jednalo o ornou půdu a byly odebírány z profilu odpovídajícího mocnosti ornice, tedy hloubky jejího základního zpracování.

Odebraly se 4 vzorky půdního typu regozem (RG) a 4 vzorky půdního typu černice (CC). Následovalo jejich sušení a prosévání přes 2 mm síto dle pokynů uvedených v metodice pracovních postupů (ZBÍRAL A KOL., 1997). Vzniklá jemnozem pak již byla využívána k jednotlivým analýzám.

Stanovení **aktivní** půdní reakce (pH/H₂O) - zjišťujeme potenciometrickým měřením koncentrace H⁺ ve vodní suspenzi. Tato forma kyselosti se nejvíce vyskytuje v půdách odvápněných, sorpčně nenasyčených s vysokým podílem adsorbovaných iontů H⁺ a Al³⁺.

Stanovení **výměnné** půdní reakce (pH/KCl) - draselnými ionty se vytěsní ionty vodíku poutané sorpčním komplexem půdy a elektrometricky se změří výměnná reakce půdy (pH/KCl) (POKORNÝ A DENEŠOVÁ, 2005).

Stanovení **oxidovatelného uhlíku** (C_{ox}) – oxidovatelný organicky vázaný uhlík v zemině se oxiduje kyselinou chromovou (dvochromanem draselným) v prostředí nadbytku kyseliny sírové za definovaných podmínek. Nespotebovaná kyselina chromová se stanoví titrací roztokem Mohrovy soli s vizuální indikací konce titrace (ZBÍRAL A KOL., 1997).

Stanovení **barevného indexu** (Q_{4/6}) – hodnota barevného indexu Q_{4/6} se vypočítá jako poměr absorbance huminových kyselin při vlnové délce 465 nm a 665 nm (POSPÍŠILOVÁ A TESAŘOVÁ, 2009).

Stanovení půdní **zrnitosti** - se provedlo pipetovací metodou, kde se půdní částice dispergují varem s alkalickým roztokem ($\text{NaPO}_3)_6$ (ZBÍRAL A KOL., 1997).

Stanovení **pufrační schopnosti** - 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 cm^2) (JANDÁK A KOL., 2003).

Získáváme tak celkem pět indikátorů tlumivosti, kdy první tři jsou uvedeny v cm^2 . Je to pufrovitost vůči kyselinám (AP), pufrovitost vůči bazím (BP), celková tlumivost ($\text{TP} = \text{AP} + \text{BP}$). Dalším, tentokrát bezrozměrným ukazatelem, je acido-bazický index pufrovitosti ($\text{ABIP} = \text{AP} / \text{BP}$). A posledním kritériem je acido-totální index pufrovitosti ($\text{ATIP} = (\text{AP}/\text{TP}) * 100$), který se udává v procentech.

Vše bylo statisticky vyhodnoceno na základě jednofaktorové analýzy variance.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Aktuální půdní reakce

Z analýzy jednofaktorové analýzy variance vyplývá, že mezi půdním typem černice a rezogzem nebyl nalezen v ornici statisticky průkazný rozdíl. Nejvyšší průměrná hodnota byla zjištěna u půdního typu černice, kde se pohybovala kolem 7,4 jak uvádí tabulka 1. Toto podle HASLBACHA A VACULÍKA (1976) odpovídá neutrálnímu pH. Naopak zjištěná průměrná hodnota v rezogzemí je nižší (6,2) a odpovídá slabě kyselé aktuální půdní reakci.

Výměnná půdní reakce

U tohoto ukazatele, stejně jako u předchozího, nebyl nalezen statisticky průkazný rozdíl mezi půdními typy. Opět vyšší průměrné hodnoty pH bylo dosaženo u půdního typu černice (6,6). Odpovídá to opět neutrální výměnné půdní reakci. Podobně jako u aktuální půdní reakce se liší výměnná kyselost u rezogzemí, kde hodnoty jsou nižší. Průměrná hodnota činila 5,1, což odpovídá kyselé půdní reakci a je znakem nenasyceného sorpčního komplexu převážně dvojmocnými kationy.

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 rezogzemí je zpravidla kyselá (TOMÁŠEK, 2000).

Oxidovatelný uhlík (C_{ox})

U oxidovatelného organicky vázaného uhlíku, který se v zemině oxiduje chrom-sírovou směsí, byl v ornici nalezen statisticky průkazný rozdíl mezi půdními typy. U černice byla tato hodnota podstatně vyšší nežli u rezogzemí. Černice dosáhly průměrné hodnoty 2,3 a rezogzemí 1,1. To podle SIROVÉHO A KOL. (1967) odpovídá v prvním případě vysokému a ve druhém nízkému obsahu.

Zajímavou se, ale stává klasifikace podle KUTÍLKA (1978 IN JANDÁK A KOL., 2003), který kromě obsahu C_{ox} , přihlíží při klasifikaci tohoto parametru i k půdní textuře. Konečná klasifikace pak u obou půdních typů odpovídá – středně humózním půdám. A to i přes to, že se výrazně obsahem C_{ox} liší.

Vyšší obsah C_{ox} u černic lze vysvětlit převažujícími humifikačními procesy jimiž je organická hmota v půdách transformována až na trvalý humus. Naopak u regozemí vstupuje organická hmota do procesů intenzivní mineralizace. Podstatnou roli při těchto transformačních dějích samozřejmě hrají půdotvorné procesy, kdy u černice jsou tyto významně ovlivněny hladinou podzemní vody a naopak u regozemí hraje významnou roli velké provzdušnění půdy (NĚMEČEK A KOL., 1990).

Barevný index ($Q_{4/6}$)

Mezi průměrnými hodnotami jednotlivých půdních typů nebyl nalezen statisticky průkazný rozdíl v tomto ukazateli. Nicméně u černic byly mnohem nižší hodnoty nežli u regozemí, což svědčí o větší kvalitě humusu a koresponduje tak s celou řadou autorů.

U černic byla dosažena průměrná hodnota 3,83 což lze hodnotit jako kvalitní organickou hmotu. Pokud bychom tento ukazatel převedli na ukazatel HK/FK tak by se hodnota blížila 1. Naopak u regozemí jsou hodnoty vysoké (6,45), čili jedná se o méně kvalitní organickou hmotu. Po převedení tohoto ukazatele na HK/FK by hodnoty odpovídaly přibližně 0,43.

Půdní textura

Pipetovací metodou jsme získaly celou škálu jednotlivých půdních frakcí, ale pro naše účely jsme si vybrali frakci menší nežli 0,01 mm, tzv. jílnaté částice. U tohoto ukazatele jsme našli statisticky průkazný rozdíl mezi průměrnými hodnotami černice a regozemě. S tím, že černice dosahovaly průměrné hodnoty 43,1 % jílnatých částic a podle Novákovi klasifikace je tak řadíme mezi hlinité zeminy, resp. středně těžké půdy (viz tabulka 1).

Naopak regozemě všeobecně patří mezi lehké půdy a tak hodnota 10,9 %, která je téměř 4x nižší nežli u černic skutečně odpovídá všeobecně známým faktům. Podle Novákovi klasifikace ji tedy zařadíme do kategorie hlinitopísčité zemina.

Již z těchto výše popsanych ukazatelů by se dala do jisté míry předpovídat pufráční síla a schopnost půdy.

Pufrační schopnost půdy proti kyselinám (AP)

Rozdíly mezi průměrnými hodnotami tohoto ukazatele byly mezi půdními typy statisticky průkazné viz tabulka 1. V tomto ukazateli pufrovitosti je rozdíl mezi půdními typy nejmarkantnější. Schopnost tlumit přísun kyselin do půdy je u černic obrovský. Dosáhlo se průměrné hodnoty 32,53 cm². Naopak regozemě mají tuto schopnost velmi malou a v porovnání s černicemi téměř 5x nižší.

Tomuto výsledku nám již napovídá kyselejší aktuální i potenciální půdní reakce u regozemí. Dále pak nižší obsah a kvalita humusu a menší obsah jílnatých částic. Z tohoto se dá usuzovat že černice mají mnohem vyšší kationtovou výměnou kapacitu a to se sorpcí dvojmocných bazických kationů v sorpčním komplexu.

Naopak jednou z hlavních příčin tak nízké hodnoty AP u regozemí je malý obsah koloidů a málo organické hmoty o nízké kvalitě. Tedy i sorpční komplex, který místo dvojmocnými kationy bude nasycen ionty vodíku, popř. hliníku aj.

Pufrační schopnost půdy proti zásadám (BP)

Tento ukazatel nebyl jako jediný z ukazatelů pufrovitosti statisticky průkazný. Přesto u černic se opět našla vyšší schopnost tlumit přísun bazických iontů nežli u regozemí. Toto lze pravděpodobně opět velmi dobře vysvětlit vyšší sorpční schopností černic, které dosáhli u BP ukazatele 27,51 cm².

Regozemě ovšem také dobře tlumí přísun bazí, dosáhli téměř 21 cm². Významnou roli zde pravděpodobně hraje nenasycený sorpční komplex, kdy například přísun vápníku do půdy je dobře kompenzován vodíkem, který se z něho uvolňuje.

Černicová (totální) pufrační schopnost půdy proti kyselinám a zásadám (TP)

Tento ukazatel vyšel opět statisticky průkazný, tzn. že mezi průměrnými hodnotami u půdního typu černice a regozem se našel statisticky významný rozdíl, ve kterém se tyto půdní typy liší.

Černice se vyznačuje hodnotou 60 cm² a je to tedy více nežli 2x vyšší tlumící schopnost nežli u regozemí (27,76 cm²).

Acido-bazický index pufrovitosti (ABIP)

Tento ukazatel kvality nám popisuje jaký tlumící charakter půda, vůči přísunu kyselin a bazí do půdy, vykazuje. Vyjadřuje kolikrát je tlumivost vůči kyselinám větší nebo menší než tlumivost proti bazím. Vypočítá se ze vztahu $ABIP = AP/BP$ a vypočtené hodnoty jsou uvedeny v bezrozměrných jednotkách. 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.

I v tomto ukazateli se našel statisticky významný rozdíl. U regozemí se průměrná hodnota pohybovala kolem 0,31, což se dá srovnat s ABIP glejů. Jedná se tedy v obou případech o silně acidoidní tlumící charakter (MARTINEC A POKORNÝ, 2008).

Hodnota černic se pohybovala kolem 1,3 a lze ji tedy svým charakterem spíše přiřadit k půdnímu typu fluvizem (1,4) jehož charakter je spíše slabě bazoidní.

Acido-totální index pufrovitosti (ATIP)

Pro ještě lepší a ucelenější hodnocení půdní pufrovitosti jsme zavedli ještě pátý ukazatel tzv. ATIP. Tento ukazatel kvality nám popisuje jaký tlumící charakter půda, vůči přísunu kyselin a bazí do půdy, vykazuje. Vyjadřuje jaký podíl má tlumivost vůči kyselinám na celkové tlumivosti půdy. Vypočítá se ze vztahu $ATIP = (AP/TP)*100$ a hodnoty jsou uvedeny v procentech. Analogicky by se vypočítal jaký podíl má tlumivost vůči bazím na TP, ale jsou i jednodušší matematické vztahy jimiž se to dá zjistit.

Tento ukazatel byl statisticky průkazný. U černice se na celkové tlumivosti podílí z cca 53 % tlumivost vůči kyselinám (AP) a tedy ze 47 % tlumivost vůči bazím (BP). U regozemí se na TP podílí z 22,5 % AP a zbytek do 100 % se podílí ukazatel BP.

S půdními charakteristikami acido-bazického (ABIP) a acido-totálního (ATIP) indexu pufrovitosti jsme se doposud v literatuře nesetkali, ale přesto je lze považovat za velmi důležité ukazatele. Kdy ukazatelé tlumivosti půdy jako je AP, BP, TP nás informují o kvantitativních vlastnostech půdy, tak ABIP a ATIP nám popisuje kvalitativní stránku tohoto parametru. Jinými slovy nám řekne jaký tlumící charakter půda vykazuje vůči kyselinám a bazím a lépe tak charakterizuje pufrovitost jako celek.

Tab. 1 Průměrné hodnoty jednotlivých půdních ukazatelů v ornici a jejich statistická průkaznost

Půdní typ	pH/H ₂ O	pH/KCl	C _{ox}	Q _{4/6}	Textura (%)	Ukazatelé pufrovitosti				
					< 0,01 (mm)	AP (cm ²)	BP (cm ²)	TP (cm ²)	ABIP	ATIP (%)
Černice (CC)	7,4	6,6	2,3	3,83	43,1	32,53	27,51	60,04	1,34	53,29
Regozem (RG)	6,2	5,1	1,1	6,45	10,9	6,82	20,93	27,76	0,31	22,46
Statistická průkaznost	0	0	x	0	x	x	0	x	x	x

x – statisticky průkazný rozdíl, $\alpha = 0,05$; 0 – statisticky neprůkazný rozdíl, $\alpha = 0,05$

ZÁVĚR

Potvrdilo se, že pufruční schopnost půd je důležitý půdní, ale i ekologický ukazatel, který nestačí charakterizovat pouze kvantitativními ukazateli (AP, BP, TP), ale je třeba doplňovat parametry kvalitativními (ABIP, ATIP). Proto nestačí stanovit pouze velikost pufruční schopnosti, ale je třeba určit i její charakter.

Mezi sledovanými půdními typy se zjistila rozdílná pufruční síla, ale i její rozdílný charakter. Černice se vyznačovala lepší tlumící schopností vůči kyselinám i bazím. A tlumící charakter černice se tak může řadit mezi slabě alkalické. Naopak regozem reagovala na přísun kyselin a bazí silně acidoidně.

LITERATURA

- DYKJJOVÁ D. A KOL. (1989): Metody studia ekosystémů. Academia Praha, 690 s. ISBN 21- 046-89.
- HASLBACH J., VACULÍK R. (1980): Půdoznalství. VŠZ Brno. 159 s.
- JANDÁK J. A KOL. (2003): Cvičení z půdoznalství. Ediční středisko MZLU Brno, 92 s. ISBN 80-7157-733-2.
- MARTINEC J., POKORNÝ E. (2008): Buffering ability of selected soil types. In: Zborník MendelNet'08 Agro, MZLU, Brno. ISBN 978-80-7375-239-2.
- NĚMEČEK J. A KOL. (1990): Pedologie a paleopedologie. Academia Praha, 546 s. ISBN 80-200-0153-0.
- PLÁT V., HORÁČEK J., ČECHOVÁ V., HŘEBEČKOVÁ J. (2008): Vliv přídatku humusových látek

na pufrací schopnost kambizemě a luvizemě. In: Sborník příspěvků, Půda v moderní informační společnosti. VÚPOP Bratislava, s. 623-627. ISBN 978-80-89128-44-0.

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

POSPÍŠILOVÁ L., TESAŘOVÁ M. (2009). Organický uhlík obhospodařovaných půd. Folia, roč. II, MZLU Brno, 42 s. ISSN 1803-2109.

SIROVÝ VL., FACEK ZB., POSPÍŠIL FR., KULÍKOVÁ A., JAVORSKÝ P., KALAŠ V. (1967): Průzkum zemědělských půd ČSSR, III. díl. MZV Praha, 92 s.

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

ZBÍRAL J., HONSA I., MALÝ S. (1997). Jednotné pracovní postupy. ÚKZÚZ Brno, 150 s.

EFFECT OF AUTOMOBILE TRAFFIC ON MORTALITY OF SELECTED SPECIES OF MAMMALS

Mrtka J.¹, Borkovcová M.¹, Veselý P.²

¹Department of Zoology, Fisheries, Hydrobiology and Apiculture, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

²Department of Animal Nutrition and Forage Production, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xmrтка@mendelu.cz

ABSTRACT

Presented work monitors an influence of car traffic on mortality of selected species of mammals. The aims of this work were to collect animals killed by automobile conveyance in selected territories and then evaluate detected facts. Monitoring was carried out in the area of Czech-Moravia highlands during the year 2008. Killed subjects were documented on basis of our own observations. Totally 46 mammals found on the roads were documented during the observation period.

Most findings were collected on 2nd class roads, then 1st class roads and 3rd class roads. Among game species hare roebucks were mostly collected, among other animals both common mole and hedgehog. But a lot of species had not been collected at all; therefore further observation would be suitable.

Key words: mammal, mortality, overland communication

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

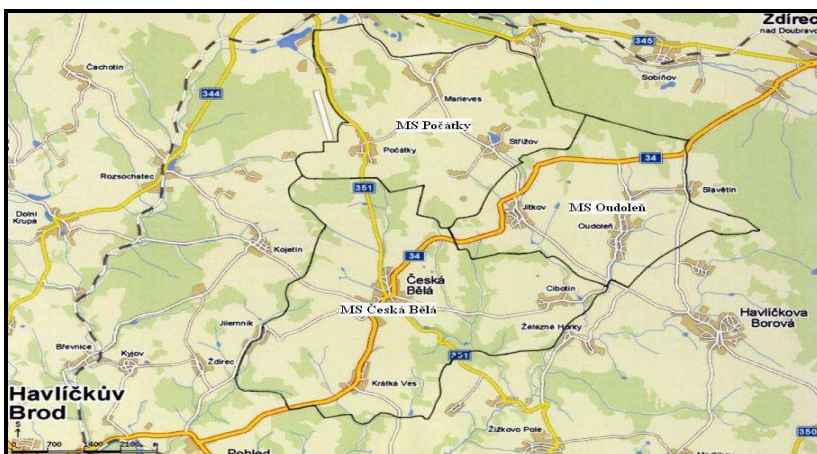
Mezi lety 2002 až 2007 zavinily střety se zvěří či s domácími zvířaty v průměru 4 % všech dopravních nehod což je v absolutním počtu 7687 nehod ročně. Po zavinění řidičem motorového vozidla jde o druhou nejčastější příčinu nehod v ČR. Tento počet nehod však nekorresponduje s celkovou mortalitou živočichů na pozemních komunikacích. Ve statistikách jsou obvykle zahrnuty jen ty případy, kdy dojde k poškození dopravního prostředku, tedy kdy dojde ke střetu s větším živočichem, obvykle srncem či divokým prasetem. Mnoho střetů s menšími živočichy, kdy nedojde k poškození vozidla, není v těchto statistikách vůbec zahrnuto. Celkové množství usmrčených jedinců je tedy mnohonásobně větší.

Tato práce se zabývá mortalitou vybraných druhů savců na pozemních komunikacích. Jde o tyto druhy. Ježek západní, východní a zajíc polní. Dále pak liška obecná, kuna skalní, kočka domácí a některé další. Cílem této práce bylo zjištění počtu usmrčených jedinců těchto druhů na předem vybraném území vlivem automobilové dopravy a následné vyhodnocení.

MATERIÁL A METODIKA

Vybrané území se nachází na Havlíčkobrodsku mezi obcemi Krátká Ves, Počátky a Jitkov na území mysliveckých sdružení Počátky, Oudoleň a Česká Bělá. Jde tedy o součást kraje Vysočina a má mírně zvlněný charakter Českomoravské vrchoviny. Jeho velikost je 4757 ha. Sledované území patří mezi chladnější části země s průměrnou roční teplotou okolo 7 °C. Nadmořská výška se pohybuje mezi 500 - 600 m. n. m. Podrobnější charakteristika sledovaného území je uvedena v práci Ochrana vybraných druhů živočichů na intenzivně zemědělsky využívaných plochách a pozemních komunikacích (Mrtnka, 2007) a tato práce se jí dále nezabývá. Mapu sledovaného území zobrazuje obr. 1.

Obr. 1 Mapa sledovaného území



Nejprve byla zjištěna rozsáhlost sítě pozemních komunikací. Na sledovaném území se nacházejí komunikace I., II. a III. třídy. Délky těchto komunikací jsou uvedeny v tab. 1.

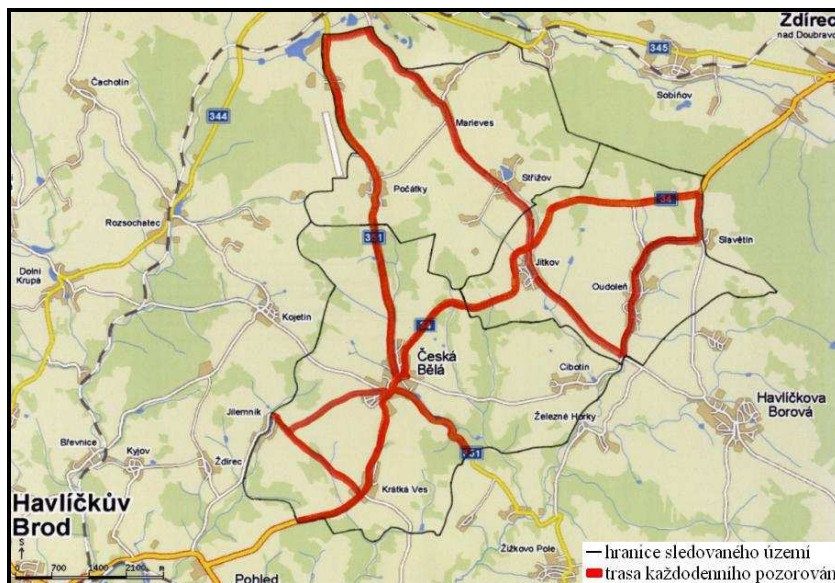
Tab. 1 Délka jednotlivých kat. pozemních komunikací na sledovaném území [km]

druh komunikace	délka [km]
silnice I. Třídy	12,3
silnice II. Třídy	9,1
silnice III. Třídy	32,2
celkem	53,6

Na sledovaném území se celkem nachází 53,6 km silničních komunikací. Z toho 12,3 km (22,9 %) připadá na silnice I. třídy, 9,1 km (17 %) na silnice II. třídy a 32,2 km (60,1 %) na silnice III. třídy.

Samotné pozorování proběhlo v roce 2008. Celkem trvalo šest týdnů, každodenně, vždy od pondělí do pátku po vytyčené trase, která se po celou dobu nezměnila. Vytyčenou trasu zobrazuje Obr. 2.

Obr. 2 Trasa každodenního pozorování



Tenká, černá čára zobrazuje hranici sledovaného území. Tlustá, červená čára zobrazuje trasu pozorování. Tato trasa zahrnuje silnici číslo 34 a 351, tedy komunikace I. a II. třídy a ještě několik úseků komunikací III. třídy. Délka trasy je 36,8 km, celkem tedy bylo během pozorování najeto 1104 km. Vzhledem k délce trasy nebylo možné ji procházet pěšky, a proto byla projížďena na kole

či malém motocyklu, za špatných klimatických podmínek (celkem dvakrát) autem. Pro zpřesnění výsledků byla trasa v liché dny projížďena po směru hodinových ručiček a v sudé dny proti tomuto směru.

Dále byla zjištěna průměrná procentická mortalita zvěře na pozemních komunikacích pro jednotlivé kalendářní měsíce. Pro toto byly použity údaje z let 2003 – 2006. Tyto údaje byly přibližně na procenta přepočítány podle spojnicového grafu uvedeného v práci Hlaváče a Anděla, 2008 a jsou zobrazeny v tab. 2.

Tab. 2: Průměrná procentická mortalita zvěře na pozemních komunikacích v jednotlivých měsících za období let 2003 – 2006

měsíc	leden	únor	březen	duben	květen	červen	červenec	srpen	září	říjen	listopad	prosinec	celkem
mortalita [%]	6,7	6,8	5,4	8,5	12	8,2	7,4	8,5	7,9	10,4	9,9	8,3	100

Na základě průměrné procentické mortality v měsících kdy probíhalo terénní pozorování a na základě výsledků vlastního pozorování, byla vypočtena přibližná mortalita živočichů pro sledované území a to následovně. Pozorování proběhlo v měsících červen, červenec, srpen a září. Podíl roční mortality těchto čtyř měsíců je celkem 32 %. To znamená, že během těchto čtyř měsíců zahyne na pozemních komunikacích 32 % živočichů a zbývajících 68 % živočichů zahyne ve zbývajících měsících. Z těchto 32 % připadá na červen 8,2 %, červenec 7,4 %, srpen 8,5 % a září 7,9 %. Dále byl měsíční počet nálezů daného druhu vynásoben koeficientem 2 nebo 4. Koeficient 2 byl použit v těch měsících, v kterých trvalo pozorování 10 dnů (červen a červenec) a koeficient 4 u těch měsíců kdy trvalo pozorování 5 dnů (srpen a září). Cílem tohoto kroku, byla snaha odhadnout celkovou měsíční mortalitu, takže jako mortalita daného měsíce se považovala mortalita vypočtená za 20 dnů ($2 \cdot 10$ nebo $4 \cdot 5$). Z části jde o teoretický výpočet, neboť v daném měsíci pozorování probíhalo 10 respektive 5 dnů, 20 dnů je bráno jako dostatečně nízká hodnota, aby nedošlo k nadhodnocení výsledků, ale zároveň dostatečně vysoká abychom se přiblížili co nejvíc ke skutečné měsíční mortalitě. Proto považujeme mortalitu za 20 dnů za celkovou měsíční mortalitu. Např.: Pokud bylo v červnu nalezeno 12 ježků, tak toto číslo vynásobíme koeficientem 2 (neboť v tomto měsíci probíhalo pozorování 10 dnů) a dostaneme měsíční (20 denní) mortalitu, tedy 24 ježků bylo dle této metody usmrceno na pozemních komunikacích sledovaného území v měsíci červnu. Červen představuje 8,2 % celkové roční mortality na pozemních komunikacích. 24 ježků je tedy 8,2 % všech přejetých ježků v kalendářním roce. Na tomto základě pomocí trojčlenky lehce vypočteme celkovou roční mortalitu ježků na pozemních komunikacích dle měsíce června. Tedy takto: $24 \cdot 100 / 8,2 = 293$ ježků. Obdobně spočteme celkovou roční mortalitu pro ježka na základě pozorování v měsíci červenci, srpnu a září. Pro zvýšení přesnosti všechny výsledky zpřůměrujeme. Jako průměrnou roční mortalitu u ježka pak považujeme roční mortalitu zjištěnou na základě měsíce (června + července + srpna + září) / 4. Výsledky těchto výpočtů shrnuje tab. 5. v kapitole výsledky a diskuze. Pro zvýšení přehlednosti je dále uveden celý výpočet pro ježka.

JEŽEK oba druhy

- Červen, nalezeno 12 ks, koeficient 2, tedy celkem 24 ks
 100%x
 8,2%24 $x = (24 * 100) / 8,2 = 293 \text{ ks/rok}$
- Červenec, nalezeno 4 ks, koeficient 2, tedy celkem 8 ks
 100%x
 7,4%8 $x = (8 * 100) / 7,4 = 108 \text{ ks/rok}$
- Srpen, nalezeno 4 ks, koeficient 4, tedy celkem 16 ks
 100% x
 8,5%16 $x = (16 * 100) / 8,5 = 188 \text{ ks/rok}$
- Zář, nalezeno 3 ks, koeficient 4, tedy celkem 12 ks
 100%x
 7,9%12 $x = (12 * 100) / 7,9 = 152 \text{ ks/rok}$

Průměr: $(293 + 108 + 188 + 152) / 4 = 185 \text{ ks/rok}$

Odhadovaná roční mortalita ježků na pozemních komunikacích sledovaného území tedy činí 185 ks/rok.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Vlastní pozorování mortality savců na pozemních komunikacích proběhlo během čtyř měsíců v roce 2008 a to od 9.6 do 13.6, dále pak od 23.6 do 11.7 a od 25.8 do 5.9. Výsledky tohoto pozorování jsou uvedeny v tab. 3. Do tabulky byli zahrnuti jen ty jedinci, které bylo možno jednoznačně determinovat.

Tab.3 Mortalita savců na pozemních komunikacích sledovaného území, která byla zjištěna během vlastního pozorování v roce 2008

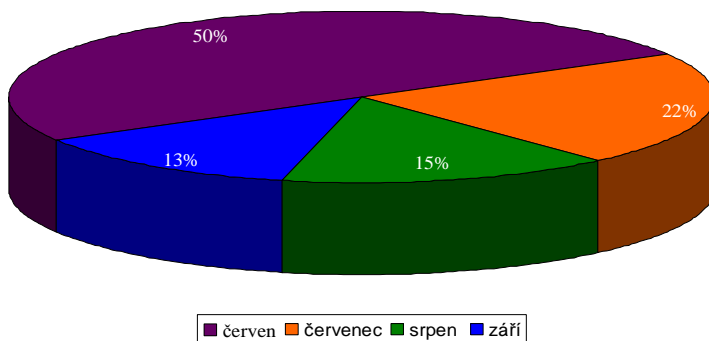
č.	datum nálezu	druh	stáří zbytků	číslo silnice	místo nálezu	poloha zvířete	popis okolí a další významné okolnosti nálezu
1	10.6.	ježek	1	34	před Jitkovem	S	mezi loukou a polem
2	10.6.	zajíc	3	34	před Jitkovem	S	mezi loukou a polem
3	10.6.	ježek	1	34	před Jitkovem	K	mezi dvěma loukami
4	11.6.	kočka	1	Č. Běl. - Jil.	za Bělou	K	mezi poli
5	11.6.	ježek	2	34	za K. Vsí	K	v kopci mezi poli
6	11.6.	ježek	1	34	za K. Vsí	K	v kopci mezi poli

7	11.6.	ježek	1	34	za K. Vsí	K	v kopci mezi poli
8	11.6.	ježek	1	34	Česká Bělá	K	uvnitř obce
9	11.6.	zajíc	1	34	pod Korejtk.	S	mezi loukou a polem
10	12.6.	krtek	1	351	za Dobkovem	S	mezi poli
11	13.6.	krtek	1	Oud. - Jit.	na kopci	S	mezi poli
12	23.6.	zajíc	3	351	u přehrady	S	mezi chatami a loukou
13	23.6.	ježek	3	351	za Dobkovem	S	mezi poli
14	23.6.	ježek	3	351	za Dobkovem	S	mezi poli
15	24.6.	ježek	1	351	u přehrady	S	mezi chatami a loukou
16	25.6.	ježek	1	Oud. - Jit.	před Jitkovem	S	mezi dvěma loukami
17	25.6.	krtek	1	Pří. - Stř.	za Příjemky	S	mezi poli
18	26.6.	kočka	1	34	Krátká Ves	S	uvnitř obce
19	26.6.	ježek	1	351	za Poč.-ČB.	S	mezi loukou a polem
20	27.6.	liška	1	34	u mrchoviště	S	mezi loukou a polem
21	27.6.	zajíc	1	351	Dobkov	S	uvnitř obce
22	30.6.	ježek	2	351	za Bělou-Po.	S	mezi loukou a polem
23	30.6.	srnče	1	351	v kopci př. Po.	P	mezi lesy
24	1.7.	ježek	2	34	u značky K.V.	K	mezi loukou a polem
25	2.7.	ježek	2	34	za Jitkovem	K	mezi svodidly
26	2.7.	zajíc	1	34	odbočka na S.	S	mezi poli
27	7.7.	ježek	2	351	Dobkov	S	uvnitř obce
28	7.7.	krtek	1	351	před Počátky	S	mezi poli
29	7.7.	kočka	2	351	Počátky	S	uvnitř obce
30	8.7.	kuna s.	1	351	Dobkov	K	uvnitř obce
31	10.7.	srna	1	351	za Bělou-Poč.	K	mezi loukami
32	10.7.	ježek	1	34	Česká Bělá	S	uvnitř obce
33	11.7.	krtek	1	Oud. - Jit.	Oudoleň	S	uvnitř obce
34	25.8	ježek	3	Pří. - Stř.	v Příjemkách	S	uvnitř obce
35	25.8	ježek	2	34	u mrchoviště	S	mezi loukou a polem
36	25.8	liška	4	34	nad Jit.-Ždírec	K	mezi poli řepky a kuk.
37	25.8	srna	3	34	nad Jit. - Bělá	P	mezi dvěma obil. poli
38	28.8	ježek	1	351	křížovatka Jit.	S	mezi polem řp. a loukou
39	29.8	ježek	1	34	Dobkov	K	uvnitř obce
40	29.8	kuna s.	1	34	Česká Bělá	S	uvnitř obce
41	1.9	krtek	2	351	200 m za Po.	S	mezi loukou a polem
42	2.9	kočka	1	351	Dobkov	S	uvnitř obce
43	2.9	ježek	1	34	za kor. - Jit.	S	mezi loukou a polem
44	3.9	ježek	1	351	Dobkov	S	uvnitř obce
45	3.9	srna	4	351	nad truhlárnou	P	mezi loukou a polem
46	5.9	ježek	1	34	Česká Bělá	S	uvnitř obce

U každého nálezů byl zaznamenán datum, druh, přibližné stáří zbytků (1- do jednoho dne, 2-do dvou dnů, 3-do týdne, 4-více jak týden), číslo silnice (u silnic III. tříd úsek nálezů), místo nálezů, poloha nálezů (S-silnice, K-krajnice, P-příkop), popis okolí a další významné okolnosti nálezů.

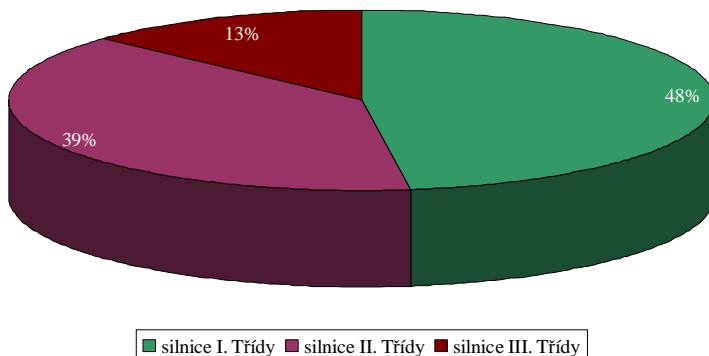
Po dobu pozorování bylo na pozemních komunikacích nalezeno celkem 46 ks savců. Během deseti dnů v měsíci červnu bylo nalezeno 23 ks savců, tedy 50 % všech nálezů, v červenci taktéž během deseti dnů 10 ks (21,7 %), v srpnu během pěti dnů 7 ks (15,2 %) a v září během pěti dnů 6 ks (13 %).

Obr. 3 Mortalita živočichů na silnicích sledovaného území v jednotlivých měsících během vlastního pozorování [%]



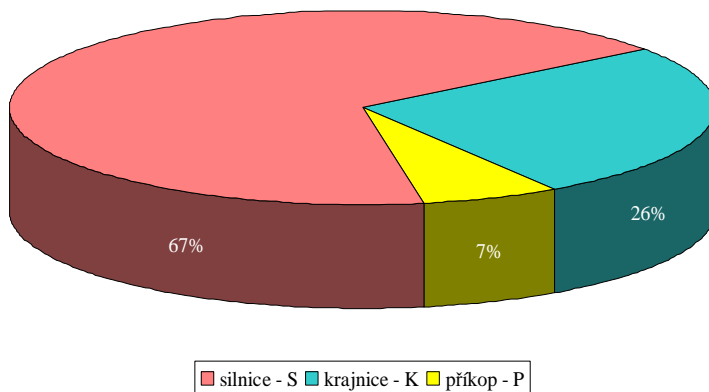
Na silnici první třídy číslo 34 bylo nalezeno nejvíce, 22 ks (47,9 %), na silnici druhé třídy číslo 351 bylo nalezeno 18 ks (39,1 %) a nejméně, na silnicích třetí třídy, bylo nalezeno 6 ks (13 %).

Obr. 4 Rozložení mortality zjištěné na silnicích sledovaného území během vlastního pozorování dle kategorie pozemní komunikace [%]



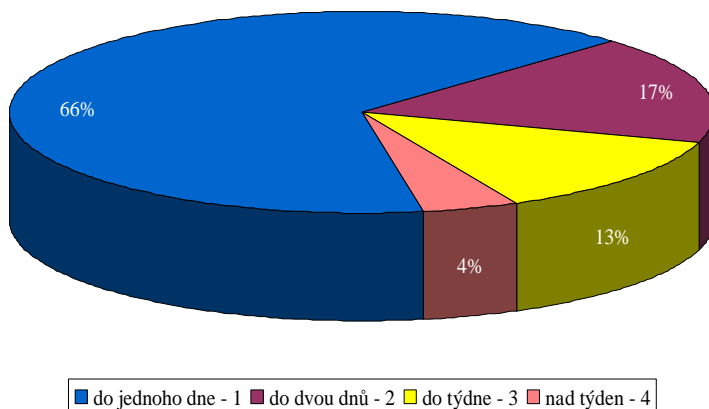
Přímo na silnici (S) bylo nalezeno 31 ks (67,4 %), na krajnici (K) 12 ks (26,1 %) a v příkopu (P) 3 ks (6,5 %). Procentické rozložení mortality dle polohy nálezu zobrazuje obr. 5.

Obr. 5 Poloha nálezů zjištěná na silnicích sledovaného území během vlastního pozorování [%]



Stáří nalezených zbytků bylo odhadnuto v třiceti případech (65,2 %) do jednoho dne (1), v osmi případech (17,4 %) do dvou dnů (2), v šesti případech (13 %) do týdne (3) a ve dvou případech (4,4 %) byly zbytky vyhodnoceny jako starší jednoho týdne (4). Procentické rozložení mortality dle stáří nalezených zbytků zobrazuje obr. 6.

Obr. 6 Odhadované stáří nálezů nalezených na silnicích sledovaného území během vlastního pozorování [%]



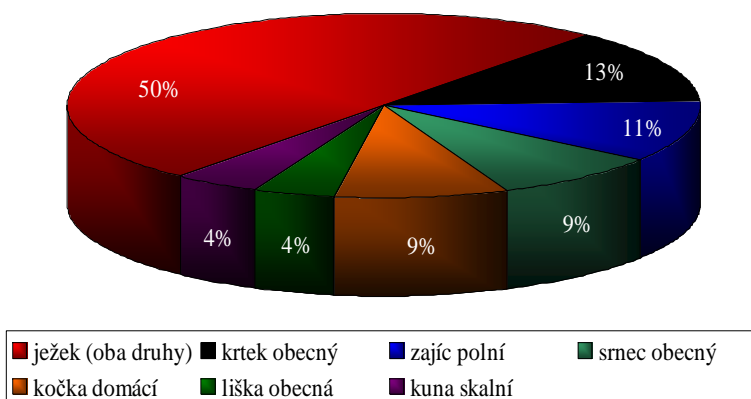
Rozdělení nálezů dle druhového složení zobrazuje následující tabulka.

Tab. 4 Počet nalezených jedinců v kusech u jednotlivých druhů během pozorování

druh	počet nalezených jedinců
ježek (oba druhy)	23
krtek obecný	6
zajíc polní	5
srnec obecný	4
kočka domácí	4
liška obecná	2
kuna skalní	2
	46

Nejvyšší mortalita byla zjištěna u ježků, těch bylo nalezeno 23 ks (50 %), dále pak krtek obecný 6 ks (13 %), zajíc polní 5 ks (10,9 %), srnec obecný a kočka domácí shodně po 4 ks (8,7 %), liška obecná a kuna skalní po 2 ks (4,3 %). Pro zlepšení přehlednosti zobrazuje obr. 7 procentické rozložení mortality těchto druhů zjištěné během vlastního pozorování.

Obr. 7 Mortalita živočichů na pozemních komunikacích zjištěná vlastním pozorováním [%]



Pro zlepšení přehledu o výši mortality na jednotlivých komunikacích bylo přibližné místo každého nálezu zaznamenáno do mapy. Mapu míst nálezů jednotlivých jedinců zobrazuje obr. 8.

Obr. 8 Místa nálezů jednotlivých jedinců



Na výše uvedeném obrázku je mapa sledovaného území, na níž jsou vyznačena místa všech nálezů. Místa nálezů ježků jsou zobrazeny červeně, krtek černě, zajíců fialově, srnců hnědě, koček tmavě modře, lišek tmavě zeleně a kuna světle modře. Z obrázku dobře vyplývá, že většina nálezů byla zaznamenána na silnici I. a II. třídy. Zajímavostí je, že mnoho nálezů bylo nalezeno buď přímo v obci, a nebo v jejím blízkém okolí.

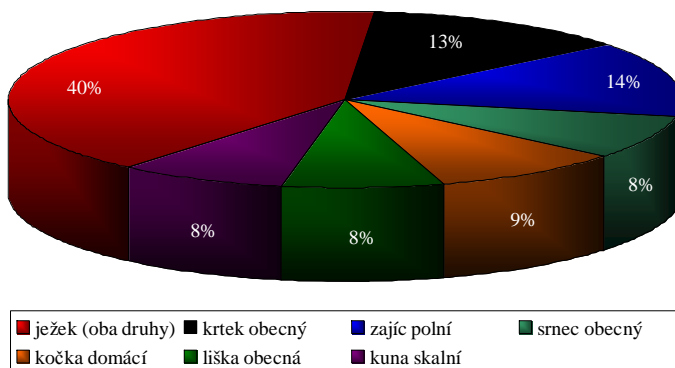
Na základě tohoto pozorování a na základě průměrné procentické mortality zvěře v jednotlivých měsících lze odhadnout roční mortalitu v rámci celého sledovaného území. Tab. 5 zobrazuje roční odhad mortality u vybraných druhů na komunikacích sledovaného území. Postup výpočtu je uveden v kapitole materiál a metodika.

Tab. 5 Odhad celkové roční mortality na silnicích sledovaného území za rok 2008 [ks]

druh	odhad roční mortality na sledovaném území v roce 2008 dle měsíce				
	červen	červenec	srpen	září	průměrná
ježek (oba druhy)	293	152	108	188	185
krtek obecný	73	54	0	51	59
zajíc polní	98	27	0	0	63
srnec obecný	24	27	47	51	37
kočka domácí	49	27	0	51	42
liška obecná	24	0	47	0	36
kuna skalní	0	27	47	0	37
					459

U těchto osmi druhů byla na základě výpočtu odhadnuta celková roční mortalita na pozemních komunikacích sledovaného území ve výši 459 ks. Největší mortalita byla zjištěna u ježků 185 ks (40,3 %). Dále pak u zajíce polního 63 ks (13,7 %), krtek obecný 59 ks (12,9 %) a kočka domácí 42 ks (9,2 %). U srnce obecného a kuny skalní bylo shodně napočítáno 37 ks (8,1 %). Nejméně, 36 ks (7,8 %) bylo napočítáno u lišky obecné. Procentické rozložení mortality těchto druhů zobrazuje obr. 9.

Obr. 9 Mortalita živočichů na pozemních komunikacích zjištěná výpočtem na základě vlastního pozorování [%]



Jak je patrné z grafu, tak po výpočtu pokleslo procentické zastoupení ježků a to z 50 % na 40 %. Procentické zastoupení krčka obecného a kočky domácí se nezměnilo, zůstalo na 13 respektive 9 %. Naopak stouplu u zajíce polního z 11 % na 14 % a shodně ze 4 % na 8 % stouplu u lišky obecné a kuny skalní.

Výzkum Anděla a Hlaváče (2008), uvádí nejvyšší mortalitu živočichů na komunikacích I. třídy a pomineme-li dálniční typ komunikace, který na sledovaném území není, tak druhou nejvyšší mortalitu uvádějí na komunikaci II. třídy. Dle jejich pozorování je v přepočtu na km/rok průměrná mortalita na komunikacích II. třídy 3,12 krát nižší než na komunikaci I. třídy. Toto je však v rozporu s mým pozorováním, jehož výsledek zobrazuje obr. 4. Z obrázku lze snadno spočítat mortalitu zjištěnou na jednotlivých komunikacích. Na komunikaci I. třídy to je 22 ks a na komunikaci II. třídy 18 ks. Mortalita na komunikaci II. třídy je tedy jen 1,22 krát nižší než na komunikaci I. třídy. Tato úvaha však není správná neboť sledovaný úsek komunikace II. třídy je dlouhý 9,1 km, kdežto sledovaný úsek komunikace I. třídy je 12,3 km dlouhý. Po přepočtu je mortalita na komunikaci I. třídy 1,8 ks/km, respektive 2,1 ks/km na komunikaci II. třídy. Na komunikaci II. třídy je tedy po přepočtu dokonce vyšší mortalita než na komunikaci I. třídy a to 1,16 krát. V tomto bodě jsou však výsledky pozorování do jisté míry zkresleny, neboť krátce po začátku pozorování došlo k uzavírci komunikace I. třídy číslo 38. Tato komunikace se sice nenachází na sledovaném území, ale následná objížďka vedla přes sledované území po komunikaci číslo 351 až do České Bělé, kde se napojovala na komunikaci číslo 34. Tato uzavírka trvala po celou zbývající dobu pozorování. Takže během pozorování byla komunikace

351 zatížená provozem odpovídající komunikaci I. třídy. Naopak na komunikaci číslo 34 byl v tuto dobu značně omezen provoz a to z důvodu výstavby obchvatu obce Česká Bělá. Provoz byl omezen i na úseku komunikace 351 za Českou Bělou, kde byl v tu dobu budován most k obchvatu Česká Bělá. Tyto dvě skutečnosti zřejmě skreslily skutečnou mortalitu na komunikaci číslo 34 směrem dolů a na komunikaci číslo 351 směrem nahoru. Důležitost změn v hustotě provozu na mortalitu savců dobře dokumentuje komunikace 351. V úseku, kde byl provoz posílen v důsledku uzavření silnice 38, byla zaznamenána nejvyšší mortalita v rámci celého sledovaného území, v úseku za Českou Bělou, kde byl provoz značně omezen, byla zaznamenána nulová mortalita. Oproti komunikacím I. a II. třídy nebyla na komunikacích III. třídy zaznamenána vysoká mortalita. Součet mortality na komunikaci I. a II. třídy byl 87 %, zbývajících 13 % připadlo na několik úseků silnic III. třídy.

Co se týká druhového složení, tak nejvyšší mortalita byla zjištěna u obou druhů ježků. Poté následoval zajíc polní, krtek obecný a kočka domácí. Přibližně stejná mortalita byla zjištěna u srnce obecného, lišky obecné a kuny skalní. Podobné sledování provedli i Anděl a Hlaváč (2008). Ti zjistili největší mortalitu u zajíce polního a dále u obou druhů ježků což je opačné pořadí než mortalita těchto druhů zjištěná na základě mého pozorování. Na tomto místě je třeba si uvědomit, že výzkum Anděla a Hlaváče (2008) obsahl různé přírodní podmínky a jeho výsledky se vztahují na celou ČR, kdežto můj výzkum obsahl jen regionální podmínky v rámci Vysočiny, konkrétně Havlíčkobrodsko. Výsledky Anděla a Hlaváče (2008) pro Vysočinu nejsou k dispozici a tak je možné, že moje výsledky nemusí být s těmi jejich v rozporu. To znamená, že v podmínkách Vysočiny, zvláště pak Havlíčkobrodsko je na pozemních komunikacích skutečně nejvyšší mortalita u obou druhů ježků a následně u zajíce polního a v rámci celé ČR se toto pořadí otáčí. Výsledky mého pozorování v tomto směru potvrzuje Reichholf (1999), který provedl podobný výzkum v Německu, kdy sledoval dva úseky na státní silnici vedoucí z Mnichova do Pasova. Nadmořská výška těchto dvou úseků se pohybovala od 350 do 650 m. n. m., což koresponduje s nadmořskou výškou mnou sledovaného území, která se pohybuje od 500 do 600 m. n. m. Z tohoto hlediska se tedy jedná o přibližně stejné přírodní podmínky. Na základě svého výzkumu Reichholf (1999) zjistil, že největší mortalita na jím sledovaném území je u ježků, dále u zajíce polního a kočky domácí. Pokud pomineme krta obecného, o kterém se Reichholf (1999) ve svém výzkumu nezmiňuje, tak dospěl ke stejnému výsledku jako moje pozorování.

Celkový počet usmrcených savců dotčených druhů na pozemních komunikacích sledovaného území je dle mého odhadu 459 ks/rok. I když jsem k tomuto dospěl výpočtem, je nutné si uvědomit, že tento výpočet vznikl na základě dat, která byla zjištěna přímo v terénu. Pokud vezmeme v úvahu, že během 6 ti týdnů bylo zdokumentováno 46 nálezů, tak analogicky během roku, tedy během 53 týdnů tento stav odpovídá 406 ks/rok za předpokladu, že je výše mortality během každého týdne v roce stejná. Jenže jak ukazují policejní statistiky tak to tak není a právě toto zohlednila metoda výpočtu celkové roční mortality, která byla použita v tomto příspěvku. Tyto policejní statistiky však mohou do jisté míry procentický podíl měsíční mortalitu skreslovat. Podchycují totiž jen ty případy, kdy byli policisté zavoláni k nehodě se zvířem. Obvykle tedy k takovým případům kdy vznikla nějaká větší škoda na automobilu, a tedy kdy došlo ke srážce s větším zvířetem, nejčastěji srncem či prasetem. Srážky s menšími zvířaty, kdy nevznikla škoda na automobilu, obvykle nikdo policii nehlásí. Z tohoto důvodu menší zvířata jako ježci, krтки, zajáci atd. policejní statistiky zřejmě vůbec nezachycují a skutečný procentický podíl mortality jednotlivých měsíců se může lišit.

ZÁVĚR

Předkládaná práce sleduje vliv automobilové dopravy na mortalitu vybraných druhů savců. Sledování bylo prováděno v oblasti Českomoravské vrchoviny na Havlíčkobrodsku mezi obcemi Krátká Ves, Počátky a Jitkov v roce 2008. Usmrcení jedinci byli dokumentováni na základě vlastního pozorování. Zjištěná data zpracovává tato práce.

Nejvyšší mortalita byla zjištěna na komunikaci II. třídy, dále na komunikaci I. třídy a nejmenší na komunikaci III. třídy. Co se týká druhového složení tak nejvíce bylo nalezeno obou druhů ježků. Poté následoval zajíc polní, krtek obecný a kočka domácí. Přibližně stejná mortalita byla zjištěna u srnce obecného, lišky obecné a kuny skalní. Během pozorování bylo nalezeno celkem 46 ks všech těchto druhů. Na základě těchto nálezů byla odhadnuta roční mortalita na komunikacích sledovaného území na 459 ks/rok. Nutno si však uvědomit, že jde pouze o odhadovaný počet, který se může ve skutečnosti lišit. Do pozorování byla zahrnuta jen ta zvířata, co zůstala ležet buď přímo na komunikaci, nebo vedle ní. Navíc se pozorování nevztahovalo na všechny komunikace sledovaného území. Z těchto důvodů nelze zjištěné údaje považovat jako maximální, ale jde spíše o minimální a tedy jen orientační hodnotu, jejíž vypovídající hodnota je do jisté míry zkreslena. Pro zpřesnění výsledků by byl třeba rozsáhlejší výzkum, který však je mimo rámec tohoto příspěvku.

LITERATURA

ANDĚL, P., HLAVÁČ, V. Automobilová doprava a mortalita obratlovců. *Ochrana přírody*. 21. 10. 2008, č. 5, s. 19-21. Dostupný z WWW: <<http://www.casopis.ochranaprirody.cz/Vyzkum-a-dokumentace/automobilova-doprava-a-mortalita-obratlovcu.html>>.

HLAVÁČ, V., ANDĚL, P. Mortalita živočichů na silnicích ČR. In *Doprava, zdraví a životní prostředí*. [s. 1.] : [s. n.], 2008. s. 133-140. Dostupný z WWW: <<http://szp.cdv.cz/konference/litomysl08/sbornik.pdf>>.

MRTKA, J. *Ochrana vybraných druhů živočichů na intenzivně zemědělsky využívaných plochách a pozemních komunikacích*. Brno, 2007. 45 s. Bakalářská práce.

REICHHOLF, J. *Pole a louky: ekologie středoevropské kulturní krajiny*. Přeložil R. Rada; ilustroval F. Wendler. 1. vyd. Praha: Knižní klub, 1999. 223 s. ISBN 80-7176-873-1.

RURAL DEVELOPMENT OF SOUTHERN MORAVIA REGION UNDER THE INFLUENCE OF GLOBALIZATION

Náplavová M., Novotná K., Vaishar A.

Department of Applied and Landscape Ecology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: miloslava.naplavova@mendelu.cz

ABSTRACT

Globalization is one of the key challenges facing rural regions in Europe. It is bringing significant social, economic, cultural and political changes. Current studies on the impact of globalization on rural regions tend to focus on specific sectors, processes or localities. The objective of rural development is to improve the quality of life of rural communities that meets their socio-economic and cultural endeavors, and enhance their social structure, along with protection of natural resources. The aim of the project DERREG (Developing Europe's Rural Regions in the Era of Globalization) project is to produce an interpretative model that will allow regional development actors to better anticipate and respond to the key challenges of globalization for disadvantaged regions. This will disseminate scientific knowledge and understanding, inform the policy development, and identify examples of best practice. The project is part of the 7th European Framework Program. The project includes seven work packages. MUAF is working on work package one, three and six (WP1, WP3, WP6). It is also involved in the work package five (WP5) in the delivery of work on the South Moravian region for comparative analysis of individual regions.

The objective of this article is to introduce the historical achievements of the project for which cooperates MUAF. In the work package WP1 the data was collected for coordinator who has to process the methodology. The processing of literature research followed. For the work package WP5 a case study of South Moravian Region was developed. The team also works out the basis for a comparative analysis of the South Moravian Region. The analysis of Regional Development Program (2002 - 2006) and recent Regional Development Program was made within the work package WP3. The media analysis was realized simultaneously. The analysis of Regional Development Program was completed on the related passages of the Development Strategy of the South Moravia which differs from the program only by longer planning period and other thematic programs and concepts. It was examined how the different programs deal with specific topics relating to key economic sectors and global environmental discourses and what the trends in these areas are.

Key words: globalization, rural regions, rural development, project DERREG, work package (WP), South Moravian Region

ÚVOD

Globalizace je jednou z klíčových výzev, kterým čelí venkovské oblasti v Evropě. Přináší značné sociální, ekonomické, kulturní a politické změny. Aktuální studie o vlivu globalizace na venkovské regiony se zpravidla zaměřují na konkrétní odvětví, procesy nebo lokality. Cílem rozvoje venkova je zlepšení kvality života venkovských komunit tím, že naplní jejich socio-ekonomické a kulturní snahy a posílí jejich společenské uspořádání, spolu s ochranou přírodních zdrojů.

Projekt **Developing Europe's Rural Regions in the Era of Globalization „Rozvoj evropských venkovských regionů v období globalizace“** (DERREG) je součástí 7. rámcového programu EU. Je vypsán na dobu 36 měsíců (leden 2009 – prosinec 2011). Koordinátorem je prof. Michael Woods (University of Wales at Aberystwyth). Dále se na projektu podílejí Leibnitz Institut für Länderkunde Leipzig, Lithuanian Institute of Agrarian Economics, National University of Ireland Galway, Nordic Centre for Spatial Development Stockholm, Universität des Saarlandes, Univerza v Ljubljani, Wageningen Universiteit.

Obr. 1 Logo projektu DERREG



Cílem projektu je vyvinout interpretativní model, který umožní klíčovým regionálním aktérům lépe chápat a reagovat na klíčové výzvy pro rurální regiony, vycházející z globalizace. Dílčími cíly je obohatit vědeckou databázi pro porozumění vlivů globalizace na rurální regiony, získat databázi nejlepších příkladů řešení, realizovat nové pohledy na výzvy spojené s dílčími procesy změn prostřednictvím empirických analýz a nových metodických postupů, porozumět rozdílným výzvám v různých typech regionů (s důrazem na střední a východní Evropu) a zřídit centrum pro diseminaci výsledků založené na webu.

Struktura projektu: projekt zahrnuje 7 pracovních balíčků (WP) a 9 případových regionů. Tím se získá problémově prostorový koncept.

Sedm pracovních balíčků (WP):

- 1.) Globální zapojení a lokální založení venkovských podniků (koordinuje Nordregio)
- 2.) Mezinárodní mobilita a migrace rurálních populací (Uni des Saarlandes)
- 3.) Environmentální kapitál a udržitelný venkovský rozvoj (IfL Leipzig)
- 4.) Lidský kapitál, řízení a znalostní systémy (Wageningen)
- 5.) Syntéza a kontextualizace výzkumu a vývoje, tvorba interpretativního modelu (Aberystwyth)
- 6.) Diseminace výsledků (MZLU)
- 7.) Koordinace, administrativa, řízení (Aberystwyth)

Případové regiony jsou tyto: Oevre Norrland (S), West Region (IRL), Alytus (LI), Goriška (SLO), Pomurska (SLO), Jihomoravský kraj (CZ), Westerkwartier (NL), Regierungsbezirk Dresden (D), Saarland (D), Ourense (E).

Obr. 2 Případové regiony



1. Oevre Norrland, Švédsko
2. West Region, Irsko
3. Alytus, Litva
4. Ourense, Španělsko
5. Goriška, Slovinsko
6. Pomurska, Slovinsko
7. Jihomoravský kraj, Česko
8. Westerkwartier, Nizozemsko
9. Regierungsbezirk Dresden, Německo
10. Saarland, Německo

Případová studie Jihomoravský kraj - WP1: dělí koordinace M. Štastná, spolupráce M. Náplavová a M. Flekalová. Zpracovává profily regionálních ekonomik pro případové regiony na podkladě existujících dat. Na tomto základě budou vybrána profilová odvětví (např. zemědělství, lesní hospodářství, řemesla, potravinářství, cestovní ruch) pro další výzkum. Poté budou organizovány řízené rozhovory s představiteli příslušných odvětví, s nimiž kooperují klienti, investoři, subdodavatelé. Tímto způsobem budou zjišťovány globální a lokální sítě. Poté budou konfrontována kvantitativní data s kvalitativními. Dále budou identifikovány nejlepší příklady.

Plánované mezivýsledky:

- koncepční a metodologické aspekty, sběr dat a první empirické výsledky (4/2009)
- on-line průzkum a výsledky rozhovorů (6/2010)
- regionální rozvojové iniciativy a vybrané příklady (12/2010)
- konečné výsledky (6/2011).

Případová studie Jihomoravský kraj - WP3: dílčí koordinace P. Trnka, spolupráce H. Mrázková, L. Jakešová a K. Novotná. Budou studovány problémy disproporcí mezi ochranou a využitím krajiny, otázky využívání přírodních zdrojů jako součásti eko-ekonomiky a úloha lokálních, regionálních a globálních aktérů v regionálním rozhodovacím procesu. Jihomoravský kraj byl spolu se Západním Irskem vybrán pro analýzu environmentálního sektoru lesního hospodářství pod vlivem globálních, regionálních a lokálních faktorů a v interakci produkčních, ochranných a eko-ekonomických faktorů. Výzkum bude spočívat rovněž v analýze statistických dat a rozhovorů s klíčovými aktéry včetně analýz dalších materiálů.

Plánované mezivýsledky:

- sběr literatury a dat (6/2009)
- výsledky rozhovorů (1/2010)
- příklady nejlepší praxe (9/2010)
- schůzky s představiteli praxe v modelových územích (11/2010)
- konečné výsledky (6/2011).

Diseminace výsledků – WP6 : dílčí koordinace A. Vaishar, spolupráce M. Tichá a ostatní. Byl sestaven plán diseminačních aktivit. V rámci diseminace byla zřízena webová stránka projektu. Bude vydáván elektronický zpravodaj (1x ročně). Byl již zpracován leták projektu. Prostřednictvím subdodávky připravíme film o nejlepších praktikách. Uspořádání celkem 6 kulatých stolů nebo workshopů se stakeholdery proběhlo v 1. pololetí 2009. Budou realizovány exkurze do příslušných případových území. Národní týmy zorganizují vlastní akce v případových regionech (výstavy, prezentace, panelové diskuse, tiskové konference).

Rozšiřování informací o projektu a výsledků bude spočívat ve vyhotovení webové stránky, vydávání každoročního zpravodaje, natočení filmu, psaní článků, pořádání konferencí, přednášek, exkurzí a regionálních workshopů, vybudování webového informačního centra.

Každý region má tým stakeholderů, jejichž úlohy jsou následující: poskytují zpětné vazby výzkumu, ovlivňování výzkumných témat tak, aby byla prakticky využitelná, získání přístupu a kontaktů mezi výzkumem a praxí a mezi institucemi v praxi navzájem, poskytování a přebírání příkladů dobré praxe a v neposlední řadě vybraní stakeholdři se mohou stát členy Stakeholder Board. Stakeholders pro Jihomoravský kraj jsou tito: Krajský úřad Jihomoravského kraje, Ústav územního rozvoje, Institut regionálních informací, Regionální rozvojová agentura jižní Moravy, Ekologický institut Veronica a LEADER+MAS Znojemské vinařství. První workshop se stakeholders se konal 5. května 2009 na zámku ve Křtinách.

Obr. 3 Workshop Křtiny



Projekt má již vyhotovený poster a propagační informační leták.

Obr. 4 Workshop Křtiny

Obr. 5 Poster pro DERREG

Developing Europe's Rural Regions in the Era of Globalization

Why DERREG?

Globalization is one of the key challenges facing rural regions in Europe, bringing significant social, economic, cultural and political changes. Current studies on the impact of globalization on rural regions tend to focus on specific sectors or processes or localities. The absence of an overarching integrative analysis has been an obstacle limiting effective regional development strategies to cope with these challenges.

DERREG aims to produce an interpretative model that will enable researchers and regional development actors to better anticipate and respond to the key challenges posed by globalization for rural regions.

Case Study Areas

Research will be carried out in 10 case study regions:

1. Övre Norrland, Sweden
2. West Region, Ireland
3. Alytus, Lithuania
4. Comarca de Verín, Spain
5. Goriška region, Slovenia
6. Pomurska region, Slovenia
7. Jihomoravský kraj, Czech Republic
8. Westerkwartier, the Netherlands
9. Regierungsbezirk Dresden, Germany
10. Saarland, Germany

Who Will Benefit from DERREG?

The DERREG team will work with national and local stakeholders and other social scientists to advance existing scientific knowledge and produce practical recommendations for regional development strategies

www.derreg.eu

Obr. 6 Informační leták DERREG

The DERREG Consortium



TEAM LEADERS

Aberystwyth University, UK
 Prof. Michael Woods: m.woods@aber.ac.uk

Leibniz-Institut für Länderkunde, Germany
 Dr. Elke Knapp: E_Knapp@lkrp.org.de

Mendel University of Agriculture and Forestry Brno, Czech Republic
 Dr. Antonín Váňa: a.vanha@seznam.cz

National University of Ireland, Galway
 Dr. John McDonagh: john.mcdonagh@nuigalway.ie

Institute NaVork, Slovenia (Lithuanian Case Study)
 Ms. Emilija Kairyte: emilija.kairyte@gmail.com

Nordregio, Sweden
 Dr. Andrew Copus: andrew.copus@nordregio.se

Universität des Saarlandes, Germany
 Juniorprof. Dr. Birte Nienaber: b.nienaber@mx.uni-saarland.de

University of Ljubljana, Slovenia
 Dr. Barbara Lampič: barbara.lampic@uni-lj.si

Wageningen University, The Netherlands
 Dr. Dirk Rooep: dirk.roep@wur.nl

DERREG

Developing Europe's Rural Regions in the Era of Globalization

Project Coordinator: Prof. Michael Woods
 Project Office: Institute of Geography and Earth Sciences, Aberystwyth University, Aberystwyth, SY23 3DB, UK.
 Tel: +44 1970 621601
 Fax: +44 1970 622659
 E-mail: derreg@aber.ac.uk

For more information visit:
www.derreg.eu



Developing Europe's Rural Regions in the Era of Globalization

An Interpretative Model for Better Anticipating and Responding to Challenges for Regional Development in an Evolving International Context

European Union Sustainable Development & Territorial Dynamics

Project Office: Institute of Geography and Earth Sciences, Aberystwyth University, Aberystwyth, SY23 3DB, UK.
 Tel: +44 1970 621601
 Fax: +44 1970 622659
 E-mail: derreg@aber.ac.uk

For more information visit:
www.derreg.eu



Why DERREG?

Globalization is one of the key challenges facing rural regions in Europe, bringing significant social, economic, cultural and political changes. Current studies on the impact of globalization on rural regions tend to focus on specific sectors or processes or localities. The absence of an overarching integrative analysis has been an obstacle limiting effective regional development strategies to cope with these challenges.

DERREG aims to produce an interpretative model that will enable researchers and regional development actors to better anticipate and respond to the key challenges posed by globalization for rural regions.

Case Study Areas

Research will be carried out in 10 case study regions:

1. Östergötland, Sweden
2. West Region, Ireland
3. Alytus, Lithuania
4. Comarca de Verín, Spain
5. Gorška region, Slovenia
6. Pomurska region, Slovenia
7. Jihomoravský kraj, Czech Republic
8. Westerkwarter, the Netherlands
9. Regierungsbzirk Dresden, Germany
10. Saarland, Germany



Who Will Benefit from DERREG?

The DERREG teams will work with national and local stakeholders and other social scientists to advance existing scientific knowledge and produce practical recommendations for regional development strategies.



The Research Programme

DERREG will undertake empirical research in four thematic work packages:

- Global engagement and the local embeddedness of rural businesses
- International mobility and migration of rural populations
- Environmental capital and sustainable rural development
- Capacity building, governance and knowledge systems

A further work package will synthesize findings from these studies to produce an integrated analysis.

DERREG Dissemination

Findings from DERREG will be disseminated to academic and non-academic audiences through a number of means including:

- Project Website
- Annual Newsletter
- Film
- Journal articles
- Conference presentations
- Guest lectures
- Regional workshops and excursions
- Web-based resource centre
- Final dissemination event

Pracovní balík – WP5: koordinuje jej Aberystwyth. Kontextualizace výzkumu a vývoje interpretačního modelu WP5 bude syntetizovat příslušný kontext a výzkum prováděný pomocí WP 1-4 a rozvíjet interpretační model, který může být využit tvůrci politik, odborníky a výzkumníky, aby lépe předvíдали a reagovali na dopady globalizačních procesů na venkovské regiony. Za prvé bude WP5 uvádět do kontextu regionální případové studie a kvantitativní údaje týkající se témat WP 1-4

pro venkovské regiony v celé Evropě. Za druhé budou vypracovány přehledné zprávy pro každou z oblastí studia. Za třetí WP5 shrnuje poznatky a závěry z celé WP 1-4 v holistické analýze venkovských zkušeností a reakcí na globalizaci, zaměřujících k pochopení klíčových výzvy rozvoje venkovských oblastí v Evropě v důsledku velké hospodářské, sociální, politické a kulturní změny související s globalizací. Pracovní balík WP1 vypracoval podklady pro srovnávací analýzu o Jihomoravském kraji pro pracovní balík WP5 k porovnání studií regionů.

MATERIÁLY A METODIKY

Každý pracovní balík má vypracovanou metodiku, na základě které pracuje. V rámci pracovního balíku **WP1** byl vypracován na základě zadaných požadavků od koordinátora (Nordregio) přehled o dostupnosti hospodářských dat pro kraj, literární rešerši dostupné české literatury, případovou studii Jihomoravského kraje. Pro pracovní balík WP5 byla vyhotovena studie Jihomoravského kraje pro srovnávací analýzu jednotlivých regionů, které jsou zapojeny v DERREGU. Přehled hospodářských dat měl analyzovat strukturu podnikatelského prostředí regionu, zaměřit se na trendy v regionální ekonomice a trhu práce ve venkovských regionech. Tato studie byla zaměřena na sběr historických dat za posledních 15 let, dále na sběr dat pro různá odvětví činnosti (dle klasifikace NACE) a porovnání dat na lokální a globální úrovni. Tyto údaje umožňují si vytvořit obraz o regionu. Případová studie obsahuje stručný popis regionu, tradiční ekonomické zaměření a aktivity. Je zaměřena na hospodářský profil a podnikatelské prostředí v regionech. Obsahuje šest bodů: současné trendy v oblasti hospodářského rozvoje, struktura trhu práce, malé a střední podniky v regionech (podnikatelské prostředí), založení a zánik firem v regionu, internacionální prostředí investic a zapojení regionu do procesu ekonomické globalizace (napojení na světové hospodářské trhy). Srovnávací analýza Jihomoravského kraje pro pracovní balík WP5 obsahuje demografická, migrační data a průměrné ceny pronájmů a nemovitostí, dále environmentální a hospodářská data jako je bilance půdy, vlastnická práva k pozemkům diverzifikace zemědělských podniků, ekologické zemědělství hlavní zpracovatelé v regionu, NATURA 2000 a chráněná území, hornictví, elektrárny, obnovitelné zdroje energie (vodní, větrná, solární, biomasa). Poslední okruh tvoří nečíslná související data například, ze kterých Strukturálních fondů 2000-2006 Jihomoravský kraj čerpal peníze a jaký rozpočet získal ze Strukturálních fondů na období 2007-2013. Je zde uveden politický ráz kraje, občanské skupiny a místní environmentální problémy atd.

V rámci pracovního balíku **WP3** byl proveden průzkum dostupné literatury, analýza v současné době platného (2007 -?) a jemu předcházejícího (2002 - 2006) Programu rozvoje kraje a mediální analýza. V rámci analýzy Programu rozvoje kraje bylo aktuální období doplněno o související pasáže ze Strategie rozvoje Jihomoravského kraje, která se od Programu liší pouze delším plánovacím obdobím a dalšími tematickými programy a koncepcemi. Zjišťovalo se, jak se jednotlivé plány vypořádaly s konkrétními tématy týkajícími se klíčových ekonomických sektorů a globálních environmentálních diskurzů a jaké jsou vývojové trendy v daných oblastech. Takto prováděná analýza měla poskytnout odpovědi jak na obecné otázky, tak na otázky týkající se specifík daného území. Základem mediální analýzy bylo stanovení klíčových slov, resp. hledání vhodných českých ekvivalentů k anglickým termínům. Tato klíčová slova se týkala environmentálního kapitálu a zdrojů. Pomocí těchto slov se prováděla ve vybraných periodikách kvantitativní analýza. Při této analýze se pracovalo s online

archivy novin. Analýza se prováděla nejprve pro roky 2007 a 2008, později i pro období 2000-2001 za účelem srovnání.

VÝSLEDKY

WPI:

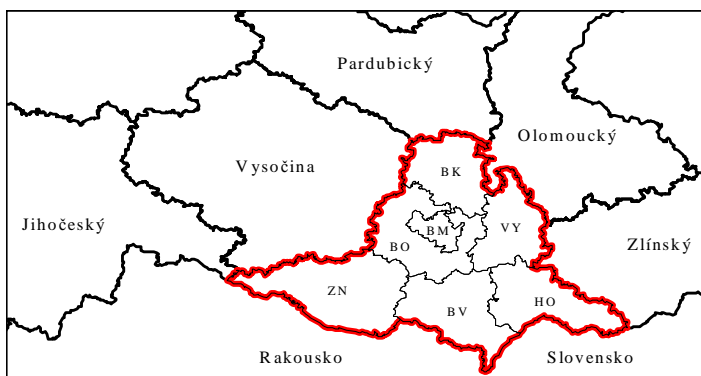
Pracovní balík WPI se nyní nachází na konci fáze jedna. Byl proveden průzkum dostupné odborné literatury v češtině. Dále byla ve spolupráci s koordinátorem (Nordregio) vypracována metodika a seznam dostupných dat pro Jihomoravský kraj (pro NUTS 3). Snahou bylo získat data na úrovni obcí. Problém byl shledán v tom, že naše obce v porovnání s ostatními zeměmi co do velikosti odpovídají spíše mikroregionům v ostatních zemích. Následoval sběr dat, jejich analýza a interpretace ve formě vyhotovení případové studie na základě přesně stanovených požadavků. Všechna shromážděná data by měla být porovnatelná v delší časové ose přibližně za poslední 15leté období, ale reálnější je získání dat za posledních 9 (max. 10) let. Databáze jednotlivých států nejsou srovnatelné s našimi databázemi, jak se týká metodik, velikosti územních jednotek, ale také srovnatelnosti časových údajů.

Případová studie:

Charakteristika Jihomoravského kraje

Jihomoravský kraj leží na jihovýchodě České republiky. Sousedí na jihu s Rakouskem, na jihovýchodě se Slovenskem, a dále s pěti kraji ČR – od západu k východu je to kraj Jihočeský, Vysočina, Pardubický, Olomoucký a Zlínský. Území Jihomoravského kraje tvoří okresy Brno-město, Brno-venkov, Hodonín, Břeclav, Znojmo, Blansko a Vyškov. Jihomoravský kraj má 672 obcí, z nichž 47 má statut města. Počet obyvatel kraje je pozitivně ovlivněn přítomností Brna, druhého největšího města republiky. Kraj měl 1,135 milionu obyvatel (2007) na rozloze 7 195 km². To představuje hustotu obyvatelstva 157 osob/km² a vjmeme-li Brno, činí tento ukazatel 110 obyvatel na km². Jde tedy o území typicky rurální podle kritérií Evropské unie. Pro jižní část kraje jsou typická velká venkovská sídla s více než tisícem obyvatel. V severní polovině průměrná velikost sídel klesá.

Obr. 7 Jihomoravský kraj



V Jihomoravském kraji se nachází 593 venkovských obcí, použijeme-li hranici 2 000 obyvatel podle Národního strategického plánu rozvoje venkova. Z celkového počtu obcí činí jejich podíl 88 %, na počtu obyvatel se podílejí necelými 30 %. Ve venkovských obcích Jihomoravského kraje žije 336 tisíc obyvatel. V první polovině 90. let počet obyvatel v obcích do 2 000 obyvatel mírně klesal. Od druhé poloviny 90. let obyvatelstva ve venkovských obcích mírně přibývá (růst 2 % v letech 1996 až 2004) oproti celému JMK, který zaznamenal pokles o 2 %. Vylidňování tak není obecným problémem venkova, ale spíše ohrožením vybraných území. Pozitivní vývoj počtu obyvatel se projevuje zejména ve venkovských obcích soustředěných v okolí větších měst, zřetelně se uplatňuje vliv Brna. Je to způsobeno především suburbanizačními trendy. Intenzita suburbanizačních jevů závisí na dopravní dostupnosti obce a projevuje se často značně selektivně.

Dnes již jen malá část obyvatel venkova pracuje v zemědělství (cca desetina až třetina ekonomicky aktivních v jednotlivých obcích). Na venkově pracuje značný podíl ekonomicky aktivních obyvatel ve službách, průmyslových provozech a řemeslných dílnách, nebo v závislosti na dopravní obslužnosti vyjíždí za prací do měst. Hlavním sektorem zaměstnanosti ve venkovských obcích je průmysl s 36,3 % pracujícího obyvatelstva. Sektor služeb zaměstnává 32 % pracujících venkova. S rostoucí velikostí obce a se zlepšující se dopravní polohou klesá podíl zaměstnaných v zemědělství a roste podíl zaměstnaných ve službách. Nezaměstnanost ve venkovském prostoru je silně ovlivněna dopravní polohou obce, tedy obtížností dojížděky. Nejhorší situace byla v únoru 2009 v některých venkovských obcích okresu Znojmo.

Pro Jihomoravský kraj je typické vyšší zastoupení větších venkovských obcí než odpovídá průměru Česka. Méně než 200 obyvatel má 17 % obcí kraje, ale 25 % obcí Česka. Méně než 500 obyvatel má 47 % obyvatel kraje a 57 % obyvatel celého státu. V Jihomoravském kraji se nachází 14 % venkovských obcí v zázemí měst (brána města nad 10 tis. obyvatel), 16 % obcí má velmi dobrou polohu, poloha 43 % venkovských obcí je velmi špatná.

Tab. 1 Velikostní struktura venkovských obcí Jihomoravského kraje

Počet obyvatel	1 000 – 4 999	500 - 999	200 - 499	méně než 200
Počet obcí	155	180	199	116

Pramen: www.czso.cz

Nejvýznamnějším výrobním odvětvím kraje je průmysl. Dominantním odvětvím ekonomiky Jihomoravského kraje je zpracovatelský průmysl. Nejvýznamnější pozici v regionu má strojírenství, zvláště energetika a elektrotechnika. Následuje textilní výroba, která je však v dlouhodobé recesi. Určitou důležitost má také potravinářský, chemický a farmaceutický průmysl, sklářství, keramika a dřevozpracující průmysl. Změny ve struktuře průmyslové výroby znamenaly na jedné straně snížení negativních environmentálních vlivů na krajinu, na straně druhé zábor relativně rozsáhlých ploch území pro nové průmyslové zóny.

Pro pozici zemědělství nejen v ekonomice kraje má značný význam skutečnost, že kraj má značný podíl zemědělské půdy na celkové výměře území, který překračuje 60 %. Také podíl orné půdy 50,9 % výměry území v Jihomoravském kraji (ČR 39,0%) má zásadní význam pro změny krajiny. Vedle standardní zemědělské prvovýroby se kraj v porovnání s ostatními regiony ČR vyznačuje důležitými

obory speciální produkce, především ovocnářství a vinařství. Podružná není ani produkce ryb. Naopak v posledních letech došlo k velkému poklesu živočišné výroby, zejména chovu skotu.

Současné trendy v oblasti hospodářského rozvoje

Podnikatelská aktivita je celkově vyšší ve městech (180 podnikatelů na 1000 obyvatel v roce 2001) než ve venkovských obcích (143 podnikatelů), což souvisí s koncentrací obyvatel a služeb, které lidé potřebují. Existují však venkovské obce s nadprůměrnou podnikatelskou aktivitou. Podnikatelská aktivita ve venkovských obcích závisí na jejich poloze: je vyšší v obcích s dobrou polohou a zejména v blízkosti větších měst, které využívají podnikatelské příležitosti v těchto městech, a současně je podnikatelská aktivita vyšší v dostatečně velkých obcích v periferní poloze, kde je konkurence nabídky služeb ve městech nízká z důvodu jejich odlehlosti. V Jihomoravském kraji roste podnikatelská aktivita s rostoucím počtem obyvatel ve venkovských obcích.

Jihomoravský kraj zaujímá v České republice významné místo v zemědělské výrobě. Zemědělství je svojí biologickou podstatou nosným a stabilizujícím prvkem venkovského prostoru a musí v něm hrát klíčovou roli, na kterou jsou napojeny další rozvojové procesy a aktivity. Kromě produkčních jsou významné i mimoprodukční funkce zemědělství, zejména krajinnotvorná a environmentální. Na jihovýchodě se jedná o půdu intenzivně využívanou. Vyskytují se zde oblasti řepařská a obilnářská. Severozápadní část je hornatější a převažují zde lesy. *Specializací zemědělské výroby kraje* je orientace na ovocnářství a vinohradnictví. Téměř 90 % výměry všech vinic v ČR připadá právě na Jihomoravský kraj (z Jihomoravského kraje téměř 48 % představuje okres Břeclav). V kraji se nachází také více než pětina ovocných sadů celé republiky. Vinohradnictví je rozvinuto v okresech Břeclav, Hodonín a Znojmo.

V Jihomoravském kraji bylo obhospodařováno téměř 363 tisíc hektarů zemědělské půdy (z toho orná půda tvořila 89,6 %), tato plocha představuje více než desetinu rozlohy obhospodařované zemědělské půdy České republiky. Lesní pozemky v Jihomoravském kraji (2,3 tisíc hektarů) představují pouze 0,2% podíl z lesů na území republiky.

Struktura trhu práce

Zaměstnanost

Dnes již jen malá část obyvatel venkova pracuje v zemědělství (cca desetina až třetina ekonomicky aktivních v jednotlivých obcích). Lze předpokládat, že struktura zaměstnanosti na venkově se proměňuje stejným směrem a tempem jako ve městech, ale s časovým zpožděním; na venkově je proto možné očekávat zvyšování zaměstnanosti ve službách, které může být rychlejší než ve městech v případě významnějšího rozvoje cestovního ruchu nebo v případě rozšíření práce doma prostřednictvím internetu. Zaměstnanost v zemědělství, lesnictví a vodním hospodářství (primární sektor) činila v roce 2001 v České republice méně než 5 %. Po velkém poklesu zaměstnanosti na počátku 90. let podíl klesal již jen pozvolna. Hlavním sektorem zaměstnanosti ve venkovských obcích je průmysl s 36,3 % pracujícího obyvatelstva. Sektor služeb zaměstnává 32 % pracujících (města 53,1 %, JMK 45,7 %). S rostoucí velikostí obce a se zlepšující se dopravní polohou klesá podíl zaměstnaných v zemědělství a roste podíl zaměstnaných ve službách. Ve vyjížděce za prací jsou veliké rozdíly mezi městem a venkovským prostorem. Rozdíl v podílu vyjíždějících pracujících činí

40 – 50 %. Je to dáno tím, že intenzita vyjízdky těsně souvisí s populační velikostí obce. Ve městech se také koncentruje většina ekonomických aktivit a tím i pracovních míst. Podíl vyjízďejících pracujících z venkovských obcí činí 73,7 % (města 23,1 %, JMK 42 %). Počet pracovníků v zemědělství v Jihomoravském kraji se v roce 2007 proti předchozím rokům zvýšil. Podle šetření se v říjnu 2006 až září 2007 touto činností zabývalo téměř 34 tisíc osob, což je v porovnání s ostatními kraji největší počet. Z věkové struktury pracovníků je patrné, že uplatnění v tomto odvětví nachází z větší části osoby středního a vyššího věku, protože nejčetnější skupinou jsou osoby ve věku 45 až 54 let (26,8 %) a dále pak čtvrtina osob je ve stáří 55 až 64 let. K září 2007 podnikalo v JMK v zemědělství téměř 8,2 tisíc subjektů. Na tomto počtu se podniky fyzických osob podílí 94,9% z nich pak nadpoloviční většinou (4,4 tisíce) představují zemědělství podnikatelé a samostatně hospodařící rolníci. Ze 416 podniků právnických osob je 239 společností s ručením omezeným, 102 akciových společností a 61 družstev. Z celkového počtu zemědělských subjektů se věnuje ekologickému zemědělství 52 podniků, z nich 31 provozuje výhradně ekologické zemědělství.

Nejvyšší počet zemědělských podniků hospodář v okrese Břeclav a Hodonín, 2867 resp. 2148 podniků představuje celkem 35,1% resp. 26,3% z krajského počtu hospodařících subjektů. Naproti tomu v okrese Vyškov (231) a Brno-město (227) hospodaří shodně pouze 2,8 % z krajského počtu podniků.

Tab. 2 Hospodařící subjekty v zemědělství v Jihomoravském kraji podle práv

	Hospodařící subjekty celkem	v tom podle právní formy					
		podniky fyzických osob	z toho zemědělství podnikatelé a SHR ¹⁾	podniky právnických osob	z toho		
					společnost s r.o.	akciové společnosti	družstva
Jihomoravský kraj	8 165	7 749	4 392	416	239	102	61
v tom okres:							
Blansko	407	376	258	31	14	11	6
Brno-město	227	203	134	24	15	6	2
Brno-venkov	1 044	977	642	67	35	15	15
Břeclav	2 867	2 752	1 497	115	75	23	12
Hodonín	2 148	2 086	1 123	62	32	24	2
Vyškov	231	206	177	25	11	8	6
Znojmo	1 241	1 149	561	92	57	15	18

¹⁾ samostatně hospodařící rolník

Pramen: www.czso.cz

Malé a střední podniky v regionálním podnikatelském prostředí

Z hlediska počtu subjektů evidovaných v Jihomoravském kraji představují malé a střední podniky více než 99 % subjektů. Ovšem podíl zaměstnanců těchto podniků na celkové zaměstnanosti v kraji ke konci roku 2006, ale představuje jen 71,6 % – zaměstnanost v malých a středních podnicích je zkonstruována jako součet počtu zaměstnanců v podnicích, které mají podle registru ekonomických subjektů od 1 do 249 zaměstnanců, osob pracujících na vlastní účet (tzn. bez zaměstnanců) a pracujících rodinných příslušníků podle výsledků Výběrového šetření pracovních sil. Větší firmy se zabývají hlavně zemědělstvím, lesnictvím, průmyslem a obchodem s potravinami.

WP3:

Analýza Programu rozvoje kraje se soustředila na různé ekonomické sektory a na to, jak se tyto programy vypořádaly s globálním environmentálním diskurzem.

V rámci sektoru zemědělství se zjišťovalo, jak se jednotlivé programy vypořádávají s ekologickým a extenzivním zemědělstvím a ochranou krajiny. Ekologické zemědělství není v žádném programu řešeno. Problematika extenzivního zemědělství je v obou programech obsažena rovnoměrně. Ochrana a tvorba krajiny v kontextu zemědělské výroby je řešena nedostatečně. Ochrana a tvorba krajiny je věnována v obou případech několik samostatných opatření, bohužel bez přímé vazby na zemědělství. V aktuálním programu je do opatření zemědělského charakteru tato problematika okrajově promítnuta.

V sektoru lesnictví se pozornost soustředila na udržitelné lesní hospodářství. Vývoj v této problematice lze hodnotit jako jednoznačně pozitivní zejména vzhledem k tomu, že lesní hospodářství má v Jihomoravském kraji od roku 2009 svoji koncepci, která zohledňuje principy ekosystémového přístupu. Z hlediska zalesňování nelze hovořit o zcela pozitivním trendu. Programy počítají se zvýšením výměr lesních pozemků, avšak již zde nejsou obsažena konkrétní opatření.

Ani jedna verze programu, ani Strategie rozvoje cestovního ruchu Jihomoravského kraje se v sektoru turismu příliš nezaměřují na rozvoj eco- či agroturistiky. Cykloturistice se oba programy věnují v podstatě srovnatelně. Pozitivní trend lze zaznamenat v rozpracované koncepci rozvoje cyklostezek. Pěší turistice se programy věnují pouze ve smyslu údržby, obnovy a tvorby stezek. Vodní ani lázeňská turistika nejsou řešeny.

Problematika obnovitelných zdrojů energie byla zejména v předchozí verzi programu řešena precizně. V současné době jsou obnovitelné zdroje energie řešeny jak v programu, tak i ve Strategii rozvoje Jihomoravského kraje. Významně je posílena problematika biomasy, avšak větrná ani solární energie nejsou v dokumentech řešeny.

Ochrana a změnou klimatu se programy přímo nezabývají, ale tato témata jsou rozpracována v řadě samostatných koncepcí kraje. Problematika kvality ovzduší je v současné době řešena jen okrajově. Znečištěním a nedostatkem vody se oba programy zabývají srovnatelně. V aktuální verzi však chybí opatření zaměřené na odstranění eutrofních vod. Povrchně je řešena problematika odpadů a odkazuje se na program odpadového hospodářství kraje. Dostatečný prostor je v aktuálním programu věnován tématu záboru půdy a jeho regulace. V současné verzi programu chybí problematika ochrany půdy a eroze půdy. Přitom v kraji kromě vodní eroze se objevuje i větrná. Téma ochrany druhů je nedostatečně řešeno. Měla by být součástí programu rozvoje kraje a měla by být specifikována jednotlivá opatření.

V rámci mediální analýzy se prvním krokem zjišťovalo, která tištěná média píšou o environmentálních tématech. Z celostátních deníků s regionální mutací to jsou Mladá fronta DNES (Mafra, a.s.), Právo (Borgis, a.s.) a Lidové noviny, a.s. Aktuální informace z obcí daného regionu přináší regionální jihomoravské deníky (vydavatel Vltava-Labe-Press, a.s.) - Brněnský deník Rovnost, Blanenský deník, Břeclavský deník, Hodonínský deník, Vyškovský deník a Znojemský deník. Tyto deníky byly podrobeny detailní mediální analýze dle zadaných klíčových slov. Mezi regionální týdeníky patří Moravský Jih, Naše Slovácko, Znojemsko, Blanensko a Boskovicko. Tato média se zaměřují na přírodní a kulturní hodnoty regionu, společenský život a pořádané akce v regionu. Zdarma je dostupný celostátní týdeník s regionálním dosahem Sedmička (vydavatel MF, od r. 2009). Tento týdeník má například mutace pro Brno a Vyškov, Hodonín a Břeclav. Zajistit informovanost obyvatel o aktuálním dění v kraji má měsíčník Listy jižní Moravy (zadavatel Jihomoravský kraj). Měsíčník Brněnský METROPOLITAN přináší informace občanům statutárního města Brna. Dvakrát za rok je vydáván a zdarma distribuován obecním úřadům a školám časopis pro ekologickou výchovu a osvětu

Jihomoravské Ekolisty. Šestkrát za rok je vydáván časopis Veronica (vydává Regionální sdružení ČSOP Brno a Ekologický institut Veronica). Tento časopis je zaměřen na problematiku ochrany přírody a krajiny, ekologické poradenství a aktivity nevládních neziskových organizací.

Z mediální analýzy provedené v regionálních denících a časopisech vyplynulo, že se věnují nejčastěji tématům souvisejícím s regionem. Nejčastěji se zde píše o problematice ochrany přírody a krajiny, o rekreaci a turismu, o obnovitelných zdrojích energie a o problematice nakládání s odpady. Částým námětem jsou dopady povodní a vichřic, málo se píše o dřívě běžně se objevujícím znečištění ovzduší. Zprávy o konkrétních tématech prezentují regionální noviny poměrně objektivně, avšak často zjednodušeně. Prostor pro vyjádření obvykle dostávají obě strany. Pravidelný čtenář si může poměrně snadno utvořit na diskutovaný problém svůj názor.

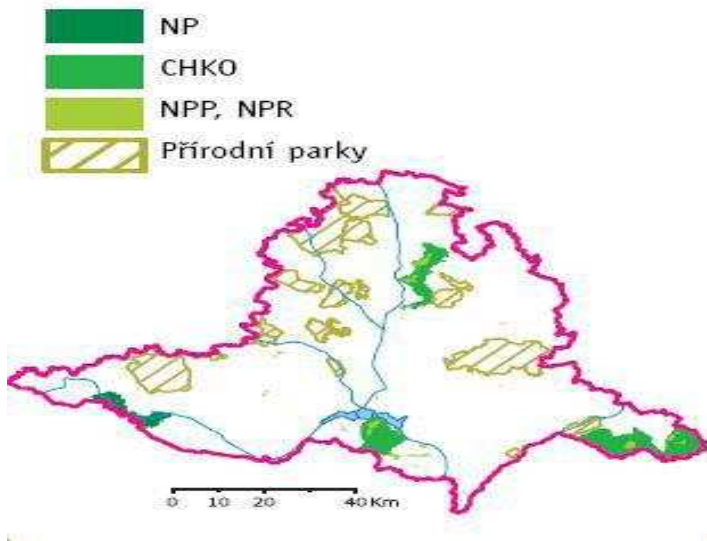
Pracovní balík WP 3 se má v Jihomoravském kraji soustředit zejména na problematiku lesnictví. Ve srovnání s ostatními kraji České republiky má Jihomoravský jednu z nejnižších lesnatostí, 28 %. Rozloha lesů se od druhé poloviny 20. století neustále zvyšuje a to zejména zalesňováním nevyužívaných zemědělských půd. Na území Jihomoravského kraje nalezneme sedm přírodních lesních oblastí (část Českomoravské vrchoviny, část Drahanské vrchoviny, část Českomoravského mezihoří, část Předhoří Českomoravské vrchoviny, část Hornomoravského úvalu, část Středomoravských Karpat a část Bílých Karpat). Rozhodující podíl lesů (72 %) je ve vlastnictví státu (Lesy České republiky, s. p., vojenské lesy a statky, s. p., Národní park Podyjí, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita Brno), obcím patří 12 % lesů a soukromí vlastníci obhospodařují 16 % lesů.

Podle převažujících funkcí (ve smyslu kategorizace lesů určené zákonem č. 289/1995 Sb.) je v kraji 68 % lesů hospodářských, 30 % lesů zvláštního určení a 2 % lesů ochranných. Deset procent lesů se nachází ve zvláště chráněných územích. Významným krajinnotvorným fenoménem jsou v zemědělské krajině ochranné lesní pásy – větrolamy. Jejich celková výměra tvoří 1 200 ha. Z hlediska druhové skladby je plošně zastoupení jehličnatých (50,5 %) a listnatých (49,5 %) dřevin prakticky vyrovnané. Zastoupení listnatých dřevin však výrazně převyšuje průměr České republiky. Většina lesních porostů je stejnověká. Průměrný věk porostů v kraji je 64,2 let. Průměrné zakmenění lesů v Jihomoravském kraji činí 0,92 plného zakmenění. Průměrná zásoba jehličnatého dříví v Jihomoravském kraji činí 286,2 m³/ha, což celkem činí 27 931 408 m³. Průměrná zásoba listnatého dříví je 194,7 m³/ha, což celkem činí 18 956 670 m³. Ročně se v kraji vytěží okolo 1,1 mil. m³ dříví. Více než polovina tohoto množství se exportuje v surovém stavu nebo v polotovarech.

Rozvojem lesů v Jihomoravském kraji se zabývá Program rozvoje lesního hospodářství Jihomoravského kraje (2009). Principem tohoto programu je obhospodařování lesů trvale udržitelným způsobem.

Jihomoravský kraj patří v rámci ČR k regionům s velmi vysokým zastoupením přírodních hodnot. V kraji se z velkoplošných chráněných území nachází 1 národní park (NP) - Podyjí a 3 chráněné krajinné oblasti (CHKO) - Moravský Kras, Pálava a Bílé Karpaty (menší část). Na území Jihomoravského kraje byly zřízeny 2 biosférické rezervace UNESCO (Dolní Morava, Bílé Karpaty). Bylo zde vymezeno mimořádně vysoké množství maloplošných chráněných území (224). Na území kraje bylo vyhlášeno 175 evropsky významných lokalit (EVL) a 7 ptačích oblastí soustavy NATURA 2000. Na základě novelizace pak bylo doplněno dalších 12 EVL. Rovněž zde bylo vyhlášeno 20 přírodních parků. Velké množství již vyhlášených významných krajinných prvků ze zákona (VKP) je nedílnou součástí poměrně hustého územního systému ekologické stability (ÚSES) jak na regionální, tak lokální úrovni.

Obr. 8 Chráněná území Jihomoravského kraje



Tab. 3 Chráněná území Jihomoravského kraje

Vybrané údaje za Jihomoravský kraj - chráněná území

(údaje v územní struktuře daného roku)

Pramen: Agentura ochrany přírody a krajiny

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Počet chráněných území									
národní parky	1	1	1	1	1	1	1	1	1
chráněné krajinné oblasti	3	3	3	3	3	3	3	3	3
maloplošná chráněná území	251	258	275	276	277	278	279	281	282
z toho národní přírodní památky	12	12	12	12	13	13	13	13	13
národní přírodní rezervace	17	17	17	17	17	18	18	18	18
Rozloha chráněných území (ha)									
národní parky ¹⁾	6 251	6 251	6 259	6 259	6 259
chráněné krajinné oblasti ¹⁾	35 442	35 442	35 405	35 512	35 512
maloplošná chráněná území ²⁾	7 959	7 993	8 042	8 116	8 224	8 293	8 310	8 476	8 278
z toho národní přírodní památky	330	330	330	330	361	343	357	357	357
národní přírodní rezervace	2 648	2 648	2 648	2 648	2 726	2 812	2 811	2 809	2 588

¹⁾ rozloha podle GIS

²⁾ rozloha podle vyhlášek

Pramen: www.czso.cz

ZÁVĚR

Projekt je vypsán na roky 2009-2011. Oba pracovní balíky, na kterých pracuje MZLU se nacházejí na konci fáze jedna. V rámci pracovního balíku WP1 byl proveden průzkum dostupnosti hospodářských dat pro kraj, literární rešerše dostupné české literatury a případová studie Jihomoravského kraje. Problém byl shledán v tom, že naše obce v porovnání s ostatními zeměmi co do velikosti odpovídají spíše mikroregionům v ostatních zemích. Dále by měla být všechna shromážděná porovnatelná v delší časové ose přibližně za poslední 15leté období, ale reálnější je získání dat za posledních 9 (max. 10) let. Databáze jednotlivých států nejsou srovnatelné s našimi databázemi, jak co se týká metodik, velikosti územních jednotek, ale také srovnatelnosti časových údajů. Tyto vzniklé problémy se budou muset ještě dořešit s koordinátory.

Hospodářská restrukturalizace tohoto regionu byla založena na technologickém pokroku a na transformaci z centrální plánované na tržní ekonomiku. Primární sektor byl transformován pod tlakem konkurence ze západní Evropy a pod tlakem levných výrobků z rozvojových zemí, které mají levnou pracovní sílu. Roste produktivita práce v důsledku nových technologií, což má za následek pokles lidí zaměstnaných v tomto sektoru. V sekundárním sektoru, byly některé průmyslové závody zrušeny vzhledem k nízké konkurenceschopnosti nebo neúspěšné privatizaci. Produktivita práce stoupá, ale snižuje se počet zaměstnanců. Terciární sektor se vyvíjí velmi rychle ve většině oborů. Důraz je kladen na vzdělání, zdravotnictví, sociální služby a turistiku.

U pracovního balíku nyní probíhá druhá fáze projektu, která se zabývá studii podnikové sítě ve venkovských oblastech regionu v návaznosti na integraci lokálních subjektů do regionálních a globálních sítí. Proběhne dotazníkový průzkum nejprve rozesláním emailu přibližně do 50 firem. Poté bude probíhat setkání face-to-face se zástupci malých a středních firem (10- 49 zaměstnanců). Zaměříme se na nejen na zemědělské podniky, farmy „tzv.agro-podnikání“. Průzkum bude proveden alespoň v 5 různých odvětvích (zemědělství, rybolov, lesnictví, stavebnictví, výroba, energie, služby, cestovní ruch atd.) a zde by měl být pro každé odvětví proveden průzkum asi u 4 firem. Snahou je určení rovnováhy mezi tzv. „tradičními“ a novými odvětvími, která by měla být nalezena ve venkovských regionech. Nyní Nordregio připravuje první návrh emailu průzkumu pro WP1 a partnery, který by měl být vyhotoven do konce listopadu 2009. Do konce prosince proběhnou komentáře a modifikace k dotazníkům z naší strany. Následovat bude vyhotovení seznamu adresátů s emailovými kontakty a zaslání dotazníků v národním jazyce. Dotazník by měl zahrnovat dvě hlavní části, jedna bude popisovat samotný podnik a druhá obchodní partnery.

Na základě dokumentární analýzy provedené v rámci pracovního balíku WP3 bylo zjištěno, že se Programy rozvoje kraje environmentálními dopady zemědělství zabývají jen minimálně. Problematice lesnictví se programy věnují důkladněji, zejména s ohledem na existující Program rozvoje lesního hospodářství Jihomoravského kraje. Kraj se ve svých strategických dokumentech, které se dotýkají turismu a sousředí především na pěší a cykloturistiku, rozvoji eko- a agroturistiky se prakticky nevěnují. Obnovitelné zdroje energie jsou rozvojových programech Jihomoravského kraje řešeny poměrně důkladně. Energetika je v rozvojových programech. V řadě samostatných koncepcí kraje se objevuje problematika ochrany a změny klimatu. Naopak kvalita ovzduší ustupuje do pozadí. Ochráně půdy i druhů se programy věnují nedostatečně.

Z mediální analýzy vyplynulo, že Jihomoravský kraj je poměrně dostatečně zásoben tištěnými médii, která píší o různých environmentálních tématech. Regionální deníky se často věnují lokálním tématům. Nejčastěji se zde píše o problematice ochrany přírody a krajiny, o rekreaci a turismu, o obnovitelných zdrojích energie a o problematice nakládání s odpady.

LITERATURA

Oficiální stránky Český statistický úřad [online].[cit.15.června 2009]. Dostupné na WWW: <<http://www.czso.cz/>>.

Oficiální stránky Český statistický úřad Jihomoravský kraj [online].[cit.2.května 2009]. Dostupné na WWW: <<http://www.bmo.czso.cz/>>.

Oficiální stránky Portál Jihomoravského kraje [online].[cit. 15.května 2009]. Dostupné na WWW: <<http://www.kr-jihomoravsky.cz/>>.

Oficiální stránky Regionální informační servis [online].[cit. 5.srpna 2009]. Dostupné na WWW: <http://www.risy.cz/okresy_jihomoravsky_kraj/>.

Oficiální stránky DERREG [online].[cit. 15.října 2009]. Dostupné na WWW: <<http://www.derreg.eu/>>.

Oficiální stránky Blanenský deník [online].[cit. 22.července 2009]. Dostupné na WWW: <<http://blanensky.denik.cz/>>.

Oficiální stránky Hodonínský deník [online].[cit. 25.července 2009]. Dostupné na WWW: <<http://hodoninsky.denik.cz/>>.

Oficiální stránky Břeclavský deník [online].[cit. 27.července 2009]. Dostupné na WWW: <<http://breclavsky.denik.cz/>>.

Oficiální stránky Vyškovský deník [online].[cit. 2.srpna 2009]. Dostupné na WWW: <<http://vyskovsky.denik.cz/>>.

Oficiální stránky Znojemský deník [online].[cit. 10.srpna 2009]. Dostupné na WWW: <<http://znojemsky.denik.cz/>>.

Oficiální stránky Brněnský deník [online].[cit. 25.srpna 2009]. Dostupné na WWW: <<http://brnensky.denik.cz/>>.

Oficiální stránky GaREP (Společnost pro regionální ekonomické poradenství) [online].[cit. 9.října 2009]. Dostupné na WWW: <<http://www.garep.cz/index.html>>.

Publikace DERREG:

DERREG; Work programme/Topic: Regional development challenges in an evolving international context; Dr. Michael Woods, Aberystwyth University, 2009

DERREG; WP5: Synthesis and Contextualisation of Research and Development of an Interpretative Model; Literature Review and Conceptual Framework, Dr. Michael Woods, Aberystwyth University, 2009

ASSESSMENT OF WATER-SOLUBLE HEAVY METAL FORM CONTENTS IN COMPOSTED BIODEGRADABLE MUNICIPAL WASTES

Ozimek A., Gondek K., Kopec M.

Department of Agricultural and Environmental Chemistry, University of Agriculture in Krakow, Al. Mickiewicza 21, Krakow, Poland

E-mail: aozimek@o2.pl

ABSTRACT

Some kinds of municipal wastes reveal considerable contents of organic matter and nutrients, which after returning to element cycling may be used by plants. It causes that municipal wastes are very good initial material for composting. The use of composts for improving soil properties and soil fertilization may raise controversy, particularly when they are produced of waste substances. Heavy metals concentrations may be one of the factors limiting environmental application of this type of materials. Total contents of these elements in composts allows to assess their potential applications but does not include their bioavailability. Presented research results aimed at determining the effect of municipal waste composting with various additions (starch, edible oil and urea) on the contents of water-soluble forms of cadmium, chromium, lead and nickel in the obtained composts. Total contents of the analyzed heavy metals were assessed after sample mineralization at 450°C for 5 hours and dissolving the remains in diluted HNO₃ (1:2). Water-soluble form of heavy metals was separated using sequential chemical extraction acc. to McLaren and Crawford's method. Heavy metals content was determined in the obtained extracts using ICP-AS method in JY 238Ultrac apparatus (Jobin Yvon). From among the studied metals the smallest amount of total cadmium forms was assessed. The contents of water-soluble forms of the analyzed heavy metals in composts were conditioned by the extraction time and increased after 30 days. Cadmium was an exception in compost with starch and compost with urea, whereas nickel in compost with urea.

Key words: municipal wastes, composts water-soluble forms of heavy metals

INTRODUCTION

Because of their properties some municipal wastes are used as an initial material for composting process. Waste composting allows to improve their biological properties and chemical composition. Specific conditions emerge during composting, connected with heightened microbial activity and relatively high temperature, which contributes to liquidation of sanitary hazards of the composted materials. Supplements of various materials may be used during the process to optimize chemical composition, simultaneously intensifying the rate of occurring changes [Baran et al 2002]. Waste composting allows to obtain the product which can find environmental applications once it meets the respective quality requirements [Rosik-Dulewska 2001]. Waste heavy metals concentrations may prove a factor limiting environmental use of these materials. Total contents of these elements in composts make possible estimation of their use but it does not comprise their bioavailability assessment. Presented research aimed at determining the effect of composting municipal wastes with various supplements (starch, edible oil and urea) on the contents of water-soluble forms of cadmium, chromium, lead and nickel in the obtained composts subjected to extraction.

MATERIALS AND METHODS

Researched was raw (heating) compost of plant wastes leaving bioreactor chamber of composting plant operating in MUT-Kyberferm system. Organic material remained in the chamber for 14 days. The following wastes were used proportionately for preparing the initial material for analyses: fresh cuttings 10.2 %; fine cuttings 33.7 %; pomace 21.9 %; grass 23.1 % and tobacco waste 11.0 %. The composting process of initial material (heating compost) was conducted for 210 days in insulated containers with 20 dm³ capacity. The experiments comprised the following variants in two replications:

Object I – heating compost (control),

Object II – heating compost + starch,

Object III – heating compost + edible oil,

Object IV – heating compost + urea.

Starch, edible oil or urea supplements constituted 5 % in relation to heating compost fresh mass. After the components were thoroughly mixed, the material was placed in containers equipped with aerating system. The temperature and moisture inside the containers were checked during composting. Mass losses of the composted material were checked at two-week intervals, the materials inside the containers were stirred and water losses were supplemented. When the composting process was completed the materials were thoroughly mixed and sifted through a sieve to isolate a fraction with >1cm diameter (mesh fraction) and <1cm (minus mesh); subsequently samples for chemical assessments were collected. Edible starch and edible oil were used and chemically pure urea. The following assessments were made in the initial material and in the materials obtained after composting process using methods described in the papers by Baran and Turski [1996]:

- dry weight content at the temperature of 105 °C for 12 hours,
- pH measured by potentiometer in organic materials and water suspension, maintaining 1:10 dry weight to water ratio,
- electrical conductivity by conductometer,
- organic carbon content by Tiurin's method,
- total contents of analysed heavy metals (Cd, Cr, Pb and Ni) were assessed after sample mineralization in a muffle furnace (450 °C for 5 hours) and dissolving the remains in diluted (1:2) nitric acid,
- bi-distilled water was used for separating water-soluble forms of the studied heavy metals [Bogacz 1996].

Heavy metals concentrations in the obtained extracts were assessed by means of ICP-AES method in JY 238 Ultrace apparatus (Jobin Yvon). Presented results of analyses constitute arithmetic means of two replications differing by a maximum of 5 %. Standard error (SE) was computed for mean values presented in tables. Mean pH values of the tested composts and standard error values were computed after converting pH into hydrogen ion concentration.

RESULTS AND DISCUSSION

Dry matter content in the investigated organic materials after composting was diversified not only in relation to added component but also due to the analyzed compost fraction (mesh fraction or minus mesh) (Tab. 1). In comparison with "heating compost" collected after leaving bioreactor chamber, dry matter content increased in the mesh fraction of all composts. Increase in compost minus mesh fraction dry matter was registered only on the object where starch was added to "heating" compost. pH is one of the most important chemical characteristics of waste substances. Conducted experiments demonstrated an apparent increase in the value of discussed parameter in the discussed composts in comparison with the initial material - "heating" compost. (Tab. 1 and 2).

Recommended measure of compost salinification is their electrolytic conductivity [Baran and Turski 1996]. Excess of soluble salts in composts, at their environmental application may lead to total plant wilting or development of many diseases. Electrolytic conductivity of water solutions depends on the kind of soluble substances, their concentrations and the temperature. Value of electrolytic conductivity was the highest in both fractions of compost without admixtures (Tab. 2).

Organic carbon content diminished in minus mesh fraction of all composts in comparison with the content assessed in "heating" compost collected after its leaving the bioreactor (Tab. 1 and 2). On the other hand the highest content of this component was found in the mesh fraction.

Tab. 1 Selected properties of raw "heating" compost after leaving the bioreactor

Parameter	Value
Dry weight $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	549.8 ± 2.20
pH H_2O	$6.52 \pm < 0.01$
Organic C $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ s.m.	320.1 ± 7.16
Electrolytic conductivity $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$	5.58 ± 0.07
Cd $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ s.m.	0.67 ± 0.01
Pb $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ s.m.	11.52 ± 0.22
Ni $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ s.m.	10.01 ± 0.49
Cr $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ s.m.	29.58 ± 2.80

\pm SE (standard error). n = 2

Tab. 2 Selected properties of organic materials after composting

Objects		Dry weight $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	pH H_2O	Organic C $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ d.m.	Electrolytic conductivity $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$
Heating compost (control)	Mesh fraction	515.0 ± 20.2	$7.85 \pm < 0.01$	309.9 ± 4.1	6.31 ± 0.07
	Minus mesh	571.2 ± 15.6	7.82 ± 0.03	342.2 ± 22.4	6.74 ± 1.08
Heating compost + starch	Mesh fraction	645.9 ± 28.6	7.84 ± 0.03	312.1 ± 3.7	5.98 ± 0.06
	Minus mesh	705.7 ± 18.5	7.97 ± 0.01	397.0 ± 12.6	5.43 ± 0.30
Heating compost + edible oil	Mesh fraction	512.7 ± 21.7	7.74 ± 0.02	302.8 ± 7.7	5.90 ± 0.07
	Minus mesh	560.1 ± 16.4	8.40 ± 0.01	331.6 ± 22.3	5.06 ± 0.01
Heating compost + urea	Mesh fraction	544.3 ± 24.7	7.58 ± 0.01	318.5 ± 6.0	5.76 ± 0.27
	Minus mesh	590.7 ± 15.8	7.57 ± 0.01	337.4 ± 12.2	5.87 ± 0.06

\pm SE (standard error). n = 2

Total content of cadmium (Tab. 3) remained on a similar level ($0.81\text{-}0.86 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), however it was slightly higher – $0.91 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ in the compost with urea supplement. Considering total cadmium content, the studied composts (irrespectively of compost fraction) may be classified to the first class on the basis of limits stated in the EU regulations [Hogg et al. 2002]. Cadmium content extracted with water was the highest in compost with urea supplement. The share of this form in total cadmium content after 18 hours in mesh fraction constituted 38 % of the total content. A decline in the content was observed after 30 days. Cd- H_2O constituted 28 % of the total mass. A decrease in water-soluble

cadmium was observed also in compost with an admixture of starch (over 6 % after 30 days from composting completion). In the other variants a slight increase in water-soluble cadmium was noted after 30 days, e.g. in control compost by $0.002 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and in the compost with oil by $0.014 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Tab. 3 Cadmium content in organic materials after composting process

Objects		Total Cd $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	Cd – H ₂ O $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (after 18 hrs.)	Cd – H ₂ O $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (after 30 days)
Heating compost (control)	Mesh fraction	0.86 ± 0.02	$0.060 \pm < 0.01$	0.062 ± 0.02
Heating compost + starch	Mesh fraction	0.81 ± 0.05	$0.051 \pm < 0.01$	$0.046 \pm < 0.01$
Heating compost + edible oil	Mesh fraction	0.81 ± 0.01	$0.032 \pm < 0.01$	$0.046 \pm < 0.01$
Heating compost + urea	Mesh fraction	0.91 ± 0.09	$0.350 \pm < 0.01$	0.254 ± 0.01

± SE (standard error), n = 2

Total content of nickel (Tab. 4) was the highest in compost with urea supplement, by almost 50 % in comparison with the other combinations. Considering their total nickel contents and independently of the fraction, on the basis of EU regulations, the studied composts may be classified in the first class [Hogg et al. 2002]. Diversification of the total nickel content in the tested materials was reflected in differentiated amounts of this element extracted with water. The greatest amount of water-soluble nickel forms was assessed in compost with urea supplement. After 18 hours the amount in extracts was almost 4 times higher. After 30 days the contents of Ni-H₂O increased in each variant, except compost with urea admixture. In this case, the content diminished by $0.008 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Releasing the content of water-soluble nickel was observed after 30 days in the control object. Total nickel content in the studied materials was small, similar as water-soluble fraction content. These are stable and biologically inactive nickel forms. Rosik-Dulewska [2001] stated that, irrespectively of the season in which the compost was manufactured, the greatest amounts of nickel became accumulated in the residue fraction.

Tab. 4 Content of nickel in organic materials after composting

Objects		Total Ni $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	Ni – H ₂ O $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (after 18 hrs.)	Ni – H ₂ O $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (after 30 days)
Heating compost (control)	Mesh fraction	15.97 ± 0.39	0.68 ± 0.01	1.00 ± 0.02
Heating compost + starch	Mesh fraction	15.30 ± 1.14	0.64 ± 0.02	0.84 ± 0.012
Heating compost + edible oil	Mesh fraction	16.82 ± 1.26	0.56 ± 0.01	0.70 ± 0.08
Heating compost + urea	Mesh fraction	27.16 ± 4.04	2.59 ± 0.02	2.51 ± 0.04

± SE (standard error), n = 2

Total content of lead (Tab. 5) in the analyzed composts was on a similar level: $13.78 - 15.62 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Assessed total Pb content allows to count the investigated composts to the first class [Hogg et al. 2002]. After 18 hours the content of lead extracted with water was the greatest in the compost with urea

supplement. The amount was between 5 and 9 times bigger in comparison with the other composts. After 30 days a clear increase in Pb – H₂O was observed in each variant. Water-soluble lead concentration increased most (over twice) in the compost with urea admixture and slightly less in the control compost. In the other two variants the increase in the content was respectively: 1.11 mg ·kg⁻¹ in the compost with starch admixture and 1.30 mg ·kg⁻¹ in the compost with added edible oil.

Tab. 5 Content of lead in organic materials after composting

Objects		Total Pb mg·kg ⁻¹	Pb – H ₂ O mg·kg ⁻¹ (after 18 hrs.)	Pb – H ₂ O mg·kg ⁻¹ (after 30 days)
Heating compost (control)	Mesh fraction	14.87 ± 0.16	0.49 ± 0.07	2.42 ± 0.32
Heating compost + starch	Mesh fraction	15.36 ± 1.09	0.41 ± 0.07	1.52 ± 0.08
Heating compost + edible oil	Mesh fraction	15.62 ± 0.40	0.33 ± 0.03	1.63 ± 0.07
Heating compost + urea	Mesh fraction	15.49 ± 2.36	2.30 ± 0.10	4.95 ± 0.08

± SE (standard error), n = 2

Difference in total chromium content between objects was 10 mg ·kg⁻¹. It was the difference between the control and the object where urea was added (Tab. 6). Chromium concentration after water extraction was the highest in compost with urea addition. This content differed considerably from the values assessed in the other materials. After 30 days Cr-H₂O concentrations increased in each experimental variant. Water-soluble chromium content increased most, by 0.81 mg ·kg⁻¹ in the control compost. In compost with urea supplement, extracted chromium content bound to organic matter was smaller than determined after extraction with water. Assessed small concentrations of most mobile chromium fraction were corroborated by previous investigations conducted by Gondek [2006]. Also studies conducted by Czekala et al [1996] revealed that both in sewage sludge and in composts with this sludge share the content of water-soluble chromium was small, constituting from 0.05 % to 0.14 % of total chromium.

Tab. 6 Content of chromium in organic materials after composting

Objects		Total Cr mg·kg ⁻¹	Cr – H ₂ O mg·kg ⁻¹ (after 18 hrs.)	Cr – H ₂ O mg·kg ⁻¹ (after 30 days)
Heating compost (control)	Mesh fraction	39.17 ± 1.22	0.84 ± 0.01	1.65 ± 0.06
Heating compost + starch	Mesh fraction	40.03 ± 3.37	0.79 ± 0.01	1.45 ± 0.04
Heating compost + edible oil	Mesh fraction	44.92 ± 2.46	0.72 ± 0.02	1.19 ± < 0.01
Heating compost + urea	Mesh fraction	48.26 ± 4.15	6.47 ± 0.11	6.90 ± 0.10

± SE (standard error), n = 2

CONCLUSIONS

1. Total contents of heavy metals in the analyzed municipal waste composts do not exclude their agricultural use.
2. Contents of individual water-soluble heavy metal forms differed in the investigated composts depending on the analyzed material and supplement to the composted mass (starch, edible oil or urea).
3. The contents of heavy metals extracted with water were small, which evidences low mobility of these elements in the analyzed composts.
4. The contents of water-soluble heavy metals forms were increasing with extraction time in almost each experimental variant.

REFERENCES

- Baran S., Oleszczuk P., Żukowska G. (2002): Zasoby i gospodarka odpadami organicznymi w Polsce. *Acta Agroph.* 73 s. 17-34.
- Baran S., Turski R. (1996): Ćwiczenia specjalistyczne z utylizacji odpadów i ścieków. Wyd. AR w Lublinie, s. 136.
- Bogacz W. (1996): Badania nad formami mikroelementów w glebach Belgii. Cz. I. Procedura frakcjonowania metali w glebach. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 434 s. 1011-1015.
- Czekała J., Jakubas M., Mocek A., Owczarzak W. (1996): Frakcje chromu w kompostach z udziałem osadu garbarskiego i różnych dodatków organicznych. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 437 s. 117-122
- Filipek-Mazur B., Mazur K., Gondek K., (2001): Zawartość mobilnych form metali ciężkich w kompostach i wermikompostach z osadów z oczyszczalni ścieków komunalnych i przemysłowych. Cz. I. Cynk, nikiel i chrom i Cz. II. Miedź, kadm i ołów. *Zesz. Nauk. AR w Krakowie* 372, ser. Sesja Naukowa 75 s. 133 – 144
- Gondek K., (2006): Zawartość różnych form metali ciężkich w osadach ściekowych i kompostach. *Acta Agrophysica* 8(4) s. 825 – 838
- Hogg D., Barth J., Favoino E., Centemero M., Caimi V., Amlinger F., Devliegher W., Brinton W., Antler S. (2002): Comparison of compost standards within the EU , North America and Australasia. Main Report. The Waste and Resources Action Programme.
- Jędrzak A., (2007): Biologiczne przetwarzanie odpadów. Warszawa, PWN
- Krzywy E. (1999): Przyrodnicze zagospodarowanie ścieków i osadów. Wyd. AR w Szczecinie, s. 145.
- Migaszewski Z., Gałuszka A., (2007): Podstawy geochemii środowiska. Warszawa, Wyd. Naukowo - Techniczne
- Rosik-Dulewska Cz. (2001): Zawartość składników nawozowych oraz metali ciężkich i ich frakcji w kompostach z odpadów komunalnych. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 477 s. 467-477.

EUROPEAN UNION FOREST FIRES, CORRELATED WITH THE CLIMATE CHANGE

Pauliuc E. S., Proorocu M.

Faculty of Agriculture, Engineering and Environmental Protection, University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca, no. 3-5 Calea Mănăştur, Cluj-Napoca, Romania

E-mail: sinzi_falticeni@yahoo.com

ABSTRACT

Fire is a worldwide phenomenon that appears in the geological record soon after the appearance of terrestrial plants. Fire influences global ecosystem, including vegetation distribution and structure, the carbon cycle, and climate. Although humans and fire have always coexisted, our capacity to manage fire remains imperfect and may become more difficult in the future as climate change alters fire regimes (Bowman *et al.*, 2009). Estimates from the European Forest Fire Information System (EFFIS) show that 200 000 hectares of land in the EU have already burnt till august 2009, compared to a total of 180 000 in 2008. The most affected states were Spain and Italy because of the extreme fire weather conditions in the second half of July. Many studies from all over the world, demonstrated a strong link between the climate change and the increase of forest fires (Flannigan *et al.*, 2000). In the future, under a warmer climate, we expect more severe fire forests, more area burned, more ignitions and a longer fire season.

Key words: climate change, fire, greenhouse gases, damages.

INTRODUCTION

Information on forests is essential, as forests play a key role in aspects related to the protection of European ecosystems, biodiversity, the sustainable use of natural resources, carbon sequestration and climate change. Forests are the biggest and the most important CO₂ stocker and when this stocker is destroyed of various activities such as deforestation or fires, the Earth mechanism suffers an enormous and bad imbalance. If a forest is destroyed by fire, two negative phenomenon happen: less CO₂ is stored and important quantities of CO₂ and other greenhouse gases are released in the atmosphere. If the quantity of GES increases, the greenhouse effect is getting more and more emphasize. This leads to one fact: climate change.

RESULTS AND DISCUSSIONS

Humans and climate both play a role in determining fire and, in turn, fire influences the climate system with the release of carbon. In a world without fire, more carbon would be stored in woody vegetation. If climate and fire regimes equilibrate, then fire-induced atmospheric CO₂ emissions are balanced by uptake from surviving vegetation or via regeneration. The individual contributions of landscape fires, biomass combustion for domestic and industrial uses, and fossil-fuel combustion to total carbon emissions remain difficult to separate (Bowman and co., 2009). Currently, all sources of fire (landscape and biomass) cause CO₂ emissions equal to 50 % of those stemming from fossil-fuel combustion. Forest fires in particular, are responsible for 1/5 of the atrophic greenhouse effect.

In Europe, each year thousands forest are affected by fire. Some fires long for days and weeks, leaving behind a desolated view and causing important economical damages. Also, every year civilians and firefighters lose their lives fighting against forest fires.

SOUTHERN MOST AFFECTED MEMBER STATES (1980 – 2008)

The long time series of forest fire data available for these 5 southern countries (Portugal, Spain, France, Italy, and Greece) justifies a separate analysis as has been the case in previous reports. During 2008, fires in these 5 countries burned a total area of 158 621 hectares, which is not only quite below the average for the last 29 years, but it is the minimum value since 1980. The number of fires that occurred (36.192) is also well below the average and the minimum since 1990 (Fig. 1 and 2).

Fig. 1 Number of forest fires in the Southern Member States (2000-2008)

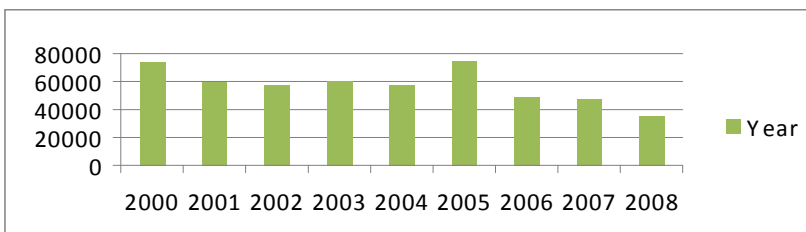
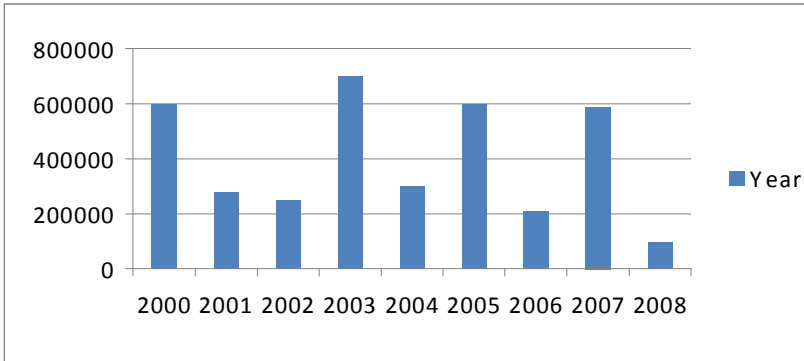


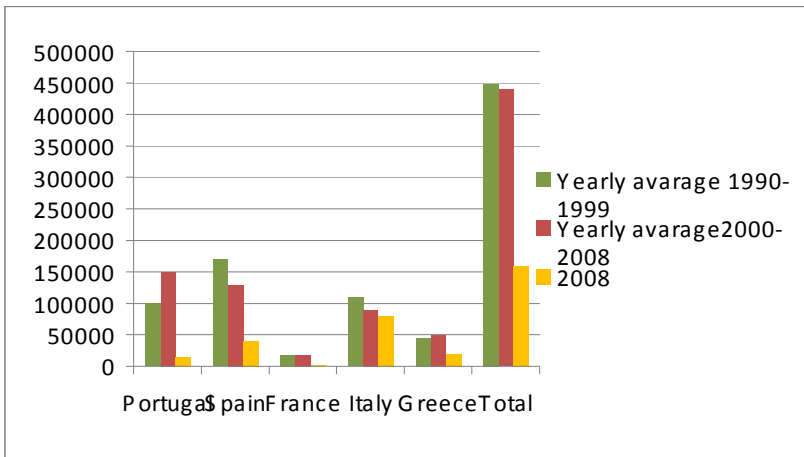
Fig. 2 Burnt area in the Southern Member States (2000-2008)



Since the area of each country is different, and the area at risk within each country is also different, the comparison among countries cannot be absolute. During 2008 the share of number of fires among countries is reflecting the averageshare during last decades, i.e., in a relative sense the fires were distributed among countries as usual. On the other hand the burned area was concentrated in Italy and Greece more than usually (60 % of the total burned area in southern Europe against an average of 35 %). (Fig. 3 and 4).

Over the last 8 years, the previous tendency of the five southern Member States towards an increase in the number of fires seems to be stabilized or even starting to decrease (EFFIS Report no. 9). This may possibly be due to the positive effect of the public information campaigns carried out in all the countries and the improvements in the prevention and fire-fighting capacities.

Fig. 3 Burnt area in the Southern Member States



The other European countries were also affected in a various way, depending of their climate. The situation for the other countries needs to be separately analyzed, because of the fact that the number of forest fires and burnt areas are very different compared to the five southern states presented above. A centralized data regarding forest fires in Europe can be observed in Table 1 and Table 2.

Tab. 1 Forest fires in Europe (2000-2008)

Nr. Crt.	Country	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
1.	Austria	-	-	-	-	-	954	912	750	-
2.	Bulgaria	1.710	825	402	452	294	241	393	1.479	582
3.	Croatia	7.797	4.024	4.692	6.923	2.853	3.368	3.571	5.176	-
4.	Cypru	285	299	243	427	221	185	172	111	114
5.	Czech Rep.	1.499	483	604	1.754	873	619	697	-	-
6.	Estonia	-	-	356	111	89	65	248	64	71
7.	Finlanda	806	796	2.489	1.707	783	1.069	3.046	1.204	1.451
8.	FYROM	-	-	-	-	-	-	-	652	573
9.	Germany	1.210	587	513	2.524	626	496	930	779	818
10.	Hungary	811	419	382	375	104	150	97	603	502
11.	Latvia	915	272	1.720	900	647	365	1.929	425	700
12.	Lithuania	654	287	1.596	885	468	301	1.545	251	301
13.	Poland	12.428	4.480	10.101	17.088	7.219	12.803	11.828	8.305	9.091
14.	Romania	688	268	516	203	34	64	105	478	91
15.	Slovakia	824	311	570	872	153	287	237	463	182
16.	Slovenia	-	-	60	224	51	73	112	140	74
17.	Sweden	4.708	4.831	6.490	8.282	4.955	4.573	4.618	3.737	5.420
18.	Switzerland	49	48	67	154	49	63	46	39	46
19.	Turkey	2.353	2.631	1.471	2.177	1.762	1.530	2.227	2.829	2.135

Tab. 2 Burnt areas in Europe (2000-2009)

Nr. Crt.	Tara	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
1.	Austria	-	-	-	-	-	74	75	48	-
2.	Bulgaria	57.406	20.152	6.513	5000	1.137	1.456	3.540	42.999	5.289
3.	Croatia	129.883	27.251	74.945	77.359	8.988	21.407	18.782	63.719	-
4.	Cipru	8.034	4.830	2.196	2.349	1.218	1.838	1.160	4.483	2.392
5.	Cehia	375	87	178	1.236	335	227	53	-	-
6.	Estonia	-	-	2.082	207	379	87	2.638	292	1.280
7.	Finlanda	262	174	584	664	351	495	1.617	576	824
8.	FYROM	-	-	-	-	-	-	-	32.665	5.915
9.	Germania	581	122	122	1.351	274	183	482	256	538
10.	Ungaria	1.595	-	1.227	845	247	3.531	625	4.636	2.404
11.	Letonia	1.341	311	2.222	559	486	120	3.387	272	364
12.	Lituania	352	113	746	436	253	51	1.199	38	112
13.	Polonia	7.013	3.429	5.593	28.554	4338	7.387	5.912	2.844	3.028
14.	Romania	3.607	1.001	3.536	762	124	162	946	2.529	373
15.	Slovakia	904	305	595	1.567	157	524	280	679	118
16.	Slovenia	-	-	161	2.100	138	280	1.420	128	75
17.	Suedia	1.552	1.254	2.626	4.002	1.883	1.562	5.710	1.090	4.280
18.	Elvetia	68	17	697	640	23	41	108	282	65
19.	Turcia	26.353	7.394	8.513	6.644	4.876	2.821	7.762	11.664	23.577

Of particular interest is the analysis of the damages caused by fires to the areas protected within the Natura2000 network, as they included habitats of especial interest which are home

for endangered plant and animal species. The category of Natura2000 areas only exists in the countries of the European Union. The area burnt within the Natura2000 sites in 2008 is presented in Table 3.

Tab. 3 Area burnt in 2008 within Natura 2000

Country	Area (ha)
Bulgaria	2228.02
France	1015.70
Greece	4561.20
Italy	5330.67
Portugal	838.98
Spain	4589.86
Total	18564.42

Forest fire damage in 2008 are the lowest on record. With a reported total of 158 621 hectares compared to an annual average of 483 896 hectares, the burnt area and damage assessed in 2008 have been the lowest on record since 1980 for Southern Europe. Last year's favourable meteorological conditions led to low fire danger levels around the Mediterranean with a few exceptions recorded in the South-East where drought conditions and a few extreme fire danger episodes caused a 1 362 hectare fire on the 18 th June in Cyprus, about 15 000 hectares burned in Greece (mostly in Rhodes) in the second half of July and almost 20 000 hectares burned in Turkey in the first week of August. In other parts of Europe the impact of forest fires was also below the average of the last 15 years with 22 000 hectares compared to an average of 30 000 hectares. Only Scandinavian countries experienced extreme episodes due to unusual drought and high temperatures during the first half of June (a 13 day fire in Sweden burned 1 170 hectares of forest, and a record fire in Norway burned more than 2 700 hectares – the largest fire in the country for the last 50 years). But, if 2008 was a “good” year, the recent records show that 2009 will be very affected by forest fires. In Romania, for example, till October 2009, 186 forest fires occurred, affecting a 974 ha surface, compared with 91 forest fires and 373 ha burnt in 2008 (Fig. 5 and 6):

Fig. 5 Number of fires in Romania during 1986-2009

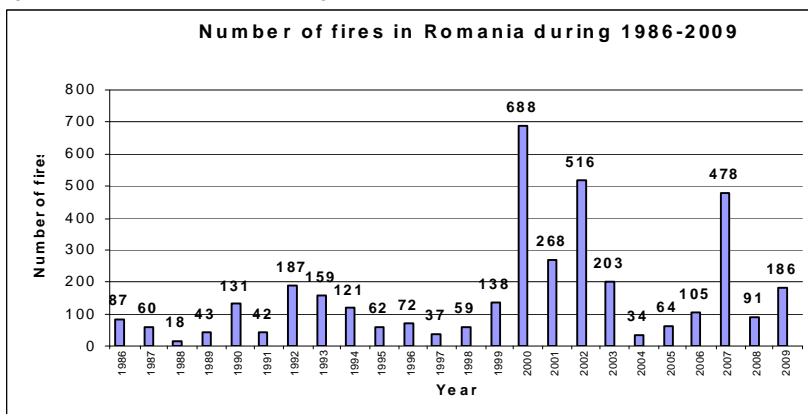
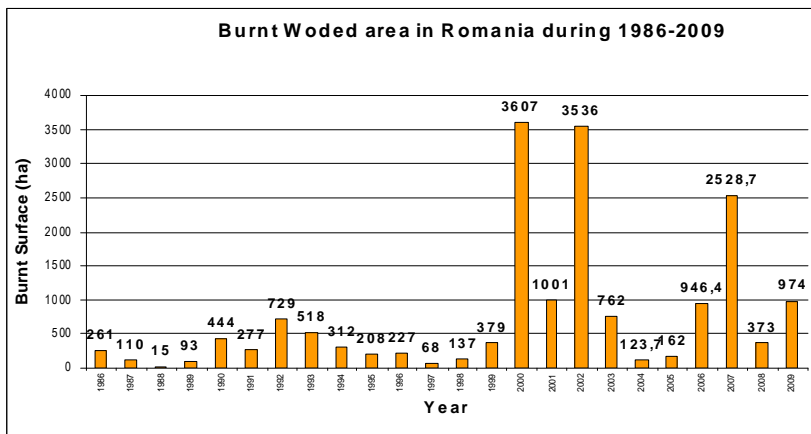


Fig. 6 Burnt woded area in Romania during 1986-2009



The causes of forest fires are various, starting with the natural once and ending with the criminal hand cause. Most european countries classify forest fire causes in the next main categories:

1. Unknown causes
2. Known causes
 - 2.1 Natural causes (climate change, lightning, vulcanos, earthquakes)
 - 2.2 Human causes
 - 2.2.1 Criminal causes
 - 2.2.2 Negligence causes
 - 2.2.2.1 Agricultural practices
 - 2.2.2.2 Pathways
 - 2.2.2.3 Public causes
 - 2.2.2.4 Electric lines
 - 2.2.2.5 Railways

The 2 main causes for forest fires are represented by the climate change (the weather is warmer and the temperatures are higher, fact that lead to forest autoignition) and human negligjence.

CONCLUSIONS

- Forest is a very important ecosystem, because it stores the biggest quantity of CO₂ from the atmosphere and it is home for thousand plants and animals.
- Forest fires and climate change strongly interact.

- all sources of fire cause CO₂ emissions equal to 50% of those stemming from fossil-fuel combustion.
- Forest fires in particular, are responsible for 1/5 of the anthropic greenhouse effect.
- In Europe, the number of forest fires seems to increase in 2009, compared to 2008.
- The countries most affected by the forest fires in Europe were: Portugal, Spain, France, Italy, and Greece.
- The 2 main causes for forest fires are represented by the climate change and human negligence.

REFERENCES:

Bowman, D., Balch Jennifer (2009): Fire in the Earth System, *Science*, 324(5926): 481 – 484

Flannigan, M. D., Stocks, B. J. (2000): Climate change and forest fires, *The Science of the Total Environment*, 262(2000): 221-229

The European Forest Fire Information System (EFFIS), Raport no. 9, Forest Fires in Europe in 2009

<http://effis.jrc.ec.europa.eu/>

www.mai.ro

www.rosilva.ro

PHOSPHATE ACTIVITY OF MICROORGANISMS IN PLANT COMMUNITIES SOILS AFFECTED BY CLIMATE CHANGE

Pavlíková D., Szostková M., Záhora J.

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

E-mail: ditapavlikova@seznam.cz

ABSTRACT

Acidification of the environment can result in some areas in violation of a critical threshold load for the current vegetation. At the site Kněhyně (1100 meters above sea level) in the Moravian-Silesian Beskydy Mountains (CR), which is strongly affected by air pollution and climatic fluctuations, was observed strikingly high incidence of fern *Athyrium distentifolium*. In our work we elicit related changes of soil microbial activity occurring in locations of *Athyrium distentifolium* compared with the locations of original plant community. The main mechanisms used by organisms to decomposition of organic substances, mineralization and release of nutrients are hydrolytic enzymatic reactions. Therefore, our primary objective is an evaluation of enzymatic activity of soil microorganisms in soils affected by climate change and acidification. First experiments we focused on the determination of phosphatase activity (alkaline and acid) in soil samples taken in spring and summer of 2009. To determine the activity of acid and alkaline phosphatases is applied revised methodology by Tabatabaie and Bremner (1969) using *p*-nitrophenol (pNPP) as substrate.

We compare the representative soil samples from three habitats: from the vicinity of the root system *Athyrium distentifolium*, from among these plants, and from the original plant communities without the presence of ferns. The measurement results show that phosphatase activity is inversely proportional to the distance from their roots both in summer and spring soil. This finding corresponds to findings Szostková and Záhora (2007), which indicates a higher amount of bacteria and bacterial spores in the soil in the immediate vicinity of ferns *A. distentifolium* than in between plants. Comparison of summer and spring soil showed higher values of phosphatase activity in the soil over the summer season. Spring soil shows generally increased alkaline phosphatase activity, summer soil has however a higher activity of acid phosphatase.

Key words: soil microorganisms, phosphatase activity, *Athyrium distentifolium*

Acknowledgments: The contribution was supported by the 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 and by the Research plan IAA600050616, which is financed by the GA Academy of Sciences of the Czech Republic.

ÚVOD

Klimatické změny a dlouhodobé změny chemizmu atmosféry představují v dnešní době hrozbu pro vyváženou strukturu a funkci mnoha ekosystémů. Okyselení prostředí může vést v některých oblastech k překročení kritické hranice únosnosti prostředí pro stávající vegetaci. V lokalitě Kněhyně (1100 m n. m.) v Moravskoslezských Beskydech (ČR), která je silně ovlivněná znečištěním ovzduší a klimatickými výkyvy, byl zaznamenán častý výskyt kapradiny *Athyrium distentifolium* (papratka horská). Papratka horská (čel. papratkovitě) je 20 až 150 cm vysoká cévnatá rostlina, chinofilní kapradina, která roste v nadmořských výškách nebo zeměpisných šířkách, ve kterých má zabezpečený dlouhotrvající sněhový pokryv. Žije na různých substrátech, jejichž pH McHaffie (1999) udává v rozsahu 3,2 až 4,5.

Zvláště dobrým časným indikátorem změn půdních vlastností je aktivita půdních enzymů (Carter, 1986; Powlson et al., 1987; Acosta-Martinez and Tabatabai, 2000). Výhodou je jejich schopnost rychle reagovat na změny v nakládání s půdou, jejich vztah k biologii půdy a snadné analyzování. Enzymatické reakce jsou hlavními mechanismy, které využívají půdní mikroorganismy k rozkladu organických látek, mineralizaci a uvolňování živin (dusíku, fosforu, síry aj.). Hlavním faktorem ovlivňujícím biopolymery v půdě, jejich transformaci na látky využitelné pro rostliny či mikroorganismy, je rychlost enzymatických reakcí. Sledování aktivity těchto enzymů je proto možné využít jako významný klíč k pochopení interakcí mezi kapradinou a půdní mikroflórou vedoucí k intenzivnímu šíření kapradiny v těchto extrémních podmínkách, kde dochází k rozpadu původních rostlinnýchspolečenstev.

I když se výzkumem enzymatických reakcí v půdě v minulosti zabývala řada autorů, dosud není vypracována standardizovaná metodika pro jejich stanovení.

MATERIÁL A METODIKA

Stanovili jsme aktivitu obou fosfatáz (alkalické a kyselé) v půdních vzorcích odebraných na jaře a v létě 2009. Nejprve jsme odebrali reprezentativní půdní vzorky ze tří stanovišť: z blízkosti kořenového systému *Athyrium distentifolium*, z míst mezi rostlinami a z původního rostlinného společenstva. Vzorky jsme po odběru rozmělnili a homogenizovali. Ze vzorků jsme odstranili větší části skeletu, rostlin a snadno rozeznatelné půdní živočichy. Po prosušení (24 hodin při laboratorní teplotě) jsme půdu proseli sítem s otvory o průměru 2 mm. Poté jsme zjišťovali u půdy hodnoty maximální kapilární vodní kapacity (MKVK) a sušinu a poté jsme vzorky uložili do PVC sáčků, zvážili a skladovali při teplotě 4 – 8 °C. Před vlastním zahájením pokusu jsme půdu upravili na 70 % MKVK.

Principem stanovení aktivity alkalických fosfatáz (EC 3.1.3.1.) a kyselých fosfatáz (EC 3.1.3.2.) je měření vznikajícího produktu hydrolyzy esterů. Metoda je založena na skutečnosti, že při této reakci enzym nerozlišuje mezi organickými skupinami R a katalyzuje i přeměnu syntetických analogů. Proto lze enzymatickou reakci provádět s nejrůznějšími substráty. Průběh reakce je pak sledován spektrofotometricky. Pro stanovení aktivity kyselých a alkalických fosfatáz jsme využili upravenou metodiku podle Tabatabaie a Bremnera (1969) s využitím *p*-nitrofenylfosfátu (PNPP) jako substrátu. Jedná se o chromogenní substrát, který se při reakci mění na žlutě zbarvený 4-nitrofenolátový anion.

Vznikající PNP je následně měřen spektrofotometriky při vlnové délce 400 nm. Analýzu jsme provedli dvakrát, výsledky jsou průměrem získaných hodnot. Fosfatázová aktivita půdních mikroorganismů je vyjádřena v $\text{nmol PNP} \cdot \text{mg}^{-1} (\text{sušiny}) \cdot \text{min}^{-1}$.

Charakteristika půdních vzorků:

Lokalita: Kněhyně (Moravskoslezské Beskydy, Česká republika) – nadmoř. výška 1140–1250 m n. m

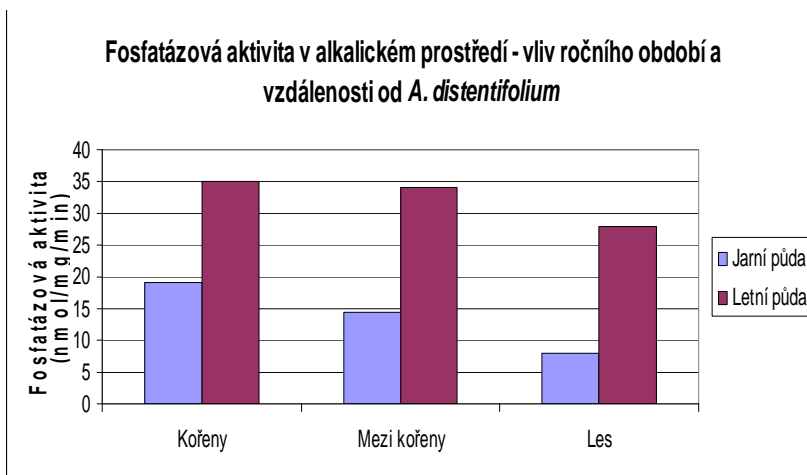
Půda: spodo-dystric. cambisol, mírně kamenitá, vysoce kyselá půdní reakce (pH 3,46 – 4,06, pH 2,82 – 3,49), sušina v rozmezí 44,5 % až 60 %, organická hmota 32,45 – 40,87 %

VÝSLEDKY A DISKUZE

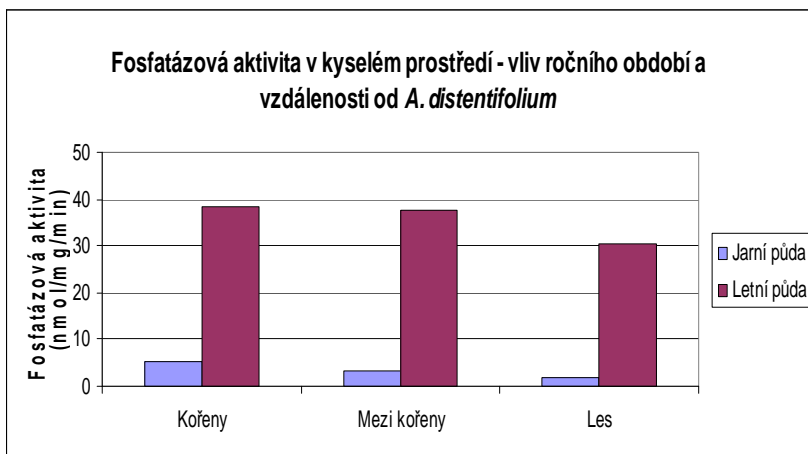
Porovnáváme reprezentativní půdní vzorky ze tří stanovišť: z blízkosti kořenového systému *Athyrium distentifolium*, z míst mezi těmito rostlinami a z původního rostlinného společenstva bez přítomnosti kapradin.

Z výsledků měření vyplývá, že aktivita obou fosfatáz je nepřímou úměrnou vzdálenosti od kořenů kapradin. Toto zjištění odpovídá závěrům Szostkové a Záhory (2007), kteří uvádějí vyšší množství bakterií a bakteriálních spór v půdě v bezprostřední blízkosti kapradiny *A. distentifolium* než v místech mezi rostlinami. Srovnání letní a jarní půdy ukázalo vyšší hodnoty fosfatázové aktivity u půdy letní oproti jarní. Jarní půda vykazuje celkově větší aktivitu fosfatáz alkalických, letní půda má však větší aktivitu kyselých fosfatáz (obr. 1 a 2).

Obr. 1 Fosfatázová aktivita v alkalickém prostředí – vliv ročního období a vzdálenosti od *A. distentifolium* ($C_{\text{PNP}} = 64 \text{ g/l}$)



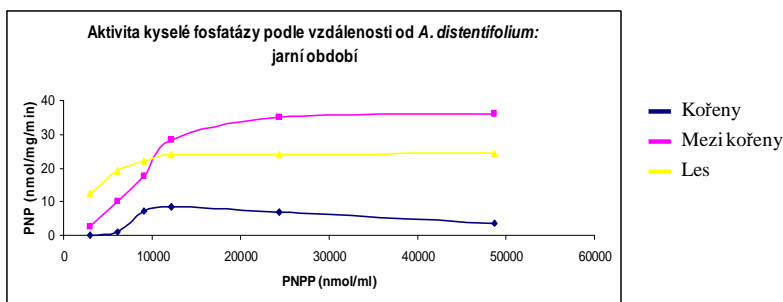
Obr. 2 Fosfatázová aktivita v kyselém prostředí – vliv ročního období a vzdálenosti od *A. distentifolium* ($c_{PNPP} = 64 \text{ g/l}$)



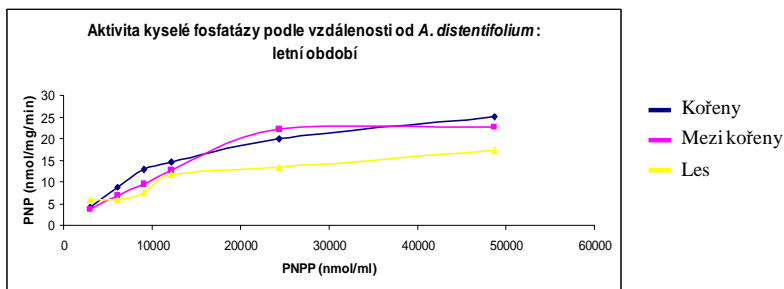
Aktivita kyselé fosfatázy v jarních vzorcích odebraných v blízkosti kořenového systému *A. distentifolium* dosahovala jen 14,3 % aktivity lesní (kontrolní) lokality. V létě pozorujeme situaci zcela opačnou, kdy dochází k prudkému zvýšení (85,7%) fosfatázové aktivity mikroorganismů v blízkosti kořenů této kapradiny (obr. 3 a 4).

Obdobné výsledky jsme naměřili při stanovení alkalické fosfatázy. Lesní půda vykazuje na jaře vyšší enzymatickou aktivitu přítomných mikroorganismů, která ale v letních měsících mírně klesá (pokles o 17,0 %). Naopak nárůst hodnot alkalické fosfatázy v tomto období u vzorků odebraných v blízkosti kořenů *A. distentifolium* (zvýšení o 85 %) svědčí o zvýšení metabolické aktivity přítomných půdních mikroorganismů či zvyšování jejich počtu (obr. 5 a 6).

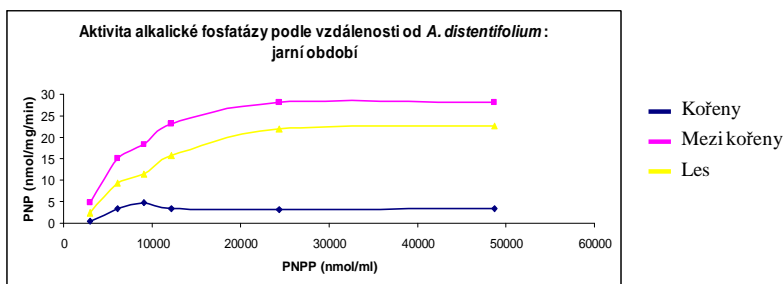
Obr. 3 Aktivita kyselé fosfatázy podle vzdálenosti od *A. distentifolium*: jarní období



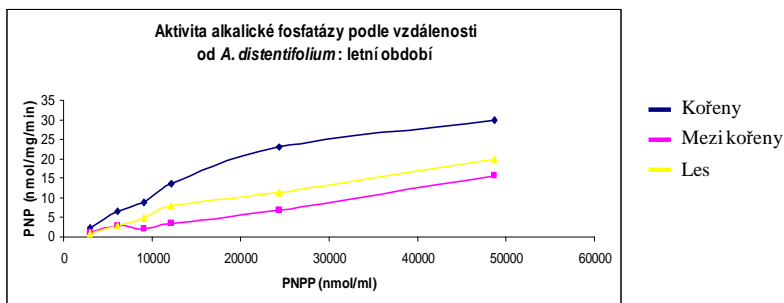
Obr. 4 Aktivita kyselých fosfatáz podle vzdálenosti od *A. distentifolium*: letní období



Obr. 5 Aktivita alkalické fosfatázy podle vzdálenosti od *A. distentifolium*: jarní období



Obr. 6 Aktivita alkalické fosfatázy podle vzdálenosti od *A. distentifolium*: letní období



ZÁVĚR

V současné fázi experimentu výsledky ukázaly pozitivní vliv kapradiny *Athyrium distentifolium* na fosfatázovou aktivitu půdních mikroorganismů. Pokusy však stále probíhají a předpokládáme, že studium dalších enzymů poskytne komplexnější pohled na danou problematiku.

LITERATURA

Acosta-Martínez V., Tabatabai M. A. (2000): Enzyme activities in a limed agricultural soil. *Biol. Fert. Soils*, 31: 85-91.

Carter M. R. (1986): Microbial biomass as an index for tillage-induced changes in soil biological properties. *Soil Till. Res.*, 7: 29-40.

McHaffie H. S. (1999): *Athyrium distentifolium* var. *flexile*: an endemic variety. *Bot. J. Scotl.*, 51, 227-236.

Powlson D. S., Brookes P., Christensen B. T. (1987): Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. *Soil Biol. Biochem.*, 19: 59-164.

Szostková M., Záhora J. (2007): Microbial nitrogen transformation in soil covered with *Athyrium distentifolium* in deforested mountain area. In Kosalec I. Power of microbes in industry and environment, Book of abstracts. Zagreb, Chorvatsko: Pressum d.o.o.: 139. ISBN 978-953-96567-5-9.

Tabatabai M. A., Bremner J. M. (1969): Use of p-nitrophenol phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.*, 1: 301-307.

BIOLOGICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF EUTRIC CAMBISOL

Petrášová V., Pospíšilová L., Pokorný E.

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

E-mail: veronikapet@post.cz

ABSTRACT

Respiration and humus qualitative parameters in Eutric Cambisol (Czech-Moravian Upland, locality Vatín) were determined. We followed total carbon content, fractional composition of humic substances, labile carbon content, absorbance of humic substances in UV- VIS spectral range. Biological parameters included: physiological availability of nitrogen (N/B); amount of available organic substances (G/B); and stability of organic substances (NG/B). Basic soil parameters were also measured. Eutric Cambisol was sandy loam textured, soil reaction was strongly acid and cation exchange capacity was middle. Humus quality given HA/FA ratio was low (less than 1). Respiration correlated with humic substances quality parameters. Correlation between humic substances carbon content and absorbance in UV-VIS spectral range was found. Labile carbon content correlated with humic acids carbon content and humic substances quality.

Key words: cambisol, humic substances quality, biological quality of soil

Acknowledgments: This work was supported by the Research plan No. MSM 6215648905 "Biological and technological aspects of sustainability of controlled ecosystems and their adaptation to climate changes" which is financed by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

ÚVOD

Kambizemě patří mezi nejrozšířenější půdy u nás i ve světě. Formují se na svahovinách (často skeletovitých) pevných a zpevněných horninách zejména ve svažitých a horských oblastech (Němeček, 1981). Tvoří asi 45 % zemědělského půdního fondu České republiky. Kambizemě obecně představují půdy s velmi širokou ekologickou amplitudou. Limitujícími faktory jejich úrodnosti jsou klima, svažitost, půdotvorný substrát, množství a kvalita humusových látek. Tyto půdy jsou nejvíce ohroženy procesy acidifikace a ztrátami humusu a proto je sledování dynamiky humusových látek těchto půd velmi důležité. Půdní úrodnost je utvářena i vlastnostmi biologickými, zejména činností edafonu, tj. půdních mikroorganismů a živočichů. Ve všech procesech podmiňujících půdní úrodnost mají půdní organismy nezastupitelnou funkci.

MATERIÁL A METODIKA

V pokusu byly použity půdní vzorky odebrané z ornice kambizemě modální na výzkumné stanici Agronomické fakulty MZLU v Brně ve Vatíně (Českomoravská vysočina, 530 m. n.m.). Vlastnosti půdy byly sledovány na dvou variantách pokusu-pod trvalým travním porostem (TTP) a na orné půdě (OP). Po odběru vzorků následovalo jejich sušení a prosévání přes 2 mm síto dle pokynů uvedených v metodice pracovních postupů (Zbíral *et al.*, 1997).

Celkový obsah uhlíku (C_{org}, %) byl stanoven na mokré cestě metodou Walkley-Blacka (1934). Princip této metody spočívá ve stanovení obsahu C_{org} po oxidaci kyselinou chromovou při nadbytku kyseliny sírové. Nespotebovaná kyselina chromsírová se stanoví titrací Mohrovou solí buď za použití "dead stop" metody k určení konce titrace, nebo za pomoci oxidačně-redukčního indikátoru ortho-fenantrolinu. Pokud tento ukazatel vynásobíme koeficientem 1,724 - stanovíme obsah humus v %.

Aktivní uhlík (C_{labili}) byl stanoven extrakcí vodou za varu pod zpětným chladičem. Za aktivní uhlík jsme považovali frakci organického uhlíku, která je rozpuštěna v horké vodě, a která byla následně stanovena oxidimetrickou titrací podle dle Kőrchese (Pospíšilová a Tesařová, 2009). Frakční složení, tj. obsah veškerých humusových látek a volných humusových látek, jsme stanovili metodou krátké frakcionace (Kononová and Bělčíková, 1963; Podlešáková a kol. 1992). Princip stanovení frakčního složení hl spočívá v rozrušování stabilních sloučenin humátů vápenatých, hořečnatých puřrovaným roztokem pyrofosforečnanu sodného (0.1m, pH=13). Dochází přitom k tvorbě nerozpustných sloučenin pyrofosfátů Ca, Mg, Al, Fe a k uvolnění rozpustných humátů sodných, které jsou ze vzorku extrahovány. Stanovíme tak veškeré HL. HL jsou dále vhodným postupem rozděleny na HK a FK. Ze zjištěných hodnot se vypočítá poměr HK/FK. Stupeň humifikace (Sh) byl vypočítán podle vztahu $Sh (\%) = 100 * C_{HK} / C_{org}$.

Při studiu optických vlastností HK jsou hodně využívána UV-VIS spektra. Nejčastěji využívanou charakteristikou, kterou můžeme z UV-VIS spekter získat, je tzv. barevná křivka a barevný index (Q_{4/6}). Postup stanovení barevných křivek HK vychází z mezinárodní metody IHSS (Barančíková *et al.* 1997). Barevný koeficient jsme stanovili podle Orlova *et al.* (1987) jako poměr absorbance při 465 a 665 nm. HK mají zpravidla hodnoty Q_{4/6} nízké (3 - 4) a FK vysoké (9 - 10). Měření jsme provedli na spektrometru VARIAN CARY PROBE 50 pomocí optické sondy v rozsahu vlnových délek od 300

do 700 nm. Spektra HK jsme měřili ve vyluhu pyrofosforečnanu sodného po 1nm, rychlost snímání byla 1200nm/min.

Ke stanovení respirace byl použit přístroj Vaisala GMT 220. Důležitým indikátorem může být stanovení potenciální schopnosti mikroorganismů využívat lehce rozložitelnou organickou hmotu (glukózu) a tímto je tedy do určité míry postihnuta mineralizační schopnost mikroorganismů. Porovnání této potenciální respirace s bazální respirací lze získat představu o využitelnosti organických látek půdních vzorků. Přidáním minerálních živin a následným porovnáním s bazální respirací lze vyhodnotit množství fyziologicky dostupných živin, které jsou zkoušeny v půdním vzorku (Foukalová a Pokorný, 2006).

Respirace mikroorganismů byla hodnocena vybranými respiračními kvocienty. Analýzy byly prováděny interferometrickou metodou (Novák a Apfelthaler, 1964).

N:B – ukazuje fyziologickou využitelnost půdního dusíku. Čím je hodnota N:B vyšší, tím je fyziologická využitelnost půdního dusíku menší. Je-li v půdě využitelného dusíku dostatek, přísadavek dalšího dusíku již respiraci nezvyšuje a hodnota N:B je blízká 1.

G:B – indikuje množství lehce využitelných organických látek v půdě. Podobně jako je tomu u předešlého koeficientu, i zde vyšší hodnoty ukazují na menší množství využitelných organických látek.

NG:B – je výrazem stability organických látek v půdě. Vyšší hodnoty značí vyšší stabilitu. V podstatě je to výraz, který označuje do jaké míry je využito potenciálních schopností mikroorganismů mineralizovat organické látky ke skutečné mineralizaci.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Vybrané charakteristiky sledované půdy (kambizemě modální) jsou uvedeny v tabulce 1.

Průměrná hodnota obsahu humusu byla 3,18 % to podle Tomáška (2000) ukazuje na vysoký obsah humusu. Jandák et al. (2007) udávají rozsah obsahu humusu u kambizemí 2 – 6 %. Němeček et al. (2001) uvádí rozmezí obsahu humusu u kambizemí 1 – 6 %. Kutílek (1978) hodnotí půdy z hlediska obsahu humusu jako bezhumózní (pod 0 % obsahu humusu) až silně humózní (nad 2 % u lehkých půd a nad 5 % obsahu humusu u půd těžkých). V našem případě můžeme tedy půdy označit jako středně humózní, kdy rozmezí, které Kutílek uvádí pro střední půdy, je 2 – 5 % obsahu humusu. Nejvyšší obsah humusu (3,41) byl naměřen u jarní varianty trvalého travního porostu a nejnižší (2,99) u jarního odběru na orné půdě.

Průměrná hodnota poměru HK:FK byla 0,5. Jandák a kol. (2007) popisují průměrné hodnoty HK:FK u kambizemí v rozmezí 0,8 – 1,2. Námí zjištěná průměrná hodnota se nám proto jeví jako velmi nízká. Tento parametr je kvalitativním parametrem a tedy i při relativně vysokém obsahu humusu je z hlediska hodnocení tohoto parametru kvalita humusu nízká. Také průměrná hodnota $Q_{4,6}$, která byla 7,83, nám ukazuje na nízkou kvalitu humusu. Na nízkou kvalitu humusu nám poukazují i absorbance v UV-VIS oblasti spektra u sledovaných vzorků (Graf 1).

Aktivní uhlík (C labilní) představuje část organické hmoty, která je rychleji zapojována do koloběhu látek v ekosystému. Jeho průměrná hodnota dosahovala 564,4 mg/kg u orné půdy a 575,6 mg/kg u TTP. Ve srovnání s literaturou (Tesařová et. al., 2006) se jedná o nízké hodnoty, které jsou typické pro zrnitostně lehčí kambizemě.

N:B (fyziologická využitelnost dusíku) ukazuje u lokality Vatín ve všech variantách dostatek fyziologicky využitelného dusíku. Hodnota N:B je u všech variant blízká 1.

G:B (množství lehce využitelných organických látek v půdě). Nejvyšší hodnoty (10,860) a tím i největší množství lehce využitelných organických je u vzorků odebraných na TTP na jaře. Pokorný (2007) uvádí jako vysoký obsah lehce využitelných organických látek hodnoty nad 4,5. Námi zjištěné hodnoty přesahují tuto hranici u všech variant.

NG:B (stabilita organických látek v půdě). Vyšší hodnoty značí vyšší stabilitu. Nejvyšší míra využití potenciálních schopností mikroorganismů mineralizovat organické látky ke skutečné mineralizaci je u varianty TTP z jarních odběrů (10,805).

Byla nalezena korelace mezi obsahem labilního uhlíku a kvalitou a množstvím humusových látek. Obsah HL veškerých koreloval se stupněm humifikace. Korelace mezi HK/FK a barevným indexem $Q_{4/6}$ ukazuje, že čím vyšší index tím menší poměr HK/FK. Poměr N:B koreloval s poměrem HK:FK. Korelační koeficienty jsou uvedeny v tabulce 2.

Tab.1 Vybrané chemické a fyzikálně – chemické vlastnosti kambizemě modální (Vatín)

Půdní typ	Horizont (cm)	pH _{H2O}	pH _{KCl}	S (meq/0,1 kg)	T (meq/0,1 kg)	V (%)	Obsah jílu (%)
Kambizem modální	Ao (0 - 14)	3,73	3,06	9	14,2	63,4	22,2

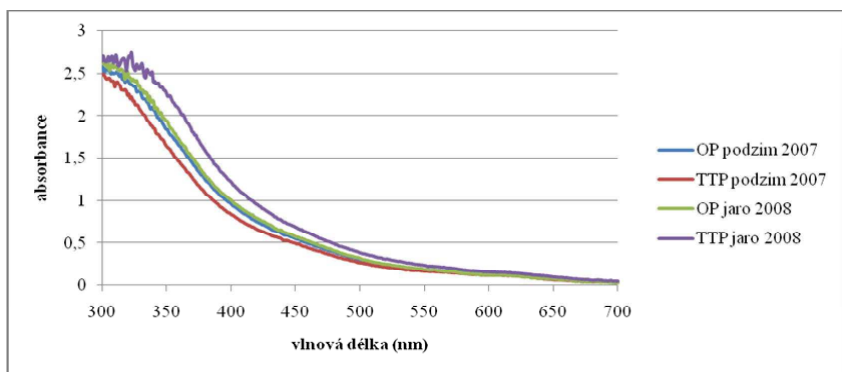
Tab. 2 Korelační koeficienty u sledovaných vlastností

	C _{labilní} (mg/kg)	HLvešk. (mg/kg)	HK (mg/kg)	HK/FK
C _{labilní} (mg/kg)	1,000			
HL vešk. (mg/kg)	0,808	1,000		
HK (mg/kg)	0,981	0,790	1,000	
HK/FK	0,536	0,075	0,643	1,000
Sh (%)	0,481	0,789	0,360	-0,480
Q _{4/6}	0,722	0,181	0,690	-0,740
N:B	-0,182	-0,330	0,006	0,638

Tab. 3 Vybrané chemické a biologické vlastnosti

Lokalita	humus (%)	C labilní mg/kg	HK/FK	Q _{4/6}	N:B	G:B	NG:B
Vatín OP podzim 2007	3,04	603,75	0,88	8,10	1,06	7,99	9,079
Vatín TTP podzim 2007	3,30	630,00	0,77	8,30	0,84	6,69	6,835
Vatín OP jaro 2008	2,99	525,00	0,79	8,00	0,97	6,53	8,482
Vatín TTP jaro 2008	3,41	521,25	0,70	6,93	0,93	10,9	10,81

Graf. 1 UV-VIS spektra sledovaných vozků



ZÁVĚR

Sledovaným půdním typem byla kambizem modální. Vzorky byly odebrány na orné půdě a pod trvalým travním porostem ve dvou odběrech – podzim 2007 a jaro 2008. Hodnoceny byly vybrané chemické a biologické parametry. Průměrná hodnota poměru HK:FK (0,5) nám ukazuje, že se jedná o nízkou kvalitu humusových látek. Podobné výsledky ukazuje absorbance v UV-VIS oblasti spektra a barevné indexy s vysokými hodnotami indikují nízkou kvalitu humusu. N:B (fyziologická využitelnost dusíku) ukazuje u lokality Vatín ve všech variantách dostatek fyziologicky využitelného dusíku. G:B (množství lehce využitelných organických látek v půdě). Nejvyšší hodnoty (10,860) a tím i největší množství lehce využitelných organických je u vzorků odebraných na TTP na jaře. NG:B (stabilita organických látek v půdě). Vyšší hodnoty značí vyšší stabilitu. Nejvyšší míra využití potenciálních schopností mikroorganismů mineralizovat organické látky ke skutečné mineralizaci je u varianty TTP z jarních odběrů (10,805). Byla nalezena korelace mezi HK/FK a Q_{4/6}. Můžeme tedy říci, že sledování optických vlastností humusových látek a výpočet barevných indexů patří mezi rychlé a spolehlivé metody zjištění jejich kvality.

LITERATURA

Barančková G., Senesi N., Brunetti G. (1997): Chemical and spectroscopic characterization of humic acids isolated from different Slovak soil types. Geoderma, 78, 251 – 266.

- Foukalová J., Pokorný E. (2006): Agroekologické limity vybraných biologických vlastností ornice černosolů v oblasti střední Moravy. In: Mendelnet '06, 2006, Agro, 64 s.
- Jandák J. a kol., (2007): Půdoznalství. Ediční středisko MZLU Brno, 142 s.
- Kononová M. M., Bělčíková N.P.(1963): Uskorennyj metod opredelenija sostava gumusa mineralnych počv. In: Organičeskoje veščestvo počvy. Moskva, 228 – 234.
- Kutílek M. (1978): Vodohospodářská pedologie. SNTL, Praha, 295 s.
- Němeček J. (1981): Základní diagnostické znaky a klasifikace půd ČSR. Academia, Praha, č.8, 107 s.
- Němeček, J. a kol. (2001): Taxonomický klasifikační systém půd české republiky. ČZU, Praha, 74 s.
- Novak B., Apfelthaler R. (1964): Příspěvek k metodice stanovení respirace jako indikátoru mikrobiologických pochodů. Rostlinná výroba, 10(2): 145-150.
- Orlov D. S., Baranovskaja V. A., Okolelova A. A. (1987) Organičeskoje veščestvo stepnych počv povolžija i procesy ego transformacii při orošeniji. Moskva: Počvoveděnije, 10, 65-79.
- Podlešáková E. a kol. (1992): Rozbory půd, vod a rostlin. Praha: VÚMOP, 259 s.
- Pokorný E., Šarapatka B., Nenátková K. (2007): Hodnocení kvality půdy v ekologicky hospodařícím podniku - Metodická pomůcka, Zpracováno s podporou Ministerstva zemědělství ČR (Náměšť nad Oslavou)
- Pospíšilová L., Tesařová M., (2009): Organický uhlík obhospodařovaných půd. Folia, roč. II, MZLU v Brně, 42 s.
- Tomášek, M. (2000): Půdy České republiky, Český geologický ústav, Praha, 68 s.
- Wakley A., Black T. A. (1934): An examination of Gegtjarev method for determining soil organic matter and a propřed modofication of the chromic acid titration method, Soil Sci. 37, 29-38.
- Zbírál J., Honsa I., Malý S. (1997): Jednotné pracovní postupy. ÚKZÚZ, Brno, 150 s.

FOCUSING OF METALS IN LIGAND FIELD STEP GRADIENT

Šišperová E., Glovinová E., Pospíchal J.

Department of Chemistry and Biochemistry, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: el.siska@seznam.cz

ABSTRACT

The capillary electrophoretic method for the focusing and selective pre-concentration of metal chelates with subsequent on-line ITP analysis was developed and verified.

The ions of alkali earth metals /Mg²⁺, Ca²⁺, Sr²⁺, Ba²⁺/ were pre-concentrated from the mixture and analyzed. Focusing of metals was carried out in ligand field step gradient, which was realized by an addition of a convenient ligand agent to the regular stationary pH step gradient.

During the first step, the metal ions were continuously dosed into the column, where they were selectively trapped on the stationary ligand field step gradient in the form of non moving zones of chelate complexes with effective zero charge. After accumulation of detectable amount of analyte, the dosing was stopped and accumulated zones were mobilized to the analytical column, where they were analyzed e. g. by ITP method with conductivity or photometric detection.

The proper electrolyte system for the dosing /mode IEF/, mobilizing /mode MBE/and analytical step /mode ITP/ were developed and realized.

The selectivity of the trapping can be regulated by a choice of the pH and convenient complexing agents. As a sample analytes served model real mixtures of alkali earth metals. The proposed method enable increase of detection limit is 5-29x in comparison to classical methods - e. g. ITP.

Key words: ITP, metal chelates, focusing

ÚVOD

CAF IEF je elektromigrační metoda, která využívá k separaci a předkoncentraci amfolytů jejich fokusaci v ostrém skoku pH, které je vytvořeno v separační koloně.

Pro stanovení kovů metodou CAF-IEF byla vyvinuta metoda pro fokusace v ligandovém poli, která umožňuje fokusovat kovy ve formě jejich komplexů s vhodným chelatačním činidlem. Pro tento účel byl vyvinut vhodný elektrolytový systém obsahující komplexační činidlo, který je tvořen dvěma částmi, alkalickou a kyselou, tyto části odděluje stojící neutralizační rozhraní. Každá část má i jinou komplexační sílu, jíž je dosaženo zvoleným pH a koncentrací vhodného ligandu – protiionu. V kyselé části elektrolytu se vybrané kovy vyskytují převážně ve formě kationtů Me^{n+} , v alkalické části ve formě aniontové MeY^{n-} .

Jsou-li analyzované kovy přítomny v části elektrolytového systému, pak jsou průchodem elektrického proudu kontinuálně elektromigračně dávkovány do rozhraní, kde se selektivně fokusují -akumulují do stojících zón, jejichž efektivní náboj je nulový. Po naakumulování dostatečného množství analytu jsou zóny mobilizovány a analyzovány. Selektivita fokusace je dána zvoleným pH, povahou a koncentrací komplexačního činidla. Komplexy s nízkou (Na^+) nebo s vysokou stabilitou (Pb^{2+}) rozhraním procházejí, nebo se do něj nedomigrují. Jako příklad je uvedena analýza roztoku $BaSO_4$, která by byla neproveditelná v běžném ITP módu.

MATERIÁL A METODA

Elektrolyty - Elektrolyty byly vyvinuty a pufovány protiionty tak, aby mobilita H^+ a OH^- iontů v kyselém a alkalickém prostředí byla menší než u ostatních iontů stejného náboje. To umožnilo korektní migrace iontů a také následné použití H^+ a OH^- iontů jako terminátorů při mobilisaci. Zvolené pH bylo nastaveno s ohledem na nejlepší pufovací schopnost na hodnotu pK protiionu. Jako základní elektrolyt byl zvolen octan amonný, octanový aniont pufruje v kyselé oblasti, pH kyselého elektrolytu bylo 4,75, v alkalickém elektrolytu pufruje amonný kationt, jeho pH bylo nastaveno na 9,25. Jako mobilizační elektrolyt pak může sloužit pro kationtovou mobilisaci H^+ iont, tedy kyselina octová, pro aniontovou mobilisaci OH^- iont, tedy hydroxid amonný. V našem případě jsme používali pouze kationtovou mobilisaci. Hodnota pH vedoucího elektrolytu pro vlastní analýzu je zvoleno tak, aby rozdíl absorpce vedoucího elektrolytu a zón komplexů kovů byl maximální, což optimalizuje fotometrickou detekci.

Systém byl přizpůsoben tak, aby se v terminačním elektrolytu, o pH 3-4, aniontový komplex kovů rozložil a reagoval s metalochromním indikátorem kresolftalexonem za vzniku barevných kationtových komplexů, což umožňuje mobilisaci a identifikaci jednotlivých iontů ve vytvořených barevných zónách analyzovaných v detektoru.

Povrchově aktivní látka, polyethylenglykol (PEG) - Umožňují zvýšit viskozitu, což omezí elektroosmózu roztoku a dosažení ostřejších zón, tedy i ostrých rozhraní mezi nimi.

Vzorek - Vybrané soli jednotlivých kovů alkalických zemin, chemicky čisté a dobře rozpustné ve vodě.

Indikátor - Kresolftalexon (KFX) chelatometrický indikátor, v alkalickém prostředí vytvářel růžovo-fialové zóny různé intenzity, což by mohlo být využito při fotometrické detekci. Tento indikátor umožňoval akumulaci zón v alkalické oblasti a jejich následné rozložení v oblasti kyselé.

Přístroj - Izotachoforetický analyzátor Spišská Nová Ves, byl použit ve dvoukolonovém uspořádání. V horní tzv. separační kapiláře proběhla fokusace a předkoncentrování, ve spodní analytické kapiláře byl vzorek analyzován.

Konce každé kapiláry jsou připojeny k elektrodovým komůrkám, které obsahují vedoucí elektrolyt a koncový elektrolyt (v horní části přístroje). Vzorek se dávákuje injekční stříkačkou (v horní části přístroje). Zóna prochází přes detektor, který vyhodnotí údaje a pošle elektrický signál do zapisovače. V jednotlivých kolonách jsme měli procházející proud 300 μA a 100 μA .

Postup analýzy –Do spodní analytické kapiláry nalijeme vedoucí elektrolyt, do vrchní separační kapiláry alkalický fokusační elektrolyt a do vrchní terminační komůrky dávkovací kyselý elektrolyt s velmi zředěným roztokem vzorku. pH dávkovacího elytu upravíme tak, aby spolu s fokusačním elektrolytem vytvořil v koloně stojící rozhraní. Po zapnutí proudu jsou pak, v prvním kroku jednotlivé ionty vzorku selektivně dávkovány průchodem elektrického proudu do vytvořeného stojícího rozhraní, kde se mezi elektrolyty fokusují ve formě komplexů s nulovým efektivním nábojem. Po naakumulování dostatečného množství vzorku, což je viditelné opticky, je ve druhém kroku analýzy vyměněn elektrolyt v horní elektrodové komůrce přístroje za mobilizační, konkrétně za kyselinu octovou. Působením kyseliny dojde ke změně nulového efektivního náboje komplexu v zónách na pozitivní, čímž vzniknou kationové komplexy, které působením elektrického proudu zvolna putují ve formě ostrých zón do separační kapiláry. Ve třetím kroku se stává v separační kapiláře mobilizační elektrolyt terminačním a zóny podstupují v ITP módu běžnou izotachforetickou analýzu.

Cíl – Ověřili jsme možnost předkoncentrace a fokusace kovů ve formě komplexů, dosáhli jsme dokonalé separace zón, a pomocí barevného metalochromního indikátoru jejich viditelnosti v kapiláře, což umožňuje fotometrickou detekci.

VÝSLEDKY A DISKUZE

ZÁVISLOST DÉLKY ZÓNY NA KONCENTRACI STANOVOVANÝCH IONTŮ

Funkčnost elektrolytů byla ověřena sestavením klasické kalibrační závislosti nadávkovaného množství na délce zóny pro jednotlivé ionty, při použití fokusačních elektrolytů, ale bez kontinuálního dávkování, přičemž byl vzorek dávkován do kolony pomocí dávkovací kohoutu. Kalibrační závislost jednotlivých iontů je pak přímka procházející počátkem. Toto je důkazem, že veškeré kovy jsou při mobilizačním kroku dokonale rozloženy a nedochází k jejich úbytku tvorbou vysoce stabilních – nerozložitelných komplexů, které mohou vznikat v přítomnosti nečistot v používaných indikátorech.

Tím jsme ověřili funkčnost zvoleného elektrolytového systému.

Složení elektrolytů:

Vedoucí elektrolyty: 0,02M NH₄OH + 0,005M kresolfalexon + 1 % PEG + 400ppm povrchově aktivní látky

Zakončující elektrolyt: 0,03M HAc

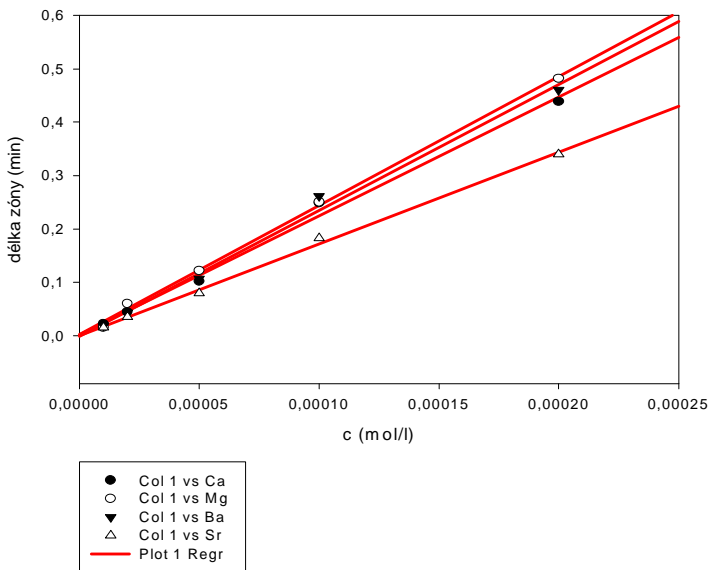
Vzorek: $c = 1.10^{-5}$ mol/l, 2.10^{-5} mol/l, 5.10^{-5} mol/l, 1.10^{-4} mol/l, 2.10^{-4} mol/l, roztok MgCl₂ · 6H₂O + CaCO₃ + 0,4M HAc + Ba(NO₃)₂ + Sr(CH₃COOH)₂

Tab 1 Závislost délky zóny na koncentraci stanovovaných iontů

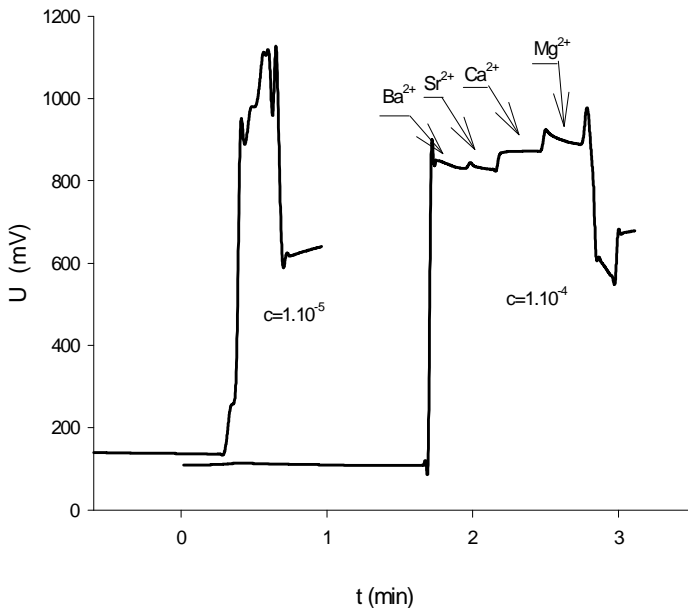
c (mol/l)	Délka zón (min)			
	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Ba ²⁺	Sr ²⁺
0,00001	0,021733	0,015267	0,018333	0,015267
0,00002	0,0443	0,059967	0,043333	0,034667
0,00005	0,101633	0,121633	0,106667	0,079
0,0001	0,248633	0,2503	0,261333	0,183
0,0002	0,438633	0,4823	0,460333	0,34

$$r^2 = 0,993$$

Obr. 1 Závislost délky zóny na koncentraci stanovovaných iontů



Obr. 2 Koncentrace iontů $1 \cdot 10^{-5}$ a $1 \cdot 10^{-4}$



ZÁVISLOST DÉLKY ZÓNY NA DÁVKOVACÍM ČASE

Funkčnost metody byla ověřena sestrojením klasické kalibrační závislosti délky zóny na dávkovacím čase, která je rovněž lineární. Grafy prokazují, že v zónách dochází ke 100% zadržení nadávkovaných kovů. Směrnice přímek pro jednotlivé kovy odpovídají konstantám stability kovů, jsou vyjádřením skutečnosti, že délka zóny na dávkovacím čase závisí přímo úměrně.

Složení elektrolytů:

Vedoucí elektrolyt: 0,02M NH_4OH + 0,005M kresolftalexon + 1 % PEG + 400ppm povrchově aktivní látky

Zakončující elektrolyt: 0,03M HAc

Vzorek: 1.10-5 roztok $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ + CaCO_3 + 0,4M HAc + $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ + $\text{Sr}(\text{CH}_3\text{COOH})_2$

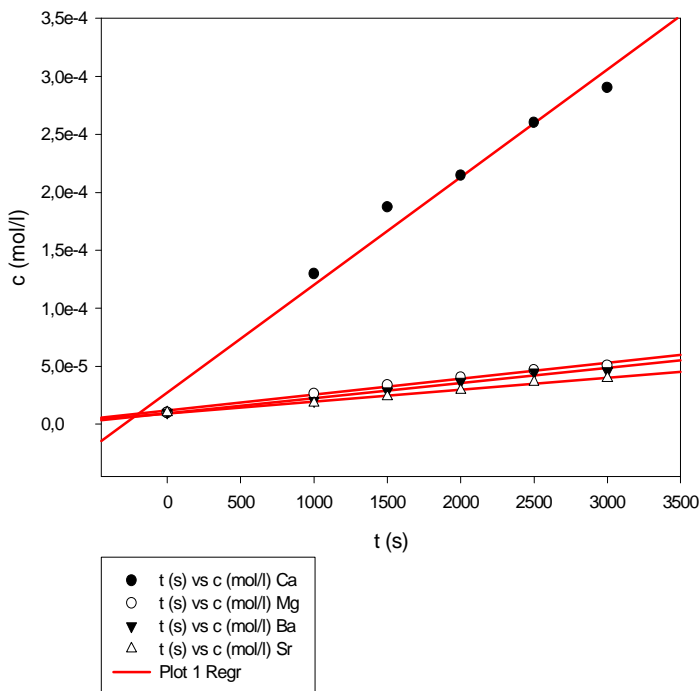
Fokusovali jsme roztokem: 4 : 1, 0,01M HAc : 0,01M NH_4OH + vzorek pH = 3,83

Tab. 2 Závislost koncentrace na dávkovacím čase

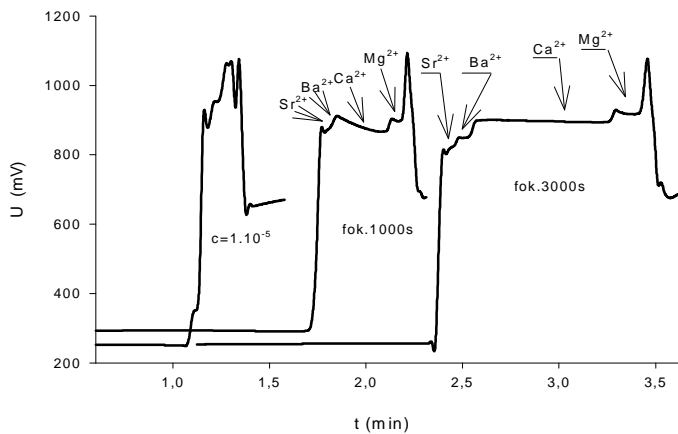
t (s)	c (mol/l)			
	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Ba ²⁺	Sr ²⁺
0	0,00001	0,00001	0,00001	0,00001
1000	0,0001298	0,00002624	0,00002018	0,00001827
1500	0,0001874	0,00003349	0,00002878	0,0000257
2000	0,0002147	0,00004007	0,00003681	0,00002936
2500	0,0002602	0,00004674	0,0000448	0,00003642
3000	0,0002904	0,00005085	0,00004587	0,00003965

$$r^2 = 0,987$$

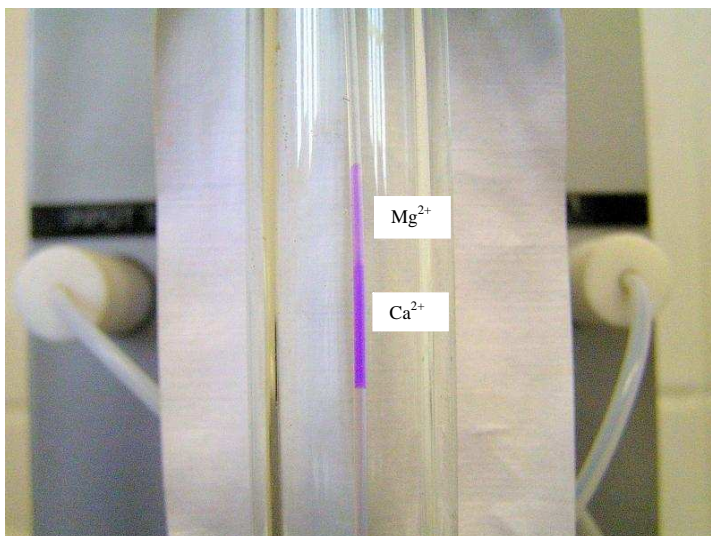
Obr. 3 Závislost koncentrace na dávkovacím čase



Obr. 4 Nástřík koncentrace $1 \cdot 10^{-5}$, fokuse 1000s a 3000s



Obr. 5 Zafokusovaná zóna vápníku a hořčíku



Viditelné rozhraní mezi ionty hořčíku a vápníku, vzniklé zóny jsou dokonale oddělené a čisté.

NALÝZA SUPERNATANTU NAD BaSO_4

Reálným vzorek je roztok BaSO_4 , který se běžně ve zdravotnictví využívá v diagnostice pro RTG zobrazovací techniky. Pomocí modelového roztoku vzorku byla ověřena použitá metoda i funkčnost zvoleného elektrolytového systému, kde byl vzorek selektivně zafokusován i detekován.

Složení elektrolytů:

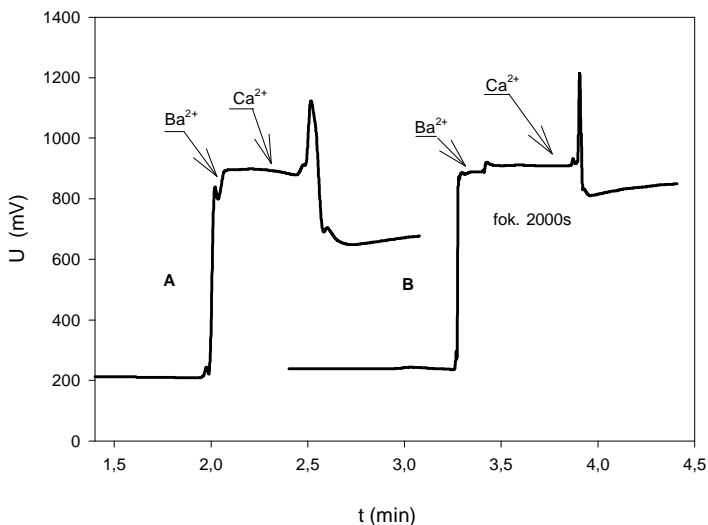
Vedoucí elektrolyty: 0,02M NH_4OH + 0,005M kresolftalexon + 1% PEG + 400ppm povrchově aktivní látka

Zakončující elektrolyt: 0,03M HAc

Vzorek: Supernatant BaSO_4 (5g do 100ml, doba sedimentace 20 min)

Doba fokusace BaSO_4 2000s

Obr. 6 Porovnání běžné ITP analýzy supernatantu BaSO_4 (A) s metodou CAF-IEF s předkoncentrací (B)



ZÁVĚR

Byl vytvořen elektrolytový systém a metoda fokusace v ligandovém poli pro zakoncentrování kovů alkalických zemin ve formě barevných komplexů s chelatometrickým indikátorem. Dosažený stupeň zakoncentrování závisí na převodovém čísle kovu a době fokusace, za dobu 2000-3000sec. se pohyboval v rozmezí 5-29x. Analyzovaný reálný vzorek supernatantu BaSO_4 se zakoncentroval 9x, při běžné ITP analýze je tento vzorek neanalyzovatelný.

LITERATURA

Schmidhalter B. and Schumacher E. (1982): Enrichment of potassium isotopes with macrocyclic polyether potassium complexes, *Helvetica Chimica Acta*, 65(6): 1687-1693.

Schumacher E. and Friedli W. (1960): Über elektrophoretische Ionenfokussierung X. Die Analyse von Seltenen Erdgemischen, *Helvetica Chimica Acta*, 44(7): 1829 – 1856.

Pospíchal J., Glovinová E. (2001): Analytical Aspects of Carrier Free Isoelectric Focusing, *Journal of Chromatography*, 918(1): 195-203.

Zhao SS., Zeng YN., Wagner H. (1984): Continuous free focusing electrophoresis of metal-ions in a stepwise gradient system of complexing agent, *Journal of Chromatography*, 291(5): 43-50.

Zelensky I., Kaniansky D., Havasi P. (1989): Photometric detection of metal-cations in capillary isotachopheresis based on complex equilibria, *Journal of Chromatography*, 470(1): 155-169.

DYNAMICS OF SOME HEAVY METALS CONTENT IN FUR ANIMAL EXCRETA DURING COMPOSTING PROCESS

Tabak M., Filipek-Mazur B.

Department of Agricultural and Environmental Chemistry, Faculty of Agriculture and Economics, University of Agriculture in Krakow, Al. Mickiewicza 21, 31-120 Kraków, Poland

E-mail: Monika.Tabak@ur.krakow.pl

ABSTRACT

Fur animal excreta, due to their high content of biogenic elements as well as the possibility of microbiological and parasitologic contamination, should not be applied directly as a fertilizer. The excreta properties can be improved in composting process. European Union legislation permits fertilization use of composted fur animal excreta.

The aim of the research was to determine the dynamics of some heavy metals content (Fe, Mn and Ni) during the composting process of coypu and chinchilla excreta. Composted were excreta without additions (control) as well as excreta with 20% and 40% addition of leaves and straw. The composting process was conducted in PVC containers in a closed place. The composting lasted 25 weeks. During that time moisture of the materials was kept at a constant level, and every two weeks the materials were mixed for aeration purpose. Samples of the materials were taken after 11, 13, 15, 23 and 25 weeks of the composting process. Heavy metals content was determined by ICP-AES method.

The heavy metals content in the examined composts was decreasing in order: Fe>Mn>Ni. While analyzing the heavy metals content in composts, as a rule the lowest content of elements was determined in composts with straw addition. Moreover, from among the three components used to prepare composts (excreta, leaves, straw), straw had the lowest content of heavy metals. In the whole composting period the compost without additions had the highest manganese content. Dilution of manganese content was observed in the composts with additions (manganese was the only of the analyzed elements whose content was higher in excreta than in both structural materials). Between the first and the last time of analyses (that is 11th and 25th week of composting) an increase in the content of the analyzed heavy metals in composts was observed as a rule. The increase ranged from 1% to 26% of the beginning content of particular elements. The increase in the content of heavy metals in composts can be explained by an organic matter mineralization process occurring during composting.

Key words: fur animal excreta, compost, iron, manganese, nickel

INTRODUCTION

Composting leads to improvement of smell and structure of the processed material, modification of its chemical composition and element bioavailability [Drozd et al. 1996, Drozd et al. 1999] but it also eliminates or diminishes the number of pathogenic microorganisms present in the composted substrate [Czekala et al. 2006, Wolna-Maruwka and Czekala 2007]. Fur animal excreta reveal a high content of biogenic elements [Kuźniewicz and Filistowicz 2006] and they are also often a carrier of pathogenic microorganisms and parasites. Because of their properties, unprocessed excreta from fur animals should not be used as a fertilizer. One of the methods the excreta properties improvement is their composting. Fertilizer application of fur animal manure processed through composting is permitted by the European Union legislation [Regulation (EC) of the European Parliament and of the Council of 3 October 2002 laying down health rules concerning animal by-products not intended for human consumption]. Also Polish legislation makes possible the use of compost produced from fur animal excreta (counted among organic fertilizers), however unprocessed excreta are not considered a fertilizer [Ustawa z dnia 10 lipca 2007 r. o nawozach i nawożeniu].

Chemical and biological properties of the material obtained in result of composting should be assessed before its environmental application, since composting not always diminishes the pathogenic microorganisms count [Wolna-Maruwka i Dach 2009]. Moreover, if the compost contains high concentrations of heavy metals, its fertilizer application may lead to soil contamination thereby causing heavy metal accumulation in plant and animal organisms [Filipek-Mazur 2004].

The investigations aimed at determining the dynamics of heavy metal (Fe, Mn and Ni) content in fur animal excreta subjected to composting with an addition of tree leaves and cereal straw.

MATERIAL AND METHODS

Coypu and chinchilla excreta were composted without supplements (the control objects) and with a 20 % and 40 % admixture of tree leaves and cereal straw. The dose of added structural materials was determined in relation to the excrement dry weight. The initial excreta weight in each object was 2 kg. The composts were placed in PCV containers and the composting process was conducted in a closed room for 25 weeks. During this period of time the material moisture was maintained on a constant level (the moisturizing degree was assessed organoleptically) and every two weeks the materials were mixed for aeration. The material samples for chemical analyses were collected after 11, 13, 23 and 25 weeks of the process duration. Detailed description of the composting conditions and chemical composition of components used for compost preparation were presented in a paper by Filipek-Mazur and Gondek [in print].

Heavy metal content (Fe, Mn and Ni) in the composts was assessed using ICP-AES method in JY 238 Ultrace apparatus. Dry and ground material was mineralized (8h, 450 °C) and subsequently evaporated with a mixture of concentrated HNO₃ acid and bidistilled water mixed in a 1:2 volumetric ratio. Following the renewed incineration (5h, 450 °C), the material was evaporated with 20 % HCl and subsequently with a mixture of HNO₃:H₂O (1:2). The remains were dissolved in a HNO₃:H₂O

mixture (1:2) and transferred, using bidistilled water, to measuring flasks. The assessments were made in two replications for each sample.

RESULTS AND DISCUSSION

Concerning the studied heavy metals, analyzed materials revealed the highest content of iron and the lowest of nickel (Tab.1-3). Heavy metal content in the composts was diminishing in the following order: Fe>Mn>Ni.

Tab. 1 The content of iron in the analyzed composts [$mg \cdot kg^{-1} d.m.$]

Compost composition		Composting time [weeks]				
		11	13	15	23	25
Excreta		1150,82	1179,67	1292,16	1247,38	1446,17
Excreta with addition	20% leaves	1125,85	1145,27	1119,21	1113,88	1395,94
	40% leaves	1253,27	1279,83	1288,77	1415,50	1473,84
	20% straw	1245,53	1175,59	1143,91	1218,45	1349,43
	40% straw	1042,01	1026,37	1008,29	1167,82	1226,93

Tab. 2 The content of manganese in the analyzed composts [$mg \cdot kg^{-1} d.m.$]

Compost composition		Composting time [weeks]				
		11	13	15	23	25
Excreta		229,66	239,44	242,36	296,71	276,64
Excreta with addition	20% leaves	224,79	234,54	223,12	237,20	256,06
	40% leaves	215,59	203,54	228,88	243,88	259,56
	20% straw	203,14	202,95	214,59	210,57	247,08
	40% straw	189,63	175,62	198,81	212,46	225,89

Tab. 3 The content of nickel in the analyzed composts [$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ d.m.}$]

Compost composition		Composting time [weeks]				
		11	13	15	23	25
Excreta		4,30	3,98	4,20	4,32	4,36
Excreta with addition	20% leaves	3,22	3,15	4,29	3,40	3,51
	40% leaves	3,92	4,14	3,74	3,15	3,58
	20% straw	2,97	3,18	3,71	3,63	3,51
	40% straw	2,91	2,69	3,33	3,31	3,56

Analysis of chemical composition of the components used for compost preparation showed the smallest amounts of the studied heavy metals in cereal straw, which contained 121.53 mg Fe, 24.25 mg Mn and 0.66 mg Ni \cdot kg⁻¹ d.m. [Filipek-Mazur, Gondek – in print]. Tree leaves and fur animal excreta contained relatively approximate heavy metal contents. 972.53 mg Fe, 192.39 mg Mn and 3.94 mg Ni \cdot kg⁻¹ d.m. were found in the excreta, while the tree leaves contained 989.92 mg Fe, 125.99 mg Mn and 4.0 mg Ni \cdot kg⁻¹ d.m. [Filipek-Mazur, Gondek – in print].

Analysis of heavy metal content conducted in the subsequent weeks of composting revealed that the composts containing straw (particularly compost with a 40 % admixture) were generally characterized by lower concentrations of microelements than the composts with leaf supplement or without any admixtures (Tab. 1-3). It resulted from diluting heavy metal content in composts with a straw addition in effect of introducing to the excreta a structural material containing low amounts of microelements. During the whole period of composting, the compost without admixtures contained the highest amounts of manganese (Tab.2). In composts with straw and leaf admixture this element content became diluted (manganese was the only one among the analyzed elements, whose higher content was assessed in the excreta than in both structural materials). Excreta and leaves contained approximate quantities of iron and nickel, therefore combining these materials did not lead to any considerable diversification of iron and nickel content in the obtained composts (however, slightly higher iron concentration was noticeable in the composts with a 40 % leaf supplement than in the compost without any supplements or with a 20 % leaf admixture) (Tab.1, 3).

Increase in the analyzed heavy metal concentrations, between 1 % and 26 % of the initial content of respective microelements, was registered between 11th and 25th week of composting (Tab.1-3). The exception was compost with a 40 % leaf admixture, in which a 9 % decrease in nickel content was noticed (Tab.3). Increasing the mineral element content (including heavy metals)

in compost results from organic matter decomposition [Czekąła et al. 1999]. Also cadmium, lead, copper and zinc concentrations were assessed in the presented composts and these also generally were increasing during composting [Filipek-Mazur and Tabak – in print]. Kalembsa and Wysokiński [2004] also revealed such tendency of changes (concerning copper and zinc) during farmyard manure composting conducted for 3 months. On the other hand, after 90 days of chicken manure composting with wheat straw increased copper, zinc, iron and lead concentrations were registered at the lack of changes in manganese but a decline in cadmium, chromium and nickel contents [Drozd et al. 1999]. Both the increase and decrease in metal content during farmyard manure composting was noted by Larney et al. [2008]. Studies on composting of urban waste and sewage sludge (composted with structural organic materials) generally revealed elevation of heavy metal content (although in some cases a decline in microelement content was registered, too) [Czekąła et al. 1999, Czekąła and Sawicka 2006, Drozd et al. 1996, Tabak – in print].

Presented investigations revealed a seasonal decrease in iron, manganese and nickel content (Tab. 1-3). Similar changes were observed also for the content of other heavy metals assessed in the discussed composts [Filipek-Mazur and Tabak – in print]. Occasional diminishing of heavy metal concentrations was observed also during composting of manure [Drozd et al. 1999, Larney et al. 2008], sewage sludge [Tabak – in print] and urban wastes [Drozd et al. 1996].

Considering the three analyzed heavy metals, only permissible nickel content ($60 \text{ mg Ni} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ d.m.}$) was determined by Polish legislation [Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18 czerwca 2008 r. w sprawie wykonania niektórych przepisów ustawy o nawozach i nawożeniu]. The studied composts contained considerably smaller concentrations of this metal (from 2.69 to $4.36 \text{ mg Ni} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ d.m.}$). In view of nickel content all composts were allowed for the use in agriculture.

CONCLUSIONS

1. In the composts produced from fur animal excreta the highest among the analyzed microelements content of iron and the lowest content of nickel were determined. Heavy metal content in the composts was diminishing in the following order: $\text{Fe} > \text{Mn} > \text{Ni}$.
2. Admixture of structural material (straw) with a lower heavy metal content than assessed in fur animal excreta led to a decrease in these metal content in composts.
3. An increase in the content of analyzed heavy metals was revealed in the composts generally between the first and the last date of analyses (i.e. between 11th and 25th week of composting).

REFERENCES

- Czekąła J., Dach J., Wolna-Maruwka A. (2006): Wykorzystanie bioreaktora do badań modelowych kompostowania osadu ściekowego. Woda- Środowisko- Obszary Wiejskie (Water-Environment-Rural Areas), 6, 2(18): 29-40.
- Czekąła J., Jakubus M., Mocek A., Owczarzak W. (1999): Możliwości wykorzystania osadów ściekowych i odpadu tytoniowego do produkcji kompostów. Folia Universitatis Agriculturae Stetinensis, 200 Agricultura (77): 45-50.

Czekała J., Sawicka A. (2006): Przetwarzanie osadu ściekowego z dodatkiem słomy i trocin na produkt bezpieczny dla środowiska. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie (Water-Environment-Rural Areas)*, 6, 2(18): 41-50.

Drozd J., Jamroz E., Licznar M., Licznar S. E., Weber J. (1999): Zmiany wybranych form makro- i mikroskładników w czasie kompostowania pomiotu kurzego i produkowanego z niego nawozu organiczno-mineralnego. *Folia Universitatis Agriculturae Stetinensis, 200 Agricultura (77): 69-74.*

Drozd J., Licznar M., Patorczyk-Pytlik B., Rabikowska B. (1996): Zmiany w składzie chemicznym kompostów z odpadków miejskich w czasie ich kompostowania. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 437: 131-138.

Filipek-Mazur B. (2004): Występowanie i toksyczność metali ciężkich w środowisku przyrodniczym. In: *Diagnostyka gleb i roślin w rolnictwie zrównoważonym*. Kalembsa S. (red.). Wydawnictwo Akademii Podlaskiej, Siedlce: 116-130.

Filipek-Mazur B., Gondek K. (in print): Dynamika składu chemicznego odchodów zwierząt futerkowych w czasie ich kompostowania. Część II. Węgiel i azot. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*.

Filipek-Mazur B., Tabak M. (in print): Dynamika składu chemicznego odchodów zwierząt futerkowych w czasie ich kompostowania. Część II. Metale ciężkie. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*.

Kalembsa S., Wysokiński A. (2004): Zawartość wybranych mikroelementów w osadach ściekowych świeżych i kompostowanych z dodatkiem popiołu z węgla brunatnego. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 502: 819-824.

Kuźniewicz A. (red.), Filistowicz A. (red.) (2006): *Chów i hodowla nutrii*. Wydawnictwo Akademii Rolniczej, Wrocław: 251 ss.

Larney F. J., Olson A. F., DeMaere P. R., Handerek B. P., Tovell B. C. (2008): Nutrient and trace element changes during manure composting at four southern Alberta feedlots. *Canadian Journal of Soil Science*, 88 (1): 45-59.

Regulation (EC) No 1774/2002 of the European Parliament and of the Council of 3 October 2002 laying down health rules concerning animal by-products not intended for human consumption. *OJ L 273, 10.10.2002: 1-95, as amended.*

Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18 czerwca 2008 r. w sprawie wykonania niektórych przepisów ustawy o nawozach i nawożeniu. *Dz. U. Nr 119, poz. 765.*

Tabak M. (in print): Zmiany właściwości chemicznych osadu ściekowego w trakcie kompostowania ze słomą oraz popiołem z węgla kamiennego. In: *Wielokierunkowość badań w rolnictwie i leśnictwie*. Monografia. Wydawnictwo Uniwersytetu Rolniczego, Kraków.

Ustawa z dnia 10 lipca 2007 r. o nawozach i nawożeniu. *Dz. U. Nr 147, poz. 1033.*

Wolna-Maruwka A., Czeakała J. (2007): Dynamics of changes in the number of selected microorganism groups in sewage sludge and in manure subject to composting process and in the soil enriched with composts. *Archives of Environmental Protection*, 33(4): 53-66.

Wolna-Maruwka A., Dach J. (2009): Effect of type and proportion of different structure-creating additions on the inactivation rate of pathogenic bacteria in sewage sludge composting in a cybernetic bioreactor. *Archives of Environmental Protection*, 35(3): 87-100.

Section – Food Technology

TEXTURAL PROPERTIES OF SOY MEAT ANALOGS

Hanzelková Š., Simeonovová J.

Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: sarka.hanzelkova@mendelu.cz

ABSTRACT

A texture of meat analogues made of soy flour is essential for consumer's perception of its palatability. Inappropriate hardness, springiness or chewiness can cause low interest in this valuable source of proteins. It is important to understand fundamentals of the physical properties of the textured soy protein in order to assure proper preparation of this food. A range of food products made from textured soy protein (TSP) known also as "soy meat" were studied for their textural properties. Samples produced by various producers were obtained in the market. It was a variety of stripes, cubes and slices made from TSP. Textural properties were measured by three objective methods: Warner – Bratzler (WB) shear device, Kramer shear cell and the compression test on a device Tira test 27025. Specimens were prepared from the TPS which was boiled under controlled conditions. The effect of cooking time and the influence of addition of salt during cooking were evaluated. The results were compared to the experiment with beef. A statistical method (ANOVA) was used to determine the significance of the variable and the relationship between the results. In order to give a resume of the results the most significant was the effect of brand name and addition of salt. The differences between different cooking times were noticeable.

Key words: Textured soy protein, meat analogue, hardness, Warner–Bratzler test, compression test, Kramer shear cell test

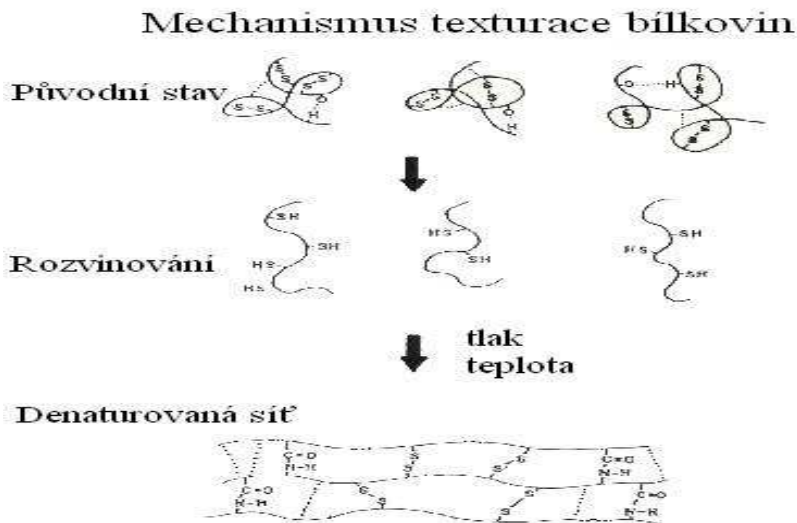
Acknowledgments: The study was supported by the internal grant No. 234/2102/IG290171 of Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno.

ÚVOD

Sója luštinatá, která se botanicky řadí mezi luštěniny, se v potravinářství využívá jako náhrada živočišných bílkovin ve formě analogů masa, plnidel masných výrobků, sójových nápojů a potravin asijského původu (tofu, tepmpeh, sójová omáčka aj.). Moderní texturované formy výrobků se vyrábí od 60. let 20. století, kdy byla vyvinuta technologie výroby texturované sójové bílkoviny (Textured Soy Protein, TSP). Varný extruzní proces na jeho výrobu byl patentován Atkinsonem v roce 1970 (BERK, 1992). Hlavní a nespornou předností tzv. sójového masa je ekonomika výroby a kvalitní, dostupná a zdraví prospěšná surovina.

Texturovaná sójová bílkovina je nepravidelně tvarovaný produkt vyráběný extruzní texturací sójových bílkovin. Pro výrobu se používá odtučněná sójová mouka (50 % bílkovin, 1,5 % tuku), jež je vedlejším produktem při lisování sójového oleje. V prostoru extrudéru dochází k termoplastické extruzi. Podmínky extruze ovlivňují vlastnosti finálního výrobku, vysoká teplota a tlak zajišťují přeměnu hůře stravitelných složek na látky lépe stravitelné. Bílkoviny podléhají rychlé denaturaci (Obrázek 1), částečně se inaktivuje tripsin inhibitor, odpařuje se voda a dochází k nafouknutí materiálu. Žádoucím výsledkem je porézní, vláknitá struktura. Texturovaná sójová bílkovina vykazuje pozoruhodnou podobnost s masem ve vzhledu, textuře i pocitu, který vyvolávají v ústech (APPLEWHITE, 1989).

Obr. 1 Znáornění změn struktury, ke kterým dochází při vysokotlaké extruzi



FOEGEDING et al. (2003) uvádí obecnou definici textury, která zahrnuje reologické a strukturální vlastnosti produktu vnímané mechanickými, taktilními a případně zrakovými a sluchovými receptory. Dříve bylo k hodnocení texturních vlastností preferováno senzoričké hodnocení, ale v současné době se stále více uplatňují instrumentální metody, které jsou objektivnější a lépe reprodukovatelné. Při přístrojovém měření textury masa a masných výrobků je velmi často využíván Warner-Bratzler a kompresní nástavec, a proto byly použity také při zjišťování textury masných analogů v našich pokusech.

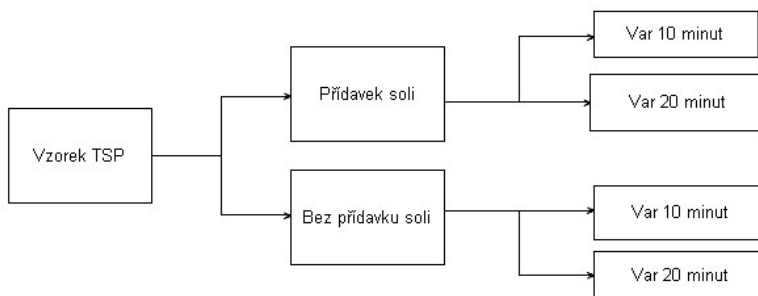
Projekt si kladl za cíl zhodnotit rozdíly v textuře sójových analogů masa, které jsou volně dostupné na českém trhu. Předpokládali jsme, že produkty různých výrobců a různých tvarových kategorií budou vykazovat rozdílné texturní vlastnosti. Ovšem nejen vstupní surovina a výrobní postup má vliv na finální vlastnosti potravin. Významný může být také vliv kulinární přípravy. Z tohoto důvodu byly testovány odlišné doby varu a přidavek soli a výsledky byly vzájemně porovnány. V naší laboratoři byla v minulosti zpracovávána studie hovězího masa. Těchto výsledků jsme využili pro srovnání hodnot tvrdosti masa a masných analogů.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky texturované sójové bílkoviny byly získány z běžné obchodní sítě. Sortiment na českém trhu zahrnuje plátky velikosti steaku, kostky, kousky a granulát. Pro potřeby studie byli výrobci z důvodů ochrany identity označeni čísly 1, 2, 3 a 4. Testovány byly tři základní druhy produktů: plátky, kostky a granuláty.

Testy byly provedeny na Ústavu technologie potravin MZLU ve fyzikální laboratoři, která je vybavena přístrojem pro měření texturních vlastností potravin Tira Test 27025. Základní příprava vzorků probíhala obdobně u všech tří tvarových druhů. Vzorky TSP byly přidány do vroucí vody a doba varu byla 10 nebo 20 minut dle metodiky (Obrázek 2). V případě, že byl sledován vliv přídavku soli, bylo do vody přidáno 10 g soli. Následně byl vzorek scezen, aby byl zbaven přebytečné vody. Tvrdost TSP byla hodnocena třemi objektivními metodami: Warner-Bratzler testem, kompresní zkouškou a měření pomocí Kramerovy cely.

Obr. 2 Znárodnění změn struktury, ke kterým dochází při vysokotlaké extruzi



Warner-Bratzler test simuluje skousnutí vzorku řezáky a síla k tomu potřebná vyjadřuje tvrdost potraviny. Z uvařených plátků a kostek byly připraveny hranolovité vzorky o hranách 10x10 mm Warner-Bratzlerovým nožem tvaru V byl vzorek přestřížen (rychlost pohybu přičnicku 10 mm/min). Maximum stříhové síly se zaznamenává a vyhodnotí jako síla potřebná k překousnutí vzorku. Každá série zahrnovala vždy 15 vzorků.

Kompresní jednoosý test napodobuje skousnutí potraviny na stoličkách. Síla vynaložená na stlačení vzorku odpovídá jeho senzorické tvrdosti. Při měření je zaznamenána závislost síly potřebné ke kompresi vzorku v čase. Z uvařeného vzorku TSP byly připraveny krychličky o rozměrech 10x10x10 mm, které byly stlačeny rychlostí 20 mm/ minutu kompresním nástavcem přístroje na 80 % své původní výšky.

V případě sójového granulátu byla k měření použita Kramerova cela. U tohoto speciálního nástavce je stříhové napětí na vzorek přenášeno více noži a síla potřebná k průchodu ostří vzorkem se vztahuje k textuře potraviny. Do cely bylo naváženo 100 g granulátu a při průběhu zkoušky byla opět zaznamenána síla potřebná k průchodu nožů, jež odpovídá tvrdosti produktu.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Měření na Tira Testu byly u všech tří metod získány hodnoty tvrdosti TSP, vyhodnocení je nutné provést odděleně vzhledem k odlišnosti průběhu zkoušky. Všechny pokusy byly statisticky vyhodnoceny (ANOVA) k posouzení statistické průkaznosti rozdílů.

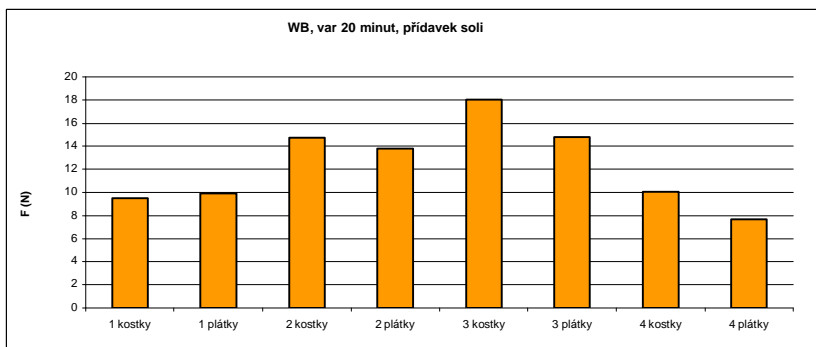
Mezi výsledky testu Warner-Bratzler u sójových plátků i kostek různých výrobců byly nalezeny statisticky průkazné rozdíly a můžeme říct, že svojí tvrdostí nejsou všechny totožné. Souhrnné výsledky W-B testu ukazuje Tabulka 1.

Tab. 1 Tvrdost TSP (N) měřená dle Warner-Bratzler testu

Vzorek	10 minut, bez soli (N)	20 minut, bez soli (N)	10 minut, sůl (N)	20 minut, sůl (N)
1 kostky	13,84	17,8	14,55	9,5
1 plátky	16,69	10,26	10,98	9,95
2 kostky	16,7	14,23	10,21	14,77
2 plátky	13,75	13,81	16,26	13,81
3 kostky	17,47	15,49	17,57	18,08
3 plátky	15,04	14,32	12,25	14,81
4 kostky	8,85	12,07	9,29	10,06
4 plátky	6,94	12,39	9,45	7,67

Nejvýraznější rozdíly v textuře vykazovaly výrobky různých výrobců (Graf 1). Všechny čtyři značky výrobků se lišily, a to ve všech variantách pokusu (doba varu 10 nebo 20 minut, přídavek soli). Rozpětí hodnot bylo široké. Například při rozvržení pokusu s přídavkem soli a s dobou varu 20 minut hodnoty tvrdosti TSP byly v rozmezí 7,67 N až 18,08 N. Jednou z možných příčin je samozřejmě mírně rozdílná surovina (sójová mouka se může lišit v kvalitě) a také odlišný extruzní proces a následné zpracování. Vliv tvaru nebyl výrazný – plátky a kostky stejného výrobce nevykazovaly průkazné rozdíly.

Graf 1 Variabilita tvrdosti (WB test) u plátek a kostek různých výrobců



Také přídavek soli ovlivnil tvrdost sójového analogu. Ovšem je nutné dodat, že sůl způsobila jak pokles, tak vzrůst tvrdosti a její vliv je tedy nejednoznačný.

Bylo možné předpokládat, že prodloužením doby z 10 na 20 minut varu dojde ke snížení tvrdosti vzorků. Tvrdost se průkazně změnila, ale ne ve všech případech. U tří variant kostek došlo dokonce ke vzrůstu tvrdosti a to v průměru přibližně o 36 %. Naopak byl zjištěn statisticky průkazný pokles tvrdosti o průměrně 28 % u tří druhů sójových plátků.

Výsledky kompresního testu uvádí Tabulka 2.

Tab. 2 Tvrdost TSP (N) jako výsledek kompresního testu

Vzorek	10 minut, bez soli (N)	20 minut, bez soli (N)	10 minut, sůl (N)	20 minut, sůl (N)
1 kostky	34,23	21,63	37,58	34,7
1 plátky	42,89	48,47	38,94	37,65
2 kostky	40,4	45,16	37,44	43,4
2 plátky	45,09	32,27	39,53	36,29
3 kostky	41,48	50,47	56,41	44,12
3 plátky	52,88	52,66	37,84	30,77
4 kostky	32,53	25,62	25,33	24,22
4 plátky	26,79	12,5	29,92	32,88

Podle multifaktoriální analýzy rozptylu byly také v tomto případě zjištěny rozdíly v tvrdosti zkoušených sójových analogů. Zřejmý byl rozdíl mezi obchodními značkami, obdobně u plátků i kostek. Pro srovnání můžeme uvést opět variantu s dvacetiminutovou dobou varu a přídavkem soli, kdy byly naměřeny hodnoty tvrdosti od 24,22 N až do 44,12 N. Obecně lze určit vzorky výrobců 1 a 4 jako měkký texturovaný protein a vzorky 2 a 3 jako tvrdší.

Při srovnání dvou dob varu (10 a 20 minut) u všech 16 možných variant vzorků byl objeven průkazný rozdíl pouze mezi 4 vzorky (lišily se TSP 2 a 4 bez přídavku soli).

Porovnávali jsme také vliv soli na texturu. U plátků došlo s přidávkem soli k významnému poklesu tvrdosti v polovině případů, u kostek došlo ke vzrůstu tvrdosti ve dvou případech z osmi možných.

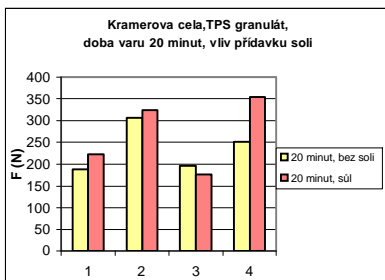
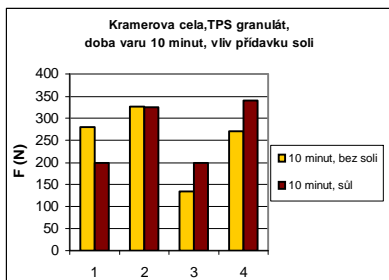
Metoda měření Kramerovou celou byla využita u granulovaného materiálu, který znemožňuje využití ostatních metod). Také v tomto případě jsme mohli pozorovat odlišnosti vzorků jednotlivých výrobců. Tabulka 3 uvádí souhrnné výsledky. Můžeme znovu uvést extrémní hodnoty tvrdosti při době varu 20 minut v osolené vodě, které se pohybovaly od 177,81 N to 354,07 N. Projevily se statisticky průkazné rozdíly v tvrdosti. Nejnížší tvrdost byla zaznamenána u vzorku číslo 3, produkty výrobce 1 a 4 vykazovaly vyšší tvrdost.

Tab. 3 Tvrdost (N) sójových granulátů zjištěná metodou Kramerovy cely

Vzorek	10 minut, bez soli (N)	20 minut, bez soli (N)	10 minut, sůl (N)	20 minut, sůl (N)
1 granulát	280,12	188,07	199,84	223,36
2 granulát	326,62	307,13	325,35	323,44
3 granulát	133,94	196,68	199,23	177,81
4 granulát	270,57	252,02	340,51	354,07

Prodloužení doby varu na 20 minut zapříčinilo znatelný pokles tvrdosti pouze ve dvou případech. S přidáním soli tvrdost ve většině případů mírně stoupala, u dvou vzorků TSP byl naměřen pokles tvrdosti (Graf 3).

Graf 2 Tvrdost (N) granulovaných výrobků. Výsledky vyjadřují efekt přidavku soli při 10 a 20 minutách doby varu.



V předchozích experimentech jsme obdobným způsobem hodnotili také texturu hovězího masa. Výsledky pokusu jsme využili pro vytvoření srovnání textury masa a masných analogů.

Tab. 4 Srovnání tvrdosti TSP a hovězího masa

WB (N)		Komprese (N)		Kramer (N)	
Hovězí (2 týdny zrání)	TSP (sůl, var 20 minut)	Hovězí (2 týdny zrání)	TSP (sůl, var 20 minut)	Hovězí (2 týdny zrání)	TSP (sůl, var 20 minut)
86,2	12,33	209,51	35,5	1050,57	269,67

Z výsledků pokusů (Tabulka 4) vyplývá, že průměrná tvrdost měřená Warner-Bratzler testem u hovězího masa po dvouř denním zrání je mnohem vyšší než tvrdost texturované sójové bílkoviny. V případě kompresního testu byla u hovězího masa zjištěna hodnota 228,28 N. Také v tomto případě jsou hodnoty tvrdosti na skusu stoličkami u TPS řádově nižší. Stejného výsledku bylo dosaženo i v případě srovnání tvrdosti mletého hovězího masa a sójového granulátu. Po srovnání s výsledky u masného analogu zjistíme, že texturovaná sójová bílkovina má průměrně výrazně nižší tvrdost a texturními vlastnostmi nesnese srovnání s hovězím masem.

ZÁVĚR

V souvislosti se současným trendem snižování spotřeby tzv. červeného masa (především hovězího masa) a s požadavkem na dietu s nízkým obsahem cholesterolu se stala texturovaná sójová bílkovina populární potravinou mezi širším spektrem spotřebitelů. Pokud se ovšem konzumenti budou setkávat s nepřijemnou texturou analogu, nebudou zařazovat tuto potravinu do svého jídelníčku a připraví se tak o cenný zdroj bílkovin a dalších zdraví prospěšných látek pocházejících ze sóje. Ale také nepřiměřená kulinární úprava tzv. "sojového masa" může vést k neočekávaným texturním vlastnostem, které nejsou srovnatelné s hovězím či vepřovým masem, následně dochází ke snížení oblíbenosti.

Texturovaná sójová bílkovina je velmi nehomogenní materiál, jeho struktura je nepravidelná a pórovitá. Tyto charakteristiky znesnadňují přesné měření fyzikálních vlastností. Fakt, že podle získaných výsledků je senzorická tvrdost této potraviny velmi ovlivněna původem vzorku a jeho výrobcem, naznačuje, že zásadní vliv na texturu TSP má technologický postup výroby. Můžeme dojít k závěru, že je zřetelný vliv obchodní značky produktu, přísady soli a doby varu na tvrdost materiálu. Z našich pokusů vyplývá, že produkty různých výrobců nejsou z hlediska texturních vlastností identické a existují velké rozdíly. Kuchyňská příprava má nižší vliv na tvrdost sójových analogů než typ výrobku, ale rozdíly se také vyskytují. Přidavek soli měl výraznější vliv než doba varu. Prodloužení varu z 10 na 20 minut nemělo jednoznačný vliv na tvrdost potraviny, zaznamenali jsme jak pokles, tak vzrůst tvrdosti. Obdobných výsledků bylo dosaženo měřením všemi třemi instrumentálními metodami – Warner-Bratzler testem, kompresní zkouškou i Kramerovou celou v případě granulovaných výrobků.

LITERATURA

APPLEWHITE, T. H. *Proceedings of the World Congress on Vegetable Protein Utilization in Human Foods and Animal Feedstuffs*. USA: American Oil Chemist' Society, 1989. Dostupný z WWW: <<http://books.google.com/books?hl=cs&lr=&id=CuARGRnPGKUC&oi=fnd&pg=PA353&dq=related:N9edN5he048J:scholar.google.com/&ots=IQdppK8Ntz&sig=37fwyWgMOn1VIsINGjkBWDXuZKs#v=onepage&q=&f=true>>. ISBN 0-935315-25-X. Extrusion of Texturized Protein, Kearns, J.P. et al., s. 353-362.

BERK, Zeki. *Technology of production of edible flours and protein products from soybeans: FAO Agricultural Services Bulletin No. 97*. Rome, Italy: FAO of the United Nations, 1992. Dostupné z WWW: <<http://www.fao.org/docrep/t0532e/t0532e00.htm>>. ISBN 92-5-103118-5.

FOEGEDING, E. Allen, et al. Sensory and mechanical aspects of cheese texture. *International Dairy Journal* [online]. 2003, vol. 13 [cit. 2009-08-21], s. 585-591. Dostupný z WWW: <http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6T7C-48R1WP0-1&_user=682557&_rdoc=1&_fmt=&_orig=search&_sort=d&_docanchor=&_view=c&_acct=C000037478&_version=1&_urlVersion=0&_userid=682557&md5=0b466102bc5f388d114f56270a21ef1f>.

EFFECT OF MALTING BARLEY STEEPING TECHNOLOGY ON WATER CONTENT

Homola L., Hřivna L.

Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xhomola@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of the study was to observe differences in steeping between individual mutation of malting barely, year of produce and also used technology.

The experiment was done in the brewer's and malty research institute in Brno and for testing were used samples of malting barley from gathering of the years 2007 and 2008. The assessment was done in local micromalt-house. The barley was steeped for three days by using two different technologies. There were used technologies of eight hours and twelve hours steeping.

Results of this study had shown that samples from the year 2007 had taken more water then the samples from the year 2008. The highest water content in the year 2007 had the varieties Sebastian and Malz, the lowest had Bojos and Tolar. Nearly the same was the year 2008, the highest water content had varieties Sebastian and Prestige and lowest Bojos again.

Key words: barley, malt, steeping, steeping stage

ÚVOD

Ječmen patří mezi nejrozšířenější zemědělské plodiny na světě a stejně tomu tak je i v České republice. Pro výrobu českého sladu se pěstuje ječmen jarní dvouřadý, *Hordeum vulgare var. nutans*, a jeho schválené odrůdy. Slad z ječmene vyrobený je typickou surovinou pro výrobu piva. Již 2000 let před n. l. byl používán v podobě naklíčeného ječmene v Mezopotámii a Egyptě k výrobě kvašených nápojů.

Proces sladování lze z hlediska jednotlivých kroků rozdělit na následující tři úseky: máčení, klíčení a hvozdnění.

Prvním krokem v technologickém sledu je máčení. Cílem tohoto kroku je kontrolovaně zvýšit obsah vody v zrn, díky které mohou být zahájeny enzymatické reakce tolik potřebné pro klíčení zrna (Kosař a kol., 2000). Dnes se máčení považuje za nejdůležitější úsek ve výrobě sladu, jenž rozhoduje o budoucí kvalitě sladu. Máčecí voda se chemicky nejčastěji upravuje vápennou vodou, aby se částečně dezinfikovala, aby se rychleji máčely obalové části zrn a zvýšila jejich propustnost (Moštek, 1975).

Sledován byl vliv odrůdy a ročníku ječmene a tedy i složení zrna na proces máčení a příjem vody obilkou za použití dvou různých technologií.

MATERIÁL A METODIKA

Použity byly vzorky odrůd sladovnického ječmene ze sklizně roku 2007 a 2008. Tyto vzorky byly získány od zemědělských podniků působících v ČR a v rámci monitoringu kvality testovány na Výzkumném ústavu pivovarském a sladařském Brno, a.s.. V každém ročníku bylo k dispozici 6 odrůd ječmene, které čítaly dohromady 93 vzorků v roce 2007 a 69 vzorků v roce 2008. Seznam odrůd včetně zastoupení počtu vzorků je uveden v tabulce 1. Vztahy mezi jednotlivými stupněmi domočení a použitými technologiemi byly hodnoceny statistickými metodami (analýza variance a následné testování) (Dufek, 1992). K tomuto testování byl použit program REML verze 3,5. (Robinson, 1995).

Tab.1 Odrůdová skladba vzorků

Odrůda	Počet vzorků v roce 2007	Počet vzorků v roce 2008
Bojos	5	14
Jersey	20	13
Malz	18	13
Prestige	20	5
Sebastian	24	14
Tolar	6	10
Celkem	93	69

Máčení bylo v obou letech prováděno dvěma různými technologiemi.

Stanovení máčivosti při technologii „8-8-8“

Vzorky zrna ječmene o hmotnosti 100,0 g byly máčeny v laboratorní mikroskladovně výrobce KVM Uničov. Vzorky zrna byly před vlastním máčením vytříděny a použito bylo pouze zrno z přeřadu nad sítem 2,5 mm.

Máčení proběhlo ve třech dnech, kdy každý den bylo zrno máčeno 8 hodin a pak následovala 16-ti hodinová vzdušná přestávka, nutná k okapání a pozdějšímu zvážení vzorků. Voda, ve které byl ječmen máčen, měla teplotu 14 °C.

Absolutní příjem vody byl stanoven vážením po každém namočení a okapání. Z hmotnosti namočeného a suchého zrna byl vypočten stupeň domočení podle vzorce:

$$SD = (H-h) \cdot 100 / H,$$

H hmotnost namočeného vzorku (g)

SD stupeň domočení (%)

h hmotnost suchého vzorku (g)

Vyhodnocen byl průběh a dynamika máčení a byl vyhodnocen stupeň domočení (SD).

Stanovení máčivosti při technologii „12-12-12“

Při této technologii byl použit postup shodný s technologií „8-8-8“, rozdíl byl jen v délce máčení a aeračních přestávek. Ječmen se máčel ve třech dnech, vždy 12 hodin a poté následovala 12-ti hodinová aerační pauza.

Absolutní příjem vody byl rovněž stanoven vážením po každém namočení a okapání. Z hmotnosti namočeného a suchého zrna byl opět vypočten stupeň domočení podle vzorce uvedeného u technologie „8-8-8“.

VÝSLEDKY A DISKUZE

V rámci dvouletého pokusu bylo zpracováno a vyhodnoceno celkem 162 vzorků ječmene. U všech těchto vzorků byl proveden test máčivosti a to v každém ročníku dvěma technikami máčení.

Vliv ročníku na příjem vody

Ze statistického zpracování můžeme vidět, že se ročník významně podílel na průběhu máčení a ovlivnil rychlost příjmu vody během prvního dne máčení. Ječmeny ze sklizně 2007 přijímaly vodu výrazně rychleji než vzorky z roku 2008. Je to patrné i z vypočtených hodnot, kdy v průměru vzorky roku 2007 přijaly během prvního máčení 37,06 % vody, zatímco v roce 2008 to bylo jen 34,25 % vody.

Po druhém máčení byla situace obdobná. Výsledky vykazovaly opět statisticky významný rozdíl. Tento rozdíl byl ještě větší než po první namáče. Hodnota průměrného vzorku roku 2007 dosahovala 44,38 %, zatímco v roce 2008 to bylo pouze 40,84 %. I přes značné rozdíly mezi ročníky můžeme konstatovat, že stupeň domočení byl z pohledu požadavků smladů příznivý v obou letech.

Podobné trendy byly pozorovány i na konci máčení. Zde byl vliv ročníku na příjem vody opět statisticky vysoce významný. Vzorky z ročníku 2007 přijaly průměrně 48,83 % vody a vzorky ročníku 2008 pak pouze 45,31 % vody.

Vliv odrůdy na příjem vody

Příjem vody obilkou vykazoval značnou odrůdovou variabilitu.

Testováním výsledků z prvního dne máčení byla prokázána vyšší afinita k vodě u odrůdy Sebastian, naopak odrůdy Malz, Bojos a Prestige přijímaly vodu průkazně hůře než odrůda Sebastian. Souhrn průměrného množství přijaté vody v jednotlivých dnech pro jednotlivé odrůdy ukazují

tabulky 2 až 5. V těchto tabulkách jsou také rozděleny jednotlivé použité technologie v jednotlivých ročnících.

Rozdíly v máčivosti jednotlivých odrůd se prohlubovaly. Průkazně nejvyšší máčivost oproti ostatním odrůdám ukázala odrůda Sebastian, vysoké hodnoty byly stanoveny i u odrůdy Malz. Naopak průkazně nejnižší obsah vody v obilce byl stanoven u odrůdy Bojos.

Tento trend přetrvával i v závěru máčení, kde odrůda Sebastian dosáhla průkazně nejvyššího stupně domočení. Konkurovala jí pouze odrůda Malz. Nejnižší hodnoty byly zaznamenány u odrůdy Bojos.

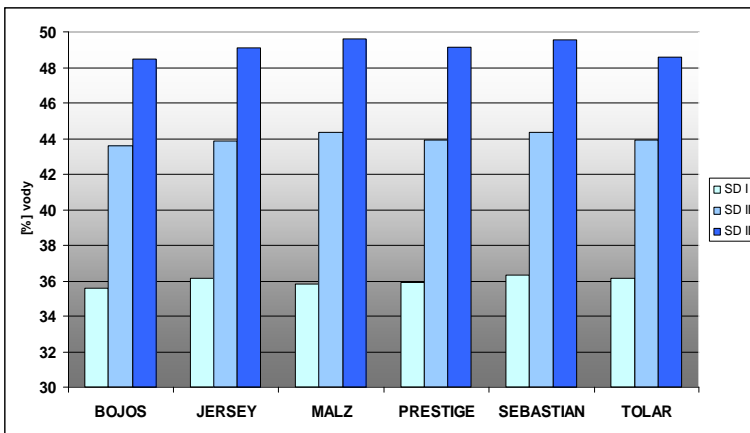
Vliv techniky na příjem vody

Při vyhodnocení grafů 1 a 2, ve kterých je zobrazen průběh příjmu vody při použití technologie „8-8-8“, a grafů 3 a 4, které zobrazují průběh máčení technologií „12-12-12“ je již na první pohled jasné, že technologie máčení příjem vody ovlivňuje také. Nejpatrnější rozdíl můžeme pozorovat hned po prvním máčení. Ze statisticky zpracovaných výsledků vlivu technologie máčení na příjem vody, je vidět průkazný rozdíl mezi oběma technologiemi. Konkrétně technologie „12-12-12“ způsobila, že v průměru vzorky z obou ročníků přijaly o téměř 2 % vody během prvního máčení více než ječmen z technologie „8-8-8“.

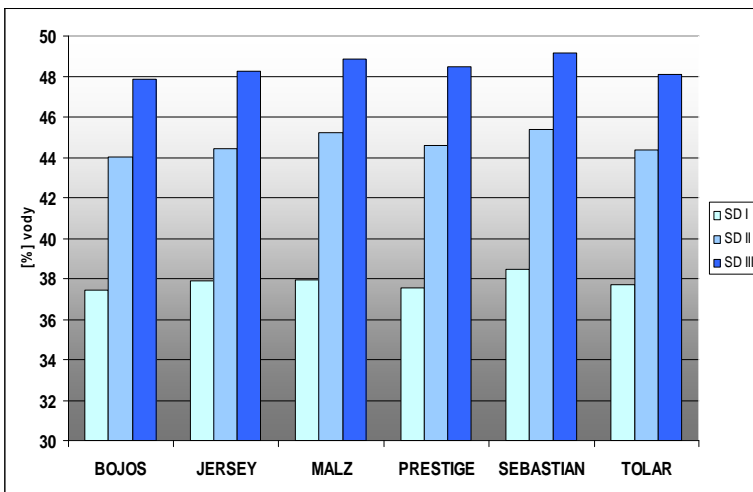
Po druhém namočení se situace výrazněji nezměnila. Opět byl prokázán statisticky významný rozdíl ve výsledném domočení (SD II) mezi použitými technologiemi „8-8-8“ a „12-12-12“. Potvrdila se skutečnost, že delší máčení zvyšuje příjem vody.

Po poslední namáče se ale situace změnila a mezi technologiemi nebyl prokázán statisticky významný rozdíl. Při technologii „8-8-8“ byl konečný stupeň domočení na úrovni 47,12 % a při technologii „12-12-12“ pouze 47,02 %. Je otázkou, zda delší doba namočení negativně neovlivnila závěr máčení. Nastartovaným životním procesům v obilce po prvním a druhém máčení zřejmě nevyhovovala závěrečná, příliš dlouhá doba namáčky.

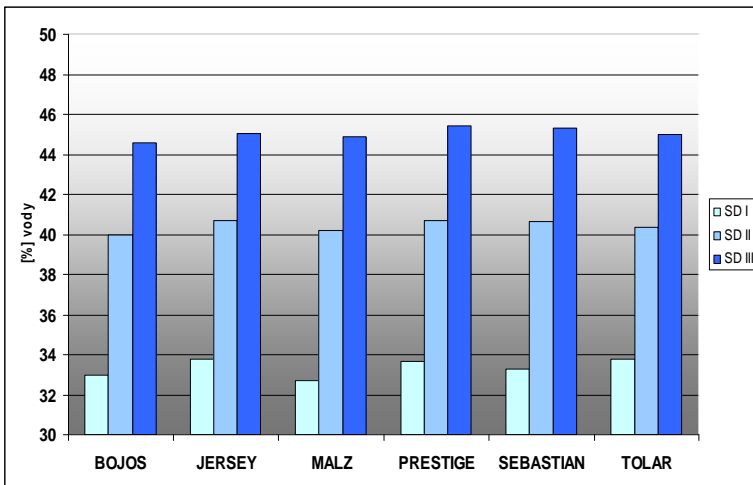
Graf 1. Průměrné hodnoty stupňů domočení odrůd ve sklizni 2007, technologie máčení „8-8-8“



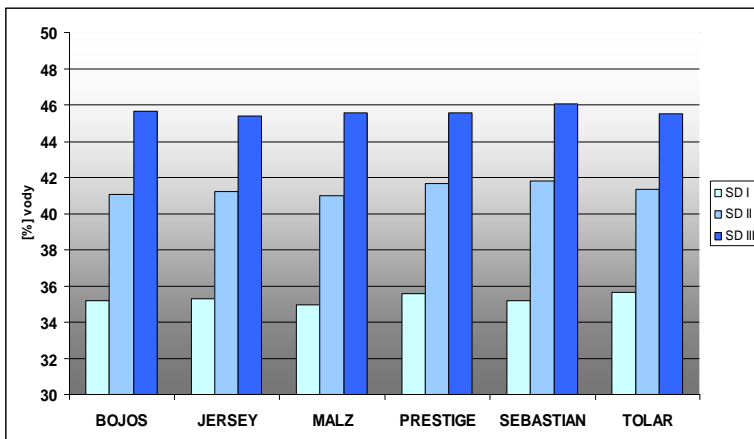
Graf 2. Průměrné hodnoty stupňů domočení odrůd ve sklizni 2007, technologie máčení „12-12-12“



Graf 3. Průměrné hodnoty stupňů domočení odrůd ve sklizni 2008, technologie máčení“ 8-8-8“



Graf 4. Průměrné hodnoty stupňů domočení odrůd ve sklizni 2008, technologie máčení „12-12-12“



Tab.2 Průměrné hodnoty stupňů domočení pro rok 2007, technologie „8-8-8“

	BOJOS	JERSEY	MALZ	PRESTIGE	SEBASTIAN	TOLAR
SD I [%]	35,58	36,12	35,80	35,89	36,33	36,13
SD II [%]	43,60	43,88	44,37	43,94	44,38	43,92
SD III [%]	48,46	49,11	49,58	49,17	49,56	48,57

Tab.3 Průměrné hodnoty stupňů domočení pro rok 2007, technologie „12-12-12“

	BOJOS	JERSEY	MALZ	PRESTIGE	SEBASTIAN	TOLAR
SD I [%]	37,41	37,88	37,97	37,53	38,47	37,74
SD II [%]	44,02	44,45	45,20	44,59	45,39	44,38
SD III [%]	47,87	48,23	48,86	48,47	49,13	48,08

Tab.4 Průměrné hodnoty stupňů domočení pro rok 2008, technologie „8-8-8“

	BOJOS	JERSEY	MALZ	PRESTIGE	SEBASTIAN	TOLAR
SD I [%]	32,96	33,75	32,68	33,67	33,25	33,79
SD II [%]	39,95	40,71	40,18	40,71	40,67	40,36
SD III [%]	44,61	45,07	44,85	45,43	45,30	44,96

Průměrné hodnoty stupňů domočení pro rok 2008, technologii „12-12-12“

	BOJOS	JERSEY	MALZ	PRESTIGE	SEBASTIAN	TOLAR
[%]	35,16	35,30	34,93	35,55	35,17	35,65
SD II [%]	41,04	41,22	40,96	41,64	41,77	41,31
SD III [%]	45,67	45,38	45,57	45,55	46,03	45,50

ZÁVĚR

Z výsledků pokusu vyplývá, že ječmeny ze sklizně roku 2007 přijímaly vodu rychleji než vzorky z roku 2008. Průměrný vzorek roku 2007 přijal při SD I 37,06 % vody, kdežto průměrný vzorek roku 2008 přijal při prvním stupni domočení jen 34,25 % vody. U stupně domočení II byla situace obdobná, meziroční rozdíl byl ale ještě větší než u SD I. Hodnota průměrného vzorku za rok 2007 byla 44,38 %, hodnota průměrného vzorku roku 2008 dosáhla na 40,84 % vody. U konečného stupně domočení se situace opakovala, vzorek z ročníku 2007 přijal průměrně 48,83 % vody a vzorek ročníku 2008 pak pouze 45,31 % vody. Technologie máčení tento příjem vody ovlivnila také, k čemuž se přiklání i PROKEŠ 2008. Rozdíly mezi nimi již nebyly tak markantní jako u ročníku, i tak ale byly zřetelné. Použitá technologie „12-12-12“ zapříčinila, že v prvních dvou stupních domočení zrna přijalo více vody než při technologii máčení „8-8-8“. Při SD I byl tento rozdíl největší a dosahoval téměř 2 % přijaté vody v průměru u všech šesti testovaných odrůd. Situace se ale změnila při konečném stupni domočení, kdy vzorky máčené technologií „8-8-8“ dosáhly téměř stejného obsahu přijaté vody jako u technologie druhé. Nejlépe přijímala vodu v roce 2007 odrůda Sebastian a Malz, nejhůře Bojos a Tolar. V roce 2008 nejlépe přijímala vodu odrůda Sebastian a Prestige a nejhůře odrůda Bojos.

LITERATURA

DUFEK, J., 1992: Biometrika. MZLU v Brně, 152 s., ISBN 80-7157-0287-3

KOSAŘ, K., PROCHÁZKA, S., a kol., 2000: Technologie výroby sladu a piva. Praha: VÚPS, ISBN 80-902658-6-3

MOŠTEK, J., 1975 : Sladařství – biochemie a technologie sladu. Praha: SNTL, 480 s.

PROKEŠ, J., 2008: Hodnocení jakosti sklizně sladovnického ječmene v r. 2008 v ČR. Zpráva výzkumného úkolu, VÚPS, Praha

ROBINSON, D. L., MANN, A.D., DIGBY, P.G.N., 1995 : REML - Analysis of large data sets with two or more sources of variation by residual maximum likelihood. Biomathematics and Statistics Scotland University of Edinburgh

DRESSING PERCENTAGE AND MEAT COMPOSITION OF BROILERS FED DISTILLERS DRIED GRAINS WITH SOLUBLES

Hošková Š.¹, Lichovníková M.², Urbanová P.¹, Skládanka J.¹, Hošek M.², Zeman L.¹

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

²Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: sarka.hoskova@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of our experimental supervision was detected the effect of feeding DDGS (distillers dried grains with solubles) on broiler's dressing percentage and meat composition – dry matter, content of crude protein in dry matter and content of fat in dry matter in breast and thigh meat. There were used 500 one day old male broilers of Ross 308 hybrid combination which were divided into 5 stalls by 100 pieces. Broilers were fed by a starter until 12 day of experiment; it was a standard commercial diet BR1. Experimental feed mixtures BR2 were fed from 13 day to 35 day. Experimental diets were formulated to contain: 1) 0% DDGS (control group), 2) 10% DDGS, 3) 15% DDGS, 4) 20% DDGS, 5) 25% DDGS. Five broilers of each group were weighed, slaughtered and then was calculated their slaughter efficiency. The analysis of dry matter, crude protein and fat have been done in breast and thigh meat. The best dressing percentage had control group without DDGS, it was significantly better ($P < 0.05$) than group with 15% DDGS. The highest content of dry matter in breast and also in thigh meat was in group with 15% DDGS. The content of crude protein in dry matter of breast meat was significantly higher ($P < 0.05$) in groups 10 and 20% DDGS than in group 15% DDGS. The highest content of fat in dry matter of breast meat was in group 25% DDGS. There were no significantly differences between groups in content of crude protein and fat in dry matter of thigh meat.

Key words: distillers dried grains with solubles, broiler, meat composition, dressing percentage

Acknowledgments: This project was supported by IGA of MZLU as project no. IG290101.

ÚVOD

Sušené lihovarské výpalky neboli DDGS (distillers dried grains with solubles) jsou vedlejším produktem z výroby bioetanolu. Během produkce alkoholu se škrob obilnin pomocí kvasinek přeměňuje na alkohol a oxid uhličitý. Výpalky jsou vlastně odpadem, ale mohou být využity jako kvalitní bílkovinné krmivo. Faktorů, které ovlivňují nutriční kvalitu výpalků, je však mnoho: vstupní surovina, typ fermentace a teplota sušení (SPIEHS *et al.*, 2002). Při sušení DDGS je materiál vystaven teplotám přibližně 315 °C, vyšší teploty vedou k degradaci aminokyselin, zejména lyzinu (LUMPKINS and BATAL, 2005). LUMPKINS *et al.* (2004) uvádí, že brojlerům můžeme do krmných směsí zařadit 6 % do starteru a 12 až 15 % do groweru a finisheru, aniž by to ovlivnilo jejich růst. DALE a BATAL (2003) uvádějí, že 18 % DDGS v krmné směsi pro brojlery mělo už negativní vliv na jejich konečné hmotnosti a konverzi krmiva.

Většina prací se zatím věnovala především sledování vlivu sušených lihovarských výpalků na růstové parametry brojlerů a konverzi krmiva. Cílem naší práce bylo zjistit, jak DDGS zařazené v krmné směsi BR2 ovlivní jatečnou výtěžnost kuřat a složení jejich masa.

MATERIÁL A METODIKA

Experiment byl uskutečněn v pokusné stáji ÚKZUZ v Lípě u Havlíčkova Brodu. Do pokusného sledování jsme zařadili 500 kohoutků hybridní kombinace Ross 308, kteří byli rozděleni do 5 skupin po 100 jedincích. Kuřata jsme odchovali na hluboké podestýlce a měli k dispozici odpovídající počet napáječek a krmítek. Krmivo i voda byly poskytnuty *ad libitum*. Do dvanáctého dne věku jsme všem skupinám zkrmovali shodnou směs BR1. Od 13. do 35. dne věku jsme zkrmovali experimentální krmné směsí BR2. Pokusné krmné směsi byly sestaveny následujícím způsobem: 1) kontrola (0 % DDGS), 2) 10 % DDGS, 3) 15 % DDGS, 4) 20 % DDGS, 5) 25 % DDGS. Výpalky zařazené do našeho pokusu pocházely z lihovaru v Trmicích u Ústí nad Labem. Složení krmných směsí je uvedeno v tabulce 1.

Na konci pokusného sledování jsme z každé skupiny vybrali 5 kohoutků ve věku 40 dní, kteří byli zabití a byla u nich vypočtena jatečná výtěžnost. Jejich prsní i stehenní svalovina byla rozborována na obsah sušiny, dusíkatých látek a tuku.

Tab 1 Komponenty a složení krmných směsí

Komponenty	%	BR1	BR2 - 1	BR2 - 2	BR2-3	BR2-4	BR2-5
DDGS	%	0	0	10	15	20	25
Pšenice 12,5 % NL	%	46	42	36,5	33,5	30,8	28,7
Kukuřice	%	15	18	18	18	18	18
Sójový ex. šrot	%	32	28	23,5	21,5	19,2	16,3
Řepkový olej	%	2,5	3	3	3	3	3
Glycerol	%	0	5	5	5	5	5
Premix	%	4,5	4	4	4	4	4
Složení							
Sušina	%	91,94	92,38	92,88	93,08	92,94	92,96
Dusíkaté látky	%	21,63	20,45	20,82	21,83	21,36	21,51
Tuk	%	4,57	6,52	6,92	6,84	7,53	8,07
Vláknina	%	2,98	2,83	3,45	3,56	3,2	3,62
Popel	%	5,98	5,26	4,64	5,5	4,75	5,22
BE	MJ/kg	16,54	16,90	17,23	17,06	17,33	17,36

VÝSLEDKY A DISKUZE

Průměrná jatečná výtěžnost za každou skupinu je uvedena v tabulce 2. Nejlepší jatečně výtěžnosti dosáhla kontrolní skupina, která neměla v krmné dávce zařazeny žádné výpalky. Podle Fisherova testu byla průkazně lepší ($P < 0,05$) než skupina s 15 % výpalků. Mezi dalšími skupinami jsme statisticky průkazně rozdílů nenalezli. WANG *et al.* (2007a) uvádějí, že jatečná výtěžnost kuřat byla statisticky průkazně redukována u skupin, kterým bylo do krmné dávky zařazeno 30 % DDGS oproti kontrolní skupině krmené směsí bez výpalků. U kuřat, která měla zařazeno 15 % DDGS v krmné dávce žádné statisticky průkazné zhoršení jatečné výtěžnosti nezaznamenali. V jiném pokusu však WANG *et al.* (2007b) dospěli ke stejnému závěru jako my a sice, že kuřata krmená dietou s 15 nebo 25 % DDGS měla oproti kontrole průkazně nižší jatečnou výtěžnost, ačkoliv u skupiny s 20 % DDGS se to nepotvrdilo.

Průměrné složení prsní a stehenní svaloviny je uvedeno v tabulkách 3 a 4. Nejvyššího obsahu sušiny v prsní svalovině dosáhla skupina s 15 % výpalků a toto množství bylo průkazně vyšší ($P < 0,05$), než u všech ostatních skupin. Procentický obsah dusíkatých látek v sušině prsní svaloviny byl nejvyšší u skupin s 10 a 20 % výpalků, což bylo průkazně více ($P < 0,05$) než u skupiny s 15 % výpalků v krmné směsi. Obsah tuku v sušině prsní svaloviny byl nejvyšší u skupiny, která měla v krmné směsi nejvyšší obsah výpalků a bylo to průkazně více ($P < 0,05$) než u skupin s 0, 10 a 15 % výpalků. U stehenní svaloviny byl nejvyšší obsah sušiny opět u skupiny s 15 % výpalků a bylo to průkazně více ($P < 0,05$) než u skupin s 0 a 10 % výpalků. V procentickém obsahu dusíkatých látek a tuku v sušině jsme u stehenní svaloviny žádné průkazné rozdíly nenalezli.

Tab 2 Jatečná výtěžnost

Skupina	Jatečná výtěžnost %			
0 % výpalků	74,56	±	0,768	a
10 % výpalků	73,06	±	1,354	ab
15 % výpalků	72,38	±	1,009	b
20 % výpalků	72,65	±	0,639	ab
25 % výpalků	73,00	±	2,330	ab

průměr ± směrodatná odchylka

Tab 3 Složení prsní svaloviny

Skupina	sušina %		NL % v sušině		tuk % v sušině		
0 % výpalků	25,05	± 0,480	a	92,36 ± 0,401	ab	3,58 ± 0,541	ab
10 % výpalků	25,39	± 0,201	ab	93,20 ± 0,752	a	3,15 ± 0,492	a
15 % výpalků	26,75	± 0,473	c	91,19 ± 1,829	b	3,93 ± 0,368	ab
20 % výpalků	25,72	± 0,272	b	93,49 ± 1,306	a	4,66 ± 1,256	bc
25 % výpalků	25,62	± 0,607	ab	91,74 ± 1,307	ab	5,65 ± 1,070	c

průměr ± směrodatná odchylka

Tab 4 Složení stehenní svaloviny

Skupina	sušina %	NL % v sušině	tuk % v sušině
0 % výpalků	26,99 ± 0,326 ^a	69,93 ± 2,190 ^a	28,02 ± 1,218 ^a
10 % výpalků	27,80 ± 0,877 ^{ac}	65,42 ± 3,334 ^a	30,48 ± 2,864 ^a
15 % výpalků	29,65 ± 0,887 ^b	65,24 ± 4,281 ^a	31,56 ± 3,858 ^a
20 % výpalků	28,71 ± 1,377 ^{bc}	66,69 ± 5,070 ^a	31,09 ± 4,623 ^a
25 % výpalků	28,75 ± 1,275 ^{bc}	66,23 ± 3,682 ^a	31,85 ± 3,499 ^a

průměr ± směrodatná odchylka

ZÁVĚR

Co se týká jatečné výtěžnosti, nejhůře dopadla skupina s 15 % výpalků, což ale zřejmě nebylo způsobeno množstvím výpalků v krmné směsi, jelikož skupiny s 20 a 25 % dopadly lépe. Výpalky jsou tučnější než sójový extrahovaný šrot, což se projevilo v prsní i stehenní svalovině. Skupina s nejvyšším zastoupením výpalků v krmné dávce měla také nejvyšší obsah tuku v sušině masa.

LITERATURA

BATAL, A. B., DALE, N. M. True metabolize energy and amino acid digestibility of distillers dried grains with solubles. *Journal of Applied Poultry research*. 2006, vol. 15, no. 1, s. 89-93.

DALE, N., BATAL, A. B. Nutritional value of distillers dried grains and solubles fo poultry. In *19th Annual Carolina Nutrition Conf.*. NC: Research Triangle Park, 2003. s. 1-6.

LUMPKINS, B. S., BATAL, A. B. The Bioavailability of Lysine and Phosphorus in Distillers Dried Grains with Solubles. *Poultry Science*. 2005, no. 84, s. 581-586.

LUMPKINS, B. S., BATAL, A. B., DALE, N. M. Evaluation of dried distillers grain solubles as a feed ingredient for broilers. *Poultry Science*. 2004, no. 83, s. 1891-1896.

SPIEHS, M. J., WHITNEY, M. H., SHURSON, G. C. Nutrient database for distiller's dried grains with solubles produced from new ethanol plants in Minnesota and South dakota. *Journal of Animal Science*. 2002, no. 80, s. 2639-2645.

^aWANG, Z., et al. Use of Constant or Increasing Levels of Distillers Dried Grains with Solubles (DDGS) in Broiler Diets. *International Journal of Poultry Science*. 2007, vol. 6, no. 7, s. 501-507.

^bWANG, Z., et al. Utilization of Distillers Dried Grains with Solubles (DDGS) in Broiler Diets Using a Standardized Nutrient Matrix. *International Journal of Poultry Science*. 2007, vol. 6, no. 7, s. 470-477.

ZEMAN, L. et al. Katalog krmiv. VÚVZ Pohorelice, 1995, s. 465.

DYNAMIC CHANGE OF TECHNOLOGICAL QUALITY OF SUGAR BEET DURING GROWTH

Chodurová M., Hřivna L.

Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xchodur0@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The goal of thesis is to outline the production and process of sugar cane, rate the quality of raw material in company Cukrovar Vrbátky a.s. in four production years 2005, 2006, 2007, 2008. The attention is devoted not only to quality of harvested sugar cane, but also to dynamic growth within the vegetation and to changes in technological quality. Our process of sampling begins in the middle of July and proceeds every 14 days until the campaign starts. It is determined the weight of root and shaw, sugar content, soluble ash, α aminonitrogen. In campaign it's determined gain of root, sugar content, soluble ash, α aminonitrogen and pureness common ratio of diffusion juice.

In 2005 the average digestion was 15.59%, in 2006 it was 15.57%, in 2007 it was 15.58% and in 2008 it was 16.71%. In 2005 the average soluble ash was 0.35%, in 2006 it was 0.41%, in 2007 it was 0.42% and in 2008 it was 0.37%. In 2005 the content of α aminonitrogen was 21mg/100g of sugar cane, in 2006 it was 24mg/100g, in 2007 it was 29mg/100g and in 2008 it was 28mg/100g. According to values of MB factors the years 2005 and 2008 were the best years in aspect of fruitiness.

Key words: sugar beet, technological quality, digestion, soluble ashes, α aminonitrogen

ÚVOD

Pod pojmem technologická jakost cukrovky rozumíme souhrn biologických, chemických, fyzikálně-chemických a mechanických vlastností bulvy cukrovky, které rozhodují o jejím vhodném skladování a továrním zpracování při dosažení maximální výtěžnosti rafinády a výnosu bílého cukru (PULKRÁBEK et al., 2007). Z biologických vlastností (znaků) jsou to hlavně tvar, velikost, hmotnost bulvy, její technologická výzrálost, zdravotní stav a rezistence vůči skládkovým chorobám (ZAHRADNÍČEK et al., 2003). Z vlastností chemických jsou nejdůležitější obsah sacharózy a obsah necukrů, zejména solí sodných a draselných, dusíkatých látek (amidů a volných aminokyselin) a redukujících cukrů (invertů). Z fyzikálně-chemických vlastností je to hlavně pH, turgor (osmotický tlak) buněčné šťávy. Z mechanických vlastností je to pružnost, pevnost a odpor k řezání (ZAHRADNÍČEK et al., 2007).

Jedním z nejdůležitějších kritérií technologické jakosti je **cukernatost (digesce), rozpustný popel (Pp), α -amino dusík a MB faktor nebo-li výzrálost cukrovky** (DIVIŠ, MINX, 1994). Na technologickou jakost cukrovky působí řada vlivů, které ovlivňují její konečné zpracování. Je to vliv prostředí, půdy, odrůdy, povětrnostních podmínek, setí, vnější činitelé (choroby, škůdci, plevel), hnojení atd..

Kvalita cukrovky během vegetace se mění. Postupně roste obsah sacharózy a snižuje se podíl melasotvorných prvků. Dynamikou změn kvality cukrovky během vegetace se zabývá i tato práce.

MATERIÁL A METODIKA

Dynamika změn byla sledována na 20-ti lokalitách u zemědělských subjektů, kteří dodávají cukrovku do Cukrovaru Vrbátky, a.s.. Lokality byly vybrány tak, aby na každých 200 ha sklizené plochy připadlo 1 stanoviště, ze kterého byly vzorky odebírány. Stanoviště byly rozmístěny tak, aby odebírané vzorky charakterizovaly průměrný stav porostu v celém rajonu. Na každém stanovišti byly v porostu cukrovky vybrány dva řádky, které charakterizovaly průměrný stav na daném pozemku. Tyto řádky byly od sebe navzájem vzdáleny 10 m a nacházely se mimo okraje pozemku. Při každém odběru bylo odebráno 10 řep. V následujícím vzorkování byly v řádku vždy vynechány 3 rostliny cukrovky a pokračovalo se průběžně na stejném řádku.

Odběry byly zahájeny na začátku měsíce července a pokračovaly ve 14-ti denních intervalech. Technologické parametry byly stanoveny v surovinové laboratoři cukrovaru na analytické lince, kde byly vzorky očištěny, nakrouhány na Staňkově krouhače a smíchány s destilovanou vodou v poměru 6,87:1, pak byly mixovány a čířeny octanem olovnatým. Ve filtrátu byla stanovena digesce (cukernatost), rozpustný popel, alfa-amino dusík. Dále byla sledována výzrálost cukrovky výpočtem.

Stanovení digesce: Stanovení proběhlo na polarimetru. Příprava vzorku pro vlastní analýzu proběhla dle standardních metodik. Vlastní měření pak proběhlo na přístroji POLAMAT S nebo POLARTRONIC E (FRIML, TICHÁ, 1986).

Stanovení rozpustného popela v řepě: Rozpustný popel byl stanoven konduktometricky. Vlastní měření pak bylo realizováno na konduktometru Inolab Level WTW (FRIML, TICHÁ, 1986).

Stanovení α -animodusíku: α -animodusík byl stanoven kolorimetricky na základě srovnání vzorků se standardní škálou barev etalonu (FRIML, TICHÁ, 1986).

Zralost cukrovky byla stanovena na základě vypočteného **MB faktoru** (PELIKÁN et al., 1999). Pro výpočet je nutné znát digesce (Dg, cukernatost), rozpustný popel (Pp) a αN – amino dusík (aN.) (SKALICKÝ, 1994).

Výpočtové faktory:

B – faktor: Výtěžnost bílého cukru (rafinády) v % pomocí Lüdeckeho vzorce.

$$B = Dg - 4,25 \cdot Pp - \alpha N \cdot 25$$

M – faktor: Výtěžnost melasy %.

$$M = 8 \cdot Pp$$

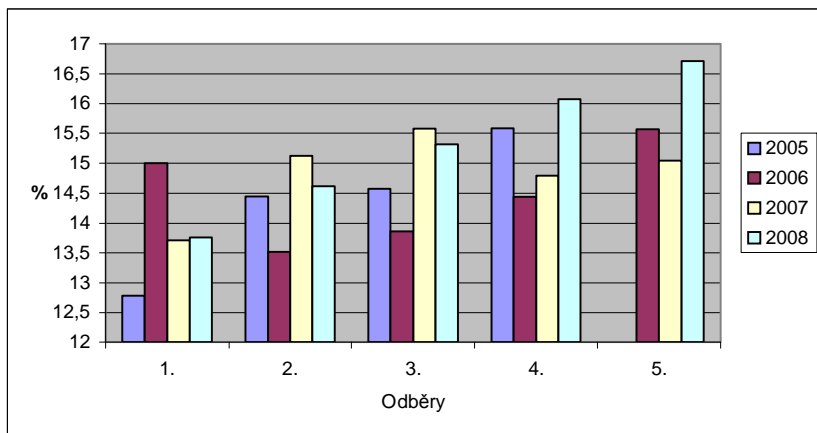
MB – faktor: Vyjadřuje množství vyprodukované melasy na vyrobený bílý cukr v %.

$$MB = \frac{100 \cdot M}{B}$$

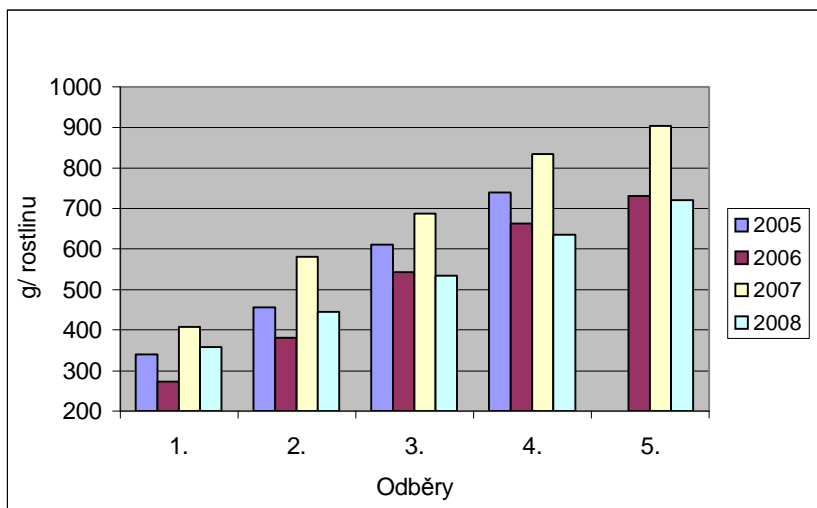
VÝSLEDKY A DISKUZE

Digescce se během vegetace zvyšovala až do konce monitoringu v roce 2005 a 2008 (graf 1). V letech 2006 a 2007 pak byl trend jiný (graf 1). V důsledku intenzivní srážkové činnosti (tab. 2 - 3) kdy došlo ke zřed'ovacímu efektu způsobenému intenzivním růstem kořene (graf 2) se obsah sacharózy snížil. V roce 2008 byla stanovena nejvyšší cukernatost v rámci našeho čtyřletého pozorování (graf 1). Největší změny během pozorování byly stanoveny v roce 2008, kde rozdíl mezi cukernatostí na začátku a na konci období činil 2,95 %. V roce 2007 byla stanovena nejvyšší produkce cukru (graf 3) na 1 rostlinu cukrovky (145 g).

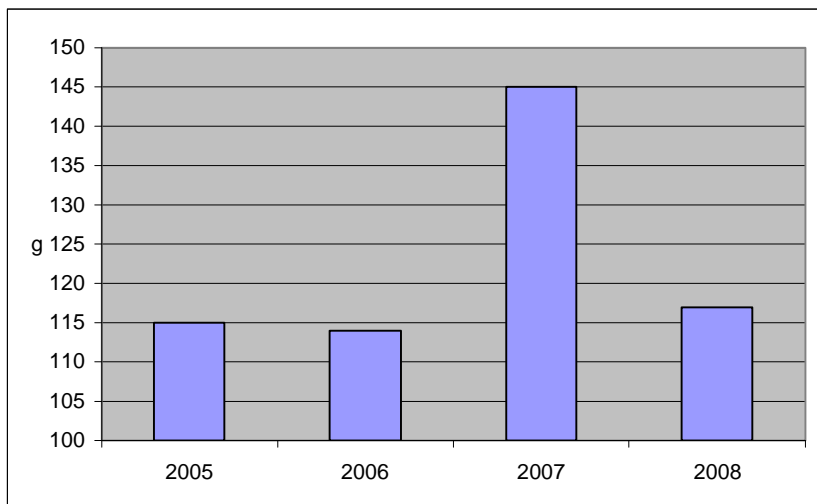
Graf 1 Změny digesce během vegetace



Graf 2 Dynamika tvorby kořene během vegetace

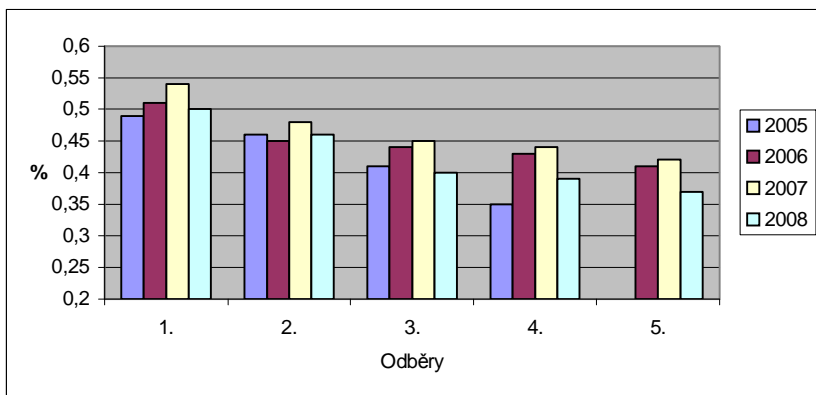


Graf 3 Tvorba cukru na 1 rostlinu cukrovky



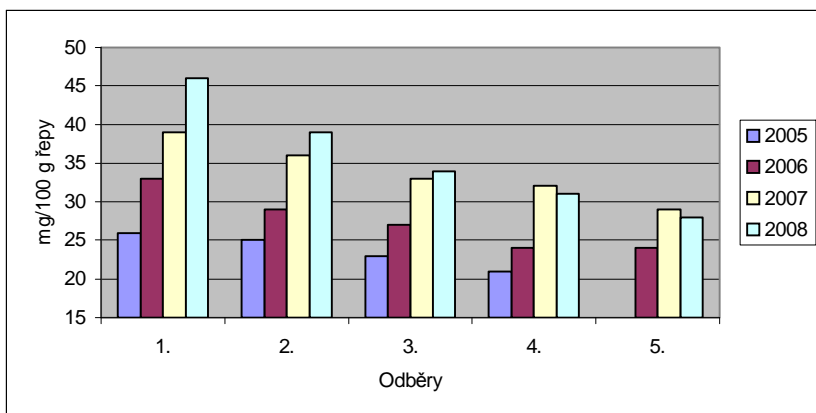
Obsah rozpustného popela se během vegetace rovnoměrně snižoval až do konce pozorování ve všech letech. Nejvyšší surovina byla získána v roce 2005 (graf 4).

Graf 4 Změny v obsahu rozpustného popela během vegetace



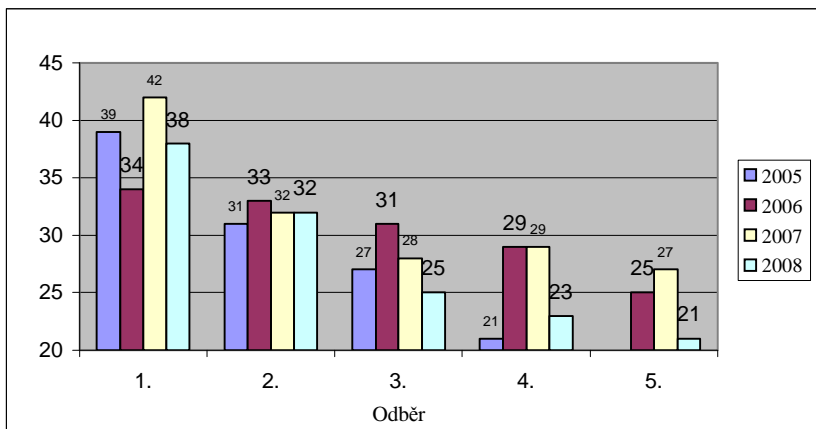
Obsah alfa-amino dusíku vykazoval ve všech letech obdobnou dynamiku a v průběhu monitoringu se během vegetace rovnoměrně snižoval. Nejnižší obsahy alfa-amino dusíku byly stanoveny v roce 2005 (graf 5). Vliv ročníku byl patrný v průběhu celé vegetace. Zatímco v roce 2005 byl obsah alfa-amino dusíku již na počátku sledování nízký a během sledování poklesla jeho hodnota pouze o cca 5mg/100 g cukrovky, v roce 2008 byla v počátku stanovena hodnota cca 47 mg/100 g a postupně se snížila o cca 20 mg.

Graf 5 Změny v obsahu alfa-amino dusíku během vegetace



Zaměříme-li se na vyzrálост cukrovky, musíme konstatovat, že se hodnota MB faktoru během vegetace v průběhu všech ročníků postupně snižovala. Při posledním odběru pak dosahovala hodnot korespondujících s poměrně dobrou kvalitou. Nejnižší hodnota MB faktoru při posledním odběru a tedy nejvyšší kvalita byla zaznamenána v roce 2005 a 2008, kdy se pohybovala okolo hodnoty 21, v ostatních letech pak byla poněkud vyšší a kolísala mezi 25 – 27 (graf 6). Vyzrálост cukrovky je závislá na volbě odrůdy a dodržení termínu sklizně, který by měl vycházet z její ranosti. Je ovlivněna rovněž průběhem povětrnosti, stanovištními podmínkami a také použitou agrotechnikou. Naše pozorování potvrdily, že proces vyzrávání během vegetace může mít různou dynamiku, závislou na výše uvedených faktorech.

Graf 6 Vyzrávání cukrovky během vegetace



ZÁVĚR

V roce 2005 se digesce pohybovala na úrovni 15,59 %, rozpustný popel 0,35 % a obsah α -aminodusíku 21 mg/100 g řepy. V roce 2006 průměrná cukernatost činila 15,57 %, rozpustný popel 0,41 % a α -aminodusík 24 mg/100 g řepy.

V roce 2007 cukernatost byla stejná jako v předcházejících letech (15,58 %), rozpustný popel 0,42 % a α -aminodusík 29 mg/100 g řepy. V roce 2008 byla cukernatost byla nejvyšší (16,71 %), rozpustný popel na úrovni 0,37 % a α -aminodusík se pohyboval okolo 28 mg/100 g řepy.

Nejvyzrálejší cukrovka, měřeno hodnotou MB-faktoru, byla sklizena v roce 2008 (MB = 20,5), naopak v roce 2007 byla cukrovka nejméně vyzrálá (MB = 27).

LITERATURA

Friml, M., Tichá, B.: Laboratorní kontrola cukrovarnické výroby. Díl I Základní rozbor. Praha: VÚPP Středisko technických informací potravinářského průmyslu, 1986, 152 stran.

Minx, L., Diviš, J. a kol.: Rostlinná výroba III. 1. vydání. Praha: Agronomická fakulta VŠZ v Praze, 1994. ISBN 80–213–0154–6.

Pelikán, M., Hřivna, L., Humpola, J.: Technologie sacharidů. 1. vydání. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 1999, 154 stran. ISBN 80–7157–107–4.

Pulkrábek, J., a kol.: Řepa cukrovka – Pěstitelský rádce. 1. vydání. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze. Katedra rostlinné výroby, 2007, 64 stran, ISBN 978-80-87111-00-0.

Skalický, J.: Kritéria nákupu, manipulace, čištění a skladování cukrovky na stacionárních pracovištích. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1994. 36 stran. ISSN 0231-9470.

Zahradníček J., Horák L., Kožnarová V., Švachula V., Jarý J.: Fyziologická a technologická zralost cukrovky pod vlivem vnějších a vnitřních činitelů. Listy cukrovarnické a řepařské. VUC Praha, a.s., ročník 123, číslo 11, listopad 2007. ISBN 1210-3306.

Zahradníček, J., Jarý, J.: Technologická jakost cukrovky a vlivy na ni působící. Listy cukrovarnické a řepařské. VUC Praha, a.s., ročník 119, č. 12, prosinec 2003. ISSN 1210–3306.

Zahradníček J., Tyšer L., Kožnarová V., Švachula V., Jarý J.: Zralost cukrovky z pohledu pěstitele a cukrovarníka. Úroda, Copyright Profi Press s.r.o., Září 2007, ISSN 1214-7621.

www.chmi.cz/meteo/ok/infklim.html

PŘÍLOHA

Tab. 1 *Průběh povětrnosti v roce 2005*

	leden	únor	březen	duben	květen	červen	červenec	srpen	září	říjen	listopad	prosinec	Roční průměr
Průměrná teplota vzduchu (°C)	-0,6	-3,1	1,4	10,4	14,3	17,4	19,7	18	15,8	9,3	2,5	-1,2	8,7
Úhrn srážek (mm)	29	32	9,7	31,1	78,3	32,4	73,5	51	29	2,3	43,2	44,1	455,2
Trvání slunečního svitu (h)	70	71	181	208	266,1	251	206,5	200	200	173	69,9	32,7	1928,6

Tab. 2 *Průběh povětrnosti v roce 2006*

	leden	únor	březen	duben	květen	červen	červenec	srpen	září	říjen	listopad	prosinec	Roční průměr
Průměrná teplota vzduchu (°C)	-7,8	-3,2	0,2	10,2	14,4	18,6	23,2	17	16,6	11	6,2	2,5	9
Úhrn srážek (mm)	26	35	52,1	56,7	74,2	79,1	17,8	91	9,7	15	34	22,2	513,1
Trvání slunečního svitu (h)	82	76	99,8	196	218,9	253	364,8	155	250	193	53,2	26,4	1967,3

Tab. 3 Průběh povětrnosti v roce 2007

	leden	únor	březen	duben	květen	červen	červenec	srpen	září	říjen	listopad	prosinec	Roční průměr
Průměrná teplota vzduchu (°C)	3,5	3,4	6,2	11,6	16,1	19,7	20,5	20	12,9	8,5	2,7	0,1	10,5
Úhrn srážek (mm)	29	28	36,7	2,6	69,2	48,2	45,6	57	68,1	40	31,3	19,6	475,2
Trvání slunečního svitu (h)	58	53	146	301	254,2	231	251,7	245	163	100	50,9	18,6	1872,4

Tab. 4 Průběh povětrnosti v roce 2008

	leden	únor	březen	duben	květen	červen	červenec	srpen	září	říjen	listopad	prosinec	Roční průměr
Průměrná teplota vzduchu (°C)	1,7	3,1	4,4	9,9	15,3	19,6	20,2	19	14	9,8	6,4	2,2	10,5
Úhrn srážek (mm)	26	11	38,5	44,2	59,9	47,8	75,7	86	30,2	16	22,9	26,3	484,8
Trvání slunečního svitu (h)	41	96	136	172	219	245	223,8	240	146	89	49,9	57,6	1717,2

THE DETERMINATION OF EXTRACT IN BARLEY BY THE ENZYMATIC WAY

Karášková I., Gregor T.

Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xkarask7@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this work was determine extract in barley by the enzymes on base proteases, cellulases, xylanases, β -glukanases and amylases. These enzymes were disintegrated components of grain of barley analogous to natural enzymes in malt; fall off so need grain of barley malted. The grain of barley hasn't needed enzymes for disintegration compounds in the barley. The determination of extract in barley by conventional method by prepared sweet, are not practice. For information of extract in barley is used formula by the Bishop. The formula was won experimentally and was for needs modern malting several times forced. Direct method by the help of prepared congress sweet we are making in the final malt. Preparation of the malt lasts usually 10 days; this suit in laboratory conditions does in micro-malt house. Like optimal, shows application enzymes in this succession: cellulase, xylanase, β -glukanase, α -amylase, β -amylase along with protease. In comparison with assessment by enzymatic way in the barley and way by the prepare congress sweet, are record same, with error perhaps 1%.

Key words: extract, barley, malt, enzymatic way

Acknowledgments: Research Centre for Study of Extract Compounds of Barley and Hop, 1M0570.

ÚVOD

Cílem práce je stanovení extraktu u ječmene pomocí enzymatických preparátů (Genencor, Holansko) na bázi proteáz, celulózy, xylanázy, β -glukanázy a amylázy. Tyto enzymy rozštěpí složky zrna podobně jako přirozené enzymy u sladu, odpadá tak potřeba zrna ječmene sladovat, stanovení lze provést přímo u ječmene, rmutovací proces je podobný jako při stanovení extraktu u sladu.

Stanovení extraktu u ječmene se přímou metodou přípravy kongresní sladiny neprovádí. Zrno ječmene nemá potřebné enzymy pro rozklad obsahových látek zrna a vznik rozpustných sacharidů, bílkovin a dalších součástí zrna ječmene. K získání informace o předběžném extraktu ječmene je používán vztah podle Bishopa, ve kterém je zahrnut obsah bílkovin a hmotnost tisíce zrn:

$$E = 83,6 - (0,85 \cdot B) + (0,15 \cdot G),$$

kde E - extraktu sladu v sušině v %, B - obsah bílkovin v sušině v %, G - HTZ v sušině v g

Vztah byl získán experimentálně a byl pro potřeby moderního sladovnictví několikrát modifikován. Přímou metodou pomocí přípravy kongresní sladiny se stanovení extraktu provádí až u hotového sladu. Ječmen tak musí projít sladařským procesem, který celý trvá obvykle 10 dnů, tento proces se v laboratorních podmínkách provádí v mikroskladovně. (Dunovský, 2007) Firma GENENCOR vyrábí kompletní sadu enzymů pro rozklad obilného zrna, v praxi je tento systém enzymů využíván především pro přípravu sladkých zápar při výrobě bioethanolu. Jako nevhodnější se jeví aplikace enzymů v tomto sledu (Kolínková, 2008) celulóza + xylanáza + β -glukanáza, úplné ztekucení a zamazovatění škrobu α -amylázou, zcukření β -amylázou společně s proteázou.

MATERIÁL A METODIKA

Pro stanovení byly použity následující enzymy:

OPTIMASH™ BG

Tento enzym redukuje viskozitu ječmenných a pšeničných zápar. Enzym OPTIMASH™ BG obsahuje kombinaci enzymů typu β -glukanázy, které efektivně modifikují a štěpí neškrobnaté sacharidy, stavební materiály rostlinných buněk. Výhodou použití OPTIMASH™ BG je hydrolýza neškrobových sacharidů, které jinak zvyšují viskozitu zápar. Nejvyšší aktivitu má enzym při 60 – 70 °C v rozmezí hodnot pH 4 – 4,6. Při dané teplotě je doba působení minimálně 30 minut. (Genencor, 2007)

OPTIMASH™ XL

Tento enzym je schopný redukovat viskozitu a oddělovat zlomky obilných frakcí pšenice, žita a ječmene. OPTIMASH™ XL obsahuje kombinaci celulózy a xylanázy, které efektivně přeměňují a štěpí neškrobnaté sacharidy. Štěpí tedy hlavně celulózu, arabinoxylany, v menší míře také β -glukany, které jsou sesítované navzájem také s ligninem, pektiny, proteiny, škrobem a lipidy. Nejvyšší aktivitu má enzym při 60 – 70 °C v rozmezí hodnot pH 4,5 – 5. Při dané teplotě je doba působení minimálně 30 minut. (Genencor, 2007)

SPEZYME® ETHYL

Tento enzym obsahuje termostabilní škrob hydrolyzující α -amylázu s vynikající stabilitou při nízkém pH. Endoamyláza v enzymu SPEZYME® ETHYL náhodně hydrolyzuje α -1,4-glykosidické vazby s rychlou redukcí viskozity želatinujícího škrobu v obilných záparách, produkuje rozpustné dextriny a oligosacharidy. Nejvyšší aktivitu má enzym při 83 – 95 °C v rozmezí hodnot pH 5,4 – 5,8. Při dané teplotě je doba působení minimálně 90 min. (Genencor, 2007)

FERMENZYME® L-400

Tento enzym se využívá k úplnému zcukření naštěpeného škrobu až na maltózu a glukózu. Je to exoamyláza, která katalyzuje uvolnění po sobě následujících glukózových jednotek z neredukujících konců rozpustných dextrinů a oligosacharidových řetězců hydrolyzovaných jak lineárními (1,4- α -D) tak rozvětvenými (1,6- α -D) glykosidovými vazbami. Enzym se používá pro zcukření ztekuceného škrobu z různých zdrojů, zahrnující kukuřici, čirok, ječmen, pšenici, rýži a brambory. Proteáza obsažená v preparátu náhodně štěpí bílkoviny z krajních řetězců i uvnitř molekuly. Nejvyšší aktivitu má enzym při 60 – 65 °C v rozmezí hodnot pH 3,8 – 4,5. Při dané teplotě je doba působení minimálně 30 minut. Teplota nad 65 °C má za následek ztrátu aktivity enzymu. Preparát rapidně zvyšuje obsah proteinů ve rmutu. (Genencor, 2007)

Dávkování a optimální reakční podmínky jednotlivých enzymatických preparátů jsou v tabulce 1. Po přidavku enzymů Optimash XL, Optimash BG k navázce ječného šrotu v destilované vodě nastává v první fázi při teplotě 60 °C štěpení celulóзовých látek, vlákniny a β -glukanů. V další fázi při teplotě 80 °C po přidavku enzymu Spezyme Ethyl mazovatí škrob, suspenze se plně ztekucuje, amylóza a amylopektin ze škrobu je přeměňován na dextriny a oligosacharidy, zkouška jodem po proběhnutí této fáze je negativní. Po ochlazení na 60 °C a přidavku Fermentzyme L-400 dochází k finálnímu rozštěpení dextrinů a oligosacharidů až na maltózu a glukózu, dochází také ke štěpení bílkovin (Pavlíková, 2008).

Tab. 1 Enzymatické preparáty, dávkování a optimální reakční podmínky

	použitý enzym	druh enzymu	teplota [°C]	Čas [min]	dávkování [μl/100g šrotu]	pH
1	Optimash XL	celulóza, xylanáza	60-70	30	25	4,5 - 5,5
	Optimash BG	β -glukanáza	60-70	30	25	4,5 - 5,5
2	Spezyme Ethyl	α -amyláza	83-95	90	100	5,4 - 5,8
3	Fermentzyme L-400	β -amyláza, proteáza	60-65	30	100	3,8 - 4,5

Roztok je po skončení poslední fáze zfiltrován přes papírový filtr (červená barva, č. 560) a pomocí pyknometru změřena hustota. Hustota přímo koreluje s obsahem extraktivních látek ve sladině, pomocí tabulek je možno vyhledat odpovídající koncentraci sladiny.

Vzorky zrna ječmene byly pomlety na laboratorním mlýnku (Laboratorní mlýn, Laboratorní přístroje Praha, Česká republika). Rmutování bylo provedeno v osmimístné rmutovací lázni (1-Cube, Česká republika). Rmutovací lázeň je opatřena mikropočítačem, pomocí něhož je možné celý

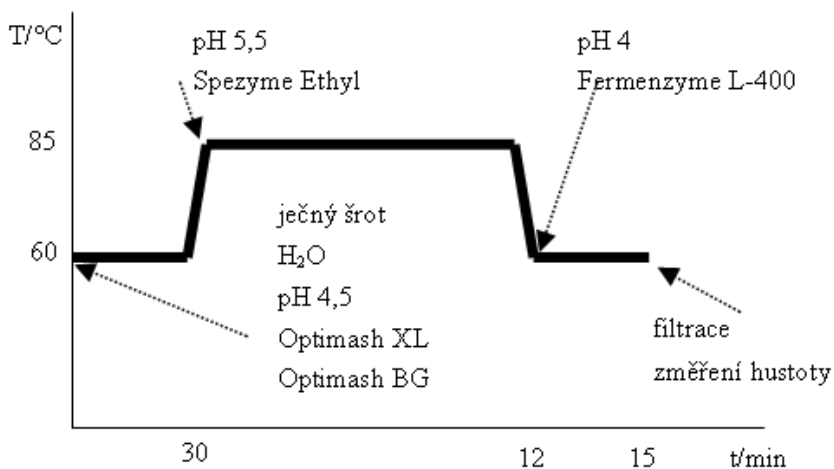
rmutovací proces naprogramovat do přesných časových celků. Celý proces lze provádět i při manuálním nastavení teplot. Enzymatické preparáty byly dodány firmou Genencor (Holansko), je nutné je uchovávat v lednici, plná účinnost při takovémto uskladnění je garantována 1 rok, s každým dalším rokem uskladnění klesá účinnost enzymů asi o 15 %. Pro přesné dávkování enzymů byla použita pipeta (10-100 μ l, Finnipipette, Thermo Scientific, USA) s výměnnými špičkami, na každý enzymatický preparát byla použita nová špička. Při úpravě pH byl použit pH metr inoLAB (Německo).

Ke snížení pH rmutu byla použita kyselina sírová (Lachema, Česká Republika, čistota p.a.), z níž byl připraven roztok o koncentraci 1 mol/l.

Pro zvýšení pH rmutu byl použit 1M roztok hydroxidu sodného (Lachema, Česká Republika, čistota p.a.).

Proces enzymatického rozkladu zrna ječmene a získání extraktu probíhal ve rmutovací kádince umístěné do rmutovacího přístroje. Směs ječného šrotu a vody byla promíchána míchadlem, které je součástí přístroje. Bylo upraveno pH směsi na 4,5 pomocí 1M roztoku kyseliny sírové. Rmutovací kádinka byla umístěna do rmutovací lázně, v níž byla nastavena teplota 60 °C. Byly přidány enzymy Optimash XL a Optimash BG. Při této teplotě je směs rmutována 30 minut. Po uplynutí této doby byla teplota zvýšena na 85 °C, pH směsi bylo upraveno na 5,5 roztokem NaOH a byl přidán preparát Spezyme Ethyl. Směs je při této teplotě rmutována 90 minut. V poslední fázi byla teplota rmutovací lázně snížena na 60 °C, pH směsi upraveno roztokem kyseliny sírové na 4 a byl přidán preparát Fermentzyme L-400. Tato fáze trvá 30 minut. V grafu 1 je znázorněn průběh všech kroků.

Graf 1 Průběh všech reakčních kroků.



Po skončení poslední fáze je kádinka vyjmuta ze rmutovací lázně a ochlazena studenou vodou na pokojovou teplotu. Po promíchání byl obsah kádinky zfiltrován přes skládaný filtr (červený, č. 560), prvních 100 ml bylo vráceno zpět na filtr. Stanovení hustoty sladiny bylo provedeno

pyknometricky pomocí Reischauerova pyknometru. U pyknometru byla zjištěna jeho vodní hodnota. Stejný postup byl opakován i s připravenou sladinou. Hustota sladinou je podíl hmotnosti sladinou a hmotnosti (objemu) vody. (Králík, 2006)

$$\rho = \frac{\text{hmotnost sladinou v g}}{\text{vodní hodnota pyknometru v g}}$$

V tabulkách (viz příloha 1) byla vyhledána podle hustoty sladinou příslušná koncentrace a dosazena do vztahu pro výpočet extraktu u ječmene:

$$E = \frac{(800 + a) \cdot b}{100 - b}, \text{ kde } a \text{ je vlhkost ječmene v } \%, b \text{ je koncentrace sladinou z tabulek v } \%.$$

Extrakt v ječmeni byl přepočítán na sušinu podle vztahu:

$$E_{\text{suš}} = \frac{E \cdot 100}{100 - a}, \text{ kde } E \text{ je extrakt v ječmeni v } \%, a \text{ je vlhkost ječmene v } \%.$$

VÝSLEDKY A DISKUZE

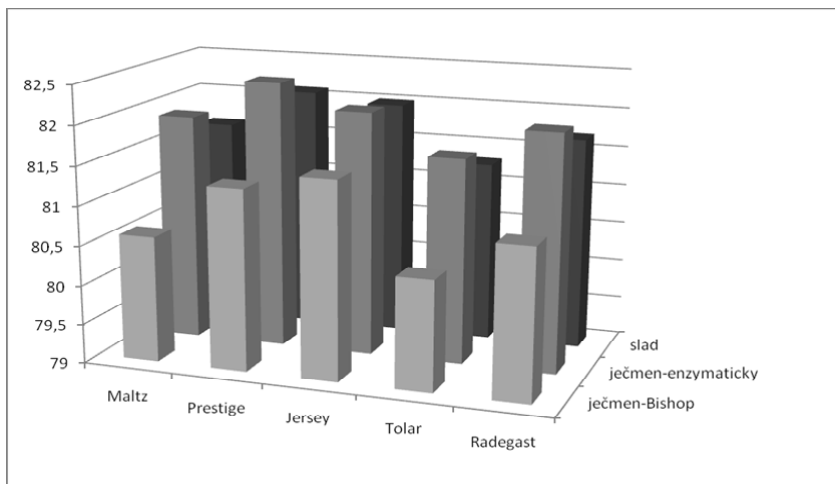
Pomocí uváděné metodiky bylo měřeno pět odrůd ječmene ze sklizně 2008. Byly to odrůdy Maltz, Prestige, Jersey, Tolar a Radegast. U stejných ječmenů bylo provedeno zesladování na Výzkumném ústavu sladu a piva, a byl proměřen extrakt u sladů vyrobených z jednotlivých odrůd. Stanovení u každého vzorku bylo provedeno třikrát. V tabulce 2 jsou výsledky naměřených hodnot.

Tab. 2 Stanovení extraktu v ječmeni pomocí vztahu podle Bishopa, enzymaticky a extrakt ve sladu

odrůda ječmene	ječmen-Bishop	ječmen-enzymaticky	slad
Maltz	80,6	81,9	81,6
Prestige	81,3	82,4	82,1
Jersey	81,5	82,1	82,0
Tolar	80,4	81,6	81,3
Radegast	80,9	82,0	81,7

Extrakt získaný výpočtem podle Bishopa vykazuje ve všech případech nižší hodnoty, než stanovení pomocí enzymatických preparátů, to vykazuje naopak ve všech případech vyšší hodnoty. Hodnoty získané enzymaticky jsou vyšší i ve srovnání s extraktem ve sladu. Ve všech případech je chyba stanovení menší než 1 %. V grafu 2 je obsah extraktu v jednotlivých variantách znázorněn graficky.

Graf 2 Obsah extraktu v ječmeni pomocí vztahu podle Bishopa, enzymaticky a extrakt ve sladu



ZÁVĚR

Stanovení extraktu u ječmene je konvenčně prováděno pouze výpočtem pomocí vztahu podle Bishopa. Zde uváděná práce zavádí stanovení extraktu u ječmene přímou metodou s použitím průmyslových enzymatických preparátů. Získané hodnoty by z hlediska praxe mohly mít vyšší důležitost a přínos, ve srovnání s výpočtem podle Bishopa, jenž je často nutno modifikovat na konkrétní reálné vzorky ječmene. Naopak při stanovení extraktu u sladu, odpadá při použití této metodiky sladování ječmene, lze použít přímo zrno ječmene. V porovnání se stanovením extraktu enzymatickou cestou u ječmene a konvenčním stanovením extraktu u sladu, jsou výsledky rozdílné s chybou do 1 %.

LITERATURA

David Dunovský (2007): Význam škrobu v ječmeni a vztah k extraktivnosti sladu, diplomová práce

Petr Králík (2006): Možnosti využití mikroorganismu *Zymomonas mobilis* při výrobě bioethanolu z obilných zápar, diplomová práce

Hana Kolínková (2008): Možnosti kombinace enzymových preparátů a jejich vliv na výtěžnost bioethanolu z kukuřičných zápar, diplomová práce

Lucie Pavlíková (2008): Vliv použitých enzymů na výtěžnost ethanolu z pšenice, diplomová práce

Genencor, Aplikační listy pro enzymy, Holansko (2007)

THE INFLUENCE OF GRAPE PROCESSING AND WINEMAKING TECHNIQUES ON PHENOLIC COMPOUNDS IN WINE PRODUCED FROM MALVERINA WINEGRAPE VARIETY, SOUTH MORAVIA, CZECH REPUBLIC

Khafizova A., Michlovský M.

Department of Viticulture and Viniculture, Faculty of Horticulture, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Valticka 337, 691 44 Lednice, Czech Republic

E-mail: asiaseerosen@gmail.com

ABSTRACT

The study of phenolic compounds in grape and wine shows their positive influence on human health. The polyphenolic content in white wines is usually lower than in red ones. However there are grape processing and winemaking techniques that favor their extraction. Wines from Malverina winegrape variety made by different grape processing and winemaking techniques (kakhétian technology, sur lies technology and reducing – standard technology) were examined for total phenol, total flavanol content as well as antiradical activity and reducing power using spectrophotometry. HPLC analyses were carried out to study the content of individual polyphenolics responsible for antioxidant properties of wine. It was found that kakhétian wine is the best from the standpoint of health. As it has the highest total phenol and total flavanol content as well as antiradical activity and reducing power. The highest content of such strong antioxidants as trans-resveratrol and tyrosol is in the standard wine (4.09 mg/l) and sur lies wine (29.16 mg/l) respectively. According to obtained data it is possible to say that grape processing and winemaking techniques really influence polyphenolic content. Especially long-term maceration with skins, seeds and stalk favors better extraction of polyphenols, thus increasing beneficial effect of white wines.

Key words: polyphenols, white wine, antioxidant activity, Malverina winegrape variety, kakhétian winemaking technology, sur lies.

Acknowledgments: The wines were made by Vinselekt Michlovsky a.s. The analyses were carried out in the laboratory of MUAf, Department of Viticulture and Viniculture, Faculty of Horticulture, Lednice, MUAf in Brno

INTRODUCTION

Nowadays the study of phenolic compounds and their content in food is of great interest due to their versatile capabilities, and above all their beneficial influence on human health (4). Modern human is affected by permanent stress that can lead to various dysfunctions in organism, therefore one have to investigate various means to prevent that state of beings. According to numerous research works winegrape phenolic compounds are able to decrease the level of cardiovascular diseases, and have bactericidal, fungistatic, antioxidant and vitamin properties (5). They also play an important role in enology. Phenolic compounds are responsible for the differences between white and red wines, such as the color and flavor (1, 13). These molecules come from various parts of the grape bunches and are extracted during winemaking, they also assist winegrape plant in standard development. The polyphenol content in white wines is about 1 - 10 g/l, and tannin content is about 1 - 100 mg/l, that is far less than in red wines (8). A lot of research works have been recently dedicated to trans-resveratrol content, especially in case of red wines, as it is considered to be a strong antioxidant (17, 18). The average content of trans-reveratrol in white wine is about 0,05 - 1,8 mg/l (14). Tyrosol is less known phenolic antioxidant, the principal source is olive oil (15). As an antioxidant, tyrosol can protect against injury due to oxidation. Recently tyrosol present in white wine is also shown to be cardioprotective (16). Due to different investigations the correlation between antiradical activity and reducing power and flavanol (catechin, epicatechin) content was found (19 - 23). However it is known that the grape processing and winemaking technologies can significantly influence polyphenolic content. It was shown that in order to increase polyphenols extraction on should prolong maceration time, thus the contact time with skins, seeds and stalks. It is natural that this process has to be regulated by taking into account the nature of certain phenols in different parts of the bunch, as well as their effect on sensory qualities of wine. One of the ancient winemaking technologies is kakhethian one. It is applied in Kakhethian region, Georgia, using earthwork amphorae "kvevri" dug into the ground, thus providing temperature regulation during maceration and fermentation. The principal feature of this technology is prolonged contact with must and stalk, because of which wine contain more polyphenolic and aromatic compounds. "Sur lies" technology has certain effect as well (13).

The present investigation was undertaken to determine the polyphenolic composition in wine from Malverina winegrape variety using different grape processing and winemaking technologies (kakhethian technology, sur lies and reducing – standard (standard).

MATERIALS AND METHODS

Wines were produced from Malverina winegrape variety that derive from complex interspecific crossing performed by the group of selectionists under guidance of Ing. Miloš Michlovský, CSc. Grape was harvested in September 2008 at the technological stage of maturity. The first sample was produced according to standard white winemaking technology (11, 12) in stainless steel tanks (5000 l), the grapes were destemmed, pressed, clarified, the cultured yeasts were added, the fermentation was made with temperature regulation at 18 °C in 10 days, 31.01.09 the second racking with filtration took place, the sulfur dioxide was added in the amount of 40 mg/l. The other two samples were made according to kakhethian winemaking technology. The fermentation with must was carried out in oak barrels

on 600 l. The second sample was pressed and left on yeast sediment (so called sur lies technology), the sulfur dioxide was added right before the bottling at the amount of 40 mg/l, the batonnage was made several times a year. The third sample wasn't pressed at the end of fermentation, and must was in wine all the year till bottling, the batonnage was performed several times a year, sulfur dioxide was added right before bottling at the amount of 20 mg/l.

All the chemicals needed for wine analysis such as acetonitrile (ACN) and methanol (MeOH) were supereluent of purity for HPLC. Catechin, epicatechin, vanillic acid, protocatechuic acid, p-hydroxybenzoic acid, gallic acid, syringic acid, p-coumaric acid, caffeic acid, ferulic acid, trans-resveratrol, p-dimethylaminocinnamaldehyde (DMACA), Folin-Ciocalteu reagent, 2,2-diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH), 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) and perchloric acid were from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO). The rest chemicals were bought from the local importer (Lachema, Penta).

The standard wine analysis was made according to official OIV methods (1990).

Spectrophotometric analysis (the determination of total phenols, total flavanols, antiradical activity and reducing power) was made according to Arnous et al. (2001).

The determination of individual phenolics by HPLC (phenol acids, catechin, epicatechin, trans-resveratrol and tyrosol), employing high pressure binar system Shimadzu LC-10A, system controller SCL-10Avp, two pumps LC-10ADvp, thermostat for Rheodyne: CTO-10ACvp, DAD detector: SPD-M10Avp, Software: LCsolution. The elution program used was as follows: column Alltech Alltima C18 3 μ m; 3 x 150mm with guard column 3 x 7.5mm, columns were maintained at 60 °C, the flow rate was 0,6 ml/min, eluent A was 15 mM HClO₄, eluent B was 15 mM HClO₄, 10 % MeOH, 50 % ACN. The elution program used was as follows: 0,00 min 2 % B; 20,00 min 26 % B; 30,00 min 45 % B; 35,00 min 70 % B; 37,00 min 100 % B; 38,00 min 100 % B; 38,01 min 0 % B; 39,99 min 0 % B; 40,00 min 2 % B; 45,00 min 2 % B. Total run time is 45 min. The determination of individual phenols was made using calibration curves of standard solutions. 200 nm: catechin and epicatechin, 260 nm: vanillic acid, protocatechuic acid, p-hydroxybenzoic acid, 280 nm: gallic acid, syringic acid, cis-resveratrol, cis-piceid; 310 nm: p-coumaric acid and its derivatives, trans-resveratrol, trans-piceid, 322 nm: caffeic acid and its derivatives, ferulic acid and its derivatives. The derivatives of hydroxycinnamates were calibrate using basic acids.

Differences between means were detrimed using Fischer's least significant difference test ($\alpha=0,05$).

RESULTS AND DISCUSSION

The results of standard wine analysis are presented in table 1. According to obtained data it is possible to say that maximum alcohol content was in kakhethian wine (13,04 %o). It is possible to explain the raised alcohol content by fermentation of all sugars that are usually eliminated by must separation. The reducing sugars were at their maximum in third sample as well (1,69 g/l). pH of the second and the third samples were significantly higher than pH of the first sample. The highest titratable acidity (5,91 g/l) was in the standard wine. The lower titratable acidity in two other samples is likely due to malo-lactic fermentation (MLF). The maximum level of volatile acidity is in the kakhethian wine (0,79 g/l). In accordance to obtained data MLF didn't take place in standard wine. Minimum level

of citric acid was in kakhnetian wine, that is the additional confirmation of MLF. The maximum level of glycerol was in sur lies wine (8,93 g/l), and the highest extract was in the first sample (24,2 g/l).

Tab. 1 Standard wine analysis

Indexes	Standard	Sur lies	Kakhnetian wine
Alcohol (%)	11,93	12,35	13,04
Reducing sugars, g/l	1,51	1,17	1,69
pH	3,13	3,22	3,23
Titrateable acidity (g/l of tartaric acid)	5,91	4,53	4,6
Volatile acidity (g/l acetic acid)	0,24	0,56	0,79
Malic acid, g/l	2,34	0,06	0,08
Lactic acid, g/l	0,74	1,91	1,97
Tartaric acid, g/l	2,34	2,32	2,27
Citric acid, g/l	0,17	0,08	0,01
Density	0,99358	0,99231	0,99178
Glycerol, g/l	8,93	9,24	8,92
Total extract, g/l	24,2	22,2	22,9
Sugar-free extract, g/l	22,7	21	21,2

Data on wine total phenols, total flavanols content, antiradical activity and reducing power are presented in table 2. Total phenols content (255 mg/l), total flavanols content (60,6 mg/l), antiradical activity (61,9 mg/l) and reducing power (37,4 mg/l) is the highest in kakhnetian wine, that can be explained by prolonged contact with skins and seeds, that favor extraction.

Tab. 2 Total phenols content, total flavanols content, antiradical activity and reducing power in wine

Index, mg/l	Standard	Sur lies	Kakhnetian wine
Total phenols (as gallic acid)	162,8	178,7	255
Total flavanols (as catechin)	11,2	11	60,6
Antiradical activity (as gallic acid)	25	32,7	61,9
Reducing power (as gallic acid)	28,5	33,4	37,4

Data on individual polyphenolic compounds are presented in table 3. Among benzoic acids gallic acid has the highest value (61,8 %), it is rather high in the third sample (24,07 mg/l), protocatechuic acid (19,6 %) prevails in the first sample (3,85 mg/l), and vanillic acid (11,7 %) prevails in the third sample as well (2,29 mg/l), syringic acid (1,8 %) and 4-hydroxybenzoic acid (5,2 %) prevail in the second (0,4 mg/l) and first samples (0,95 mg/l) respectively. Among cinnamic acids caftaric acid prevails (60,2 %), especially high content is in the third sample (43,96 mg/l), caffeic acid (10,9 %),

coumaric acid (3,3 %) and ferulic acid (5,2 %) prevail in the third sample (9,72; 3,13 и 4,24 mg/l respectively). Coutaric acid (8,1 %) and ferataric acid (7,8 %) prevail in the second sample (5,4 and 5,44 mg/l respectively). Ethyl caffeate (3,2 %), ethyl coumarate (1,1 %) and ethyl ferulate (0,3 %) prevail on the third sample (3,02; 0,87 and 0,25 mg/l respectively).

Catechin and epicatechin were major flavanoid compounds determined in wine. They reach maximum levels in the third sample (39,8 and 37,1 mg/l respectively).

The maximum levels of trans-resveratrol and tans-piceid are found in the first sample (4,09 and 0,99 mg/l respectively). And the highest concentration of tyrosol was found in the second sample (29,16 mg/l).

Tab. 3 Individual polyphenolic compounds in wine

Index, mg/l	Standard	Sur lies	Kakhetian wine
Gallic acid	1,41	4,35	24,07
Protocatechuic acid	3,85	2,8	2,79
4-hydroxybenzoic acid	0,95	0,78	0,77
Vanillic acid	1,26	2,08	2,29
Syrigic acid	0,18	0,4	0,31
Caffeic acid	5,43	6,41	9,72
Kaftaric acid (as caffeic acid)	35,94	39,39	43,96
Ethyl caffeate (as caffeic acid)	1,52	1,85	3,02
Coumaric acid	1,78	1,67	3,13
Coutaric acid (as coumaric acid)	5,32	5,4	5,29
Ethyl coumarate (as coumaric acid)	0,6	0,73	0,87
Ferulic acid	2,8	3,18	4,24
Ferataric acid (as ferulic acid)	5,27	5,44	4,72
Ethyl ferulate (as ferulic acid)	0,11	0,15	0,25
Trans-reveratrol	4,09	3,35	3,30
Catechin	6,67	8,03	39,8
Epicatechin	0,17	6,23	37,1
Trans-piceid (as free trans-resveratrol)	0,99	0,22	0,05
Tyrosol	25,29	29,16	21,06

CONCLUSIONS

According to our investigation maximum concentration of polyphenols, in particular gallic acid, catechin and epicatechin, that have beneficial influence on human health is in kakhethian wine. It is this wine that has maximum indexes of antiadical activity and reducing power. The indexes of total phenols, total flavanols and antiradical activity were higher in kakhethian wine than in standard wine (57, 441 and 48 % respectively). Such important indexes as catechin and epicatechin content were at their maximum in the third sample, they exceed standard on 497 and 21724 % respectively. The trans-resveratrol content is significantly higher than the average values of white wines. It reaches 4,09 mg/l in case of standard wine, it is more common for red wines. But these values are rather common for Malverina winegrape variety.

The results indicate that grape processing and winemaking technologies really influence polyphenolic composition. Prolonged contact with must favors better extraction of polyphenols that in turn increases beneficial qualities of white wine. The special attention has to be paid to kakhethian winemaking technology, as that wine is the best from the viewpoint of beneficial effect on human health.

REFERENCES

- Arnous A. et al. (2001): Effect of principal polyphenolic components in relation to antioxidant characteristics of aged red wines. *J.Agric. Food Chem.*, 49(12).
- Cavin, S., Romanelli&Fabre,S. (2004): Application de la mesure du pouvoir reducteur du vin par colorimetrie. *Revue des Oenologues*, 113 : 17-20.
- Cayla K., Cottureau Ph., Renard R. (2002): Estimation de la maturite phenolique des raisins rouges par la methode I.T.V. standard. *Revue Francaise d'OEnologie*, 193 : 10-16.
- Delmas, D., Malki, M.Ch., Latruffe, N. (2001): Studies of action mechanism of resveratrol, a polyphenol wine, on cell proliferation. *Bulletin de l'O.I.V.*, 74(839-840): 54-69.
- DiCastelnuovo, A.S., Rotondo, S., Donati, M.B., DeGaetano, G., Wine consumption and vascular risk: a meta-analysis, *Bulletin de l'O.I.V.*, 74, 2001, N,849-850, p.782-797
- Reynolds, A.G., Wardle, D.A., 1989: Impact of several canopy manipulation practices on growth, yield, fruit composition and wine quality of Gewurztraminer. *Am. J. Enol. Vitic* 40, 121-129.
- Ricardo-da-Silva,J.M., Laureano,O., Evolution of procyanidins in bunch stems during berry development, *Vitis*, 40, 2001, N1, p. 17-22
- Ribereau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdieu, D., *Traite d'oenologie*, DUNOD, Paris,2004, p.253-255
- Фрегони, М., Влияние различных типов почвы на виноградную лозу и качество вина, Физиология винограда и основы его возделывания, Том 1, Болгирская Академия Наук, София, 1981, стр. 53-64
- ISHS Acta Horticulturae 206:Symposium on Grapevine Canopy and Vigor Management, R. Pouget, Usefulness of rootstocks for controlling vine vigour and improving wine quality

Gawel, R., Ewart, A. J. W.; Cirami, R. (2000) Effect of rootstock on the composition, aroma and flavour intensity of wines from the scion Cabernet Sauvignon grown at Langhorne Creek, South Australia. *Australian and New Zealand Wine Industry Journal* 15: 67-73.

Ewart, A. J. W., Gawel, R., Thistlewood, S. P.; McCarthy, M. G. (1993) Effect of rootstock on the composition and quality of wines from the scion Chardonnay. *Australian and New Zealand Wine Industry Journal* 8: 270-274.

Mikiashvili, M., Kiknavelidze, J., Khositashvili, M., Favale, S., Ciolfi, G., Characterization of Georgian white grape wines made in earthwork amphorae

Samuel SM, Thirunavukkarasu M, Penumathsa SV, Paul D, Maulik N (2008.). "Akt/FOXO3a/SIRT1-Mediated Cardioprotection by n-Tyrosol against Ischemic Stress in Rat in Vivo Model of Myocardial Infarction: Switching Gears toward Survival and Longevity.". *J.Agric. Food. Chem*

Giovannini C, Straface E, Modesti D, Coni E, Cantafora A, De Vincenzi M, Malorni W, Masella R (1999). "Tyrosol, the major olive oil biophenol, protects against oxidized-LDL-induced injury in Caco-2 cells". *J. Nutr.* 129 (7): 1269–77

Miró-Casas E, Covas M, Fitó M, Farré-Albadalejo M, Marrugat J, de la Torre R (2003). "Tyrosol and hydroxytyrosol are absorbed from moderate and sustained doses of virgin olive oil in humans". *European journal of clinical nutrition* 57 (1): 186–90

Roy, H., Lundy, S., Resveratrol, Pennington Nutrition Series, 2005 No. 7

LeBlanc, Mark Rene (2005-12-13). "Cultivar, Juice Extraction, Ultra Violet Irradiation and Storage Influence the Stilbene Content of Muscadine Grapes (*Vitis Rotundifolia* Michx.)". <http://www.etsd.lsu.edu/docs/available/etd-01202006-082858/>. Retrieved 2007-08-15

Teisseder, P.L., Frankel, E.N., Waterhouse, A.L., Peleg, H., German, J.B. (1996): Inhibition of in vitro human LDL oxidation by phenolic antioxidants from grapes and wines. *J.Sci.Food Agric.*, 70: 55-61.

Simonetti, P., Pietta, P., Testolin, G. (1997): Polyphenol content and total antioxidant potential of selected Italian wines. *J.Agric.Food Chem.*, 45: 1152-1155.

Frankel, E.N., Waterhouse, A.L., Teissedre, P.L. (1995): Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins. *J.Agric.Food Chem.*, 43: 890-894.

Soleas, G.J., Tomlinson, G., Diamandis, E.P., Goldberg, D.M. (1997): Relative contributions of polyphenolic constituents to the antioxidant status of wines: Development of a predictive model. *J.Agric.Food Chem.*, 45: 3995-4003.

Sanchez-Moreno, C., Satue-Gracia, M.T., Frankel, E.N. (2000): Antioxidant activity of selected Spanish wines in corn oil emulsions. *J.Agric.Food Chem.*, 48: 5581-5587.

MICROBIAL CONTAMINATION OF FRUIT TEAS

Konečná H.¹, Kalhotka L.²

¹Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

²Department of Agrochemistry, Soil Science, Microbiology and Plant Nutrition, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xkonec13@mendelu.cz

ABSTRACT

This work is concerned with fruit teas' issues. Experimental part is orientated on specifying significant groups of microbes in samples of fruit teas, and observation of dependance on microbial count during the storing. Another part of the experiment includes comparing the tea microflora before and after the tea preparation. The samples were bought in the chain of department stores, they are fruit tea from ecological agriculture, fruit tea bags and strewn fruit tea. The results were evaluated tabular, graphically and with the statistical methods. Total microbial counts (TMC) reached 10²-10³ CFU/g, numbers of molds reached 10¹-10² CFU/g and numbers of sporulating bacteria were about 10¹ CFU/g. The strewn fruit tea embodied the minimal number of TMC, fungi and sporulating bacteria. All the samples complied with the legislative requirements during their whole storage life.

Key words: fruit teas, microbes, dried fruit

ÚVOD

Ovocný čaj je čaj ze sušeného ovoce a částí sušených povolených rostlin (uvedených ve Vyhlášce č. 330/1997 Sb., k zákonu č. 110/1997 Sb. o potravinách a tabákových výrobcích), kde podíl sušeného ovoce je vyšší než 50 % hmotnosti. Základ nápoje tvoří listy čajovníku, ale různé druhy ovoce a sušené lístky a květy různých bylin.

Výroba ovocného čaje začíná příjmem surovin, tzn. sušeného ovoce a léčivých rostlin, které se po vstupní kontrole skladují v klimatizovaných skladech. Na základě receptury se odváží jednotlivé suroviny a nařezou se na požadovanou velikost jednotlivých frakcí, následuje míchání v míchacím stroji (homogenizátoru) a dávkování aromát. Takto připravená směs se plní do jednotlivých balení, při výrobě ovocného čaje sypaného, nebo pomocí balicího stroje dávkuje do jednotlivých nálevových sáčků. Vše probíhá v uzavřeném prostředí, aby byla zaručena zdravotní nezávadnost ovocného čaje. Hotové čaje se potom převážejí do skladu, kde je nutné dodržet podmínky pro jejich skladování.

Ovocné čaje jsou konzervovány sušením, mají nízkou hodnotu vodní aktivity (kolem 0,6), takže nejsou vhodným prostředím pro mikroorganismy. Většina mikroorganismů se při tak nízké hodnotě vodní aktivity nemnoží, ale některé mohou přežít, a jestliže se dostanou do příznivých podmínek, mohou se pomnožit. Z hlediska počtů mikroorganismů v ovocných čajích platí v současné době norma ČSN 56 9609, která stanovuje mikrobiologická kritéria pro potraviny. Tato norma uvádí pro ovocné čaje limit pro *E. coli* 10^2 KJTJ u 5-ti vzorků, dále limit pro potenciálně toxigenenní plísň *Asp. flavus* 10^3 u 5-ti vzorků a *Salmonella* spp. nesmí být v čajích přítomná.

Protože jsou ovocné čaje stále více žádány a zejména u dětí jsou tyto čaje různých lahodných chutí velmi oblíbeny, je nutné, aby nebyly zdrojem nežádoucích mikroorganismů. Důležité je nutné vybírat kvalitní primární suroviny a kontrolovat průběh celého výrobního procesu, zabránit kontaminaci mikroorganismy a také výrobek správně skladovat. Problematikou mikrobiální kontaminace ovocných čajů se v současné době nezabývá mnoho publikací, proto je problematické výsledky této práce vyhodnotit formou diskuze.

MATERIÁL A METODIKA

Analyzovány byly tři vzorky ovocných čajů, zakoupené v tržní síti. Analýza vzorků byla prováděna v pravidelných intervalech po 14 dnech (tj. 0. den, 14., 28. a 42. den od otevření). Ovocné čaje byly po celou dobu skladovány v podmínkách, které odpovídají požadavkům, které uvádí Vyhláška č. 330/1997 Sb., tedy při teplotě kolem 25 °C a relativní vlhkosti do 75 %.

Vzorek č. 1 – Sladké chvíle – jemný ovocný čaj z ekologického zemědělství, výrobce Sluneční brána s.r.o. Vzorek č. 2 – Brusinka – ovocný čaj aromatizovaný, výrobce: Zlatý šálek. Vzorek č. 3 – Sladké plody - sypaný aromatizovaný ovocný čaj bez ibišku, výrobce: Oxalis, Slušovice.

Stanovovány byly tyto skupiny mikroorganismů: celkový počet mikroorganismů (CPM) na živné půdě PCA (Plate count agar), inkubace v termostatu při 30 °C po dobu 72 hodin. Plísňe a kvasinky na agaru s kvasničným extraktem, glukózou a chloramfenikolem (Chloramphenicol Glukose

Agar, inkubace v termostatu při 25 °C po dobu 120 hodin. Koliformní bakterie na selektivní půdě VRBG – agar s krystalovou violetí, neutrální červení, žlučí a glukózou, inkubace v termostatu při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin. Sporulující aerobní bakterie na živné půdě PCA (Plate count agar), inkubace v termostatu při 37 °C po dobu 72 hodin. Sporulující anaerobní bakterie na živné půdě PCA (Plate count agar), inkubace MICROBIOLOGY ANAEROBIC JAR (Merck, Germany) za použití vyvíječe anaerobní atmosféry ANAEROCULT A (Merck, Germany) při 37 °C po dobu 72 hodin.

Nálevové sáčky vzorků ovocných čajů (tzn. vzorek č. 1 a vzorek č. 2) byly kvantitativně převedeny do 200 ml destilované vody se skleněnými perlami, a vytřepány na třepačce po dobu 10 minut. Vzorek č. 3, jednalo se o sypaný ovocný čaj, byl navážen v množství dvou lžiček (= 6 g) a navážka byla kvantitativně převedena do 200 ml destilované vody s perlami a čaj byl také vytřepán na třepačce po dobu 10 minut. Následně bylo u všech tří vzorků provedeno desetinné ředění.

Při rozborech byla využívána kultivace na pevných půdách tj. plotnová metoda se zalitím inokula živnou půdou. Při stanovování sporulujících mikroorganismů se inokulum ve zkumavce nejprve zahřálo na teplotu vyšší než 80 °C po dobu 10 minut, aby byly zlikvidovány vegetativní formy mikroorganismů. Dále bylo inokulum zchlazeno a očkováno na Petriho misky, zalito živnou půdou. Po úplném zatuhnutí se plotny nechaly inkubovat v termostatu při daném čase a teplotě pro určitou skupinu mikroorganismů.

Analýza hotového čaje byla provedena celkem dvakrát. Nálevové sáčky vzorků ovocných čajů (tzn. vzorek č. 1 a vzorek č. 2) byly zality 250 ml právě vařící vody a oslazeny dvěma lžičkami cukru. U vzorku sypaného ovocného čaje (vzorek č. 3) byla zalita vroucí vodou navážka 6 gramů (tzn. 2 čajové lžičky) a čaj byl také oslazen dvěma lžičkami cukru. Vzorky ovocných čajů se nechaly volně vychladnout a za dvě hodiny byl proveden mikrobiologický rozbor. Postup byl stejný jako v předchozím bodě.

Po ukončení příslušné kultivace pro danou skupinu mikroorganismů byly spočítány na jednotlivých Petriho miskách kolonie mikroorganismů. Výsledné počty mikroorganismů pak byly uvedeny v KTJ/g (KTJ/ml). Bylo provedeno srovnání intervalů spolehlivosti jednotlivých skupin mikroorganismů, čímž jsme se snažili dokázat, zda dochází ke zvýšení (snížení) počtu mikroorganismů v závislosti na čase. Další statistickou analýzou byl Tukeyův test významnosti rozdílů, kterým jsme se snažili dokázat rozdíl v mikrobiologické kvalitě ovocného čaje z ekologického zemědělství, ovocného čaje porcovaného v běžném nálevovém sáčku a sypaného ovocného čaje. Dále jsme se snažili dokázat rozdíl v mikrobiologické kvalitě ovocného čaje před přípravou a hotového ovocného čaje, který byl oslazený a déle stojí.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Zjištěné hodnoty jsou uvedeny v tabulkách 1, 2 a 3 v hodnotách KTJ/g.

Tab. 1 Naměřené hodnoty jednotlivých skupin mikroorganismů u vzorku č. 1 v průběhu jeho skladování (v hodnotách KTJ/g)

Vzorek 1	CPM	Plísně	Sporulující bakterie		Koliformní bakterie
			aerobní	anaerobní	
0 den	$(3,64 \pm 0,08) \cdot 10^2$	$(6,00 \pm 0,23) \cdot 10^2$	$(0,20 \pm 0,02) \cdot 10^1$	negativní	negativní
14 den	$(3,09 \pm 0,06) \cdot 10^2$	$(3,64 \pm 0,10) \cdot 10^2$	$(0,20 \pm 0,01) \cdot 10^1$	negativní	negativní
28 den	$(2,72 \pm 0,04) \cdot 10^2$	$(3,63 \pm 0,04) \cdot 10^2$	$(0,56 \pm 0,04) \cdot 10^1$	negativní	negativní
42 den	$(1,08 \pm 0,06) \cdot 10^2$	$(0,36 \pm 0,01) \cdot 10^2$	$(0,20 \pm 0,08) \cdot 10^1$	negativní	negativní

Tab. 2 Naměřené hodnoty jednotlivých skupin mikroorganismů u vzorku č. 2 v průběhu jeho skladování (v hodnotách KTJ/g)

Vzorek 2	CPM	Plísně	Sporulující bakterie		Koliformní bakterie
			aerobní	anaerobní	
0 den	$(9,87 \pm 0,16) \cdot 10^2$	$(7,01 \pm 0,11) \cdot 10^2$	$(0,29 \pm 0,01) \cdot 10^1$	negativní	negativní
14 den	$(9,34 \pm 0,10) \cdot 10^2$	$(3,11 \pm 0,05) \cdot 10^2$	$(0,29 \pm 0,01) \cdot 10^1$	negativní	negativní
28 den	$(5,19 \pm 0,10) \cdot 10^2$	$(2,33 \pm 0,08) \cdot 10^2$	$(2,80 \pm 0,02) \cdot 10^1$	negativní	negativní
42 den	$(2,84 \pm 0,06) \cdot 10^2$	$(2,86 \pm 0,05) \cdot 10^2$	$(2,80 \pm 0,03) \cdot 10^1$	negativní	negativní

Tab. 3 Naměřené hodnoty jednotlivých skupin mikroorganismů u vzorku č. 3 v průběhu jeho skladování (v hodnotách KTJ/g)

Vzorek 3	CPM	Plísně	Sporulující bakterie		Koliformní bakterie
			aerobní	anaerobní	
0 den	$(5,00 \pm 0,12) \cdot 10^2$	$(2,27 \pm 0,09) \cdot 10^2$	negativní	negativní	negativní
14 den	$(3,53 \pm 0,09) \cdot 10^2$	$(0,46 \pm 0,04) \cdot 10^2$	negativní	negativní	negativní
28 den	$(2,61 \pm 0,08) \cdot 10^2$	$(0,23 \pm 0,04) \cdot 10^2$	negativní	negativní	negativní
42 den	$(0,68 \pm 0,02) \cdot 10^2$	$(0,23 \pm 0,02) \cdot 10^2$	negativní	negativní	negativní

Při experimentálním stanovení nebyly u žádného vzorku detekovány koliformní bakterie, které mají v potravinářské mikrobiologii význam především jako indikátorové mikroorganismy. Podle BURDYCHOVÉ, SLÁDKOVÉ (2007) jsou koliformní bakterie indikátory sekundární kontaminace potravin a správné výrobní a hygienické praxe. Maximální přípustné množství pro koliformní bakterie v ovocných čajích je 10^3 KTJ, jak uvádí dříve platná Vyhláška MZe č. 132/2004 Sb., o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení.

Dále nebyly stanoveny žádné anaerobní sporulující bakterie, které by se mohly do ovocných čajů dostat zejména z půdy, jak uvádí TOMÁNKOVÁ et al., (2006). Nebyly detekovány ani kvasinky.

Závislost počtu mikroorganismů ve vzorcích ovocných čajů v průběhu skladování

U analyzovaných vzorků čajů byl zjištěn celkový počet mikroorganismů (CPM) výrazně vyšší u vzorku č. 2, tedy ovocného čaje „Brusinka“. Vyšší počet mikroorganismů u tohoto čaje byl zaznamenán po celou dobu skladování. Z výsledků jasně vyplývá, že v průběhu doby skladování v suchém, čistém prostředí bez přítomnosti světla nebyl zaznamenán nárůst mikroorganismů, naopak se jejich počet snižuje. Podle HRUBÉHO (2000) jsou mikroorganismy v sušených potravinách během skladovací doby redukovány, proto se sušení označuje jako metoda s účinky mikrobistatickými (zastavuje činnost mikrobů) a částečnými účinky mikrobicidními (ničí mikroby). Celkový počet mikroorganismů ani u jednoho vzorku nepřesahuje 10^3 KTJ/g, přípustné množství není legislativně

stanoveno. Celkový počet mikroorganismů v hotovém nápoji je výrazně ovlivněn zalitím horkou vodou při přípravě čaje.

Podle normy ČSN 56 9609 je v ovocných čajích stanoven limit pro potenciálně toxigenní plísně *Asp. flavus* 10^3 u 5-ti vzorků, přičemž u dvou vzorků z pěti je přípustné množství 10^4 KTJ/g. Dříve platná vyhláška č. 132/2004 Sb., o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení, stanovovala u ovocných čajů pro plísně přípustnou hodnotu 10^4 KTJ/g. Ani jeden z analyzovaných vzorků čajů nedosahuje maximální přípustné hodnoty pro plísně, navíc množství plísní nepřesahuje hodnotu 10^3 KTJ/g. Množství plísní je během doby skladování výrazně redukováno, což samozřejmě souvisí s podmínkami skladování. Nejvyšší počet plísní byl zaznamenán u vzorku č. 2 (čaje „Brusinka“) a u vzorku č. 1 (čaje z ekologického zemědělství). Téměř o polovinu nižší počet plísní byl u čaje sypaného, což poukazuje na jeho výbornou kvalitu. Plísně jsou považovány za největší mikrobiální nebezpečí, jak u sušeného ovoce a léčivých rostlin, ze kterých se ovocné čaje vyrábí, tak v samotných ovocných čajích. Některé plísně mohou produkovat mykotoxiny, které mají kumulativní charakter a při dlouhodobém příjmu mohou ohrozit zdraví konzumentů.

Aerobní sporulující bakterie byly experimentálně stanoveny pouze u vzorku č.1 a u vzorku č. 2. S největší pravděpodobností se jedná o bakterie, které jsou ubikvitární a mohly se dostat do čajů ze vzduchu, nebo z povrchu ovoce, jak uvádí TOMÁNKOVÁ et. al, (2006). U obou pozitivních vzorků je prokázán nárůst počtu aerobních sporulujících bakterií během 42 dnů skladování. Největší nárůst je zaznamenán u ovocného čaje „Brusinka“. V případě ovocného čaje č. 1 došlo nejdříve k mírnému vzrůstu počtu sporulujících aerobních mikroorganismů a na konci experimentu došlo k poklesu počtu aerobních sporulujících mikroorganismů. Tyto mikroorganismy v nepříznivém prostředí vytvoří spory, které nezníčí ani vroucí voda, kterou se čaj zalévá. Rizikem by pak mohlo být pití již zchlazeného, déle stojícího, oslazeného čaje, který by mohl být dobrým prostředím pro rozvoj mikroorganismů.

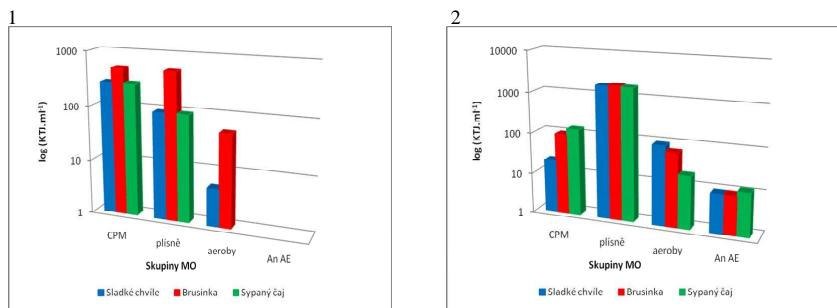
Všechny tři vzorky ovocných čajů byly skladovány za stejných podmínek, které odpovídají legislativním požadavkům pro skladování čajů. Lze tedy předpokládat, že rozdíly v počtech mikroorganismů jsou dány mikrobiologickou kvalitou jednotlivých vzorků, která souvisí s kvalitou suroviny a dodržováním GMP a GHP při výrobě ovocných čajů. Při porovnání jednotlivých skupin mikroorganismů u všech vzorků lze za nejkvalitnější ovocný čaj označit ovocný čaj sypaný, což potvrzuje obecné mínění spotřebitelů.

Mikrobiologická analýza hotového, oslazeného, vychladlého čaje

Tab. 4 Naměřené hodnoty jednotlivých skupin mikroorganismů u vzorků ovocných čajů (v hodnotách KTJ/ml)

	CPM	Plísně	Sporulující bakterie		Kolifor. bakterie
			Aerobní	Anaerobní	
Sladké chvíle	$(2,0 \pm 0,01) \cdot 10^1$	$(1,75 \pm 0,08) \cdot 10^3$	$(9,0 \pm 0,01) \cdot 10^1$	$(0,90 \pm 0,01) \cdot 10^1$	negativní
Brusinka	$(9,6 \pm 0,01) \cdot 10^1$	$(1,84 \pm 0,06) \cdot 10^3$	$(6,5 \pm 0,08) \cdot 10^1$	$(0,90 \pm 0,01) \cdot 10^1$	negativní
Sypaný čaj	$(1,35 \pm 0,06) \cdot 10^2$	$(1,75 \pm 0,06) \cdot 10^3$	$(2,0 \pm 0,01) \cdot 10^1$	$(1,15 \pm 0,01) \cdot 10^1$	negativní

Graf 1 Srovnání CPM, počtů kvasinek a plísňí, aerobních sporulujících bakterií a anaerobních sporulujících bakterií ve vzorcích ovocných čajů před (1) a po(2) přípravě ovocného čaje ve log (KTJ/ml⁻¹)



Z výsledků a grafu vidíme, jak se změnila mikroflóra ovocných čajů po jejich přípravě, oslazení a volném vychladnutí cca 2 hodiny. Horká voda, kterou se čaj zalévá, výrazně zredukovala celkové aerobní mikroorganismy (CPM) a to u všech vzorků, přibližně o jeden řád.

K největším změnám došlo v počtu plísňí, kdy před přípravou ovocného čaje se jejich počet pohyboval řádově ve stovkách (10^2) KTJ a po přípravě čaje došlo k jejich výraznému zvýšení až ke dvěma tisícům ($2 \cdot 10^3$). Podle ŠIMŮNKA (2004) mohou přelití horkou vodou vydržet zejména termorezistentní plísně, např. rod *Byssoschlamys*. Termorezistentní plísně výrazně odolávají teplotám blízkým bodu varu, vydrží i přípravu čaje a proniknou do konečného výrobku.

Nedošlo k výraznému nárůstu aerobních sporulujících bakterií, pouze u vzoru ovocného čaje sypaného se před jeho přípravou neprokázala přítomnost aerobních sporulujících bakterií, kdežto po přípravě ovocného čaje bylo detekováno 11 KTJ/ml. Vzhledem k tomu, že rozbor se prováděl až 42. den po otevření, je více než pravděpodobné, že došlo v případě sypaného čaje ke kontaminaci těmito ubikvitárními mikroorganismy během manipulace.

Anaerobní sporulující bakterie nebyly před přípravou ovocných čajů detekovány u žádného ze vzorků. Naproti tomu po přípravě ovocných čajů byly tyto mikroorganismy stanoveny a to v množství kolem 10 KTJ/ml u všech vzorků ovocných čajů, jak je vidět z grafu 6. Přelití čaje horkou vodou při jeho přípravě, oslazení a pozvolné vychladnutí zřejmě způsobilo „oživení“ spor anaerobních bakterií. Nicméně se nejedná o velké množství.

U všech vzorků čajů byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl v počtech mikroorganismů před přípravou ovocného čaje a po jeho přípravě. Výjimkou bylo množství CPM u čaje sypaného, kdy rozdíl nebyl statisticky průkazný. Přesto je na místě jednoznačně doporučit konzumaci ovocného čaje co nejrychleji po uvaření

ZÁVĚR

Analyzovány byly tři vzorky ovocných čajů. Jednalo se o vzorek ovocného čaje vyrobeného z ekologického zemědělství (vzorek č. 1), vzorek ovocného čaje v klasickém nálevovém sáčku (vzorek č. 2) a vzorek sypaného ovocného čaje (vzorek č. 3). U těchto vzorků byly

stanoveny CPM, kvasinky a plísňe, koliformní bakterie a sporulující bakterie a to jak aerobní, tak anaerobní.

První část experimentálního stanovení byla zaměřena na posouzení změn počtů mikroorganismů v průběhu skladování ovocných čajů. Ovocné čaje byly skladovány po dobu 42 dnů od jejich otevření v suchém prostředí bez přístupu světla při podmínkách stanovených legislativou. V analyzovaných vzorcích ovocných čajů nebyly zjištěny vysoké počty mikroorganismů a během skladování se jejich počet snižoval.

Všechny vzorky vyhovovali požadavkům legislativy a to po celou dobu skladování. Současná legislativa vychází z Nařízení ES č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny, toto nařízení však blíže nespecifikuje mikrobiologická kritéria pro ovocné čaje. Z hlediska počtů mikroorganismů platí v současné době norma ČSN 56 9609, která stanovuje mikrobiologická kritéria pro potraviny. Tato norma uvádí pro ovocné čaje limit pro *E. coli* 10^2 KTJ u 5-ti vzorků, dále limit pro potenciálně toxigenní plísň *Asp. flavus* 10^3 u 5-ti vzorků a *Salmonella spp.* nesmí být v čajích přítomná.

Mnoho výrobců ovocných čajů vychází z dříve platné Vyhlášky č. 132/2004 Sb., o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení, která platila v minulosti a uváděla přípustnou hodnotu pro koliformní bakterie je 10^3 KTJ, a pro plísň 10^4 KTJ.

Počty koliformních bakterií a plísni stanovené v této práci, vyhovují předepsaným limitům a všechny vzorky tedy splňují limit mikrobiologické nezávadnosti.

V práci bylo také stanoveno, zda existuje rozdíl mezi jednotlivými vzorky v mikrobiologické kvalitě a to 28. den od otevření. Protože byly všechny tři čaje skladovány za stejných podmínek, lze tedy předpokládat, že rozdíly v počtech mikroorganismů jsou dány kvalitou suroviny a dodržováním GMP a GHP při výrobě ovocných čajů. Nejmenší počet CPM, plísni a sportující bakterii vykazoval ovocný čaj sypaný.

Další část experimentu zahrnuje porovnání mikroflóry ovocných čajů před jejich přípravou a po přípravě. Zatímco celkové počty mikroorganismů výrazně zredukuje zalití horkou vodou použitou pro přípravu čaje, počet plísni ve vychlazeném a oslazeném čaji se výrazně zvýšil. Působení horké vody mohou přežívat zejména termorezistentní plísňe a sporulující bakterie. Rizikem pro konzumenta by mohlo tedy být pití vychlazeného, oslazeného nápoje, stojícího po delší dobu.

LITERATURA

BURDYCHOVÁ, R., SLÁDKOVÁ, P. Mikrobiologická analýza potravin. 1. vyd. Brno : Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2007. 218 s. ISBN 978-80-7375-116-6.

GÖRNER, F., VALÍK, L. *Aplikovaná mikrobiologiapoživatin*. 1. vyd. Bratislava : Malé centrum, 2004. 528 s. ISBN 80-967064-9-7.

HRUBÝ, S. Sušení jako šetrný způsob konzervace. *Výživa a potraviny*. 2000, č. 2, s. 23.

MALÍŘ, F., OSTRÝ, V. Vlákňité mikromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka. 1. vyd. Brno : Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotních oborů, 2003. 349 s. ISBN 80-7013-395-3.

PIECKOVÁ, E. Termorezistentní mikromycety a požívatinny [online]. 2008 [cit. 2009-04-20]. Dostupný z WWW: <<http://www.chpr.szu.cz/zpravy/P199/Priloha99.htm>>.

ŠIMŮNEK. Plísňe a mykotoxiny [online]. 2004 [cit. 2009-04-20]. Dostupný z WWW: <http://www.med.muni.cz/dokumenty/pdf/plisne_a_mykotoxiny.pdf>.

ŠPELINA, V, OSTRÝ, V, JECHOVÁ, M. Mikrobiologické kontaminanty v potravinách [online]. 2004 [cit. 2007-03-02]. Dostupný z WWW: <http://www.chpr.szu.cz/vedvybor/dokumenty/studie/mikro_2003_2_deklas.pdf>.

TOMÁNKOVÁ, E., RADA, V., KILLER, J. Potravinářská mikrobiologie. 1. vyd. Praha : ČZU, 2006. 168 s. ISBN 80-213-1583-0.

ČSN ISO 6610 Všeobecné pokyny pro stanovení celkového počtu mikroorganismů.

ČSN ISO 7954 Všeobecné pokyny pro stanovení počtu kvasinek a plísňů.

ČSN 56 9609, která stanovuje pravidla správné výrobní praxe a mikrobiologická kritéria pro potraviny a principy stanovení a aplikace.

Nářízení Komise (ES) č. 2073/2005, o mikrobiologických kritériích pro potraviny.

Vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 132/2004, o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení.

Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 330/1997 Sb., pro čaj, kávu a kávoviny.

MICROFLORA OF KETCHUP

Kozelková M.¹, Kalhotka L.²

¹Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

²Department of Agrochemistry, Soil Science, Microbiology and Plant Nutrition, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xkozelk2@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this work was assignment of microflora in ketchup and its growth in a process of storage under different conditions (room temperature, in refrigerator).

In selected ketchups purchased in the commercial network, were determined, during storage (i. e. 0. day, 14. day, 28. day, 42. day, 56. day, 70. day after opening) using plate method these groups of micro-organisms: total number of micro-organisms, lactic fermentation bacteria (LFB), coliform bacteria, sporulating bacteria, yeasts and fungies.

In any of the examined samples there were not detected any coliform bacterium, LFB, anaerobic sporulating bacteria and yeasts. The results of present categories of the micro-organisms were compared with appropriate legislation and marked as unexceptionable for all the time of storage.

Using statistical methods it was proved that for the ketchup samples filled in glass containers (ASk, BSk) occurred during storage to increase the number of all groups of micro-organisms. For ketchup samples filled into plastic containers (AP, BP) occurred to increasing the number of micro-organisms as a function of time only at the sporulated aerobic micro-organisms, while the total number of micro-organisms and mold during storage decreased. With the help of Tukey test it was proved that in most samples stored in the refrigerator there was a lower number of micro-organisms than in the same samples stored at room temperature.

Key words: micro-organisms, tomato purée, ketchup

ÚVOD

V průmyslovém měřítku se kečup vyrábí ředěním zahuštěného rajčatového protlaku o koncentraci refraktometrické sušiny 28 až 30 %. Rajčatový protlak se smíchá ve vhodné nádobě s vodou, ochucovadly, potřebnými aditivy a zahušťuje na požadovanou refraktometrickou sušinu. Po zahuštění následuje tepelné ošetření směsi při teplotě okolo 80 °C. Další fáze výroby se liší, podle plnění kečupů do různých typů spotřebitelských obalů. Zatímco kečupy plněné do skleněných obalů se konzervují opětovným tepelným ošetřením při teplotě okolo 90 °C, výrobky v plastu se již tepelně neošetřují, protože jsou stabilizovány chemickou konzervací (DOBLÁŠ, 2004).

Rajčatový kečup je považován za velmi stabilní produkt. Nízké pH získané většinou od solí kyseliny benzoové a tepelná sterilace směsí během výroby přispívá k jeho stálosti (BJORKROTH, et. al 1996). Kečupy s hodnotami pH 3,7 až 4,6 se kazí zřídka, ale jejich kažení není vyloučené. Za studena vyrobené produkty mohou podléhat kažení působením bakterií octového či mléčného kvašení, nebo působením kvasinek a plísní. V produktech vyrobených a plněných za horka se na kažení podílí *Bacillus coagulans*, *Bacillus stearothermophilus* atd. (GÖRNER, VALÍK, 2004). V dřívě platné vyhlášce 132/2004 Sb., byla stanovena přípustná hodnota pro tyto mikroorganismy: CPM 10^4 KTJ/ml, kvasinky 10^4 KTJ/ml a *Escherichia coli* 10 KTJ/ml kečupu. Nařízení Evropské unie 2073/2005 limity pro mikroorganismy v kečupu neuvádí. Mikrobiologické požadavky na jakost kečupů jsou uvedené v normě ČSN 56 9609, která stanovuje pravidla správné výrobní a hygienické praxe a uvádí mikrobiologická kritéria pro potraviny a principy stanovení a aplikace. Norma uvádí limity pro koliformní bakterie, koagulázopozitivní stafylokoky a laktobacily, jejichž limity jsou následující: Aby mohl být výrobek prohlášen za vyhovující, smí být přítomnost koliformních bakterií v pěti vyšetřených vzorcích max. 50 KTJ/ml, přičemž ve dvou z pěti vzorků může být max. $5 \cdot 10^2$ KTJ/ml; koagulázopozitivních stafylokoků v pěti vyšetřených vzorcích ≤ 150 KTJ/ml, přičemž v jednom z pěti vzorků může být max. $2 \cdot 10^2$ KTJ/ml; laktobacily: v pěti vyšetřených vzorcích se připouští 10^3 KTJ/ml, přičemž maximálně ve dvou z pěti vzorků může být množství 10^4 KTJ/ml.

MATERIÁL A METODIKA

K mikrobiologickým analýzám byly při každém rozboru použity čtyři vzorky rajčatového kečupu, pocházející z běžně dostupné obchodní sítě. Jednalo se o 2x dva stejné vzorky, které byly skladovány za různých podmínek. Vzorek označený písmenem A byl skladovaný při pokojové teplotě, vzorek označený písmenem B byl skladovaný v lednici.

Vzorek ASK a BSK – Kečup jemný ve skleněném obalu. Vzorek AP, BP – Kečup jemný v plastovém obalu. Výrobce: Neli a.s., Na Hraničkách 589/34, Vyškov 682 01.

Při rozbořech byla použita kultivace pomocí plotnové metody, při níž byly stanovovány tyto skupiny mikroorganismů: celkový počet mikroorganismů (CPM) na PCA (Biokar Diagnostics, France) při 30 °C za 72 h. Bakterie mléčného kysání (BMK) na MRS agaru (Biokar Diagnostics, France) při 37 °C za 72 h. Koliformní bakterie (Koli) na VRBL (Biokar Diagnostics, France) při 37 °C za 24 h. Aerobní sporulující bakterie na PCA (Biokar Diagnostics, France) při 37 °C za 72 h. Anaerobní sporulující bakterie na PCA (Biokar Diagnostics, France) při 37 °C za 24h v Anaerostatu s vyvíječem anaerobní

atmosféry Anaerocult A (Merck, Německo). Kvasinky a plísňe na CGA (Biokar Diagnostics, France) při 25°C za 120h. Po ukončení kultivace byly na jednotlivých Petriho miskách odečteny narostlé kolonie a výsledek vyjádřen v KTJ na ml.

Dále bylo provedeno srovnání intervalů spolehlivosti KTJ/ml jednotlivých skupin mikroorganismů, čímž jsme se snažili prokázat, zda dochází ke zvýšení (snížení) počtu mikroorganismů v závislosti na čase se zvolenou pravděpodobností 95 % ($P < 0,05$). Pomocí Tukeyova testu významnosti rozdílů, k jehož vyhodnocení jsme použili program UNISTAT verze 5.5 pro Microsoft Windows jsme testovali průkaznost rozdílů (na hladině významnosti 95%) mezi stejnými vzorky kečupů, které byly skladované za různých podmínek (pokojová teplota, lednice).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Výsledky mikrobiologických vyšetření jednotlivých vzorků jsou vyjádřeny pomocí aritmetického průměru spolu s intervalem spolehlivosti a uvedeny v **tabulkách 1 - 4** v hodnotách KTJ/ml.

Tab. 1 Skupiny mikroorganismů v průběhu skladování výrobku ASk (rajčatový kečup ve skleněném obalu skladovaný při pokojové teplotě), vyjádřeny pomocí aritmetického průměru s intervalem spolehlivosti.

ASk						
Počet dnů	KTJ/ml					
	CPM	Sp.aeroby	Plísňe	BMK	Koli	Sp.anaeroby
0	$(0,45 \pm 0,03) \cdot 10^1$	negativní	Negativní	negativní	negativní	negativní
14	$(1,36 \pm 0,09) \cdot 10^1$	$(2,63 \pm 0,03) \cdot 10^1$	Negativní	negativní	negativní	negativní
28	$(1,81 \pm 0,11) \cdot 10^1$	$(4,90 \pm 0,20) \cdot 10^1$	Negativní	negativní	negativní	negativní
42	$(2,72 \pm 0,34) \cdot 10^1$	$(1,34 \pm 0,14) \cdot 10^2$	$(1,00 \pm 0,12) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní
56	$(1,09 \pm 0,12) \cdot 10^2$	$(1,81 \pm 0,14) \cdot 10^2$	$(2,27 \pm 0,16) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní
70	$(4,68 \pm 0,32) \cdot 10^2$	$(5,06 \pm 0,43) \cdot 10^2$	$(2,72 \pm 0,14) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní

Tab. 2 Skupiny mikroorganismů v průběhu skladování výrobku BSk (rajčatový kečup ve skleněném obalu skladovaný v lednici), vyjádřeny pomocí aritmetického průměru s intervalem spolehlivosti.

BSk						
Počet dnů	KTJ/ml					
	CPM	Sp.aeroby	Plísňe	BMK	Koli	Sp.anaeroby
0	$(0,45 \pm 0,03) \cdot 10^1$	negativní	Negativní	negativní	negativní	negativní
14	$(0,90 \pm 0,20) \cdot 10^1$	negativní	Negativní	negativní	negativní	negativní
28	$(1,36 \pm 0,16) \cdot 10^1$	$(4,50 \pm 0,13) \cdot 10^1$	$(0,45 \pm 0,01) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní
42	$(1,55 \pm 0,21) \cdot 10^1$	$(9,19 \pm 0,45) \cdot 10^1$	$(1,50 \pm 0,14) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní
56	$(8,10 \pm 0,73) \cdot 10^1$	$(2,27 \pm 0,08) \cdot 10^2$	$(1,81 \pm 0,14) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní
70	$(2,27 \pm 0,05) \cdot 10^2$	$(3,44 \pm 0,04) \cdot 10^2$	$(2,27 \pm 0,27) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní

Tab. 3 Skupiny mikroorganismů v průběhu skladování výrobku AP (rajčatový kečup v plastovém obalu skladovaný při pokojové teplotě), vyjádřeny pomocí aritmetického průměru s intervalem spolehlivosti.

AP						
Počet dnů	KTJ/ml					
	CPM	Sp.aeroby	Plísně	BMK	Koli	Sp.anaeroby
0	$(0,45 \pm 0,06) \cdot 10^1$	negativní	$(1,2 \pm 0,03) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní
14	$(0,91 \pm 0,10) \cdot 10^1$	$(1,29 \pm 0,14) \cdot 10^1$	Negativní	negativní	negativní	negativní
28	$(1,40 \pm 0,05) \cdot 10^1$	$(2,31 \pm 0,18) \cdot 10^1$	$(2,27 \pm 0,12) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní
42	$(2,27 \pm 0,14) \cdot 10^1$	$(4,55 \pm 0,63) \cdot 10^1$	$(0,90 \pm 0,08) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní
56	$(0,90 \pm 0,09) \cdot 10^1$	$(1,73 \pm 0,20) \cdot 10^2$	Negativní	negativní	negativní	negativní
70	$(0,37 \pm 0,03) \cdot 10^1$	$(2,56 \pm 0,28) \cdot 10^2$	$(0,90 \pm 0,08) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní

Tab. 4 Skupiny mikroorganismů v průběhu skladování výrobku BP (rajčatový kečup v plastovém obalu skladovaný v lednici), vyjádřeny pomocí aritmetického průměru s intervalem spolehlivosti.

BP						
Počet dnů	KTJ/ml					
	CPM	Sp.aeroby	Plísně	BMK	Koli	Sp.anaeroby
0	$(0,45 \pm 0,05) \cdot 10^1$	negativní	Negativní	negativní	negativní	negativní
14	$(0,85 \pm 0,09) \cdot 10^1$	$(0,82 \pm 0,12) \cdot 10^1$	$(0,50 \pm 0,06) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní
28	$(0,95 \pm 0,11) \cdot 10^1$	$(1,70 \pm 0,23) \cdot 10^1$	$(1,36 \pm 0,12) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní
42	$(0,51 \pm 0,06) \cdot 10^1$	$(3,60 \pm 0,40) \cdot 10^1$	$(0,45 \pm 0,03) \cdot 10^0$	negativní	negativní	negativní
56	negativní	$(8,97 \pm 0,15) \cdot 10^1$	Negativní	negativní	negativní	negativní
70	$(0,25 \pm 0,04) \cdot 10^1$	$(1,47 \pm 0,18) \cdot 10^2$	Negativní	negativní	negativní	negativní

Při mikrobiologických analýzách nebyly v žádném ze zkoumaných vzorků detekovány: koliformní bakterie, bakterie mléčného kvašení (BMK), anaerobní sporulující bakterie a kvasinky.

Závislost počtu mikroorganismů na čase v průběhu skladování u výrobků: ASK, BSk, AP, BP

Pomocí srovnání intervalů spolehlivosti KTJ/ml jednotlivých skupin mikroorganismů bylo dokazováno, zda dochází k jejich zvýšení nebo snížení v průběhu skladování se zvolenou pravděpodobností 95 % ($P < 0,05$).

Celkový počet mikroorganismů (CPM)

Pomocí statistických metod bylo prokázáno, že u vzorků kečupů plněných do skleněných obalů (ASK, BSk), docházelo ke zvýšení počtu CPM v závislosti na čase ($P < 0,05$). Nejvyšších počtů mikroorganismů bylo dosaženo mezi 42. a 70. dnem skladování (viz. tab. 1 – 4). Jako nejvíce kontaminovaný vzorek se jevil ASK, který 70. den od otevření vykazoval počty $4,68 \cdot 10^2$ KTJ/ml. Růst mikroorganismů byl pravděpodobně způsoben porušením hermetičnosti výrobku.

U vzorků kečupů v plastových obalech (AP, BP) naopak docházelo ke snížení počtu mikroorganismů v závislosti na čase ($P < 0,05$). V průběhu skladování nejprve docházelo k nárůstu CPM, ale od 42. dne skladování se jejich počet začal výrazně snižovat. Pravděpodobně to bylo díky přítomnosti konzervační

látky - sorbanu draselnému, který nahradil porušenou bariéru hermetičnosti v tzv. bariérovém efektu konzervace.

Aerobní sporulující bakterie (Aeroby)

Nízké pH výrobku pravděpodobně velice dobře snáší i aerobní sporulující bakterie, jejichž počet byl ze stanovovaných skupin mikroorganismů na konci skladování nejvyšší (viz **tab. 1 - 4**).

Statistickými metodami jsme prokázali, že u všech analyzovaných vzorků docházelo ke zvýšení počtu aerobních sporulujících mikroorganismů v závislosti na čase ($P < 0,05$). Největší nárůst byl opět zaznamenán u vzorku ASK, který dosahoval hodnot $5,06 \cdot 10^2$ KTJ/ml. Podle BEDNÁŘE et al. (1996) aerobní sporulující mikroorganismy tvoří za nepříznivých podmínek tzv. endospory, které odolávají tepelnému ošetření kečupů při výrobě i přítomnosti konzervačních látek, které jsou proti nim neúčinné. Počty aerobních sporulujících bakterií nejsou legislativně omezené, ale jejich výskyt by mohl způsobit pozdější vady výrobků v průběhu skladování, jako např.: plynuprosté kysnutí nebo kysnutí sterilovaných výrobků z rajčat.

Všechny vzorky zkoumaných kečupů vykazovaly 0. den po otevření nulové hodnoty KTJ/ml. V průběhu skladování došlo pravděpodobně k vyklíčení přítomných spor a nárůst Aerobů se zvýšil na desítky až stovky KTJ/ml.

Plísně

Z **tab. 1 - 4** je zřejmé, že rajčatový kečup nebyl úplně prostý plísní, byť se jejich množství pohybovalo řádově v jednotkách KTJ/ml. Statistickými metodami bylo prokázáno, že u obou vzorků kečupu ve skleněných obalech (ASK, BSK) dochází ke zvýšení počtu plísní v závislosti na čase ($P < 0,05$). Největší nárůst byl zaznamenán u vzorku ASK od 56. do 70. dne skladování, kdy hodnoty narůstaly od 2,27 k 2,72 KTJ/ml. Jejich růst byl pravděpodobně způsoben již jednou zmiňovaným porušením hermetičnosti obalu v tzv. bariérovém efektu konzervace.

U vzorků kečupů v plastových obalech (AP, BP) naopak docházelo ke snížení počtu mikroorganismů v závislosti na čase ($P < 0,05$). V průběhu skladování nejprve došlo u obou vzorků k prudkému nárůstu plísní mezi 14 a 28. dnem, ale od 28. dne se jejich počet začal výrazně snižovat až dosáhl nulového počtu. Za jejich inaktivaci mohla s největší pravděpodobností opět přítomnost sorbanu draselného. Počty plísní nejsou legislativně omezené, ale jejich výskyt by mohl opět způsobit pozdější vady výrobků v průběhu skladování. V kečupu by se také mohli vyskytnout mykotoxiny pocházející od přítomných plísní, které nebyly při tepelném ošetření zničeny.

Prokázání rozdílu mezi stejnými výrobky skladovanými za různých podmínek (pokojevá teplota, lednice)

Výsledky testu jednoznačně potvrdily, že existuje statisticky průkazný rozdíl v počtu mikroorganismů u stejných vzorků kečupů skladovaných za různých podmínek. Můžeme tedy říci, že teplota v lednici by mohla být další bariérou proti zvyšujícímu se počtu mikroorganismů v otevřeném kečupu během skladování. Nė nadarmo se tedy na etiketách kečupů uvádí: „Skladujte při teplotách do 25 °C, po otevření uchovejte v chladu do 10 °C“.

ZÁVĚR

Z výsledků mikrobiologických analýz a statistických testů lze odvodit následující závěry:

- V žádném ze zkoumaných vzorků nebyly detekovány koliformní bakterie, BMK, anaerobní sporulující bakterie a kvasinky.
- V den otevření byly počty mikroorganismů téměř u všech vzorků kečupů nulové, nebo se pohybovaly řádově v jednotkách KTJ/ml.
- U vzorků kečupů ve skleněných obalech (ASk, BSk) došlo během skladování ke zvýšení CPM, Aerobů a plísňí. Nejvyšší počty byly zaznamenány u Aerobů ve vzorku skladovaném při pokojové teplotě, kdy se hodnota pohybovala okolo $5,06 \cdot 10^2$ KTJ/ml.
- U vzorků kečupů v plastových obalech (AP,BP) došlo ke zvýšení počtu pouze Aerobů a to na hodnotu $2,56 \cdot 10^2$ KTJ/ml u vzorku skladovaném při pokojové teplotě. Naopak CPM a plísň se v průběhu skladování snížily k nulovým hodnotám. Ze zjištěných výsledků lze kladněji hodnotit kečup v plastovém obalu, který obsahoval výrazně nižší počty mikroorganismů v průběhu skladování než kečup ve skleněném obalu. Tento rozdíl byl s největší pravděpodobností způsoben použitím chemické konzervace pomocí soli kyseliny sorbové a to sorbanu draselného.
- Skladované vzorky kečupů v lednici vykazovaly téměř ve všech případech nižší počty mikroorganismů, než stejné vzorky skladované při pokojové teplotě. Můžeme proto říci, že chladírenské teploty mají nepříznivý vliv na růst mikroorganismů, a proto by měly dodržovat skladovací podmínky uvedené na obale. Pokud budeme chtít skladovat otevřený kečup ve skleněném obalu, tak bychom měli důkladně dodržovat skladovací teploty pod $10\text{ }^\circ\text{C}$ a co nejrychleji ho spotřebovat.

LITERATURA

BEDNÁŘ, Marek, et al. Lékařská mikrobiologie. 1. vyd. Praha: Marvil, 1996. 558 s. ISBN 80-210-1188-2.

BJORKROTH J, et al. Www.tiedekirjasto.helsinki.fi : Lactobacillus fructivorans Spoilage of Tomato Ketchup [online]. University of Helsinki: 2006 [cit. 2009 04 - 07]. Dostupný z WWW: <http://www.tiedekirjasto.helsinki.fi:8080/bitstream/1975/554/3/tomato_ketchup_ocr.pdf>.

DOBIÁŠ J., Technologie zpracování ovoce a zeleniny II : Syllabus textů k přednáškám [online]. Praha : 2004 [cit. 2007-01-05]. Dostupný z WWW: <http://www.vscht.cz/ktk/www_324/studium/OZ/zelenina_2.pdf>.

GÖRNER F., VALÍK L., Aplikovaná mikrobiologie požívatin. Božej Havelka. 1. vyd. Bratislava : Malé centrum, 2004. 528 s. ISBN 80-967064-9-7.

MICROBIOLOGY ASPECTS SALES OF DEEP – FROZEN MILK PRODUCE

Krupková D.¹, Kalhotka L.²

¹Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

²Department of Agrochemistry, Soil Science, Microbiology and Plant Nutrition, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xkrupkov@node.mendelu.cz

ABSTRACT

Ice-cream and frozen desserts are special food products distributed and sold in frozen condition. Both Czech ice-cream market and ice-cream flavours begin diversify. Vanilla, chocolate and strawberry flavours ice-cream are still best selling in Czech Republic.

In the experimental evidence part, the quantity differences of microorganisms in ice-cream pie with damaged and undamaged packing is presented. In consequence it monitors the microbiological colonization inside of the ice-cream, exposed to: over storage life after wrappage opening, storage under unsuitable conditions and expiration date.

Total counts of microorganisms, lactic acid bacteria, coliform bacteria, mould and sporing bacteria have been checked in samples of ice-cream. Total counts of microorganisms didn't go over the limit permitted by ČSN 56 96 09 and reached maximal value 10^3 CFU/ml. Coliform bacteria were much included in ice-cream with overdue minimum durability, where they went over the limit permitted by ČSN 56 96 09. Mould and lactic acid bacteria were included only sporadically, sporing bacteria occurred in values lower than 10^2 CFU/ml.

Key words: ice-cream, frozen desserts, microorganisms,

ÚVOD

Zmrzliny a mražené krémy jsou speciální potravinářské výrobky, distribuované a konzumované ve zmrazeném stavu (SKOUPIL, PELIKÁN, 1998).

Český zmrzlinový trh se začíná více diverzifikovat a totéž platí i o zmrzlinových příchutích. Každopádně nejprodávanějšími příchutěmi v České republice jsou stále vanilka, čokoláda a jahoda. Pro vývoj zmrzliny je velice důležité, že Češi dávají stále častěji přednost zmrzlinám odpovídajícím zdravému životnímu stylu (<http://www.unilever.cz/cs/unilever-cr/novinky-a-akce/4901-unilever-algida.html>, 22.7.2008).

I když Češi podle odhadů utratí za zmrzlinu ročně více než sedm miliard korun, se spotřebou 6,6 l zmrzliny na osobu stále pokulhávají nejen za evropským průměrem, ale také za Američany nebo obyvateli Austrálie. Ti holdují zmrzlině zhruba třikrát více než my a dopřejí si přes 20 litrů studeného mlsu na osobu ročně. Zajímavé je, že nejvyšší spotřebu v Evropě mají Seveřané, ve Finsku je to 13 a ve Švédsku 11 litrů zmrzliny na osobu a rok. Odborníci tuto skutečnost vysvětlují faktem, že v těchto státech se zmrzlina pojídá celoročně a oblíbená jsou hlavně velká rodinná balení. Naproti tomu Ital či Španěl si dopřeje kolem 7 litrů zmrzliny za rok, Portugalec kupodivu jen 3,7 litru zmrzliny, kterou mlsá převážně na ulici. Podle výzkumů Q magazínu Češi stále zachovávají přízeň mraženému potěšení, vyráběnému pod názvem polárkový dort již v 60. letech minulého století, který se stále prodává v průhledných plastových vaničkách, a to i díky tomu, že si udržuje velmi příznivé ceny. (www.qmagazin.cz, 2006)

Dle NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 2073/2005 ze dne 15. listopadu 2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny platí následující kritéria: *Salmonella* nesmí být přítomna ve 25 g, *Enterobacteriaceae* mohou být 2 vzorky z pěti v rozmezí 10 - 100 KTJ/1 g. ČSN 56 96 09 uvádí limit pro CPM, že 2 vzorky z pěti se mohou pohybovat v rozmezí 10^5 - 5×10^5 KTJ/1 g.

MATERIÁL A METODIKA

U všech odebraných vzorků byly standardními metodami stanovovány tyto skupiny mikroorganismů: Celkový počet mikroorganismů (CPM) a sporulující bakterie (SP) na půdě Plate Count Agar (PCA, Biokar Diagnostics, Francie) kultivace při 30 °C 72 h, bakterie mléčného kysání (BMK) půda MRS agar (Biokar Diagnostics, Francie) 37 °C 72 h, plísně (PL) na půdě Chloramphenicol glukose agar (CHL, Biokar Diagnostics, Francie) 25 °C 3 - 5 dnů a koliformní bakterie (Koli) půda Violet Red Bile Glukosa Agar (VRBG, Biokar Diagnostics, Francie) 37 °C 24 h.

Petriho misky byly označeny názvem živné půdy, použitým vzorkem a ředěním. Poté bylo do každé misky, kromě PCA_{sp}, napipetováno 1 ml vzorku a přelito příslušnou živnou půdou. Krouživým pohybem byl vzorek promíchán s živnou půdou a nechal se zatuhnout. Poté byly do prázdných zkumavek připraveny vzorky vhodného ředění a daly se pasterizovat při 80 °C po dobu 15 minut do horké vodní lázně. Po ochlazení bylo napipetováno 1 ml z každé zkumavky do Petriho misek a zalito živnou půdou PCA pro stanovení sporulujících bakterií. Petriho misky se daly dnem vzhůru kultivovat do termostatů.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Zmrzlinové kornouty Twisty jogurt-jahoda

Byly zakoupeny 2 zmrzlinové kornouty Twisty jogurt – jahoda, jeden originálně zabalený, u druhého chybělo plastové víčko a vršek zmrzliny byl celý odkrytý. Zmrzlinové kornouty byly uloženy v otevřeném mrazicím boxu. Podobně znehodnocených výrobků zde bylo více, z čehož lze usoudit na špatné zacházení s výrobky, nebo se na znehodnocení mohly podílet nekvalitní obaly. Mimo to byla při vážení zjištěna u poškozeného vzorku snížená gramáž přibližně o 20 g.

Tab. 1 KTJ v 1 g zmrzliny Twisty jogurt-jahoda

	CPM	SP	PL	BMK
Poškozená zmrzlina	$2,0 \times 10^3$	32	10	$5,2 \times 10^3$
Nepoškozená zmrzlina	27	5	10	$5,0 \times 10^3$

Výsledky stanovení byly přepočteny na 1 g zmrzliny. U obou ředění vyšly přibližně stejné rozdíly. Pozorován byl téměř stonásobně vyšší počet bakterií v poškozené zmrzlině. Počet mléčných bakterií a plísní, nebyl ovlivněn poškozením obalu. Počet sporulujících bakterií byl u poškozené zmrzliny 5x vyšší (viz Tab. 1). I když byl celkový počet mikroorganismů u poškozené zmrzliny značně vyšší, počty nepřevyšují množství povolené ČSN 56 96 09.

Huhulák jogurt-víšeň

Výrobek byl koupen po již uplynulé době minimální trvanlivosti. Po rozdělení obalu byl obsah nevhledný, naznačující také částečné rozmrazení a opětovné zmrazení.

Tab. 2 KTJ v 1 g zmrzliny Huhulák

Den	CPM	SP	PL	BMK	Koli
0	$3,2 \times 10^2$	80	5	0	100
40	91	9	0	0	50
46	$7,3 \times 10^2$	59	9	0	50
91	$3,6 \times 10^2$	73	5	0	30

U vzorku Huhulák jogurt-víšeň byl pozorován průběh vývoje mikroorganismů, během doby skladování, přičemž narůstala doba od již uplynulé doby minimální trvanlivosti. První den stanovení byla doba po uplynutí min. trvanlivosti 12 dní, poslední den stanovení 103 dní. U celkového počtu mikroorganismů byly hodnoty po celou dobu stanovení vyrovnané (viz Tab. 2) a nepřekračovaly limit stanovený ČSN 56 96 09. Plísně byly zastoupeny pouze ojediněle, mléčné bakterie se ve výrobku nevyskytovaly vůbec. Koliformní bakterie, jenž patří do čeledi *Enterobacteriaceae*, byly na začátku stanovení zastoupeny ve vyšším počtu, než na konci stanovení. ČSN 56 96 09, stejně jako Nařízení komise (ES) č. 2073/2005 uvádí pro *Enterobacteriaceae* limit, že 2 vzorky z 5 mohou být mezi 10 až 100 KTJ/1 g. Výskyt koliformních bakterií by tedy těmito hodnotám měl odpovídat. Z mikrobiologické analýzy tedy vyplývá, že výskyt koliformních bakterií ve vzorku byl v nadlimitním množství. Koliformní bakterie se do zmrzliny dostávají pravděpodobně při nedodržení hygieny výrobního procesu.

Mražený krém s mrkvovo-jablečnou příchutí

Při laboratorním hodnocení měl tento výrobek prošlou dobu minimální trvanlivosti o 4 měsíce. Vzhled ani chuť výrobku ovšem nevykazovali žádné znehodnocení.

Tab. 3 K TJ v 1 g mraženého krému s mrkvovo-jablečnou příchutí

CPM	SP	PL	BMK	Koli
0	0	0	0	$1,1 \times 10^2$

Při stanovení bylo zjištěno zastoupení pouze koliformních mikroorganismů $1,1 \times 10^2$ K TJ/1 g, (viz Tab. 3), které přesahovalo i maximální limit 100 K TJ/1 g zmrzliny, který uvádí ČSN 56 96 09. Podle těchto výsledků stanovení můžeme říct, že prošlá doba minimální trvanlivosti může mít vliv na znehodnocení výrobku.

Prima vanilkový

Výrobek (nanukový dort) byl na první pohled rozmrazený a znovu zmrazený. Výrobek byl pravděpodobně při zvýšené teplotě uchován v nevodorovné poloze, čemuž nasvědčuje vzhled obsahu, který byl nateklý k jedné straně obalu, a poté opět zmrazený. Tím, že byl výrobek rozteklý, zmizel také jeho nášleh a výrobek ztratil svůj objem.

Tento výrobek byl správně vyřazen z prodeje a pro laboratorní hodnocení poskytnut zdarma.

Tab. 4 K TJ v 1 g Prima vanilkový v průběhu skladování

Den	CPM	SP	PL	BMK	Koli
0	$5,3 \times 10^3$	45	5	0	0
40	$1,4 \times 10^2$	41	0	0	10
46	$5,9 \times 10^2$	$6,9 \times 10^2$	0	0	10
91	$7,7 \times 10^2$	$1,1 \times 10^2$	23	0	10

Přesto, že byl výrobek znehodnocen rozmrazením a znovu zmrazením, které nepovoluje vyhláška č. 137/2004 Sb., vzorek nepřekračuje limity celkového počtu mikroorganismů ani limity platíci pro *Enterobacteriaceae* stanovené vyhláškou ČSN 56 96 09, do kterých se řadí koliformní bakterie (viz Tab. 4). Ze sensorického hlediska byl však vzorek nepřijatelný.

Míša nanuk

Tento mražený krém byl značně porušen při nevhodném skladování. Výrobek byl dlouhou dobu při teplotách nad bodem mrazu. Nanuk měl popraskanou polevu a zcela porušený tvar „nanuku na dřívku“. Sensoricky byl výrobek zcela nepřijatelný a to jak po vzhledově, tak i chuťově.

Tab. 5 KTJ v 1 g Míša nanuku

Datum odběru	CPM	SP	PL	BMK	Koli
13.1.2009	$1,5 \times 10^3$	36	5	0	60
19.1.2009	$1,1 \times 10^3$	$2,8 \times 10^2$	23	0	10
5.3.2009	$5,5 \times 10^3$	64	27	0	30

Koliformní bakterie se zde vyskytovaly ve zvýšeném množství, přesahující limity ČSN 56 96 09. Oproti ostatním analyzovaným vzorkům, zde bylo vyšší zastoupení plísní (viz Tab. 5), z čehož však neplyne riziko, jelikož se jedná o mražený výrobek a mikroorganismy jsou tedy při správném uchování v inaktivním stavu.

Clever vanilkový dort

Tento nanukový dort byl zakoupen pro sledování změn v počtech mikroorganismů v průběhu několika měsíců skladování. Na obale není zmínka o době použitelnosti po otevření obalu.

Tab. 6 KTJ v 1 g Clever vanilkový dort

den	CPM	SP	PL	BMK	Koli
0	$2,7 \times 10^3$	10	14	0	0
14	$1,8 \times 10^3$	50	-	$2,3 \times 10^2$	10
28	$4,5 \times 10^3$	$1,2 \times 10^2$	0	0	10
42	$6,5 \times 10^3$	32	5	$1,8 \times 10^2$	0
88	$4,3 \times 10^3$	77	5	0	20
133	$3,1 \times 10^3$	64	41	$7,9 \times 10^2$	20

Nanukový dort byl sledován přibližně po dobu 4 měsíců. Za tuto dobu, nedošlo k žádným sensorickým změnám, které by vykazovaly vadu výrobku.

Po mikrobiologické stránce mělo skladování vliv na zvýšení počtu koliformních bakterií a plísní (viz. Tab. 6). Celkový počet mikroorganismů se pohyboval po celou dobu mikrobiologické analýzy na přibližně stejných hodnotách. Stejně tak tomu bylo u sporulujících bakterií. Po celou dobu stanovení nebyly překročeny limity stanovené ČSN 56 96 09.

Teploty, při kterých je zmrzlina vyrobená, uložená a servírovaná, jsou pod bodem mrazu a růst mikroorganismů je zastaven. Protože životaschopnost mnoha mikroorganismů je uchována mražením, neočekává se usmrcení mikroorganismů tímto ošetřením. (MARSHALL, 2001). Vzhledem k této citaci můžeme říct, že při dodržení podmínek uchování, jsou mikroorganismy v inaktivní formě, v případném nedodržení skladovacích podmínek, se mikroorganismy stávají životaschopnými, což se projevuje u mléčných bakterií tvorbou kyseliny a kyselé chuti výrobku. V případě sporulujících bakterií, kde převládá rod *Bacillus*, a také plísní, by došlo k sensorickému narušení výrobku.

Všeobecně lze říci, že ke znehodnocení zmražených mléčných výrobků mikroorganismy, které by se projevovaly organoleptickými změnami nedochází často, protože výrobní proces je časově poměrně

krátký, směs se rychle zchlazuje pod bod mrazu, ztužuje a skladuje nejméně při -18 °C. (CEMPÍRKOVÁ et al., 1997)

ZÁVĚR

Pro kvalitu zmrzlin a mražených krémů je rozhodující mikrobiální osídlení použitých surovin, dodržování hygienických norem a hygiena prodeje. Při nedodržení jednoho z těchto bodů dochází k mikrobiálnímu znehodnocení zmrzlin.

Porušení obalu mražených krémů vede k výraznému zvýšení celkového počtu mikroorganismů v němž se zvyšuje zastoupení sporulujících bakterií.

Nevhodné skladovací podmínky také vedou ke zvýšení počtu některých druhů mikroorganismů.

Na závěr tedy můžeme říct, že posouzení několika možných, výše uvedených vad zhoršuje převážně sensorické vlastnosti, na mikrobiologické zastoupení má vliv pouze minimální.

LITERATURA

Cempírková, R., Lukášová, J., Hejlová, Š. 1997: Mikrobiologie potravin. Vydavatel Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta, České Budějovice.

Marshall, R. T. 2001: Frozen Desserts. In: Marth, E. H., Steele, J. L. (eds.), Applied Dairy Microbiology, Marcel Dekker, str. 93 - 125

Skoupil J., Pelikán M. 1998: Cukrářská výroba 3 , Podnikatelský svaz pekařů a cukrářů v ČR, 224 s. ČSN 56 96 09

Nařízení komise (ES) č. 2073/2005

Vyhláška č. 137 ze dne 17. března 2004 o hygienických požadavcích na stravovací služby a o zásadách osobní a provozní hygieny při činnostech epidemiologicky závažných

<http://www.unilever.cz/cs/unilever-cr/novinky-a-akce/4901-unilever-algida.html>, 22.7.2008

www.qmagazin.cz, 2006

ALPHA-AMYLASE ENZYME ACTIVITY IN MALT MADE FROM SELECTED SPRING BARLEY VARIETIES INTENDED FOR BEER PRODUCTION

AKTIVITA ALFA-AMYLÁZY VE SLADU VYBRANÝCH ODRŮD
JEČMENE JARNÍHO URČENÉHO PRO VÝROBU PIVA

Michnová M., Ehrenbergerová J., Cerkal R.

Ústav pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství, Agronomická fakulta, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 61300 Brno, Česká Republika

E-mail: michaelamichnova@seznam.cz, radim.cerkal@mendelu.cz,
jaroslava.ehrenbergerova@mendelu.cz

ABSTRACT

Activity of alpha-amylase enzyme (EC 3.2.1.1) is considered to be primarily essential for barley's (*Hordeum vulgare* L.) seed germination and crucial for malting and beer processing because this enzyme converts starch to soluble sugar in the endosperm of seeds enabling the fermentation by brewery yeasts. The aim of this study was to evaluate: (i) the activity of alpha-amylase enzyme in spring barley varieties recommended for Czech Beer production (Bojos, Malz and Tolar) compared with varieties intended for malt export (Kompakt, Jersey and Sebastian) harvested in 2007-2008; (ii) the effect of pre-harvest zinc foliar application (dose of 0.5 kg/ha Zn in growth stage DC 31 and DC 55) on the activity of alpha-amylase; (iii) relations between alpha-amylase activity and selected qualitative parameters (extract yield, apparent final attenuation, friability, relative extract at 45°C, beta-glucan content, etc.). The enzyme activity was assessed by the colorimetric method (EBC 4.13). The grain was micro-malted and processed for malt analyses in the Research Institute of Brewing and Malting, Plc. Malting Institute in Brno. The lowest activity of alpha-amylase enzyme (expressed by dextrinizing units – DU/g) was found in the Tolar variety, the export varieties Kompakt and Jersey belonged to the group with a high enzyme activity. No significant differences in the enzyme activity were found after zinc foliar application. Positive correlation between alpha-amylase activity and relative extract at 45°C was found. Negative correlations between the alpha-amylase activity and other selected parameters were found.

Key words: Czech beer, alpha-amylase, EC 3.2.1.1, barley, malt

Acknowledgement: This study was funded by the project No 1M0570 called Research Centre for Study of Extract Compounds of Barley and Hop.

ÚVOD

Slad jako surovina potřebná pro výrobu piva a jeho kvalita je výsledkem činnosti enzymatického aparátu obilky ječmene [Georg-Kraemer *et al.* 2001]. Při sladování („řízeném klíčení“) hrají nezastupitelnou roli enzymy amylázy a jejich aktivita [Briggs 2002]. Prioritní význam má enzym α -amyláza (α -1,4-glukan-4-glukan-hydroláza, EC 3.2.1.1), která hydrolyzuje α -1-4 glykosidové vazby [Velíšek 2002]. Při tomto iniciačním procesu se škrob obsažený v endospermu obilky částečně rozštěpí na dextriny, které se v dalším kroku zcukřují na maltózu (sladový cukr). Bylo potvrzeno, že produkce enzymů v obilce a jejich aktivita je odrůdově specifická vlastnost, ovlivňovaná zejména podmínkami pěstování (hnojením, průběhem povětrnosti apod.; Lin *et al.* 2008).

Cílem této práce bylo zjistit, zda: 1) existují prokazatelné rozdíly u souboru vybraných odrůd ječmene jarního v aktivitě α -amylázy; 2) ovlivňuje zinek aplikovaný foliárně ve dvou růstových fázích (DC31 a DC55) aktivitu α -amylázy; 3) existuje závislost mezi aktivitou α -amylázy a vybranými ukazateli sladovnické jakosti (USJ).

MATERIÁL A METODIKA

Rostlinný materiál

Do pokusu bylo zařazeno šest odrůd ječmene jarního, doporučených pro výrobu Českého piva (ES č. 1014/2008) a sladu (tab. 1).

Tab. 1 Charakteristika odrůd ječmene jarního

Odrůda	Země původu	Rok registrace	USJ*	Původ	České pivo
Bojos	CZ	2005	5	Madonna x Nordus	ano
Malz	CZ	2002	7	Famin x Scarlett	ano
Tolar	CZ	1997	2,5	HE 4710 x HWS 78 267/83	ano
Jersey	NL	2000	5	Apex x Alexis	ne
Kompakt	SK	1995	6.5	Galan x KM-A 10	ne
Sebastian	DK	2005	7	Lux x Viskosa	ne

* Ukazatel sladovnické jakosti: 9 = vysoká jakost, 1 = nesladovnická jakost.

Polní pokusy

Maloparcelní blokové pokusy byly realizovány (ve třech opakováních) na lokalitě Žabčice (49°01' N, 16°36' E, 179 m n. m.) v letech 2007 a 2008. Během vegetace byl aplikován zinek ($0,5 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$) formou postřiku hnojivem Zinran (oxid zinečnatý 52,3 % a síran zinečnatý 19,8 %, 4,7 % síra) ve dvou růstových fázích – DC31 (Zn1) a DC55 (Zn2). Průběh povětrnostních podmínek v jednotlivých letech ukazuje obr. 1.

Mikrosladování a měření aktivity α -amylázy

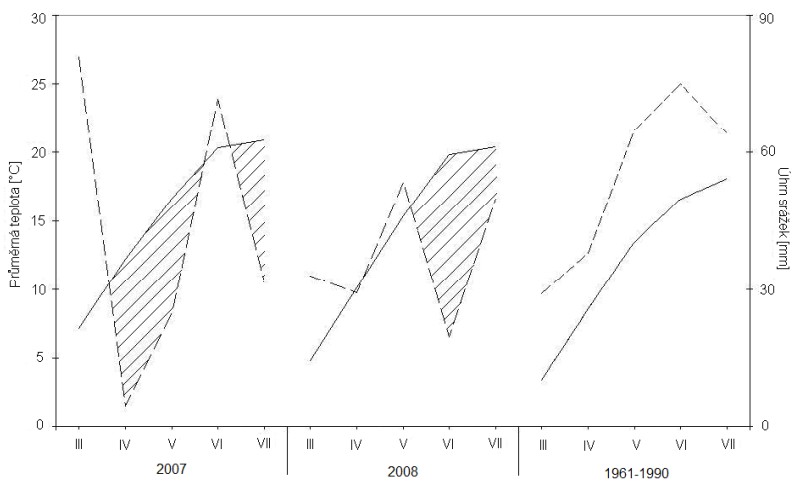
Pro mikrosladovací zkoušky (tab. 2), následně analýzy jakosti sladu a stanovení aktivity α -amylázy bylo použito 1000 g zrna z přepadu nad sítím 2,5 mm. Stanovení probíhalo dle metodik EBC ve

Výzkumném ústavu pivovarském a sladařském, a.s. Sladařském ústavu v Brně. Aktivita α -amylázy byla stanovena kolorimetricky (EBC 4.13).

Statistické zhodnocení

Získaná data byla zhodnocena analýzou variance a následně pomocí Tukeyova testu ($P=0,05$) v programu STATISTICA 8. Vztahy mezi aktivitou α -amylázy a vybranými parametry jakosti sladu byly vyjádřeny Pearsonovým korelačním koeficientem (r).

Obr. 1 Průměrné měsíční teploty a úhrny srážek na lokalitě Žabčice v letech 2007-2008 a v normálovém období 1961-1990 (na způsob klimadiagramu dle Waltera a Lietha, 1960).



Pozn. Šrafovaná plocha značí srážkově deficitní období.

Tab. 2 Průběh mikroskladování

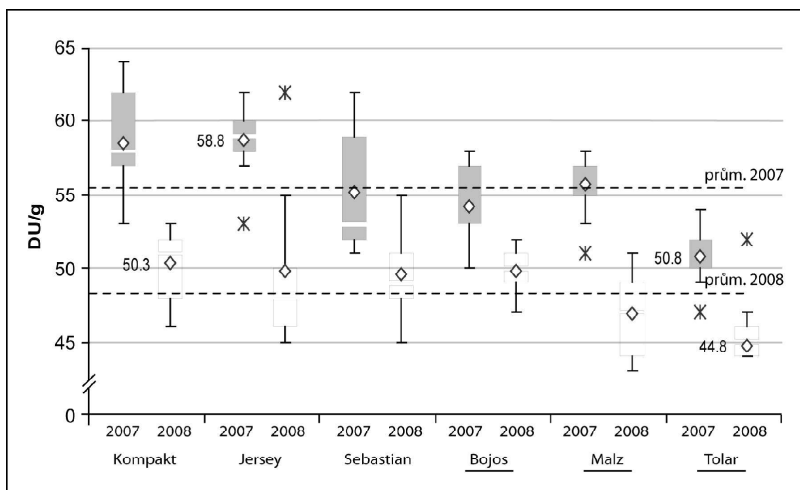
Fáze	Podmínky
Máčení	Tři cykly voda/vzduch (4 h/20 h; 6 h/18 h; domočení na vlhkost 45 %)
Klíčení	14°C (6 dní celkem má čení + klíčení)
Hvozďení	Předsušení 12 h/55°C, dotahování 4 h/80°C

VÝSLEDKY A DISKUZE

Aktivita α -amylázy ve sladu se v jednotlivých letech zejména v důsledku odlišného průběhu povětrnosti v době dozrávání značně lišila. Vyšší průměrnou aktivitu α -amylázy měl slad vyrobený v roce 2007 (55,6 DU/g). Odrůdy doporučené pro výrobu Českého piva patřily obecně do skupiny s nižší aktivitou α -amylázy – jejich průměrná aktivita dosahovala 96-97 % hodnot průměru souboru odrůd. Tyto odrůdy měly zároveň menší variabilitu hodnot aktivity enzymu, což je z hlediska

technologie zpracování na slad velmi příznivou vlastností. Nejvyšší aktivita α -amylázy byla v obou letech zjištěna u odrůd Jersey a Kompakt, nejnižší aktivitu enzymu vykazovala odrůda doporučená pro výrobu Českého piva Tolar (50,8 a 44,8 DU/g; obr. 2). Značné odrůdové rozdíly ve variabilitě především jakostních parametrů zrna i sladu popisují např. Ehrenbergerová *et al.* (2008).

Obr. 2 Aktivita α -amylázy ve sladu jednotlivých odrůd ječmene jarního pěstovaného na lokalitě Žabčice v letech 2007 a 2008.

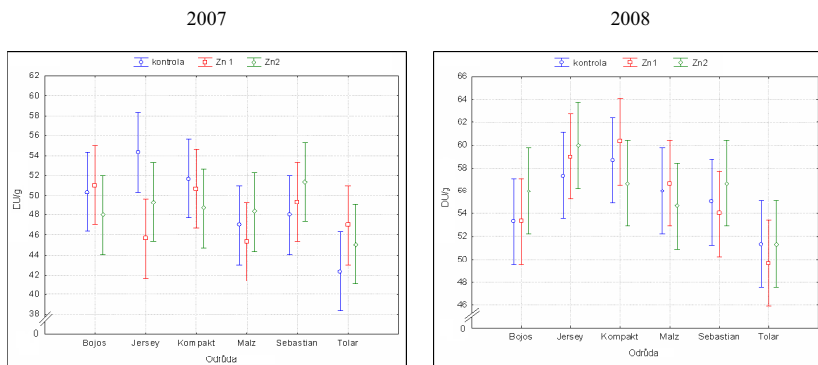


Pozn. Boxy jsou 0,25–0,75 kvartily obsahující medián (bílá čára) a průměr (kosočtverec). Úsečky vymezují maximální a minimální hodnoty vyskytující se v souboru, křížky představují extrémy. Uvedená čísla jsou maximální a minimální hodnoty aktivity enzymu v každém roce. Odrůdy doporučené pro výrobu Českého piva jsou podtrženy.

Aktivita α -amylázy závisí nejen na genetických predispozicích jednotlivých odrůd, ale také na technologii pěstování a průběhu počasí v době dozrávání [Lin *et al.* 2008]. Ve sledovaném období nebyl zjištěn průkazný vliv zinku na aktivitu α -amylázy ve sladu. Reakci odrůd na aplikaci zinku v jednotlivých fázích růstu znázorňují obr. 3a a 3b. Sledováním závislosti mezi vybranými prvky a aktivitou α -amylázy se zabývali např. Muralikrishna a Nirmala (2005), kteří zjistili částečně deaktivující vliv iontů Ca^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} na aktivitu enzymu.

Mezi znaky jakosti zrna/sladu a aktivitou α -amylázy byly zjištěny převážně středně silné až velmi silné závislosti (tab. 3). V případě obsahu bílkovin, relativního extraktu při 45°C, diastatické mohutnosti a obsahu β -glukanu se jednalo o vztahy pozitivní, ostatní vztahy byly negativní. Obecně nejsilnější vztahy byly stanoveny u odrůdy Malz ($r=-0,85$ až $0,9$), naopak relativně nejslabší u odrůdy Sebastian ($r=-0,66$ až $0,69$).

Obr. 3a, 3b Průměrná aktivita α -amylázy ve sladu jednotlivých odrůd v závislosti na době aplikace zinku.



Pozn.: Intervaly představují minimální průkazné diference na hladině $\alpha = 0,05$.

Vztahy mezi aktivitou amylolytických enzymů a parametry sladu (koncentrací cukrů) studovali např. Duke a Henson [2009].

Tab. 3 Závislosti (r) mezi aktivitou α -amylázy a vybranými znaky jakosti zrna/sladu.

Odrůda	Obs. bílk. [%]	Extr. v moučce [%]	Rel. extrakt 45°C [%]	Diast. moh. [JWK]	Stupeň prokvaš. [%]	Kolbach. číslo	Friabilita [%]	Obsah β -glukanů [mg/l]	USJ
Bojos	0,71	-0,73	0,54	0,73	-0,70	-0,48	-0,66	0,56	-0,72
Jersey	0,75	-0,71	0,52	0,81	-0,78	-0,72	-0,68	0,56	-0,74
Kompakt	0,81	-0,81	0,69	0,82	-0,78	-0,76	-0,8	-0,08	-0,82
Malz	0,88	-0,84	0,61	0,9	-0,8	-0,80	-0,81	0,56	-0,85
Sebastian	0,61	-0,53	0,09	0,56	-0,61	-0,58	-0,66	0,69	-0,66
Tolar	0,71	-0,66	0,66	0,71	-0,67	-0,69	-0,73	0,64	-0,68

ZÁVĚR

Nejnižší aktivita α -amylázy ve sladu byla zjištěna u odrůdy ječmene Tolar, odrůdy Kompakt a Jersey určené na výrobu převážně exportního sladu patřily do skupiny s vysokou enzymatickou aktivitou. Nebyly zjištěny průkazné rozdíly mezi kontrolními vzorky a vzorky sladu, které pocházely z porostů foliárně ošetřených zinečnatým hnojivem. Mezi aktivitou α -amylázy a vybranými znaky sladovnické jakosti (USJ) byly zjištěny středně silné až velmi silné pozitivní i negativní závislosti. Obecně nejsilnější vztahy byly stanoveny u odrůdy Malz, naopak relativně nejslabší u odrůdy Sebastian.

LITERATURA

- Briggs D.E. (2002): *Malts and Malting*. 1st edn. Aspen Publishers, London, UK.
- Duke S.H., Henson C.A. (2009): A Comparison of Barley Malt Amylolytic Enzyme Activities as Indicators of Malt Sugar Concentrations. *Journal of the American Society Brewing Chemists*, 67: 99-111.
- Ehrenbergerová J., Březinová Belcredi N., Psota V., Hrstková P., Cerkal R., Newman C.W. (2008): Changes caused by genotype and environmental conditions in beta-glucan content of spring barley for dietetically beneficial human nutrition. *Plant Foods for Human Nutrition*, 63: 111–117.
- European Brewery Convention (EBC) (1998): *Analytica-EBC*. Getränke-Fachverlag Hans Carl: Nürnberg, Germany.
- Georg-Kraemer J.E., Mundstock E.C., Cavalli-Molina S. (2001): Developmental expression of amylases during barley malting. *Journal of Cereal Science*, 33: 279-288.
- Lin R., Horsley R.D., Schwarz P.B. (2008): Associations between caryopsis dormancy, alpha-amylase activity, and pre-harvest sprouting in barley. *Journal of Cereal Science*, 48(2): 446-456.
- Muralikrishna, G., Nirmala, M. (2005): Cereal α -amylases: an overview. 60:163-173.
- NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 1014/2008 ze dne 16. října 2008 o zápisu určitých názvů do Rejstříku chráněných označení původu a chráněných zeměpisných označení (České pivo (CHZO), Cebreiro (CHOP)).
- Velíšek J. (2002): *Chemie potravin 1*. 2. upr. vyd. Tábor : OSSIS. 344 s. ISBN 80-86659-00-3.
- Walter H., Lieth H. (1960): *Klimadiagramm Weltatlas 1*. Lieferung mit 12 Karten. Fischer Verlag, Jena.

VACUUM VERSUS MODIFIED ATMOSPHERE IN STORAGE OF SAUSAGES

Musilová M.¹, Jůzl M.¹, Kalhotka L.²

¹Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

²Department of Agrochemistry, Soil Science, Microbiology and Plant Nutrition, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xmusil11@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The objective of this work was to deal with effects of storage conditions on conservation and quality of sausages, respectively to compare two different ways of storage – vacuum packaging and packaging in the modified atmosphere (MAP).

The company Jantar spol. s r. o. provided 5 samples of vacuum packaged sausages and 5 samples of sausages packaged into the modified atmosphere. There were used two different analyses.

The first one was microbiological analysis of total amount of microorganisms, anaerobic bacteria, yeasts, fungi and coliform bacteria. Each sample was analyzed three times, first day, 3 weeks and 4 weeks after production. The second analysis were done by spectrophotometer Konica Minolta monitoring changes in colour on the surface and on the cut of the vacuum packaged sausages as well as of the MAP sausages. The possible colour differences were observed in time, too.

The microbiological analysis proved that the vacuum packaging is more effective in prevention of microbiological contaminations of sausages than the MAP. The results of the second analysis have pointed out that there are differences in colour, however they are so little, that a human eye can not recognize them.

Key words: sausage, packaging, microbiological analysis, colour analysis

Acknowledgments: This experiment was realized in cooperation with private company Jantar spol.s r. o.

ÚVOD

Hlavním cílem této práce bylo porovnání dvou typů balení párků v průběhu skladování. Jednalo se o balení do vakua a balení do modifikované atmosféry. Toto srovnání pak bylo promítnuto do dvou dílčích cílů. Porovnat tyto dva typy balení z hlediska mikrobiologického, tedy jak každá atmosféra působí v průběhu skladování na vybrané skupiny mikroorganismů a z hlediska kolorimetrického, a to, jak každá atmosféra v průběhu skladování působí na změnu barvy párků.

Spolupracující firmu Jantar spol. s r.o., zajímalo, jak účinné je skladování párků v modifikované atmosféře, neboť náklady na toto balení jsou podstatně vyšší než na balení do vakua.

Balení v modifikované atmosféře (MAP - Modified Atmosphere Packaging) spočívá ve změně složení plynů, které jsou ve styku s potravinou, náhradou vzduchu vhodným plynem nebo směsí plynů. Většinou se kombinuje se skladováním při nízkých teplotách, nižších než 3 °C. Účelem tohoto postupu je podstatně snížení hladiny kyslíku a tak při zachování původního obsahu vlhkosti potraviny zabránění růstu aerobních mikroorganismů.

Tento postup balení je vhodný pro inhibici růstu striktně aerobních bakterií kažení, avšak různé bakterie, které jsou příčinou alimentárních otrav, jako jsou *Clostridium spp.*, *Campylobacter spp.* a *Listeria monocytogenes*, nejsou většinou dostatečně inhibovány. Pro tyto účely však našťást existují jiné možnosti, jako je řízení obsahu vody a hodnoty pH v potravine, dále pak dodržování teploty při skladování a jeho délky (Briggs a Lennard, 1997).

Při vakuovém balení potravin (VAC) do nepropustných fólií pro kyslík nebo při jejich balení v inertní atmosféře dusíku jsou v baleném produktu potlačeny aerobní mikroorganismy (*Pseudomonas*, *Bacillus*, plísně a jiné). Bez přístupu kyslíku dobře rostou mikroorganismy anaerobní, mikroaerofilní (fakultativně anaerobní). Některé druhy rodu *Bacillus* mohou dobře růst i při velmi nízkém parciálním tlaku kyslíku nebo až dokonce za anaerobních podmínek (*Bacillus cereus*, *Bacillus (Paenibacillus) polymyxa*, *Bacillus (Paenibacillus) macerans*) (Görner a Valík, 2004).

MATERIÁL A METODIKA

Modifikovaná atmosféra (MAP) spotřebitelského balení párků v bariérových fóliích pocházela z firmy Linde Technoplyn a. s.. Nazývá se DINAX 30 a obsahuje 70 % potravinářského N₂ a 30 % potravinářského CO₂. Proces vakuování probíhal na stejné baličce po nastavení vhodného programu, který pouze odebral vzduch z balíčku.

Při rozborech byla využívána kultivace na pevných půdách tj. plotnová metoda se zalitím inokula živnými půdami (Plate Count Agar, Violet Red Bile Agar, Chloramfenikol glukózový agar). Mikrobiologická analýza byla prováděna na párcích odebraných z pěti po sobě jdoucích šarží. Vzorky byly zabaleny po 5 kusech (250 g) po třech balíčcích do vakua a do modifikované atmosféry, skladovány v chladničce. Vzorky k analýzám byly odebírány ze středové části párku. Analýzy byly provedeny 3x s časovým odstupem 0, 21, 28 dní.

Pro přesné měření barvy bylo použito stolního spektrofotometru Konica Minolta CM-3500d, s charakteristikou měření d/8. Optický systém využívá difúzní osvětlení a odražené světlo

je měřeno pod úhlem 8° (d/8) s využitím funkce SCE (Specular Component Excluded) světelné pasti pro eliminaci zrcadlového lesku. Průměr štěrbin je 8 mm. Přístrojem je proměřeno celé viditelné spektrum, tj. od 380-780 nm a barva je pak definována vedle numerických dat i remisním spektrem.

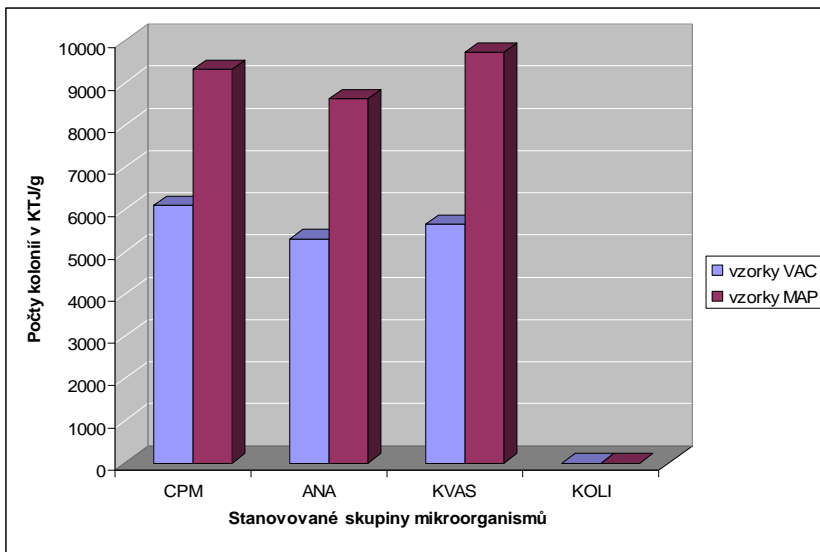
Barva byla popisována v L*a*b* barevném prostoru (označovaný také jako CIELab). Hodnota L* označuje jas a hodnoty a*, b* jsou souřadnice barevnosti v chromatickém diagramu. V tomto diagramu hodnota +a* označuje směr do červena, -a* je směr do zelena, +b* je směr do žluta a -b* je směr do modra. Střed je achromatický, jestliže se hodnoty a*a b* vzdalují od středu roste sytost barvy.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Pro nejpřehlednější srovnání všech určovaných skupin mikroorganismů byly vybrány hodnoty naměřené v 21. den skladování, neboť v ten den by párky zákazník ještě mohl konzumovat. Z obrázku 1 je patrné, že vzorky balené ve vakuu osahují menší počet mikroorganismů všech stanovovaných skupin, kromě koliformních bakterií, jež nebyly detekovány vůbec. Vzorky balené do modifikované atmosféry vykazují v průměru o 3 – 4 · 10³ KTJ/ g vyšší počty mikroorganismů stanovovaných skupin.

Mechanické odvzdušňování potravin může prodlužovat skladovatelnost potravin jen na velmi omezenou dobu. Podporuje se jím skladovací hemibióza. Konzervace potravin v prostředí oxidu uhličitého využívá faktu, že CO₂ se chová k potravinám sice netečně, ale za vhodných podmínek zabírá přímo nebo nepřímo vegetaci mikrobů i nemikrobním oxidačním změnám (Ingr, 1999).

Obr. 1 Srovnání obou typů balení z hlediska počtu kolonií všech stanovovaných skupin mikroorganismů po 3 týdnech skladování



Výsledné hodnoty získané měřením barvy povrchu párků vypovídají o tom, že byly párky vyráběny standardním postupem, neboť se barva párků všech pěti šarží od sebe prakticky neliší. Skladování ve vakuu a MAP nemělo v tomto případě žádný vliv na změnu barvy povrchu párků.

Z výsledků hodnot naměřených na řezu párků je na první pohled patrná vyšší světlost ve srovnání s hodnotami světlosti povrchu párků. V řadě pěti šarží jsou však rozdíly lidským okem jen těžce postřehnutelné.

U balení do MAP byl u totální barevné diference zjištěn statisticky průkazný rozdíl ($P < 0,05$) oproti balení vakuovému. V praxi to znamená, že by párky vakuově balené měly být barevně stálejší než MAP párky, a tyto by měly být s časem světlejší.

Barva masa je velmi nápadný znak, podle kterého posuzuje spotřebitel kvalitu masa a masných výrobků. Protože souvisí i s dalšími jakostními znaky, mnohdy pomůže technologovi jednoduše hodnotit technologické postupy (Kadlec aj., 2002).

ZÁVĚR

Z výsledků vyplývá, že modifikovaná atmosféra DINAX 30 je sice se svými výsledky pod hranicí normou stanovených nejvyšších povolených množství, je však méně účinná v ochraně párků před mikrobiálním kažením. Prakticky nemá vliv na změnu barvy výrobku, což značí, že je ekonomicky nevýhodná ve srovnání s balením do vakuu, neboť toto balení je v inhibici mikroorganismů účinnější a rozdíly, zjištěné při analýzách barvy byly rovněž lidským okem téměř nepostřehnutelné.

LITERATURA

BRIGGS D.R., LENNARD L.B., (2002): Recent Developments in Food Technologies in "Food and Nutrition", Wahlqvist, Food Today, 6.

INGR, I. (1999): Základy konzervace potravin, MZLU Brno, 130 s.

GÖRNER A VALÍK (2004): Aplikovaná mikrobiologie poživatin, Bratislava, Malé centrum, 528 s.

KADLEC, P. AJ. (2002): Principy potravinářských technologií, VŠCHT Praha, 536 s.

POSSIBILITIES OF LEADS TRANSFER IN INDIVIDUAL ANATOMIC PARTS OF POTATO (*SOLANUM TUBEROSUM*, L.) CULTIVATED IN THE SOIL CONTAMINATED BY RISK ELEMENTS

Peltznerová L., Tomáš J., Szabóová G.

Department of Chemistry, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic

E-mail: linda.peltznerova@gmail.com

ABSTRACT

The heavy metals cumulation in soils and their entering into plants has negative influence on quality of agricultural production and thus it presents the risk of food chain endangering. The aim of the presented study was to survey the possibilities of transfer and cumulation of lead in individual anatomic parts of potato (*Solanum tuberosum*, L.) – potato tops, potato skins and potato tubers. The experiment was realized by the form of pot vegetation survey, in which the soil from locality Výčapy – Opatovce was used, with addition of basic fertilizer with superphosphate, KCl (60%), ammonium sulphate. The experiment was conducted in 2 variants; one variant was with applied 70 mg Pb. kg⁻¹ soil and in 2nd was added 140 mg Pb. kg⁻¹ soil, in form of Pb(NO₃)₂. In this experiment 4 varieties of potatoes were evaluated: very-early Impala, early Livera, middle-early Agria and late Desiree. Heavy metals in these samples were analyzed by AAS method. In soil samples the analyses on the heavy metals content in the leach of aqua regia (total content) and mobile forms in the leach NH₄NO₃ were realized. The exceeded limit value was determined for total content of lead by 53%, for mobile form content of lead by 95%. In potato tops, skin and tubers the highest lead content was observed in variety Impala. In samples of potato tubers the content of Pb from 0.1362 mg.kg⁻¹ Pb in variety Desiree to 0.5021 mg.kg⁻¹ Pb in variety Impala was determined. Obtained results of lead content were compared with their maximum admissible amounts by Slovak standards (0.1 mg.kg⁻¹). On the basis obtained results were claimed that the concentration of lead had overlimit the highest admissible amounts.

Key words: potato, top, skin, tuber, lead, contamination

Acknowledgments: This work has been supported by VEGA project 1/4428/07

ÚVOD

Kontaminácia pôd a rastlín cudzородými látkami je jedným z hlavných činiteľov, ktoré sa podieľajú na zdravotnom stave obyvateľstva. Výskyt ťažkých kovov v rastlinách súvisí s ich prítomnosťou v pôdach (Alloway, 1990). Olovo je najrozšírenejším ťažkým kovom a jeho príjem z potravín vzhľadom k toxicite zlúčenín olova patrí k najrizikovejším (Tóth, Lazor, 1998). Prirodzeným zdrojom olova pre rastliny je jeho obsah v pôde, ktorý je podmienený geologickými vlastnosťami podložia. Olovo sa kumuluje v povrchových vrstvách pôdy, čo prispieva k jeho väčšiemu kolobehu v ekosystémoch, a tým sa podstatne zvyšuje jeho nebezpečie pre človeka a zvieratá (Fecenko, Ložek, 2000). Rastlinné druhy majú rôznu citlivosť na toxické kovy. Mnohé druhy dobre prosperujú na pôdach obsahujúcich toxické koncentrácie ťažkých kovov, iné sú výrazne poškodzované (Mistrík, 2001). Na pôdach kontaminovaných rizikovými kovmi je možné pestovať rastliny, ktoré majú schopnosť ich zvýšenej akumulácie bez závažného poškodenia vlastného metabolizmu. Podľa Cibulka (1991) medzi agronomicky významné plodiny, ktoré sú schopné absorbovať stredne vysoké množstvá ťažkých kovov patria aj zemiaky, ktoré boli použité v našom experimente. Luľok zemiakový - *Solanum tuberosum*, L. sa pestuje pre svoje podzemkové hľuzy, ktoré poznáme pod názvom zemiaky. V našich podmienkach majú významné postavenie vo výžive obyvateľstva ako sýtiaca tak aj nutričná potravina. Spotreba zemiakov na jedného obyvateľa sa na Slovensku pohybuje v rozmedzí 76 - 80 kg, čo zodpovedá kritériám racionálnej výživy obyvateľstva aj celosvetovým trendom. Sú nedielnou súčasťou jedálneho lístka väčšiny obyvateľov Slovenska. Podľa dĺžky vegetačnej doby od výsadby do fyziologickej zrelosti sa odrody zemiakov delia na veľmi skoré, stredne skoré, skoré, stredne neskoré a neskoré (Vestník MP SR, 2006).

MATERIÁL A METODIKA

Experiment sme realizovali v modelových podmienkach vo vegetačnej kletke v areáli SPU Nitra. V experimente sme použili 25 kg zmesi hlinitej pôdy a kremičitého piesku v pomere 21:4. Pôda bola odobratá z lokality Výčapy-Opatovce. Na základe analýz bola stanovená pôdna reakcia, obsah humusu, obsah dusíka podľa Kjeldahla, obsah fosforu, draslíka, horčíka a vápnika podľa Mehlicha II. Z nameraných hodnôt sme vypočítali dávky základného hnojenia. Použili sme hnojenie: superfosfát – 7,54 g. kg⁻¹ pôdy, KCl (60 %) - 0,75 g. kg⁻¹ pôdy, síran amónny – 1,5 g. kg⁻¹ pôdy. Ďalej boli stanovené obsahy ťažkých kovov vo výluhu lúčavky kráľovskej (tzv.pseudototálne obsahy prvkov) a vo výluhu NH₄NO₃ (bioprístupné formy prvkov).

Testovanou plodinou bol luľok zemiakový (*Solanum tuberosum* L.). V experimente boli použité 4 rôzne odrody- veľmi skorá: odroda Impala, skorá: odroda Livera, stredne skorá: odroda Agria a stredne neskorá: odroda Desiree. Do nádob sme vysádzali po 3 hľuzy a pre každú odrodu sme robili 4 opakovania. Nádoby so zemiakmi boli počas celej vegetácie zalievané na 70 % maximálnu vodnú kapacitu. Plodiny sme zberali v čase úplnej zrelosti.

Pokus sme realizovali v dvoch variantoch, pričom sme k základnému hnojeniu aplikovali dávky Pb v množstvách 70 a 140 mg Pb. kg⁻¹ pôdy vo forme Pb(NO₃)₂.

Olovo v jednotlivých častiach ľuľka zemiakového sme stanovili metódou - plameňová AAS po predchádzajúcej mineralizácii suchou cestou. Hygienická nezávadnosť konzumnej časti zemiaka sa hodnotila podľa najvyššieho prípustného množstva (NPM) podľa Vestníka MZ SR č. 981/1996.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Charakteristika záujmovej pôdy a obsahy ťažkých kovov sú uvedené v tabuľkách 1, 2 a 3. Zákon 220/2004. „O ochrane a využívaní poľnohospodárskej pôdy a o zmene zákona č. 245/2003 Z. z. o integrovanej prevencii a kontrole znečisťovania životného prostredia a o zmene a doplnení niektorých zákonov, uvedený v tabuľkách 2 a 3 nám uvádza najvyššie prípustné množstvá a kritické hodnoty ťažkých kovov v pôde.

Tab. 1 Charakteristika pôdy z lokality Výčapy – Opatovce (obsahy N, K, Ca, Mg, P v mg.kg⁻¹)

N	K	Ca	Mg	P	pH/H ₂ O	pH/KCl	C _{ox} %	Humus %
2887,5	236	2887,5	340	9,657	6,22	5,89	1,537	2,65

Pre mobilitu a prijateľnosť ťažkých kovov rastlinnou je dôležitá výmenná pôdna reakcia. Pôda z vybranej lokality mala slabý kyslý charakter, ktorý výrazne ovplyvňuje prechod ťažkých kovov v systéme pôda – rastlina a vyznačovala stredným obsahom humusu.

Tab. 2 Obsahy ťažkých kovov v pôde získané z výluhov v lúčavke kráľovskej (mg.kg⁻¹)

	Zn	Cu	Mn	Fe	Cr	Cd	Pb	Co	Ni
lúčavka kráľovská	55,8	31,0	740,0	26280,0	32,0	0,56	107,2	1,4	37,4
limitná hodnota zákon 220/2004	150	60	-	-	70	0,7	70	15	50

Analýzy pôdnej vzorky na pseudototálne obsahy ťažkých kovov dokumentujú, že len hodnota olova prekročila zákonom stanovený limit. Obsah olova bol zhruba o 53 % vyšší ako je uvedené v zákone. Ostatné hodnoty ťažkých kovov boli výrazne pod limitom.

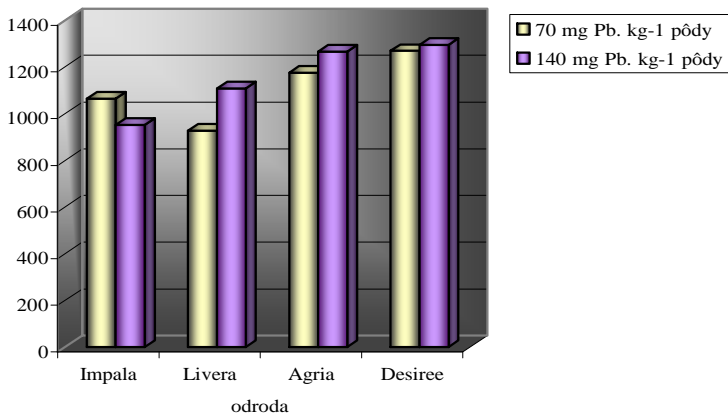
Tab. 3 Obsahy ťažkých kovov v pôde získané z výluhov v dusičnane amónnom (mg.kg⁻¹)

	Zn	Cu	Mn	Fe	Cr	Cd	Pb	Co	Ni
dusičnan amónny	0,09	0,03	1,985	0,165	0,015	0,022	0,195	0,13	0,15
kritická hodnota zákon 220/2004	2,0	1,0	-	-	-	0,1	0,1	-	1,5

Aj pri stanovení prístupných obsahov ťažkých kovov v pôde výsledky poukazujú, že kritická hodnota bola prekročená len u olova, a to o 95 % voči hygienickej norme.

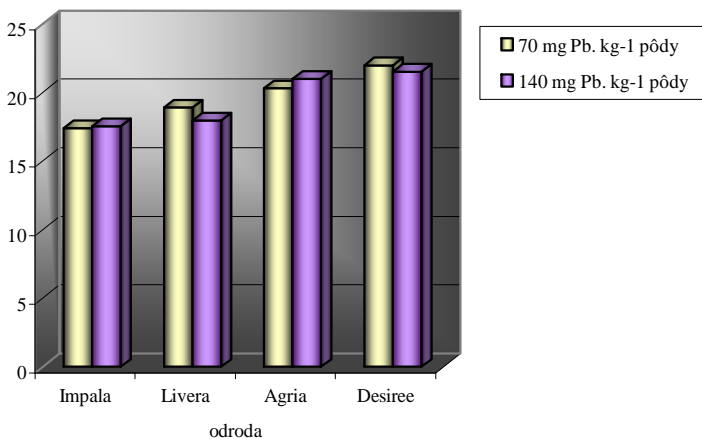
V nasledujúcich grafoch sú uvedené výsledky z chemických analýz, ktoré sme vykonávali na hľuzách a vňatiach ľuľka zemiakového.

Graf 1 Hmotnosť čerstvých hľúz (g)



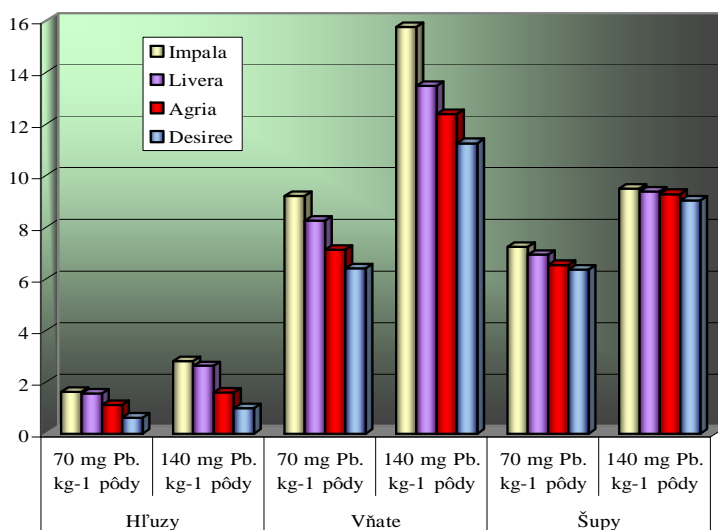
Graf 1 zobrazuje množstvo čerstvej hmoty a graf 2 uvádza množstvo získanej sušiny (%). Na oboch grafoch je viditeľná odrodová závislosť, pričom sme v oboch variantoch pokusu pri veľmi skorjej a skorjej odrode (Impala a Livera) zaznamenali viditeľne nižšiu hmotnosť čerstvých hľúz, ako aj % sušiny ako pri stredne skorjej a stredne neskorej odrode (Agria, Desiree).

Graf 2 Obsah sušiny v zemiakových hľuzách (%)



Na nasledujúcich grafoch sú zobrazené obsahy olova v jednotlivých anatomických častiach zemiaka (graf 3) a hodnotenie hygienickej nezávadnosti konzumnej časti zemiaka limitnou hodnotou Pb stanovenou zákonom ($0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$) (graf 4).

Graf 3 Obsah Pb v anatomických častiach zemiakov v suchej hmote (mg.kg^{-1})

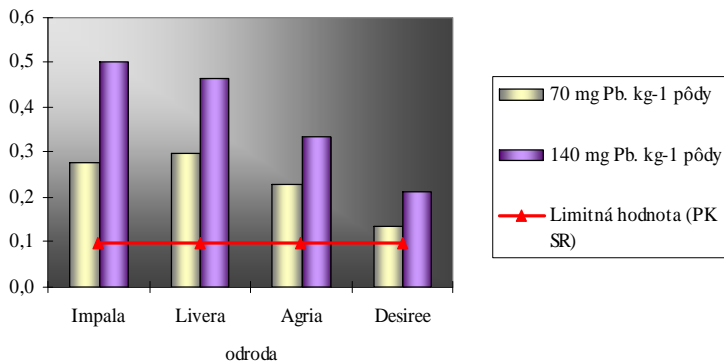


Analýzy viacerých autorov potvrdili, že najviac ťažkých kovov obsahujú korene, listy a stonky a najmenej semená, hľuzy a bulvy (Zawadska T., 1990; Jelínek F., 1990). Toto sa potvrdilo aj v našom experimente. Zemiakové hľuzy sa vyznačovali najnižším obsahom olova, pričom sa jeho obsah v prvom variante pohyboval okolo 1 mg.kg^{-1} . V druhom variante, s vyšším prídavkom Pb, vzrástol aj jeho obsah v zemiakových hľuzách. Najviac Pb kumulovala v oboch variantoch pokusu veľmi skorá odroda Impala ($2,8094 \text{ mg.kg}^{-1}$). Následne obsah Pb klesal v závislosti od odrody.

Najvyšší obsah Pb je v zemiakových vňatiach. Pri odrode Impala v druhom variante obsah Pb vo vňatiach dosahoval hodnoty $15,76 \text{ mg.kg}^{-1}$. Obsah olova zemiakových vňatiach a šupách vo všetkých prípadoch presahoval hodnoty 6 mg.kg^{-1} . Tak ako aj pri zemiakových hľuzách, aj pri vňatiach a šupách môžeme pozorovať odrodovú závislosť v poradí Impala>Livera>Agria>Desiree.

Príjem olova rastlinami z pôdy závisí od obsahu organickej hmoty v pôde, hodnoty pH pôdy, kationovo - výmennej kapacity, od koncentrácie fosforu a uhlíčanov, vápnika, horčíka a síranov. Na zníženie príjmu Pb rastlinami sa odporúča aplikácia organickej hmoty, fosforečných hnojív, úprava pôdnej reakcie vápnením, prekrytím kontaminovanej pôdy nekontaminovanou (Kozák – Jehlička, 1992).

Graf 4 Obsah Pb v čerstvých zemiakových hľuzách (mg.kg^{-1})



Hygienická nezávadnosť konzumnej časti ľuľka zemiakového sa hodnotila najvyšším prípustným množstvom (NPM) Pb podľa PK SR. V sledovaných vzorkách sme zaznamenali zvýšenú kumuláciu olova, z čoho vyplýva, že závažný limit ($0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$) bol prekročený vo všetkých odrodách. V prvom variante s nižším prídavkom Pb bol limit pri odrodách Impala, Livera a Agria prekročený 2- až 3-násobne. U stredne neskorej odrody Desiree sme zaznamenali len nepatrné prekročenie NPM. V druhom variante, s prídavkom $140 \text{ mg Pb.kg}^{-1}$ pôdy, bolo hodnota NPM výrazne prekročená vo všetkých odrodách.

ZÁVER

Z výsledkov sledovania transferu olova z pôdy do rastlín a jeho kumulácie v jednotlivých anatomických častiach ľuľka zemiakového vyplýva jeho zvýšená kumulácia v nejedlých častiach (vňate) a šupách, preto sa odporúča konzumácia ošúpaných zemiakov. Viacnásobné prevýšenie referenčnej hodnoty obsahu Pb v pôde má za následok aj jeho zvýšený príjem konzumnými časťami ľuľka zemiakového, pričom hodnota olova v zemiakových hľuzách v oboch variantoch prekročila zákonom stanovené limitné hodnoty ($0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$). Limitná hodnota bola najviac prekročená pri odrodách Impala a Livera. Najmenej prekročená limitná hodnota bola pri stredne neskorej odrode Desiree v oboch variantoch pokusu. Preto sa na zaťažených pôdach odporúča pestovať zemiaky s dlhším vegetačným obdobím.

LITERATÚRA

- Alloway, B. J. (1990): Heavy metal in soil. Blackie and son Ltd., Glasgow, 1990. 339 s.
- Cibulka, J. (1991): Pohyb olova, kadmia a rtuť v biostefe. Praha : Academia, 1991. 427 s. ISBN: 80 – 200 – 0401 – 7.
- Fecenko, J., Ložek, O. (2000): Výživa a hnojenie poľných plodín. Nitra : SPU, 2000. 442 s. ISBN 80-7137-777-5.

- Jelínek, F. (1990): Praktické využití výsledků rozborů cizorodých látek u obilovin v systémech pěstování polních plodin. In: Zemědělství a život. prostr. ČSVTS při VÚRV Praha-Ruzyne, 1990, s.89
- Kozák, J. – Jehlička, J. (1992): Retence vybraných těžkých kovů půdami. Pedologie a meliorace. 28, 3, 1992, s.3-11
- Mistrík, I. (2001): Vplyv nepriaznivých faktorov na rast a vývin rastlín. In *Biológia, Ekológia, Chémia*, roč. 6, 2001, č. 2, s. 22-25.
- Potravinový kódex SR, 2. časť, Hlava č.10 Kontaminanty v potravinách (výnos č.608/3/2004-100 z 15.marca 2004, aktualizované výnosom č. 1907/2004 - 100 z 21. júla 2004,č. 3372/2004-100 z 17. januára 2005).
- Tóth, T., Lazor, P. (1998): Cudzorodé látky v požívatinách. Nitra : SPU, 1998. 83 s. ISBN 80-7137-544-6.
- Vestník ministerstva pôdohospodárstva SR, ročník XXXVIII, 31. máj 2006, čiastka 11.
- Zákon 220/2004. „O ochrane a využívaní poľnohospodárskej pôdy a o zmene zákona č. 245/2003 Z. z. o integrovanej prevencii a kontrole znečisťovania životného prostredia a o zmene a doplnení niektorých zákonov.
- Zawadska, T. (1990): Contents of metals in vegetables from different regions of Poland in the years 1986-1988. I. Contents of lead, cadmium and mercury. Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny, 41, 3-4, 1990, p.11-131

EFFECT OF POST-HARVEST MATURATION ON GERMINATION QUALITY OF MALTING BARLEY VARIETIES

Polák O., Psota V., Sachambula L.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xpolak@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of the study was to follow the course of post-harvest maturation in nine malting barley varieties that have been currently most widespread in the Czech Republic. Four parameters characterizing germination (energy, rate, index, and homogeneity of germination) were monitored 3, 6, 9 and 12 weeks after achieving full ripeness. Considerable intervarietal differences in the length and intensity of post harvest maturation were determined. The variety Calgary was the variety with the longest post harvest maturation. All the studied parameters of germination, with the exception of germination energy, were affected by year from 14%, location even from 50% and variety maximally from 16%. Germination energy was significantly affected by the location even from 85%. The effect of year on the level of post harvest maturation declined with time and, conversely, the effect of variety and location increased.

Key words: barley, variety, post-harvest maturation, dormancy, germination

Acknowledgments: Results published in this paper were part of Research Program RIBM „Research of malting and brewing inputs“ supported by MŠMT ČR (MSM6019389369701).

ÚVOD

Několikatýdenní období po sklizni, kdy obilky ječmene klíčí jen pomalu a nejednotně za podmínek jinak pro klíčení vhodných, je obvykle označováno jako posklizňové dozrávání. Pro kvalitu sladu je ale velmi důležité, aby obilky dané partie klíčily rychle a jednotně.

Zárodky jsou obvykle schopné plně vyklíčit již 15 až 20 dní po opylení, pokud jsou izolovány z neporušené obilky a ponořeny do vody (BENECH-ARNOLD et al., 1999). V tomto období neklíčí zrno, ale pouze zárodek. V této části dormance působí endosperm, oplodí, osemení a pluchy jako bariéra bránící předčasnému klíčení (Lenoir et al., 1986). Výstup z dormance začíná zřídka před tím, než porost dosáhne plné zralosti. Po dosažení tohoto období některé odrůdy vystupují z dormance náhle (během několika dnů), některé postupně (během týdnů), a některé zůstávají dormantními po několik měsíců (BENECH-ARNOLD, 2001). Přirozený a rychlý výstup z dormance je přítom z hlediska sladařské technologie mimořádně důležitý. Rychlost a jednotnost klíčení obilky ječmene se po sklizni postupně zlepšuje. Toto období dormance je označováno termínem posklizňové dozrávání (PSOTA, ŠEBÁNEK, 1999). Mechanismus výstupu z dormance (posklizňového dozrávání) obilky ječmene je významným faktorem ovlivňujícím jeho biologickou a sladovnickou hodnotu. Hluboká a dlouhá dormance znamená pro sladovny finanční ztrátu, protože čerstvě sklizený ječmen klíčí pomalu a nejednotně.

Selekční tlak na dormanci vedl k vytvoření genotypů ječmene, u nichž je dormance ukončena před sklizní. Když je hladina dormance mezi plnou zralostí a sklizní příliš nízká, hrozí, že i krátkodobé (méně než 24 hodin) vystavení porostu dešti vyvolá růst zárodku (BENECH-ARNOLD, 2001). To může činit sladovnickému průmyslu problémy, protože je velmi složité přimět již jednou vyklíčenou obilku k opětovnému klíčení.

Ačkoliv je dormance podmíněna geneticky, je značně ovlivněna podmínkami, kterým je zrno před a po sklizni vystaveno (SVENSSON, LAGERSTRÖM 1966). Mnoho autorů se domnívá, že délka a intenzita dormance je ovlivněna především teplotou při dozrávání (například HILLHORST, 1995). Osamoceně stojí názor BURAASE a SKINNESE (1984), že dormance je recesivní znak s dominancí pro krátkou dormanci, který je řízen několika geny s vysokým koeficientem dědivosti. Podle nich neexistuje žádný těsný vztah mezi dormancí a průběhem počasí.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky obilky osmi odrůd (Bojos, Calgary, Diplom, Jersey, Prestige, Radegast, Sebastian, Tolar) byly v letech 2005 – 2008 odebrány každý rok z pěti pokusných míst ÚKZÚZ. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny pomocí analýzy rozptylu.

Parametry klíčení

Intenzita posklizňového dozrávání byla sledována v termínech 3, 6, 9 a 12 týdnů po datu plné zralosti. V průběhu posklizňového dozrávání byly sledovány následující parametry: energie klíčení (EK), rychlost klíčení (RK), index klíčení (IK), a homogenita klíčení (HK). Použité metody jsou popsány v odborné literatuře (Basařová et al. 1992, Psota et al. 1998, EBC 1998, Psota, Šebánek 1999).

Energie klíčení (EK)

Energie klíčení je procento vyklíčených zrn v daném čase (Basařová et al. 1992, EBC 1998). Do Petriho misky o vnitřním průměru 85 mm byly vloženy dva filtrační papíry a 100 obilek, na které byly dávkovačem kapalín odměřeny 4 ml vody. Vždy po 24, 48 a 72 h byly odstraněny naklíčené obilky. Výsledek je průměrem čtyř stanovení.

$$EK = (n_{24} + n_{48} + n_{72})$$

n_{24} , n_{48} , n_{72} - počet vyklíčených obilek po 24, 48 a 72 h

Rychlost klíčení (RK)

Rychlost klíčení je vypočtena z výsledků získaných při stanovení energie klíčení (4 ml) podle následujícího vzorce. Tato charakteristika vitality ječmene je na ústavu používána od 70.let minulého století (Kastner 1976, 1977, 1979).

$$RK (\%) = (5n_{24} + 3n_{48} + n_{72})/5$$

n_{24} , n_{48} , n_{72} - počet vyklíčených obilek po 24, 48 a 72 h

Index klíčení (IK)

Index klíčení je vypočten z výsledků získaných při stanovení energie klíčení (4 ml) podle následujícího vzorce. Index klíčení je bezrozměrné číslo (Riis et al. 1991)

$$IK = 10 * (n_{24} + n_{48} + n_{72}) / (n_{24} + 2n_{48} + 3n_{72})$$

IK - index klíčení

n_{24} , n_{48} , n_{72} - počet vyklíčených obilek po 24, 48 a 72 h

Homogenita klíčení (HK)

Partie ječmene mnohdy vykazují různou životnost (danou EK). Pro dosažení optimální hodnoty energie klíčení jsou partie ječmene mícháány. To však může vést k nepříjemně nízké hodnotě homogenity klíčení (Riis, Bang-Olsen 1991).

Homogenita klíčení je definována jako:

$$GH = 100 \left(1 - \frac{SD}{SD_{max}} \right)$$

SD je směrodatná odchylka průměrného času klíčení a je vypočtena následovně:

$$SD = \frac{\sum_{i=1}^5 n_i (i - MGT)^2}{\sum_{i=1}^5 n_i}$$

n_i - počet vyklíčených obilek v jednotlivých dnech sledování (v našem případě po 24, 48 a 72 h)

i - dny klíčení (v našem případě 1,2,3)

$$MGT = \frac{n_{24} + 2n_{48} + 3n_{72}}{n_{24} + n_{48} + n_{72}}$$

n_{24} , n_{48} , n_{72} - počet vyklíčených obilek po 24, 48 a 72 h

$$SD_{\max} \text{ je } SD_{\max} = \frac{i_{\max} - i_{\min}}{2} = \frac{3 - 1}{2} = 1$$

i_{\max} - počet dní klíčení (v našem případě 3)

i_{\min} - nejmenší počet dní klíčení (1)

VÝSLEDKY A DISKUZE

Kvalita klíčení v průběhu posklizňového dozrávání byla hodnocena několika znaky. Přičemž energie klíčení udává množství vyklíčených obilek za 72 h. Potenciál zkoumaného vzorku ječmene pro rychlé a jednotné klíčení byl charakterizován znaky rychlost klíčení a index klíčení. Dále byla sledována homogenita klíčení. Tři týdny po dosažení plné zralosti byl mezi odrůdou s nejvyšší (Jersey) a nejnižší (Radegast) energií klíčení rozdíl necelých 8 %. V této době ovlivnil ročník energii klíčení z 25 % a lokalita z 28 %. Vliv odrůdy byl zanedbatelný. S postupem času se rozdíly mezi odrůdami zmenšovaly a 12 týdnů po dosažení plné zralosti už nebyly mezi odrůdami rozdíly statisticky významné. Vliv ročníku a odrůdy byl v této době nulový, ale výrazný vliv měla lokalita (35 %). Potenciál zkoumaných vzorků ječmene pro rychlé a jednotné klíčení byl charakterizován znaky rychlost klíčení a index klíčení. Tři týdny po dosažení plné zralosti byl rozdíl mezi odrůdou s nejvyšší (Jersey) a nejnižší (Calgary) hodnotou rychlosti klíčení 10 % a indexu klíčení (0,9). Rychlost a index klíčení byly v této době výrazně ovlivněny lokalitou (55 % resp. 50 %) a méně ročníkem (28 % resp. 20 %), vliv odrůdy byl zanedbatelný. Oproti energii klíčení byly u těchto dvou znaků ještě 12 týdnů zjištěny statisticky významné rozdíly mezi odrůdami. Nejrychleji klíčila odrůda Diplom (87 resp. 7,75). Nejnižší hodnoty byly zaznamenány u odrůdy Calgary (75 % resp. 6,5). Vliv ročníku byl na konci sledování na úrovni 11 % resp. 16 %, vliv lokality na úrovni 51 % resp. 42 %. Odrůda ovlivnila tyto znaky z 13 % resp. z 16 %. Z hlediska sladařského je vedle rychlosti klíčení důležitá také jednotnost klíčení. Homogenita klíčení byla tři týdny po dosažení plné zralosti na úrovni 40 – 46 %. Nejnižší hodnota byla zaznamenána u odrůdy Bojos a nejvyšší u odrůdy Jersey. Homogenita klíčení byla v této době ovlivněna především lokalitou (22 %), význam vlivu ročníku a odrůdy byl minimální. Dvanáct týdnů po dosažení plné zralosti se homogenita klíčení zlepšila a dosahovala hodnot 47 - 55 % a zvýraznily se rozdíly mezi odrůdami. Nejnižší hodnota byla zjištěna u odrůdy Calgary a nejvyšší u odrůdy Diplom, což koresponduje s výsledky dosaženými u rychlosti a indexu klíčení. Ve sledovaném souboru osmi odrůd byly zjištěny výrazné meziodrůdové rozdíly, ale zároveň bylo zjištěno, že většina odrůd má velmi podobný průběh posklizňového dozrávání. Jestliže srovnáme toto sledování s obdobným sledováním z počátku 90. let, můžeme konstatovat, že v sortimentu sladovnických odrůd registrovaných v České republice došlo k výraznému zúžení meziodrůdových rozdílu ve sledovaných parametrech klíčení. Ze sortimentu zmizely odrůdy s dlouhým posklizňovým dozráváním typu odrůd Rubín nebo Krona (Psota, Procházka, 1998).

ZÁVĚR

Studie se zabývá sledování průběhu posklizňového dozrávání u osmi ((Bojos, Calgary, Diplom, Jersey, Prestige, Radegast, Sebastian, Tolar), v současné době v České republice, nejrozšířenějších odrůd sladovnického ječmene. Pro sledování bylo použito čtyř znaků charakterizujících klíčení (energie, rychlost, index a homogenita klíčení). Sledování probíhalo 3, 6, 9 a 12 týdnů po dosažení plné zralosti. Byly zjištěny značné meziodrůdové rozdíly v délce a intenzitě posklizňového dozrávání. Odrůda Calgary se projevila jako odrůda s nejdelším posklizňovým dozráváním. Sledované znaky klíčení, kromě energie klíčení, byly ovlivněny ročníkem z 14 %, lokalitou až z 50 % a odrůdou maximálně ze 16 %. Energie klíčení byla výrazně ovlivněna lokalitou a to až z 85 %. Podíl ročníku na úrovni posklizňového dozrávání s časem klesal a naopak stoupal podíl odrůdy a lokality.

LITERATURA

BASAŘOVÁ, G. (ed.): Pivovarsko-Sladařská analytika 1. Merkanta, Praha 1992, 385 stran.

BENECH-ARNOLD, R.L.: 1998: In RODRÍGUEZ, V.M., MARGINEDA, M., GONZÁLEZ-MARTÍN, J.F., INSAUSTI, P., BENECH-ARNOLD, R.L.: Predicting preharvest sprouting susceptibility in barley: A model based on temperature during grain filling. *Agronomy journal*, 2001, Vol. 93.

BENECH-ARNOLD, R.L., GIALLORENZI, M.C., FRANK, J. A RODRIGUEZ, M.V., 1999: In RODRÍGUEZ, V.M., MARGINEDA, M., GONZÁLEZ-MARTÍN, J.F., INSAUSTI, P., BENECH-ARNOLD, R.L.: Predicting preharvest sprouting susceptibility in barley: A model based on temperature during grain filling. *Agronomy journal*, 2001, Vol. 93.

BURAAS, A., SKINNES, H.: Genetic investigations on seed dormancy in barley. *Hereditas*, 1984, Vol 101. EBC: Analytica EBC, Getränke-Fachverlag Hans Carl, Grundwerk 1998, 112 stran.

HILHORST, H.W.M., 1995 In: RODRÍGUEZ, V.M., MARGINEDA, M., GONZÁLEZ-MARTÍN, J.F., INSAUSTI, P., BENECH-ARNOLD, R.L.: Predicting preharvest sprouting susceptibility in barley: A model based on temperature during grain filling. *Agronomy journal*, 2001, Vol. 93.

LENOIR, C., CORBINEAU, F., CÔME, D., 1986 IN RODRÍGUEZ, V.M., MARGINEDA, M., GONZÁLEZ-MARTÍN, J.F., INSAUSTI, P., BENECH-ARNOLD, R.L.: Predicting preharvest sprouting susceptibility in barley: A model based on temperature during grain filling. *Agronomy journal*, 2001, Vol. 93.

PSOTA, V., ŠUSTA, J., KOSAŘ, K.: Homogenita a modifikace sladu II. Klíčení zrna, chuť piva. *Kvasný Průmysl* 44, 1998.

PSOTA, V., PROCHÁZKA, S.: IAA, ABA, and germination of spring barley caryopses during post-harvest maturation. *J. Inst. Brew.*, 104, 1998.

PSOTA, V., ŠEBÁNEK, J.: Role fytohormonů v klíčení a sladování, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha, 1999, 53 stran.

PSOTA, V., ŠEBÁNEK, J.: Za tajemstvím růstu rostlin; návody k experimentům. *Scientia*, Praha, 1999, 187 stran.

SVENSSON,G., LAGERSTRÖM,G., 1966 In Auranen, M.: Pre-harvest sprouting and dormancy in malting barley in northern climatic conditions. Acta Agriculturae Scandinavica, Sect., Soil and Plant Science 1995, Vol. 45.

ESTIMATION OF THE ANTIOXIDATIVE PROPERTIES OF THE NATURAL POLYPHENOLS IN THE OXIDATION PROCESS OF MODEL LIPOSOME MEMBRANES

Sierzant K.

Department of Animal Nutrition and Feed Quality, Wrocław University of Environmental and Life Sciences, Chelmońskiego str. 38D, 51-630 Wrocław

E-mail: kamil.sierzant@gmail.com.

Gabrielska J.

Department of Physics and Biophysics, Wrocław University of Environmental and Life Sciences, Norwida str. 25/27, 50-375 Wrocław

E-mail: janina.gabrielska@up.wroc.pl

The experiment was conducted to proof the new natural plant extracts (Fagopyrum Mill. (buckwheat), Crataegus ex L., (hawthorn), Hypericum L. (St-John's-wort's) and Helichrysum arenarium) and selected flavonoids as reference substances for the *in vitro*. The probing was performed as considering four different parameters: the antioxidant activity, the antiradical activity – DPPH[•] test, the DPH test and the CF test. The results of antioxidative test of studied extracts show high antioxidant activity against UVC induced peroxidation of phosphatidylcholine (PC) liposomes membranes (except Helichrysum). The main consistent parameter for antioxidant activity was IC₅₀^{PC} (Inhibition Concentration 50 PC – the concentration of antioxidant which reduces peroxidation intensity of phosphatidylcholine liposomes about 50%). Values of IC₅₀^{PC} were following: buckwheat – hulls (20,8 mg/L) ≥ hawthorn – cortex (21,6 mg/L) > Hypericum L. (25,4 mg/L) > hawthorn – leaves (26,8 mg/L) > buckwheat – stems (29,1 mg/L) >> Helichrysum (121,6 mg/L). The DPPH[•] free radical test results (IC₅₀^{DPPH} – the concentration of antioxidant which reduces the free radical DPPH[•] about 50%) show the high antiradical activity of majority extracts (IC₅₀^{DPPH} = 2,7 – 7,4 mg/L), except Helichrysum (IC₅₀^{DPPH} = 34,0 mg/L). The similar relationship between antiradical activity (IC₅₀^{DPPH}) and antioxidant activity (IC₅₀^{PC}) for the Hypericum L., buckwheat – stems and hawthorn – leaves, suggest possible mechanisms of the extracts activity, as the free radical scavengers (scavenger = substance that can deactivates Reactive Oxygen Species or Reactive Nitrous Species). The examination the possibility association of studied extracts to liposomes membrane was one of other aims. Its realization was used with the DPH method to assignment the coefficient of constant association (1/K_D). The values of 1/K_D of the test extracts (ranged 709 – 999 L/mg) with PC liposomes membrane, may suggest their role as substances to protect the membrane from reactive oxygen species. The influence of studied extracts on structure of PC liposome membranes was also verified using CF test. The intensity of leakage from liposomes under presence of investigated flavonoids was examined using the carboxyfluorescein (CF) marker. It shown that compounds in general (except buckwheat stems) do not trigger malicious actions on the PC membrane liposomes. Percentage of carboxyfluorescein leakage at various concentration of extract for which got the IC₅₀^{PC}, didn't cross the 2 % (except buckwheat stems = 10,90 %). The obtained results demonstrate possibility of using them (except Helichrysum) as antioxidants in food and pharmaceutical or cosmetics industry.

Key words: - natural extracts, antioxidants, peroxidation, liposomes, free radicals, flavonoids

The presence of free radicals in organism is natural consequence of oxygenic metabolism. A free radical is an atom, molecule, or ion that contains one or more unpaired electrons and is more reactive than their parent species. Free radicals can realize oxygenation or reduction reactions, that damage the many biological molecule and cause food rancid [Ferrari & Torres, 2002; Kerr et al., 1996; Evans & Halliwell, 1999]. The living organisms adapted to their destructive action, producing many defensive mechanisms. These enzymatic or low molecular mechanisms transform free radicals to less toxic products or deactivate them. The examples of low molecular defense are tocopherol (vitamin E), ascorbate (vitamin C) or carotenes. Defensive systems are not sufficiently effective, and their performance undergoes slightness alongside with age. It is widely agreed, that increasing morbidity on civilization diseases and their complication is relevant with occurrence oxidative stress. Free radicals are stirred up in many pathological processes, especially in arteriosclerosis, Parkinson's syndrome, Alzheimer disease, cataract and tumours. Delivery to organism substances which have antioxidative proprieties may delay the degenerative processes which occur in organism. Biochemical studies prove, that flavonoid components present in plants can be an important preventive factor against cardiovascular diseases which can confirm e.g. the "French paradox" [Miller et al., 2008; Howard et al., 2002]. Flavonoids are classifies to wide group chemical compounds – polyphenols, and they are produced mainly by plants. These substances cover a wide range of functions. There are producing in response to the immoderate UV radiation, ions of transition metals, thermal shock, or as the reaction to fungal infection [Wojcieszynska & Wileczek, 2006]. The most important sources of flavonoids are drinks such as coffee or tea, fruits and vegetables. Efficacy of many pharmacists is also a result of presence in them a polyphenols extracts (e.g. *Gingko bilobae*). The antioxidant properties of flavonoids are the result of presence in their molecular structure a hydroxyl groups, associated with the benzene ring [Gawlik-

Dziki, 2004]. The most important mechanisms of their action consist: deactivation of active forms of oxygen or nitrogen (known as scavengers), interruptions free radical chain reactions, reduction of reactive oxygen or nitrogen species through giving an electron of the hydrogen atom.

The examples of plant used in the herbalism and in the pharmaceutical industry are among others: a St John's wort (*Hypericum perforatum*, *Hypericum L.*), a hawthorn (*Crataegus L.*), a helichrysum (*Helichrysum arenarium*) and a buckwheat (*Fagopyrum Mill.*).

John's Wort is a perennial plant occurring in subtropical and temperate climates and on mountainous areas of the tropical zone. Among the polyphenolic components present in *Hypericum perforatum* (*Hypericum L.*), might mention among others: coffee acid [Škerget et al, 2003], chlorogenic acid, neochlorogenic acid, *p*-coumaric-chinoninic acid, (+)catechin, (-)epicatechin, rutin (Rutosyde), quercetin-3-galactoside, quercetin-3-glucoside, quercetin-3-rhamnoside, kaempferol-3-glucoside, biapigenin [Oszmiański, 1993-1996], anthocyanins and xanthones [Mulinacci et al, 2007]. The studies Sánchez-Reus'ai et al conducted on rat brains showed, that the antioxidant activity of extracts of St. John's wort may reduce the amount of an oxidative damage, which is one of the causes of degenerative changes in the central nervous system (e.g. dementia, Alzheimer disease, Parkinson disease) [Sánchez-Reus'ai et al, 2007].

Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) is a species of grain that belongs to the family Polygonaceae. It comes from Central Asia gangways. The following polyphenols are found in this plant: rutin, quercetin, quercetin glycosides, apigenin [Oszmiański, 1993-1996], orientin, isoorientin, isovitexin, vitexin [Dolatoski et al, 2006] and catechin [Amarowicz, 2006]. Investigation Dolatoski et al have demonstrated the possibility of using buckwheat as a component of limiting fat rancidity in meat products [2004-2006].

Hawthorn (*Crataegus L.*) is a plant belonging to the Rosaceae family, appearing in areas of the northern hemisphere of America, of Asia and in Europe. Hawthorn extracts contain: vitexin rhamnoside, rutin, quercetin-3-glucoside, spirenin and flavones glycosides. To the other components belong also: terpenic acids and trace amounts of essential oils [Urbanavičiūtė et al, 2006]. The study of the properties of components contained in extracts of hawthorn have shown their antisclerosis effect, among others due to lowering the levels of LDL oxidation [Rajendran et al, 1995]. Components such as vitexin-2''-O-rhamnoside and proejamidin oligomers increase the strength of contraction and reducing the excitability of the cardiac muscle [Orhan et al, 2007; Recheński & Kurpesa, 2003].

Helichrysum is a widespread plant in Europe belonging to the family Asteraceae. In this plant the following biocomponents of flavonoids were identified: kaempferol, kaempferol-3-O-glucoside, apigenin, apigenin-7-O-glucoside, chlorogenic acid [Lemberkovic et al, 2001], neochlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, derivatives dicoffeechinon acid and chalcone derivative of isosalipurposide. The chalcone derivatives give a yellow color of flowers helichrysum [Poblocka-Olech & Krauze-Baranowska, 2007].

The literature reports about the use of PC liposomes as a model biological membranes to verify the antioxidant activity of extracts of these plants are modest. Therefore, the main aim of this investigations was estimation of the antioxidative properties of the natural polyphenols extracts from *Fagopyrum Mill.* (buckwheat, hulls and stems), *Crataegus ex L.* (hawthorn, cortex and leaves), *Hypericum L.* (St -John's -wort's) and *Helichrysum arenarium* and selected flavonoids as reference substances for the *in vitro* oxidation process of model liposome membranes. The studies using free radical DPPH' test and the DPH probe test was aimed to determine the probable mechanism of antioxidant properties of these extracts and their relationship with the ability for incorporation into the membrane.

Material and methods

• **Reagents used to conduct experiments:** Bufor „A” – Phosphate buffer; CF – 5(6)-Carboxyfluorescein; DPH – 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene; DPPH' – 1,2- diphenylpicrylhydrazyl; Etanol; Metanol; PC – Phosphatidylcholine lecithin; Sephadex G-50; TBA – thiobarbituric acid; TCA – tricarboxic acid; TrisHCl - 2-Amino-2-(hydroxymethyl)-1,3-propanediol;

Antioxidants:

- **Sigma – Aldrich Deisehoffen, Germany:** Rutin hydrate (quercetin-3-rutioside, C₂₇H₃₀O₁₆ · 2H₂O), Quercetin hydrate (3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone, C₁₅H₁₀O₇ · 2H₂O), Chlorogenic acid (1,3,4,5-tetrahydroxy cyclohexanecarboxylic acid 3-(3,4-dihydroxycinnamate, C₁₆H₁₈O₆);
- **Carl Roth GmbH x 7685, Karlsruhe:** (-)Epicatechin (C₁₅H₁₄O₆);
- **Department of Fruit and Vegetables Technology [Oszmiański, 1993, 1995]:** extracts from *Fagopyrum esculentum* Moench (buckwheat), *Crataegus ex L.* (hawthorn), *Hypericum L.* (St -John's -wort's) and *Helichrysum arenarium* (helichrysum);

The various extracts were dissolved in methanol, ethanol, TrisHCl buffer (pH 7.4) or phosphate buffer (pH 7.4).

Liposome preparation

Antioxidant activity

The lecithin was dried in atmosphere of nitrogen and incubated under vacuum for 30 min. Tris(hydroxymethyl)aminomethane]-HCl buffer (pH 7.4) was added according to the proportion of 1.5 mg PC/ml buffer. Phosphatidylcholin [PC] was then sonicated for 5 min at 0 °C.

The DPH test

30 μl of Phosphatidylcholine with 11 μl DPH probe was dried in atmosphere of nitrogen and incubated under vacuum for 30 min. After adding 3 ml of phosphate buffer (pH 7.4), lecithin was sonicated for 10 min at 0 $^{\circ}\text{C}$.

The CF test

50 μl of lecithin was dried in atmosphere of nitrogen and incubated under vacuum for 30 min. To the received lipid film was added 37.5 mg of Carboxyfluorescein (CF) and 0.5 ml of phosphate buffer (pH 7.4).

Antioxidant activity

2.9 ml suspension of lecithin liposomes (PC) were obtained from the solution, and transferred to beakers of 50 ml with magnetic stirring device. The tested extract in an appropriate concentration was added, complementing the buffer to a constant volume of 100 μl . Beaker with a blank sample contained 100 μl TrisHCl buffer to obtain the initial volume of 3 ml. The mixture was incubated for 15 minutes, then collected two 0.5 ml samples to determine the level of oxidation. The remaining amount of liposomal dispersion irradiated UVC radiation for 30 minutes. After this time, collected two consecutive samples (0.5 ml). Sample and test reagents supplemented than with 1 ml TBA and TCA, covered with glass marbles and incubated for 15 min at 90 + 100 $^{\circ}\text{C}$. After cooling the samples was centrifuged 15 min at a rate of 2500 rpm (centrifuge Multifuge 3L-R). Measuring the absorbance at $\lambda = 535$ nm were made in the spectrometer Cary 300 Bio Varian Company, which was resetting in the presence of the blank sample. Percent oxidation of the samples was calculated from the formula:

$$\% \text{ Inhibition} = [(\Delta A_{\lambda} - \Delta A_{\lambda} / \Delta A_0)] \cdot 100 \% \quad [1]$$

Where: ΔA_{λ} - an increase of absorbance at $\lambda = 535$ nm, after the time T_{30} in the presence of an antioxidant; ΔA_0 - increase of absorbance at $\lambda = 535$ nm, after the time T_{30} without the addition of antioxidant; The $\text{IC}_{50}^{\text{PC}}$ (Inhibition Concentration 50 PC - the concentration of antioxidant which reduces peroxidation intensity of Phosphatidylcholine liposomes about 50%) parameter was determined using Microsoft Excel 2007. On linear graph section of the percentage of inhibition according to the concentration of the extract a trend line equation: $y = ax + b$ was determined. $\text{IC}_{50}^{\text{PC}}$ was calculated by transforming the equation above and the expression x at which y-value is 50% was accepted as unknown.

The DPPH[•] test

2.8 mg of a stable radical DPPH[•] was dissolved in 100 ml of methanol. Then the absorbance was read at $\lambda = 516$ nm, and examined whether not exceed 1. The sample was a 3 ml solution (DPPH[•] + antioxidant). The control sample and containing the extract samples was prepared. Solution of DPPH[•] was protect against light. The measurement was performed in a Cary 300 Bio spectrophotometer at $\lambda = 516$ nm for a time t_0 and after adding the extract and 15 minutes of incubation to the stirrer. The samples were left under a cover.

$$\% \text{ Reduction} = [A_{\lambda} - A_{\lambda} / A_0] \cdot 100 \% \quad [2]$$

Where: A_{λ} - absorbance at $\lambda = 516$ nm, 15 minutes after the time in the presence of antioxidant; A_0 - absorbance at $\lambda = 516$ nm, after a period of 15 minutes without addition of antioxidant; The $\text{IC}_{50}^{\text{DPPH}^{\bullet}}$ (the concentration of antioxidant which reduces the free radical DPPH[•] about 50%) parameter was determined using Microsoft Excel 2007. On linear graph section of the percentage of inhibition according to the concentration of the extract a trend line equation: $y = ax + b$ was determined. $\text{IC}_{50}^{\text{DPPH}^{\bullet}}$ was calculated by transforming the equation above and the expression x at which y-value is 50% was accepted as unknown.

The DPH test

A sample with a capacity of 2500 μl was obtained from 300 μl of PC liposomes with DPH probe fluoresceinyl (1,6-diphenyl-1,3,5-hexatrien) and 2.2 ml of phosphate buffer (buffer A, pH = 7.4). The fluorescence intensity was measured at a wavelength $\lambda_{\text{excitation}} = 360$ nm and $\lambda_{\text{emission}} = 425$ nm in the fluorimeter SFM25 from Kontron Instruments Company. Measurement were made every 60 seconds from the time of reading the value of F_0 , and after each measurement by adding a portion of the extract. The fluorescence intensities were read until the required decrease in fluorescence intensity of the test compound. Association constants was calculated using the method of Stern-Volmer, with the Verkmán equation [1979]:

$$[1/(F_0/F_s) - 1] = [K_D/[PC]] \cdot [1/s] + [1/PC] \quad [3]$$

which maps the linear trend of graph of the expression: $[1/(F_0/F_s) - 1]$ as a function of the inverse of the concentration of substances to be added, according to the equation: $y = ax + b$, where: $[F_0/F_s]$ - relative fluorescence; K_D - dissociation constant; $[s]$ - the concentration of antioxidant in the sample;

$[PC]$ - the concentration of Phosphatidylcholine in samples equal to 0.12 mg/ml; Parameter for the association constant (K_a) assumed the inverse of the parameter K_D (dissociation constant), $K_a = 1/K_D$.

The CF test

To the column affixed gel, which was obtained by dissolving 2 g Sephadex ® G-50 in 30 μl of buffer TrisHCl (pH 7.4). Then deposited the solution liposomes with Carboxyfluorescein (CF) and washed TrisHCl buffer. After 10 minutes separated the free Carboxyfluorescein fraction from liposomes (1.5 ml) which contained a CF marker closed. The mixture was diluted 10x with TrisHCl buffer.

The sample consisted 50 ml of dilute solution of liposomes with Carboxyfluorescein and a known quantity of antioxidant. Then supplemented TrisHCl buffer to a volume of 2.5. Blank sample contained a mixture of liposomes with Carboxyfluorescein and TrisHCl. The fluorescence intensity was measured at a wavelength $\lambda_{\text{excitation}} = 490 \text{ nm}$ and $\lambda_{\text{emission}} = 520 \text{ nm}$ in the fluorimeter SFM25 Kontron Instruments Company by 10 minutes. The remaining amount of Carboxyfluorescein was released by the breakdown of liposomes using a 10% solution of Triton X-100 (20 μl). Relative increase in fluorescence Carboxyfluorescein was calculated by the formula:

$$\text{Carboxyfluorescein release [\%] CF} = [F_t - F_0/F_{\infty}] \cdot 100 \quad [4]$$

Where: F_0 - initial fluorescence tests, F_t fluorescence after incubation time t , F_{∞} - final fluorescence after addition of Triton.

Results and discussion

TEST COMPOUNDS	Values of parameter	Values of parameter	Values of parameter	Estimated value of CF
	$\text{IC}_{50}^{\text{PC}}$ [mg/L]	$\text{IC}_{50}^{\text{DPPH}}$ [mg/L]	$1/K_D$ [L/mg]	leakage for parameter $\text{IC}_{50}^{\text{PC}}$ [%]
<i>Hypericum L.</i>	25,4	3,5	709	1,72
buckwheat – hulls	20,8	7,4	981	1,95
buckwheat – stems	29,1	6,9	729	10,90
hawthorn – cortex	21,6	3,0	896	0,20
hawthorn – leaves	26,8	2,7	868	0,24
helichrysum	121,6	34	999	1,50

Tab. 1. Summary results of the test extracts, for the antioxidative test, antiradical test, DPH test and CF test.

Antioxidant activity

The inhibitory effects of buckwheat, hawthorn, *Hypericum L.* and helichrysum on the rate of UVC irradiation peroxidation are illustrated in Fig. 1 – 6. The extracts of *Hypericum L.* (Fig. 1), buckwheat hulls (Fig. 2), buckwheat stems (Fig. 3), showed higher antioxidant activity in relation to rutin (reference substance). Similar effect was obtained for hawthorn (cortex and leaves, Fig. 4 – 5) in relation to epicatechin. The obtained results may suggest the possibility of a synergistic action of the different fractions of extracts, due to their diverse structures and related properties [Foti i wsp. 1996, Sokół-Lętowska et al. 2002-2004]. Another effect was observed in an extract from the helichrysum (Fig. 6), which showed significantly lower activity than quercetin and chlorogenic acid, and the lowest activity among all tested compounds. The efficacies of these compounds as antioxidants were evaluated as the $\text{IC}_{50}^{\text{PC}}$ (PC = Phosphatidylcholine liposomes) parameter. The $\text{IC}_{50}^{\text{PC}}$ parameter (Inhibition Concentration 50 % PC) indicates the concentration of antioxidant which reduces peroxidation intensity of Phosphatidylcholine liposomes about 50% [mg/L]. The results are shown in Fig. 7 and in Table 1. The values of $\text{IC}_{50}^{\text{PC}}$ are following: buckwheat – hulls (20,8 mg/L) \geq hawthorn – cortex (21,6 mg/L) $>$ *Hypericum L.* (25,4 mg/L) $>$ hawthorn – leaves (26,8 mg/L) $>$ buckwheat – stems (29,1 mg/L) \gg helichrysum (121,6 mg/L).

The DPPH' test

The DPPH' (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) free radical test is usually used in measurements of antiradical activity. Figures 8 - 13 show the percentage reduction of DPPH' radical on depending to the concentration of the obtained extracts. The antiradical properties of these compounds were evaluated as the $\text{IC}_{50}^{\text{DPPH}}$ - the concentration of antioxidant which reduces the free radical DPPH' about 50% (Fig. 14). The extracts of buckwheat (hulls and stems, Fig. 9 – 10) and hawthorn (cortex and leaves, Fig. 11 – 12) obtained a lower ability of reducing free radicals in relation to their standards (rutin, epicatechin). These results do not confirm a similar sequence of antioxidant activity obtained for PC liposomes peroxidation. The activity of both extracts of buckwheat were almost the same. A similar ability of scavenging free radicals in comparison to the antioxidant activity demonstrated the extracts of *Hypericum L.* (Fig. 8) and helichrysum (Fig. 13). The sequence of antiradical activity of test substances is as follows: hawthorn – leaves (2,7 mg/L) $>$ hawthorn – cortex (3,0 mg/L) $>$ *Hypericum L.* (3,5 mg/L) $>$ buckwheat – stems (6,9 mg/L) $>$ buckwheat – hulls (7,4 mg/L) $>$ helichrysum (34 mg/L). These values for the majority of extracts are within the range 2.7 mg/L – 7.4 mg/L. Only the helichrysum extract received a significantly worse result (34 mg/L.), which was more than 12,5 times higher than the extract of hawthorn.

The DPH test

Determination the possibility of association studied extracts to liposomes membrane was made using the DPH (1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene) method. The efficacies of studied extracts were evaluated as the degree of inhibition of the fluorescence intensity on the probe DPH. Association constants was calculated using the method of Stern-Volmer. It is expected that higher values of association constants ($1/K_D$) may correlate with better protection of membranes against free radical attack, penetrating the membrane. The values of $1/K_D$ of the

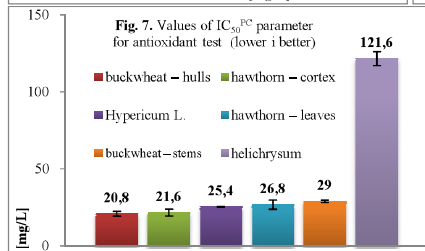
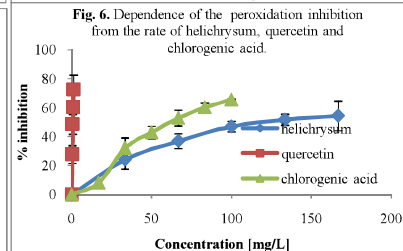
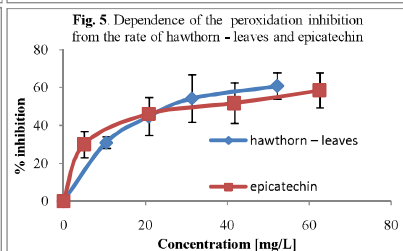
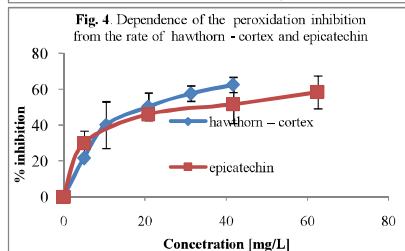
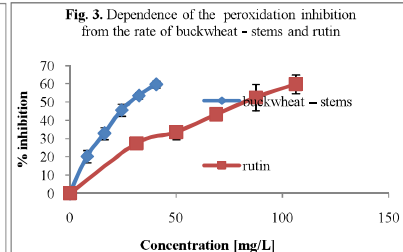
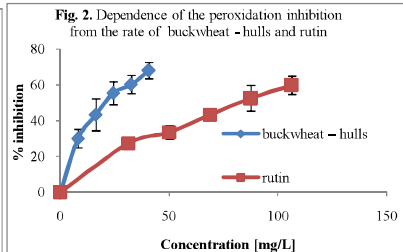
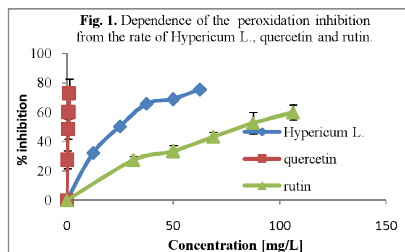
test extracts are ranged in 709 – 999 L/mg. Analysis of the results for extracts from buckwheat (hulls and stems) show a weak correlation between their antioxidant activity and the intensity of binding to the membranes of liposomes PC. It should be noted, that it is difficult to discuss the differences between the values $1/K_D$ for the studied extracts, because they are of the same order. By contrast, *Hypericum L.* despite the relative good antioxidant activity in relation to the oxidation of lipid membranes (25.4 mg / L) and very good activity against radical DPPH[•] (3.4 mg / L), relatively less tied to the surface of liposomes (709 L / mg). This observation suggests, that the protection of the liposomal membranes against UVC irradiation is mainly the result of scavenging a hydroxyl radical, which arises under the influence of UV light. Also, the literature subject points often to the ability of scavenging reactive oxygen species by flavonoids and polyphenols extracts. Scavenging mechanism were demonstrated by Benedi et al. [2004] on the example of reduction oxidative damage by *Hypericum L.* polyphenols extract in the brains of rats. The results for hawthorn leaves extract has shown repeat sequences results from the antioxidant activity and complexation constant value, but remained in negative correlation with the DPPH[•] test results. For the cortex of hawthorn, the sequence of activities in the experiments was very similar. This suggests the existence of many different factors affecting the mechanism of antioxidant activity of extracts, which are a mixture of different substances. In summary, all of the tested extracts except helichrysum have value of IC_{50}^{DPPH} parameter in the same order of magnitude. This suggests one of the possibility mechanisms of antioxidant action the most of extracts (except helichrysum) as scavengers of free radicals.

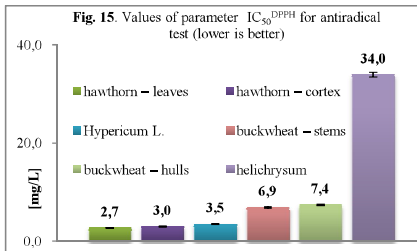
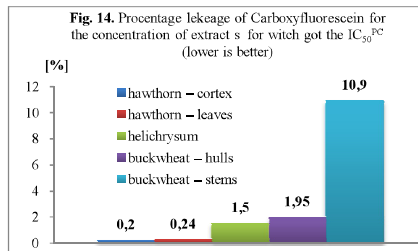
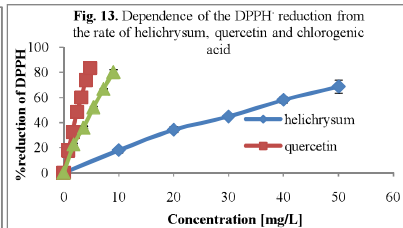
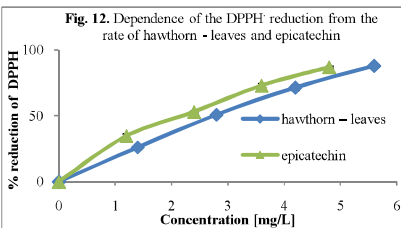
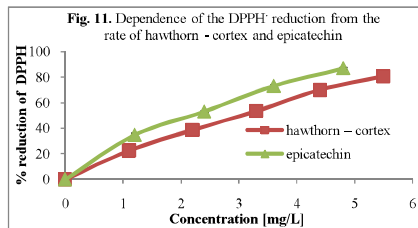
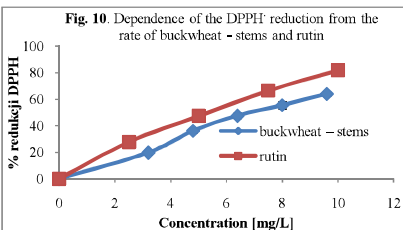
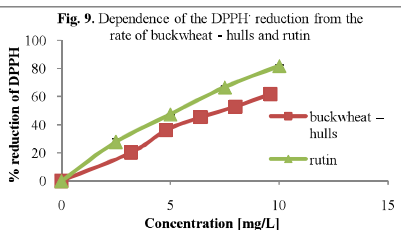
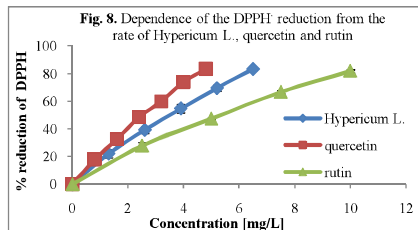
The CF test

The last stage of this study was to determine the negative impact of present the extracts on the lipid phase of membranes. This objective were realized by using Carboxyfluorescein (CF), they used as marker for the percentage leakage of the content in the presence various concentration of extracts. The results shown in Table 1 and Fig. 15 presents the percentage leakage of Carboxyfluorescein from liposomes obtained for the concentration of antioxidants for witch got the values of parameter IC_{50}^{PC} . The results show, that percentage leakage of Carboxyfluorescein didn't cross the 2 % for the most extracts. Only for extract from buckwheat stems reached the value 10,90 % and exceeded more than 54 times the value obtained for the leaves of hawthorn. The order of the results is as follows: hawthorn – leaves (0,20 %) > hawthorn – cortex (0,24 %) > helichrysum (1,50 %) > *Hypericum L.* (1,72 %) > buckwheat – hulls (1,95 %) >> buckwheat – stems (10,90 %). The results show, that compounds in general (except buckwheat stems) do not trigger malicious actions on the PC membrane liposomes.

Summary

The tested polyphenols extracts from *Hypericum L.*, buckwheat, and hawthorn were similar, slightly different from each other, the high antioxidant activity compared to the liposomal membranes, which oxidized with UV radiation. The extract of helichrysum was over five times weaker antioxidant. Determination of antioxidant activity of flavonoids as a reference substance for the extracts, as compared to liposomes showed that in general (except for quercetin) their lower capacity to protect membranes against peroxidation than extracts. High antiradical properties (in relation to free radical DPPH[•]) tested extracts (except helichrysum), and a similar sequence of activity as the antioxidant properties of *Hypericum L.*, buckwheat (stems) and hawthorn (leaves), suggests one possible mechanism of action, as scavengers of free radicals. The designated values of the constant association of extracts with the liposomal membrane were in the same order value for all extracts and may suggest a role protect the membrane from RFT. The degree of leakage of Carboxyfluorescein from liposome membranes under the influence of tested polyphenols are generally not exceed 2% (except for extract of buckwheat stems) do not trigger malicious actions on the PC membrane liposomes. The obtained results demonstrate possibility of using them (except Helichrysum) as antioxidants in food and pharmaceutical or cosmetics industry.





- Benedi J., Arroyo, Romero C., Martín-Aragón S., Villar A. M.; 2004; Antioxidant properties and protective effects of a standardized extract of *Hypericum perforatum* on hydrogen peroxide-induced oxidative damage in PC12 cells, *Life Sciences* 75: 1263-1276
- Dolatowski Z. J., Dudek M., Budorun M.; 2004; Nasiona gryki w produkcji dietetycznych wyrobów mięsnych, *Annales UMCS, Sec. E*, 59; 1607:1612;
- Dolatowski Z. J., Dudek M.; 2006; Trwałość barwy modelowego wyrobu mięsnego z częściową wymianą tłuszczu nasionami gryki, *Acta Agrophysica*, 8(1), 35-42;
- Dolatowski Z. J., Dudek M.; 2006; Właściwości fizyczne i funkcjonalne wybranych preparatów nasion gryki jako dodatku do wyrobów mięsnych, *Inżynieria Rolnicza* 7/06: 101:109;
- Evans P., Halliwell B.; 1999; Free Radicals and Hearing, Cause, Consequence, and Criteria, *Annals New York Academy of Sciences*, 19:40;
- Ferrari C.K.B., Torres E.A.F.S.; 2002; Biochemical pharmacology of functional foods and prevention of chronic diseases of aging; *Biomedicine & Pharmacotherapy*; 251:258;
- Foti M., Pitatelli M., Baratta M. T., Ruberto G.; 1998; Flavonoids, Coumarins, and Cinnamic Acids a Antioxidants in a Micellar System. Structure-Activity of Different Phenolic Fractions Separated from an Italian Red Wine, *J. Agric. Food Chem*, 46, 361:376;
- Gawlik-Dziki U.; 2004; Fenolokwasy jako bioaktywne składniki żywności, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 4(41)S: 29:40;
- Howard A., Chopra M., Thurnham D. I., Strain John J., Fuhrman B., Aviram M.; 2002; Red wine consumption and inhibition of LDL oxidation: what are the important components?, *Medical Hypotheses* 59(1); 101:104.
- Kerr M. E., RN, Bender C. M., RN, Monti E. J.; 1996; "An introduction to oxygen free radicals", *Heart & Lung Vol.*: 25, No. 3, 200:208;
- Lemberković E., Czimmer E., Szentmihályi K., Balázs A., Szóke É.; 2002; Comparative evaluation of *Helichrysum* flos herbal extracts as dietary sources of plant polyphenols, and macro- and microelements, *Food Chemistry* 78; 119:127;
- Miller E., Malinowska Katarzyna, Gałęcka E., Mrowicka M., Kędziora J.; 2008; Rola flawonoidów jako przeciwutleniaczy w organizmie człowieka, *Pol. Merk. Lek.*, XXIV; 144, 556;
- Mulinacci N., Giaccherini C., Santamaria A. R., Caniato R., Ferrari F., Valletta A., Vincieri F. F., Pasqua G.; 2008. Anthocyanins and xanthones in the calli and regenerated shoots of *Hypericum perforatum* var. *angustifolium* (sin. *Frohlich*) Borkh; *Plant Physiology and Biochemistry* 46, 414:420;
- Orhan B., Kartal M., Özdeveci B., Duman H.; 2007; HPLC Quantification of Vitexine-2''-O-rhamnoside and Hyperoside in Three *Crataegus* Species and Their Antimicrobial and Antiviral Activities, *Chromatographia Supplement Vol.* 66; 153:157;
- Poblocka-Olech L., Krauze-Baranowska M.; 2007; Aktywność farmakologiczna chalkonów, *Postępy Fitoterapii* 4/07; 194:201;
- Rajendran S., Deepalakshmi P. D., Parasakthy K., Devaraj H., Devaraj N. S.; 1996; Effect of tincture of *Crataegus* on the LDL-receptor activity of hepatic plasma membrane of rats fed an atherogenic diet, *Atherosclerosis* 123; 235-241;
- Recheński T., Kurpesa M.; 2003; Przydatność preparatów głogu w leczeniu niewydolności serca, *Forum Kardiologów*; 8, 1, 27:28;
- Sánchez-Reus M. I., Gómez del Río M. A., Iglesias I., Elorza M., Slowing K., Benedi J.; 2007; Standardized *Hypericum perforatum* reduces oxidative stress and increases gene expression of antioxidant enzymes on rotenone-exposed rats, *Neuropharmacology* 52, 606:616;
- Škerget M., Kotnik P., Hadolin M., Rižner Hraš A., Šimonc M., Knez Željko; 2005; Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities, *Food Chemistry* 89; 191:198;
- Sokol-Lętowska A., Jarosławska A., Oszmiański J., Graszkievicz M.; 2002; Aktywność przeciwrodnikowa preparatów polifenolowych i ich mieszanin. Flawonoidy i ich zastosowanie, IV Konferencja, Rzeszów 2002; 159:165;
- Sokol-Lętowska A., Jarosławska A., Oszmiański J.; 2004; Aktywność przeciwrodnikowa polifenoli głogu i tarczycy oraz ich frakcji w układach modelowych; Flawonoidy i ich zastosowanie, V Konferencja, Rzeszów 2004; 287:298;
- Urbanavičiūtė A., Jakštas V., Kornyšova O., Janulis V., Maruška A.; 2006; Capillary electrophoretic analysis of flavonoids in single-styled hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) ethanolic extracts, *Journal of Chromatography A* 1112, 339:344;
- Verkman A. S.; 1979; The Quenching of an intermembrane fluorescent probe phloreti through bilayers, *Biochimica et Biophysica Acta*, 599; 370:379;
- Wojciezyska D., Wilczek A.; 2006; Związki fenolowe pochodzenia naturalnego, *Nauka i technika*; 6:12;

EFFECT OF PLANT EXTRACTS ON MICROBIOLOGICAL PURITY OF FENNEL (*FOENICULUM VULGARE* VAR. *VULGARE* MILL.) DURING STORAGE

Staňková B.¹, Růžičková G.¹, Kalhotka L.²

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

²Department of Agrochemistry, Soil Science, Microbiology and Plant Nutrition, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: Stankova.b@seznam.cz

ABSTRACT

The aim of this study was to assess the effects of plant extracts, which exhibit antimicrobial activity, on microbiological purity of fennel fruit (*Foeniculum vulgare* var. *vulgare* Mill.) during storage in order to use this method in food industry. The samples of whole fennel fruits (250 g) were treated with aqueous extracts of caraway (*Carum carvi* L.) and of perilla (*Perilla frutescens* L.) and spirituous extracts: marigold (*Tagetes patula* L.), oregano (*Origanum vulgare* L.), caraway (*Carum carvi* L.), hemp (*Cannabis sativa* L.) and celandine (*Chelidonium majus* L.).

After the treating with the extracts, the fruits were stored for 1, 2, 3, 4, and 8 weeks. Using the rinsing method and then the plate method, the quantity of molds and yeasts and the total number of microorganisms in CFU (Colony Forming Units.g⁻¹) were evaluated. It was found that the extracts from the plants have inhibited the growth and proliferation of molds and yeasts in particular. The most active extracts were: spirituous extract of marigold, spirituous extract of caraway, spirituous extract of hemp and spirituous extract of celandine.

Total number of microorganisms was significantly limited by spirituous extract of marigold, spirituous extract of caraway and spirituous extract of hemp.

Key words: *Foeniculum vulgare* var. *vulgare* Mill., plant extract, antimicrobial activity, pathogenic microorganisms, food industry.

ÚVOD

Koření je bezesporu každodenně používanou přísadou do jídel a dalších potravinářských produktů. Udržet mikrobiální čistotu, a tedy i tolik důležitou kvalitu, by mělo být prioritou každého výrobce a zpracovatele koření. Některé bakterie a mikroskopické vláknité houby (běžně označované jako plísně) (NEDĚLNÍK; MORAVCOVÁ, 2005) totiž v napadených potravinách prokazatelně uvolňují toxické metabolity, jež mohou způsobit lehčí až velmi závažná onemocnění (OSTRÝ, 2006).

Potraviny, rovněž i koření, je proto nutné před spotřebou upravit tak, aby se zamezilo růstu a množení nežádoucích mikroorganismů. U koření jsou nejvyužívanější metody mikrobiální dekontaminace sterilace vodní parou a ozařování ionizujícím zářením dovolující zachovat organoleptické vlastnosti koření (<http://www.safesteril.com/en/theproducts.php>, 2009; MICHALOVÁ, 2004). Jistou alternativou je metoda aplikace rostlinných extraktů.

Velké množství druhů rostlin z různých čeledí obsahuje antibakteriální a antifungální látky. Obecně antimikrobiální vliv vykazují obsahové látky jako silice (především terpenické a fenylypropanové složky), třísloviny, flavonoidy, ale i peptidy a alkaloidy (RŮŽIČKOVÁ, 2009). Výhodou extraktů z rostlin tedy je, že obsahují širší spektrum účinných látek, např. terpenické látky, alkaloidy, třísloviny, hořčiny, saponiny, glykosidy a další chemické sloučeniny (ČESKÝ LÉKOPIS, 2005).

Rostlinné extrakty byly hodnoceny v řadě studií a výzkumů, kde byl sledován vliv především na plísně a bakterie u potravin typu mléko, sýry a maso (TASSOU et al., 2004) nebo na čisté kultury mikroorganismů (TUCHILA et al., 2008; DAMJANOVIC-VRATNICA et al., 2008; ROTA et al. 2004), doposud se však žádná nezabývala kořením či kořenícemi přípravky.

Cílem práce* bylo zhodnotit rostlinné extrakty, u kterých byla potvrzena antimikrobiální působnost, na plody fenýklu (*Foeniculum vulgare* var. *vulgare* Mill.), aby svými účinky zabránily mikrobiálnímu znečištění v průběhu skladování. Jako kontrolní vzorky byly zvoleny plody fenýklu ošetřené od dodavatele parní sterilací a neošetřené. Pokusy byly zaměřeny na zjišťování množství KTJ (kolonie tvořící jednotky) na 1 g plodu fenýklu u vzorků ošetřených rostlinnými extrakty a kontrolních vzorků po jednotlivých týdnech ošetření, nikoli však již na konkrétní determinaci mikroorganismů, jak tomu bylo u řady jiných zahraničních studií zkoumajících antimikrobiální vliv rostlinných extraktů a silic v potravinářském odvětví.

* Celý příspěvek vychází z diplomové práce Vliv aplikace rostlinných extraktů na mikrobiologickou čistotu plodového koření, 2009.

MATERIÁL A METODIKA

Pro pokusné účely byl zakoupen fenýklový plod celý (*Foeniculi amari fructus toto*) odpovídající kvalitativním požadavkům Českého lékopisu 2005 ve formě ošetřené parní sterilací od dodavatele a neošetřené. Plod fenýklu ošetřený parní sterilací sloužil jako kontrolní vzorek, neošetřený pro vlastní aplikaci rostlinných extraktů a rovněž jako vzorek kontrolní.

Na vzorky neošetřeného plodu fenýklu byly aplikovány vodné a lihové extrakty z rostlin, jež podle literárních zdrojů vykazují antimikrobiální aktivitu. Při pokusech byly použity tyto rostlinné extrakty: vodný extrakt kmín kořený (*Carum carvi* L.) - plod, vodný extrakt perila křovitá (*Perilla*

frutescens L.) - nať - z perily typu červenolistá a zelenolistá, lihový extrakt aksamitník rozkladitý (*Tagetes patula* L.) - nať, lihový extrakt dobromysl obecná (*Origanum vulgare* L.) - nať, lihový extrakt kmín kořený (*Carum carvi* L.) - plod, lihový extrakt konopí seté (*Cannabis sativa* L.) - nať, lihový extrakt vlaštovičník větší (*Chelidonium majus* L.) - nať. Rostlinné extrakty byly zakoupeny od společnosti PRVNÍ JÍLOVSKÁ, a.s. - divize EXAR, vodné extrakty z perily křovité byly připraveny dle Českého lékopisu 2005 přímo v laboratoři na Ústavu pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství. Všechny lihové extrakty byly vyrobeny z 35% lihu.

Za sterilních podmínek byl na zvolený objem plodu fenýklu (250 g) aplikován vždy 100 % vodný či lihový rostlinný extrakt. Vzorky byly vysušeny v sušárně s aktivní cirkulací vzduchu po dobu 15 - 20 minut a teplotě 50 °C a skladovány ve skleněných lahvích s uzavíratelným víčkem při teplotě 20 °C a relativní vzdušné vlhkosti 60 %, což odpovídá podmínkám skladování ve zpracovatelských podnicích.

Po 1., 2., 3., 4. a 8. týdnu od ošetření byly vzorky při mikrobiologickém stanovení zpracovávány metodou oplachu s následným využitím desetinného ředění a kultivačním vyšetřením plotnovou metodou. Pro plísňe a kvasinky byla zvolena živná půda Chloramfenikol, pro celkový počet mikroorganismů PCA.

Kolonie plísni a kvasinek a celkového počtu mikroorganismů byly odečítány po stanovení inkubační době - počty plísni a kvasinek při 25 °C za 125 hodin, celkový počet mikroorganismů při 30 °C za 72 hodin - a dle příslušného ředění (nejčastější hodnoty ředění byly na 10^1 , 10^2 , 10^3 a 10^4 , výjimečně 10^5 a 10^6) přepočítány na hodnoty v KTJ.g⁻¹.

Výsledné hodnoty byly statisticky zpracovány v programu STATISTICA 8,0 CZ po 1., 4. a 8. týdnu po ošetření jednofaktorovou analýzou variance, Tukeyovým HSD testem ($\alpha = 0,05$) a pro grafické vyhodnocení metodou konfidenčních intervalů ($\alpha = 0,05$) konstruovaných kolem průměrů. Dále byly porovnány průměrné hodnoty počtu plísni a kvasinek a celkového počtu mikroorganismů u vzorků po 8. týdnu ošetření v jednotlivých variantách s mezní hodnotou možného výskytu plísni a kvasinek a celkového počtu mikroorganismů povolenou v potravinách. Mezní hodnota pro plísňe a kvasinky v potravinách je 10^5 , pro celkový počet mikroorganismů (vyjma plísni a kvasinek) 10^4 (GÖRNER, VALÍK, 2004).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Vzorky ošetřené rostlinnými extrakty byly rozděleny do 3 pokusných variant, přičemž u každé varianty bylo porovnání s kontrolními vzorky, tj. neošetřený plod fenýklu a ošetřený plod fenýklu parní sterilací od dodavatele.

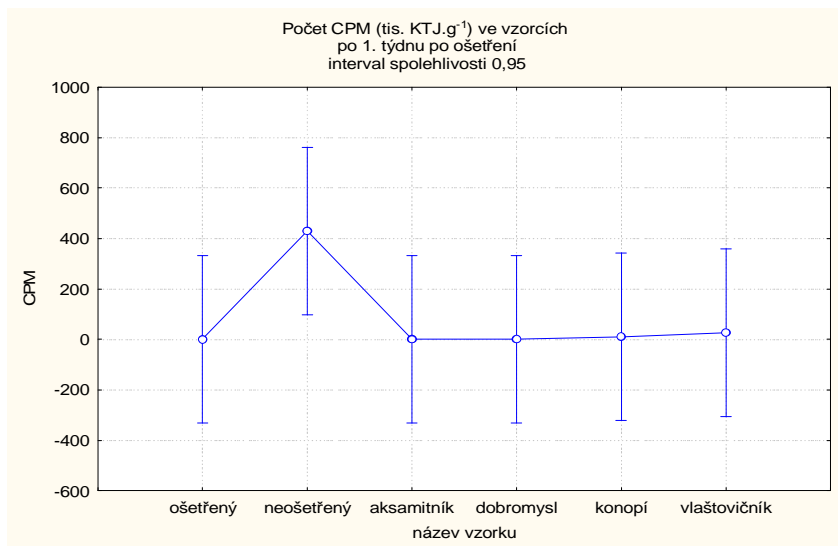
Statistické zhodnocení výsledných dat ukazuje, že mezi jednotlivými vzorky, které byly ošetřené rostlinnými extrakty, jsou v pokusných variantách statisticky neprůkazné až statisticky vysoce průkazné rozdíly. Statisticky neprůkazné rozdíly byly mezi ošetřeny vzorky např. u 2. pokusné varianty v 1. týdnu po ošetření u plísni a kvasinek viz *Graf 1* i u celkového počtu mikroorganismů (CPM) viz *Graf 2*. Statisticky vysoce průkazné rozdíly byly zjištěny mezi ošetřeny vzorky při hodnocení celkového počtu mikroorganismů u 3. varianty v 8. týdnu po ošetření viz *Tabulka 1*, *Graf 3.*, avšak především se statisticky vysoce průkazné rozdíly týkaly vzorků, které v průběhu skladování zplesnivěly chybou např. nedokonalého vysušení vzorku po aplikaci rostlinného extraktu viz *Tabulka 2*, *Graf 4*.

Graf 1 Průměrný počet plísní a kvasinek v tis. KTJ.g⁻¹ ve vzorcích po 1. týdnu ošetření - 2. pokusná varianta*



* vzorek ošetřený a neošetřený jsou kontrolní vzorky

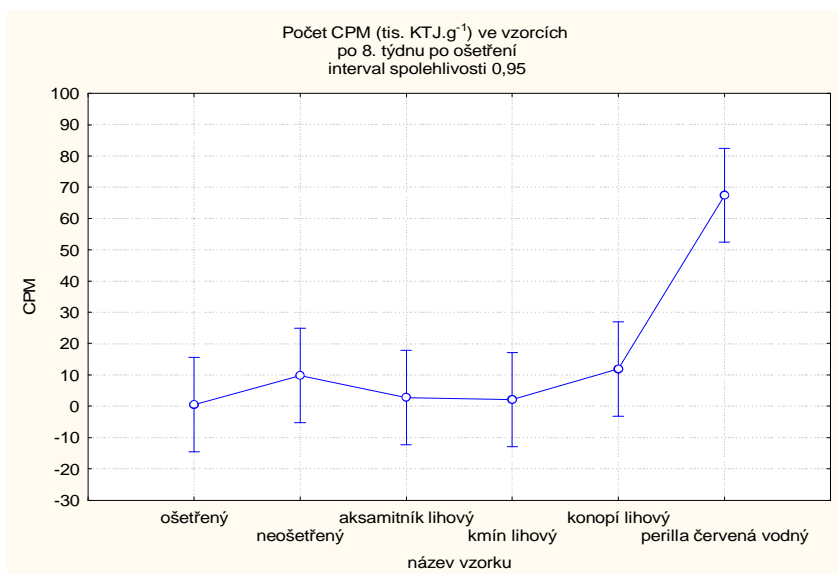
Graf 2 Průměrný počet CPM v tis. KTJ.g⁻¹ ve vzorcích po 1. týdnu ošetření - 2. pokusná varianta



Tab. 1 Průměrné hodnoty CPM v tis. KTJ.g⁻¹ v 8. týdnu ošetření - 3. pokusná varianta

Faktor		CPM
Ošetření	ošetřený	0,54 a
	neošetřený	9,86 a
	aksamitník lihový	2,84 a
	kmín lihový	2,16 a
	konopí lihový	11,9 a
	perilla červená vodný	67,42 b

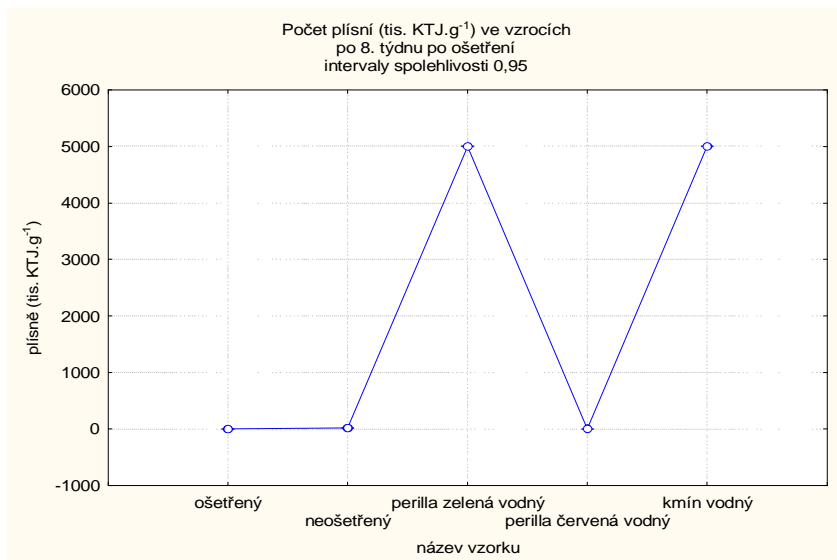
Graf 3 Průměrný počet CPM v tis. KTJ.g⁻¹ ve vzorcích po 8. týdnu ošetření - 3. pokusná varianta



Tab. 2 Průměrné hodnoty počtu plísní a kvasinek v tis. KTJ.g⁻¹ v 8. týdnu ošetření - 1. pokusná varianta

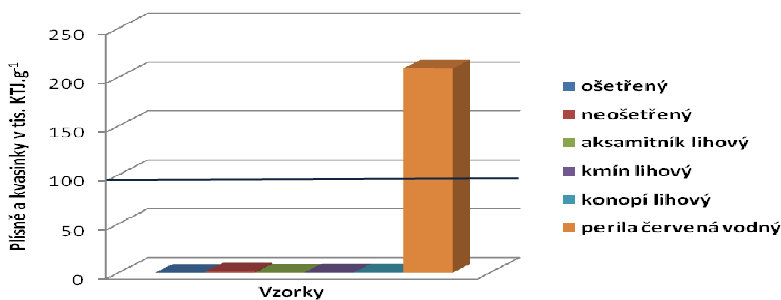
Faktor		Plísně a kvasinky
Ošetření	ošetřený	0,122 a
	neošetřený	19,780 c
	kmín vodný	5000 b
	perilla červená vodný	0,694 a
	perilla zelená vodný	5000 b

Graf 4 Průměrný počet plísní a kvasinek v tis. KTJ.g⁻¹ ve vzorcích po 8. týdnu ošetření - 1. pokusná varianta



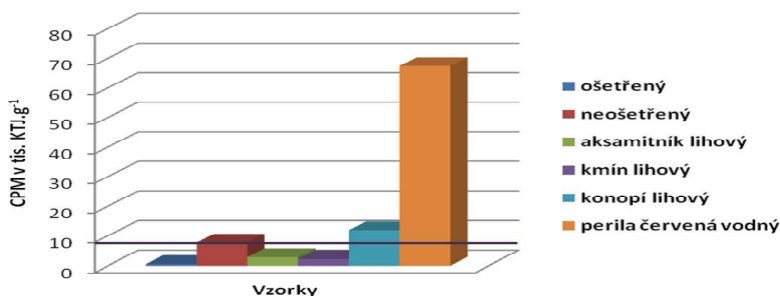
Při porovnání hodnot po 8. týdnu po ošetření s mezními hodnotami 10^5 pro plísně a kvasinky a 10^4 pro celkový počet mikroorganismů - CPM - (vyjma plísní a kvasinek) povolených v potravinářství tento mikrobiologický limit splňovaly všechny vzorky ošetřené rostlinnými extrakty mimo vzorky: vodný extrakt perila křovitá typu červenolistá u plísní a kvasinek viz Graf 5 a CPM u 3. varianty, lihový extrakt konopí seté u CPM u 3. varianty viz Graf 6 a vzorky zplesnivělé (vodný extrakt kmín kořený, vodný extrakt perila křovitá typu zelenolistá u 1. varianty, lihový extrakt aksamitník rozkladitý u 2. varianty).

Graf 5 Graf průměrných hodnot plísní a kvasinek u vzorků po 8. týdnu ošetření v porovnání s hraniční hodnotou 10⁵-3. varianta



Pozn. Mezní hodnota 10^5 je označena modrou přímkou.

Graf 6 Graf průměrných hodnot CPM u vzorků po 8. týdnu ošetření v porovnání s hraniční hodnotou 10^4 - 3.varianta



Pozn. Mezní hodnota 10^4 je označena modrou přímkou.

Práce se zabývala i ekonomickým zhodnocením metody aplikace rostlinných extraktů oproti běžně užívaným metodám sloužícím k odstraňování stávající mikrobiální kontaminace a bránící vzniku nové.

Cena za ošetření plodového koření parní sterilací se pohybuje v závislosti na množství odebraného materiálu v rozmezí od 1,00 do 1,50 € za 1 kg, což při současném kurzu české měny odpovídá 25,90 - 38,90 Kč za 1 kg.

Mikrobiální dekontaminace u celých plodů fenylekly ozářováním ionizujícím zářením standardní dávkou 3 - 7 kGy stojí, podle údajů společnosti ARTIM spol. s r.o., 8,90 Kč za 1 kg (<http://www.artim.cz/?lng=cz&pid=6>, 2008).

Společnost PRVNÍ JÍLOVSKÁ, a.s. - divize EXAR, vyrábějící rostlinné extrakty, uvádí, že se výše ceny rostlinných extraktů odvíjí od koncentrace použitého rozpouštědla a obsahu sušiny. Aktuální ceník extraktů platný od 1. 1. 2008 nabízí rostlinné extrakty, jež byly použity pro pokusné účely v této práci, v cenové relaci: Aksamitník rozkladitý nať - lihový extrakt - 210 Kč za 1 kg; Dobromysl obecná nať - lihový extrakt - 115,00 Kč za 1 kg; Kmín kořený plod - lihový extrakt - 145 Kč za 1 kg; Kmín kořený plod - vodný extrakt - 105 Kč za 1 kg; Konopí technické seté nať - lihový extrakt - 200,00 Kč za 1 kg; Vlačstovičnick větší nať - lihový extrakt - 135,00 Kč za 1 kg. Při úvaze 257 ml jako průměrné spotřeby rostlinného extraktu na 1 kg plodu fenylekly byla cena ošetření - viz Tab. 3.

Tab. 3 Ekonomické porovnání jednotlivých metod ošetření koření

Způsob úpravy koření	Cena v Kč na 1 kg plodů fenylekly
sterilizace vodní parou	25,90 - 38,90
ozářování ionizujícím zářením	8,90
aplikace extraktů rostlin	
aksamitník rozkladitý nať - lihový extrakt	54,0
dobromysl obecná nať - lihový extrakt	28,80
kmín kořený plod - lihový extrakt	37,30
kmín kořený plod - vodný extrakt	27,0
konopí technické seté nať - lihový extrakt	51,40
vlačstovičnick větší nať - lihový extrakt	34,70

Údaje o ceně rostlinného extraktu perily křovité formy červenolistá a zelenolistá nejsou k dispozici, protože rostliny byly získány od soukromého pěstitele zdarma a samotný extrakt byl připraven na Ústavu pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství.

ZÁVĚR

Účinnost rostlinných extraktů na mikroorganismy v průběhu 8 týdenního sledování u jednotlivých variant kolísala, nicméně prací bylo potvrzeno, že rostlinné extrakty významně působily na plísně a kvasinky, a to tím způsobem, že po 8 týdnech od ošetření byla průměrná hodnota KTJ.g⁻¹ plísní a kvasinek pod mezní hodnotou 10⁵ povolenou v potravinářství, vyjma vzorků, které v průběhu skladování zplesnivěly chybou např. nedokonalého vysušení po aplikaci rostlinného extraktu. Jediný vzorek, který limit 10⁵ nesplnil, byl vzorek ošetřený vodným extraktem z perily křovité typu červenolistá u 3. varianty.

U celkového počtu mikroorganismů (CPM) byla po 8 týdnech od ošetření u vzorků, na které byly aplikovány rostlinné extrakty, několikanásobně překročena hraniční hodnota 10⁴ stanovená pro potraviny, tudíž se staly pro potravinářství nevyhovující. Výjimka byla pouze u 3. varianty v 8. týdnu po ošetření, kdy vzorky kmín lihový a aksamitník lihový byly pod mezní hodnotou.

Hraniční hodnoty 10⁵ pro plísně a kvasinky a 10⁴ pro celkový počet mikroorganismů byly převzaty od autorů GÖRNER, VALÍK, 2004, kteří je uvádí jako mikrobiologické limity pro koření ve státech EU. V České republice dříve mikrobiologické normy pro koření stanovovala vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 132/2004 Sb. o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení. Po zrušení této vyhlášky bylo začleněno do českých právních norem Nařízení komise (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny, jenž mikrobiologické limity pro koření nestanovuje. Pro Českou republiku však existuje platná Česká technická norma - ČSN 569609 z února 2008 - *Pravidla správné hygienické a výrobní praxe - Mikrobiologická kritéria pro potraviny. Principy stanovení a aplikace* zabývající se i kořením. Normy však nejsou závazné a dodržování jimi stanovených kritérií je dobrovolné. Za závazné se považují pouze tehdy, pokud na ně zákon nebo vyhláška odkazuje (DRAŠNAROVÁ, BUCHTOVÁ, 2004).

Za nejúčinnější rostlinné extrakty na plísně a kvasinky, eventuálně za dobře a stabilně působící rostlinné extrakty, by se na základě výsledků z pokusů mohly považovat: lihový extrakt aksamitníku rozkladitého (u 3. varianty se zaplísněním problémy nebyly), lihový extrakt kmínu kořeného, lihový extrakt konopí setého a lihový extrakt vlašovičnicku většího. Celkový počet mikroorganismů významněji omezovaly lihové extrakty z aksamitníku rozkladitého, kmínu kořeného a konopí setého.

Podle výsledků tedy lihové extrakty dosahovaly významné antimikrobiální efektivnosti. V úvahu se ovšem v tomto případě musí brát nejen působnost rostlinného extraktu, ale i konzervační schopnost samotného lihu. Všechny rostlinné extrakty byly připraveny z 35 % lihu, nicméně podle zvyklostí má lih sterilizační působnost až od 70 % (RŮŽIČKOVÁ, 2009).

Co se týká ekonomického zhodnocení metody aplikace rostlinných extraktů jedná se o metodu finančně náročnější. Do nákladů byly započítány pouze ceny extraktů, nikoli však již další

důležité položky, které by cenu za aplikaci ještě navýšily. Průměrná cena za ošetření se pohybovala kolem 38,90 Kč za 1 kg plodového koření.

Finančně nejvýhodnější by podle průzkumu bylo ošetření koření ozářením ionizujícím zářením (8,90 Kč.kg⁻¹ od společnosti ARTIM spol. s r.o.). Tento způsob ošetření ale vyvolává u spotřebitelů jisté pochybnosti o kvalitě a nezávadnosti takto upravených potravin.

Prací tedy bylo potvrzeno, že vybrané rostlinné extrakty mají antimikrobiální účinky a samotnou metodu aplikace rostlinných extraktů pro udržení mikrobiální čistoty plodového koření by bylo možné v potravinářství plnohodnotně využít po provedení dalších studií.

LITERATURA

ARTIM spol. s r.o. /Dekontaminace a desinsekce potravin a potravinářských surovin/ [online] [cit. 2008-12-06]. Dostupné na World Wide Web: <<http://www.artim.cz/?lng=cz&pid=6>>

ČESKÝ LÉKOPIS 2005. Praha: Grada Publishing a.s., 2005. ISBN 80-247-1532-5.

DAMJANOVIC-VRATNICA, B. (ed.). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of wild-growing *Salvia officinalis* L. from Montenegro. JOURNAL OF ESSENTIAL OIL BEARING PLANTS, 2008, Vol. 11, s. 79-89.

DRAŠNAROVÁ, Z., BUCHTOVÁ, I. Situační a výhledová zpráva: Léčivé, aromatické a kořeninové rostliny. Praha: Ministerstvo zemědělství ČR, 2004. 48 s. ISBN 80-7084-317-9.

GÖRNER, F., VALÍK L. Aplikovaná mikrobiologie požívatin. Bratislava: Malé centrum, 2004. 528 s. ISBN 80-967064-9-7.

MICHALOVÁ, I. Ošetřování potravin ionizací. *Potravinářská revue*, 2004, č. 2, s. 27.

NEDĚLNÍK, J., MORAVCOVÁ, H. Současný pohled na problematiku mykotoxinů. Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2005, Sborník příspěvků, 2005, s. 20-31.

OSTRÝ, V. Plísně a potraviny - Mykotoxiny v potravinách 2. část. *Potravinářská revue*, 2006, č. 2, s. 23-25.

PETER, K. V., TASSOU, C., C. (ed.) Handbook of herbs and spices. Boca Raton: CRC Press, 2004. Woodhead Publishing in food science and technology. ISBN 1-85573-721-3.

ROTA, C. (ed.). In vitro antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants against selected foodborne pathogens. JOURNAL OF FOOD PROTECTION, 2004, Vol. 67, s. 1252-1256.

RŮŽIČKOVÁ, G. Ústní sdělení. [cit. 2009-04-29].

SAFESTERIL. /Safesteril - steam sterilization/. [online] [cit. 2009-04-10]. Dostupné na World Wide Web: <<http://www.safesteril.com/en/theproducts.php>>

TUCHILA, C. (ed.). Evaluation of the antimicrobial activity of some plant extracts used as food additives. JOURNAL OF FOOD AGRICULTURE & ENVIRONMENT, 2008, Vol. 6, s. 68-70.

THE RISK ELEMENTS CONTENT IN SOIL, SWEET CORN (*ZEA MAYS* L. CONVAR. *SACCHARATA*) AND SPINACH BEET (*SPINACIA OLERACEA*) CROPPED IN INTENSIVELY AGRICULTURAL USED AREA OF MIDDLE SLOVAKIA

Szabóová G., Tomáš J., Peltznerová L., Árvay J

Department of Chemistry, Faculty of Biotechnology and Food sciences, Slovak University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic

E-mail: gabriela.szaboova@post.sk

ABSTRACT

The aim of this work was the observing of the content of selected heavy metals in the area of middle Slovakia and also the quality of grown products. The monitoring of heavy metals content in vegetables is very important because vegetable consumption is high.

In our work the site Sikeres situated near Veľký Krtíš was observed. Soil samples were collected by means of surface tranship with 5 second screen using GPS from 13 sampling sites. Sweet corn and Spinach samples were collected by the same points in year 2009.

Soil samples were analysed to determine changeable soil reaction, heavy metals total content in aqua regia extrakt, as well as their mobile forms in NH_4NO_3 lixivium whit $c = 1 \text{ mol.dm}^{-3}$. Atomic absorption spectrometry on apparatus *VARIAN AA 240 FS* was final analysed. Sweet corn and Spinach samples were mineralised by means of microwave decomposition (*MAARS X-press*) and consequently measured in *VARIAN AA 240 Z* graphite oven.

The results were processed into content maps with computer program ArcView 3.2. The results refer that on this parcel was enhanced mobile form of lead content in samples from all sampling sites in range from $0.18 - 0.25 \text{ mg.kg}^{-1}$. Also the Sweet corn and Spinach yield was analyzed and we can state that the highest acceptable amount for lead in corn was exceeded and the values ranged from 1.506 to 2.231 mg.kg^{-1} .

Key words: soil contamination, heavy metals, sweet corn, spinach

Acknowledgments: This work has been supported by *VEGA 08-023-00*

ÚVOD

V dôsledku antropogénnej činnosti človeka dochádza ku kontaminácii jednotlivých zložiek životného prostredia vzduch - voda - pôda rôznymi kontaminujúcimi látkami, z ktorých sa v posledných rokoch venuje zvýšená pozornosť ťažkým kovom v pôdach a hlavne v rastlinách. Ťažké kovy, ktoré sa dostanú do pôdy, sú nedostupné pre rastliny. Vplyvom procesov prebiehajúcich v pôde, však časť ťažkých kovov prechádza do biologicky dostupných foriem a je prijímaná rastlinami, čím dochádza ku kontaminácii rastlinnej produkcie (Aleksejev, 1987; Cibulka, 1991; Kola, 1988; Petíková, 1990).

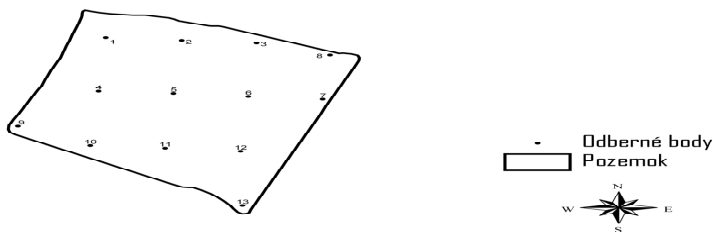
Prijateľnosť kovov rastlinami závisí od mnohých faktorov napr. chemickej formy, v akej je viazaný kov, jeho rozpustnosti a pod.. Medzi dôležité patrí pH pôdy. Olovo a kadmium sú toxické prvky. Oba kovy majú nepriaznivý vplyv na ľudské zdravie (Vinas, Pardo-Martínez, & Hernández-Córdoba, 2000). Zelenina s relatívne širokou listovou plochou, napríklad špenát alebo kapusta môže prijímať vo zvýšenej miere tieto prvky ak sa pestujú v blízkosti ich zdrojov (Gama, da Silva, & Lemos, 2006)..

Oblasť stredného a južného Slovenska je najvýraznejším producentom potravinárskych surovín rastlinného pôvodu, najmä zeleninových produktov. Preto je potrebné venovať pozornosť zdravotnej nezávadnosti dopestovanej zeleniny, ktorá sa konzumuje aj v čerstvom stave.

MATERIÁL A METODIKA

Sledovaný pozemok Sikeres sa nachádza na strednom Slovensku, v okrese Veľký Krtíš, v katastri obce Vinica. Lokalizačné koordináty pozemku sú: $48^{\circ}06,834'$ severnej šírky (φ) a $19^{\circ}08,169'$ východnej dĺžky (λ). Rozloha pozemku je 16,5 ha. Na podklade 5 sekundového sme určili 13 odberných miest. Parcelné identifikačné číslo je 3707/1. Bonitovaná pôdno-ekologická jednotka tohto pozemku je 0448002. Pôdny typ HM1-hnedozem luvizemná a pôdny druh stredná ťažká – hlinitá. Nadmorská výška týchto bodov sa pohybovala v intervale 162 – 170 m n. m.. Pozemok je charakterizovaný rovinným reliéfom. Lokalizáciu a hranice pozemku znázorňuje obrázok 1.

Obr.1 Hranice pozemku a lokalizácia odberových bodov



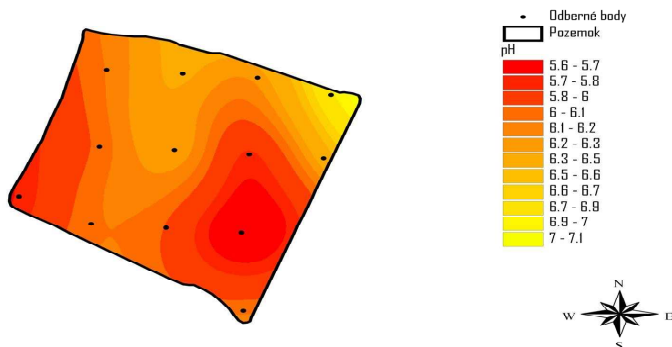
Odber vzoriek pôdy a nadzemnej biomasy sme vykonávali pomocou metodiky vytipovania, navigovania a lokalizácie za použitia príručného navigačného zariadenia GPS – GARMIN 60 Cx, z hĺbky 0,0 – 0,2 m (pôda). Odberné miesta sme určili prekrytím pozemku rastrom s hustotou mriežky 5 sekundy. Vzorky boli spracované a upravené podľa príslušných noriem (Linkeš, 1997).

Pre zhodnotenie rizika mobility a prechodu rizikových prvkov sme vykonali analýzy na zistenie výmennej pôdnej reakcie – $\text{pH}_{\text{CaCl}_2}$. Následne sme vo všetkých pôdnych vzorkách sme zisťovali celkový obsah ťažkých kovov (Cd, Pb) v extrakte lúčavky kráľovskej a ich mobilné formy vo výluhu NH_4NO_3 ($c = 1 \text{ mol.dm}^{-3}$). Vzorky zeleniny (kukurica - v štádiu mliečnej zrelosti a špenát – v štádiu plnej zrelosti) sme odobrali z identického odberného bodu v tom istom roku (2009). Tieto vzorky sme podrobili analýze na stanovenie obsahu sledovaných ťažkých kovov po mineralizácii „mokrou cestou“ mikrovlnným rozkladom na prístroji *MARS X-press*. Analytickou koncovkou pri pôde aj pri rastlinnom materiáli bola atómová absorpčná spektrometria na prístroji *VARIAN AA 240 Z*.

VÝSLEDKY

Mobilita, prístupnosť a správanie sa sledovaných ťažkých kovov v pôde ale aj v systéme pôda - rastlina je v najväčšej miere závislá od pôdnej reakcie. V tejto práci sme zisťovali hodnotu výmennej pôdnej reakcie $\text{pH} - \text{CaCl}_2$. Jej hodnota na sledovanom pozemku sa pohybovali v intervaloch: 5,58 – 6,92, pričom takéto hodnoty výmennej pôdnej reakcie je možné slovné zhodnotiť ako pôdu kyslú až neutrálnu. Najnižšiu pôdnu reakciu sme lokalizovali na odberných bodoch 12 (5,58), 9 (5,77), 6 (5,83). Plošnú interpretáciu zmien pH na pozemku v horizonte A znázorňuje obrázok 2.

Obr. 2 Plošné znázornenie výmennej pôdnej reakcie v horizonte A na sledovanom pozemku



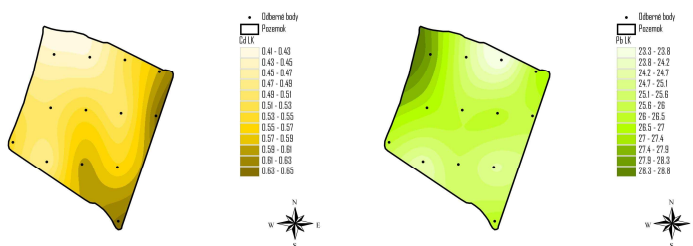
Obsah vybraných ťažkých kovov v pôde sme sledovali v extrakte lúčavky kráľovskej, ktorý reprezentuje pseudototálny obsah ťažkých kovov v pôde. Pseudototálny z toho dôvodu, že toto extrakčné činidlo nie je schopné rozložiť silikátovú a alumosilikátovú frakciu a teda rizikové prvky obsiahnuté v týchto zložkách pôdy sa do výluhu nedostanú. Obsah kadmia a taktiež obsah olova nebol v porovnaní s limitnou hodnotou (LH) ($\text{Cd} - 0,7 \text{ mg.kg}^{-1}$, $\text{Pb} - 70 \text{ mg.kg}^{-1}$, zákon 220/2004) zvýšený ani na jednom odbernom mieste. Intervaly obsahov sledovaných ťažkých kovov vo vzorkách pôdy získaných z extraktu lúčavky kráľovskej sú uvedené v tabuľke 1.

Tab. 1 Základné ukazovatele, definujúce situáciu kontaminácie sledovaného pozemku celkovými obsahmi ťažkých kovov v mg.kg^{-1}

	min.	max.	medián	sm. odch.	LH (mg.kg^{-1})	Prekročenie LH (%)
Cd	0,44	0,64	0,54	0,07	0,7	< LH – < LH
Pb	23,43	28,03	25,98	1,16	70,0	< LH – < LH

pozn. LM – limitná hodnota

Obr. 3 Plošné znázornenie celkového obsahu kadmia a olova v extrakte lúčavky kráľovskej na pozemku Sikeres v horizonte A v mg.kg^{-1} (žltá – Cd; zelená – Pb)



Z literatúry je známe, že o prechode ťažkých kovov do rastlín nerozhoduje len ich celková koncentrácia v pôde, ale aj ich mobilita, na ktorú majú najväčší vplyv vlastnosti pôdy (Merian, 1991).

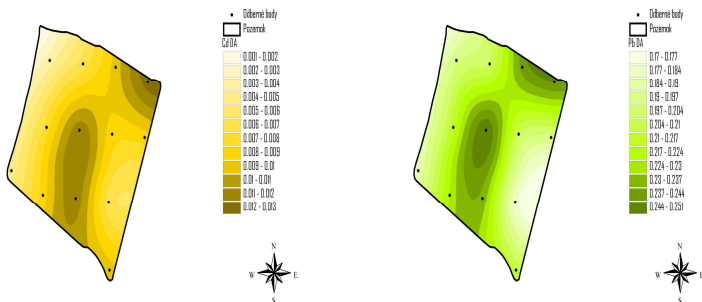
Prijateľnosť ťažkých kovov rastlinami sa uskutočňuje prostredníctvom pôdneho roztoku, preto ich celkový obsah v pôdnom profile nie je limitujúci. Prechod sledovaných ťažkých kovov do pôdneho roztoku a teda aj do pestovanej plodiny ovplyvňuje mnoho faktorov, ako napríklad forma chemickej väzby, jeho rozpustnosť a teda aj mobilita. Medzi najdôležitejšie činitele, vplyvajúce na transfer prvkov do rastlín patrí pôdna reakcia. Na zistenie obsahu mobilných foriem Cd a Pb sme použili vylúhovací roztok NH_4NO_3 s $c = 1 \text{ mol.dm}^{-3}$. Získané výsledky sme porovnávali s platnými kritickými hodnotami (KH), uvedenými v **zákone 220/2004**. Všetky získané údaje a štatistické ukazovatele sú uvedené v tabuľke 2. Na obrázku 4 sú znázornené obsahy mobilných frakcií kadmia a olova v horizonte A.

Tab. 2 Základné ukazovatele, definujúce situáciu kontaminácie sledovaného pozemku mobilnými frakciami ťažkých kovov v mg.kg^{-1}

	min.	max.	medián	sm. odch.	KH (mg.kg^{-1})	Prekročenie KH (%)
Cd	0,004	0,01	0,01	0,003	0,1	< KH – < KH
Pb	0,18	0,25	0,21	0,023	0,1	80 - 150

pozn. KH – kritická hodnota

Obr. 4 Plošné znázornenie obsahu mobilných foriem kadmia a olova v NH_4NO_3 na pozemku Sikeres horizonte A v $mg.kg^{-1}$ (žltá - Cd; zelená - Pb)



Na pozemku Sikeres sme zaznamenali prevýšenie kritickej hodnoty obsahu iba pri olove. Obsah olova sa pohyboval v intervale $0,18 - 0,25 \text{ mg.kg}^{-1}$, čo znamená prekročenie limitu ($0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$) pri najvyššej koncentrácii o 150 % (OB 5). Pri najnižšej koncentrácii to bolo prekročenie o 80 % (OB 12). Obsah kadmia neprekročil kritické hodnoty stanovené zákonom. Jeho obsah sa pohyboval v intervale $0,004 - 0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$.

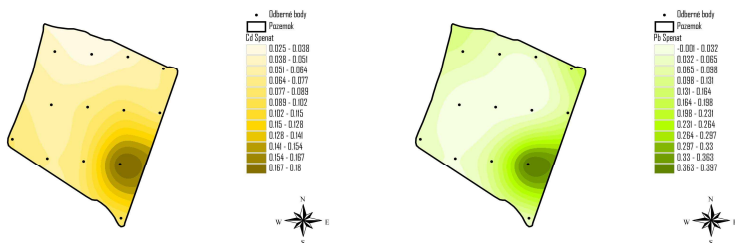
V roku 2009 sa na sledovanom pozemku pestoval špenát siaty ozimný (*Spinacia oleracea*) a taktiež kukurica siata cukrová (*Zea mays L. convar. saccharata*). Najvyššie povolené množstvo (NPM) a všetky základné údaje a štatistické ukazovatele sú uvedené v tabuľke 3. Na obrázku 5 a 6 sú znázornené obsahy sledovaných prvkov (Cd a Pb) v dopestovaných plodinách.

Tab. 3 Základné ukazovatele, definujúce situáciu obsahov ťažkých kovov v dopestovaných plodinách v $mg.kg^{-1}$

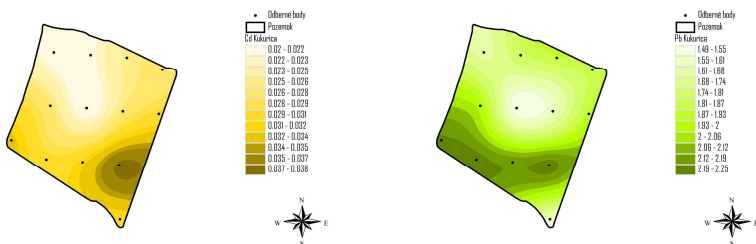
	min.	max.	medián	sm. odch.	NPM ($mg.kg^{-1}$)	Prekročenie NPM (%)
Cd špenát	0,031	0,178	0,070	0,036	0,2	<NPM - <NPM
Pb špenát	0,010	0,389	0,060	0,101	0,3	<NPM - 29
Cd kukurica	0,021	0,038	0,027	0,005	0,05	<NPM - <NPM
Pb kukurica	1,506	2,231	1,870	0,261	0,1	1406 - 2131

pozn. NPM - najvyššie povolené množstvo

Obr. 5 Plošné znázornenie obsahu kadmia a olova v dopestovanom špenáte na pozemku Sikeres mg.kg^{-1} (žltá - Cd; zelená - Pb)



Obr. 6 Plošné znázornenie obsahu kadmia a olova v dopestovanej kukurici na pozemku Sikeres mg.kg^{-1} (žltá - Cd; zelená - Pb)



V prvej analyzovanej plodine, špenáte, bol obsah sledovaného prvku Cd v intervale $0,031 - 0,178 \text{ mg.kg}^{-1}$. V tomto prípade najvyššie povolené množstvo (NPM) stanovené Potravinovým kódexom (PK) nebolo prekročené ani v jednom prípade. Čo sa týka druhého sledovaného prvku Pb, v porovnaní s NPM ($0,3 \text{ mg.kg}^{-1}$) bol prekročný jeho obsah na jednom odbernom bode (OB 12) a to o 29 %. Toto zistenie úzko koreluje s hodnotou pH, ktorá bola na tomto bode najnižšia.

V zrne cukrovej kukurice zbieranej v konzumnej zrelosti nebol obsah kadmia, podobne ako pri špenáte, prekročený ani na jednom odbernom bode. Získané údaje sa pohybovali v intervale $0,021 - 0,038 \text{ mg.kg}^{-1}$. Úroveň kontaminácie semena dopestovanej produkcie olovom bola prekročená celoplošne, získané údaje sa pohybovali v intervale $1,506 - 2,231 \text{ mg.kg}^{-1}$ a pozitívne korelujú s mobilnými frakciami olova. Najvyššie povolené množstvo Pb ($0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$) stanovené PK SR bolo maximálne prekročené na odbernom mieste 12 a to o 2131 %, čo taktiež koreluje s výmennou pôdnou reakciou.

ZÁVER

Cieľom tejto práce bolo zhodnotiť hygienický stav sledovaného pozemku Sikeres a zistiť koncentrácie jednotlivých rizikových prvkov (Cd, Pb) v dopestovanej produkcii, ktorá je predovšetkým určená na potravinárske účely. Následne získané výsledky porovnať s platnými legislatívnymi normami.

Celkový obsah sledovaných prvkov vo vrchnej vrstve ornice celoplošne neprekračoval limitné hodnoty stanovené príslušnou legislatívnou normou. Pri ich mobilných frakciách bola situácia odlišná. Hoci obsah kadmia bol pod kritickou hodnotou na celom pozemku, pri olove sme zistili celoplošnú kontamináciu. Čo sa týka dopestovanej produkcie, v prvom prípade obsah kadmia bol hlboko pod NPM a pri olove bola norma prekročená len na jednom odbernom bode a to o 29 %, čo je pravdepodobne spôsobené najnižšou hodnotou výmennej pôdnej reakcie na tomto bode a taktiež slabým koreňovým systémom špenátu. Pri druhej plodine bola situácia, čo sa týka kadmia, takmer identická ako pri špenáte. NPM nebola prekročná ani na jednom odbernom bode. Avšak v prípade olova jeho obsah v kukurici korešponduje s obsahom jeho mobilných foriem zistených v pôde. Tu bola legislatívna norma prekročená v rozpätí 1406 – 2131 %.

Získané výsledky jasne charakterizujú hygienickú kvalitu sledovaného pozemku a taktiež kvalitu dopestovanej produkcie. Predovšetkým kvalita kukurice cukrovej je v tomto prípade diskutabilná. Preto je potrebné aplikovať také agrotechnické opatrenia, ktoré imobilizujú rizikové kovy v zložkách pôdy a následne zabránia ich prieniku do pestovaných plodín. A keďže sú tieto suroviny využívajú predovšetkým ako mraziarenske, je potrebné zabezpečiť dôkladnejší monitoring tejto oblasti, ktorá je poľnohospodársky intenzívne využívaná.

LITERATÚRA

Aleksejev, V. J.(1987): Jaželye metally v povach i rasteniach. Agropromizdat, Leningrad, s. 141.

Cibulka, J.(1991): Pohyb olova, kadmia a rtuti v biosfé., Academia Praha.

Gama,E.M.,daSilva,L.A.,Lemos,V.A.(2006): Preconcentration system for cadmium and lead determination in environmental samples using polyurethane foam/Me-BTANC. Journal of Hazardous Materials,136,757762

Kolá, L.(1988): Cesty k omezení vstupu těžkých kovů do zemědělské produkce. Seminář SVTS,

„Cizorodé látky v pd a rostlin“, Tábor

Linkeš, V. (1997): Monitoring pôd Slovenskej republiky. In: Súčasný stav monitorovaných vlastností pôd. VÚPÚ, Bratislava, s. 128

Merian, E. (1991): Metals and their compounds in the environment. Occurrence, analysis and biological relevance. VCH Verlagsgesellschaft mbH., D 6940, Weinheim, 1991

Petíková, V.(1990): Výskyt imisí v ovzduší a obsah ťžkých kovů v zemědělských plodinách. Rostlinná výroba, 36 (4): s. 367-377

Potravinový kódex Slovenskej republiky 2004. Najvyššie prípustné množstvá kontaminantů v potravinách platné v Slovenskej republike

Vinas,P., Pardo-Martínez, M., Hernández-Córdoba, M.(2000): Rapid determination of selenium,lead and cadmium in baby food samples using electrothermal atomic absorption spectrometry and slurry atomization. *Analytica Chimica Acta*, 412,121130

ZÁKON 220/2004 Z.Z. O ochrane a využívaní poľnohospodárskej pôdy z 10. marca 2004. In : Zbierka zákonov SR, čiastka 69 z 28. apríla 2004, MP SR Bratislava, s. 2278 – 2315

PCR IN DETECTION OF FUNGAL CONTAMINATIONS IN POWDERED PEPPER

Trojan V., Hanáček P., Havel L.

Department of Plant Biology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xtrojan@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The PCR method for fungal contaminations in powdered pepper was optimized in our previous work. At present work we use this method for detection fungal contaminations in fifteen particular samples of commercially distributed red dried powdered pepper. In all samples under the investigation a fungal contamination was found but none of that belonged to toxinogenic fungi. The results corresponded with classical cultivation fungal detection.

Key words: contaminant detection in spice, pepper, PCR

Acknowledgments: This experiment was realized in cooperation with private company 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 výhodou je úspora času pro provedení analýzy. Při srovnání s klasickými kultivačními metodami až několikanásobně. A proto jsme se v předcházející práci zaměřili na optimalizaci metody PCR (Polymerase Chain Reaction) při detekci houbových kontaminací v práškové paprice, která má v České republice z procenta využití různých druhů koření největší význam. Optimalizovanou metodu jsme využili pro analýzu patnácti konkrétních vzorků komerčně dodávané papriky do obchodní sítě.

MATERIÁL A METODIKA

Materiál:

Pro ověření vyvinutého postupu bylo analyzováno 15 různých vzorků sušené červené mleté papriky, které byly dodány v množstvích á 25 g (obr. 1). Jejich popis je uveden v tabulce 1. Množství pro jednotlivé pokusy odebíraná z tohoto vzorku měla jednotnou hmotnost 20 mg.

Tab.1 Specifikace vzorků papriky.

Číslo protokolu	Název suroviny	Šarže	Expirace
P125-127/09	Paprika sl. Speciál 120 ASTA	J01071200PM	7.7.2009
P125-127/09	Paprika pálivá Rubín 100 ASTA	J01062100PM	6.7.2009
P125-127/09	Paprika pálivá S80 ASTA	J01071000PM	7.7.2009
P290-291/09	Paprika sladká 100 ASTA	J01161200	16.7.2009
P542-546/09	Paprika sladká Rubín 100 ASTA	J01162000PM	16.7.2009
P542-546/09	Paprika sladká HAMÉ 40 ASTA	J01191300PM	19.7.2009
P542-546/09	Paprika pálivá H60 ASTA	J01201000PM	20.7.2009
P542-546/09	Paprika pálivá HAMÉ 40 ASTA	J01192000PM	19.7.2009
P542-546/09	Paprika sladká Kalocsa 140 ASTA	J01191100PM	19.7.2009
P14686-14690/08	Paprika pálivá H60 ASTA	I12081000PM	8.6.2009
P14686-14690/08	Paprika sladká Rubín 100 ASTA	I12031400PM	3.6.2009
P14686-14690/08	Paprika pálivá Hamé 40 ASTA	I12021300PM	3.6.2009
P11476-11477/08	Paprika sladká Kalocsa 140 ASTA	I10101800PM	10.4.2009
P9229-9231/08	Paprika pálivá H 60 ASTA	I08131600PM	13.2.2009
P6876-6878/08	Paprika sladká Eso	106021400	2.12.2008

Obr.1 Vzorky papriky ve stavu v jakém byly dodávány k analýze.



Metodika:

1) Izolace DNA

DNA byla izolována přímo ze vzorku červené sušené mleté papriky pomocí kitu DNeasy Plant kit firmy Qiagen podle návodu přiloženém výrobcem.

2) PCR amplifikace

Na základě předchozích výsledků byly použity primery ITS1F a ITS4. Tento pár je specifický pro kteroukoli skupinu hub. Optimální teplota annealingu, při které byl PCR produkt na gelu nejostřejší byla 55 °C (Trojan et al. 2008).

3) Sekvenování

Získané produkty PCR byly purifikovány pomocí Qiagen purifikačního kitu podle návodu dodaného výrobcem. Celková hmotnost amplifikované DNA byla semikvantitativně určena, dle intenzity zobrazeného proužku na gelu srovnáním se standardem, 30ng a sekvence vzorků byla zjištěna v laboratoři ústavu morfologie, fyziologie a genetiky zvířat MZLU v Brně na přístroji ABI 310.

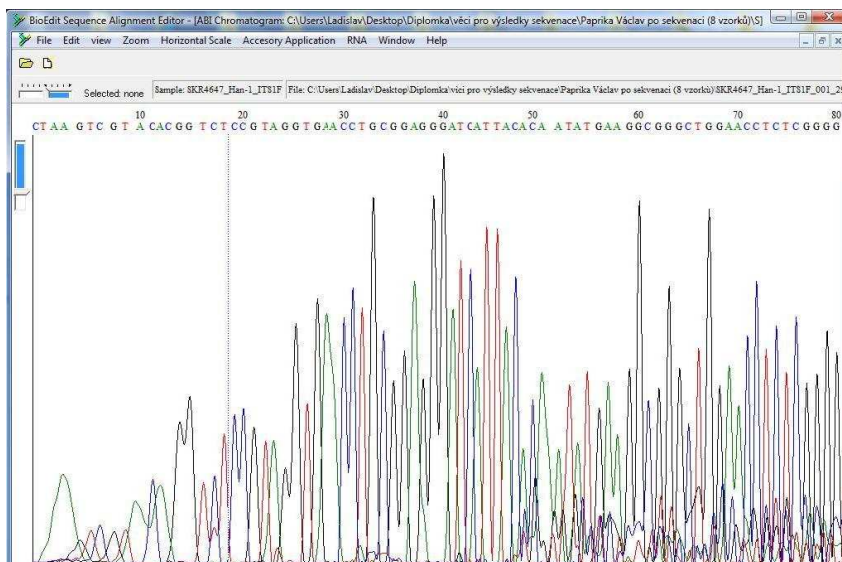
4) Hodnocení výsledků získaných sekvenováním

Pro vyhledání konkrétního organismu byly získané sekvence porovnávány v databázi NCBI pomocí nástroje BLAST.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Výsledky sekvenování byly zobrazeny programem Bioedit (obr. 2).

Obr 2. Příklad části získaného chromatogramu v programu Bioedit, znázorňující pořadí nukleotidů v sekvenovaném vzorku DNA.



U vybraných vzorků byly zjištěny tyto sekvence.

Vzorek 1 - Paprika sl. Speciál 120 ASTA

```
CTAAGTCGTACACGGTCTCCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACAC
AATATGAAGCGGGCTGGAACCTCTCGGGTTACAGCCTTGCTGAATTAT
TCACCCTTGCTTTTGGCTACTTCTTGTTCCTTGGTGGGTTCGCCACC
ACTAGGACAAACATAAACCTTTTGTAATTGCAATCAGCGTCAGTAACAAA
TTAATAATTACAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGA
AGAACGCAGCGAAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGTGAAT
CATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTTTGGTATTCCAAAGGCATG
CCTGTTCGAGCGTCATTGTACCCTCAAGCTTGTCTGGTGTGGGGCGTC
TTGTCTTAGCTTTGCTGGAGACTCGCCTTAAAGTAAATGGCAAGCCGGCC
TACTGGTTTCGGAGCGCAGCACAAAGTCGCACTCTCTATTCGAAAGGCTC
AGCATCCATTAAGCCTTTTTTCAACTTTTGACCTCGGATCAGGTAGGGA
TACCAGCTGAAACTTAAGCATATGTCAGCCGGAGGAAAAACCTCAAACC
AGAAGGCACTCCACGATGAACCTAAGCATATCAGTAAGAAGAAGGAAAA
AAAGAATATATAGTTTAAAGTTAGATGTAACAGAA
```

Vzorek 2 - Paprika pálivá Rubín 100 ASTA

TAAAAGTCGTACAAGGTCTCCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACA
CAAATATGAAGGCGGGCTGGAACCTCTCGGGGTACAGCCTTGCTGAATT
ATCACCTTGTCTTTTGCCTACTTCTTGTTCCTTGGTGGGTTGCCCCA
CCACTAGGACAAACATAAACCTTTTGTAAATTGCAATCAGCGTCAGTAACA
AATTAATAATTACAACCTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGAT
GAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTTTGGTATTCCAAAGGGCA
TGCCTGTTCGAGCGTCATTTGTACCCTCAAGCTTTGCTGGTGTGGGCG
TCTTGTCTCTAGCTTTGCTGGAGACTCGCCTTAAAGTAATTGGCAGCCGG
CCTACTGGTTTCGGAGCGCAGCACAAGTCGCACTCTCTATCAGCAAAGGT
CTAGCATCCATTAAGCCTTTTTTTCAACTTTTGACCTCGGATCAGGTAGG
GATACCAGCTGAACTTAAGCATATCAATAAAGCGGAGGA

Vzorek 3 - Paprika pálivá S80 ASTA

CTAGTCGTACAGGTCTCCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACACAA
TATGAAGGCGGGCTGGAACCTCTCGGGGTACAGCCTTGCTGAATTATTC
ACCCTTGTCTTTTGCCTACTTCTTGTTCCTTGGTGGGTTGCCCCACCAC
TAGGACAAAACATAAACCTTTTGTAAATTGCAATCAGCGTCAGTAACAAAT
AATAATTACAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAG
AACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCA
TCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTTTGGTATTCCAAAGGGCATGCC
TGTTTCGAGCGTCAATTTGTACCCTCAAGCTTTGCTTGGTGTGGGCGTCTT
GTCTTAGCTTTGCTGGAGACTCGCCTTAAAGTAATTGGCAGCCGGCTTA
CTGGTTTCGGAGCGCAGCACAAGTCGCACTCTCTATCAGCAAAGGTCTAG
CATCCATTAAGCCTTTTTTTCAACTTTTGACCTCGGATCAGGTAGGGAT
ACCAGCTGAACTTAAGCATATAATTAAGCGGGAGGGAT

Vzorek 4 - Paprika sladká 100 ASTA

AAAGTCGTAACAGGGTCTCCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACAC
AAATATGAAGGCGGGCTGGAACCTCTCGGGGTACAGCCTTGCTGAATTA
TTCACCTTGTCTTTTGCCTACTTCTTGTTCCTTGGTGGGTTGCCCCA
CACTAGGACAAAACATAAACCTTTTGTAAATTGCAATCAGCGTCAGTAACAA
ATTAATAATTACAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATG
AAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
TCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTTTGGTATTCCAAAGGGCAT
GCCTGTTCGAGCGTCATTTGTACCCTCAAGCTTTGCTTGGTGTGGGCGT
CTTGTCTCTAGCTTTGCTGGAGACTCGCCTTAAAGTAATTGGCAGCCGGC
CTACTGGTTTCGGAGCGCAGCACAAGTCGCACTCTCTATCAGCAAAGGTC
TAGCATCCATTAAGCCTTTTTTTCAACTTTTTGACCTCGGATCAGGTAGG
GATACCCGCTGAACCTTAAGCATATAATTAACCGGAAAGAAAGCGCTAAA
AACAAAGCAGGACTCCACGGAGAACCTTAACAATACAATAAACCGGAAAGGAA
TTTGATATTTATATGTTATATTTAAAGATGAAAATGGAGGAAGGA

Vzorek 10 - Paprika pálivá H60 ASTA

TTAAGTCGTACACGGTCTCCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACCC
AATATGAAGGCGGGCTGGAACCTCTCGGGGTACAGCCTTGCTGAATTA
TCACCTTGTCTTTTGCCTACTTCTTGTTCCTTGGTGGGTTGCCCCACC
ACTAGGACAAAACATAAACCTTTTGTAAATTGCAATCAGCGTCAGTAACAAA
TTAATAATTACAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGA
AGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGTGAAT
CATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTTTGGTATTCCAAAGGGCATG
CCTGTTTCGAGCGTCAATTTGTACCCTCAAGCTTTGCTTGGAGTTGGGCGTC
TTGCTCTAGCTTTGCTGGAGACTCGCCTTAAAGTAATTGGCAGCCGGC
TACTGGTTTCGGAGCGCAGCACAAGTCGCACTCTCTATCAGCAAAGGTCT

AGCATCCATTAAGCCTTTTTTCAACTTTTGACCTCGGATCAGGTAGGGA
TACCCGCTGAACTTAAGCATATCTTAAAGCGGGAGGATGCC

Vzorek 11 - Paprika sladká Rubín 100 ASTA

AAAGTCGTACTGGTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAG
GGTGAAGGCGGGCTGGAACCTCTCGGGGTACAGTCTTGGTGAATTGTTG
ACCCTTGGCGTTTGCCTACTTCTTGTTCCTTGGTGGGTTCCGCCACCAC
TAGGCACAACATAAACCTTTTGAATTGCAATCATTAGTCCGTAACAAAT
TAATAATTACAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGATCTGGCTTCGATGAA
TAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGGGAATTGCAGAAATTCAGTGAATC
ATCGAATCTTTAAGCGCACATTGCGCCCTTTGGTATTCCAAAGGGCATGC
CTGGCCGAGCGTCATTTGGACCCCTCAAGCTTTGCTTGGTGTGGGGCGTCT
TGCTCTAGCTTTGCTGGAGACTCGCCTTAAAGTAATTGGCAGCCGGCCT
ACTGGTTTCGGAGCGCAGGTCAAAGTCGCACTCTCTATCAGCAAAGGTCTA
GCATCAATTAAGCCTTTTTTCAACTTTTGACCTCGGATCAGGAAGGGAT
ACCAGCTGAAACTTAGACATATCATAAGCGGAGGAAGCC

Vzorek 13 - Paprika sladká Kalocsa 140 ASTA

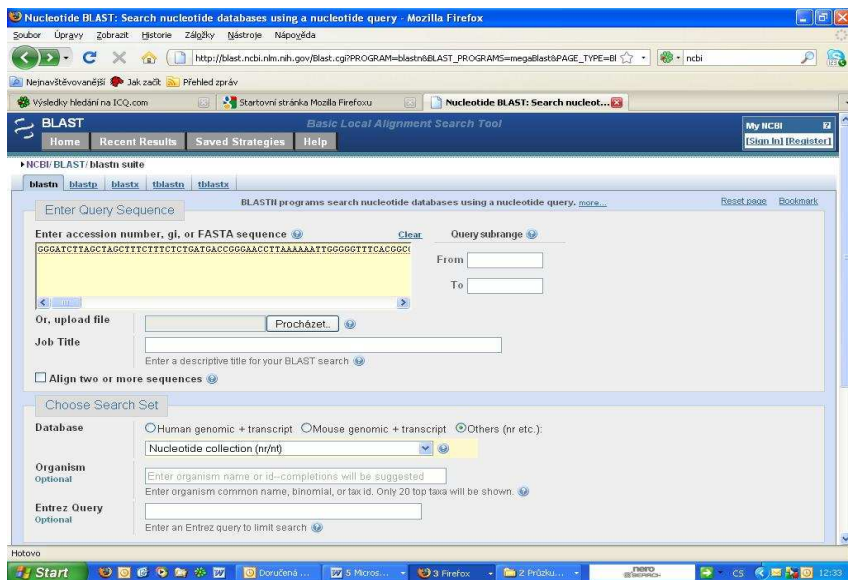
TAAGTCGTACATGGTCTCCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACACA
GTATGAAGGCGGGCTGGAACCTCTCGGGGTACAGCCTTGCTGAATTATT
CACCTTGTCTTTTGCCTACTTCTTGTTCCTTGGTGGGTTCCGCCACCA
CTAGGACAAACATAAACCTTTTGTAAATTGCAATCAGCGTCAAGTAAACAAAT
TAATAATTACAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAA
GAACGCAGCGAAATGCGATAAGTGTGAAATTGCAGAAATTCAGTGAATC
ATCGAATCTTTGAAGCGCACATTGCGCCCTTTGGTATTCCAAAGGGCATGC
CTGTTTCGAGCGTCATTTGTACCCTCAAGCTTTGCTTGGTGTGGGGCGTCT
TGCTCTAGCTTTGCTGGAGACTCGCCTTAAAGTAATTGGCAGCCGGCCT
ACTGGTTTCGGAGCGCAGCACAAAGTCGCACTCTCTATCAGCAAAGGTCTA
GCATCCATTAAGCCTTTTTTCAACTTTTGACCTCGGATCAGGTAGGGA
TAACCAGCTGAACCTAAGCATATATTATAAAGGGGAAGAAAAACCTTAGA
AACATTAAGGACTCGCCCGATAAACCTAAGCATATCAATAAACAGGAGG
AAAATATTATAGGTAGTAGTAGAAGAGGGGAGAGGAGAGAG

Vzorek 15 - Paprika sladká Eso

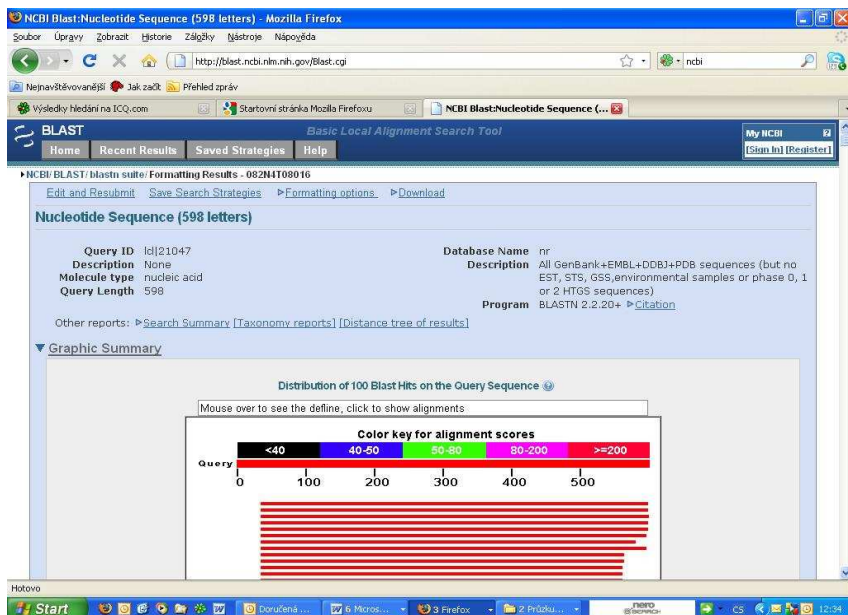
GAGTCGTAACAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACTCAT
GGTCTTGGCTGGGTGGAACCGCTCGCGCGACAGTCTTGTGACTTATTC
GCCCTTGCCTTTTGCCTACTTCTTGTTCCTTGGCGGGTTCCGCCACCAC
TAGGACAAAGTTAAACCTTATTGTAATTGCAAAAATTTACCAGTAACTCT
TTGTAATTACAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGGTCTGGCGTCGATGAA
GAACGCAACGAAATGCGATAAGTAAATTGAAATTGCAGAAATTCAGTGCATT
ATCGAATCTTTGAAGGCACATTGCGTCTTTGGGATTCCAAAGGGCCTGC
CTGGTCTAGTGTCTTTTGGGCCCTCAAGCTGTGCTTGGCGTGGGGAGTGT
TGCTCTAGCTTTGCTGGAGACTCGCCTTAAAGTAATTGGCAGCCGGCCT
ACTGGTTTCGGAGCGCAGTACAAGTCGCACTCTCTATCAGCAAAGGTCTA
GCATCCATTAAGCCTTTTGTCACTTTTGGACCTCGAATCTGTAGGGATA
CCCGCTGAAACTTAAAGCATATAATAAGCGGAGGAATGGCTCAAATCAAG
TAGCACTACCCGCTGAACCTTAGCTATCATTAAAGCGAAGGAACCTTTCATG
GAAAATGAACATACCTTAGAAAAGG

Vyhledávání konkrétního organismu bylo provedeno pomocí nástroje BLAST (obr 3) v databázi NCBI (obr. 4-6).

Obr.3 Vložení získané sekvence do nástroje BLAST.



Obr. 4 Příklad výsledku z databáze NCBI zjištěné nástrojem BLAST část 1.



Obř. 5 Příklad výsledku z databáze NCBI zjiřténé nástrojem BLAST část 2.

Legend for links to other resources: UniGene GEO Gene Structure Map Viewer

Sequences producing significant alignments:
(Click headers to sort columns)

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident	Links
EU826877.1	Uncultured soil fungus clone LMRF_33 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	1029	1029	93%	0.0	99%	
EU826878.1	Nectria maurititcola 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, strain NRRL20420	1027	1027	93%	0.0	99%	
EU826911.1	Sigmaidea sp. TUB7956 internal transcribed spacer 1, partial sequence	1024	1024	93%	0.0	99%	
EU826925.1	Uncultured soil fungus clone LMRF_51 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	1018	1018	93%	0.0	99%	
EU826921.1	Uncultured soil fungus clone LMRF_47 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	1011	1011	93%	0.0	99%	
EU826922.1	Uncultured soil fungus clone S350 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	1003	1003	90%	0.0	100%	
EU826917.1	Uncultured fungus clone S350 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	985	985	93%	0.0	98%	
EU826925.1	Phaeoacremonium hungaricum strain 90PA 18S ribosomal RNA gene	972	972	87%	0.0	100%	
EU645718.1	Fungal sp. IK7 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1	972	972	87%	0.0	100%	
AJ358114.1	Nectria maurititcola 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, strain NRRL20420	968	968	87%	0.0	100%	
FJ136779.1	Acronemium sp. ATCC MYA-3935 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	968	968	87%	0.0	100%	
FJ136783.1	Acronemium sp. ATCC MYA-3933 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	968	968	87%	0.0	100%	
FJ136784.1	Acronemium sp. ATCC MYA-3932 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	965	965	87%	0.0	100%	
EU675986.1	Uncultured soil fungus clone F38 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	965	965	87%	0.0	100%	
EU675982.1	Uncultured soil fungus clone F91 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	965	965	87%	0.0	100%	
EU675979.1	Uncultured soil fungus clone F4 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	955	955	87%	0.0	100%	
EU045552.1	Nectria maurititcola isolate Ghanab 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	957	957	87%	0.0	99%	
EU045550.1	Nectria maurititcola isolate Ghanab 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	953	953	86%	0.0	99%	
DQ459040.1	Fungal endophyte sp. DF3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	953	953	87%	0.0	99%	
AJ130846.1	Acronemium strictum genogroup III strain UW 940 18S ribosomal RNA gene	953	953	87%	0.0	99%	
EU099902.1	Uncultured soil ascomycete isolate DGGE band 4a1a 18S ribosomal RNA gene	950	950	89%	0.0	98%	
AM176681.1	Nectria maurititcola 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, strain NRRL20420	929	929	84%	0.0	100%	
AJ358371.1	Acronemium kilense 18S rRNA gene (partial), 5.8S rRNA gene, 28S rRNA gene	924	924	83%	0.0	100%	
AJ358370.1	Acronemium strictum 18S rRNA gene (partial), 5.8S rRNA gene, 28S rRNA gene	924	924	83%	0.0	100%	
EU726299.1	Uncultured Nectria clone LO24 H5 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	920	920	83%	0.0	99%	

Obř. 6 Příklad výsledku z databáze NCBI zjiřténé nástrojem BLAST část 3.

Format: GenBank FASTA Graphics More Formats

Download Save Links

GenBank: AJ557830.1

Nectria maurititcola 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene (partial), strain NRRL20420

Change Region Shown
Customize View

Sequence Analysis Tools

BLAST Sequence
Find regions of similarity between this sequence and other sequences using BLAST.

Pick Primers
Design and test primers for this sequence using Primer-BLAST.

Recent Activity
Turn Off Clear

Nectria maurititcola 18S rRNA gene (partial), ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA gene (partial), strain NRRL20420

Nucleotide Sequence (598)

Hotovo

Výsledky vyhledávání v NCBI amplifikované houbové DNA v osmi náhodně vybraných vzorcích jsou uvedeny v tab. 2.

Tab. 2 Houbové kontaminace v sledovaných vzorcích papriky.

Číslo vzorku	Přístupový údaj	Popis organismu	Identita (%)
1	EF432274.1	<i>Alternaria</i> sp. G5A 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	98
2	DQ491089.1	<i>Alternaria</i> sp. EAL1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	99
3	DQ491089.1	<i>Alternaria</i> sp. EAL1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	98
4	EU326185.1	<i>Alternaria tenuissima</i> isolate XSD-83 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	99
10	DQ491089.1	<i>Alternaria</i> sp. EAL1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	98
11	AY154710.1	<i>Alternaria tenuissima</i> strain IA279 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	99
13	EU326185.1	<i>Alternaria tenuissima</i> isolate XSD-83 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	99
15	AB369904.1	<i>Alternaria alternata</i> genes for small subunit rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2 and large subunit rRNA, partial and complete sequence, strain: IFM 53969	88

Vyvinutá metoda byla použita na patnácti konkrétních vzorcích červené sušené mleté papriky dodané producentem. Ve všech těchto vzorcích byla zjištěna přítomnost houbové DNA, což odpovídalo výsledkům zjištěných klasickou kultivační metodou v akreditované laboratoři Státního veterinárního ústavu v Olomouci (protokoly o výsledcích jsou k dispozici – Trojan, 2009).

Naše výsledky získané sekvenací osmi náhodně vybraných vzorků DNA (všechny vzorky nemohly být z finančních důvodů sekvenovány) ukázaly přítomnost rodu *Alternaria*, v jednom případě druhu *Alternaria alternata*.

Do současné doby bylo publikováno více než 10 000 prací, které se zabývají problematikou rodu *Alternaria* v rámci jednotlivých oborů aplikované mykologie (Prokinová 2004). Z tohoto velkého počtu prací mimo jiné vyplývá, že přinejmenším některé druhy mohou produkovat toxiny. Obsah těchto toxinů v krmivech a potravinách nebývá však tak vysoký, aby ohrožoval zdraví spotřebitele. Zdá se tedy, že význam toxinů produkovaných houbami rodu *Alternaria* jako kontaminantů potravin a krmiv rostlinného původu není příliš velký (Prokinová 2004).

Klasickou kultivační metodou provedenou podle ČSN ISO 7954 nebyly zachyceny žádné potenciálně toxigenní plísně v žádném ze vzorků. Při optimalizaci PCR pro detekci houbových kontaminací ve vzorcích červené sušené mleté papriky byl použit jiný vzorek papriky, ve kterém nebyla přítomnost rodu *Alternaria* vůbec zaznamenána (Trojan et al. 2008). Otázkou tedy zůstává, jak se zmíněný rod do zkoumaných vzorků dostal, protože se hojně vyskytuje v životním prostředí. Z naší práce vyplývá, že metoda PCR může významně zpřesnit a urychlit vyhledávání plísňových kontaminantů, které nemusí být v době kontroly běžnou kultivační metodou již v životaschopné formě.

ZÁVĚR

Získané výsledky prokázaly kontaminaci dodaných vzorků červené sušené mleté papriky houbami. Metodu molekulární biologie PCR je možné aplikovat na série vzorků červené sušené mleté papriky a zřejmě i na další druhy koření, ve kterých se prokazuje možná kontaminace plísněmi. Jež při klasické kultivaci používané dnes pro kontrolu zdravotní nezávadnosti nemusí být vůbec zaznamenány.

LITERATURA

Prokinová E. Druhy rodu *Alternaria* – původci chorob rostlin, producenti toxinů a alergeny: přehled dosavadních poznatků, Vědecký výbor fytosanitární a životního prostředí, VÚRV Praha Ruzyně, 2004 18 s. Dostupné na World Wide Web: <http://www.phytopsanitary.org/projekty/2004/vvf-04-04.pdf>

Trojan V. Sledování mikrobiálních kontaminací pomocí molekulárně biologických metod ve vybraných surovinách pro výrobu koření. Diplomová práce MZLU, 2009. 81 s.

Trojan V., Hanáček P., Havel L. Detekce houbových kontaminací v práškové paprice pomocí molekulárně biologických metod, MendelNET Agro 2008 str. 94.

Section – Plant Biology

THE INFLUENCE OF STRIGOLACTONE ON AUXIN TRANSPORT

Buchtová D.¹, Chmelová D.¹, Kalousek P.¹, Balla J.¹, Pernisová M.², Reinöhl V.¹, Procházka S.¹

¹Department of Plant Biology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

²Department of Experimental Biology, Faculty of Science, Masaryk University, Kamenice 2, 625 00 Brno, Czech Republic

E-mail: d.buchtov@seznam.cz

ABSTRACT

Our objective was to assess the influence of the newly described plant hormone strigolactone on the polar auxin transport, that could play a role in a feedback regulation of the homeostasis of auxin and strigolactone. As a model system the roots of *Arabidopsis* WT (Columbia), max1 – max4 mutants and PIN1:PIN1:GFP plants were used. The plants were grown on vertical agar plates on control (MS medium) and GR24 (synthetic strigolactone analog) supplemented medium. The root architecture (length of primary root and number of lateral roots), PIN1-3 gene expression and PIN1 protein localization were determined.

The addition of GR24 caused an increase in the length of the WT primary root and decreased the number of lateral roots (LR). This could be explained by a lower auxin level in the root elongation zone and by a delay in formation of auxin maxima needed for lateral root initiation, both effects signaling that GR24 impairs polar auxin transport. The roots of max1 – max4 are known to have higher auxin transport capacity form more lateral roots than WT plants and GR24 decreased the number of LR to WT level. The observed longer primary root of these mutants and further elongation by GR24 addition could not be satisfactorily explained yet.

Real time PCR quantification of PIN1 – 3 gene expression revealed the most pronounced decrease after 2 days of GR24 treatment. There was also observed by confocal microscopy of PIN1:PIN1:GFP roots a dramatic decrease of expression on the protein level. Altogether the results show a modulation of polar auxin transport capacity by strigolactone on transcriptional or translational level and possibly also by influencing protein stability.

Key words: strigolactone, auxin transport, root architecture, *Arabidopsis*

Acknowledgments: This work was supported by a grant of IGA MUAF Nr. 5/2009.

ÚVOD

Nezávážně nově popsaným mobilním signálem transportovaným z kořenů a ovlivňujícím inhibici větvení stonku je zřejmě strigolakton nebo jeho deriváty (Gomez-Roldan et al. 2008; Umehara et al. 2008). Biosyntézy této látky u *Arabidopsis* se účastní dvě karotenoidy štěpící deoxygenázy (MAX3 a MAX4) (Sorefan et al. 2003; Booker et al. 2004) a protein ze skupiny cytochromu P450 (MAX1) (Lazar and Goodman 2006). Přenosu strigolaktonového signálu ve stonku se pak účastní F-box protein MAX2 (Stirnberg et al. 2007). Mutace v kterémkoliv z uvedených genů vede k zvýšenému větvení stonku rostlin (Stirnberg et al. 2002; Sorefan et al. 2003). Tento mechanismus je pravděpodobně konzervovaný u jedno i dvouděložných, neboť jsou popsány homologní geny nejen u hrachu (*Pisum sativum*) (Beveridge 2000), petunie (*Petunia hybrida*) (Snowden et al. 2005), ale i u rýže (*Oryza sativa*) (Arite et al. 2007).

Mnohem déle je známo, že větvení je ovlivněno dalším hormonem – auxinem (Thimann and Skoog 1934) a jeho basipetálním polárním transportem ve stonku. U intaktní rostliny je kapacita tohoto transportního systému nasycená auxinem z apikální části stonku, axilární pupeny nejsou schopny exportovat auxin do stonku (Balla et al. 2009). Kapacita polárního transportu auxinu je daná především množstvím a lokalizací vstupních (AUX1) a výstupních (proteiny ze skupiny PIN) membránových přenašečů auxinu. Například právě v axilárních pupenech intaktních rostlin hrachu byla prokázána přítomnost PIN1, ale jeho lokalizace byla nepolární po obvodu buněk. Teprve po dekapitaci došlo k rychlé polarizaci PIN1 na bazální straně buněk a k ustavení polárního transportu auxinu z pupenů do stonku (Balla et al. 2009). U mutantních rostlin *Arabidopsis max1 – 4* vykazujících zvýšené větvení byla zároveň prokázána zvýšená transportní kapacita auxinu (Bennett et al. 2006). Tato interakce auxinu a strigolaktonu byla nedávno podpořena zjištěním, že exprese MAX3 a MAX4 je pozitivně regulována auxinem a tento signál je předáván TIR1 signální dráhou (Hayward et al. 2009).

Cílem této práce bylo prokázat vliv strigolaktonu na kapacitu polárního transportu auxinu, který by tak mohl hrát roli zpětnovazební regulace rovnováhy mezi auxinem a strigolaktonem. Pro studium účinků strigolaktonu na auxin a jeho transport byl jako modelový systém vybrán kořen *Arabidopsis* cv. Columbia, mutanty *max1 – 4* a transgenní rostliny *PIN1::PIN1:GFP*.

MATERIÁL A METODIKA

V experimentech byly použity rostliny *Arabidopsis thaliana* – divoký typ Columbia (Col), mutantní rostliny *max1*, *max2*, *max3*, *max4* a transgenní rostliny *PIN1::PIN1:GFP*. Kontrolní varianty byly pěstovány na MS médiu s 0,8% agarem a varianta s přidávkou syntetického analogu strigolaktonu obsahovala navíc 1 μ M GR24. Kultivace probíhala v řízených podmínkách v boxech Percival při teplotě 18/21 °C a fotoperiodě 16/8 h.

Pro sledování růstu kořenů byly využity 13denní rostliny *Arabidopsis* pěstované na MS médiu s 0,8 % obsahem agarů. Byla provedena fotografická dokumentace a vyhodnocení délky kořenů pomocí programu ImageJ.

Lokalizace PIN proteinů v kořenech *PIN1::PIN1:GFP* rostlin *Arabidopsis* byla pozorována pomocí laserové konfokální mikroskopie (mikroskop fy Olympus BX60, Fluoview 200). Pro tyto účely byly

kořeny 7denních rostlin nejprve obarveny propidium jodidem (10 µg/ml; po dobu 5 min) a poté snímány při nastavení filtrů pro detekci GFP (excitace při 460-495 nm a emise při 510-550 nm).

Genová exprese *PINI-3* byla měřena metodou kvantitativní PCR v reálném čase u 6denních rostlin *Arabidopsis* pěstovaných na MS médiu s 1 % obsahem agaru. Byly kultivovány 4 varianty: kontrola (K), médium s 1 µM GR24 (S), rostliny přenesené na 24 h z kontrolního na médium s 1 µM GR24 (S24) a rostliny přenesené na médium s 1 µM GR24 na 48 h (S48). Po skončení kultivace byly odebrány kořeny a z nich izolována celková RNA pomocí komerčního kitu Qiagen. cDNA byla připravena z 1 µg celkové RNA a kvantifikována na přístroji Rotor-Gene 3000 (CORBETT RESEARCH) pomocí DyNamo Flash SYBR Green qPCR kitu (Finnzymes). Hladiny exprese byly normalizovány na *ACTIN2*. Byly použity tyto primery:

PIN1: 5'-TACTCCGAGACCTTCCAACACTACG-3' 5'-TCCACCGCCACCACTTCC-3'

PIN2: 5'-GGCGAAGAAAGCAGGAAGA-3' 5'-GGTGGGTACGACGGAACA-3'

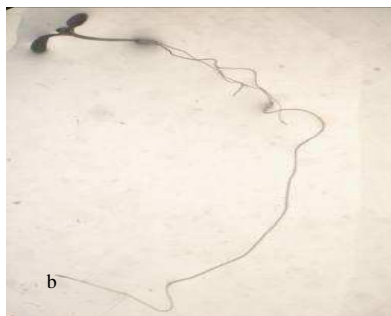
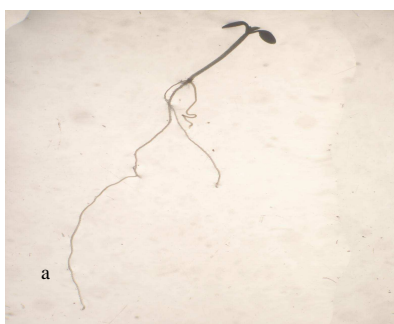
PIN3: 5'-GAGGGAGAAGGAAGAAAGGGAAAC-3' 5'-CTTGGCTTGTAAATGTTGGCATCAG-3'

ACTIN2 5'-TTGACTACGAGCAGGAGATGG-3' 5'-ACAAACGAGGGCTGGAACAAG-3'

VÝSLEDKY A DISKUZE

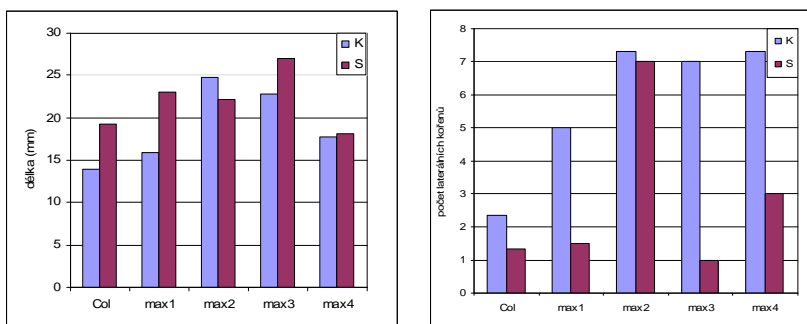
Sledováním vývoje kořenevé architektury rostlin *Arabidopsis* pěstovaných na agaru ve vertikálně postavených Petriho miskách (obr. 1) ukázalo, že kořeny ovlivněné dlouhodobě sloučeninou GR24 - syntetickým analogem strigolaktónů - vykazují odlišný fenotyp. Primární kořen se v přítomnosti GR24 oproti kontrole více prodlužuje (obr. 2a) a naopak tvorba laterálních kořenů je potlačena (obr. 2b). To odpovídá snížené hladině auxinu především v prodlužovací zóně kořene, kde vysoká hladina auxinu brzdí prodlužování buněk (Blilou et al. 2005). Tento efekt regulace prodlužování buněk auxinem je také znám ze studií gravitropní odezvy kořene (Geldner et al. 2001). Také v našich experimentech se kořeny gravistimulovaných rostlin s přídavkem GR24 v médiu ohýbaly pomaleji, než kořeny na kontrolním médiu (data předběžných pokusů neuvedena). Snížená tvorba laterálních kořenů přídavkem GR24 je způsobená omezením tvorby lokálních maxim auxinu potřebných pro iniciaci tvorby laterálních kořenů (Benkova et al. 2003).

Obr. 1 13-tidenní rostliny *Arabidopsis Col* na médiu MS (a) a s přídavkem 1 µM GR24 (b)



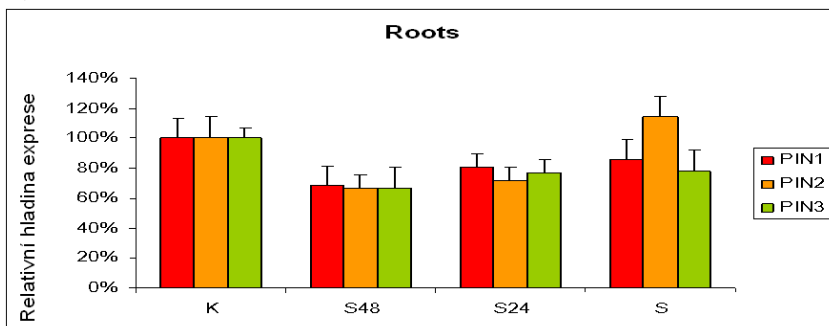
Mutantní rostliny *max1,3,4* mají snížený obsah strigolaktону a u rostlin *max2* by neměl přídavek strigolaktónu vyvolat odezvu. Tvorba laterálních kořenů je regulována především aktivitou vstupního přenašeče AUX1 (Benkova et al. 2003). Snížení obsahu strigolaktónu, které vede ke zvýšení kapacity polárního transportu auxinu (Bennett et al. 2006), zřejmě způsobuje rychlejší tvorbu auxinových maxim a tím také dřívější a četnější větvení kořene. Přídavek GR24 do kultivačního média způsobil u *max1,3,4* pokles tvorby laterálních kořenů na úroveň divokého typu a *max2* je dle předpokladu vůči ošetření touto látkou necitlivý. Prodloužená délka primárního kořene u těchto mutantů je pravděpodobně způsobena zvýšenou kanalizací auxinu z prodlužovací zóny kořene, ale přitom přídavkem GR24 dochází k jejich dalšímu prodloužení u rostlin *max1* a *max3*. Tyto předběžné výsledky se zatím nepodařilo uspokojivě interpretovat a jsou předmětem dalšího studia.

Obr. 2 Délka primárního kořene (a) a počet laterálních kořenů (b) 13-tidenních rostlin *Arabidopsis*



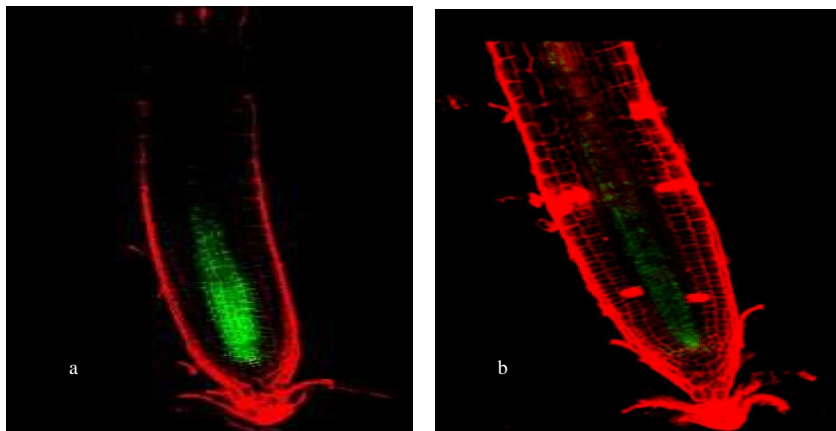
Na základě pozorované změny kořenevé architektury vlivem GR24, bylo cílem prokázat vliv GR24 přímo na expresi přenašečů auxinu na úrovni RNA i proteinu. S pomocí kvantitativní PCR v reálném čase byla stanovena exprese *PIN1-3* po dlouhodobém i krátkodobém působení GR24. Nejvýraznější snížení exprese všech tří genů i genu *AUX1* (data neuvedena) bylo prokázáno po dvoudenním působení analogu strigolaktónu (obr. 3).

Obr. 3 Exprese *PIN1-3* v kořenech šestidenních rostlin *Arabidopsis* pěstovaných na MS médiu (K), MS médiu s přídavkem GR24 (S), přenesených na médium s přídavkem GR24 na 1den (S24) a na dva dny (S48).



Pro studium množství PIN1 proteinu lokalizovaného na bazálním pólu buněk v kořeni byly použity rostliny PIN1::PIN1:GFP. Kořeny těchto rostlin byly in vivo snímány pomocí konfokální laserové skenovací mikroskopie. Bylo prokázáno významné snížení GFP signálu fúzního proteinu s PIN1 po kultivaci rostlin na médiu s přísadkou analogu strigolaktону. Tyto výsledky ukazují, že modulace kapacity polárního transportu auxinu mohou být na transkripční a translační úrovni, stejně jako ovlivněním stability PIN1 proteinu.

Obr. 4 Konfokální mikroskopické snímky kořene sedmidenních rostlin *Arabidopsis* PIN1::PIN1:GFP pěstovaných na MS médiu (a) a na médiu s přísadkou GR24 (b).



ZÁVĚR

Tabulka 1 shrnuje výsledky vlastních experimentů (zvýrazněny) a literárních údajů, které ukazují vzájemný vztah strigolaktону a auxinu. Vliv auxinu a jeho transportu (především aktivity AUX1) na prodlužování kořene, tvorbu laterálních kořenů a gravitropní odezvu je známý. Změny těchto fyziologických reakcí působením nedávno objeveného hormonu strigolaktону potvrzují naši hypotézu, že strigolaktón může působit jako modulátor kapacity polárního transportu auxinu.

Tab. 1 Souhrn poznatku o interakci strigolaktону a auxinu

	<i>max1,3,4</i>	WT – Col	<i>max1,3,4</i> + GR24	WT-Col + GR24
Obsah strigolaktону	–	0	0	+
Větvění stonku	+	0	0	–
Délka primárního kořene	+	0	++	++
Počet laterálních kořenů	+	0	–	–
Gravitropní odezva	?	0	?	–
Expresse <i>AUX1</i>	?	0	?	–
Expresse <i>PIN1,2,3</i>	+	0	?	–

Vysvětlivky: 0 – vlastnosti jako WT – Col, ± - zvýšení (snížení) obsahu, vlastnosti, ? – nebylo popsáno.

LITERATURA

- Arite T, Iwata H, Ohshima K, Maekawa M, Nakajima M et al. (2007) DWARF10, an RMS1/MAX4/DAD1 ortholog, controls lateral bud outgrowth in rice. *Plant Journal* 51(6): 1019-1029.
- Balla J, Kalousek P, Reinohl V, Friml J, Procházka S (2009) Competitive canalization of PIN-dependent auxin flow from axillary buds controls apical dominance in pea. in prep.
- Benkova E, Michniewicz M, Sauer M, Teichmann T, Seifertova D et al. (2003) Local, efflux-dependent auxin gradients as a common module for plant organ formation. *Cell* 115(5): 591-602.
- Bennett T, Sieberer T, Willett B, Booker J, Luschnig C et al. (2006) The Arabidopsis MAX pathway controls shoot branching by regulating auxin transport. *Current Biology* 16(6): 553-563.
- Beveridge CA (2000) Long-distance signalling and a mutational analysis of branching in pea. *Plant Growth Regulation* 32(2-3): 193-203.
- Blilou I, Xu J, Wildwater M, Willemsen V, Paponov I et al. (2005) The PIN auxin efflux facilitator network controls growth and patterning in Arabidopsis roots. *Nature* 433(7021): 39-44.
- Booker J, Auldridge M, Wills S, McCarty D, Klee H et al. (2004) MAX3/CCD7 is a carotenoid cleavage dioxygenase required for the synthesis of a novel plant signaling molecule. *Current Biology* 14(14): 1232-1238.
- Geldner N, Friml J, Stierhof YD, Jurgens G, Palme K (2001) Auxin transport inhibitors block PIN1 cycling and vesicle trafficking. *Nature* 413(6854): 425-428.
- Gomez-Roldan V, Fermas S, Brewer PB, Puech-Pages V, Dun EA et al. (2008) Strigolactone inhibition of shoot branching. *Nature* 455(7210): 189-194
- Hayward A, Stirnberg P, Beveridge C, Leyser O (2009) Interactions between Auxin and Strigolactone in Shoot Branching Control. *Plant Physiology* 151(1): 400-412.
- Lazar G, Goodman HM (2006) MAX1, a regulator of the flavonoid pathway, controls vegetative axillary bud outgrowth in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103(2): 472-476.
- Snowden KC, Simkin AJ, Janssen BJ, Templeton KR, Loucas HM et al. (2005) The Decreased apical dominance 1/petunia hybrida carotenoid cleavage dioxygenase8 gene affects branch production and plays a role in leaf senescence, root growth, and flower development. *Plant Cell* 17(3): 746-759.
- Sorefan K, Booker J, Haurogne K, Goussot M, Bainbridge K et al. (2003) MAX4 and RMS1 are orthologous dioxygenase-like genes that regulate shoot branching in Arabidopsis and pea. *Genes & Development* 17(12): 1469-1474.
- Stirnberg P, van de Sande K, Leyser HMO (2002) MAX1 and MAX2 control shoot lateral branching in Arabidopsis. *Development* 129(5): 1131-1141.
- Stirnberg P, Furner IJ, Ottoline Leyser HM (2007) MAX2 participates in an SCF complex which acts locally at the node to suppress shoot branching. *Plant Journal* 50(1): 80-94.

Thimann KV, Skoog F (1934) On the inhibition of bud development and other functions of growth substances in *Vicia faba*. Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences 114: 317-339.

Umehara M, Hanada A, Yoshida S, Akiyama K, Arite T et al. (2008) Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones. Nature 455(7210): 195-200.

STUDY OF GENOME SIZE EVOLUTION

Čegan R.^{1, 2}, Obšívačová V.^{1, 2}, Kubeková H.², Kejnovský E.², Šafář J.³, Vyskot B.², Hobza R.^{1, 2}

¹Department of Plant Biology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

²Department of Plant Developmental Genetics, Institute of Biophysics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Kralovopolska 135, 612 65 Brno, Czech Republic

³Department of Molecular Cytology and Cytometry, Institute of Biophysics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Kralovopolska 135, 612 65 Brno, Czech Republic

E-mail: cegan@ibp.cz, hobza@ibp.cz

ABSTRACT

The aim of this study is detection of abundance of repetitive elements and their proportion in size of the *Silene vulgaris* genome. Furthermore we intend to compare representation and localization of individual repetitive elements in *S. vulgaris* and *S. latifolia*. Observed data should help to answer why is variability between *S. latifolia* and *S. vulgaris* genome so vigorous. Both species are diploid and have the same chromosome number ($2n=24$), nevertheless *S. latifolia* has 2.5x larger genome than *S. vulgaris*. Preliminary data showed that some repetitive sequences (retrotransposons and tandem repeats) are unique for first or second species, respectively. On the basis of acquired data we decipher how quick is evolution of particular sequences regarding their structure and relative and absolute proportion in the genome. Our data can help shed a light on the question, which concrete DNA sequences causes quick genome expansion of many species from genus *Silene*. Particular representation of repetitive sequences in individual sexes of dioecious species can further help us to understand their role in reproductive strategies evolution and in sex chromosomes formation.

Key words: *S. vulgaris*, transposable elements, genome size evolution, speciation, sex chromosomes

Acknowledgments: This research is supported by IGA MUA (DP 7/2009)

ÚVOD

Velikosti genomů vyšších rostlin jsou značně variabilní. Mezi druhy s nejmenšími (*Arabidopsis*) a největšími (*Fritillaria*) genomy je rozdíl více než tří řádů. Mezi základní procesy, které formují velikost genomu u rostlin patří polyploidie a zastoupení jednotlivých repetitivních sekvencí v genomu. U většiny rostlinných rodů se oba tyto mechanismy evoluce genomů prolínají a spolupůsobí. Rod *Silene* je unikátní tím, že téměř všichni jeho zástupci jsou diploidní a mají stejný počet chromozomů ($2n=24$). Dva nejvýznamnější druhy z hlediska využití v základním a aplikovaném výzkumu jsou *S. vulgaris* a *S. latifolia*. *S. vulgaris* je gynodioecický druh, jež je převážně využíván jako modelový organizmus pro studium rezistence rostlin k těžkým kovům (van Hoof *et al.*, 2001) a pro studium evoluce cytoplasmatické samčí sterility (Taylor *et al.*, 2001). *S. latifolia* je jeden z nejkoumanějších rostlinných druhů z hlediska vzniku dvoudomosti a evoluce pohlavních chromozomů (Vyskot a Hobza, 2004). Ačkoli oba dva druhy jsou blíže příbuzné, liší se velikost jejich genomů přibližně 2,5krát. V nedávné době bylo publikováno mnoho dat, která se týkají evoluce repetitivních sekvencí u *S. latifolia*. Bylo ukázáno, že některé retrotranspozony jsou schopny přenášet a rozšiřovat tandemové repeticce v genomu (Kejnovsky *et al.*, 2006a). Dále bylo prokázáno, že některé sekvence centromerického původu jsou značně akumulovány na nerekombinující části chromozomu Y (Hobza *et al.*, 2007). Některé invertované repetitivní sekvence u *S. latifolia* se v genomu značně rozšířily, zvláště pak v centromerách a na chromozomu Y (Hobza *et al.*, 2006). Podrobná analýza organelové DNA ve frakci jaderného genomu ukázala masivní transfer chloroplastových genů do jádra během nedávné evoluce druhu (Kejnovsky *et al.*, 2006b). V nedávné době byla provedena podrobná studie sledující početní zastoupení a distribuci nejpočetnějších DNA sekvencí v genomu (Cermak *et al.*, 2008). Narozdíl od *S. latifolia*, u *S. vulgaris* nejsou k dispozici žádná data, týkající se charakterizace zastoupení jednotlivých repetitivních sekvencí v genomu.

MATERIÁL A METODIKA

Rostlinný materiál a izolace DNA

Rostliny *Silene vulgaris* byly pěstovány v kultivační místnosti za standardních podmínek (24 °C, 16h světlo/8h tma). Genomická DNA byla izolována z mladých listů semenáčků pomocí DNAeasy Plant Mini Kitu (Qiagen).

Konstrukce a analýza („screening“) knihovny krátkých inzertů

Vyizolovaná DNA byla sonikací (7s) nalámána na požadovanou délku 700-1200 párů bází. Nalámané konce byly následně ošetřeny T4 DNA polymerázou a fosforylovány pomocí T4 polynukleotid kinázy. Získané úseky byly přečištěny gelovou elektroforézou. Přečištěné fosforylované krátké inzerty byly ligovány pomocí kitu Smart Cloning Kit (Lucigen) do plazmidového vektoru pSMART[®] LCamp a následně transformovány do kompetentních buněk *E. coli* 10G. Takto získané transformované bakterie u nichž byla pomocí PCR ověřena přítomnost inzertů byly použity na konstrukci knihovny krátkých inzertů. Tato knihovna byla vytvořena v Laboratoři molekulární cytogenetiky a cytometrie Ústavu experimentální botaniky AV ČR, v.v.i. v Olomouci využitím robota firmy Genetix. Knihovna celkově obsahuje 7720 klonů a je uložena ve 20 mikroděstičkách.

Pro hybridizační analýzy je „natištěna“ na 3 membrány.

Pro analýzu knihovny krátkých inzertů *S. vulgaris* byla použita sonda genomické DNA *S. vulgaris*. Značení sond bylo provedeno pomocí Prime-It II Random Labeling Kitu (Stratagene) a jako izotop byl použit α - ^{32}P dATP, podle standardního protokolu. Membrány byly hybridizovány při 60°C po dobu 16 hodin a odmyvány 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.

PCR protokol

Pozitivně hybridizující klony byly z knihovny vypíchnuty a byla na nich provedena PCR. Standardní PCR podmínky byly 95 °C po dobu 3 min, následovány 25 cykly 94 °C/30s, 60 °C/30 sec min, 72 °C/1 min a finální inkubace 72 °C/5 min. Pro amplifikaci byly použity primery SL1: 5'-CAG TCC AGT TAC GCT GGA GTC-3' a SR2: 5'-GGT CAG GTA TGA TTT AAA TGG TCA GT-3'.

Sekvenování a počítačová analýza získaných dat

Amplifikované PCR produkty byly přečištěny pomocí ExoSAP, naznačeny pomocí BigDye® Terminator Cycle Sequencing Kitu dle manuálu výrobce a následně purifikovány pomocí Agencourt® CleanSEQ® kitu. Purifikované a naznačené vzorky byly sekvenovány v Laboratoři molekulární cytogenetiky a cytometrie Ústavu experimentální botaniky AV ČR, v.v.i. v Olomouci, pomocí 96 kapilárního sekvenátoru ABI 3730xl dle manuálu výrobce.

Získané sekvence byly počítačově analyzovány. Ke složení sekvencí byl použit program Geneious, DNA baser, MAFFT a CLUSTAL W. Pro zjištění sekvencních homologií mezi jednotlivými klony byl využit program JDotter, pro homologie s již známými sekvencemi BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) a homologie k repetitivním sekvencím (Repbase) byly zjištěny pomocí CENSORu (compares and mask nucleotide repeats). Tandemové repetice byly identifikovány pomocí Tandem Repeats Finder 4.0. Otevřené čtecí rámce byly identifikovány pomocí ORF Finder, FGENESH, GeneScan a konzervativní proteinové domény pomocí CD SEARCH (NCBI) nebo RPSBLAST.

FISH (Fluorescence in situ hybridization)

Mitotické chromozomy *S. vulgaris* a *S. latifolia* 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. Jako sondy byly použity Cy3 značené oligonukleotidy (SV STAR left: CGAACGATAAGGAGTGACTA a SV STAR right: CACACAACGAGTCACAAAGACTAA). 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.

VÝSLEDKY A DISKUZE

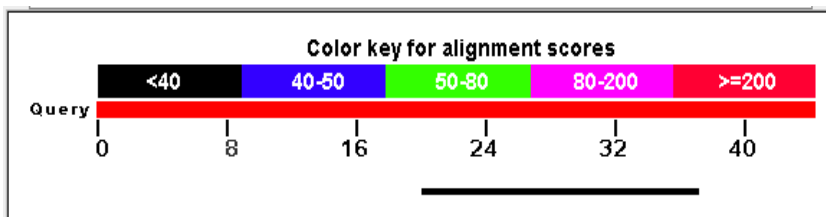
První částí experimentu byla konstrukce knihovny krátkých inzertů *Silene vulgaris* s počtem klonů 7720. Dále byly provedeny radioaktivní hybridizace této knihovny, s genomickou DNA *Silene vulgaris*. Nejsilněji hybridizující klony byly vybrány (282) a v současnosti probíhá jejich sekvenace a počítačová analýza těchto sekvencí. Z dosud sekvenovaných 130 klonů 56 vykazuje homologii k sekvenci

gb|EU646284.1| *Silene latifolia* clone L141_6C14 satellite STAR sequence a 65 těchto sekvencí vykazuje homologii s gb|EU646384.1| *Silene latifolia* clone L141_8J2 putative Athila-like retrotransposon, complete sequence, and satellite STAR sequence.

STAR (Silene tandem repeat)

Ze získaných sekvencí SV STAR, byla vytvořen contig dlouhý 1170 bp a v něm byla pomocí programu Tandem Repeat Finder nalezena tandemová repetice dlouhá 43 bp s počtem opakování 16 (CGAACGATAAGGAGTGACTACACACAACGAGTCACAAAGACTAA). Porovnáním této tandemové repetice se STAR C *Silene latifolia* jsme zjistili, že je homologní (obr.1) pouze v jedné části (right) a druhá část (left) je pro *S. vulgaris* unikátní. Na tyto společné a unikátní sekvence byly navrženy Cy3 značené primery sloužící jako sondy pro FISH.

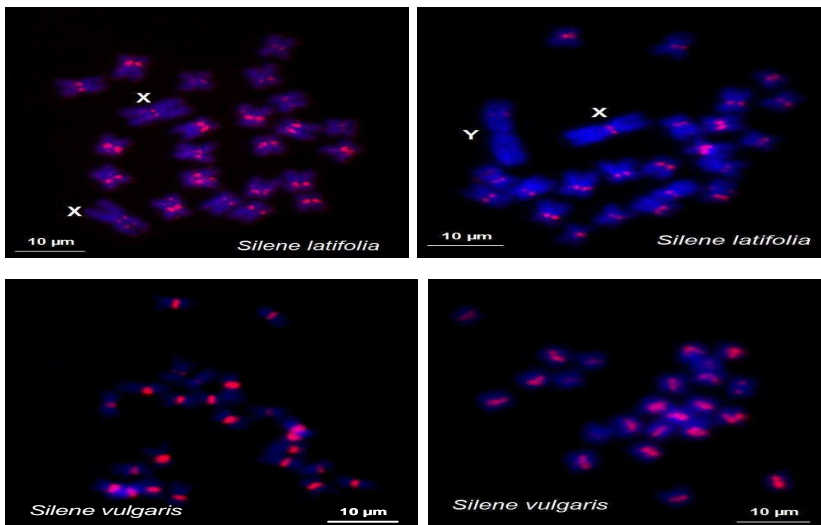
Obr.1 Alignment STAR tandemové repetice *S. vulgaris* a *S. latifolia*



>*S.vulgaris* STAR (44bp) CGAACGATAAGGAGTGACTACACACAACGAGTCACAAAGACTAA

>*S. latifolia* STAR C (43bp) TAATGAACAAGGACAAATGATTACACACAACGAGTCACAATG

Obr.2 FISH se sondami STAR left a right na mitotických chromozomech *S.vulgaris* a *S. latifolia*



Další experimenty

Abysme získali další informace potřebné k zjištění zastoupení repetitivních elementů v genomu *S. vulgaris*, k porovnání s daty získanými u *S. latifolia* a k zodpovězení původních otázek, budeme dále hybridizovat knihovnu se sondami obsahující konzervativní části jednotlivých repetitivních elementů. K přípravě sond pro analýzu knihovny krátkých inzertů budou použity tyto degenerované primery pro části repetitivních elementů: pro konzervativní části LINE endonukleázy (Noma *et al.*, 1999), gypsy-like reverzní transkriptázy (Friesen *et al.*, 2001), copia-like reverzní transkriptázy (Flavell *et al.*, 1992), Alu SINE (Fawcett *et al.*, 2006), CACTA transpozázy (Staginnus *et al.*, 2001), *mariner* transpozázy (Feschotte and Wessler 2002) a *mutator* transpozázy (Lisch *et al.*, 2001). konzervativní části LINE endonukleázy (Noma *et al.*, 1999), gypsy-like reverzní transkriptázy (Friesen *et al.*, 2001), copia-like reverzní transkriptázy (Flavell *et al.*, 1992), Alu SINE (Fawcett *et al.*, 2006), CACTA transpozázy (Staginnus *et al.*, 2001), *mariner* transpozázy (Feschotte and Wessler 2002) a *mutator* transpozázy (Lisch *et al.*, 2001). S PCR produkty jednotlivých elementů bude provedena hybridizace a následně nejsilnější hybridizující klony budou sekvenovány. Nejreprezentativnější klony zastupující jednotlivé elementy budou poté vybrány k fluorescenční *in situ* hybridizaci pro určení paternu a zastoupení jednotlivých elementů v genomu *S. vulgaris*.

ZÁVĚR

Nejčastější repetice genomu *S. vulgaris* je tandemově se opakující sekvence centromerického původu STAR, podobně jako v genomu *S. latifolia* jsou nejpočetněji zastoupeny tandemové repetice X-43.1 (subtelomerická repetice využívána k odlišení pohlavních chromozomů) a STAR (Silene tandem repeat). Přestože je STAR lokalizací v genomu poměrně konzervativní, sekvenční divergence mezi jednotlivými druhy je značná. Genom *S. latifolia* je téměř 2.5x větší než genom *S. vulgaris* díky expanzi různých typů transpozónů.

LITERATURA

- Cermak T, Kubat Z, Hobza R, Koblizkova A, Widmer A, Macas J, Vyskot B & Kejnovsky E (2008) Survey of repetitive sequences in *Silene latifolia* with respect to their distribution on sex chromosomes. *Chromosome Research* 16: 961-976.
- Fawcett JA, Kawahara T, Watanabe H, Yasui Y (2006) A SINE family widely distributed in the plant kingdom and its evolutionary history. *Plant Molecular Biology* 61: 505-514.
- Feschotte C, Wessler SR (2002) Mariner-like transposases are widespread and diverse in flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99: 280-285.
- Flavell JA, Dunbar E, Anderson R, Pearce SR, Hartley R, Kumar A (1992) *Ty1-copia* group retrotransposons are ubiquitous and heterogeneous in higher plants. *Nucleic Acids Research* 20: 3639-3644.
- Friesen N, Brandes A, Heslop-Harrison JS (2001) Diversity, origin, and distribution of retrotransposons (gypsy and copia) in conifers. *Molecular Biology and Evolution* 18: 1176-1188.

- Hobza R, Lengerova M, Svoboda J, Kubekova H, Kejnovsky E & Vyskot B (2006) An accumulation of tandem DNA repeats on the Y chromosome in *Silene latifolia* during early stages of sex chromosome evolution. *Chromosoma* 115: 376-382.
- Hobza R, Kejnovsky E, Vyskot B, Widmer A (2007) The role of chromosomal rearrangements in the evolution of *Silene latifolia* sex chromosomes. *Molecular Genetics and Genomics* 278: 633-638.
- Kejnovsky E, Kubat Z, Macas J, Hobza R, Mracek J, Vyskot B (2006a) Retand: A novel family of gypsy-like retrotransposons harboring an amplified tandem repeat. *Molecular Genetics and Genomics* 276: 254-263
- Kejnovsky E, Kubat Z, Hobza R, Lengerova M, Sato I, Tabata S, Fukui K, Matsunaga S & Vyskot B (2006b) Accumulation of chloroplast DNA sequences on the Y chromosome of *Silene latifolia*. *Genetica* 128: 167-175.
- 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.
- Noma K, Ohtsubo E, Ohtsubo H (1999) Non-LTR retrotransposons (LINEs) as ubiquitous components of plant genomes. *Molecular and General Genetics* 261: 71-79.
- Staginnus Ch, Huettel B, Desel Ch, Schmidt T, Kahl G (2001) A PCR-based assay to detect *En/Spm*-like transposon sequences in plants. *Chromosome Research* 9: 591-605.
- Taylor DR, Olson MS, McCauley DE (2001) A quantitative genetic analysis of nuclear-cytoplasmic male sterility in structured populations of *Silene vulgaris*. *Genetics*. 158: 833-841.
- van Hoof NA, Hassinen VH, Hakvoort HW, Ballintijn KF, Schat H, Verkleij JA, Ernst WH, Karenlampi SO, Tervahauta AI (2001) Enhanced copper tolerance in *Silene vulgaris* (Moench) Garcke populations from copper mines is associated with increased transcript levels of a 2b-type metallothionein gene. *Plant Physiology* 126: 1519-1526.
- Vyskot B, Hobza R (2004) Gender in plants: sex chromosomes are emerging from the fog. *Trends in Genetics* 20: 432-438.

PROTEOMIC ANALYSIS: UNCOVERING THE SIGNALING PATHWAYS IN PLANTS

Černý M., Brzobohatý B.

Department of Molecular Biology and Radiobiology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: martincerny83@gmail.com

ABSTRACT

Genomic assays have been widely used to elucidate responses to stimulus, but many biological processes are still unclear. In these cases, a new approach should be used, which would reflect responses preceding the transcriptomic ones or independent of mRNA expression, for example response transduced through posttranslational modification of proteins. Phosphorylation is one of the most important posttranslational modifications of proteins. At least 5% of *Arabidopsis thaliana* genome is responsible for regulation of protein phosphorylation, which indicates that nearly all aspects of cell function involve reversible phosphorylation. It is also a major issue in modern proteomics. We present the use of proteomics in study of plant signaling and possible way to uncover external stimulus perception in plants.

Key words: fosfoproteome, proteomic analysis

Acknowledgments: This work is supported by LC06034 and 1M06030.

ÚVOD

Zatímco v minulosti se přikládal nejvyšší význam genomickým studiím a analýzám profilování RNA pomocí DNA čipů, dnes získává na stále větším významu analýza proteomu. Proteomická analýza je schopna reflektovat změny v okamžité odpovědi organismu na stimulus, které nemusí být vůbec závislé na regulaci genové exprese. Příkladem mohou být posttranslační regulace enzymů, které hrají klíčovou roli v mnoha aktivačních drahách buňky, ale i celých organismů. Vedle regulované proteolýzy, která se uplatňuje například při řízení krevního srážení, je v dnešní době asi nejvíce sledovanou posttranslační modifikací fosforylace. Náš předcházející proteomický výzkum odhalil významnou roli fosforylace v brzké odpovědi rostliny na hormon cytokinin (Černý et al., 2009). Navíc se nám podařilo nalézt mnohá zajímavá spojení mezi receptci cytokininů a dalšími stimulanty. Potenciální spojení mezi receptcí teploty a cytokininů poskytlo důkaz, že fosfoproteomické metody by mohly být použity při odhalení dosud stále neznámého mechanismu percepce teploty v rostlinách (Penfield, 2008).

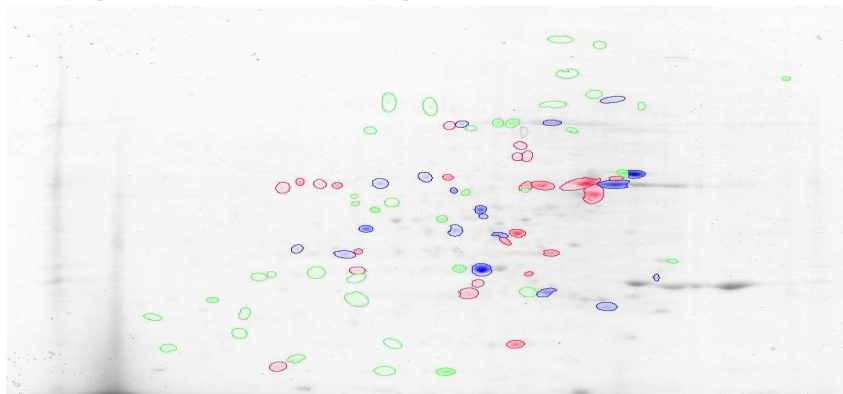
MATERIÁL A METODIKA

Semenáčky *Arabidopsis thaliana* var. Columbia byly kultivovány 7 dní při standardních světelných podmínkách dlouhého dne ($\sim 90 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), teplotě 21/19°C (den/noc). Poté byly přeneseny na temperované medium a vystaveny po dobu 15 min teplotnímu šoku (0°C, 36°C). Fosfoproteom byl izolován zavedenou metodou (Černý, Brzobohatý, 2008) pomocí kitu na izolaci fosfoproteinů (Qiagen). Získaný protein byl separován pomocí standardní 2D elektroforézy (Bio-Rad) a výsledné proteinové mapy porovnány pomocí analýzy obrazu (Decodon Delta 2D).

VÝSLEDKY A DISKUZE

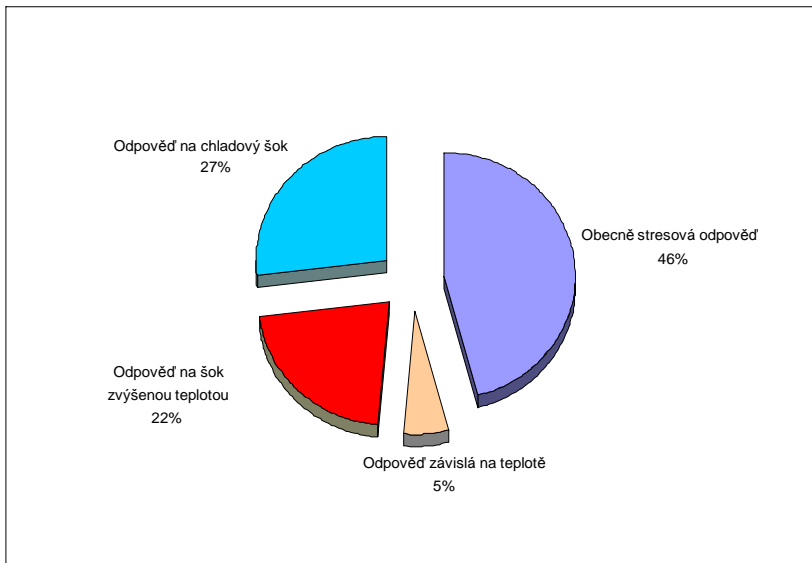
Byl analyzován fosfoproteom rostlin vystavených teplotnímu šoku a porovnán s rostlinami za normálních podmínek. Průměrný obraz fosfoproteomu měl 410 ohraničených proteinových spotů (Obr. 1)

Tab. 1 Fosfoproteomická mapa semenáčku Arabidopsis. Zvýrazněné proteinové spoty reagují na změny v teplotních podmínkách: červená – maximální objem po tepelném šoku, zelená – maximální objem za běžných podmínek, modrá – maximální objem při stimulaci chladem



Mezi 410 spoty bylo pozorováno 57, které vykazovaly odpověď na stimulus. Tato odpověď lze rozdělit na obecně stresovou, odpověď na chlad, odpověď na horko a proteiny jejichž fosforylace se zdá být přímo či nepřímo úměrná teplotě okolí (Graf 1).

Graf 1 Zastoupení stimulů ovlivňujících fosforylace a defosforylace proteinů.



ZÁVĚR

Byla prokázána výrazná role fosfoproteomu v zprostředkování teplotní odpovědi v *Arabidopsis*. Přibližně 1/8 ze všech pozorovaných proteinových spotů na fosfoproteomické 2D mapě se nějakým způsobem zapojuje do teplotních odpovědí rostliny. Zhruba polovinu těchto spotů lze považovat za obecnou odpověď na stres, zbývající část se však zdá být regulována buď chladem, nebo horkem, u 5% proteinů byla dokonce pozorována přímá či nepřímá úměra mezi teplotou a úrovní fosforylace.

LITERATURA

Černý M., Brzobohatý B. (2008): Isolation of phosphoproteome and its application in study of the effect of cytokinin on plants. *MendelNET 2008. Sborník příspěvků z konference studentů doktorského studia*. Brno: Mendelova Zemědělská a Lesnická Univerzita v Brně, 2008, s. 105. ISBN 978-80-7375-239-2.

Černý M., Dyčka F., Bobálová J., Brzobohatý B. (2009): Early cytokinin response proteins and phosphoproteins of *Arabidopsis thaliana* identified by proteome and phosphoproteome profiling. V tisku.

Penfield S. (2008): Temperature perception and signal transduction in plants. *New Phytol*, 179, 615-628.

PHOSPHOPROTEOME DYNAMICS IN RESPONSE TO CYTOKININ TREATMENT IN *ARABIDOPSIS*

Divíšková E., Brzobohatý B.

Department of Molecular Biology and Radiobiology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: eva.diviskova@mendelu.cz

ABSTRACT

Cytokinins have been implicated in many developmental processes and environmental responses of plants, including the regulation of cell division, chloroplast development, apical dominance, anthocyanin production, leaf senescence and others. To ensure appropriate responses to stimuli, organisms have evolved signaling networks, and signal transduction often relies on posttranslational modifications of their protein components. One of the most abundant posttranslational modifications is phosphorylation of proteins and peptides. Phosphorylation is a crucial importance in regulatory mechanisms and signaling pathways.

Key words: cytokinin, phosphorylation, posttranslationalmodification

Acknowledgments: This work is supported by LC06034 and 1M06030.

MAIZE BETA-GLUCOSIDASE ZM-P60.1 AND ITS MUTANT FORMS: NOVEL SUBSTRATE SPECIFICITIES

Filipi T., Mazura P., Brzobohatý B.

Department of Molecular Biology and Radiobiology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: filipi@biomed.cas.cz

ABSTRACT

β -Glucosidase Zm-p60.1 was isolated from chloroplasts of maize coleoptyles. This β -hydrolase is able to cleavage artificial (p-NP-O- β -D-Glup, 4-MUG-O- β -D-Glup and XGLU) and natural substrates (trans-zeatin-O- β -D-glucopyranoside and kinetin-N3- β -D-glucopyranoside). Hydrolytic activities also influence levels of free cytokinins (active) and cytokinin conjugates (non-active) in plants. O-Glucosylation of cytokinins represents reversible way of its inactivation, whereas N-glucosylation (N7- and N9-derivates) irreversible pathway. Moreover, plant β -glucosidases activities which might hydrolyse N7- and N9-glucosides were not isolated till now. Our research brings novel information at the field of substrate specificities of maize β -glucosidase Zm-p60.1. It was found, that Zm-p60.1 is able to hydrolyse cis-zeatin-O- β -D-glucopyranoside, and partly (trans-zeatin-N9- β -D-glucopyranoside, while mutant forms W373K, W373K2 and W373K4 hydrolyse only cis-zeatin-O- β -D-glucopyranoside and trans-zeatin-O- β -D-glucopyranoside. Hydrolysis of trans-zeatin-N7- β -D-glucopyranoside was not observed at all. Amino acid residue W373 also influences substrate specificity of Zm-p60.1. Enzyme hydrolytic activities were confirmed by TLC analysis. Subsequently, it was found, that trans-zeatin-N7- β -D-glucopyranoside and trans-zeatin-N9- β -D-glucopyranoside have no inhibition impact on enzyme activity.

Key words: β -glucosidase, maize, substrate specificity, cytokinin, mutant form, glucosylation, TLC

Acknowledgments: Research is supported by REMOROST LC06034 (Ministry of Education of the Czech Republic)

ÚVOD

Cytokiny patří mezi klíčové fytohormony, které zastávají ve vývoji rostlinného organismu nezastupitelnou roli. Svým působením především ovlivňují růst a diferenciaci buněk a pletiv, podílejí se také na oddalování jejich stárnutí, dále jsou zapojeny do drah reagujících na stres atd. Hladiny aktivních a neaktivních forem cytokininů jsou v rostlině regulovány na několika úrovních. Náš výzkum se zabývá úlohou hydrolas, které jsou schopné štěpit glukosidy *t*-zeatinu, čímž ovlivňují koncentrace volného (metabolicky aktivní forma) a vázaného (metabolicky neaktivní forma) fytohormonu v rostlině.

Brzobohatý et al. [1] a Kristoffersen et al. [2] ze semenáčků kukuřice isoloval β -glukosidasu, u níž bylo následně zjištěno, že je schopna rozkládat umělé substráty *p*-NP-*O*- β -D-Glup, 4-MUG-*O*- β -D-Glup [1, 3] a XGLU [3], ale především deriváty cytokininů – *t*ZOG a K3G [1]. *t*ZOG byl rostlinným extraktem obsahující kukuřičnou β -glukosidasu Zm-p60.1 do 15 minut zcela hydrolyzován, zatímco K3G až za 120 minut. Celkem bylo testováno 7 glukosidů, avšak hydrolyzovány byly pouze zmíněné *t*ZOG a K3G. Soubor testovaných glukosidů obsahoval i *t*Z7G a *t*Z9G, které do 15. minuty hydrolyse nepodléhaly. Existuje všeobecně přijímána hypotéza, že *O*-glukosylace cytokininů představuje jejich reversibilní a dočasnou inaktivaci, zatímco *N*-glukosylace v pozici *N*7- a *N*9- ireversibilní a trvalou inaktivaci. Do současné doby nebyla zatím nalezena žádná rostlinná β -glukosidasová aktivita, která by byla schopna hydrolyzovat *N*7- a *N*9- glykosidy cytokininů. Podobně zatím nebyla nikdy testována hydrolytická aktivita Zm-p60.1 za použití *c*ZOGu jako substrátu.

Tato práce předkládá předběžné výsledky popisu nově objevených substrátových specifit kukuřičné β -glukosidasy Zm-p60.1 a jejích mutančních forem W373K, W373K2 a W373K4.

MATERIÁL A METODIKA

Substráty enzymů: *t*Z, *t*ZOG, *c*Z, *c*ZOG, *t*Z7G a *t*Z9G (OChemIm).

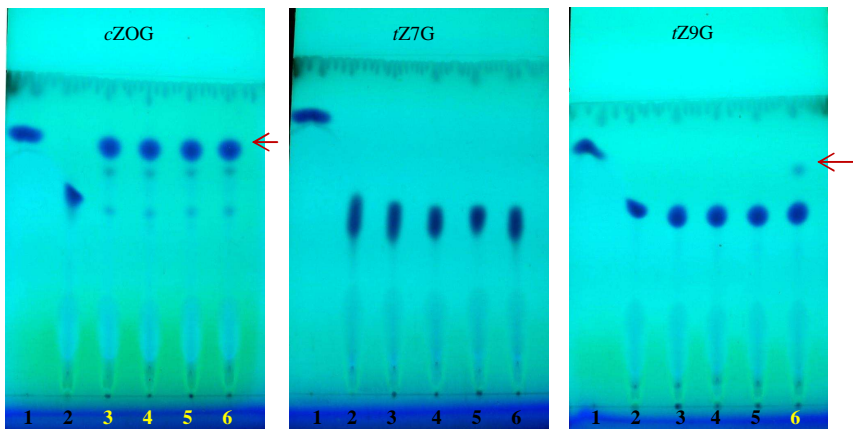
TLC: Sil G (UV 254) (Macherey-Nagel)

Mobilní fáze: buthan-1-ol:CH₃COOH (ledová): H₂O (12:3:5)

K roztokům substrátů v citráto-fosfátovém pufru McIlvaine (50 mM; pH 5,50) bylo přidáno alikvotní množství purifikovaného enzymu. Reakční směs byla inkubována při teplotě 30°C. V daných časových intervalech byly odebírány alikvoty reakční směsi a nanášeny na TLC desku. Aby byl vyloučen falešně pozitivní výsledek (nespecifická hydrolysa substrátu v kyselém prostředí pufru), byl vzorek rozpuštěného standardu v pufru rovněž ponechán po stejně dlouhou dobu při teplotě 30 °C jako reakční směs. Po 5hodinovém vyvíjení byl TLC chromatogram vyhodnocen, kdy byly R_f spotů substrátů a produktů reakcí porovnány s R_f spotů standardů.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Tab. 1 Štěpitelnost *cZOG*, *tZ7G* a *tZ9G* enzymy *Zm-p60.1*, *W373K*, *W373K2* a *W373K4* (30 °C, 1100 minut)



1 – Substrát (*cZOG*, *tZ7G*, *tZ9G*) – standard

2 – *cZ*, *tZ* - standard

3 – *W373K4* + substrát

4 – *W373K2* + substrát

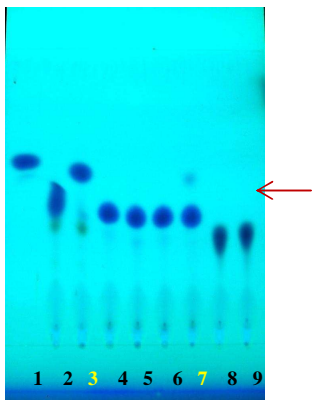
5 – *W373K* + substrát

6 – *WT* + substrát

Červená šipka naznačuje uvolněný *cZ*, *tZ*

(žlutě jsou označeny reakce, kde byla zaznamenána hydrolyza substrátu)

Tab. 2 Štěpitelnost *cZOG*, *tZ7G* a *tZ9G* enzymem *Zm-p60.1* (30 °C, 15 a 1100 minut)



1 – <i>tZ</i> – Standard	(1100 minut)
2 – <i>tZOG</i> – Standard	(1100 minut)
3 – <i>tZOG</i> + WT	(1100 minut)
4 – <i>tZ9G</i>	(15 minut)
5 – <i>tZ9G</i> + WT	(15 minut)
6 – <i>tZ9G</i>	(1100 minut)
7 – <i>tZ9G</i> + WT	(1100 minut)
8 – <i>tZ7G</i>	(1100 minut)
9 – <i>tZ7G</i> + WT	(1100 minut)

Červená šipka naznačuje uvolněný *tZ*

(žlutě jsou označeny reakce, kde byla zaznamenána hydrolysa substrátu)

Bylo zjištěno, že kukuřičná β -glukosidasa Zm-p60.1 je schopna do 15 minut při teplotě 30 °C kompletně hydrolyzovat nejen *tZOG*, ale i *cZOG*, a že za 1100 minut částečně hydrolyzuje *tZ9G*, což do této doby nikdy nebylo pozorováno. Opakování experimentu dle Bzroboghatého et al. jasně potvrdilo, že v 15. minutě k hydrolyze *tZ9G* nedochází. Je tedy možné, že *N9*-glukosylace nemusí představovat trvalou ireversibilní inaktivaci *t*-zeatinu, nicméně na potvrzení této teorie bude třeba realizovat příslušné experimenty in planta. Mutanty W373K, W373K2 a W373K4 jsou také schopny za stejných definovaných podmínek jako v případě *w-t* formy enzymu kompletně rozštěpit *cZOG* do 15 minut. Je nepochybné, že amonikyselinové residuum W373 se spolupodílí na substrátové specifitě, neboť *tZ9G* (1100 minut) štěpen mutantními formami nebyl. Štěpitelnost *tZ7G* nebyla potvrzena u žádného enzymu ani po 4 dnech inkubace. Lze konstatovat, že substrátová specifita klesá v řadě – *O*-, *N3*-, *N9*- a *N7*-. Analýza enzymové kinetiky odhalila, že *tZ7G* a *tZ9G* nevykazují inhibiční efekty na aktivitu Zm-p60.1 při $[S]=[I]$, $[2S]=[I]$ a $[S]=[2I]$.

ZÁVĚR

Z počátečních výsledků vyplývá, že kukuřičná β -glukosidasa Zm-p60.1 schopna štěpit následující substráty: *p*-NP-*O*- β -D-Glup, 4-MUG-*O*- β -D-Glup, XGLU, *tZOG*, K3G, *cZOG* a částečně i *tZ9G*. Mutanty W373K, W373K2 a W373K4 štěpí: *p*-NP-*O*- β -D-Glup, 4-MUG-*O*- β -D-Glup, XGLU, *tZOG*, K3G a *cZOG*. Štěpitelnost *tZ7G* pozorována nebyla vůbec u žádného enzymu ani po 4 dnech inkubace. *tZ7G* a *tZ9G* nevykazují inhibiční vlivy na aktivitu Zm-p60.1.

SEZNAM ZKRATEK

<i>p</i> -NP- <i>O</i> - β -D-Glup	4-nitrofenyl- <i>O</i> - β -D-glukopyranosid
4-MUG- <i>O</i> - β -D-Glup	4-methumbelliferyl- <i>O</i> - β -D-glukopyranosid
K3G	kinetin- <i>N3</i> - β -D-glukopyranosid
XGLU	5-bromo-4-chloro-3-indolyl- <i>O</i> - β -D-glukopyranosid
<i>tZOG</i>	<i>trans</i> -zeatin- <i>O</i> - β -D-glukopyranosid
<i>tZ</i>	<i>trans</i> -zeatin

<i>cZOG</i>	<i>cis</i> -zeatin- <i>O</i> - β -D-glukopyranosid
<i>cZ</i>	<i>cis</i> -zeatin
<i>tZ7G</i>	<i>trans</i> -zeatin- <i>N7</i> - β -D-glukopyranosid
<i>tZ9G</i>	<i>trans</i> -zeatin- <i>N9</i> - β -D-glukopyranosid
TLC	Thin layer chromatography

LITERATURA

Brzobohatý B., Moore I., Kristoffersen P., Bako L., Campos L., Schell J., Palme K. (1993): Release of active cytokine by a β -glucosidase localized to the maize root meristem. *Science*, 262(5136): 1051-1054.

Kristoffersen P., Brzobohatý B., Hohfeld I., Bako L., Melkonian M, Palme K. (2000): Developmental regulation of the maize Zm-p60.1 gene encoding a β -glucosidase located to plastids. *Planta*, (210),407–415.

Dopitová R., Mazura P., Janda L., Chaloupková R., Jeřábek P., Damborský J., Filipi T., Kiran N. S., Brzobohatý B. (2008): Functional analysis of the aglycone-binding site of the maize β -glucosidase Zm-p60.1. *FEBS J.*, 275(24): 6123-6135.

MODULATION OF CYTOKININ ACTION BY DECREASED INTENSITY OF WHITE LIGHT IN *ARABIDOPSIS* – A PROTEOMIC ANALYSIS

Jajtnerová M., Brzobohatý B.

Department of Molecular Biology and Radiobiology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: martimareckova@seznam.cz

ABSTRACT

Light and cytokinin (CK) signaling are intertwined at several levels, and the underlying molecular mechanisms are being actively researched. To get an insight into the modulation of CK action by decreased light intensity at the proteomic level, we used 2-DE followed by image analysis and MALDI-TOF-TOF MS to analyze changes in steady-state protein levels in *Arabidopsis thaliana* seedlings with increased content of endogenous CKs cultivated at standard ($90 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and decreased ($20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) white light intensities. After the activation of the CK-biosynthetic gene *ipt*, we observed about 61 differentially expressed protein spots (representing about 12% of detected spots). Out of the 61 protein spots, 36 were regulated in a comparable fashion at both light intensities, and 2 and 23 were differentially regulated at only standard or decreased light intensity, respectively. Till now more than 58 proteins have been identified, and can be classified as proteins involved in seed germination, photosynthesis, carbon and nitrogen metabolism and metabolism of xenobiotics.

Key words: Cytokinins, 2D electrophoresis, *Arabidopsis*

Acknowledgments: Supported by grants IAA600040701, LC06034 and 1M06030.

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, podléhají se na regulaci organogeneze a regeneraci rostlin (Kamíněk 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 et 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 transgenenní 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 ($20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) a normální intenzitě ($90 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Po 9 dnech u nízké intenzity a 7 dnech u normální intenzity, kdy se zakládaly první pravé lístky, byla část semenáčků 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 1, 2, 3, 4, 5 a 10 dnech po aktivaci u nízké intenzity a po 1, 2, 3, 4 a 5 dnech u normální intenzity. Byly použity dvě různé aktivity pomocí 80 nM a 500 nM dexamethasonu. Byly udělány dva nezávislé experimenty. Výsledky jsou průměrem ze tří gelů.

První rozdíly ve vývoji semenáčků byly pozorovány po dvou dnech po aktivaci. Především to bylo prodlužování hypokotylu (pouze u nízké intenzity) a inhibice růstu kořene.

Z celkového počtu 750 spotů na gelu bylo 58 rozdílně regulovaných. U nich byla provedena identifikace pomocí MALDI-TOF-TOF MS. Bylo identifikováno 61 proteinů v 55 spotech (dva spoty jsou směsné). Z těchto proteinů bylo 36 regulovaných na obou světelných intenzitách a 2 a 23 byly rozdílně regulované pouze na normální a nízké intenzitě, respektive. Tyto proteiny mají úlohu např. v metabolismu uhlíku a aminokyselin, část z nich je také zapojena do odpovědi na nejrůznější stresy. Nejvíce rozdílně regulovaných proteinů bylo lokalizováno v chloroplastu (28%) a cytoplasmě (22%).

ZÁVĚR

Z celkového počtu 750 spotů na gelu bylo 58 rozdílně regulovaných. U nich byla provedena identifikace pomocí MALDI-TOF-TOF MS. Bylo identifikováno 61 proteinů v 55 spotech (dva spoty jsou směsné). Z těchto proteinů bylo 36 regulovaných na obou světelných intenzitách a 2 a 23 byly rozdílně regulované pouze na normální a nízké intenzitě, respektive. Tyto proteiny mají úlohu např. v metabolismu uhlíku a aminokyselin, část z nich je také zapojena do odpovědi na nejrůznější stresy.

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.

EVALUATION OF THE ACTIVITY OF BARLEY COR/LEA GENES AFTER THE APPLICATION OF THE EXOGENOUS ABSCISIC ACID

Melišová L., Ehrenbergerová J., Holková L.

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

E-mail: melisova@email.cz

ABSTRACT

The topic of this study was to evaluate the level of *Hsd4*, *Dhn4* and *Hva1* genes expression together with the leaf temperature measurement after the application of exogenous abscisic acid (ABA). It is well-known that the level of endogenous ABA increases rapidly in response to drought stress and consequently the stomatal closure is induced. ABA has two functions in plants. The first is the regulation of the transpiration and the second is a function of a signal molecule that induces expression of protective genes from the Cor/Lea group. The measurement of temperature is considered as a suitable method for the indirect assessment of the transpiration. The level of stress genes expression has been recently used for determination of abiotic stress sensitivity. In our experiment, we compare ABA induced reaction of five spring barley varieties with different level of drought tolerance. Plants were grown in hydroponic solution (MS Salt, 7h light, 20°C, night 18°C). The ABA solution ($2 \cdot 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$) was added after 14 days of growth. The samples were collected 1, 3, 6, 12 and 24 hours and 3 and 7 days after ABA application. The measurement of leaf temperature was done with IR TermoCam (FLIR P 660) (Jones, 1999) 3 hours and 7 days after ABA application. To determine the genes expression we used RT PCR (Pfaffl, 2001). All varieties reduced stomatal conductivity (stomatal closure) after ABA application. The leaf temperature increased after 3 hours and was higher even 7 days after ABA application, however the difference of temperature among varieties was small. Activity of *Hva1* was unspecific and was detected also in control plants, probably due to some unspecific stress (light condition) during cultivation. At this level no differences were found among tested genotypes. The highest activity of *Dhn4* and *Hsd4* was detected in variety *Malz*. It seems, that plant hormone ABA has an important role in induction of stress-reaction in this variety. In case of the Syrian drought tolerant variety *Tadmor* the activity of both genes was only on the border of detection. Although the expression of protective genes from the Cor/Lea group is known to be more rapid in stress tolerance genotypes, the variety *Tadmor* behaved differently. Our theory is, that this variety may have an alternative ABA-independent pathway more active than other tested varieties.

Key words: abscisic acid (ABA), gene expression, barley, drought, abiotic stress

Acknowledgments: IG290071, NAZV QH91192

ÚVOD

Hodnocení exprese stresem aktivovaných genů bývá využíváno pro stanovení citlivosti studovaných genotypů vůči abiotickým stresům. U obilovin platí, že tolerantnější genotypy vykazují dřívější expresi a/nebo vyšší hladinu exprese ochranných genů ze skupiny *Cor/Lea* (Zhang et al., 2004, Park et al., 2006), u kterých jsou známy dvě hlavní aktivační dráhy. Dráha, ve které je regulace fytohormonu ABA zapojena a indukční dráha, ve které tento fytohormon zapojen není (Riera, 2005). Významnou skupinou ochranných proteinů spojených s dehydratací pletiv jsou proteiny skupiny LEA (Late embryogenesis abundant). Mezi tyto geny řadíme například *Dhn4*, *Hva1*. Gen *Dhn4* patří do skupiny dehydriny (LEA 2), které se hromadí během dozrávání semen, v semenáčcích a v rostlinách v reakci na stres vyvolaný nízkou teplotou, zasolením, suchem nebo ošetřením kyselinou abscisovou. Jeho lokalizace je na chromozomu 6H. K expresi dochází až vlivem stresových podmínek - sucha a ošetření kyselinou abscisovou (Choi et al., 1999). Na chromozomu 1H se nachází gen *Hva1* ze skupiny LEA 3. V mladých semenáčcích byla zjištěna jeho vysoká exprese za stresových podmínek vyvolaných suchem, světlem, zasolením, působením extrémních teplot nebo ošetřením kyselinou abscisovou (Hong et al., 1992, Qian et al., 2007). Ochranná funkce tohoto genu byla zjištěna také po jeho přenesení do rostlin rýže, tyto transgenní rostliny se ukázaly být tolerantnější ke krátkodobému, ale silnému působení sucha (Xu et al. 1996). Dalším z genů spojených s dehydratací pletiv je *Hsdr4*. Byl zmapován na chromozomu 3H a u *Hordeum spontaneum* je popisován v souvislosti s odolností rostlin vůči suchu (Suprunova et al., 2007). Vysoce odolná syrská odrůda ječmene *Tadmor* (*Hordeum spontaneum*), která je dobře adaptovaná na sucha, však v našich pokusech (Mikulková et al., 2009) vykazovala pozdější a v některých případech i nižší expresi genů v porovnání s naší odrůdou Malz, v jejichž aktivaci je zapojen fytohormon ABA. Cílem práce bylo stanovit vliv fytohormonu ABA na rozvinutí stresové reakce u této odrůdy v porovnání s několika dalšími odrůdami s odlišnou mírou tolerance vůči suchu. Výsledky by mohly přispět k studiu odlišného způsobu adaptace tohoto genotypu, což by ve výsledku mohlo být využito při hledání nových zdrojů odolnosti.

ABA je rostlinný fytohormon považovaný za důležitý faktor obrany rostlin vůči stresům. V rostlinách z hlediska tolerance k suchu plní dvě základní funkce. Reguluje transpiraci rostlin, kdy při stresu suchem dochází k jejímu navázání na vnější povrch plazmalemy a tak aktivuje uzavírání průduchů. A dále je zapojena jako signální molekula, která indukuje expresi části ochranných genů ze skupiny *Cor/Lea* (Zhang et al., 2004).

MATERIÁL A METODIKA

K pokusu bylo použito pět odrůd jarních ječmenů. Odrůdy byly vybrány s ohledem na prokázanou nebo předpokládanou míru odolnosti vůči suchu (*Malz*, *Amulet*, *Jersey* - české odrůdy (*Hordeum vulgare* L.) a *Er/Apm*, *Tadmor* – syrské odrůdy (*Hordeum spontaneum*). Rostliny byly pěstovány v hydroponickém prostředí v živném roztoku MS solí (Murashige and Skoog, 1962) v řízených podmínkách (7 hodin světla při teplotě 20 °C, 15 hodin tmy při 18 °C, 1 hodina stmívání a 1 hodina rozedmnání). Po čtrnácti dnech růstu byl ke kořenům testovaných rostlin přidán roztok kyseliny abscisové ($2 \cdot 10^{-5}$ mol/l).

Fyziologická reakce byla posuzována změnami ve vodivosti průduchů metodou IR termografie s použitím IR termovizní kamery (FLIR P660) (Jones, 1999). Metoda hodnotí termální energii emitovanou z povrchu listu. Při stavu otevřených průduchů odpařující se voda ochlazuje list. Indukce ABA vyvolá zavření průduchů, čímž zabrání ztrátám vody, ale zároveň způsobí zvýšení teploty listů.

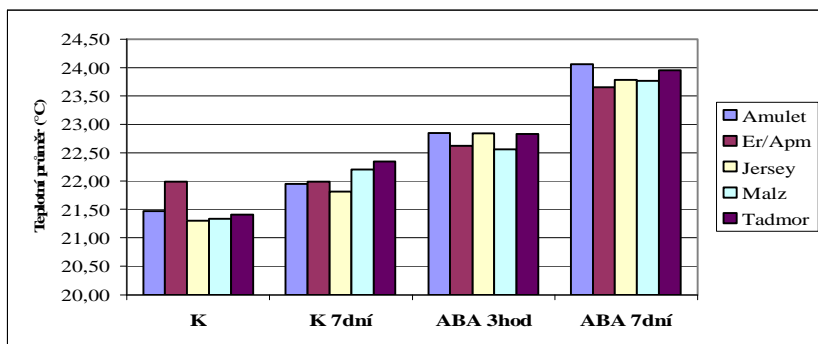
Snímání povrchu listů IR termokamerou bylo provedeno 3 hodiny a 7 dní po aplikaci ABA. Současně bylo provedeno gazometrické měření použitím přístroje Licor LI-6400. Principem měření je porovnání rozdílu koncentrace CO₂ vyprodukované listem v měřící a srovnávací komoře, za konstantní koncentrace CO₂ ve srovnávací komoře. Tímto přístrojem jsme zjišťovali vodivost průduchů pro vodní páry. Měření probíhalo 4 a 7 dní po ošetření rostlin kyselinou abscisovou.

Odběry rostlin pro molekulárně biologické hodnocení probíhaly v intervalech kontrola, 1, 3, 6, 12 a 24 hodin a 3 a 7 dní po aplikaci ABA. Stresová reakce rostlin byla hodnocena kvantifikací exprese ABAou regulovaných genů *Hval1*, *Hsdr4* a *Dhm4* (Qian et al. 2007, Mikulková et al. 2009, Suprunova et al. 2004, 2007, Rodriguez et al. 2005) metodou stanovení relativní exprese genů Real Time RT PCR počítanou dle Pfaffl 2001. Pro izolaci RNA ze vzorků byl použit RNeasy Plant Mini kit (Qiagen) dle standardního protokolu. Příprava cDNA pro kvantitativní analýzy byla provedena kitem Reverse Transcription (Qiagen) a geny byly analyzovány využitím QuantiTect™ SYBR Green PCR Kit (Qiagen). Jako referenční gen byl použit gen pro α -tubulin. Pro gen *Hval1* byly použity primery dle Mikulková et. al. 2009, pro *Hsdr4* primery dle Suprunova et. al. 2007 a pro *Dhm4* – forward 5' AAGTGTACCGCCAAAAGAA a reverse 5' GTCCTCATGGGCTGGTAAT. Expresy vzorků byly porovnány vůči vnitřnímu kalibrátoru reakce (*Malz* 24hod), který byl jednotný pro všechny reakce. Výsledkem měření jsou hodnoty relativní exprese genů normalizované vzhledem k hodnotám relativní exprese referenčního genu.

VÝSLEDKY A DISKUSE

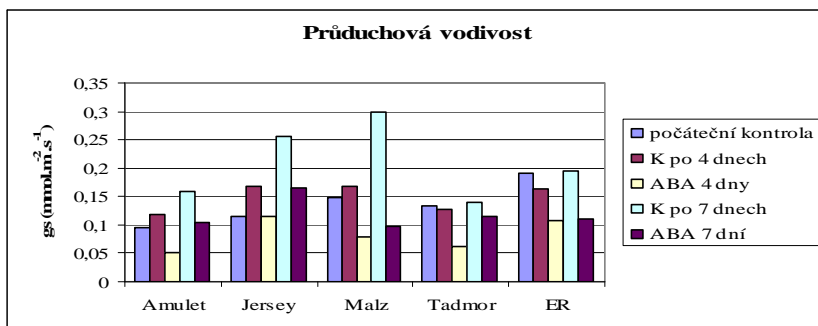
Hodnocení vodivosti průduchů:

Graf 1 Hodnocení IR Termografie



Graf 1 ukazuje hodnocení regulace vodivosti průduchů ABA ošetřených a kontrolních rostlin na základě změny teploty listů. Je patrné, že na aplikaci exogenní ABA zareagovaly všechny odrůdy snížením vodivosti průduchů, s čímž souvisí snížení transpirace rostlin. Teplota listů se zvýšila již po 3 hod od aplikace a nárůst pokračoval i 7. den od aplikace. Nicméně mezi jednotlivými odrůdami nebyl zaznamenán velký rozdíl. Z evropských odrůd na fytohormon ABA nejlépe zareagovala odrůda *Amulet*. Syrská odolná odrůda *Tadmor* nevykázala výrazných rozdílů od ostatních odrůd. Na této fyziologické úrovni nebyla prokázána odlišná reakce rostlin v rámci námi sledovaných odrůd.

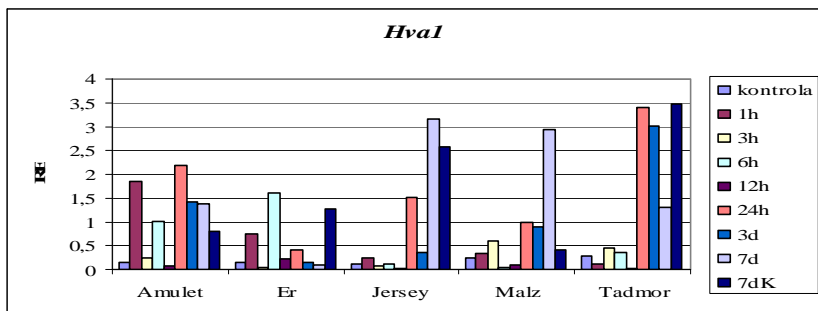
Graf 2 Hodnocení průduchové vodivosti pro vodní páru



Měření průduchové vodivosti užitím přístroje Licor LI-6400 (graf 2) ukázalo obdobnou reakci rostlin po ošetření kyselinou abscisovou jako IR kamera. Tedy, že všechny testované rostliny snížily vodivost průduchů – výdej vodní páry z rostliny do okolního prostředí. V prvním měření (ABA 4 dny) byla zjištěna ve všech případech nižší hodnota vodivosti oproti měření druhému (ABA 7 dní). U kontrolních rostlin odrůd *Amulet*, *Jersey* a *Malz* (*Hordeum vulgare* L.) došlo k postupnému zvyšování průduchové vodivosti v čase (optimální růst, tvorba biomasy), zatímco odrůda *Tadmor* (*Hordeum spontaneum*) se v kontrolách vodivosti průduchů téměř nelišila. Vysvětlením by mohlo být delší setrvání rostliny ve vegetativní fázi oproti ostatním odrůdám v námi použitém sortimentu. Průduchová vodivost všech ošetřených rostlin také mírně narůstá, což vypovídá o přizpůsobení se rostlin přísadku ABA a pokračováním v růstu. U odrůdy *Jersey* (nejméně odolná k suchu) se ukazuje, že nedokáže zareagovat dostatečným zavřením průduchů. Jako nejplastičtější odrůda se zde jeví odrůda *Malz*.

Hodnocení relativní exprese:

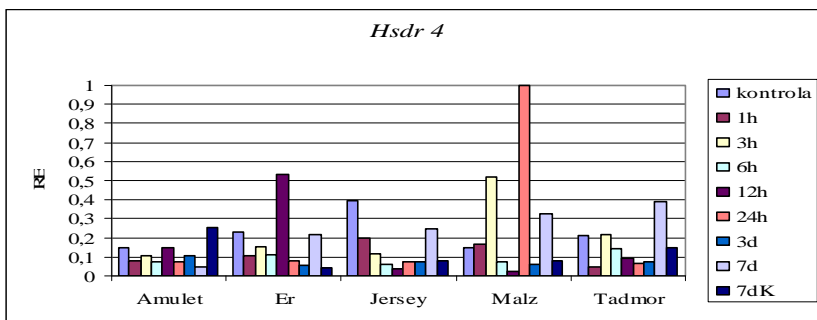
Graf 3 Hodnocení relativní exprese genu *Hva1*



Gen *Hva1* bývá uváděn jako vhodný pro hodnocení citlivosti vůči stresu (Qian et al., 2007, Xu et al., 1996, Hong et al., 1992). Nejvyšší exprese genu (graf 3) (v porovnání s kontrolami z nultého dne) bylo dosaženo u odolné odrůdy *Tadmor* (po 24 h působení ABA). Je možné, že pozdější nástup hodnot relativní exprese byl zkreslen vlivem jiného faktoru jako délka kultivace, či kultivační podmínky během růstu (stres vlivem krátkého dne). U tohoto genu jsme ale zjistili expresi i v kontrolních rostlinách,

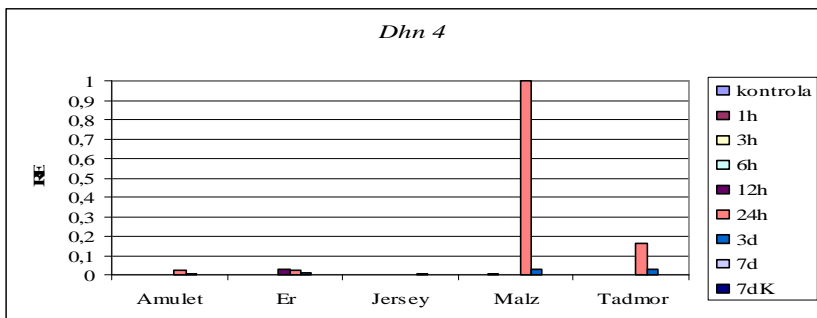
zejména v kontrolních rostlinách ze sedmého dne po ošetření kyselinou abscisovou. Zřejmě se zde projevil nějaký stresový faktor spouštějící expresi tohoto genu. Dle Hong et al. 1992 je vysoká exprese *Hva1* u rostlin i vlivem nedostatku světla. Qian et al. 2007 zjistili, že úroveň relativní exprese genu *Hva1* u jejich sledovaného souboru genotypů bezpluchých ječmenů byla významně vyšší u tolerantních genotypů v dřívější fázi působení sucha, zatímco u citlivých genotypů až v pozdější fázi, což se v našem pokusu s pluchatými odrůdami nepodařilo prokázat. Je pravděpodobné, že hodnocení míry tolerance genotypů vůči suchu na základě genu *Hva1* v rámci dlouhodobého sucha bude složitější. Tento gen bude asi ovlivňován více faktory a nebude vhodným nástrojem pro hodnocení citlivosti vůči stresu suchem.

Graf 4 Hodnocení relativní exprese genu *Hsdr 4*



V rámci našeho pokusu byl gen *Hsdr4* (graf 4) slabě aktivní i u kontrol. Nad úroveň kontrol se v expresi genu dostala pouze odrůda *Malz* a v pozdějším odběru (7 dní) i odrůda *Tadmor*. Nicméně experiment prokázal vliv ABA na expresi tohoto genu, což dokazuje odrůda *Malz* (24 hodin působení ABA). Je tedy pravděpodobné, že u odrůdy *Malz* hraje fytohormon ABA důležitou roli v indukcii stresové reakce. Tento gen popisuje Suprunova et al. 2007 jako nadějný kandidátní gen v souvislosti s tolerancí ječmenů vůči suchu. Ačkoli v jejich práci gen *Hsdr4* není popsán v souvislosti s ABA, naše výsledky ukazují, že je fytohormonem ABA regulován.

Graf 5 Hodnocení relativní exprese genu *Dhn 4*



Mimo odrůdu *Malz* byla zjištěna u všech odrůd exprese genu *Dhn4* (graf 5) na úrovni detekce. Přestože v prvních odběrech odrůda *Malz* vykazovala expresi genu také na hranici detekce, později došlo k nárůstu. Pro tuto odrůdu se potvrzuje pozdější, ale vyšší nástup aktivity (Mikulková et al. 2009). Odolná odrůda *Tadmor* i u genu *Dhn4* zopakovala mírnou expresi a to až v pozdějším odběru. Aktivaci tohoto genu potvrzuje práce Choi et al. 1999, která uvádí, že *Dhn* geny kódované typem YSK₂ (kam řadíme i *Dhn4*) jsou u ječmenů aktivovány suchem a ošetřením kyselinou abscisovou, za „normálních“ podmínek růstu rostlin k expresi genu nedochází. U genu *Dhn4* jsme nezaznamenali aktivaci u kontrolních rostlin, jak tomu bylo v předchozím případě. Můžeme tedy říci, že zvýšení exprese bylo zapříčiněno pouze působením ABA. Pozorované rozdíly mezi odrůdami *Amulet*, *Er/Apm*, *Jersey* a *Malz* odrážejí různou toleranci těchto genotypů vůči abiotickému stresu obecně. Naopak odlišnost mezi odrůdami *Malz* a *Tadmor* ukazuje na odlišnou reakci odrůdy *Tadmor* na ABA. Zjištěné rozdíly v expresi genu jsou pravděpodobně způsobeny odlišným mechanismem v ABA indukční dráze.

ZÁVĚR

Námi zjištěné dosavadní výsledky ukazují, že fyziologická funkce fytohormonu ABA na transpiraci u odrůdy *Tadmor* nebyla odlišná od ostatních námi testovaných odrůd. Tyto odrůdy se tedy výrazně nelišily v regulaci vodivosti průduchů. Dále se na základě našich výsledků ukazuje, že funkce fytohormonu ABA jako signální aktivační molekuly zapojené v aktivaci ochranných genů by mohla být u odrůdy *Tadmor* zřejmě omezena a/nebo nahrazena silnější aktivací alternativní dráhy. Naproti tomu se zdá, že odrůda *Malz* více využívá aktivační dráhu, kde je fytohormon ABA zapojen jako signální aktivační molekula.

LITERATURA

- Choi D-W., Zhu B., Close T. J. (1999): The barley (*Hordeum vulgare* L.) dehydrin multigene family: sequences, allelic types, chromosome assignments, and expression characteristic of 11 *Dhn* genes of cv Dicktoo, Theor Appl Genet 98: 1234-1247.
- Hong B., Barg R., Ho T. H. D. (1992): Developmental and organ-specific expression of an ABA- and stress-induced protein in barley. Plant Mol Biol 18:663-674.
- Jones H.G. (1999): Use of thermography for quantitative studie sof spatial and tempoval variation of stomatal conductance over leaf surfaces. Plant, Cell and Enviroment 22, 1043-1055.
- Mikulková P., Holková L., Hronková M., Klemš M., Bradáčová M. (2009): Efficiency of differential laboratory methods for selection of drought tolerant barley genotypes, Suppl Cereal Research Communications Vol. 37.
- Murashige T., Skoog F. (1962): A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, Physiol Plant 15: 473-497.
- Park S., Y., Noh K. J., Yoo J. H., Yu J. W., Lee B. W., Kim J. G., Seo H. S., Peak J. G. (2006): Rapid Upregulation of *Dehydrin3* and *Dehydrin4* in response to Dehydration Is s Characteristic of Drought-Tolerant Genotypes in Barley, Journal of Plant Biology, 49(6) : 455-462.
- Pfaffl M. W. (2001): A new mathematical model for relative quantification in real-time RTPCR, Nucleic Acids Res. 29 (9): E45-E45.

Portable photosynthesis systém – Book 1, <http://www.dmp.ch>

Qian G., Han Z., Zhao T., Deng G., Pan Z., Yu M. (2007): Genotypic variability in sequence and expression of *HVA1* gene in Tibetan hulless barley, *Hordeum vulgare* ssp. *Vulgare*, associated with resistance to water deficit, Australian Journal of Agricultural Research, 58, 425-431.

Riera M., Valon Ch., Fenzi F., Giraudat J., Leung J. (2005): the genetics of adaptive responses to drought stress: abscisic acid-dependent and abscisic acid-independent signalling components, Physiologia Plantarum 123: 111- 119.

Rodriguez E. M., Svensson J.T., Malatrasi C. M., Choi D. W., Close J. T. (2005): Barley Dhn13 encodes a KS-type dehydrin with constitutive and stress responsive expression, Theor Appl Genet 110: 852–858.

Suprunova T., Krugman T., Fahima T., Chen G., Shams I., Korol A., Nevo E. (2004): Differential expression of dehydrin genes in wild barley, (*Hordeum spontaneum*, associated with resistance to water deficit. Plant Cell Environ, 27:1297-1308.

Suprunova T., Krugman T., Distelfeld, Fahima T., Nevo E., Korol A. (2007): Identification of a novel gene (Hsdr4) involved in water-stress tolerance in wild barley, Plant Molecular Biology, Volume 64, Issue 1-2, 17-34.

Xu D., Duan X., Wang B., Ho T. H. D., Wu R. (1996): Expression of a late embryogenesis abundant protein gene, *HVA1*, from barley confers tolerance to water deficit and salt stress in transgenic rice, Plant Physiology 110, 249-257.

Zhang J. Z., Creelman R. A., Zhu J. A. (2004): From Laboratory to Field. Using Information from Arabidopsis to Engineer Salt, Cold, and Drought Tolerance in Crops, Plant Physiology, Vol. 135, pp. 615–621.

IDENTIFICATION OF CANDIDATE HEAVY-METAL RESISTANCE GENES IN GENUS *SILENE*

Nevrtalová E., Hobza R.

Department of Plant Developmental Genetics, Institute of Biophysics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Kralovopolska 135, 612 65 Brno, Czech Republic

E-mail: nevrta1ova@ibp.cz

ABSTRACT

Plants can survive on heavy metal contaminated areas. The phenomenon of heavy metal accumulation and resistance is described in many species of plants. First time was this peculiar trait observed in *S. dioica*, already in 1934. *S. dioica* is a typical plant growing on soils with copper enrichment. There are several known mechanisms that enable plant populations to survive in soils with high concentration of heavy metals. Metallothioneins (MTs) are small proteins with high cysteine residues content and play a key role in defensive reactions of many plant species. Recently, the role of metallothioneins has been investigated especially in the heavy metals detoxicant pathway. It was also shown that MTs are closely connected with the copper metabolism. *S. dioica* and *S. vulgaris* are growing in high copper concentrated sites. We suggested to isolate genes encoding metallothioneins and to determine their role in metabolism of copper. We used cDNA databases of several *Silene* species for the identification of these genes. By screening of the BAC library of *S. vulgaris* with the probe derived from MT3 gene we found positive clones that were subsequently sequenced. This way we characterized the first MT3 gene in genus *Silene*. Expression analysis indicates the importance of the MT3 gene in resistant species, since the expression of this gene is increasing in higher copper concentration in hydroponic cultures.

Key words: metallothioneins, heavy metal resistance and accumulation, copper, *Silene vulgaris*

Acknowledgements: The work was supported by IGA AF MUAf Brno no. DP3/2009 and AS CR grant M200040905.

INTRODUCTION

Plant adaptation to soils with heavy metal enrichments is a well-known ecological phenomenon. But only a minority of plant species can grow on metalliferous soils. Among such plants belongs the genus *Silene* with some species growing on toxic metal contaminated areas. Red campion (*S. dioica* L.) is used in geology as a bioindicator of high concentrations of copper (Martinka and Lux, 2006). Metallothioneins (MTs) are known to be tightly involved in copper resistance in many plant species (van Hoof *et al.*, 2001). Metallothioneins are cysteine-rich, metal-binding cytoplasmic proteins (Cobbett and Goldsbrough, 2002). They play an important role in maintaining intracellular metal homeostasis, eliminating metal toxication and protecting against intracellular oxidative damages (Zhou *et al.*, 2006). Plants metallothioneins are classified into four types based on arrangement of cysteine residues. The genes encoding MTs occur both in eukaryotes and prokaryotes. The similarity between MT genes within one species is often very high (Hudspeth *et al.*, 1996). Some findings suggest that gene amplification is one of the mechanisms that play a crucial role in evolution of these genes (van Hoof *et al.*, 2001). This work was performed to isolate and characterize MT genes of some *Silene* species and investigate their role in copper resistance.

MATERIALS AND METHODS

Seeds of resistant plant of *S. vulgaris* and *S. dioica* were collected from copper mines near Spania Dolina. (Fig.1). Hydroponic culture was used for test of tolerance, where tolerant and non-tolerance plants were exposed to linearly increasing concentrations of copper in the test solution (0 μ M, 25 μ M, 100 μ M CuNO₃) in defined light and temperature conditions. RNA was isolated using TRIzol reagent. Single-strand cDNA was prepared from 2 μ g of RNA. To amplify candidate genes from cDNA we used specific primers designed based on sequences from cDNA databases of several *Silene* species. The primers (5' – GGTTCATGGATGCAGGAGAGT – 3', 5' – TCAACACTTGTAGGCAGTGGGA – 3') were used to amplify MT3 sequence using *S. dioica* cDNA as a template. After purification of a PCR product was constructed a radioactively labelled probe of MT3 gene by random priming method and incorporation of [α -P³²]dATP. This probe was used for screening of the BAC library of *S. vulgaris* and positive clones were chosen. These clones were tested on presence of MT3 gene by PCR reaction with MT3 specific primers and by Southern blot hybridization with the MT3 probe. One BAC clone was finally selected and sequenced by 454 sequencing method. The expression of MT3 genes was estimated by Northern blot hybridisation.

Fig.1 *S. dioica* (left side) *S. vulgaris* (right side) growing on Cu contaminated area in Slovakia



RESULTS AND DISCUSSION

The part of the sequence of the BAC clone of *S. vulgaris* showed a high amino acid sequence identity with the MT3 genes in *A. thaliana*, *T. caerulescens* and *O. sativa*, particularly in the cysteine-rich N-terminal and C-terminal sectors (Fig. 2). The MT3 gene of *S. vulgaris* includes four Cys-residues in the N-terminal domain. We have characterized flanking regulatory region of the MT3 gene and found that the major difference between *A. thaliana* and *S. vulgaris* is in a presence of a retrotransposon in its promotor sequence. Surprisingly except this retrotransposon the region containing several important genes is completely collinear with *A. thaliana* genome sequence (Fig. 3). Using Northern blot hybridization was revealed the differential expression in tolerant and non-tolerant species as well as in Cu treated and non-treated *Silene* plants (up to now the biggest difference in expression of the MT3 gene in the tolerant and non tolerant accessions was found by Hassinen *et al.* (2009) in *T. caerulescens*). Most of the type MT3 genes characterized in other plants are expressed primarily in fruit tissues, such as papaya, banana, kiwifruit. Guo *et al.* (2003) show that *Arabidopsis* MT3 gene is expressed more in leaves and it cannot be detected in seeds. This finding can suggest that this gene is not only involved in heavy metals detoxification, but in different developmental processes too. We revealed the expression of this gene in both roots and leaves.

Fig.2 Alignment of *S. vulgaris*, *T. caerulescens*, *A. thaliana* and *O. sativa* MT3 amino acid sequences.

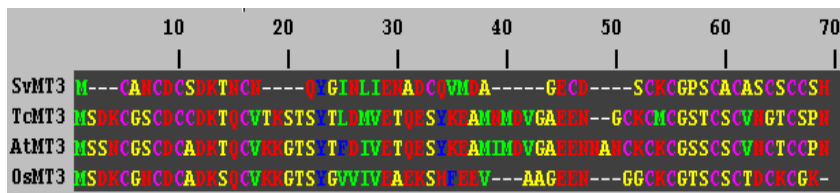
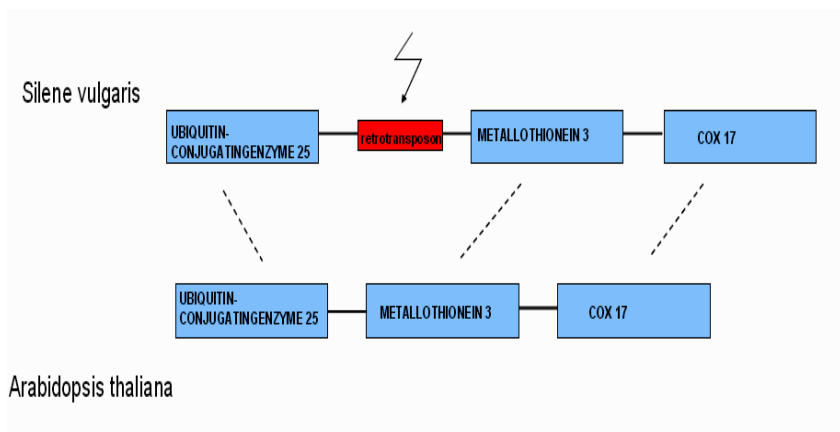


Fig.3 The comparison of the *S. vulgaris* and *A. thaliana* locus containing MT3 gene. Both loci are completely collinear except an intergenic region with the inserted retroelement in *S. vulgaris*.



CONCLUSION

We have isolated the MT 3 gene from heavy metal resistant plant *S. vulgaris*. We have sequenced the BAC clone containing the MT3 gene and found out that the major difference between *A. thaliana* the collinear region is a presence of a retrotransposon in the promotor of the MT3 gene in *S. vulgaris*. Another important feature of the MT3 gene in *S. vulgaris* is a presence of higher number of cysteine residues that are important parts of metal binding domains. Our aim is to answer following questions: Is the MT3 gene a key player in the metabolism of copper in *Silene* species? Can the retrotransposon influence expression of MT3 gene in stress conditions? Is the structure of isolated MT3 gene crucial for affinity of the MT3 protein to heavy metals?

LITERATURE CITED

- COBBETT, Christopher, GOLDSBROUGH, Peter. Phytochelatin and Metallothioneins: Roles in heavy metal detoxification and homeostasis. *Annual Review of Plant Biology*. 2002, vol. 53, no. 4, p. 159-182.
- GOU, Woei-Jiun, MEETAM, Metha, GOLDSBROUGH, Peter B. Examining the Specific Contributions of Individual Arabidopsis Metallothioneins to Copper Distribution and Metal Tolerance. *Plant physiology*. 2008, vol. 146, no. 10, s. 1697-1706.
- HASSINEN, V.H., et al. Metallothioneins 2 and 3 contribute to the metal-adapted phenotype but are not directly linked to Zn accumulation in the metal hyperaccumulator, *Thlaspi caerulescens*. *Journal of Experimental botany*. 2009, vol. 60, no. 1, p. 187-196.
- HUDSPETH, Richard L., et al. Characterization and expression of Metallothionein-like genes in cotton. *Plant Molecular Biology*. 1996, vol. 31, no. 3, p. 701-705.
- MARTINKA, Michal, LUX, Alexander. Intraspecific variation of *Silene dioica* L. in uptake and translocation of cadmium related to endodermal development. In TEIXEIRA DA SILVA, Jaime A. *Floriculture, ornamental and Plant biotechnology: Advances and topical issues*. Japan : Global Science Books, Ltd., c2006. Part 5 Phytoremediation and revegetation: techniques and applications. s. 312-316. ISBN 4-903313-06-9.
- VAN HOOFF, Nathalie A.L.M., et al. Enhanced copper tolerance in *Silene vulgaris* (Moench) Garke populations from copper mines is associated with increased transcript levels of a 2b-type metallothionein gene. *Plant physiology*. 2001, vol. 126, no. 56, p. 1519-1526.
- ZHOU, Gongke, et al. Molecular analyses of the metallothioneins gene family in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of biochemistry and Molecular biology*. 2006, vol. 39, no. 5, p. 595-606.

OXIDATIVE STRESS IN *NICOTIANA TABACUM* EXPRESSING BACTERIAL IPT

Novák J., Brzobohatý B.

Department of Molecular Biology and Radiobiology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: jan.novak@mendelu.cz

ABSTRACT

Cytokinins (CKs) can, among the others, positively regulate shoot development and delay onset of the senescence. However, recently opposite effects of CK action, namely promotion of programmed cell death, and cytotoxic effects of overexpression of the CK-biosynthetic gene in tobacco, were recognized. Here we investigated the cytotoxic effects of *ipt* expression in tobacco in detail. We show that lesion formation in expanded tobacco leaves proceeds shortly after the induction – the first lesions being observed in app. 60 hours after induction of expression, and lesions can spread over the entire leaf area within 5 days after the induction. The formation of visible lesions was preceded by increasing in reactive oxygen species (ROS) as indicated by DAB and 2'-dichlorofluorescein diacetate staining despite increasing in a key ROS scavenging enzyme – APX. Further, we demonstrate that lesion formation is a light-dependent process as it is prevented by shading. The expression of *ipt* was also followed by stomata closure as revealed by microscope.

Key words: cytokinins, *Nicotiana tabacum*, oxidative stress, ROS, stomata

Acknowledgments: This work was supported by grants LC06034 and 1M06030 (Ministry of Education of the Czech Republic).

CHANGES IN GENE EXPRESSION IN TOBACCO WITH INCREASED CYTOKININ LEVEL

Pavlů J., Novák J., Brzobohatý B.

Department of Molecular Biology and Radiobiology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: czahi@seznam.cz

ABSTRACT

Cytokinins are plant hormones that regulate a number of growth, developmental and physiological processes in plants. Further, we suppose that cytokinins are implicated in oxidative stress. We employed *ipt* activable system to increase endogenous cytokinin level in tobacco. The activation and subsequent elevation of cytokinin level lead to occurrence of necrotic lesions and the other marks of oxidative stress. Two independent lines with different degree of severity in the phenotype were compared. Using real-time RT-PCR we investigated *ipt* transcript level, transcript level of some genes implicated in photosynthesis (*CAB*, *FNR*), photosynthetic apparatus protection (*VDE*) and pathogene response (*PR-1b*, *CHITINASE*). Further, we examined some prospective transcriptional markers for the cytokinins. Real-time RT-PCR analysis showed strong down-regulation of *CAB*, *FNR* and *VDE* and up-regulation of the genes included in pathogen response in activated plants. Comparing the both lines, the degree of up/down-regulation of monitored genes was in accordance with the degree of the phenotype severity. No potential transcriptional marker of cytokinins showed useful properties. Taken together, the damage emerging after the activation of cytokinin biosynthesis gene *ipt* in tobacco is accompanied by dramatic changes in gene expression. The impact of these changes will be discussed in context of previously published data.

Key words: cytokinins, tobacco, gene expression, photosynthesis, pathogen-related genes

Acknowledgments: This work was supported by grants LC06034 and 1M06030 (Ministry of Education of the Czech Republic).

RESPONSE OF SUSPENSION CULTURE BY-2 ON PRESENCE OF ORGANIC POLLUTANT

Solnická P., Klemš M., Havel L.

Department of Plant Biology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xsolnic0@mendelu.cz

ABSTRACT

We studied effect of organic pollutant (fluoranthene (FLT) 0, 0.5, 5 and 15 μM) on the physiological processes, viability and growth of BY-2 tobacco cells suspension culture. With increasing concentration of FLT in medium, viability and the number of cells decreased (up to three times on the medium with 15 μM of FLT). Production of ethane and CO_2 increased especially in exponential growth phase on the highest concentration of FLT. In contrary, production of ethylene at 15 μM FLT decreased. Peak of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) concentration in control cells forewent the ethylene peak. FLT affected significantly the content of abscisic acid.

Key words: BY-2, fluoranthene

Acknowledgments: GAČR (522/09/0239), IGA 19/2009

ÚVOD

Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs) patří mezi významné kontaminanty životního prostředí. Výskyt PAH je kromě přírodních zdrojů (přírodní požáry, erupce sopek) dán především nedokonalým spalováním hmoty. Díky velkému rozšíření těchto látek dochází k pronikání do potravního řetězce. Jsou to látky vysoce škodlivé na lidské zdraví především svými potenciálními toxickými, karcinogenními, mutagenními a teratogenními účinky. Doposud byl účinek PAHs studován na celých rostlinách, kde se zjistilo, že mají vliv na všechna stádia ontogeneze. Pro studium na buněčné úrovni byla vybrána suspenzní kultura tabáku (BY-2) a fluoranten (FLT), jako indikátor výskytu ostatních PAHs. BY-2 je velmi populární biologický objekt pro studium přenosu signálů různého druhu v rostlinných buňkách. Pro tyto účely má linie BY-2 vysokou růstovou rychlost a viabilitu. Za standardních podmínek je fenotypově stabilní, tvoří vícebuněčné řetízky, které spontánně nedisociují na jednotlivé buňky. Tabáková buněčná suspenze BY-2 je závislá na přítomnosti 2,4-D v kultivačním médiu (Nagata 1999). Pomocí FLT v různých koncentracích, které jsou blízké koncentracím vyskytujících se v prostředí, byl studován vliv na růst, viabilitu, morfogenezi fyziologické parametry buněčné suspenze kultury tabáku.

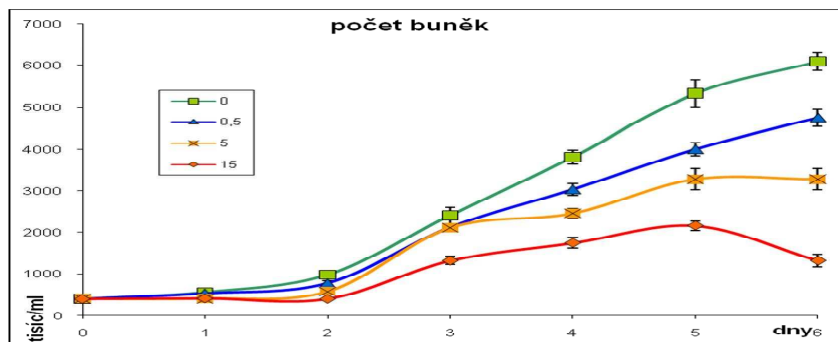
MATERIÁL A METODIKA

Suspenzní kultura byla kultivována při laboratorních podmínkách na LS (Linsmayer and Skoog (1964)) médiu s přidavkem 1 μM 2,4-D (dichlorfenoxycetová kyselina) a polycyklického aromatického uhlovodíku (fluoranten) v koncentracích 0, 0,5, 5, 15 μM . Během šestidenní kultivace byly denně pozorovány tyto parametry: počet, viabilita a morfologie buněk, sušina, produkce etylénu, etanu, CO_2 a ACC, obsah ABA, proteinů a GST.

VÝSLEDKY A DISKUZE

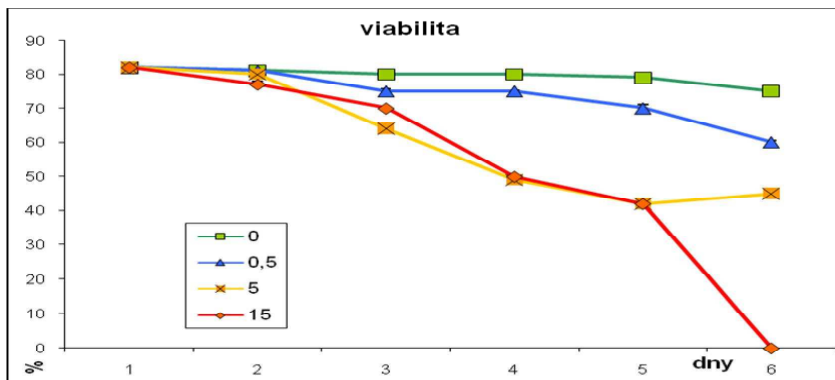
FLT v médiu významně ovlivnil morfogenezi buněk. S rostoucí koncentrací FLT docházelo k inhibici dělení buněk, snížení obsahu vody v buňkách. Vlivem vzrůstající koncentrace FLT v médiu docházelo ke snížení počtu buněk (obr. 1) až 3násobně během kultivace a to na médiu s přidavkem 15 μM FLT.

Obr. 1 Počet buněk pod vlivem FLT



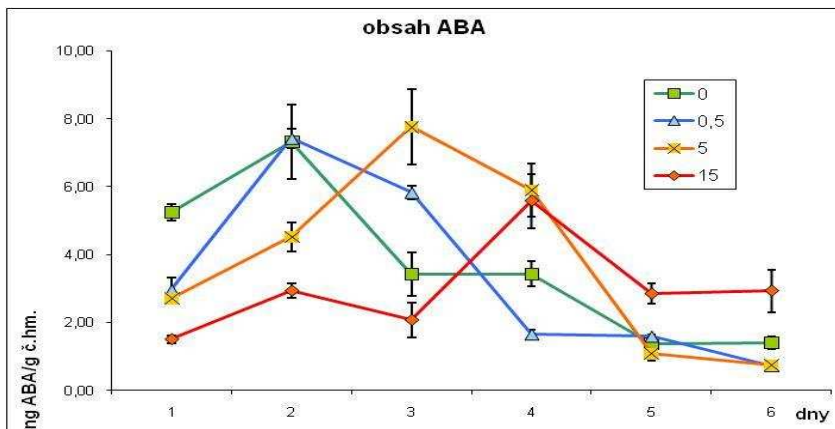
S rostoucí koncentrací se snížila i viabilita buněk (obr. 2). Produkce etanu a CO₂ ze zvyšovala zejména v exponenciální fázi růstu u nejvyšší koncentrace FLT.

Obr. 2 Viabilita buněk



Naproti tomu produkce etylénu byla u 15 μM FLT snížena. Pík koncentrace kyseliny 1-aminocyklopropan-1-karboxylové (ACC) v buňkách kontrolní varianty předcházela pík etylénu. V souvislosti s opožděným dělením buněk u vysoké koncentrace FLT byl i pík ABA opožděn (3. a 4. den kultivace).

Obr. 3 Obsah ABA v buňkách BY-2



Obsah kyseliny abscisové (ABA) byl velmi malý (1-8 ng/g čerstvé hmotnosti) avšak FLT ovlivnil pík koncentrace ABA u vyšších koncentrací. Stejně jako pozdější nástup dělení buněk, tak i pík obsahu ABA byl posunut vzhledem ke koncentraci FLT.

ZÁVĚR

Fluoranten ovlivňuje nejen celistvé rostliny, ale i buňky. BY-2 reaguje velmi citlivě na přítomnost organického polutantu. Dle předpokladu bylo dokázáno, že FLT významně ovlivňuje morfologii, viabilitu i fyziologické parametry buněčné suspenzní kultury BY-2.

LITERATURA

Linsmayer, E., M., Skoog, F. (1964):*Physiol. Plant.* 18:100-127.

Nagata, T., Kumagai, F. (1999):*Meth. Cell Sci.* 21:123-127.

**MATHEMATICAL AND STATISTICAL ANALYSIS OF THE
MAGNITUDE OF NITROGEN AS ONE OF THE NUTRIENTS
OF INDUCTION MEDIUM BY TUBERIZATION OF POTATO
IN VITRO**

Štěpán Z., Klemš M.

Department of Plant Biology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: klems@mendelu.cz

ABSTRACT

This work deals with the mathematical analysis of induction of tuber formation under different levels of nitrogen sustenance of potato plants by method *in vitro*, the aim is to clear that if nitrogen in this conditions inhibits or induces the tuber formation. Stem nodal segments of potato plants were cultivated *in vitro* 9 weeks on Murashige-Skoog medium containing modified level of inorganic nitrogen (10÷12 μM , 40 μM and 65 ÷70 μM), 80 g.l^{-1} sucrose and 10 mg.l^{-1} benzylaminopurine. It was also considered the influence of external factors and allocation of the nutrients and mineral substances to the process of tuber formation. Cultures with low nitrogen level in induction medium showed higher frequency of tuber formation. Results were processed by statistic method like two-factor analysis of variance, Tukey's test was used in conjunction with the ANOVA to find which means are significantly different from one another and non-parametric Friedman's test was used with multiple comparisons according to Nemenyi. For determination parameters of well taken regression function was used least squares method. These evaluations confirmed correct hypothesis about nitrogen sustenance on the induction of potato tuber formation. Results were processed by statistic and mathematical methods.

Key words: Tuber formation, potato plant, abscisic acid, mathematical and statistic methods, term of adjustment for tuber formation.

Acknowledgements: This research was supported by the Grant Agency of AF MUAFF Brno (IGA 19/2009).

ÚVOD

Tuberizace je morfogenetický proces, při němž dochází k přeměně (metamorfóze) kořene nebo stonku v zásobní orgán – hlízu. V hlízy metamorfuje rovněž podzemní části stonku – oddenky. Oddenkové hlízy jsou typické právě pro lilek brambor. Indukce tuberizace je často závislá na signálech z vnějšího prostředí (především fotoperiodických) a zahrnuje složitou sekvenci růstových procesů, na jejichž regulaci se mohou podílet všechny fytohormony. (XU et al. 1998; WHEELER and TIBBITS 1997). Její významnou součástí jsou i orgánové korelace a s nimi spojená komunikace mezi jednotlivými částmi rostliny (GREGORY 1956). Vedle změn v morfologii a buněčném dělení, které se objevují v raných fázích přeměny stonku v hlízu, je zakládání hlíz a jejich zvětvování doprovázené změnami ve fyziologii a metabolismu. Indukce tuberizačního procesu je regulovaná zejména fotoperiodou a fytohormony a především zvýšeným poměrem ABA/GA za krátkodenních podmínek (WHEELER and TIBBITS 1997, MACHÁČKOVÁ et al. 1998). Endogenní ABA stimuluje proces tuberizace (ABDULLAH and AHMAD 1980). Velmi významná je role etylénu, který se podílí na celé řadě procesů v průběhu růstu a vývoje rostlin. Etylén vstupuje do interakcí s ostatními hormony, kdy může nepřímo stimulovat tvorbu hlíz v nízkých koncentracích, zvláště na začátku tuberizace. Později etylén tvorbu hlíz inhibuje (MINGO-CASTEL et al. 1976). Hormonální regulace tvorby hlíz *in vivo* je nejdříve spojena s vlivem vnějších faktorů, především s alokací živin a minerálních látek. Je známa interakce dusíku s hormonální homeostázou v hlízách lilku bramboru a rovněž to, že zvýšený příjem nitrátů rostlinami vede ke zvýšení obsahu endogenních cytokininů a snížení obsahu ABA a tím obecně ke zkrácení dormance, stimulaci klíčení či zrychlení vegetativního růstu a obecně k prodloužení vegetační doby rostlin (LIPS et al. 1970). Naopak snížené množství nitrátů a zvýšení obsahu ABA za současného snížení obsahu cytokininů vede obecně v rostlinách k přechodu ke kvetení, indukci tuberizace a vytvoření zásobních orgánů, eventuálně k dormanci (CRAMER et al. 1995).

Experiment byl proveden při třech úrovních ošetření dusíkem (snížený a zvýšený obsah anorganického dusíku v indukčním médiu a kontrola). Byl sledován počet baněk s alespoň jednou vzniklou hlízkou a dále frekvence tvorby hlíz jako počet hlízek vztahený k celkovému počtu segmentů od čtvrtého až po devátý týden od založení souborů jednonodálních segmentů. Ohodnocení počtů mikrohlízek ze čtvrtého až devátého týdne z několikanásobného ročního a sezónního opakování experimentu u jednotlivých úrovní dusíku v indukčním médiu (tj. jednotlivé soubory dat) byla podkladem ke statistickému zpracování.

MATERIÁL A METODY

K indukci tvorby hlízek byly použity jednonodální segmenty lodyžek ze sterilně vypěstovaných rostlin odrůdy Karin. Lodyžky byly kultivovány na modifikovaném médiu MS (MURASHIGE and SKOOG 1962) s obsahem 30 g.l⁻¹ sacharózy, 8 g.l⁻¹ agaru a pH 5,8 při trvalém osvětlení. Pro indukci tvorby hlíz byly kultivovány tři varianty: varianta se sníženým obsahem anorganického dusíku v médiu (10÷12 μM), varianta se zvýšeným obsahem dusíku v médiu (65÷70 μM) a kontrola (přibližně 40 μM anorganického dusíku). Média všech tří variant obsahovala 80g.l⁻¹ sacharózy a 10mg.l⁻¹ BA pro indukci hlízek. Kultivace jednonodálních segmentů lodyžek probíhala na fotoperiodě 8/16 (8 hodin světla a 16 hodin tmy).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Celkem 12 souborů dat z jednotlivých ročních a sezónních opakování bylo statisticky zpracováno.

U experimentu č.1 při, kterém bylo sledováno týdenní ohodnocení počtů baněk s alespoň jednou hlízkou k celkovému počtu baněk byla využita dvoufaktorová analýza variancí (ANOVA) s následným testováním podle Tukeye. Sledovanými faktory byla koncentrace anorganického dusíku v indukčním médiu (celkem tři úrovně tohoto faktoru) a jednotlivá po sobě následující týdenní ohodnocení počtů baněk s alespoň jednou mikrohlízkou ze 4. až 9. týdne od založení souboru jednodálých segmentů (celkem 6 úrovní tohoto faktoru). Analýzou rozptylu dvojného třídění byly zjištěny průkazné rozdíly mezi průměry, zamítnutím příslušných nulových hypotéz. Pro určení konkrétních dvojic průkazných rozdílů jsem užil metodu následného testování podle Tukeye. Takto byly ověřovány různé nulové hypotézy a určovány průkazné rozdíly.

Výsledkem testování základní hypotézy bylo potvrzení, že snížené množství nitratového dusíku v indukčním médiu vede k výraznější indukci tuberizace u lílku bramboru (*Solanum tuberosum* L.) tj. k procentuálnímu nárůstu počtu baněk s alespoň jednou hlízkou k celkovému počtu baněk. Vysoce průkazný rozdíl v tvorbě hlízek u experimentu č.1 existuje pouze mezi variantou se sníženým a zvýšeným dusíkem. Za vysoce průkazný můžeme tento rozdíl považovat z toho důvodu, že nastal pro obě hladiny významnosti $\alpha = 0,05$ a i $\alpha = 0,01$ a má 99 % pravděpodobnost. Rozdíly mezi kontrolní metodou a sníženým dusíkem a také mezi kontrolní metodou a zvýšeným dusíkem jsou neprůkazné.

Z hlediska statistického vyhodnocení nic nenasvědčuje tomu, že by tato hypotéza neplatila.

Zároveň byl kontrolován předpoklad použití ANOVY (vzájemná nezávislost všech týdenních ohodnocení počtů baněk uvnitř skupiny i mezi skupinami, homogenita rozptylu testem podle Cochran a normální rozdělení dat testem Kolmogorovovým-Smirnovým v Lillieforsově úpravě kritických hodnot testovací charakteristiky).

Dále bylo statisticky potvrzeno, že nic nenasvědčuje tomu, že by efekty jednotlivých ročních, sezónních opakování na jaře a na podzim na indukci nebyly stejné. Neexistují průkazné rozdíly mezi ročními a sezónními opakováními experimentu č.1. Současně se prokázalo, že největší variabilita existuje právě mezi týdenními ohodnoceními počtů hlízek asi vlivem různé vitality (hormonální regulace) jednodálých segmentů. Volněji řečeno faktor týdenní ohodnocení je možné považovat, za zastupující faktor. Jednofaktorová ANOVA totiž nevedla k prokázání vlivu faktoru varianta tj k prokázání vlivu anorganického dusíku v indukčním médiu.

V experimentu č. 2 byl cíl obdobný, statisticky prokázat vliv dusíku na tuberizaci, odlišnost byla ve způsobu vyhodnocování frekvence tvorby hlízek jako procenta vytvořených mikrohlízek k celkovému počtu jednodálých segmentů. Protože nebyla splněna podmínka homogenity rozptylu, nebyla ke statistickému zpracování použita ANOVA tak jako v předchozím případě, ale Friedmanův test. Friedmanův neparametrický test na obou hladinách významnosti $\alpha = 0,05$ a $\alpha = 0,01$, tak jako v předchozím případě, indikoval zamítnutí shody nulového efektu na všech úrovních faktoru varianta tj. na obsahu anorganického dusíku v indukčním médiu. K určení, které efekty jednotlivých úrovní faktoru varianta tj. snížený dusík, kontrola a zvýšený dusík se od sebe významně liší byla použita

metoda mnohonásobného porovnávání podle Neményiho. Z výsledků vyplývá, že na obou hladinách významnosti $\alpha = 0,05$ a $\alpha = 0,01$ je průkazný rozdíl pouze mezi variantou se sníženým a zvýšeným dusíkem.

Výsledek je v souladu s předpokladem a s výsledky experimentu č. 1 i v tomto případě byla potvrzena hypotéza, že snížené množství nitrátového dusíku v indukčním médiu vede k výraznější indukcii tuberculace u lilku bramboru (*Solanum tuberosum* L.).

K potvrzení inhibujících a stimulujících vlivů byla pro jednotlivé varianty experimentu č. 1 odvozena regresní funkce. Podařilo se navrhnout vhodnou regresní křivku, s koeficientem determinace podle jednotlivých variant 0,994 a 0,997. Z koeficientu determinace je možné usuzovat, že až 99,7 % závislosti je odvozeno regresní funkcí a 0,3 % je způsobeno náhodou.

Z průběhu první derivace regresní funkce, jejíž fyzikální význam je okamžitá rychlost tvorby hlízek v baňkách s alespoň jednou mikrohlízkou, lze usuzovat, že tato rychlost roste od nuly až po maximum v inflexním bodě regresní funkce a potom klesá zpět k nule v okamžiku završení fyziologické aktivity jednonodálních segmentů. Tento bod regresní křivky je bodem zvratu mezi stimulační a inhibiční tvorby hlízek. Nejvyšší možnou okamžitou rychlost tvorby hlízek v baňkách, v nichž byla alespoň jedna mikrohlízka dosahovala varianta se sníženým dusíkem a kontrola a nejmenší varianta se zvýšeným dusíkem. Nejrychleji dosáhla inflexního bodu varianta se sníženým dusíkem a nejpozději varianta se zvýšeným dusíkem. Z regresní křivky byla odvozena i doba fyziologické přípravy jednonodálního segmentu na tvorbu hlízek. Nejkratší byla opět u varianty se sníženým dusíkem a nejdelší u varianty se zvýšeným dusíkem. Všechny hodnoty jsou vyrovnané dosažené vyhodnocením uvedených 12 souborů opakování experimentu č. 1. Pro regresní křivky posuzovaných variant jsem určil i pásy spolehlivosti. V pásu spolehlivosti se s 95 % pravděpodobností budou nacházet všechny laboratorně zjištěné hodnoty. Pás spolehlivosti pro variantu se sníženým dusíkem se nepřekrývá s pásem spolehlivosti pro variantu se zvýšeným dusíkem, tím došlo ke shodě s výsledky ze statistického posouzení experimentu č. 1.

Pás spolehlivosti pro kontrolní variantu se překrývá, jak s pásem spolehlivosti pro variantu se sníženým dusíkem tak i pro variantu se zvýšeným dusíkem, i zde je obdobný trend výsledku jako u experimentu č. 1. Průkazné rozdíly v tomto případě s 95 % pravděpodobností neexistují mezi kontrolní variantou a variantou se sníženým dusíkem a kontrolní variantou a variantou se zvýšeným dusíkem. Průkazný rozdíl existuje pouze mezi variantou se sníženým a zvýšeným dusíkem. Tento rozdíl označují za průkazný protože existuje pouze na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Tabulka č. 1 - Základní schéma dat pro ANOVU dvojného třídění k posouzení vlivu anorganického dusíku v indukčním médiu na proces indukce (% baněk s alespoň jednou hlízkou k celkovému počtu baněk)

Soubory experiment č.1	Faktor B varianta	Faktor A - doba od založení pokusu [týden]						Průměry	Poznámka
		4	5	6	7	8	9		
jaro 2005	kontrolní varianta	4,55	4,55	13,64	22,73	45,45	50,00	23,48	(faktor A) počet úrovní a = 6
podzim 2005		0,00	9,52	23,81	28,57	52,38	52,38	27,78	(faktor B) počet úrovní b = 3
jaro 2006		0,00	16,67	29,17	50,00	75,00	83,33	42,36	počet odečtů (v podtřídě) c = 4
podzim 2006		0,00	5,26	31,58	42,11	47,37	47,37	28,95	(zjednodušen výpočet) K = 70613,79
jaro 2005	snížený dusík	8,70	13,04	21,74	26,09	47,83	65,22	30,43	
podzim 2005		5,00	5,00	20,00	40,00	60,00	60,00	31,67	
jaro 2006		11,54	38,46	50,00	65,38	84,62	96,15	57,69	
podzim 2006		5,56	22,22	33,33	44,44	44,44	44,44	32,41	
jaro 2005	zvýšený dusík	0,00	0,00	13,64	18,18	31,82	54,55	19,70	
podzim 2005		0,00	15,00	25,00	40,00	60,00	60,00	33,33	
jaro 2006		4,00	12,00	28,00	28,00	28,00	48,00	24,67	
podzim 2006		0,00	0,00	5,00	30,00	45,00	60,00	23,33	
Průměry		3,28	11,81	24,58	36,29	51,83	60,12	31,317	

Tabulka č. 2 - ANOVA dvojného třídění se čtyřnásobným opakováním v podtřídě pro posouzení vlivu anorganického dusíku v indukčním médiu na proces indukce (na % baněk u nichž došlo k indukci k celkovému počtu baněk)

Zdroj variability i	Si	st.v.i	MSi	Fvypi	Fkriti
Týdenní ohodnocení (A)	29845,58	5	5969,12	39,84	3,377
Varianta (B)	1980,20	2	990,10	6,61	5,021
Interakce (AB)	289,21	10	28,92	0,19	2,668
Technická chyba (reziduum) e	8090,09	54	149,82		
Celková variabilita	40205,09	71			

Hladina významnosti $\alpha = 0,01$

Pomocí F-testů analyzy rozptylu vyhodnocujeme následující hypotézy :

H01: Jsou efekty faktoru B - varianta na indukci stejné ? (Testujeme pomocí $F(B) = MSB / MSE$)

H02: Jsou efekty vzájemného působení obou faktorů na indukci stejné ? (Testujeme pomocí $F(AB) = MSAB / MSE$)

H03: Jsou efekty faktoru A - týdenní ohodnocení na indukci stejné ? (Testujeme pomocí $F(A) = MSA / MSE$)

Použitý model analyzy rozptylu : $X_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_{ij} + \epsilon_{ijk}$

Fvyp (B) > Fkrit => zamítáme H01 $\equiv \beta_1 = \beta_2 = \beta_3 = 0$ a přikládáme se k alternativní hypotéze, že ne všechny efekty β_j faktoru B (varianta) jsou stejné

- vliv faktoru B je průkazný

Fvyp (AB) < Fkrit => nezamítáme H02 \equiv (všechny $\gamma_{ij} = 0$) a přikládáme se k nulové hypotéze, interakční efekty faktorů A,B se neuplatňují - vliv interakce není průkazný

Fvyp (A) > Fkrit => zamítáme H03 $\equiv \alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3 = \alpha_4 = \alpha_5 = \alpha_6 = 0$ a přikládáme se k alternativní hypotéze, že ne všechny efekty α_i faktoru A (týdenní ohodnocení) jsou stejné - vliv faktoru A je průkazný

Tabulka č. 3 - Tukeyův následný test významnosti rozdílů mezi průměry jednotlivých úrovních skupin faktoru B - varianta (následné testování základní schéma ANOVY viz tab. č. 2)

Nulová hypotéza H_0 : $\mu_i - \mu_j = 0$

Alternativní hypotéza H_1 : $\mu_i - \mu_j \neq 0$

	a) Určení kritické hodnoty $Q(\alpha, p, sve)$	studentizovaného rozpětí	
α	= 0,01	0,05	hladina významnosti
p	= 3		počet úrovní faktoru B
s.v.e	= 54		stupeň volnosti pro rez. složku ANOVY

V našem případě hledáme tabulkové hodnoty:

$$Q(0,05;3;54) = 3,4119$$

$$Q(0,01;3;54) = 4,3075$$

b) Výpočet kritické hodnoty rozdílu podle Tukeye

$$D\alpha = Q_{\alpha,p,sve} * \text{Odmocnina (MSe / } n_i)$$

n_i	=	24
MSe	=	149,82
Dkrit 0,05	=	8,525
Dkrit 0,01	=	10,762

Tabulka č.4 - Skutečné rozdíly mezi dílčími průměry úrovní faktoru B - metoda

Hodnota dílčího průměru	Úroveň faktoru B	Rozdíl mezi dílčími průměry		
		kontrolní varianta	snížený dusík	zvýšený dusík
30,64	kontrolní varianta		7,41	5,39
38,05	snížený dusík			12,79
25,26	zvýšený dusík			

Vyhodnocení:

Na základě Tukeyova testu usuzujeme, že mezi úrovněmi faktoru B - varianta existuje vysoce průkazný rozdíl pouze mezi průměry úrovně hladiny snížený a zvýšený dusík.

Tento rozdíl je vysoce průkazný, protože existuje pro obě hladiny významnosti $\alpha = 0,01$ a $\alpha = 0,05$.

Rozdíl mezi průměry úrovně hladiny snížený dusík a kontrolní varianta nebo zvýšený dusík a kontrolní varianta je neprůkazný na obou hladinách významnosti. Výsledky odpovídají teoretickým předpokladům.

Regresní funkce pro kontrolní variantu experimentu č. 1

$$y_{1KM} = 100 - 365,119 \times e^{-\frac{t}{4,01421}} + 1181,321 \times e^{-\frac{t}{1,13662}}$$

Index determinace

$$I_{yr} = \sqrt{\frac{\text{var } y'}{\text{var } y}} = \sqrt{1 - \frac{\text{var}(y - y')}{\text{var } y}} = \sqrt{1 - \frac{\sum_{i=1}^{i=6} (y_i - y'_i)^2}{\sum_{i=1}^{i=6} (y_i - \bar{y})^2}} = \sqrt{1 - \frac{33,94}{2846,58}} = 0,994$$

Regresní funkce pro variantu se sníženým dusíkem experimentu č. 1

$$y_{1SD} = 100 - 188852,779 \times e^{-\frac{t}{2,5947143}} + 188886,348 \times e^{-\frac{t}{2,5905466}}$$

Index determinace

$$I_{yt} = \sqrt{\frac{\text{var } y'}{\text{var } y}} = \sqrt{1 - \frac{\text{var}(y - y')}{\text{var } y}} = \sqrt{1 - \frac{\sum_{i=1}^{i=6} (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^{i=6} (y_i - \bar{y})^2}} = \sqrt{1 - \frac{15,45}{2751,79}} = 0,997$$

Regresní funkce pro variantu se zvýšeným dusíkem experimentu č. 1

$$y_{1ZD} = 100 - 315921,084 \times e^{-\frac{t}{2,9399089}} + 316024,492 \times e^{-\frac{t}{2,9365448}}$$

Index determinace

$$I_{yt} = \sqrt{\frac{\text{var } y'}{\text{var } y}} = \sqrt{1 - \frac{\text{var}(y - y')}{\text{var } y}} = \sqrt{1 - \frac{\sum_{i=1}^{i=6} (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^{i=6} (y_i - \bar{y})^2}} = \sqrt{1 - \frac{11,09}{2096,49}} = 0,997$$

Ze vzájemného porovnání hodnot regresních funkcí kontrolní varianty, sníženého a zvýšeného dusíku na jednotlivých týdenních ohodnoceních vyplývá, že největší počet baněk v kterých došlo alespoň na jednom explantátu ke tvorbě hlízky byl charakteristický pro kultivační variantu se sníženým dusíkem a naopak nejmenší u varianty se zvýšeným dusíkem viz graf č. 2. Výsledek je v souladu s předpokladem. Vyrovnané hodnoty vypočtené z regresní funkce korespondují s hodnotami laboratorně zjištěnými.

Hodnoty parametrů regresní funkce byly odvozeny metodou nejmenších čtverců bez sestavování normálních rovnic za pomoci tabulkového kalkulátoru Microsoft Excel. Regresní funkce vyjadřuje procentuální závislost počtu baněk s alespoň jednou hlízkou z celkového počtu baněk na čase.

Spolu s parametry byla vypočtena i časová konstanta TD, jakožto posun počátku kartézské soustavy souřadnic po ose času t do bodu, kde je tato funkce ještě nulová. Tato konstanta by mohla být dobou fyziologické přípravy na tvorbu mikrohlízek.

TD Kontrolní varianta = 3,862 týdne (27,0 dne)

TD Snížený dusík = 2,879 týdne (20,2 dne)

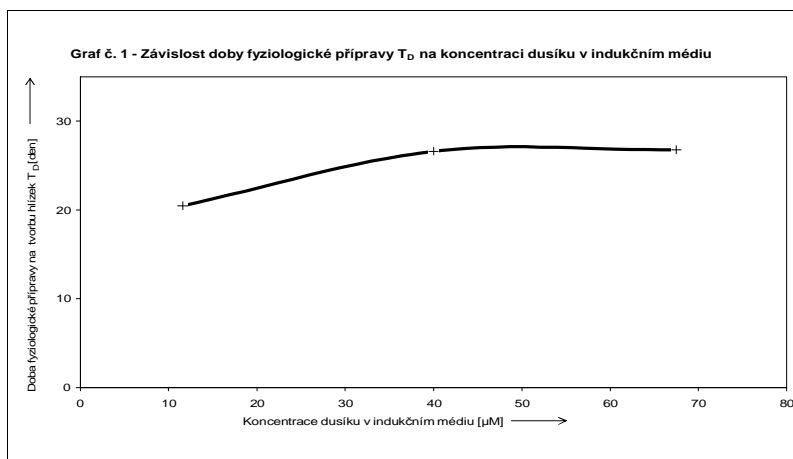
TD Zvýšený dusík = 3,778 týdne (26,4 dne)

Z porovnání konstant TD vyplývá, že nejkratší dobu fyziologické přípravy na tvorbu mikrohlízek potřebuje varianta se sníženým dusíkem. Kontrolní varianta a varianta se zvýšeným dusíkem potřebují dobu navzájem přibližně stejnou, ale o týden delší než varianta se sníženým dusíkem. Hodnotu TD jsme získali extrapolací tedy výpočtem hodnoty regresní funkce mimo interval laboratorně (empiricky) získaných dat tj. mimo mez realizovaných týdenních ohodnocení počtů baněk s alespoň jednou mikrohlízkou. Tato extrapolace ale byla minimální. U kontrolní varianty byla totiž nejmenší funkční hodnota regresní funkce pro 1. realizované týdenní ohodnocení 0,2 % u varianty se zvýšeným dusíkem 0,27 % a u varianty se sníženým dusíkem 7,04 %. Hodnoty konstant TD, které mohou vyjadřovat dobu fyziologické přípravy jednonodálních segmentů na tvorbu hlízek byly porovnávány s průběhy koncentrací ABA v závislosti na čase a došlo ke shodě s předpoklady.

ZÁVĚR

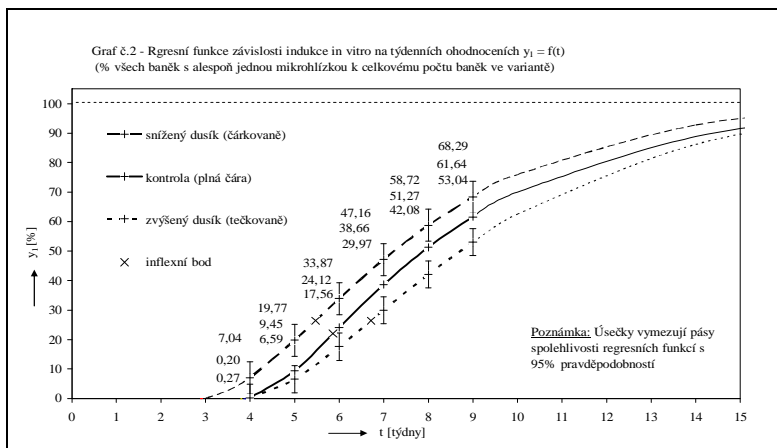
Viditelná tvorba hlíz v *in vitro* kultuře byla zaznamenána tři týdny od založení experimentu. Snížení obsahu anorganického dusíku v médiu vedlo k intenzivnější tvorbě hlíz. Tato varianta měla největší počet baněk, u nichž došlo alespoň na jednom explantátu ke tvorbě hlízky (graf č. 2), a okamžitá rychlost jejich tvorby byla u této varianty nejrychlejší (tab.č. 5). Také počet hlízek vztahený k celkovému počtu segmentů byl u této varianty největší. Tyto výsledky odpovídají výsledkům MINGO-CASTELA et al. (1976) Naopak zvýšení obsahu dusíku v indukčním médiu vedlo ke snížení tvorby hlíz. Tyto rozdíly jsou patrné na všech týdenních ohodnoceních a bylo statisticky ověřeno, že nic nenavědčuje tomu, že by neplatila hypotéza, že snížené množství nitratového dusíku v indukčním médiu vede k výraznější indukcii tuberculace u lilku bramboru *Solanum tuberosum* L. (tab. č. 1, 2, 3, a 4).

Výsledky poukazují na možnost ovlivnění produkce sadbových brambor pomocí optimalizace hnojení, tento poznatek uvádí i ATKINSON et al. (2003).



Tabulka č. 5

Varianta	Čas dosažení inflexního bodu t_1 od založení souboru jednodálních segmentů [týden]	Hodnota regresní funkce $y_i[-]$	Maximální okamžitá rychlost tuberizace baňky s alespoň jednou hlízkou (v inflexním bodě regresní funkce) v_i [týden ⁻¹]
kontrolní varianta	5,863 (41,041dne)	22,048	15,134
snížený dusík	5,472 (38,304dne)	26,424	14,189
zvýšený dusík	6,716 (47,012dne)	26,424	12,520



Po osmi týdnech kultivace dosáhly největší mikrohlízký velikosti 8 mm a jejich hmotnost nepřesahovala 25 mg (obr. č. 1).

Obr. č. 1



LITERATURA

- ABDULAH, Z.N. and AHMAD, R. (1980): Effect of ABA and GA3 on tuberization and some chemical constituent of potato. *Plant Cell Physiol.* 21:1343-1346.
- ANDĚL J. (2003): Statistické metody, Matfyzpress, Vydavatelství Matematicko - fyzikální fakulty University Karlovy
- ATKINSON, D., GEARY, B., STARK, J., LOVE, S. and WINDERS, J. (2003): Potato varietal responses to nitrogen rate and timing. Western Nutrient Management Conference, Salt Lake City, Utah, USA, Vol. 5:149-155.
- CRAMER, M.D., SCHIERHOLT, A., WANG, Z. and LIPS, S. H. (1995): The influence of salinity on the utilization of root anaplerotic carbon and nitrogen metabolism in tomato seedlings. *J. Exp. Bot.* 46:1569-1577.
- FISEROVA, H. and HRADILIK, J. (1994): Ethylene and ethane production during adventitious root-formation on vine stem segments. *Rost. Vyr.* 40 (8): 755-762.
- GREGORY L.E. (1956): Some factors for tuberization in the potato. *Ann. Bot.* 41: 281–288.
- JAROŠOVÁ, E., a KRÁL J. (2007): Ověřování předpokladu normality, Národní informační středisko pro podporu jakosti, <http://www.npi.cz>
- KRAUSS, A. (1981): Abscisic acid and gibberelic acid in growing potato tubers. *Pot. Research* 24(4):435-439.
- LIKEŠ J., a LAGA J. (1978): Základní Statistické tabulky, SNTL n.p., Praha Spálená 51
- LIPS, S. H., BEN ZIONI, A. and VAADIA, Y. (1970): K⁺ recirculation in plants and its importance for adequate nitrate nutrition. In: R. M. SAMISH (Ed) *Recent Advances in Plant Nutrition*. Gordon and Breach Science Publishers. New York - London - Paris. pp. 207-215.
- MACHACKOVA, I., KONSTANTINOVA, T.N., SERGEEVA, L.I., LOZHNIKOVA, V.N., GOLYANOVSKAYA, S.A., DUDKO, N.D., EDER, J. and AKSENOVA, N.P. (1998): Photoperiodic control of growth, development and phytohormone balance in *Solanum tuberosum*. *Physiol. Plant.* 102:272-278.
- MINGO-CASTEL, A. M., SMITH, O. E. and KUMAMOTO, J. (1976): *Plant Physiol.* 57: 480-485.
- MURASHIGE T. and SKOOG F. (1962): A revise medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol.Plant.* 15:473-97.
- STÁVKOVÁ J., a DUFEK J. (2005): Biometrika, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně
- VOSMANSKÁ G. (2005): Matematika, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně
- WHEELER, R. M. and TIBBITTS, Th. W. (1997): Influence of changes in daylength and carbon dioxide on the growth of potatoe. *Ann. Bot.* 79:529-533.
- XU, X., VAN LAMMEREN, A.M., VERMEER, E. and VREUGDENHIL, D. (1998): The Role of Gibberellin, Abscisic Acid, and Sucrose in the Regulation of Potato Tuber Formation in Vitro. *Plant Physiol.* 117: 575–584.

BREEDING OF TRITICALE FOR BETTER BREAD-MAKING QUALITY USING DNA MARKERS

Trebichalský A.¹, Martinek P.², Balážová Ž.¹

¹Department of Biochemistry and Biotechnology, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture in Nitre, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

²Agrotest fyto, s.r.o., Havlickova 2787, 767 01 Kromeriz, Czech Republic

E-mail: andrej.trebichalsky@afnet.uniag.sk

ABSTRACT

Triticale (*X Triticosecale* Witt.) is a man-made hybrid created by crossing wheat (*T. aestivum* L.) and rye (*Secale cereale*). Therefore, the genom of triticale includes wheat chromosomes (AABB) and rye chromosomes (RR). The most spread and grown triticales are hexaploids ($2n=6x=42$ AABBRR). In hexaploid triticale the rye genome replaces the D genome of bread wheat. This work is aimed at developing triticale lines usable in the production of leavened bakery products. Two breeding strategies are employed that are based on various methods of Marker Assisted Selection (MAS) for detection of HMW glutenin allele *Glu-D1d* subunits 5+10 in spikes progenies. The allele *Glu-D1d* originating from wheat chromosome 1D is transferred to triticale using some types of chromosome 1R: 1R.1D₅₊₁₀⁻¹, 1R.1D₅₊₁₀⁻², Valdy, Valdy LH, FC1 and FC2. Translocation donors of chromosome 1R for this purpose have been developed and provided by Prof. Adam Lukaszewski (University of California, Riverside USA). *Glu-D1d* allele greatly participates on bread-making quality in bread wheat because it achieves the highest Glu-score. The SPLAT-PCR have been used for analysis of HMW glutenin subunit *Glu-D1d*. Final product was detected using 50 bp lenght marker GeneRule. A total of 255 F₄-F₈ spike progenies derived from various crosses of a triticale cultivar x a translocation donor were tested. *Glu-D1d* allele was confirmed in 155 cases which represents 60.7%. Totally, in 78 progenies with translocation 1R.1D₅₊₁₀⁻² was detected allele *Glu-D1d*. Translocation with *Glu-D1d* allele was detected in 41 progenies. In F₈ generation we have analysed 22 samples with translocation Presto Valdy, *Glu-D1d* allele was confirmed in 20 cases (90.9%). As far as the translocation Valdy LH, *Glu-D1d* was detected in 12 samples (60% of all Valdy LH sample). This translocation has connection with spike lenght. FC1 translocation was found in 18 samples.

The development of triticale with bread-making grain quality will enable to extend the area planted with food cereals in worse soils where bread cultivars of triticale retain better amino acid composition.

Key words: triticale (*x Triticosecale* Witt.), bread-making quality, *Glu-D1d*, translocation

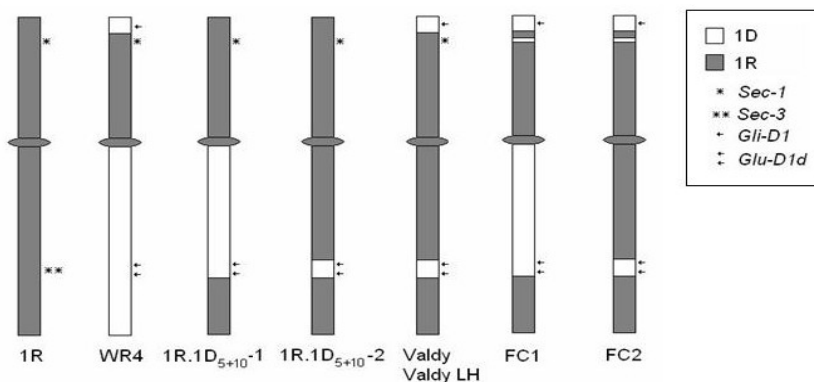
Acknowledgements: This project was supported by a VEGA project No. 1/0471/09.

ÚVOD

Význam alely *Glu-D1d* u pšenice je dostatočne známy a je možné v zásade konštatovať, že sa nachádza takmer vo všetkých odrodách pšenice s dobrou (A) alebo vynikajúcou (E) pekárskou kvalitou. Táto alela má tiež vysoké pozitívne tzv. glutenínové (pšeničné) skóre (asi 30 %), teda mieru, ktorou pozitívne prispieva k celkovej pekárskej kvalite. Vzhľadom k tomu, že *Glu-D1d* sa môže nachádzať na chromozóme 1D, ktorý v hexaploidnom tritikale (BBAARR) chýba, je možné do tritikale túto alelu preniesť napríklad pomocou príslušnej translokácie chromozómu 1R.1D. Problémom je, že chromozóm 1R rovnako nesie sekaľínové lokusy, z ktorých hlavne *Sec1* výrazne negatívne ovplyvňuje pekársku kvalitu (odrody pšenice nesúce známu translokáciu 1BL.1RS, ktorá nesie na krátkom ramene *Sec1* naopak obvykle nie sú vhodné pre pekárske využitie z dôvodu, že *Sec1* má negatívne /ražné/ skóre). Vzhľadom k tomu, že vytvorenie pekárskych foriem tritikale by mohlo byť hospodársky veľmi významné (o čom nepochybujú v krajinách, kde je tritikale významne rozšírené) sa už niekoľko rokov cielene vyvíjajú translokácie chromozómu 1R.1D v tritikale, kde je cieľom nielen preniesť požadovaný segment nesúci *Glu-D1d* ale súčasne eliminovať účinky sekaľínových lokusov *Sec3* a zvlášť *Sec1*. Profesor Adam J. Lukaszewski, 2007 (Univ. of California, Riverside, USA) vytvoril širokú škálu translokácií chromozómu 1R v tritikale (Obr. 1), ktoré sú postupne využívané v šľachtiteľských programoch v Agrotest fyto, s.r.o. Kroměříž (ďalej len KM) a v Hodowla Roslin Strzelce Sp. z o.o. - šľachtiteľská stanica Borowo v Poľsku (ďalej len BOH).

Vzhľadom k tomu, že na oboch pracoviskách sú značne odlišné podmienky v prípade finančného zabezpečenia šľachtiteľských programov tritikale, existujú na nich celkom odlišné stratégie selekcie.

Obr. 1 Vľavo je znázornený chromozóm 1R bez translokácie (je celý vyfarbený tmavo), vpravo od neho je séria odvodených translokácií s prenesenými segmentmi z chromozómu 1D, ktoré sú označené bielou farbou. Viacnásobné translokácie, ktoré nesú väčší počet segmentov prenesených z 1D sú nazvané Valdy, Valdy LH, FC1 a FC2. Niektoré pšeničné segmenty nahrádzajú sekaľínové lokusy.



MATERIÁL A METÓDY

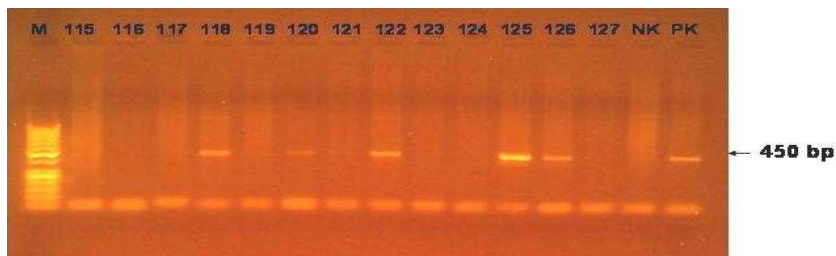
Na pracovisku v Kroměříži bolo v rokoch 2007/08 vysiate strojom Seedmatic celkom 2856 potomstiev klasov ozimného tritikale (každý klas do dvoch 80 cm dlhých riadkov) od 158 rozdielnych krížencov typu: odroda tritikale x donor translokácie v generáciách F_4 - F_8 . Použité donory translokácie niesli niektorú z translokácií: 1R.1D₅₊₁₀-1, 1R.1D₅₊₁₀-2, Valdy, Valdy LH, FC1. U 10 cennejších krížencov, kde boli do kríženia použité krátkostebľé formy (s génom *Rht1*) a donory translokácie FC1 bol uskutočnený odber listov z jednotlivých dvojriadkov pre DNA analýzy. Listy boli odobrané z 500 potomstiev v dobe odnožovania a tieto boli uložené do hlbokomraziaceho boxu pri teplote -70 °C. Odber listov bol uskutočnený náhodne z rôznych rastlín v dvojriadkov, takže predstavujú zmesnú vzorku rastlín.

Počas vegetácie bola na poli uskutočnená selekcia perspektívnych potomstiev tak, že farebným sprejom boli označené najlepšie vyrovnané potomstvá s dobrou odolnosťou k hubovým chorobám, poliehaniu. Bolo označených a zozbieraných na poli 255 dvojriadkov (zhruba asi 10 %). Na molekulárne analýzy boli uskutočnené vo dvoch sériách, pričom boli použité vzorky z listov uchovaných v mraziacom boxe (1. séria vzoriek) a vzorky z listov mladých rastlín vypestovaných v rašelinových sadbovačoch (2. séria vzoriek).

Metodika DNA markerov pre detekciu *Glu-D1d* bola u tritikale rozpracovaná v Mendelovej zemědělské a lesnícké univerzité v Brně (Vinterová et al., 2003) a následne bola aplikovaná v laboratóriu molekulárnej genetiky v KM. Genómová DNA bola izolovaná pomocou DNAesy Plant Mini Kitu firmy Qiagen. Pre detekciu *Glu-D1d* bola použitá metodika PCR-SPLAT (D'Ovidio, Anderson, 1994) podľa modifikovaného PCR protokolu s využitím (5') GCC TAG CAA CCT TCA CAA TC (3'), (5') GAA ACC TGC TGC CGA CAA G (3') primerov. Polymerázové reťazové reakcie (PCR) boli uskutočnené v objeme 20 μ l zmesi v termocykleri následovne: denaturácia prebiehala pri 94°C 60 s, naviazanie primerov pri 55 °C 45 s a záverečná polymerizácia 30s pri 72 °C. Namnožená DNA po PCR reakcii bola detekovaná horizontálnou elektroforézou (Biometra - agagel standard) v 1,5 % agarózovom géli a fixovaná ethidium bromidom. Konečný produkt o veľkosti 450 bp, ktorý verifikuje prítomnosť alely *Glu-D1d* bol porovnaný a vyhodnotený na základe 50 bp dĺžkového markera GeneRuler od firmy Fermentas.

Rozdelenie analyzovaných vzoriek do dvoch sérií vzoriek umožnilo uskutočniť detekciu *Glu-D1d* pomocou DNA markerov v laboratóriu už od polovice júna a celý súbor sa podarilo zanalyzovať ešte do jesenného siatia roku.

Obr. 2 Elektroforetická separácia v 1,5 % agarózovom géli. M predstavuje 50 bp dĺžkový marker, 115-127 sú analyzované vzorky (u 118, 120, 122, 125 a 126 je pozitívny výsledok), NK je negatívna kontrola a PK je pozitívna kontrola. Fragment o veľkosti 450 bp je vyznačený šípkou. Ako negatívna vzorka sa použilo cv. Presto bez translokácie.



stratégia selekcie tritikale pre pekársku účely

V KM šľachtenie tritikale na pekársku kvalitu bolo zahájené v roku 2000, pokračovalo nadväzujúcim projektom GAČR: 521/03/0113 v rokoch 2003-2005. V KM bol kladený veľký dôraz na použitie homozygotných rodičovských donorových foriem nesúcich príslušné translokácie. Boli uskutočnené takmer výhradne jednoduché kríženia typu: významná odroda tritikale × donor translokácie. Takéto kríženie potom zaručuje, že v následných hybridných potomstvách možno očakávať 50% frekvenciu výskytu požadovanej translokácie. Pokiaľ nie sú finančné prostriedky na detekciu požadovanej alely *Glu-D1d* možno nechať hybridnú populáciu samoopelovať (selfovať) bez veľkého nebezpečenstva, že by sa frekvencia požadovanej alely znížila natoľko, že by nebola detekovateľná. Tento postup taktiež umožňuje presunúť uskutočnenie výberu klasov (alebo rastlín) do neskorších (vyšších) generácií, čo má výhodu, že je v nich vyšší podiel homozygotov, čo sa prejavuje navonok vyšším počtom vyrovnaných dvojriadkov.

V BOH sa uskutočňujú rovnako zložitejšie kríženia typu kedy F_1 (odroda × donor translokácie) je znovu krížená na odrodu. V týchto prípadoch je frekvencia požadovanej translokácie v F_2 populácii nižšia než 50 % a je nevyhnutné túto translokáciu ihneď detekovať. Pokiaľ by populácia bola ponechaná samoopelovaniu, frekvencia translokácie by sa za niekoľko generácií postupne priblížila k nule a bola by veľmi ťažko zistiteľná. Typu kríženia je nevyhnutné prispôsobiť metódu selekcie. K detekcii translokácie používajú v BOH metódu elektroforetickej separácie bielkovín endospermu zrna SDS-PAGE, kde *Glu-D1d* je možné detekovať podľa bielkovín v pozícii 5 a 10 na elektroforetickom géli. SDS-PAGE možno s úspechom využiť v skorých generáciách, jej prednosťou je, že je lacnejšia. Je ju možné použiť taktiež pre rozlíšenie homozygotov a heterozygotov a pre detekciu sekalínových lokusov. Táto metóda umožňuje analyzovať i jednotlivé zrná, pričom z ponechanej časti obilky so zárodkom možno dopestovať rastlinu. Rastliny nesúce *Glu-D1d* v raných generáciách je možné následne ustáliť pomocou metód explantátových kultúr z nezrelých prašníkov a následnej tvorby dihaploidov.

Na rozdiel od SDS-PAGE metóda DNA-markerov pre detekciu *Glu-D1d* využíva spravidla listy ako východzí materiál pre izoláciu DNA, neumožňuje od seba rozlíšiť homozygotov a heterozygotov a je o niečo drahšia. Metóda využívajúca elektroforetickú separáciu bielkovín pracuje teda s translačnými produktmi hodnotených génov - proteínmi, zatiaľ čo metóda DNA markerov detekuje daný gén priamo.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Celkovo bola alela *Glu-D1d* dokázaná u 155 potomstiev čo predstavuje 60,7 % z celkového analyzovaného súboru (tabuľka 1.1). Z tohto počtu boli najpočetnejšie zastúpené vzorky nesúce jednoduchú translokáciu 1R.ID₅₊₁₀-2 až 78 potomstiev čo predstavuje 50,3 %. Pri tejto translokácii je bochník mierne sploštený a cesto málo lepivé. Pri hybride Presto I. R. (3) x SG-U 204 v F₈ generácii bola dokázaná prítomnosť alely *Glu-D1d* až v 30 potomstvách z celkového počtu 41 potomstiev, čo predstavuje 73,1 %. Druhou najpočetnejšou translokáciou bola dvojitá translokácia Valdy, ktorá sa vyskytovala v 41 vzorkách. Analyzovali sme 22 vzoriek Presto Valdy v F₈ generácii, pričom sme dokázali prítomnosť alely *Glu-D1d* alely až v 20 vzorkách (90,9 %). Táto translokácia podobne ako translokácia 1R.ID₅₊₁₀-2 nesie sekalínový lokus *Sec-1* na krátkom ramene chromozómu 1R. Vzorky s touto alelou pochádzali celkovo z 9 rôznych krížencov.

Translokáciu Valdy LH sme určili vo 12 vzorkách z celkového počtu 20 vzoriek v F₆ generácie čo predstavuje 60 % vzoriek. Táto translokácia má väzbu na dĺžku klasu na rozdiel od translokácie Valdy. Donorové genotypy predstavovali nasledovné kríženie: Ticino/Valdy (1) Long Head, TcV1/02-33/Valdy (3) Long Head, SG-U 228/Valdy (3) Long Head, Valdy (1) Long Head/Trimaran, Valdy (2) Long Head/SG-U 250 a SG-U 249/Valdy (1) Long Head.

Tab. 1 Prehľad vybraných líní ozimného tritikale nesúcich alelu *Glu-D1d*

Translokácia	Pôvod	Počet líní	Generácia 2009
1R.ID₅₊₁₀-2	Presto 1R.ID ₅₊₁₀ -2 (lína 3)/Binova	2	F ₉ -09
	Presto 1R.ID ₅₊₁₀ -2 (lína 4)/Trimaran	1	F ₈ -09
	Presto 1R.ID ₅₊₁₀ -2 (lína 5)/Babor	3	F ₈ -09
	Presto 1R.ID ₅₊₁₀ -2 (lína 3)/SG-U 204	30	F ₉ -09
	Presto 1R.ID ₅₊₁₀ -2 (lína 1)/Babor	8	F ₉ -09
	Presto 1R.ID ₅₊₁₀ -2 (lína 1)/Binova	3	F ₉ -09
	Presto 1R.ID ₅₊₁₀ -2 (lína 1)/Moreno	14	F ₉ -09
	Presto 1R.ID ₅₊₁₀ -2 (lína 1)/Saka 3005-92	1	F ₉ -09
	Presto 1R.ID ₅₊₁₀ -2 (lína 1)/Trimaran	1	F ₉ -09
	Presto 1R.ID ₅₊₁₀ -2 (lína 3)/SG-U 137	11	F ₉ -09
Presto 1R.ID ₅₊₁₀ -2 (lína 3)/SG-U 204	4	F ₉ -09	
Celkom línie s translokáciou 1R.ID₅₊₁₀-2		78	
Valdy	Presto Valdy 26-97 (lína 7)/Moreno	2	F ₈ -09
	Presto Valdy (lína 7)/Babor	12	F ₈ -09
	Presto Valdy (lína 7)/Saka 3005-92	2	F ₈ -09
	Presto Valdy (lína 8)/Binova	6	F ₈ -09
	SG-U 137/Presto Valdy 26-97 (lína 8)	1	F ₉ -09
	SG-U 204/Presto Valdy 26-97 (lína 10)	4	F ₆ -09
	SG-U 204/Presto Valdy 26-97 (lína 8)	2	F ₆ -09
	SG-U 228/Presto Valdy 26-97 (lína 7)	3	F ₆ -09
	Ticino/Presto Valdy 26-97 (lína 8)	2	F ₆ -09
	Presto Valdy 26-97 (lína 10)/SG-U 246	1	F ₆ -09
	Presto Valdy 26-97 (lína 8)/SG-U 250	3	F ₆ -09
	Presto Valdy 26-97 (lína 7)/SG-U 228	2	F ₆ -09
SG-U 249/Presto Valdy 26-97 (lína 7)	1	F ₆ -09	
Celkom línie s translokáciou Valdy		41	
Valdy LH	SG-U 228/Presto Valdy LH (lína 3)	2	F ₇ -09
	SG-U 249/Presto Valdy LH (lína 1)	3	F ₇ -09
	TcV1/02-33/Presto Valdy LH (lína 3)	2	F ₇ -09
	Ticino/Presto Valdy LH (lína 1)	4	F ₇ -09
	Presto Valdy LH (lína 1)/Tc V2-02-6	3	F ₇ -09
	Presto Valdy LH (lína 1)/Trimaran	1	F ₇ -09
	Presto Valdy LH (lína 2)/SG-U 250	3	F ₇ -09
Celkom línie s translokáciou Valdy LH		18	
Valdy alebo FC1	Presto Valdy (lína 1)/Presto FC1/Krakowiak	5	F ₅ -09
FC1	Presto FC1/IP21Y04T	2	F ₅ -09
	Presto FC1/Krakowiak	7	F ₅ -09
	Presto FC1/M420	5	F ₅ -09
	Presto Aq1-23/Presto Rht21//Presto FC1/Presto 6Rkr	4	F ₅ -09
Celkom línie s translokáciou FC1		18	
substitúcia 1D(1R) + MA1	Presto MA1 1D(1R) (BC3)	1	F ₄ -09
Celkový počet líní s výskytom <i>Glu-D1d</i>		155	

Pekárska kvalita je veľmi komplexný znak, ktorý je okrem viskoelastických charakteristík lepkovej bielkoviny podmienený i radou iných charakteristík. Napríklad je len málo preštudovaná úloha nízkomolekulárnych glutenínov. Problematickým znakom, ktorý u tritikale negatívne ovplyvňuje výslednú kvalitu je zvyčajne vysoká aktivita α -amylázy a s tým spojená nízka odolnosť k prerastaniu. Tá je riadená úplne odlišným genetickým systémom ako akým sú riadené zásobné bielkoviny. V súčasnosti tento systém je len čiastočne preštudovaný. Vhodnou kombináciou donorov nesúcich požadovanú alelu *Glu-D1d* a donorov odolnosti k prerastaniu by malo dôjsť k podstatnému zlepšeniu pekárskej kvality u tritikale. Najväčšiu perspektívu možno očakávať od využitia nových translokácií FC1 a FC2, u ktorých prítomnosť *Glu-D1d*, *Gli-D1* a súčasne odstránenie *Sec1* by mali viesť ku podstatnému zlepšeniu pekárskej kvality u tritikale.

Je dôležité upozorniť, že oboma metódami detekcie (SDS-PAGE, DNA-markery) možno detekovať len prítomnosť požadovanej alely vo vzorke alebo rastline, podľa čoho predpokladáme prítomnosť respektíve neprítomnosť danej translokácie. Pretože translokácie chromozómu 1 R boli vytvorené už mnohé (Obr. 1), bude vhodné nájsť spôsoby detekcie, ktoré by umožnili v šľachtiteľskom materiálu rozlišovať jednotlivé typy translokácií navzájom od seba.

ZÁVER

Pomocou DNA markerov bolo celkovo analyzovaných 255 klasových potomstiev v generácii F₄ - F₈ rôznych krížencov odrôd tritikale s donormi translokácie chromozómu 1R, kde tento chromozóm nesie pšeničný segment z chromozómu 1D s HMW glutenínovou alelou *Glu-D1d*. Tá má u pšenice výrazne pozitívny vplyv na technologickú kvalitu zrna a mala by podobným spôsobom zlepšovať kvalitu zrna aj u tritikale. Alela *Glu-D1d* bola potvrdená u 155 potomstiev tritikale, ktoré budú ďalej vysiate. U týchto potomstiev je možné očakávať zvýšený počet parametrov zlepšenej technologickej kvality nevyhnutných pre výrobu kysnutého pečiva.

LITERATÚRA

D'Ovidio R, Anderson O. D.: PCR analysis to distinguish between alleles of member of a multigene family correlated with bread-making quality. In: Theor. Appl. Genet. 88, 1994: 759-763.

Lukaszewski A. J.: Cytogenetically engineered rye chromosomes 1R to improve bread-making quality of hexaploid triticale. In Crop Sci. 46, 2006: 2183-2194.

Martinek P, Vinterová M, Burešová I, Vyhnaněk T.: Agronomic and quality characteristics of triticale (*X Triticosecale* Wittmack.) with HMW glutenin subunits 5+10. J. In Cereal Sci., 47(1), 2008, 1: 68-78.

Vinterová M., Bednář J., Ježíšková I., Martinek P.: DNA markers for high molecular weight glutenin subunits 5+10 used in wheat and triticale breeding. In Czech J. Genet. Plant Breed., 39(3), 2003: 69-72.

POĎAKOVANIE

Výskum bol podporený výskumným zameraním Ministerstva školstva, mládeže a telovýchovy Českej republiky: MŠMT 2532885901 - etapou E, projektom KONTAKT Česko-slovenskej spolupráce MEB 080827 a projektom Vedeckej garantovej agentúry SR VEGA č. 1/3474/06. Autor príspevku Ing. A. Trebichalský ďakuje Ing. Tomášovi Vyhánkovi, PhD. z MZLU Brno za cenné rady pri využití

metodiky DNA markerov a Ing. Petrovi Martinekovi za umožnenie vykonania odbornej stáže na pracovisku Agrotest fyto, s.r.o. Kroměříži.

ADRESY AUTOROV:

Ing. Andrej Trebichalský, doktorand Katedra biochémie a biotechnológie, FBP SPU v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, e-mail: andrej.trebichalský@afnet.uniag.sk

Mgr. Želmíra Balážová, PhD., Katedra biochémie a biotechnológie FBP SPU v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, tel.: +421 376414327, e-mail: Zelmira.Balazova@uniag.sk

Ing. Petr Martinek, CSc., Agrotest fyto, s.r.o., Havlíčkova 2787, 767 01 Kroměříž, Česká republika, tel.: +420 573317158, e-mail: martinek.petr@vukrom.cz

Section – Animal Biology

USING OF DNA FROM DIFFERENT TISSUES OF RAPTORS (*FALCONIFORMES*) FOR STUDYING GENETIC DIVERSITY AND POPULATION STRUCTURE

Bryndova M., Kourkova L., Urban T.

Department of Morphology, Physiology and Animal Genetics, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xbryndov@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The main aim of this study was to choose the most suitable tissues for isolation DNA, which could be used for the next analysis. The other aim was to test microsatellite markers and estimate genetic structure in the population of the peregrine falcon (*Falco peregrinus*) and the saker falcon (*Falco cherrug*). We used the dataset of 21 individuals, which was divided into two populations according to their species. The sample sizes were 14 individuals of the peregrine falcon and 7 individuals of the saker falcons living in the Czech Republic. DNA was extracted from different tissues (feathers, buccal swabs, skin, skin from the foot pads and claws) by JETQUICK® tissue DNA spin kit. Comparing all tissues in the electrophoresis gel feathers were the most useful for the next analysis. Detection of alleles of 5 microsatellites (NVH fp89, NVH fp13, NVH fp31, NVH fp92-1, NVH fp79-4) was based on the multiplex PCR reaction and the fragmentation analysis. We evaluated the standard statistical values (number of alleles, allele frequencies, polymorphism information content, theoretical heterozygosity, observed heterozygosity and F statistics). Our research will be continued with optimizing methods for 10 microsatellites panel and isolation DNA from museum specimens, which provides the study of genetic variability and diversity birds of prey throughout the time.

Key words: raptors, microsatellites, isolation DNA, population structure, genetic variability

Acknowledgments: This study was supported by IGA AF MZLU Brno, Czech Republic (project No. DP 4/2009).

ÚVOD

Analýza DNA patří mezi nepoužívanější metody pro studium genetické diverzity a struktury populací. Stala se důležitým nástrojem pro fylogenetické studie, studium ekologie a konzervační genetiky dravců. Důležitým aspektem je co nejméně invazivní získání vzorků z biologického materiálu. Nejběžněji používanou tkání je krev, jejíž získání je u volně žijících dravců značně obtížné. Z tohoto důvodu byly hledány další vhodné tkáně, které by mohly být využity k izolaci DNA. Jedná se především o peří, stěry z bukálních sliznic, šupinky ze stojáků, drápy, kousky epiteliální tkáně a zbytky skořápek vajec.

Izolovaná DNA může být dále použita pro další analýzy. V našem případě pro studium genetické diverzity pomocí mikrosatelitních markerů. Mikrosatelity poskytují informace použitelné pro ověřování rodičovství nebo mezipopulační charakteristiky. Díky nejrůznějším statistickým programům můžeme stanovit hodnoty jako např. počet alel, frekvence alel, frekvence genotypů, polymorfní informační obsah, teoretická heterozygotnost, pozorovaná heterozygotnost, F statistiky a další.

Hlavním cílem naší studie bylo vybrat nevhodnější tkáň pro izolaci DNA, která by byla využitelná i pro další analýzy, otestovat vhodné mikrosatelitní markery a odhadnout genetickou strukturu populace sokola stěhovavého (*Falco peregrinus*) a araoha velkého (*Falco cherrug*).

MATERIÁL A METODIKA

Referenční skupina vzorků obsahovala celkem 21 jedinců pocházejících z České republiky (z toho 14 sokolů stěhovavých a 7 araohů velkých).

DNA byla extrahována z peří, epiteliální tkáně na stojácích, bukálních stěrů a drápů za použití izolačního kitu Jetquick® tissue DNA spin kit (Genomed, Germany) dle doporučených instrukcí. Pera byla získána vytržením (jednalo se o krycí pera z oblasti pod křídlem a hrudní oblasti) nebo vypelicháním (použita byla pera krycí, letková a rýdovací). Pro izolaci byl použit bazální konec brka společně s krevní sraženinou superior umbilicus nacházející se těsně pod praporovou částí (Horvath *et al.*, 2005). Epiteliální tkáň byla použita z jednotlivých kožních štítků a polštářků ze spodní strany stojáků u muzejních preparátů, z muzejních preparátů byl odebrán i kousek drápu. Pro bukání stěr byl využit vatový tampon a stěr byl proveden z vnitřní strany dutiny zobáku. Vizualizace byla provedena pomocí elektroforézy na 1,5 % agarózovém gelu.

Pro PCR reakci bylo použito 5 párů primerů (značený primer A) pro 5 mikrosatelitů NVHfp89, NVHfp13, NVHfp31, NVHfp79-4, NVHfp92-1 (Nesje *et al.*, 2000). PCR amplifikace proběhla v celkovém objemu 6,25 µl. Složení multiplexní PCR je možné vidět v Tab. 1. Podmínky cyklování (GeneAmp PCR System 9700 cycler) byly 10 min při 95 °C; následovalo 30 cyklů (95 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 1 min); 60 min při 72 °C; 4 °C ∞.

Dále byla provedena fragmentační analýza s vizualizací detekovaných mikrosatelitů pomocí ABI PRISM™ 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA USA). 0,6 µl PCR

produktu bylo smícháno s 0,5 µl GeneScan - 500 ROX Size Standard a 11,5 µl formamidu. Pro vyhodnocení byl použit software firmy Applied Biosystems GeneScan® 3.7 NT a Genotyper® 3.7 NT.

Pro odhad statických hodnot jsme použili program GENEPOP ver. 1.2 (Raymond *et al.*, 1995) a MICROSATELLITE TOOLKIT ver. 3.1.1 (Park, 2001). Stanovili jsme počet alel, alelové frekvence, genotypové frekvence, polymorfní informační obsah (Botstein *et al.*, 1980), teoretickou a pozorovanou heterozygotnost (Hedrick, 1983), F statistiky (Weir *et al.*, 1984) (Robertson *et al.*, 1984).

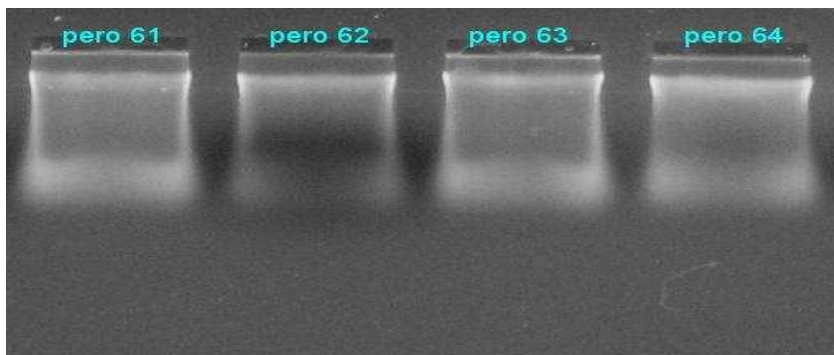
Tab. 1 Složení PCR master mixu

Reagenty	Množství v reakci (µl)	Konečná koncentrace
Deionizovaná voda	2,64	
10×PCR Pufr I:	0,75	1,2×1,8 mM
DMSO	0,19	3%
NVH fp89 (10/10)	0,25/0,25	400 nM
NVH fp13 (10/10)	0,13/0,13	200 nM
NVH fp31 (10/10)	0,13/0,13	200 nM
NVH fp92-1 (10/10)	0,19/0,19	300 nM
NVH fp79-4 (10/10)	0,19/0,19	300 nM
10mM DTP mix	0,21	336 µM
5U/µl Taq Gold	0,18	0,9 U
DNA	0,5	10-100 ng/µl

VÝSLEDKY A DISKUZE

Při vizualizaci izolované DNA na agarózovém gelu jsme mohli sledovat její kvalitu. Nejlepší kvalita byla pozorována u DNA získané z peří, především u čerstvě vytržených krycích per viz Obr. 1. U vypelichaných per (letkových a rýdovacích) byla kvalita sice nižší, ale dostačující pro další analýzu (PCR reakce a fragmentační analýza) (Horvath *et al.*, 2005). Dokonce i jedno vypelichané pero staré několik let postačilo ke stanovení mikrosatelitů (Obr. 2). Další tkáně, kterou jsme testovali podle studie Mundy *et al.* (1997), byly kousky epitelální tkáně ze stojáků, která se ukázala jako další možná alternativa pro izolaci DNA z muzejních vzorků (Obr. 3) Pro zvýšení efektu jsme použili dvě vytržená pera. Preparáty poskytují i další zdroje DNA, my jsme vyzkoušeli i drápy (Allouche *et al.*, 2008), které ale neposkytly očekávané výsledky. Hlavním důvodem pravděpodobně byla malá velikost odebraného vzorku, nedostatečná homogenizace a značné stáří preparátů. Handel *et al.* (2006) testují bukalní stěry ze zobáku především u malých pěvců a úspěšně je využívají pro mikrosatelitní analýzu a sekvenování mitochondriální DNA. Nám se nepodařilo DNA z bukalního stěru úspěšně izolovat, což mohlo být způsobeno špatným způsobem odběru, velkou mírou znečištění např. potravou a nesprávným výběrem izolačního kitu (Obr. 3).

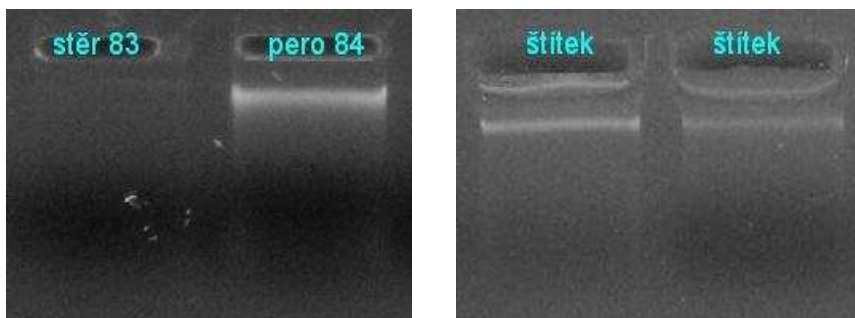
Obr. 1 Vizualizace izolované DNA z peří na gelu, vzorky 61, 62, 63, 64



Obr. 2 Porovnání koncentrace vyizolované DNA z kousku epitelální tkáně s krví a jedním vypelichaným



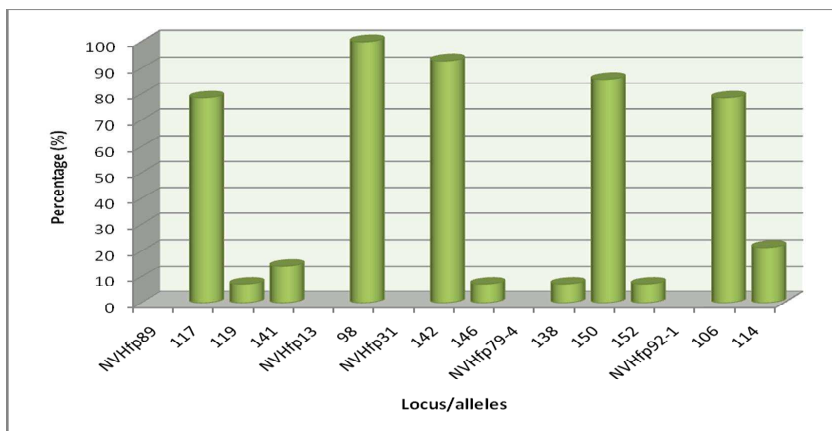
Obr. 3 Porovnání koncentrace vyizolované DNA mezi vzorkem 83 (stěr z bukání sliznice), 84 (pero) a DNA ze štítků na stojácích



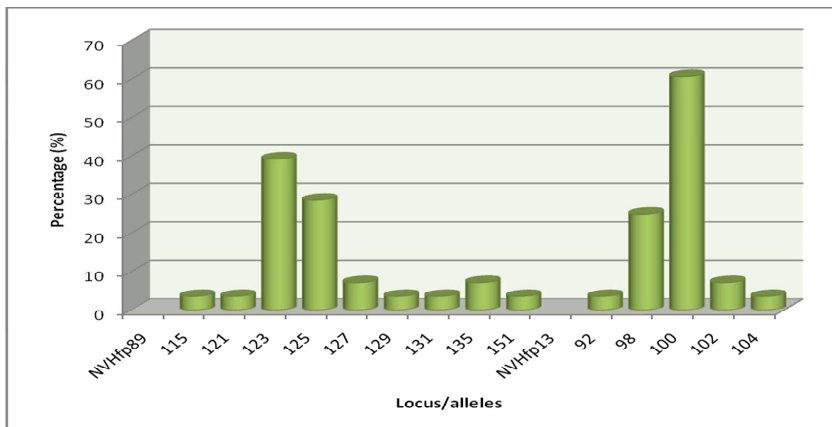
V porovnání s Nesje *et al.* (2000a, 2000b) a Nittinger *et al.* (2007) jsem z celkových 38 různých alel detekovali 9 unikátních, které budou pravděpodobně typické pro populace sokola stěhovavého a raroha velkého žijících v České republice. Pro sokola stěhovavého to byla alela 92 na lokusu NVH fp13 a alely 115 a 151 na lokusu NVH fp89, pro raroha velkého alely 142 a 146 na lokusu NVH fp31, alela 138 na lokusu NVH fp79-4 a alely 117, 119, 141 na lokusu NVH fp89.

Alelové frekvence u populace sokola stěhovavého se pohybovaly od 0,0357 do 0,6786. Nejvíce frekventovaná byla alela 116 (NVHfp92-1), naopak nejméně alely 115, 121, 129, 131, 151 (NVHfp89), 92, 104 (NVHfp13), 146, 156, 158, 164 (NVHfp79-4) (Graf 2, 3). U raroha velkého byly frekvence ovlivněny počtem jedinců, proto se zde objevil i jeden monomorfní lokus (alela 98 lokus NVHfp13). Nejmenší frekvenci (0,0714) vykazovaly alely 119 (lokus NVHfp89), 146 (lokus NVHfp31) a 138, 152 (lokus NVHfp79-4) (Graf 1).

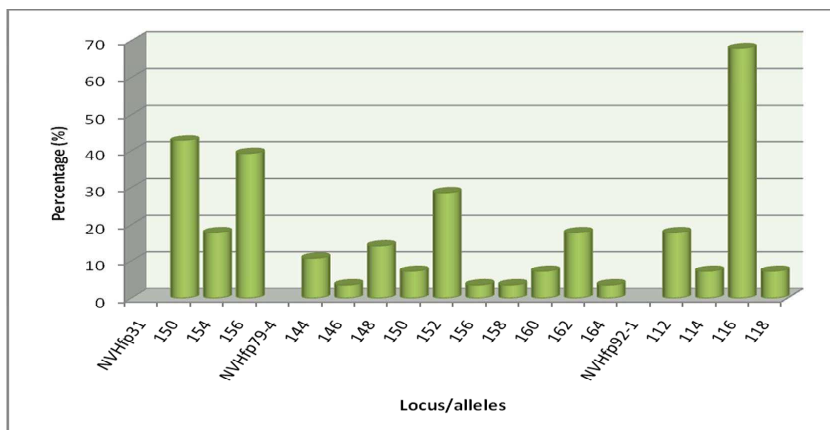
Graf 1 Grafické znázornění alelových frekvencí pro všechny mikrosatelity u raroha velkého



Graf 2 Grafické znázornění alelových frekvencí pro všechny mikrosatelity u sokola stěhovavého



Graf 3 Grafické znázornění alelových frekvencí pro všechny mikrosatelity u raroha velkého



Obě populace sokola stěhovavého i raroha velkého byly v Hardy-Weinbergerově rovnováze ($P = 0,2804, 0,5211$, hodnoty se pohybovaly od $0,0751$ do $1,0$ a od $0,0617$ do $0,7070$).

Pozorovaná heterozygotnost byla spočítána od hodnoty $0,14$ (NVH fp31, NVH fp79-4, raroh velký) po hodnotu $0,86$ (NVH fp79-4, sokol stěhovavý), očekávaná heterozygotnost byla od $0,14$ do $0,87$ pro stejné lokusy a druhy jako v předchozím případě. Nejvyšší polymorfní informační obsah byl kvantifikován pro sokola stěhovavého v lokusu NVH fp79-4 ($0,82$), nejnižší PIC pro raroha velkého v lokusu NVH fp31 ($0,12$).

Celkové F statistiky jsou popsány v tabulce 2. Průměrné ukazatele pro všechny lokusy a pro obě populace byly $F_{IS} = 0,114$, $F_{ST} = 0,463$, $F_{IT} = 0,524$. Průměrná hodnota F_{IS} vyjadřuje optimální počet heterozygotů pro populaci sokola stěhovavého a raroha velkého. Nejnižší hodnoty vykazuje lokus NVHfp89 ($F_{IS} = 0,047$, $F_{ST} = 0,388$, $F_{IT} = 0,417$). Naopak nejvyšší hodnoty byly spočítány pro lokus NVHfp92-1 ($F_{IS} = 0,190$, $F_{ST} = 0,533$, $F_{IT} = 0,622$).

Tab. 2 Celkové F statistiky pro všechny mikrosatelity a populace sokola stěhovavého a raroha velkého

Lokus	F_{IS}	F_{ST}	F_{IT}
NVHfp89	0,047	0,388	0,417
NVHfp13	0,158	0,529	0,604
NVHfp31	0,126	0,546	0,603
NVHfp79-4	0,089	0,328	0,388
NVHfp92-1	0,190	0,533	0,622
	0,114	0,463	0,524

ZÁVĚR

Jako nejlépe využitelnou tkáň pro získání kvalitní DNA jsme vybrali peří, pro odběr z muzejních preparátů se jeví jako nejlepší šupinky nebo jakýkoliv kousek epiteliální tkáně ze stojáku případně v kombinaci s peřím. Testování mikrosatelitů pomocí fragmentační analýzy ukázalo

spolehlivost těchto genetických markerů pro populaci sokola stěhovavého a rarocha velkého žijících v České republice. Vzhledem k nízkému počtu jedinců mají výsledky související s genetickou diverzitou menší vypovídací hodnotu, proto i nadále pracujeme na rozšíření naší DNA banky. Testujeme nový panel 10ti mikrosatelitů, který bude použit pro zpřesnění výsledků a může sloužit i k ověřování rodičovství u dravců.

LITERATURA

ALLOUCHE, M., HAMDOUN, M., MANGIN, P., CASTELLA, V. (2008). Genetic identification of decomposed cadavers using nails as DNA source. *Forensic Science International: Genetics* 3: 46–49.

BOTSTEIN, D., WHITE, R. L., SKOLNICK, M., DAVIS, R.W. (1980). Construction of a genetic linkage map using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet* 32 : 314-331

HANDEL, C., M., PAJOT, L., M., TALBOT, S., L., SAGE, G., K. (2006). Use of buccal swabs for sampling DNA from nestling and adult birds. *Wildlife society bulletin* 34(4): 1094–1100.

HEDRICK, P.W. (1983) *Genetics of Populations*, Science Books International, Boston

HORVATH, M. B., MARTINEZ-CRUZ, B., NEGRO, J. J., KALMAR, L., GODOY, J. A. (2005). An overlooked DNA source for non-invasive genetic analysis in birds. *Journal of avian biology* 36: 84 - 88.

MUNDY, N.I., UNITT, P., WOODRUFF, D. S. Skin From Feet of Museum Specimens as a Non-destructive Source of DNA for Avian Genotyping. (1997). *The Auk* 114(1):126-129.

NESJE, M., RØED, K. H., BELL, D. A., LINDBERG, P. & LIFJELD, J. T. (2000a). Microsatellite analysis of population structure and genetic variability in peregrine falcons (*Falco peregrinus*). *Animal Conservation* 3: 267–275

NESJE, M., RØED, K. H., LIFJELD, J. T., LINDBERG, P. & STEEN, O. F. (2000b). Genetic relationships in the peregrine falcon (*Falco peregrinus*) analysed by microsatellite DNA markers. *Mol. Ecol.* 9: 53–60.

NITTINGER, F., GAMAUF, A., PINSKER, W., WINK, M., HARING, E. Phylogeography and population structure of the saker falcon (*Falco cherrug*) and the influence of hybridization: mitochondrial and microsatellite data. (2007). *Molecular Ecology* 16, 1497–1517

The Excel Microsatellite Toolkit:

PARK, S. D. E. (2001). Trypanotolerance in West African Cattle and the Population Genetic Effects of Selection [Ph.D. thesis (in prep.)], University of Dublin

RAYMOND, M., ROUSSET, F. (1995). GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity* 86: 248–249.

ROBERTSON, A., HILL, W. G. (1984). Deviations from Hardy–Weinberg proportions: sampling variances and use in estimation of inbreeding coefficients. *Genetics*, 107: 703–718.

RUDNICK, J. A., KATZNER, T. E., BRAGIN, E. A. & DEWOODY, J. A. (2007). Species identification of birds through genetic analysis of naturally shed feathers. *Mol. Ecol.* 7: 757–762

WEIR, B. S., COCKERHAM, C. C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, vol. 38, no. 6, p. 1358-1370.

INBRED HORSE - A SOCIAL LOSER? EFFECT OF INBREEDING ON SOCIAL BEHAVIOUR AND SOCIAL SUCCESS IN AN INBRED POPULATION OF DOMESTIC HORSES

Dubcová J.^{1,2}, Bartošová J.³, Kašpar M., Tykalová R.⁴, Komárková M.^{3,4}

¹Department of Zoology, Faculty of Science, University of South Bohemia, Branisovska 31, Ceske Budejovice, Czech Republic

²The National Stud in Kladruby nad Labem, 533 14, Kladruby nad Labem, Czech Republic

³Institute of Animal Science, Prague-Uhrineves, Czech Republic

⁴Faculty of Science, Charles University in Prague, Vinicna 7, Praha 2, Czech Republic

E-mail: JancaD@seznam.cz

ABSTRACT

We studied influence of inbreeding on social behaviour and social success of horses of limited population (about 1000 pedigrees) of a breed of Oldkladruby horse characterized by high level of inbred mating. Inbreeding generally has a negative impact on many various characteristics; therefore an influence also on behaviour could be expected. We hypothesized, that horses with higher level of inbreeding (1) should achieve lower dominance rank; (2) should initiate and participate in less both, agonistic and non-agonistic interactions; and (3) should stay at a greater distance from the herd compared to lower inbred horses. Seventy-one mares and their 113 foals (62 fillies, 51 colts) born within three seasons in National stud Kladruby nad Labem were observed in two periods; before and after abrupt weaning (at age of approx. 6 months). Following characteristics of social behaviour were examined: dominance status of the mare, distance of the mare/foal from the herd and foal's distance from its mother (before weaning) and distance of the foal from the herd, its dominance status and interactions with other weanlings (after weaning). Inbreeding levels in horses were calculated according to Wright (1922, Am. Nat. 56: 330-338) (10 generations of ancestors, range 1.22-18.71). Dominance rank of horses was assessed in two ways, according to Clutton-Brock et al. (1982, Nature 350: 178-180) and using dyadic relationships between group members. Horse's distance from the herd was scanned each 15 minutes (2x12 hours in each period). Social interactions among weanlings were recorded continuously (2x2 hours of focal observation for each foal). Level of inbreeding affected none of the tested variables except of a tendency of more inbred foals to stay at greater distance from the herd after weaning ($\chi^2(1)=3,29$, $p<0,07$, logistic regression, PROC GENMOD, SAS). Conclusion: High level of inbreeding in a foal caused neither its fundamental problems in social integration nor altered social behaviour towards other horses.

Key words: horse; *Equus caballus*; inbreeding; social behaviour, dominance status

GENOTYPING OF *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* FROM PATIENTS WITH SUSPECT INFECTION CDAD (*CLOSTRIDIUM DIFFICILE* ASSOCIATED DISEASE)

Ďudáková E.¹, Gálová Z.¹, Melter O.²

¹Department of Biochemistry and Biotechnology, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture, A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

²Department of Medical Microbiology, 2nd Faculty of Medicine, Charles University in Prague, V Úvalu 84, 150 06 Praha 5, Czech Republic

E-mail: lubica.dudakova@centrum.sk

ABSTRACT

Clostridium difficile is a gram-positive anaerobic, spore-forming rod. During its vegetative growth it produces toxins, which can cause infection commonly manifested as mild-to-moderate diarrhoea. These diseases often start as nosocomial infections connected with antibiotic therapy, which is the key factor that alters the colonic flora and supports colonisation by *Clostridium difficile*. The phenomenon of nosocomial infections by *Clostridium difficile* has been described in horses, as well in humans. Firstly, the toxin production in faecal samples was tested by EIA method. Further, the DNA was isolated using CHELEX by Rupnik (<http://www.mf.uni-mb.si/mikro/tox/>) and then the presence of *ctdB* gene was monitored to confirm the production of binary toxin. Subsequently, the typization of toxins based on RFLP method (*restriction fragment length polymorphisms*) was used. The Rupnik's protocol (<http://www.mf.uni-mb.si/mikro/tox/>) was used for evaluation of polymorphism of the restriction fragments as well. Then, the ribotypes of analysed strains were set by comparison of the obtained profiles and collection strains, and by the Bidet's ribotypisation method (Bidet, 1999)

Thirty-five samples of DNA were tested for the presence of binary toxin. Binary toxin was detected in 9 strains (25.7%), remaining 26 (74.3%) of the samples showed negative result in this testing. From the 35 tested samples 3 strains (8.6%) belonged to the toxinotype I, 4 strains (11.4%) to the toxinotype II, 11 strains (31.4%) to the toxinotype VIII, 5 strains (14.3%) to the toxinotype X, and 4 strains (11.4%) to the toxinotype XI. Only in 1 strain (2.9%) the toxinotype XIV was detected and 1 strain (2.9%) showed the presence of the toxinotype XII. The presence of the toxinotype III was not confirmed. This method was not successful in typisation of 6 strains (17.1%). By ribotypisation the occurrence of ribotypes was confirmed as follows: 033 – 1 strain (2.9%), 036 – 5 strains (14.3%), 047 – 11 strains (31.4%), 070 – 1 strain (2.9%), 102 – 3 strains (8.6%), 103 – 4 strains (11.4%) and 111 – 1 strain (2.9%). Hypervirulent ribotypes 027 and 078 were not detected.

Key words: *Clostridium difficile*, nosocomial infection, toxins, ribotypization, toxinotypization

ÚVOD

Bakteriálny kmeň *Clostridium difficile* bol po prvýkrát izolovaný Hallom a O'Toolom v roku 1935 zo stolice 40 % vyšetovaných novorodencov a o 2 roky neskôr bol nájdený Snyderom v stolici 15 % detí do jedného roku veku. Vtedy bolo pokladané za nepatogénnu zložku bežnej črevnej mikroflóry a bolo pomenované ako *Bacillus difficilis*. Počas ďalších 40 rokov sa nepravidelne vyskytovali správy o jeho izoláciách a o tom, že táto baktéria môže spôsobovať ochorenia tráviacej sústavy. Od roku 1970 však začína pribúdať správ o prípadoch pseudomembranóznych kolitíd vzniknutých v súvislosti s antibiotickou terapiou. V roku 1971 dokázali Georges a Symonds, že v stolici osôb, u ktorých sa po aplikácii antibiotík vyvinula pseudomembranózna enterokolitída, je prítomný toxín neutralizovateľný sérom proti *Clostridium sordellii*. V roku 1978 Bartlett a i. a George a i. izolovali pri tomto ochorení *C. difficile* a zistili, že produkuje toxín neutralizovateľný sérom proti toxínu *C. sordellii*. V ďalšom roku tento toxín uvedení autori purifikovali a stanovili jeho základné vlastnosti (Závadová, 1986).

Od tejto doby sa poznatky o *Clostridium difficile* značne rozšírili, o čom svedčí v súčasnosti jeho dobrá diagnostikácia (Voth, Ballard, 2005). *C. difficile* patrí medzi stredne striktné anaeróbne klostrídiá. Vďaka modernej kultivačnej technike a používaniu selektívnych kultivačných médií na jeho izoláciu zo stolice, v ktorých je cefoxitín a cykloserín inhibítorom sprievodnej flóry, sa kultivuje s menšími problémami v porovnaní s minulosťou. Kolónie sú okrúhle, pretože tyčinky sú málo pohyblivé, priemer kolónií je až 5 mm. Je vysoko citlivý na vankomycín, ale na rozdiel od ostatných klostridií je rezistentný na cefoxitín a väčšina kmeňov tiež na klindamycín (Bednář, 1996).

Hlavnými nežiaducimi faktormi pôsobenia *C. difficile* v organizme sú toxíny a to konkrétne toxín A, toxín B, binárny toxín a tzv. „motility-altering factor“ stimulujúci sťahy hladkej svaloviny čreva, ktoré poškodzujú sliznicu čreva. Uvedené toxíny spôsobujú vyplavenie prozápalových slizničných cytokínov, ktoré v sliznici hrubého čreva vedú k vzniku ložísk s intenzívnou exsudáciou. Tieto ložiská sa striedajú s ostrovčekmi intaktnej sliznice. Makroskopicky vyzerajú ložiská postihnutej sliznice ako šedo žlté pseudomembrány, čo je dané prítomnosťou plakov zložených zo zápalových buniek a bunkového detritu z poškodených krypt (Joyce, 2003).

Toxíny A a B sú produkované počas vegetatívneho rastu. Ich tvorba nie je na rozdiel od botulotoxínov a tetanotoxínu spojená so sporuláciou buniek. Iba jedna bunka *Clostridium difficile* zo sto produkuje oba druhy toxínov (Sylvers, 1994). Bunky črevnej sliznice sú zničené len vtedy, ak sú prítomné zároveň obidva druhy toxínov. Toxín A zničí povrchové štruktúry buniek črevnej sliznice a zároveň potlačí prípadný preventívny účinok PMN (polymorfonukleárne bunky), čím umožní molekulám toxínu B úspešne zaútočiť na bunky črevného epitelu. Toxín B zabíja bunky črevného epitelu len vtedy, ak sú porušené jej povrchové štruktúry a bunky sú postihnuté disfunkciou transportu vody. Na črevnej sliznici vznikajú rozsiahle ulcerácie - nekrotické útvary, pseudomembrány – konglomeráty zničených buniek črevného epitelu, uhynutých PMN, fibrínu a mucínu v tvare laločnate zdurených, žlto zafarbených krúst, ktoré je možné pomerne ľahko endoskopicky detekovať (Voth, Ballard, 2005).

Gény toxínov A (*tcdA*) a B (*tcdB*) sú časťou tzv. lokusu patogenity (*pathogenity locus* -

PaLoc), ktorý je veľký 19,6 kb. Pri netoxinogénnych kmeňoch je PaLoc nahradený úsekom dlhým 115 báz (Rupnik, 1998). Okrem *tcdA* a *tcdB* sa na PaLoc nachádzajú tri doplnujúce otvorené čítacie rámce (ORF – *open reading frames*) a to *tcdD*, *tcdE* a *tcdC*, a ORF pre inzerčné sekvencie (*cdv-2*, *cdv-2'*, *cdd-2*, *cdd-3* a *cdd-4*). Sekvenčné a transkripčné analýzy dokázali, že TcdD (produkt génu *tcdD*) a TcdC (produkt génu *tcdC*) plnia úlohu pozitívnych a negatívnych regulátorov expresie *tcdA* a *tcdB* (Spigaglia, Mastrantonio, 2002).

Gény *tcdB* a *tcdA* majú podobnú veľkosť (7 a 8 kb) a obidva obsahujú repetitívne sekvencie na 3 konci (Rupnik et al, 1998). Eichel-Streiber et al. (1992) dokázali vysoký stupeň homológie medzi týmito dvomi génmi. Obidva štrukturálne gény majú tri domény korešpondujúce s tromi funkčnými doménami toxínov. C-terminálna opakujúca sa oblasť slúži ako receptor pre väzobné oblasti, centrálna časť je potrebná pre translokáciu a N-terminálna doména má katalytickú funkciu (Eichel-Streiber et al., 1996).

Ako prídavný toxín k toxínom TcdA a TcdB, ktoré patria do skupiny veľkých klostridiálnych toxínov (LCT – *large clostridial toxins*), produkujú kmene *C. difficile* tiež tretí toxín, označovaný ako „binárny toxín“ – *cdt*, ktorý patrí do skupiny klostridiálnych binárnych toxínov (Perelle et al., 1997). Bolo dokázané, že len kmene, ktoré majú zmeny v génoch toxínov *tcdA* a *tcdB* v porovnaní s referenčným kmeňom VPI 10463 (variantné kmene) produkujú binárny toxín (Stubbs, et al., 2000). Bol popísaný len jediný kmeň podobajúci sa na kmeň VPI 10463 pozitívny na produkciu binárneho toxínu (Spigaglia, Mastrantonio, 2002).

Binárny toxín produkuje len asi 8 % kmeňov. Väčšina kmeňov má gény pre toxíny veľmi podobné referenčnému kmeňu VPI 10463 a binárny toxín neprodukuje. Toxinotyp VIII, zahŕňajúci izoláty A-B+, je jediným kmeňom spomedzi variantných kmeňov, ktorý neprodukuje binárny toxín. Binárny toxín môže byť produkovaný kmeňmi, ktoré nemajú gény *tcdA* a *tcdB* (toxinotyp XI), preto je detekcia binárneho toxínu v niektorých prípadoch netoxinogénnych kmeňov u symptomatických pacientov vysvetlením virulencie týchto kmeňov.

Cieľom našej práce bolo sledovať výskyt hypervirulentných kmeňov *Clostridium difficile* v nemocničnom prostredí ČR pomocou moderných metód molekulárnej biológie, pričom sa aplikovali tri metódy a to toxinotypizácia, detekcia binárneho toxínu a ribotypizácia.

MATERIÁL A METODIKA

V rámci epidemiologických a fylogenetických štúdií je mnohokrát nedostačujúca detekcia bakteriálneho druhu, ale je dôležité odlišiť jednotlivé kmene. Na tento účel boli vyvinuté rôzne genotypové metódy. Genotypové metódy môžeme rozlíšiť na priame a nepriame. Priame metódy zahŕňajú sekvenovanie a jeho modifikácie, naproti tomu nepriame metódy nevyžadujú stanovenie DNA sekvencie. Ich podstatou je sledovanie polymorfizmu určitého genotypového znaku (markeru). Ako marker sa možno použiť gén, negénovú oblasť (intergenic region), mobilný element alebo reštrikčné miesto. Výsledkom je fingerprint charakterizujúci daný kmeň (Štěpán, 2004).

Pri genotypizácii *C. difficile* sme z narastenej kultúry izolovali DNA použitím CHELEX-u podľa Rupnik (<http://www.mf.uni-mb.si/mikro/tox/>). Následne sme detekovali prítomnosť génu *ctdB*, ktorým sme potvrdzovali produkciu binárneho toxínu. Používali sme Taq-Purple DNA

polymerázu PCR Master Mix (2x) od „Top-Bio s.r.o.“. Pre amplifikáciu úseku sme používali primery s označením cdtBpos a cdtBrev. Nukleotidová sekvencia primeru cdtBpos je 5'-CTTAATGCAAGTAAATACTGAG-3' a sekvencia primeru cdtBrev je 5'-AACGGATCTCTTGCTTCAGTC-3'. Používali sme nasledovný program pre PCR: počiatočná denaturácia – 94 °C, 3 min, následne 35 cyklov programom 94 °C počas 15 s, 55 °C počas 30 s, 72 °C počas 60 s a záverečný proces pri 72 °C počas 7 min. Hľadaný fragment mal dĺžku 510 bp.

Na určenie toxintypu sme využívali toxintypizáciu založenú na metóde RFLP podľa Rupnik et al (1997). Na odlišovanie kmeňov sme použili rozdiely v lokalizácii reštrikčných miest na amplicóne. Jednotlivé štiepne vzory boli zaradené do toxintypov.

Na prípravu PCR produktov sme používali Taq-Purple DNA polymerázu PCR Master Mix (2x) od „Top-Bio s.r.o.“. Pre amplifikáciu úseku A3 sme používali primery s označením A3C a A4N. Nukleotidová sekvencia primeru A3C je 5'-TATTGATAGCACCTGATTTATATACAAG-3' a primeru A4N 5'-TTATCAAACATATATTTAGCCATATATC-3'. Pre amplifikáciu úseku B1 sme používali primery s označením B1C a B2N. Poradie nukleotidov primeru B1C je 5'-AGAAAATTTTATGAGTTTAGTTAATAGAAA-3' a sekvencia primeru B2N je 5'-CAGATAATGTAGGAAGTAAGTCTATAG-3'. Používali sme nasledovný program pre PCR: počiatočná denaturácia – 94 °C, 4 min, následne 35 cyklov programom 94 °C počas 45 s, 55 °C počas 45 s, 72 °C počas 3 s a záverečný proces pri 72 °C počas 5 min. Po vizualizácii v agarózovom géli a overení, že vzniká len jeden fragment, sme následne amplicóny štiepili použitím enzýmov *EcoRI* (fragment A3), *AccI* a *HincII* (fragment B1).

Tab.1. Typy RFLP vzorov B1-PCR a A3-PCR fragmentov a zodpovedajúci toxintyp a ribotyp

Toxintyp	Typ štiepenia B1	Typ štiepenia A3	Produkcia toxínov	Ribotyp
0	1	1	A+B+CDT-	001, 002, 004...
I	1	4	A+B+CDT-	003, 012, 102
II	1	3	A+B+CDT-	103
III	4	2	A+B+CDT+	027, 034, 075, 080
IV	2	2	A+B+CDT+	023, 058, 059, 063
V	3	8	A+B+CDT+	066, 078
V-like	3	8	A-B+CDT+	
VI	3	5	A+B+CDT+	045, 063, 066
VII	3	6	A+B+CDT+	063
VIII	5	7	A-B+CDT-	017, 047
IX	5	2	A+B+CDT+	019
X	5	NEG	A-B+CDT+	036
XIa	NEG	5	A-B-CDT+	033
XIb	NEG	8	A-B-CDT+	033
XII	6	1	A+B+CDT-	056
XIII	1	9	A+B+CDT-	070
XIV	7	2	A+B+CDT+	111
XV	7	2	A+B+CDT+	122

Na ribotypizáciu kmeňov sme využívali protokol Bidet (1999). Na prípravu PCR produktov sme používali Taq-Purple DNA polymerázu PCR Master Mix (2x) od „Top-Bio s.r.o.“

Pre amplifikáciu úseku sme používali primery s označením bidet-16S a bidet-23S. Nukleotidová sekvencia primeru bidet-16S je 5'-GTGCGGCTGGATCACCTCTCT-3' a primeru bidet-23S je 5'-CCCTGCACCCCTTAATAAAGTTGACC-3'. Používali sme nasledovný program pre PCR: počiatočná denaturácia – 94 °C, 5 min, následne 35 cyklov programom 94 °C počas 60 s, 60 °C počas 30 s, 72 °C počas 60 s a záverečný proces pri 72 °C počas 10 min. Vzniknuté elektroforetické profily sme na základe porovnania so zbierkovými kmeňmi zarad'ovali do ribotypov. Na základe prítomnosti prúžkov sme následne vyhodnocovali príbuznosť kmeňov a zostrojili sme dendrogram.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Ochorenia vyvolané kmeňom *Clostridium difficile* sa stali vysoko aktuálne nielen v humánnej, ale aj vo veterinárnej medicíne. Už dlho sú v Nemecku a v Spojených štátoch amerických známe enterokolitídy zriebät a mladých koní sporadicky sa vyskytujúce u jedincov s anamnézou terapeutické aplikácie určitých antibiotík. Okrem toho bol u koní, podobne ako u človeka, popísaný fenomén nozokomiálnych nákaz *C. difficile*. Z veterinárneho hľadiska sú však najzávažnejšie epizodické (epidémie zvierat) novonarodených prasiatok popisované v poslednom období v chovoch prasiat v USA, na rozdiel od situácie v Európe, kde sa doposiaľ v etiológii uplatňovali predovšetkým patogénne izoláty *E. coli* a *Clostridium perfringens* typu A. V posledných piatich rokoch však veľa amerických autorov považuje toxínogénne izoláty *C. difficile* za hlavnú príčinu nezvládnuteľných neonatálnych hnačiek prasiatok vo veľkokapacitných farmách s niekoľkými tisíckami prasníc – matiek (Geric, B. et al., 2004).

Možnému prenosu tohto patogénu zo zvierat na človeka sa venovala malá pozornosť. O'Neill et al. (1993) nedokázali pomocou reštrikčných analýz príbuznosť medzi kmeňmi získanými od zvierat a izolátmi pochádzajúcimi od ľudí, avšak podotýkajú, že môže stále existovať riziko prenosu infekcie *C. difficile* z domestikovaných zvierat na ľudí.

Z kmeňov vyskytujúcich sa u ľudí, sú najnebezpečnejšie ribotypy 027 a 078, ktorých výskyt v nemocničných zariadeniach je vo svete podrobne monitorovaný. Pre nemocničné zariadenia ako aj veľkokapacitné chovy zvierat je tiež potrebné detekovať ich výskyt a sledovať prípadný epidemiologický výskyt daného patogénu. Ako vhodné metódy na detekciu *C. difficile* sa využívajú toxinotypizácia, ribotypizácia a pulzná elektroforéza.

V humánnej ako aj veterinárnej medicíne je veľmi dôležitá rýchla a správna diagnostika ochorenia. Vychádzajúc z uvedeného konštatovania, sme na detekciu hypervirulentných kmeňov v našich pokusoch navrhli čo možno najkratší algoritmus detekcie. Prvým krokom je detekcia binárneho toxínu. Keďže ho produkuje len 8 % kmeňov (okrem iných aj sledované ribotypy 027 a 078), je dobrým selekčným znakom. V prípade pozitívneho výsledku, je druhým krokom ribotypizácia a porovnanie elektroforetického profilu so zbierkovými kmeňmi 027 a 078. V prípade nepreukazných výsledkov, ako aj pre epidemiologické štúdie je možné ďalej aplikovať toxinotypizáciu, ktorá je najobtiažnejšou a časovo najviac náročnou metódou, preto je menej vhodná na rutinnú diagnostiku.

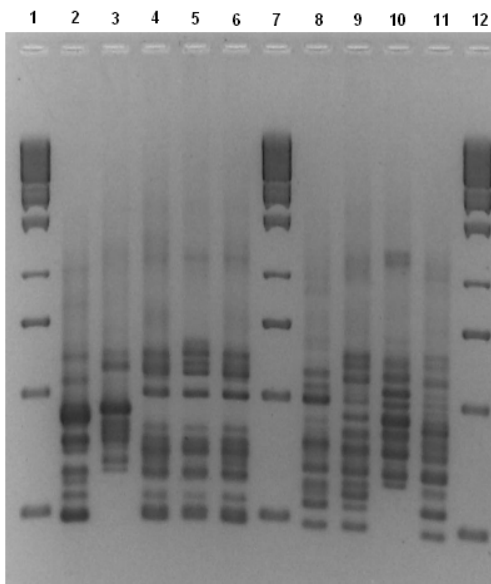
Na detekciu prítomnosti génov pre binárny toxín sme testovali 35 vzoriek DNA. Binárny toxín bol detekovaný pri 9 kmeňoch (25,7 %) a zvyšných 26 (74,3 %) vzoriek malo negatívny výsledok

tohto testovania. Percento nami detekovaných kmeňov pozitívnych na prítomnosť binárneho toxínu je vyššie ako uvádza napríklad Spigaglia a Mastrantonio (2002), ktorí detekovali tento toxín u 13,7 % kmeňov. Geric et al. (2004) tiež uvádzajú nižšie percento výskytu, len u 9 (5,2 %) zo 153 testovaných kmeňov bol potvrdený gén *tcdC* pre binárny toxín.

Pre ďalšie detekovanie kmeňa metódou toxinotypizácie bolo zaradených 35 vzoriek DNA. Do toxinotypu I boli zaradené tri kmene (8,6 %), do toxinotypu II 4 kmene (11,4 %) a do toxinotypu VIII 11 kmeňov (31,4 %). Päť kmeňov (14,3 %) bolo detegovaných ako toxinotyp X a 4 toxinotyp XI (11,4 %). Len po 1 kmeni (2,9 %) sme zaradili do toxinotypov XIV a XIII a nebol detegovaný výskyt toxinotypu III, kam zaraďujeme ribotyp 027. Z našich výsledkov vyplýva, že aplikovanou metódou sme zistili výskyt 7 rôznych toxinotypov.

Rupnik et al. (1998) taktiež potvrdzujú naše výsledky, kedy vo svojich výskumoch zistili taktiež najvyšší výskyt toxinotypu VIII (51,2 %) a detekovali spolu 11 rôznych toxinotypov. Kato et al. (1998) poukazujú na rozšírenie variantných kmeňov s negatívnou produkciou toxínu A, pričom ich štúdia poukazuje na 12 % výskyt, čo predstavuje nárast oproti 3 % výskytu publikovanému skôr Rupnikom et al. (1997). Naším testovaním bolo potvrdené, že 5 kmeňov (14,3 %) neprodukuje toxín A.

Obr.1. Ribotypizácia



Legenda:

- 1, 7, 12 – marker, 1 kb,
- 2 – ribotyp 047,
- 3 – ribotyp 036,
- 4 – ribotyp 070,
- 5 – ribotyp 102,
- 6 – ribotyp 103,
- 8 – ribotyp 033,
- 9 – ribotyp 111,
- 10 – ribotyp 078,
- 11 – ribotyp 027

Ribotypizácia je metóda založená na analýze polymorfizmu v oblasti rRNA operónu. Existuje vysoká variabilita medzi baktériami v pozícii a intenzite rRNA prúžkov, čo sa využíva na ich

klasifikáciu a identifikáciu. Ribotypizácia je teda zvlášť vhodná na účely molekulárnej epidemiológie (Sack et al, 2004). Gurtler (1993) popísal modifikácie v konvenčnej ribotypizácii, ktoré spočívajú vo využití PCR na amplifikáciu oblasti medzi génmi pre 16S a 23S rRNA. Na analýzu medzigénovej oblasti sa amplifikuje zodpovedajúci úsek DNA za pomoci presne definovaných primerov. Táto medzigénová oblasť vykazuje vysoký stupeň heterogenity, na rozdiel od génov pre rRNA, ktoré sú evolučne vysoko konzervované a nemenné. Rovnako bolo dokázané, že v genóme *C. difficile* sa nachádza 10 kópií génov pre rRNA a variabilita v medzigénovej oblasti bola dokázaná nielen medzi odlišnými kmeňmi, ale aj medzi rôznymi kópiami rRNA operónu na tom istom chromozóme (Gurtler, 1993). Z našich výsledkov vyplýva, že ribotypizáciou sa potvrdil výskyt ribotypov 033 – 1 kmeň (2,9 %), 036 - 5 kmeňov (14,3 %), 047 – 11 kmeňov (31,4 %), 070 – 1 kmeň (2,9 %), 102 – 3 kmene (8,6 %), 103 – 4 kmene (11,4 %), 111 – 1 kmeň (2,9 %), pričom nebol potvrdený výskyt hypervirulentných ribotypov 027 a 078. Našou metódou sa nepodarilo typizovať 6 kmeňov (18,1 %), ktoré vykazovali pri amplifikácii negatívne výsledky.

Tab.2. Podrobné výsledky typizácie kmeňov.

Kmeň	A3	Typ reštrikcie A3	B1	Typ reštrikcie B1	Toxinotyp	Binárny toxín	Ribotyp
K 1	+	7	+	5	VIII	-	047
K 2	+	7	+	5	VIII	-	047
K 3	-	-	+	5	X	+	036
K 4	-	-	+	5	X	+	036
K 5	-	-	+	5	X	+	036
K 7	+	9	+	1	XIII	-	070
K 8	+	7	+	5	VIII	-	047
K 9	+	4	+	1	I	-	102
K 10	+	3	+	1	II	-	103
K 11	+	3	+	1	II	-	103
K 12	+	5	-	-	XI	+	033
K 17	+	3	+	1	II	-	103
K 18	+	3	-	1	II	-	103
K 19	+	4	+	1	I	-	102
K 21	+	2	+	7	XIV	-	111
K 30	+	7	+	5	VIII	-	047
K 42	+	7	+	5	VIII	-	047
K 44	+	7	+	5	VIII	-	047
K 67	+	5	-	-	XI	+	033
K 71	+	7	+	5	VIII	-	047
K 72	-	-	+	5	X	+	036
K 73	+	7	+	5	VIII	-	047
K 78	+	5	-	-	XI	+	033
K 80	-	-	+	5	X	+	036
K 83	+	7	+	5	VIII	-	047
K 60	+	7	+	5	VIII	-	047
Příbram	+	5	-	-	XI	+	033
K ČB	+	7	+	5	VIII	-	047
K G	+	4	+	1	I	-	102

Najčastejším ribotypom v Európe je 027, existujú však veľké lokálne rozdiely. V Poľsku napríklad prevláda typ 017, v Maďarsku 014, vo Veľkej Británii bol častý typ 001, avšak v poslednej

dobe vystupuje do popredia typ 002 (Džupová, 2008). Od roku 2003 stúpa podľa Terhes (2009) výskyt ochorení CDAD a taktiež sa zvyšuje výskyt ribotypu 027, ktorý spôsobil epidémiu v Severnej Amerike, Anglicku, Holandsku, Belgicku a Francúzsku. Jeho výskyt bol nedávno potvrdený napríklad i v Rakúsku, Írsku, Nemecku a Švajčiarsku (Kuijper, 2007, Fenner, 2008).

ZÁVER

Cieľom našej práce bolo sledovať výskyt hypervirulentných kmeňov *Clostridium difficile* v nemocničnom prostredí ČR pomocou moderných metód molekulárnej biológie, pričom sa aplikovali tri metódy a to toxinotypizácia, detekcia binárneho toxínu a ribotypizácia.

Na prítomnosť génov pre binárny toxín sme testovali 35 vzoriek DNA, pričom binárny toxín bol detekovaný pri 9 kmeňoch (25,7 %) a zvyšných 26 (74,3 %) vzoriek malo negatívny výsledok tohto testovania. Do toxintypu I boli zaradené tri kmene (8,6 %), do toxintypu II 4 kmene (11,4 %) a do toxintypu VIII 11 kmeňov (31,4 %). Päť kmeňov (14,3 %) bolo detegovaných ako toxintyp X a 4 toxintypu XI (11,4 %). Len po 1 kmeni (2,9 %) sme zaradili do toxintypov XIV a XIII a nebol detegovaný výskyt toxintypu III, kam zaraďujeme ribotyp 027. Pomocou našej metodiky sa nepodarilo otypovať 6 kmeňov (17,1 %). Ribotypizáciou sa potvrdil výskyt ribotypov 033 – 1 kmeň (2,9 %), 036 – 5 kmeňov (14,3 %), 047 – 11 kmeňov (31,4 %), 070 – 1 kmeň (2,9 %), 102 – 3 kmene (8,6 %), 103 – 4 kmene (11,4 %) a 111 – 1 kmeň (2,9 %), pričom nebol potvrdený výskyt hypervirulentných ribotypov 027 a 078.

LITERATÚRA

- Bednář M.; et al. (1999): *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. Praha: Marvil, 1999. 558 s
- Bidet P., Barbut F., Lalande V., Burghoffer B., Petit J., (1999): Development of a new PCR-ribotyping method for *Clostridium difficile* based on ribosomal RNA gene sequencing. *FEMS Microbiology Letters*, Vol 175, p. 261-266, ISSN 0378-1097
- Eichel-Streiber C.; Boquet P., Sauerborn M., Thelestam, (1996): Large clostridial cytotoxins- a family of glycosyltransferases modifying small GTP-binding proteins, In: *Trends in Microbiology*, 1996, Vol. 4, No. 10, s. 375-382, ISSN 0966-842X
- Eichel-Streiber C.; Laufenberg-Feldmann R.; Sartingen S.; Schulze J.; Sauerborn M.; (1992): Comparative sequence analysis of the *Clostridium difficile* toxins A and B, In: *Molecular and general genetics*, 1992, Vol. 233, No. 1-2, s. 260-268, ISSN 0026-8925
- Fenner L, Widmer AF, Stranden A et al. First cluster of clindamycinresistant *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 in Switzerland. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14: 514–515.
- Geric, B. et al (2004): Distribution of *Clostridium difficile* variant toxinotypes and strains with binary toxin genes among clinical isolates in an American hospital, In: *Journal of Medical Microbiology*, 2004, 53, p. 887-894

Gurtler V. (1993): Typing of *Clostridium difficile* strains by PCR amplification of variable length 16S-23S rDNA spacer regions. In: Journal of General Microbiology, 1993, Vol. 139, p. 3089–3097, ISSN 0022-1287.

Joyce A. M., Burns D. L., (2003): Rekurentní klostridiová pseudomembranózní kolitida, In : Medicína po promoci, Ročník 4, č. 4/červenec–srpen, 2003, s 15-19.

Kato, H., N. Kato, K. Watanabe, N. Iwai, H. Nakamura, T. Yamamoto, K. Suzuki, S. M. Kim, Y. Chong, and E. B. Wasito. 1998. Identification of toxin A-negative, toxin B-positive *Clostridium difficile* by PCR. J. Clin. Microbiol. 36:2178–2182.

Kuijper EJ, Coignard B, Brazier J et al. Update of *Clostridium difficile* associated disease due to PCR ribotype 027 in Europe. Euro Surveill 2007; 12: pii=714

O'Neill G, Adams J., Bowman R., Riley T., (1993): A molecular characterization of *Clostridium difficile* isolates from humans, animals and their environments. In: Epidemiology and Infection, Vol. 111: p. 257–264, ISSN 1469-4409.

Perelle S., Gilbert M., Bourlioux P., Corthier G., Popoff R. (1997): Production of a complete binary toxin (actin-specific ADP-ribosyltransferase) by *Clostridium difficile* CD196, In: Infection and Immunity, Vol. 65, No. 4, p. 1402-1407, ISSN 0019-9567

Rupnik M., Braun V., Soehn F., Janc M., Hofstetter M., Laufenberg-Feldman, R., Eichel-Streiber C., (1997): Characterization of polymorphisms in the toxin A and B genes of *Clostridium difficile*. In: FEMS Microbiology Letters, Vol. 148, s. 197-202.

Rupnik M., *Clostridium difficile* Toxinotypes, dostupné na <http://www.mf.uni-mb.si/mikro/tox/>.

Rupnik M., Avesani V., Janc M., Eichel-Streiber C.; Delmée M., (1998): A Novel Toxinotyping Scheme and Correlation of Toxinotypes with Serogroups of *Clostridium difficile* Isolates, In: Journal of Clinical Microbiology, 1998, Vol. 36, No.8, s. 2240-2247, ISSN: 0095-1137

Sack D.A., Sack R.B., Nair G.B., Siddique A.K., (2004). Cholera, In: Lancet, 2004, Vol. 363, Issue 9404, p. 223-233, ISSN 0096-0233.

Saylers, A., Whitt, D., (1994): Bacterial pathogenesis, ASM Press, Washington, D.C, 1994, p. 282-289, ISBN 1-55581-094-2

Spigaglia P., Mastrantonio P., (2002). Molecular analysis of the pathogenicity locus and polymorphism in the putative negative regulator of the toxin production (*TcdC*) among *Clostridium difficile* clinical isolates, In: Journal of Clinical Microbiology, 2002, Vol. 40, No. 9, p. 3470-3475, ISSN 0095-1137

Štěpán J., et al., (2004): Molecular diagnostics of clinically important staphylococci (Review). In: Folia microbiologica, Praha, Mikrobiologický ústav Praha AV ČR. ISSN 0015-5632, 2004, Vol. 49, No. 4, s. 353-386

Voth E. D., Ballard D. J.,(2005): *Clostridium difficile* Toxins: Mechanism of Action and Role in Disease, In: Clinical Microbiology Reviews, 2005, Vol.: 18, No. 2, s. 247-263, ISSN: 0893-8512

Závadová M. (1986): *Anaerobní bakterie a anaerobní infekce*. Praha : Avicenum, 1986.

THE IGF2 AND NAMPT GENE POLYMORPHISMS AND ASSOCIATIONS WITH PERFORMANCE TRAITS IN CZECH LARGE WHITE PIG BREED

Chalupová P., Weisz F., Knoll A., Urban, T.

Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry Brno, Zemedelska 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xchalup1@mendelu.cz

ABSTRACT

Performance traits are crucial for pork production efficiency. Paternally expressed insulin-like growth factor 2 (IGF2) has influence to development and growth. Nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPT/PBEL/visfatin) gene plays an important role in lipid metabolism. The aim of this work was to test chosen polymorphisms in these genes in current Czech Large White pig population and analyze their influence to various performance traits. In total 98 sows were tested by PCR-RFLP for NciI polymorphism in IGF2 gene and for HpaII polymorphism in NAMPT gene. Allele frequencies were 0.82/0.18 (C/G) and 0.51/0.49 (C/T) in IGF2 and NAMPT respectively. CG genotype (IGF2), was associated with higher reproduction parameters breeding value ($P \leq 0.05$), when compared to CC. No significant differences were found between NAMPT genotypes. In analysis of gene association a interaction was CC/CC (NAMPT/IGF2) associated with higher backfat thickness ($P \leq 0.01$) when compared to CT/CC. Genotype CC/CC was associated with lower lean meat content ($P \leq 0.05$) when compared to CT/CC. Genotype TT/CC was associated with higher average daily gain breeding value when compared to CT/CC ($P \leq 0.01$), CT/CG and TT/CG ($P \leq 0.05$). Genotype CC/CG was associated with higher reproduction parameters breeding value when compared to TT/CC ($P \leq 0.01$) and CT/CC ($P \leq 0.05$). Moreover, genotype CT/CG was associated with higher reproduction parameters breeding value when compared to TT/CC ($P \leq 0.05$). Results should be verified in other populations.

Key words: pig, performance traits, *IGF2*, *NAMPT*, polymorphism, association

Acknowledgments: This study was supported by the IGA No. 16/2009

ÚVOD

V dnešních obtížných finančních podmínkách chovu prasat je pro konkurenceschopnost chovu nezbytná vysoká efektivita. Parametry užitkovosti a reprodukce jsou klíčovými faktory efektivní produkce. Včasná a přesná selekce pomocí genetických markerů může pomoci chovatelům obstát v tržním prostředí.

Gen *IGF2* (insulin-like growth factor 2) ovlivňuje růst a vývoj v embryonálním i postnatálním období. Má podíl na regulaci proliferace a diferenciaci myoblastů. *IGF2* vykazuje paternální expresi (Dvořák *et Vrtková*, 2001). Nachází se na p raménku SSC2 (*ArkDB*, 2007).

Inzulínu podobné růstové faktory I a II (insulin like growth factors I/II), rovněž známé jako somatomedin C a somatomedin A, patří do rodiny polypeptidových růstových faktorů. Funkce zahrnuje zprostředkování působení růstového hormonu, stimulaci růstu buněčných kultur, stimulaci působení inzulínu, ovlivňuje vývoj a růst. Patrně jsou autokrinními regulátory proliferace buněk (*Insulin-like growth factor II*, 2009).

Dříve popsáný polymorfismus G3072A v intronu 3 genu *IGF2* je příčinnou mutací pro paternálně exprimovaný QTL na p raménku SSC2 se značným vlivem na růst svalů a výšku hřbetního tuku. Pro tento polymorfismus neexistuje restriktivní endonukleáza. Polymorfismus G162C v intronu 7 genu *IGF2*, který lze detekovat restriktivní endonukleázou *NciI* je s příčinným polymorfismem ve vazbové nerovnováze (Vykoukalová *et al.*, 2006).

NAMPT (nicotinamide phosphoribosyltransferase, visfatin) gen kóduje faktor (enzym) ovlivňující biosyntézu NAD (nicotinamide adenine dinucleotide) u savců. Dále uváděný také jako *PBEL* (pre-B cell colony-enhancing factor 1). (Nowacka-Woszuk *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2007).

Protein je adipokin, který se nachází v krvi a má různé funkce včetně podpory zrání hladkých svalových buněk v cévách a inhibice apoptózy neutrofilů. Také aktivuje inzulínový receptor a má inzulínomimetický efekt, snižuje glykémii a zlepšuje senzitivitu tkání na inzulín. Protein je vysoce exprimován ve viscerálním tuku, sérové hladiny proteinu korelují s obezitou (*GeneCards*, 2009).

U prasat byl gen *NAMPT* zmapován na SSC9q23 (Nowacka-Woszuk *et al.*, 2008).

U člověka byla zjištěna pozitivní korelace hladiny visfatinu v krevní plasmě s hladinou HDL-cholesterolu a negativní korelace s triglyceridy. Data naznačují negativní korelaci mezi hladinou visfatinu, útrobním tukem a inzulínovou rezistencí (Wang *et al.*, 2007).

V intronu 9 genu *NAMPT* byl nalezen polymorfismus T669C, mající vliv na složení jatečného těla a kvalitu masa (Čepica *et al.*, 2008).

Cílem práce je analyzovat vybrané polymorfismy obou genů na aktuálním souboru prasat plemene české bílé ušlechtilé a zhodnotit asociaci s parametry užitkovosti.

MATERIÁL A METODIKA

Bylo testováno 98 prasníc plemene české bílé ušlechtilé. U daného souboru byly stanoveny polymorfizmy: G162C v intronu 7 genu *IGF2* a T669C intronu 9 genu *NAMPT*. DNA byla izolována z periferní krve pomocí JETQUICK® Blood & Cell culture DNA Spin Kit (GENOMED) v souladu s protokolem výrobce.

Stanovení polymorfizmu *NciI* v genu *IGF2* (PCR-RFLP)

Upraveno dle metodiky Vykoukalová *et al.*, (2006).

PCR byla provedena v termálním cykleru GeneAmp PCR System 2400 (Applied Biosystems).

Primery: F: 5´- CACAGCAGGTGCTCCATCGG - 3´

R: 5´- GACAGGCTGTATCCTGTGGG - 3´

Složení reakční směsi

Celkový objem 25 µl

2 µl templátové DNA, 18,8 µl H₂O, 2,5 µl LA PCR buffer complete (Top-Bio), 0,5 µl 10 mM dNTP mixu (Fermentas), 0,5 µl primeru F (10 pmol/µl), 0,5 µl primeru R (10 pmol/µl), 0,2 µl LA DNA polymerázy (5 U/µl) (Top-Bio).

Teplotní profil PCR reakce

Úvodní denaturace 95 °C/2 min

34 cyklů (denaturace 95 °C/20 s, annealing 64 °C/30 s, elongace 68 °C/60 s)

závěrečná elongace 68 °C/7 min.

PCR produkt byl následně štěpen přes noc restrikční endonukleázou *NciI* (*BcnI*) při 37 °C. Fragmenty byly elektroforeticky separovány na 3 % agarózovém gelu (TBE pufr). Vizualizace pomocí ethidium bromidu za použití UV světla.

Stanovení polymorfizmu *HpaII* v genu *NAMPT* (PCR-RFLP)

Dle metodiky Zrůstová *et al.*, (2009).

PCR byla provedena v termálním cykleru GeneAmp PCR System 2400 (Applied Biosystems).

Primery: F: 5´- GGGTCATAACTTGACTTTGGAGAA - 3´

R: 5´- TCTAGAGAACCTGAAGAGAGCAGAA - 3´

Složení reakční směsi

Celkový objem 25 µl

2 µl templátové DNA, 18,8 µl H₂O, 2,5 µl LA PCR buffer complete (Top-Bio), 0,5 µl 10 mM dNTP mixu (Fermentas), 0,5 µl primeru F (10 pmol/µl), 0,5 µl primeru R (10 pmol/µl), 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 54 °C/30 s, elongace 68 °C/50 s)

závěrečná elongace 68 °C/7 min.

PCR produkt byl následně štěpen přes noc restriční endonukleázou *HpaII* (*MspI*) při 37 °C. Fragmenty byly elektroforeticky separovány na 3 % agarózovém gelu (TBE pufr). Vizualizace pomocí ethidium bromidu za použití UV světla.

Statistická analýza

Analýza byla provedena v programu SAS v 9.1.4 pomocí procedury GLM:

$$Y_{ijklm} = \mu + IGF2_i + NAMPT_j + int_k + MxR_nar_l + e_{ijklm}$$

Y_{ijklm} – fenotypová hodnota analyzovaného znaku

μ – průměr populace

$IGF2_i$ – pevný efekt genotypu *IGF2*

$NAMPT_j$ – pevný efekt genotypu *NAMPT*

int_k – efekt interakce obou genu

MxR_nar_l – efekt měsíce a roku narození

e_{ijklm} – náhodná chyba pozorování

VÝSLEDKY A DISKUZE

Stanovení polymorfizmu *NciI* v genu *IGF2*

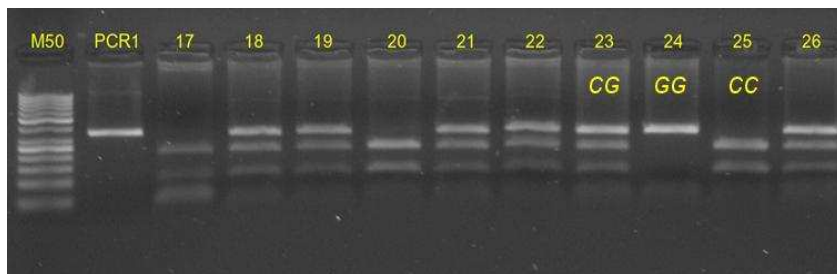
PCR produkt (336 bp) tvoří po štěpení restriční endonukleázou *NciI* dle genotypu fragmenty následujících velikostí:

GG – 308 a 28 bp

CG – 308, 208, 100 a 28 bp

CC – 208, 100 a 28 bp

Obr. 1 Stanovení genotypů – polymorfizmus NciI v genu IGF2.



Stanovení polymorfismu *HpaII* v genu *NAMPT*

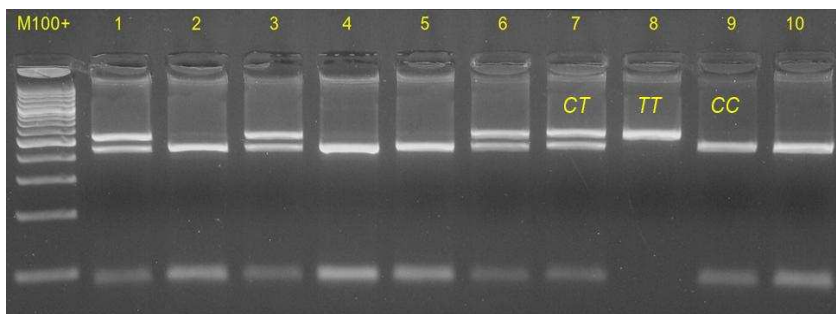
PCR produkt (524 bp) tvoří po štěpení restriční endonukleázou *HpaII* dle genotypu fragmenty následujících velikostí:

TT – 524 bp (neobsahuje štěpné místo)

CT – 524, 432 a 92 bp

CC – 432 a 92 bp

Obr. 2 Stanovení genotypů – polymorfismus *HpaII* v genu *NAMPT*.



Výpočet frekvence genotypů a alel

Tab. 1 Frekvence genotypů.

genotyp	<i>IGF2</i>			<i>NAMPT</i>		
	<i>GG</i>	<i>CG</i>	<i>CC</i>	<i>TT</i>	<i>CT</i>	<i>CC</i>
četnost absolutní	1	34	63	23	50	25
četnost relativní	0,0102	0,3469	0,6429	0,2347	0,5102	0,2551

Tab. 2 Frekvence alel.

alela	<i>IGF2</i>		<i>NAMPT</i>	
	<i>C</i>	<i>G</i>	<i>C</i>	<i>T</i>
četnost absolutní	160	36	100	96
četnost relativní	0,8163	0,1837	0,5102	0,4898

Knoll *et al.*, (2000) udává u plemene české bílé ušlechtilé relativní četnost alely *C* (resp. *B*) 0,83 ($n = 21$) genu *IGF2*. U téhož plemene uvádí Vykoukalová *et al.*, (2006) relativní četnost alely *C* 0,80 ($n = 20$), Verner (2007) zjistil hodnotu 0,86 ($n = 174$).

Relativní četnost 0,51 alely *C* genu *NAMPT* udává i Zrůstová *et al.*, (2009). Hodnoty korespondujís námi analyzovanými údaji (viz tab 1 a 2).

Asociační analýza

Pouze jeden jedinec vykazoval pro polymorfismus *NciI* v genu *IGF2* genotyp *GG*. Z důvodu možného zkreslení dat byl tento vzorek (genotyp) z asociační analýzy vyloučen. Proto bylo do asociační analýzy zahrnuto pouze 97 prasat plemene české bílé ušlechtilé. Bylo by vhodné, vzhledem k nerovnoměrnému rozložení genotypů, zkoumaný soubor rozšířit.

Tab. 3 Asociace polymorfizmu *NciI* v genu *IGF2* ($LSM \pm S_E$).

<i>IGF2</i>	<i>CC</i> (63)	<i>CG</i> (34)	<i>GG</i> (1)
výška hřbetního tuku	0,65 ± 0,02	0,67 ± 0,02	–
% libového masa	63,63 ± 0,18	63,7 ± 0,24	–
Ø přírůstek od narození	611,9 ± 8,9	609,77 ± 11,72	–
Ø přírůstek v testu	1000,86 ± 19,73	973,5 ± 26,11	–
plemenná hodnota přírůstku	26,61 ± 1,88 ^a	20,94 ± 2,49 ^a	–
plemenná hodnota % libov.masa	1,35 ± 0,06	1,25 ± 0,08	–
plemenná hodnota reprod. ukaz.	1,30 ± 0,06*	1,51 ± 0,08*	–
celková plemenná hodnota	1200,43 ± 32,29	1238,81 ± 42,74	–

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.

V polymorfizmu *NciI* v genu *IGF2* (viz tab.3) vykazovali jedinci genotypu *CC* vyšší plemennou hodnotu přírůstku (blížíci se průkaznosti) v porovnání s genotypem *CG*. Genotyp *CG* byl oproti genotypu *CC* asociován s vyšší plemennou hodnotou reprodukčních ukazatelů ($P \leq 0,05$).

Verner (2007) uvádí vysoce průkazný rozdíl ($P \leq 0,01$) mezi genotypy *GG* a *CG* (resp. *AA* a *AB*) ve výšce hřbetního tuku měřeně ke středu druhého hrudního obratle a průkazný rozdíl ($P \leq 0,05$) mezi genotypy *GG* a *CC* (resp. *AA* a *BB*) u výšky hřbetního tuku měřeně ke středu posledního hrudního obratle.

Tab. 4 Asociace polymorfizmu *HpaII* v genu *NAMPT* ($LSM \pm S_E$).

<i>NAMPT</i>	<i>CC</i> (25)	<i>CT</i> (50)	<i>TT</i> (23)
výška hřbetního tuku	0,69 ± 0,02	0,65 ± 0,02	0,63 ± 0,03
% libového masa	63,37 ± 0,26 ^a	63,58 ± 0,17	64,04 ± 0,28 ^a
Ø přírůstek od narození	600,24 ± 12,51	610,29 ± 8,23	621,90 ± 13,51
Ø přírůstek v testu	968,07 ± 27,88	980,84 ± 18,32	1012,63 ± 30,10
plemenná hodnota přírůstku	21,95 ± 2,66	21,83 ± 1,75 ^a	27,54 ± 2,87 ^a
plemenná hodnota % libov.masa	1,27 ± 0,09	1,27 ± 0,06	1,37 ± 0,09
plemenná hodnota reprod. ukaz.	1,52 ± 0,08 ^a	1,43 ± 0,05	1,28 ± 0,09 ^a
celková plemenná hodnota	1255,20 ± 45,63	1202,53 ± 29,99	1201,13 ± 49,26

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.

V polymorfizmu *HpaII* v genu *NAMPT* (viz tab. 4) vykazovali jedinci genotypu *TT* v porovnání s *CC* vyšší procentuální zastoupení libového masa (blížíci se průkaznosti). Zrůstová *et al.*, (2009) však uvádí vyšší % libového masa u jedinců genotypu *CC* oproti *TT* ($P \leq 0,05$) a *CT* (nepřůkazný rozdíl). Genotyp *CT* je asociován s vyšší plemennou hodnotou přírůstku oproti genotypu

TT (blížíci se průkaznosti). Genotyp *CC* je asociován s vyšší plemennou hodnotou reprodukčních ukazatelů oproti genotypu *TT* (blížíci se průkaznosti). Čepica *et al.*, (2008) uvádí asociaci genotypu *TT* s vyšším hřbetním tukem u plemene Large White ($n = 216$, $P \leq 0,05$). V námi zkoumaném souboru nebyla asociace polymorfizmu *HpaII* v genu *NAMPT* s výškou hřbetního tuku zjištěna.

Tab. 5 Asociace a interakce polymorfizmu *HpaII* v genu *NAMPT* a *NciI* v genu *IGF2* ($LSM \pm S_E$).

<i>NAMPT</i> / <i>IGF2</i>	<i>CC</i> / <i>CC</i> (17)	<i>CC</i> / <i>CG</i> (8)	<i>CT</i> / <i>CC</i> (32)	<i>CT</i> / <i>CG</i> (17)	<i>TT</i> / <i>CC</i> (14)	<i>TT</i> / <i>CG</i> (9)
výška hřbetního tuku	0,71 ± 0,03** ^a	0,67 ± 0,04	0,61 ± 0,02**	0,69 ± 0,03	0,63 ± 0,03 ^a	0,63 ± 0,04
% libového masa	63,07 ± 0,32 ^a _{/b*}	63,67 ± 0,40	63,89 ± 0,22*	63,28 ± 0,32	63,93 ± 0,35 ^a	64,15 ± 0,44 ^b
Ø přírůstek od narození	594,38 ± 15,66 ^a	606,10 ± 19,27	606,80 ± 10,42	613,78 ± 15,48	634,38 ± 16,89 ^a	609,42 ± 21,40
Ø přírůstek v testu	964,53 ± 34,90 ^a	971,61 ± 42,92	985,00 ± 23,22	976,67 ± 34,48	1053,04 ± 37,63 ^a	972,22 ± 47,67
plemenná hodnota přírůstku	24,02 ± 3,33 ^a	19,89 ± 4,09* ¹	22,24 ± 2,22**	21,43 ± 3,29* ²	33,58 ± 3,59 ^{a/1*/2/*} _{3**}	21,51 ± 4,55* ³
plemenná hodnota % libov.masa	1,31 ± 0,11	1,22 ± 0,13	1,34 ± 0,07	1,19 ± 0,11	1,41 ± 0,12	1,33 ± 0,15
plemenná hodnota repro.d. ukaz.	1,39 ± 0,10	1,65 ± 0,13* ¹ **	1,36 ± 0,07* ¹	1,50 ± 0,10* ²	1,16 ± 0,11* ² **	1,40 ± 0,14
celková plemenná hodnota	1211,44 ± 57,11	1298,97 ± 70,25 ^a	1170,14 ± 38,01 ^a	1234,92 ± 56,44	1219,73 ± 61,58	1182,54 ± 78,01

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

V analýze asociace a interakce obou polymorfizmů (viz tab. 5) byl zjištěn vyšší hřbetní tuk u kombinace genotypů *CC/CC* (*NAMPT/IGF2*) oproti *CT/CC* ($P \leq 0,01$) a *TT/CC* (blížíci se průkaznosti). Kombinace *CC/CC* vykazuje nižší % libového masa oproti *CT/CC* ($P \leq 0,05$), *TT/CC* a *TT/CG* (blížíci se průkaznosti). Genotyp *TT/CC* je asociován s vyšším průměrným přírůstkem od narození v porovnání s *CC/CC* (blížíci se průkaznosti). Průměrný přírůstek v testu byl vyšší u genotypu *TT/CC* oproti *CC/CC* (blížíci se průkaznosti). Plemenná hodnota přírůstku byla vyšší u *TT/CC* v porovnání s *CT/CC* ($P \leq 0,01$), s *CC/CG*, *CT/CG* a *TT/CG* ($P \leq 0,05$) a s *CC/CC* (blížíci se průkaznosti). Plemenná hodnota reprodukčních ukazatelů byla vyšší u *CC/CG* oproti *TT/CC* ($P \leq 0,01$) a *CT/CC* ($P \leq 0,05$); hodnota byla také vyšší u *CT/CG* v porovnání s *TT/CC* ($P \leq 0,05$). Celková plemenná hodnota byla vyšší u *CC/CG* v porovnání s *CT/CC* (blížíci se průkaznosti). K porovnání asociace a interakce nebyla nalezena literatura.

ZÁVĚR

U souboru 98 prasnic plemene české bílé ušlechtilé byly testovány metodou PCR-RFLP dva polymorfizmy: *NciI* v genu *IGF2* a *HpaII* v genu *NAMPT*. Genotyp *GG* byl ve zkoumaném souboru zastoupen pouze u jednoho vzorku, proto byl tento z asociační analýzy vyloučen. U genu *IGF2* byly zjištěny průkazné rozdíly ($P \leq 0,05$) u plemenné hodnoty reprodukčních ukazatelů. U dalších námi zkoumaných parametrů nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. Rovněž u genu *NAMPT* nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. Avšak v analýze asociace a interakce obou polymorfizmů byly zjištěny vysoce průkazné rozdíly ($P \leq 0,01$) u výšky hřbetního tuku; vysoce průkazné ($P \leq 0,01$) a průkazné ($P \leq 0,05$) u plemenné hodnoty přírůstku a plemenné hodnoty reprodukčních ukazatelů. Průkazné rozdíly ($P \leq 0,05$) byly zjištěny u % libového masa. Za účelem vyrovnanějšího zastoupení genotypů by bylo vhodné zkoumaný soubor rozšířit a ověřit výsledky na dalších populacích. Výzkum stále pokračuje.

LITERATURA

- ArkDB*, [online]. Roslin Bioinformatics Group, 2007, © 2007 Roslin Institute. [cit. 2009-10-5]. Dostupné z: <<http://www.thearkdb.org/arkdb/do/getMappingDetails?accession=ARKCGM00000002>>.
- Čepica S., Bartenschlager H., Óvilo C., Fernandez A., Zrůstová J., Masopust M., Knoll A., Geldermann H., SNP within the porcine *NAMPT/PBEF1/visfatin* is associated with fat and carcass traits. In XXXI Conference of the International Society for Animal Genetics, 2008, July 20-24, Amsterdam, The Netherlands. Poster 2039.
- Dvořák, J., Vrtková, I. Malá genetika prasat II. *MZLU v Brně*, 2001. 91p.
- GeneCards [online]. 2009 [cit. 2009-10-8]. Dostupné z: <<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=NAMPT>>.
- Insulin-like growth factor II* [online]. Online Mendelian Inheritance in Man, 2009, © 1966-2009 Johns Hopkins University. [cit. 2009-10-5]. Dostupné z: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=147470>>.
- Knoll, A., Putnová, L., Dvořák J., Čepica S. A *NciI* PCR-RFLP within intron 2 of porcine insulin-like growth factor 2 (*IGF2*) gene. *Animal Genetics*, 2000, Vol. 31, p. 150–151.
- Nowacka-Wozzuk, J. Szczerbal, I. Fijak-Nowak, H., Switonski, M. Chromosomal localization of 13 candidate genes for human obesity in the pig genome. *J. Appl. Genet.*, 2008. Vol. 49, No. 4, p. 373–377.
- Verner, J. Analýza genů MYOD rodiny, *IGF2* a myostatinu v produkci kvalitního vepřového masa [s.l.]. *MZLU v Brně*, 2007. 96s. Disertační práce.
- Vykoukalová, Z., Knoll, A., Dvořák, J., Čepica, S. New SNPs in the *IGF2* gene and association between this gene and backfat thickness and lean meat content in Large White pigs. *J. Anim. Breed. Genet.*, 2006, Vol. 123, p. 204–207.
- Wang, P., van Greevenbroek, M.M.J., Bouwman, F.G., Brouwers, M.C.G.J., van der Kallen, C.J.H., Smit, E., Keijer, J., Mariman, E.C.M. The circulating *PBEF/NAMPT/visfatin* level is associated with a beneficial blood lipid profile. *Eur. J. Physiol*, 2007, Vol. 454, p. 971–976.

Zrůstová, J., Knoll, A., Urban, T., Čepica, S. The visfatin (NAMPT; PBEF1) gene polymorphisms and associations with meat performance traits in three pig breeds kept in the Czech Republic, 2009
In press.

ASSOCIATION OF SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IN *TG*, *LEP* AND *TFAM* GENES WITH CARCASS TRAITS IN CROSS-BREED CATTLE

Kaplanová K., Dvořák J., Urban T.

Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry Brno, Zemedelska 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: KKaplanova@seznam.cz

ABSTRACT

The objective of this preliminary study is to determine the genotypes of genes using for Marker Assisted Selection for meat quality and to assess the association of single nucleotide polymorphisms in these genes in cross-breed *Bos taurus* cattle. For this study the previously reported polymorphisms in genes thyroglobulin (*TG*), leptin (*LEP*) and mitochondrial transcription factor A (*TFAM*) were chosen due to their possible association with marbling and carcass traits in cattle.

Analysed carcass traits were following: kidney and pelvic fat, netto gain, weight of tenderloin and weight of rib eye. A crossbred population of 109 animals (Czech Spotted Cattle, Holstein, Red Holstein, Ayrshire) was developed in Research Institute for Cattle Breeding, Ltd. In Rapotín. The analysed polymorphisms were determined by PCR-RFLP.

Present study shows no significant associations of the SNPs in *TG* and *TFAM* genes for any traits, on the other hand significant association between genotype *C/T* in exon 2 of *LEP* gene and deposition of kidney and pelvic fat ($P < 0,05$) was observed. This result suggests that allele *T* is responsible for higher fat deposition. Other association of SNP in *LEP* gene shows significant difference between genotype *CC* a *CT* and netto gain ($P < 0,05$) and high significant difference between genotype *CC* and *CT* ($P < 0,01$) – it would mean that heterozygous genotype is undesirable. Our results can be influenced by low number of tested animals or by unequal genotype distribution in selected population (*LEP* gene) and by analysed traits; there were only the information from slaughter about carcass.

The obtained results suggest possible using these genes in next part of project because of their significant association (*LEP* gene) or their previously presented associations (*TG* and *TFAM* gene). It is possible that it will be found a significant association between genotypes of these genes and marbling (intramuscular fat content) and other meat quality characteristics which will be analysed in the next part of our project with higher number of animals.

Key words: *TG*, *LEP*, *TFAM*, meat quality, cattle

Acknowledgments: This project is supported by Ministry of Education, Youth and Sport project No. 2B08037.

INTRODUCTION

Both genetic and environmental factors are known to influence beef quality and carcass traits and variation in several candidate genes has been shown to be associated with carcass composition, e.g. thyroglobulin (gene symbol *TG*), leptin (gene symbol *LEP*) or mitochondrial transcription factor A (gene symbol *TFAM*) (Jiang *et al.*, 2005; Gutiérrez-Gil *et al.*, 2008).

Candidate gene proposed to affect marbling and other carcass trait produces thyroglobulin, the precursor to thyroid hormones with known endocrine roles in fat metabolism (Barendse, 1999; Casas *et al.*, 2007). Thyroid hormones triiodothyronine (T3) and thyroxine (T4) play important role in regulating metabolism and can affect adipocyte differentiation and growth (Gan *et al.*, 2008). The *TG* is considered as a functional and positional candidate gene for QTL with an effect in fat deposition (Thaller *et al.*, 2003; Gan *et al.*, 2008). The *TG* gene has been mapped to the centromeric region of bovine chromosome 14. In our study we have chosen the previously reported SNP *C/T* in repetitive element upstream from promoter of the *TG* gene located at position 422 of accession no. X05380 (Barendse, 1999). This marker *TG5* has been put into commercial DNA test for marbling in USA.

Leptin is a 16-kDa protein product of the obese gene synthesised and secreted by adipocytes and its expression is regulated by body fatness, energetic balance, insulin or glucocorticoids (Passos *et al.*, 2007). The main leptin functions lies in informing the central nervous system about the size of fat storages and controlling feed intake, energy expenditure and whole-body energy balance; therefore, leptin concentration in plasma decreases in negative energy balance and feed intake increases (Kononoff *et al.*, 2005; Passos *et al.*, 2007). *LEP* gene has been mapped to bovine chromosome 4 and polymorphisms in the coding region of bovine *LEP* gene have been associated with serum leptin concentration, feed intake, milk yield and body fatness (Nkrumah *et al.*, 2005). For our study a *C/T* transition that encoded an amino acid change of an arginine to a cysteine (Arg25Cys) identified in exon 2 in *LEP* gene was chosen.

Mitochondrial transcription factor A is a nucleus-coded protein which regulates the initiation of transcription and replication of mitochondrial DNA and decreasing expression level of *TFAM* gene has been associated with onset of obesity in mice (Jiang *et al.*, 2005). Jiang *et al.* (2005) hypothesized genetic variants of this gene influence mitochondrial biogenesis consequently affecting body fat deposition and energy metabolism. The *TFAM* gene has been localised on bovine chromosome 28. Two SNPs (*A/C* and *C/T*) have been detected in promoter region in bovine *TFAM* gene and their statistic analysis suggests the association with marbling and body fat deposition in F₂ cross-breed Limousine and Wagyu population. For our study only the polymorphism *A/C* has been chosen because of close linkage between these 2 SNPs.

MATERIALS AND METHODS

Animals

A cross-breed population of 109 animals (Czech Spotted Cattle, Holstein, Red Holstein, Ayshire) was developed in Research Institute for Cattle Breeding, Ltd. In Rapotín.

Genotypes detection

DNA samples were extracted from meat samples by JETQUICK Tissue DNA Spin Kit (Genomed) and stored at -20°C until genotyping.

The PCR-RFLP method was used to detect the genotypes in *TG*, *LEP* and *TFAM* genes. For determination of allele *C* and *T* of the *TG* gene, a 548 bp fragment was amplified and digested with *PvuI* as described by Thaller *et al.* (2003). The allele *C* and *T* of *LEP* gene was distinguished by restriction enzyme *Kpn2I* with restriction site in 94 bp fragment as described by Buchanan *et al.* (2002). The 801 bp PCR fragment of *TFAM* gene was cut by restriction enzyme *HaeIII* to distinguish allele *A* and *C* as described by Jiang *et al.* (2005). All PCR conditions were adapted for specifications of our laboratory (e.g. MJ Research PTC200 Thermo Cycler etc.). After digestion of PCR products the DNA fragments were separated on 2-3% agarose gels in electrophoresis visualised by ethidium bromide.

Analysed traits

The following traits were analysed: kidney and pelvic fat deposition (kg), netto gain (g), weight of tenderloin (kg) and weight of rib eye (kg).

Statistical analysis

The statistical analysis was performed by the general linear model (GLM) by SAS for Windows 9.1.4. The genotypes of relevant genes (G_{i-k}), SEUROP classification (SEU_1) and fat classification (SEU_{tuk_m}) were used as fixed effects.

$$y_{ijklm} = \mu + G_i + G_j + G_k + SEU_1 + SEU_{tuk_m} + e_{ijklm}$$

RESULTS AND DISCUSSION

First objective of our study was to determine the genotypes of chosen markers in cross-breed population. All 3 markers were polymorphic and all 3 genotypes of each marker were detected. Genotype distribution and allelic frequency of relevant genes in analysed population are shown in Table 1. Observed frequencies of all 3 markers are in accordance with different authors (Thaller *et al.*, 2003; Jiang *et al.*, 2005; Casas *et al.*, 2007).

Tab. 1 Number of animals with genotype of genes and allelic frequency of markers

Gene	Genotype count			Allelic frequency	
	CC	CT	TT	C	T
TG	62	43	4	0,77	0,23
	CC	CT	TT	C	T
LEP	81	20	8	0,83	0,17
	AA	AC	CC	A	C
TFAM	28	72	9	0,59	0,41

Marker TG5 in *TG* gene has been reported to be associated with fat content of some muscles, mainly musculus longissimus dorsi, in German Holstein (Thaller *et al.*, 2003), with various marbling score (Barendse, 1999), with fat thickness and longissimus muscle area in *Bos indicus* cattle (Casas *et al.*, 2005) and in 3 different cross-breed population *TT* genotype had the numerically greatest marbling score (Casas *et al.*, 2007). In our present study there was no significant association between genotype of TG5 marker in *TG* gene and any analysed traits. The least squares means and standard errors of all 3 genes are presented in Table 2.

SNP *C/T* in exon 2 of *LEP* gene has been reported to be associated with carcass fat level when allele *T* was associated with fatter carcass in unrelated bulls (Buchanan *et al.*, 2002), *T* allele is associated with increasing carcass fat and the carcass weight of animals with *CC* genotype tended to be higher than of animals with *TT* genotype (Kononoff *et al.*, 2005). Present study shows significant association between genotype *C/T* in exon 2 of *LEP* gene and deposition of kidney and pelvic fat ($P < 0,05$) when allele *T* is responsible for higher fat deposition; animals homozygous *TT* have the highest kidney and pelvic fat deposition. Other association of this SNP suggests significant difference between genotype *CC* a *CT* and netto gain and high significant difference between genotype *CC* and *CT* – it would mean that heterozygous genotype is undesirable because *CT* has the lowest netto gain and homozygous genotypes *CC* or *TT* has higher netto gain than *CT*. This result can be influenced by low number of animals or by unequal genotype distribution in selected population.

The polymorphism *A/C* in promoter of *TFAM* gene has been associated with marbling and subcutaneous fat deposition (Jiang *et al.*, 2005). Jiang *et al.* (2005) has reported *A/C* polymorphism in bovine *TFAM* gene that this SNP had the greatest effect on marbling and subcutaneous fat deposition among 4 candidate genes (*TG*, *DGATI*, *LEP* and *TFAM*). Unfortunately in our preliminary study no significant association in *A/C* SNP were observed for any traits.

Tab. 2 Associations of analysed genes with 4 traits in cross-breed population

Marker	Analysed traits			
	DF	NG	WT	WRE
TG5				
CC	12,04±1,12	553,71±12,33	2,39±0,08	7,08±0,21
CT	12,39±1,25	556,65±13,82	2,30±0,09	6,86±0,23
TT	14,66±2,73	528,84±30,13	2,40±0,19	6,86±0,51
LEP				
CC	11,5±1,18*	556,16±13,01 ^b	2,34±0,08	7,01±0,22
CT	11,79±1,70 ^a	515,43±18,73 ^{*b}	2,32±0,12	6,65±0,32
TT	15,80±2,13 ^{*a}	567,61±23,45*	2,43±0,15	7,15±0,40
TFAM				
AA	12,81±1,50	550,45±16,57	2,43±0,10	6,97±0,28
AC	13,73±1,31	553,74±14,41	2,36±0,09	7,03±0,24
CC	12,54±2,09	535,02±22,99	2,30±0,15	6,81±0,39

*^a significant difference between genotypes ($P < 0,05$), ^b high significant difference between genotypes ($P < 0,01$)

DF – kidney and pelvic fat deposition, NG – netto gain, WT – weight of tenderloin, WRE - weight of rib eye

CONCLUSION

This report is preliminary study of association of genes using for MAS with meat quality and carcass composition traits. The obtained results suggest possible using these genes in next part of project because of their significant association (*LEP* gene) or their previously presented associations (*TG* and *TFAM* gene). Our results can be influenced by low number of tested animals and by analysed traits; there were only the information from slaughter about carcass. It is possible that it will be significant association between genotypes of these genes and marbling (intramuscular fat content) and other meat quality characteristics which will be analysed in the next part of our project.

REFERENCES

- BARENDESE, W. *Assesing lipid metabolism*. International patent application PCT/AU98/00882, WO 99/23248.
- BUCHANAN, F. et al. Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels. *Genetics Selection Evolution*, 2002, vol.34, p.105-116.
- CASAS, E. et al. Assessment of single nucleotide polymorphisms in genes residing on chromosome 14 and 29 for association with carcass composition trait in *Bos indicus* cattle. *Journal of Animal Science*, 2005, vol.83, p.13-19.
- CASAS, E. et al. Assessing the association of single nucleotide polymorphisms at the thyroglobulin gene with carcass traits in beef cattle. *Journal of Animal Science*, 2007, vol. 85, p. 2807-2814.
- GAN, Q.-F. et al. Association analysis of thyroglobulin gene variants with carcass and meat quality traits in beef cattle. *Journal of Applied Genetics*, 2008, vol. 49, p.251-255.
- GUTIEREZ-GIL, B. et al. Detection of quantitative trait loci for meat quality traits in cattle. *Animal Genetics*, 2008, vol.39, p.51-61.
- JIANG, Z. et al. Significant associations of the mitochondrial transcription factor A promoter polymorphisms with marbling and subcutaneous fat depth in Wagyu x Limousine F₂ crosses. *Biochemical and Physiological Research Communications*, 2005, vol.334, p.516-523.
- KONONOFF, P.J. et al. The effect of a leptin single nucleotide polymorphism on quality grade, yield grade and carcass weight on beef cattle. *Journal of Animal Science*, 2005, vol.83, p.927-932.
- NKRUMAH, J.D. et al. Polymorphism in the bovine leptin promoter associated with serum leptin concentration, growth, feed intake, feeding behavior and measures of carcass merit. *Journal of Animal Science*, 2005, vol.83, p.20-28.
- PASSOS, D.T. et al. Effect of polymorphisms linked to *LEP* gene on its expression on adipose tissues in beef cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 2007, vol.124, p.157-162.
- SAS Institute Inc. 2004. SAS 9.1.4. Cary, NC.
- THALLER, G. et al. *DGAT1*, a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle. *Animal Genetics*, 2003, vol.34, p.354-357.

MATERNAL INVESTMENT AND REPRODUCTION STRATEGY IN THE DOMESTIC HORSES (*EQUUS CABALLUS*)

Komárková M., Bartošová J., Dubcová J.

Institute of Animal Science, Prague-Uhrineves & Faculty of Science, Charles University in Prague, Czech Republic

E-mail: eto89@seznam.cz

ABSTRACT

Suckling, the main part of maternal investment in equids, is crucial for development and social success of the foal. As such it is of great importance in horse breeding. We examined effects of: age and sex of the foal, age, parity, pregnancy and rank of the mother and sex of the foetus if the mother was pregnant. Further the degree of inbreeding of each mare was added. Four variables describing suckling behaviour were modelled: suckling duration and frequency, proportion of suckling attempts rejected and terminated by the mother and suckling terminated by another mare. Behavioural observations were conducted at the National Stud Kladruby nad Labem. Eight groups of loose housed mares with foals were observed from deliveries to abrupt weaning. The value of the inbreeding index was taken from the stud records. In total, we recorded 10 607 suckling solicitations of 79 foals from 59 mothers. Probability that mother reject the suckling bout was influenced by interaction between foal's age and its sex ($P < 0.05$). A mother terminated suckling bouts to her foal with lower probability as a nursed foal matured ($P < 0.0001$), no matter of its sex, but mares with female foetuses tended to terminate suckling bouts more often than non-pregnant ones or those bearing males ($P = 0.05$). Suckling bouts terminated by a mother were shorter when she was not pregnant compared to those bearing either male or female foetuses. Mares who frequently terminated suckling bouts to their herdmates were higher ranked ($P < 0.05$) and pregnant ($P < 0.001$). Suckling bouts duration decreased as the foal matured ($P < 0.0001$), it increased with higher dominance rank of the mother ($P < 0.01$) and differed also among groups ($P < 0.01$). Any of analyzed variables except the suckling attempts rejected by the mother was affected by the degree of inbreeding. Mothers rejected suckling attempts the more, the less inbred they were ($P < 0.02$). The termination of suckling bouts could serve the mares for different allocating their resources with respect to their concurrent investment in two offspring when being pregnant during lactation, while rejection of suckling solicitation rather reflected different approach to maternal care provided either to male or female foals. In conclusion, in loose housed mares of domestic horse with foals we have found no detrimental effect of any of literally cited factors on suckling behaviour.

Key words: horse, suckling, inbreeding, dominance, pregnancy

Acknowledgments: We would like to thank to people from the National stud Kladruby nad Labem and Jitka Komárková and Marta Komárková for their field assistance. The project was supported by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic (MZe0002701404) and NAZV QH92265.

EFFECTS OF GENOTYPE *LEPR* ON PRODUCTION TRAITS IN PIGS

Kováčik A.¹, Bulla J.¹, Trakovická A.²

¹Department of Animal Physiology, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

²Department of Genetics and Breeding Biology, Faculty of Agrobiological and Food Resources, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

E-mail: anton.kovacik@yahoo.com

ABSTRACT

The aim of this work was to analyze productive traits of pigs following polymorphism of *LEPR* gene. For experiment we used 102 young boars (50) and sows (52) of hybrid combination of Large White and Landrace breed. Genetic polymorphism both of genes was detected by PCR-RFLP. The PCR product was digested with *HpaII*. Three types of genotypes AA (14), AB (32) and BB (56) were confirmed in the set of pigs. The following polymorphism information content was found: PIC = 0.3249. AB genotype showed the highest average daily gain ($ADG = 604.29 \pm 24.23$). The AA genotype showed statistically significant backfat thickness, which was the highest ($BFT = 10.77 \pm 0.43$), but the proportion of lean meat was the lowest ($LM = 57.64 \pm 1.18$). Genotype BB was characterized by the highest proportion of lean meat ($LM = 59.98 \pm 2.25$) and the lowest backfat thickness ($BFT = 8.98 \pm 0.53$) compared to the other genotypes. Regarding the tested parameters the most convenient is the genotype BB.

Key words: pig, polymorphism, *LEPR* gene, productive attributes

Acknowledgments: This work has been supported by VEGA project 1/0834/08 and 1/4440/07

ÚVOD

Produkčné vlastnosti hrajú dôležitú úlohu v ekonomike hospodárskych zvierat. Pri štúdiu kandidátskych génov, u ktorých sa predpokladá možný vplyv na produkčné vlastnosti, bol odhalený výrazný účinok génu pre leptínový receptor (*LEPR*) na obsah tuku bravčového mäsa ošípaných. Vincent et al. (1997) pomocou väzbového mapovania mikrosatelitmi identifikovali *LEPR* gén ošípanej na šiestom chromozóme. V prípade *LEPR* génu ošípanej boli identifikované štyri typy polymorfizmov. Ako prvý bol popísaný polymorfizmus detekovaný reštrikčným enzýmom *Hinf*I (Vincent et al., 1997). Ďalšie dva predstavujú intrónové substitúcie detekované reštrikčnými enzýmami *Hpa*II a *Rsa*I (Stratil et al., 1998) a napokon polymorfizmus identifikovaný metódou DGGE (Kopečný et al., 1997). Analýzou plemien Berkshire, Duroc, Hampshire a Landras Emnett et al. (2001) potvrdili polymorfizmus *LEPR* (*Mbo*I) s prevahou alely 2. Vyhodnotením vzťahu *LEPR* (*Mbo*I) génu k ukazovateľom kvality mäsa autori zistili preukazný vplyv na priemerné denné prírastky, na obsah IMF pri plemene Hampshire a na hrúbku chrbtovej slaniny plemena Landras (Emnett et al., 2001). Uplatnenie spomínaného kandidátneho génu priamo v selekčných programoch predstavuje možnú cestu dosiahnutia zníženia hrúbky chrbtovej slaniny bez redukcie vnútro svalového tuku. Cieľom práce bolo analyzovať genetickú variabilitu produkcie ošípaných na základe genotypu *LEPR* (*Hpa*II) pomocou metódy PCR-RFLP.

MATERIÁL A METODIKA

V experimente bol použitý biologický materiál od 102 jedincov, 50 kancov a 52 prasničiek hybridnej kombinácie Biela ušľachtilá a Landras. Zvieratá boli kŕmené štandardnou kŕmnom zmesou. Ako biologický materiál bola požívaná krv. DNA sme izolovali pomocou komerčného kitu NucleoSpin blood od firmy Macherey-Nagel. Na amplifikáciu cieľových úsekov *LEPR* sme použili špecifické oligonukleotidové primery:

FOR: 5' GGA AGG CAT TTG TTT CAG CAG TAA 3'

REV: 5' CAA GTC CTC TTT CAT CCA GCA CTG 3' (Stratil et al., 1998)

PCR reakčná zmes obsahovala: 5 pmol primera FOR a REV, 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTP, 1,0 U *Taq* DNA polymerázy Recombinant (Promega,), PCR reakčný roztok (200 mM Tris-HCl pH 8,4, 500 mM KCl) a približne 50 ng DNA.

Tab.1 Teplotný a časový profil PCR reakcie

Teplotný a časový profil	<i>LEPR</i>	
	teplota	čas
„štart“	95 °C	2 min
denaturácia	94 °C	1 min
annealing	55 °C	1 min
polymerizácia	72 °C	2 min
elongácia	72 °C	10 min
ochladenie	4 °C	
počet cyklov	30	

Genotypovanie ošípaných sme uskutočnili pomocou PCR-RFLP metódou. Produkt amplifikácie sme analyzovali pomocou endonukleázy *HpaII*, ktorá špecificky rozoznáva potencionálne miesto mutácie v príslušnom PCR produkte. Identifikácia a analýza PCR produktu po izolácii, amplifikácii a štiepení bola uskutočňovaná elektroforetickou separáciou v agarózovom géle, v TBE tlmiacom roztoku. Gél obsahoval interkalačné činidlo etídium bromid (0.5 µg/ml). Po skončení elektroforézy sme naštiepený PCR produkt detekovali pomocou UV transiluminátora. Priemerný denný prírastok (ADG, g) bol meraný pri hmotnosti od 30 kg do 90 - 100 kg. Meranie hrúbky chrbtovej slaniny (BFT, mm) a podielu chudého mäsa (LM, %) bolo vykonané podľa štandardnej metodiky STN 466164. Štatistické analýzy k produkčným ukazovateľom boli analyzované pomocou programu SAS (2000).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V súbore ošípaných boli potvrdené tri typy genotypov AA(14), AB(32) a BB(56). Frekvencie genotypov sú prezentované v tabuľke 2. Najčastejšie sa vyskytoval homozygotný genotyp BB (0,549), nasledoval heterozygotný genotyp AB (0,314) a najmenej bolo identifikovaných jedincov s genotypom AA (0,137). V súbore nebola potvrdená genotypová rovnováha. Vo frekvencii alel boli zaznamenané významné rozdiely. Vyššia frekvencia génu bola zaznamenaná pre alelu B (0,7058) oproti alele A (0,2942). Na základe čoho bol zistený nízky polymorfný informačný obsah (PIC – 0,3249). Výskyt heterozygotov bol dostatočný H_e (0,4153), čo je pri hybridných populáciách očakávané.

Tab. 2 Genotypy a frekvencie alel génu *LEPR* v populácii ošípaných ($n=102$)

Gén	Genotypy			Alely		χ^2 - test	H_e	PIC
	AA	AB	BB	A	B			
<i>LEPR</i>	14	32	56	0.2942	0.7058	6.0948 ⁺⁺	0.4153	0.3249

$P>0.05^+$, $P>0.01^{++}$, $P>0.001^{+++}$

Na základe vybraných produkčných ukazovateľoch, bol zistený najvyšší priemerný denný prírastok (ADG) pri heterozygotoch AB (604.29 ± 24.23). Heterozygotné jedince AB vykazovali štatisticky významne vyšší priemerný denný prírastok (ADG) oproti homozygotným genotypovým kombináciám AA (596.30 ± 28.16). Pri homozygotnom genotype AA, bola štatisticky významne potvrdená najvyššia hrúbka chrbtovej slaniny (BFT = 10.77 ± 0.43) a najnižší podiel cenných mäsitých častí (LM - 57.64 ± 1.18). V tomto ukazovateli (LM) sme zistili pri ostatných genotypových kombináciách vyšší podiel. Na základe celkového zhodnotenia môžeme potvrdiť, že ošípané s genotypom BB vykazujú vyšší podiel cenných mäsitých častí (LM = 59.98 ± 2.25), nižšiu hrúbku chrbtovej slaniny (BFT = 8.98 ± 0.53) oproti ostatným genotypovým kombináciám. Na výšku ukazovateľa priemerný denný prírastok (ADG), v testovanej skupine, bol pozorovaný vplyv heterozygotnosti.

Emnett et al. (2001) zistili vplyv *LEPR* (*MboI*) génu na priemerný denný prírastok. Výsledky našej analýzy potvrdili vplyv *LEPR* génu ku prírastkom. V prípade hrúbky chrbtovej slaniny zistili preukázny vplyv génu. Toto zistenie korešponduje s výsledkami autorov Óvilo et al. (2002), ale nekorešponduje s výsledkami Mindeková a Trakovická (2006). Emnett et al. (2001) tiež pri plemene Landras potvrdili vplyv *LEPR* (*MboI*) génu na hrúbku chrbtovej slaniny.

Tab. 3 Genotypy génu *LEPR* v spojitosti s produkčnými parametrami ošípaných

Gén (RE)	Genotypy		
<i>LEPR</i> (<i>HpaII</i>)	AA (14)	AB (32)	BB (56)
ADG (g)	596.30 ^a ± 28.16	604.29 ^a ± 24.23	600.09 ± 30.97
BFT (mm)	10.77^a ± 0.43	10.02^{ab} ± 0.53	8.98^b ± 0.53
LM (%)	57.64 ^{ab} ± 1.18	58.91 ^a ± 1.75	59.98 ^b ± 2.25

*ADG = priemerný denný prírastok (g), BFT = hrúbka chrbtovej slaniny (mm), LM = cenné mäsité časti (%)

** P ≤ 0.05, ^A P = ≤ 0.01, ^A = P ≤ 0.001

ZÁVER

Na základe polymorfizmu génu *LEPR* (*HpaII*) a na základe zhodnotenia rozdielov medzi jednotlivými genotypy z hľadiska testovaných parametrov, je vhodný genotyp BB. Tento genotyp dosahuje najvyšší podiel cenných mäsitých častí a najnižší podiel pri hrúbke chrbtovej slaniny, čo je možné využiť na produkciu bravčového mäsa s požadovanými dietetickými parametrami.

LITERATÚRA

Emnett R., Moeller S., Irwin K., Rothschild M. F., Plastow G., Goodwin R. (2001): *Association Studies With Leptin Receptor, Melanocortin-4 Receptor, Melanocortin-5 Receptor, and Peroxisome Proliferator Activated Receptor-γ*. In: Eastridge, M. L., Bacon, W. L., Knipe, C. L., Meeker, D. L., Turner, T. B., and Zartman, D. L. Research and Reviews: Swine 2001. (OARDC Special Circular; 185): 57-63.

Kopečný M., Stratil A., Čepica S. (1997): Polymorphism at the porcine *LEPR* gene detected by PCR-DGGE. In: *Animal Genetics*, 28, 1997, p. 461.

Mindeková S., Trakovická A., Strapáková E. (2006): Effects of genotypes *LEPR* and *H-FABP* on pigs production, *Acta fytotechnica et zootechnica – Special No.*, 32-33.

Óvilo C., Oliver M. A. et al. (2002): Test for positional candidate genes for body composition on pig chromosome 6. In: *Genet. Sel. Evol.*, 34, 2002, p. 465-479.

Stratil A., Kopečný M., Moser G. et al., (1998): *HpaII* and *RsaI* PCR-RFLPs within an intron of the porcine leptin receptor gene (*LEPR*) and its linkage mapping. In: *Anim. Genetics*, 29, 1998, p. 398-413.

Vincent A. L., Wang L., Rothschild M. F. (1997): Rapid communication: a restriction fragment length polymorphism in the porcine leptin receptor (*LEPR*) gene. In: *J. Anim. Sci.*, 75, 1997, p. 2287.

DETERMINATION OF DECLARED QUALITATIVE CHARACTERISTIC AND IDENTIFICATION OF ANIMAL NUCLEIC ACID IN FEEDSTUFFS

Nesvadbová M.¹, Vašátková A.², Knoll A.¹, Zeman L.²

¹Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry Brno, Zemedelska 1, 613 00, Brno, Czech Republic

²Department of Animal Nutrition and Forage Production, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry Brno, Zemedelska 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xnesvadb@node.mendelu.cz

ABSTRACT

This work is part of a project “Determination of declared qualitative characteristic AND identification of animal nucleic acid in feedstuffs – seminar for students” from grant agency of Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic. The aim of this project is to acquaint the students of bachelor, master and Ph.D. degree at Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno with analysis methods of feedstuff for dog. This report summarizes workflow of arrangement of our project. We chose the various feedstuffs for dog that were currently on the market. We determined declared qualitative characteristic by the help of chemical analysis and we identified of animal DNA by polymerase chain reaction (PCR) in feedstuffs. The chemical and molecular analysis of granulated feedstuffs showed that composition is mostly corresponding with guaranteed analysis of manufacturer. But in tinned feedstuffs were found significant differences. Declared qualitative characteristic are not corresponding with guaranteed analysis of manufacturer and PCR reaction revealed that the some tins don't contain the kind of meat which are guarantee of manufacturer. The results of this project will be exploited for seminar for students and also research.

Key words: Feedstuff, Dog, Declared qualitative characteristic, Species identification, Polymerase chain reaction.

Acknowledgments: This work is supported by Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic FRVŠ no. 1305/2009.

ÚVOD

Ve způsobu krmení psů došlo ve světě i v České republice v posledních letech k podstatným změnám. Stále větší oblibu u majitelů psů získávají průmyslově vyráběná krmiva na úkor tradičního způsobu krmení potravy připravené samotným chovatelem. S tímto rostoucím trendem je i stále více diskutovanou otázkou hygiena a zdravotní nezávadnost krmiv. Chov psů se u nás těší velké oblibě, a tak v oblasti výživy psů působí na našem trhu hned několik výrobců krmiv společně s mnoha zahraničními dodavateli. Český spotřebitel se, na tomto přehlceném konkurenčním poli, bez odborných znalostí dokáže jen velmi málo orientovat.

Výsledky této práce jsou součástí vzdělávacího semináře, který bude uspořádán pro studenty Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně. Hlavním cílem tohoto semináře je seznámit studenty jak s chemickými metodami analýzy krmiv, tak s metodami molekulárně-genetickými a dále s dietetikou granulovaných i konzervovaných krmiv, která jsou určena pro český trh. Nedílnou součástí semináře tedy tvoří vlastní srovnávací analýzy o dodržování povinně deklarovatelných jakostních znaků krmiva, určení původu živočišné DNA, pokusy věnující se stravitelnosti jednotlivých živin u vybraných krmiv a optimalizace použitých metodik pro podmínky laboratoře.

MATERIÁL A METODIKA

Krmiva

V experimentu bylo hodnoceno osm kompletních granulovaných krmiv a šest krmiv konzervovaných, které jsou určeny pro štěňata velkých plemen a jsou běžně dostupná na našem trhu. Výběrem jsme se snažili pokrýt veškeré cenové rozpětí a předpokládanou kvalitu krmiva (viz Tab. 1).

Hodnocení povinně deklarovaných jakostních znaků krmiva

Krmiva byla podrobena laboratorním analýzám na rozbor dusíkatých látek, tuku, popela, vlákniny a metabolizovatelné energie (viz Tab. 1). Výsledky analýz byly zpětně porovnávány s hodnotami, které uvádí výrobci krmných směsí na obalu a se současnou platnou legislativou České republiky (vyhláška č. 356/2008 kterou se provádí zákon o krmivech č. 91/1996 Sb. ve znění pozdějších předpisů). Z této vyhlášky byly převzaty i metodiky stanovení jednotlivých živin (viz Tab. 2) a pro konečné porovnání byly hodnoty stanoveny v 100 % sušině.

Izolace a stanovení přítomnosti DNA živočišných druhů v krmivu

Vzorky krmiv byly podrobeny molekulární analýze zahrnující extrakci DNA, testování metodou multiplex PCR a hodnocení pomocí elektroforézy na agarozovém gelu. Pro izolaci DNA z krmiva bylo v první fázi vytipováno šest izolačních kitů, které jsou dostupné na našem trhu. Pro testaci byly zvoleny kity různých firem určené jak na izolaci DNA z tkání, tak z potravin. Při výběru byl kladen důraz, mimo různorodosti, také na časovou náročnost izolace a na cenu kitu. Použity byly systémy kolonkové i bezkolonkové izolace. Izolace byla prováděna dle standardního protokolu uváděného výrobcem kitu. Koncentrace a čistota izolátů byla detekována spektrofotometricky na přístroji GeneQuant (Pharmacia

Biotech). Kvalita izolace nukleových kyselin byla ověřena na 1 % agarózovém gelu a dále pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR).

Stanovení přítomnosti DNA živočišných druhů v krmivech bylo testováno pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR). Z původních publikací (Matsunaga et al. 1999; Dalmasso et al. 2003, Rodriguez et al. 2003) byly převzaty primery a podmínky reakce PCR (viz Tab. 3). Byla testována specifita primerů a možnosti jejich využití. Podmínky PCR reakce byly dále optimalizovány pro naši laboratoř.

Stanovení stravitelnosti jednotlivých živin v krmivu

Účinek krmného zásahu byl sledován na základě stravitelnosti jednotlivých živin. Modelový pokus byl proveden v souladu s metodikou dle Zákona na ochranu zvířat proti týrání č. 246/1992 Sb. Do pokusu byla zařazena fena neapolského mastina ve věku 4 - 5 měsíců. Pokusné sledování bylo rozděleno na přípravnou fázi (5 dní) a vlastní sledování (5 dní). Pro vyloučení stresu způsobeného změnou vnějších podmínek, bylo po dobu pokusu zajištěno konstantní prostředí. Po dobu pokusu byly sledovány základní vstupní údaje (spotřeba krmiva, množství výkalů).

Před začátkem pokusu byly odebrány vzorky vybraných krmiv a byly u nich provedeny rozborů na obsah základních organických živin (NL, vlákniny, tuku, sušiny a popela). Analýzy a chemická stanovení byla provedena podle zásad, které uvádí KACEROVSKÝ a kol. (1990) a podle vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 356/2008 Sb. (viz Tab. 2). Kompletní krmné směsi a zdravotně nezávadná voda byly podávány dle krmného návodu uvedeného výrobcem. Zbytky nesežraných krmiv a výkaly byly odebírány, váženy a sušeny. Výkaly byly podrobeny laboratorním analýzám pro stanovení koeficientů stravitelnosti organických živin (sušiny, NL, vlákniny, tuku a popela). Zbytky krmiv byly váženy pro zjištění čistého příjmu krmných směsí. Uvedený pokus sloužil pouze jako modelový pokus pro účely výuky semináře.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Hodnocení povinně deklarovaných jakostních znaků krmiva

Vyhodnocení a porovnávání skutečného obsahu živin s obsahem uvedeným na obale krmiva byl prováděn podle vyhlášky č. 356/2008 Sb. přílohy č. 8 – Tolerance pro jakostní znaky u kompletních a doplňkových krmiv pro domácí zvířata. V Tab. 4 a Tab. 5 jsou červenou barvou označeny nevyhovující zjištěné hodnoty.

Jak je z prvního pohledu patrné, s dodržování obsahu deklarovaných jakostních znaků mají problémy především výrobci konzervovaných krmiv, kde nesplněné hodnoty kolísají téměř u všech živin. Granulovaná krmiva byla poměrně vyrovnaná, ovšem ve všech jsme se setkali s nižším obsahem tuku, nezávisle na předpokládané kvalitě a ceně krmiva. Obsah detekovaného tuku může být z části závislý na použité metodě, kdy při detekci dle Twisselmana jsou zpravidla stanovené hodnoty nepatrně nižší než při stanovení kyselou hydrolyzou. Tento rozdíl je ale u krmiv obsahujících do 30 % tuku téměř zanedbatelný. Ve srovnání se sacharidy (17 kJ/g) se tuky vyznačují až dvojnásobnou energetickou

hodnotou, což znamená, že norma tuku pro rostoucího psa by se měla pohybovat od 5,9 – max. 20 % a pro dusíkaté látky do 30 %. Vzhledem k tomu, že se jedná o testovaná krmiva určená pro štěňata velkých plemen, nemělo by se stát, že budeme doporučené dávkování tuku a bílkovin přesahovat. U rostoucích psů a dvojnásobně to platí pro velká plemena je velmi důležité, aby kosterní tkáně byly plně vyvinuté dřív, než se začne rozvíjet a tvořit mohutná svalovina. Tím, že budeme psa překrmovat tukem a bílkovinami docílíme mohutného nástupu tvorby svaloviny a neúplného dovyvinutí kostry, která se pod tíhou svalů začne dříve či později bortit. Proto je velmi důležité, aby štěně přijímalo vyvážená krmiva a jejich dávkování bylo prováděno dle krmišního návodu výrobce, případně dle energetické potřeby pro konkrétního jedince. Pokud dochází k překrmování tukem v pozdějších obdobích, kdy je skelet psa plně vyvinut, často se setkáváme s obezitou, pokud pes nemá možnost dostatečného výdeje energie. Jak je ze zjištěných hodnot patrné, vysoké obsahy dusíkatých látek a tuku byly stanoveny převážně v konzervovaných krmivech, proto lze konstatovat, že konzervovaná krmiva jsou pro štěňata méně vhodná.

Pokud vezmeme v potaz výrobní postup granulí a konzerv, dojdeme ke zjištění, že vlivem tepelných úprav při výrobě konzervovaných krmiv dochází k větším ztrátám vitaminů, které jsou pro štěně nezbytně důležité. Při extruzi (výroba granulí) je zde jednou z možností dodání termolabilních komponent krmné směsi nástřikem po tepelném ošetření.

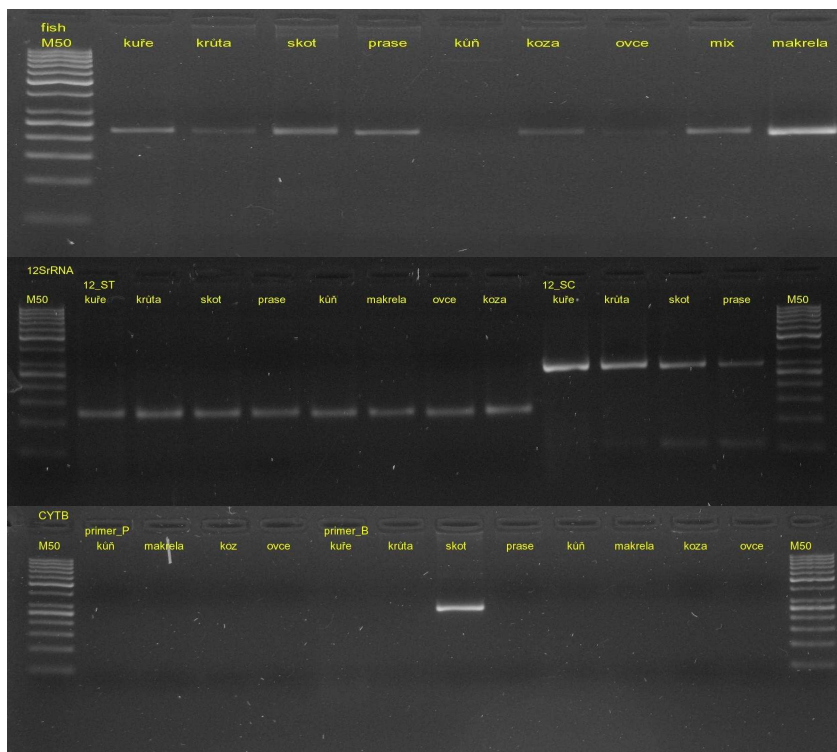
Vláknina by v krmivu pro psy neměla klesnout pod 2 %, optimum 3 - 5 %. Pokud se v krmné směsi pohybuje vláknina nad 5 %, dochází ke snížení stravitelnosti ostatních živin a ke zvýšení množství výkalů.

Izolace a stanovení přítomnosti DNA živočišných druhů v krmivu

Hlavní problém analýzy a detekce DNA živočišných druhů v krmivu, je kvalita a kvantita extrahované DNA, protože molekuly DNA jsou vystaveny degradaci při tepelném ošetření krmiva. Jako nejvhodnější kit pro extrakci DNA z krmiv byl vybrán NucleoSpin Food (MARCHÉREY-NEGEL), jehož nespornou výhodou mimo vysoké kvality extrahované DNA, je i velmi krátká doba inkubace krmiva s lyzačním puftrem (pouze půl hodiny).

Identifikace jednotlivých živočišných druhů je založena na velikostech PCR produktů, které jsou charakteristické pro daný druh, a díky rozdílným velikostem produktů PCR lze jednotlivé druhy snadno detekovat. Proto byla ověřena specifita a vhodnost použití vybraných primerů. Všechny zvolené primery byly navrženy na stabilní úsek mitochondriální DNA v oblasti genu pro cytochrom b a 12S rRNA. Ukázalo se, že pouze primery převzaté z původní publikace Matsunaga et al. (1999) jsou vhodné pro detekci živočišných druhů, protože vytváří specifický produkt pouze s DNA druhu, pro jehož detekci jsou určeny. Primery převzaté z publikací Dalmaso et al. (2003) a Rodriguez et al. (2003) vytváří specifický produkt s DNA různých živočišných druhů, proto jsou pro druhovou identifikaci nevhodné (viz Obr. 1).

Obr. 1 Ověření specifity primerů



Pomocí metody PCR byly u testovaných krmiv identifikovány DNA živočišných druhů dle svých charakteristických velikostí PCR produktů – koza 157, kuře 227, skot 274, ovce 331, prase 398, kůň 439 bp a výsledky byly porovnány s deklarovaným složením. Složení krmiv deklarované výrobcem a výsledky jednotlivých analýz detekce živočišných druhů v krmivech pomocí PCR reakce zobrazuje Tab. 6, 7, 8 a 9. Hlavní složkou granulovaných krmiv pro štěňata velkých plemen je kuřecí maso a kuřecí DNA byla skutečně ve všech krmivech detekována. Pouze v krmivu číslo 7, uvádí výrobce jako jednu ze složek mléko, DNA skotu však v krmivu detekována nebyla. U konzervovaného krmiva číslo 2 nebyla nalezena DNA prasete, ačkoliv výrobce uvádí ve složení výrobku pouze vepřové maso a stejně tak u konzervovaného krmiva číslo 6 nebyla detekována jehněčí DNA, přestože výrobce uvádí, že konzerva obsahuje jehněčí maso. U těchto výrobků lze tedy předpokládat porušení deklarované receptury výrobcem, a to náhradou jakostního druhu masa za maso méně hodnotné.

Stanovení stravitelnosti jednotlivých živiny v krmivu

Stanovení stravitelnosti jednotlivých živin jsme prováděli u třech vybraných granulovaných krmiv (vzorek č. 4, 6, 8). Všechny vzorky z pohledu stravitelnosti odpovídají běžným charakteristikám.

Stravitelnosti tuku závisí především na podílu hodnotných nenasycených mastných kyselin. Dusíkaté látky jsou pro psy velice lehce stravitelné a velmi hodnotné především v podobě zpracované svaloviny. Méně stravitelné jsou pak upravované chrupavky a šlachy. Nejlepší stravitelnost dusíkatých látek, tuku a využitelnosti energie vykazoval vzorek č. 6.

ZÁVĚR

V experimentu bylo hodnoceno osm kompletních granulovaných krmiv a šest krmiv konzervovaných. Tato krmiva jsou určena pro kategorii štěňat velkých plemen a jsou běžně dostupná na našem trhu. Výběrem jsme se snažili pokrýt veškeré cenové rozpětí a předpokládanou kvalitu krmiva.

Námi provedené analýzy prokázaly, že deklarovaný obsah živin nedodrží především výrobci konzervovaných krmiv, kde deklarované hodnoty neodpovídají skutečnosti téměř u všech živin. Hodnoty živin deklarované výrobcem a námi určené hodnoty u granulovaných krmiv byly poměrně vyrovnané, pouze u všech krmiv jsme zaznamenali nižší obsah tuku, nezávisle na předpokládané kvalitě a ceně krmiva. V konzervovaných krmivech byly stanoveny vysoké obsahy dusíkatých látek a tuku a lze tedy tato krmiva pro štěňata velkých plemen označit za méně vhodná.

Hlavní složkou granulovaných krmiva pro námi zvolenou kategorií psů je kuřecí maso a kuřecí DNA byla skutečně detekována ve všech těchto výrobcích. U dvou konzervovaných krmiv bylo zjištěno porušení deklarované receptury, a to náhradou jakostního druhu masa za maso méně hodnotné.

LITERATURA

Dalmasso A., Fontanella E., Piatti P., Civera T., Rosati S., Bottero M.T. (2003): A multiplex PCR assay for the identification of animal species in feedstuffs. *Molecular and Cellular Probes*, 18(2): 81-87.

Kacerovský, O. et. al (1990): Zkoušení a posuzování krmiv. SNZ Praha, 216s. ISBN 80-209-0098-5.

Kopriva A., et al (2001): Technika krmení hospodářských zvířat. Vyd. MZLU v Brně, 210 s., ISBN 80-7157-557-7.

Matsunaga T., Chikuni K., Tanabe R., Muroya S., Shibata K., Yamada J., Shinmura Y. (1999): A quick and simple method for the identification of meat species and meat products by PCR assay. *Meat Science* 51 (2): 143-148.

Rodríguez M.A., García T., González I., Asensio L., Mayoral B., López-Calleja I., Hernández P.E., Martín R. (2003): Identification of goose, mule duck, chicken, turkey, and swine in foie gras by species-specific polymerase chain reaction. *J. Agric. Food Chem.*, 51(6):1524-1529.

Zákona na ochranu zvířat proti týrání č. 246/1992 Sb.

Zákon o krmivech č. 91/1999 Sb.

Prováděcí vyhláška k zákonu o krmivech č. 356/2008 Sb.

Tab. 1 Sledované deklarované znaky u jednotlivých krmiv

Označení	Kompletní granulovaná krmiva (Kč/kg)	Konzervovaná krmiva (Kč/kg)	Sledované deklarované jakostní znaky
vzorek č. 1	143,2	114,6	Sušina/vlhkost (%)
vzorek č. 2	141	97,5	Popel (%)
vzorek č. 3	116,3	66,1	N-látky (%)
vzorek č. 4	80	42,5	Tuk (%)
vzorek č. 5	58,88	35	Vláknina (%)
vzorek č. 6	55,55	31,7	
vzorek č. 7	43,26		
vzorek č. 8	39,86		

Tab. 2 Sledované organické živiny krmiva

Živina	Metoda analýzy
Sušina	zbytek po odpaření vlhkosti za konstantní teploty (103 °C ± 2 °C) po dobu 4 hodin v sušárně
Popel	vážkově stanoven po zpopelnění vzorku při teplotě 550 °C v elektrické muflové peci za předepsaných podmínek
N-látky	obsah dusíku stanovený metodou Kjeldahla, vynásobený faktorem 6,25
Tuk	vážkově stanoven na extrakčním přístroji podle Twisselmana za předepsaných podmínek
Koeficientstravitelnosti	výpočet dle vzorce: $KS = [(m_{krmiva} * \check{z}_{krmiva} - m_{vykaly} * \check{z}_{vykaly}) / (m_{krmiva} * \check{z}_{krmiva})] * 100$

Tab. 3 DNA sekvence primerů

Název	Sekvence (5'-3')	Gen	Odkazy
SIM	GACCTCCCAGCTCCATCAAACATCTCATCTTGATGAAA	cytochrom b	Matsunaga et al. (1999)
G	CTCGACAAATGTGAGTTACAGAGGGA	cytochrom b	Matsunaga et al. (1999)
C	AAGATACAGATGAAGAAGAAATGAGGCG	cytochrom b	Matsunaga et al. (1999)
B	CTAGAAAAGTGTAAGACCCGTAATATAAG	cytochrom b	Matsunaga et al. (1999)
S	CTATGAATGCTGTGGCTATTGTCGCA	cytochrom b	Matsunaga et al. (1999)
P	GCTGATAGTAGATTTGTGATGACCGTA	cytochrom b	Matsunaga et al. (1999)
H	CTCAGATCACTCGACGAGGGTAGTA	cytochrom b	Matsunaga et al. (1999)
Fish	TAA GAG GGC CGG TAA AAC TC	12S rRNA	Dalmasso et al. (2003)
Fish	GTG GGG TAT CTA ATC CCA G	12S rRNA	Dalmasso et al. (2003)
12SFW	CCACCTAGAGGAGCCTGTCT(AG)TAAT	12S rRNA	Rodriguez et al. (2003)
12SC	CCGTCTTAAAGTGAGCTTAGCGG	12S rRNA	Rodriguez et al. (2003)
12ST	TTGAGCTCACTATTGATCTTTCAGTTT	12S rRNA	Rodriguez et al. (2003)
12SS	GTTACGACTGTCTCTTCGTGCA	12S rRNA	Rodriguez et al. (2003)

Tab. 4 Srovnání deklarovatelných jakostních znaků u granulovaných krmiv mezi laboratorním stanovením živin a hodnotami uvedenými výrobcem na obalu (hodnoty jsou uvedeny v 100 % sušíně)

Označení	Popel (%)	N-látky (%)	Tuk (%)	Vláknina (%)
vzorek č. 1	6,54 / 6,27	30,30 / 32,00	10,76 / 14,04	3,11 / 2,92
vzorek č. 2	5,58 / 6,52	27,04 / 28,26	11,96 / 15,22	2,38 / 2,72
vzorek č. 3	7,22 / 7,65	29,95 / 31,69	12,29 / 16,39	2,71 / 3,28
vzorek č. 4	8,49 / 8,70	32,38 / 32,61	17,62 / 19,57	2,59 / 2,17
vzorek č. 5	7,07 / 7,72	24,67 / 26,41	11,63 / 15,54	2,66 / 2,93
vzorek č. 6	7,57 / 7,78	27,60 / 28,89	11,09 / 15,56	2,64 / 3,89
vzorek č. 7	8,08 / 6,74	28,56 / 31,46	10,95 / 15,73	2,93 / 2,25
vzorek č. 8	7,50 / 10,00	29,08 / 28,89	12,58 / 17,78	2,59 / 3,89

*hodnota stanovená laboratorní analýzou / **hodnota uvedená výrobcem**

Tab. 5 Srovnání deklarovatelných jakostních znaků konzervovaných krmiv mezi laboratorním stanovením živin a hodnotami uvedenými výrobcem na obalu (hodnoty jsou uvedeny ve 100 % sušíně)

Označení	Popel (%)	N-látky (%)	Tuk (%)	Vláknina (%)
vzorek č. 1	9,88 / 11,05	41,25 / 52,63	38,27 / 21,05	2,05 / 2,11
vzorek č. 2	7,40 / 7,27	45,91 / 45,45	43,22 / 31,82	4,11 / 2,27
vzorek č. 3	5,49 / 8,41	31,90 / 55,99	23,29 / 39,74	1,87 / 2,00
vzorek č. 4	7,99 / 15,00	33,11 / 37,50	22,45 / 27,00	3,21 / 5,00
vzorek č. 5	13,55 / 15,00	31,56 / 37,50	29,29 / 27,00	2,82 / 5,00
vzorek č. 6	7,90 / 12,11	25,33 / 36,84	22,23 / 28,95	2,46 / 3,68

*hodnota stanovená laboratorní analýzou / **hodnota uvedená výrobcem**

Tab. 6 Složení granulovaných krmiv deklarované výrobcem

Označení	Složení deklarované výrobcem
vzorek č. 1	drůbeží maso a produkty drůbežního původu, drůbeží tuk, lososový olej
vzorek č. 2	kuře, rybí moučka, živočišný tuk, sušená vejce, kuřecí vnitřnosti
vzorek č. 3	maso a výrobky živočišného původu, oleje a tuky
vzorek č. 4	drůbeží maso a produkty drůbežního původu, sušená vejce, drůbeží tuk, lososový olej
vzorek č. 5	kuřecí a krůtí moučka, vnitřnosti, živočišný a rybí tuk, vaječná hmota
vzorek č. 6	kuřecí maso, živočišný tuk, vedlejší výrobky živočišného původu, rybí tuk a bílkoviny, sušené vejce
vzorek č. 7	maso a výrobky živočišného původu, kuřecí maso, mléko a mléčné deriváty
vzorek č. 8	maso a výrobky živočišného původu, drůbeží moučka, oleje a tuky, ryby a vedlejší výrobky z ryb

Tab. 7 Složení konzervovaných krmiv deklarované výrobcem

Označení	Složení deklarované výrobcem
vzorek č. 1	maso a výrobky živočišného původu, hovězí, kuřecí a králičí maso
vzorek č. 2	vepřové maso
vzorek č. 3	maso a výrobky živočišného původu, zvěřina
vzorek č. 4	hovězí maso, drůbeží játra, vedlejší živočišného produkty
vzorek č. 5	maso a výrobky živočišného původu, kuřecí a krůtí maso
vzorek č.6	maso a výrobky živočišného původu, jehněčí maso

Tab. 8 Identifikovaná DNA živočišných druhů v granulovaných krmivech

Označení	Identifikace DNA živočišného druhu					
	koza	kuře	skot	ovce	prase	kůň
vzorek č. 1	-	+	-	-	+	-
vzorek č. 2	+	+	-	-	+	-
vzorek č. 3	+	+	-	-	+	-
vzorek č. 4	-	+	-	-	+	-
vzorek č. 5	-	+	-	-	+	-
vzorek č.6	+	+	+	+	+	-
vzorek č.7	-	+	-	-	+	-
vzorek č.8	-	+	+	-	+	-

Tab. 9 Identifikovaná DNA živočišných druhů v konzervovaných krmivech

Označení	Identifikace DNA živočišného druhu					
	koza	kuře	skot	ovce	prase	kůň
vzorek č. 1	-	+	+	-	+	-
vzorek č. 2	-	+	+	-	-	-
vzorek č. 3	-	+	+	-	+	-
vzorek č. 4	-	+	+	-	+	-
vzorek č. 5	-	+	+	-	-	-
vzorek č.6	-	+	+	-	+	-

Tab. 10 Srovnání stravitelnosti jednotlivých živin ve vybraných granulovaných krmivech

Označení	Popel (%)	N-látky (%)	Tuk (%)	Vláknina (%)	Energie (MJ/kg)
vzorek č. 4	40,22	80,28	91,52	45,98	85,93
vzorek č. 6	45	88,57	94,91	29,08	89,24
vzorek č. 8	41,73	87,39	91,7	40,49	86,1

OVERWINTERING OF SPIDERS IN EMPTY LAND-SNAIL SHELLS IN XERIC HABITATS OF SOUTHERN MORAVIA

Niedobová J., Hula V.

Department of Zoology, Fisheries, Hydrobiology and Apiculture, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry Brno, Zemedelska 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: Naaudia@seznam.cz

ABSTRACT

Our first objective was to find, which species of spiders overwinter in the land-snail shells in the xeric habitats of Southern Moravia (Czech Republic). During the winter 2008/2009 we collected 2448 empty land-snail shells from 31 xeric localities. Land-snail shells were represented by three species from three genera (*Cepea*, *Helix* and *Helicella*). Altogether we have found 185 specimens of spiders – 148 adults and juvenile spiders which were determinable (belong to 19 species and 9 families) and 37 juvenile spiders (determined to family or genus level only). Some rare species were found, which are under Red list of threatened species in the Czech Republic (four vulnerable and two endangered species). The most important record is one juvenile gnaphosid spider *Phaeoedus braccatus*, which was known from three historical localities only. We confirmed positive affinity of several species to empty land-snail shells, particularly *Pellenes tripunctatus*, *Pellenes nigrociliatus*, *Sitticus pennicilatus* and *Myrmarachne formicaria* which we collected in big numbers of individuals from several localities.

Our second aim was to find which environmental factors could influence spiders fauna in investigated localities. For all localities we have collected environmental data about geographical orientation, geological base, conservation site management, cover and origin of locality. Whole dataset was computed by program CANOCO. CCA analyses didn't showed significant affinity of any spider species to management, species of land-snail or other environmental characteristics. All models were computed under 999 permutation by Monte-Carlo permutation test.

Key words: spiders, land-snail shells, overwintering, xeric habitats

Acknowledgments: This study was supported by IGA-AF-MZLU-IG289151 and VaV-MZP-CR-SP/2D4/59/07. We would like to thanks to following friends who help us: Ondřej Košulič, Zdeněk Foltýnek Fric and Lukáš Suszka.

ÚVOD

Existuje pouze několik odborných článků zabývajících se problematikou zimování bezobratlých v prázdných šnečích ulitách. Jedná se především o práce týkající se vývoje a přezimování některých včel rodu *Osmia*. Z pavouků, kteří pravidelně zimují v ulitách šneků je nejznámější *Argyroseta aquatica* (HORN 1980). Ale arachnofauna šnečích ulit na xerothermních biotopech není příliš známá. BELLMANN (1999) uvádí, že v prázdných šnečích ulitách mohou zimovat relativně vzácné druhy pavouků, zejména se jedná o čeledi Salticidae a Theridiidae. Vizually nejmarkantnější je vazba skákavky *Pellenes nigrociliatus*, která využívá přímo ulitu rodu *Helicella* nejen k přezimování, ale také v teplejších měsících roku k rozmnožování (BELLMANN 2001, HORN 1980). BRYJA et al. (2005) se rovněž zmiňují o vazbě *Pellenes nigrociliatus* na šnečí ulity, kde v kombinaci s vápencovým podkladem se tento jinak vzácný druh stává lokálně hojným. Další studie se zaměřením na výskyt pavouků ve šnečích ulitách byla provedena v Maďarsku na různých typech biotopů SZINETÁREM et al. (1998). Maďarsko má také velké množství xerothermních biotopů se značným množstvím prázdných šnečích ulit a tak byla velká část jejich výzkumu zaměřena právě tam. SZINETÁR et al. (1998) zjistili, že prázdné šnečí ulity jsou využívány ve velké míře k přezimování, ale mnohé druhy pavouků je obývají i během ostatních ročních období. Navíc v průběhu svého výzkumu objevili také dva nové druhy pro území Maďarska.

V jihomoravském regionu se vyskytuje značné množství zbytkových xerothermních strání pod různým stupněm ochrany. Na těchto plochách lze najít často i větší množství prázdných šnečích ulit a to především tří rodů (*Helicella* sp., *Cepea* sp. a *Helix* sp.). Vzhledem k tomu, že na území České republiky dosud nikdo nesledoval zimování pavouků ve šnečích ulitách, předpokládali jsme, že je dokonce možné nalézt tímto nestandardním způsobem nové druhy pro Českou republiku či jižní Moravu. Chtěli jsme především zodpovědět otázku, které druhy našich pavouků využívají k zimování právě ulity šneků. A protože každý z xerothermních biotopů je jistým způsobem jedinečným a neopakovatelným biotopem, zajímalo nás, jestli některé z námi zadaných environmentálních charakteristik přímo ovlivňují výskyt pavouků na lokalitách.

MATERIÁL A METODIKA

Prázdné šnečí ulity byly sbírány v zimních měsících na přelomu roku 2008/2009. Sbírali jsme na 31 xerothermních lokalitách jižní Moravy, zejména v travino-bylinné části území. Ihned po příchodu na lokalitu bylo provedeno její hodnocení z hlediska environmentálních charakteristik. Byl zaznamenán geologický substrát (spraš, slepence, vápence), orientace lokality k světovým stranám, pokrývnost vegetace (škála 1 - 5), množství keřů na lokalitě (škála 1 - 3), způsob hospodaření na lokalitě (pastva, kosení, bez managementu) a původ lokality (umělá, přírodní). Na každé z těchto lokalit jsme pak strávili sběrem přibližně 1 hodinu. Prázdné šnečí ulity byly sbírány do mikrotévných sáčků a poté přendány do pevně uzavíratelných plastových boxů, aby přezimující živočichové nemohli uniknout. Celkem bylo posbíráno 2448 prázdných šnečích ulit druhů *Cepaea vindobonensis*, *Helix pomatia* a rodu *Helicella*.

Plastové boxy s ulitami byly umístěny do laboratoře, kde je stálá teplota 22 °C a relativně nízká vzdušná vlhkost. Všichni pavouci vylézající ze šneků byli postupně chytáni měkkou entomologickou pinzetou

a usmrcování v 75 % lihu. Hned nato byli determinováni. Juvenilní jedinci byli zařazení pouze do čeledí, případně rodů. Veškerý materiál determinoval V. Hula a je deponován v jeho sbírce.

K hodnocení vlivu ekologických charakteristik byl použit programový balík CANOCO. V rámci analýz byl hodnocen vliv jednotlivých environmentálních proměnných (orientace terénu, geologický substrát, případný management prováděný na lokalitě, pokrývnost a původ lokality) na arachnofaunu zimující uvnitř šnečích ulit.

Seznam použitých zkratk:

- lokality:

EVL	Evropsky významná lokalita
NPP.....	Národní přírodní památka
NPR.....	Národní přírodní rezervace
PP.....	Přírodní památka
PR.....	Přírodní rezervace

- vzácnost:

EN.....	Endangered - ohrožený
VU.....	Vulnerable - zranitelný

Charakteristika navštívených lokalit:

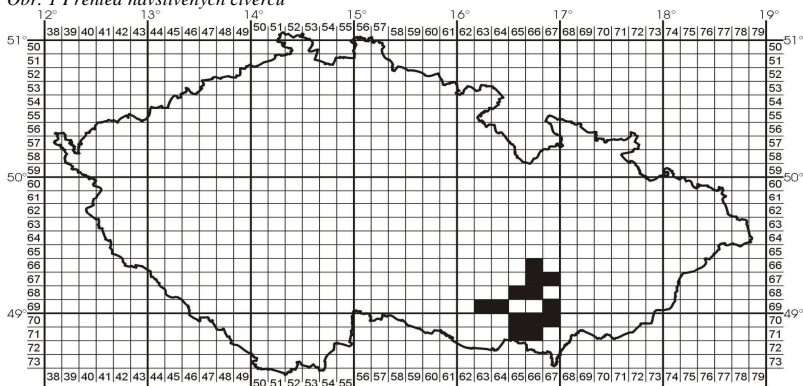
Všechny lokality mají charakter xerothermních biotopů, pro každou z nich je uvedena stručná charakteristika. Jako první je řazen námi používaný název pro lokalitu, dále pak, v závorce, status ochrany lokality, případně ochranný status celé chráněné jednotky, již je námi zkoumaná lokalita součástí. Pro upřesnění je na Obr. 1 grafické znázornění, v jakých faunistických čtvercích se lokality nacházejí.

1. Balcarka (PR) – sběr v křovinaté části severního svahu vápencového skalnatého ostrohu, bez managementu.
2. Budkovice (EVL Krumlovsko-Rokytnské slepence) – jihovýchodně orientovaný svah v obci Budkovice nad řekou Rokytná, slepencový podklad. Sbíráno pod zdí bývalé tvrze, bez managementu.
3. Horka (PP) – částečně odtěžená slepencová skála překrytá vrstvou spraše. Sbíráno v „lomu“ i ve vrcholových partích. Bez managementu.
4. Hrádek (PR) – lesostepní vegetace na sprašovém podkladu, bez managementu.
5. Jesličky (PP) – svažitý terén, flyšový podklad překrytý spraší s různou mocností, bývalé pastviny. Drnová step s rozptýleným akátem a borovicí lesní. Dnes koseno.
6. Kamenný vrch-jih (PR Kamenný vrch u Kurdějova) – xerotherm na spraších, na podzim přepaseno.
7. Kamenný vrch-sever (EVL Kamenný vrch u Kurdějova) – xerotherm na spraších udržovaný kosněním a občas příležitostně přepaseno.
8. Kienberg (PP) – opuštěný lom, vrchní část je překrytá spraší. Roztroušené křoviny až celé křovinaté porosty. Sbíráno v okolí lomu i na horním hřbetu. Bez managementu.

9. Kurdějov-nad bažantnicí – jihozápadní svah Holého vrchu na spraši, částečně paseno.
10. Louky pod Kumstátem (PR) – jihozápadně až západně orientovaný xerothermní svah na spraších u obce Krumvív, udržováno pasením.
11. Macošská stráň 1 (EVL Moravský kras) – svahy na vápencovém podkladu, bez managementu.
12. Macošská stráň 2 (EVL Moravský kras) – svahy na vápencovém podkladu, pasená část.
13. Mariánský mlýn-jih – bývalý vápencový lom v masivu Sv. Kopečku u Mikulova, suchá část. Bez managementu a téměř bez vegetace.
14. Mariánský mlýn-sever – bývalý vápencový lom v masivu Sv. Kopečku u Mikulova, část zatopená vodou, bez managementu a s minimem vegetace.
15. Medlánecký kopec (PP) – podklad tvoří kyselé horniny, sbíráno v nekosené části.
16. Milovická stráň (PR) – flyšové sedimenty překryté spraší, v minulosti byly odstraněny akátiny a byla provedena clonová seč, travinobylinné plochy nyní bez managementu. Šnečí ulity sbírány na jihozápadním svahu.
17. Moravský Krumlov I. (NPR Krumlovsko-Rokytnské slepence) – jižně orientovaný svah pod kostelem. Slepencový podklad, bez managementu.
18. Moravský Krumlov II. (NPR Krumlovsko-Rokytnské slepence) – na západ orientovaný kamenitý svah s podkladem slepenců. Bez managementu.
19. Pálava-Děvičky (NPR Děvín) – jihovýchodně orientovaný vápencový svah pod hradní zdí. Bez managementu.
20. Pálava-skální step (NPR Děvín) – jihovýchodně orientovaný vápencový svah, bez managementu.
21. Pálava-vyhlídky (NPR Děvín) – jihovýchodně orientovaný vápencový svah, bez managementu.
22. Rokytná I. (NPR Krumlovsko-Rokytnské slepence) – slepencové skály, sbíráno na jižně orientované skalní stepi porostlé travobylinnými společenstvy s občasným výskytem keřů. Bez managementu.
23. Rokytná II. (skály) (NPR Krumlovsko-Rokytnské slepence) – slepencové skály, sbíráno ve vrchních partiích západním směrem orientovaných skalních výchozů, bez keřů, bez managementu.
24. Santon (PP) – severovýchodně orientovaný svah, slepencový podklad s vrstvou spraše. Dříve byla vykáčená akátina, sbíráno při patě svahu.
25. Stránská skála (NPP) – bývalé lomy, sbíráno v lomech i ve vrcholové partii. Bez managementu, pouze sešlap turisty.
26. Velatice (PR) – slepencové stráně překryté spraší nad říčkou Rokytnice. Okolí silně zarostlé akátem, na lokalitě akátiny odstraněny, pozůstatky borovice lesní.
27. Velké Družďavy (PP) – lokalita na spraši uprostřed polí, bez managementu.

28. Vilémovická stráň 1 (EVL Moravský kras) – svah, vápencový podklad, pasený.
29. Vilémovická stráň 2 (EVL Moravský kras) – svah, vápencový podklad, pasený.
30. Vinice – xerothermní svahy na spraších mezi terasami vinic u vesnice Morkůvky, bez managementu.
31. Vinohrady (PP) – lokalita na spraších přímo uprostřed polí. Část lokality udržovaná kosním.

Obr. 1 Přehled navštívených čtverců



VÝSLEDKY A DISKUZE

Z celkového počtu 2448 prázdných šnečích ulit druhu *Cepaea vindobonensis* (845 kusů), *Helix pomatia* (421 kusů) a rodu *Helicella* (1182 kusů) jsme odchytili 185 pavouků. Z nich bylo možné přesně zařazení k 19 druhům u 148 dospělců a juvenilů. Samotných dospělců však bylo pouze 33. 37 juvenilních jedinců nebylo možno determinovat do druhů, proto byli zařazeni pouze do čeledí, případně rodů. Všechny druhy patří do devíti čeledí (*Dysderidae*, *Theridiidae*, *Linyphiidae*, *Titaneoidea*, *Clubionidea*, *Miturgidae*, *Gnaphosidae*, *Thomisidae*, *Salticidae*). Z čeledí Miturgidae a Clubionidea byli nalezeni pouze juvenilní jedinci, jejichž další determinace nebyla možná.

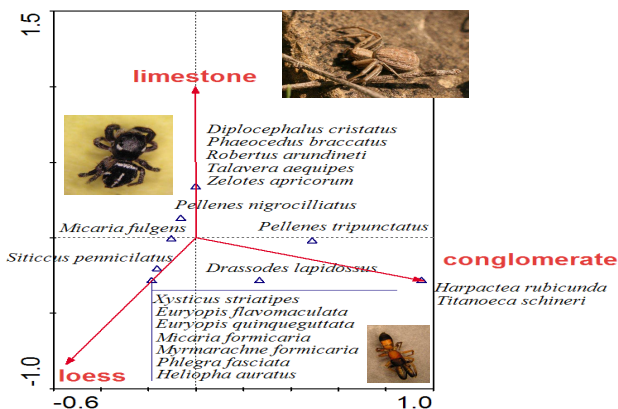
Tématikou zimování pavouků na xerothermních biotopech se ve střední Evropě zabývají čtyři studie – BAUCHHENS (1995), BELLMANN (1999), HORN (1980) and SZINETÁR et al. (1998). Všichni tyto autoři popisují vazby skákavek *Pellenes nigrociliatus* a *P. tripunctatus* na prázdné šnečí ulity. Na některých lokalitách jižní Moravy můžeme potvrdit velké množství zimujících juvenilních jedinců těchto dvou druhů v prázdných šnečích ulitách (Tab. 1). Ze šnečích ulit máme také četné nálezy *Myrmarachne formicaria* (18 jedinců ze tří lokalit). Přestože je tento druh v Maďarsku vcelku běžný SZINETÁR et al. (1998) našel v ulitách pouze jednoho jedince. BELLMANN (1999) ovšem publikuje z Německa relativně velké množství nálezů.

Ze šnečích ulit jsme také odchytili několik vzácných druhů pavouků, které jsou v Červeném seznamu ohrožených druhů České republiky (RŮŽIČKA 2005). Snad nejdůležitější nález představuje juvenilní jedinec *Phaeoedus braccatus* z lokality Rokytná I., který je klasifikován jako ohrožený druh a dosud byl znám pouze ze tří míst v České republice (BUCHAR, RŮŽIČKA 2002). Na lokalitách Vinice

a Milovická stráň jsme našli další ohrožený druh *Euryopsis quinqueguttata* v počtu tří jedinců. Všechny tyto nálezy výrazně zpřesňují naše znalosti o těchto vzácných druzích.

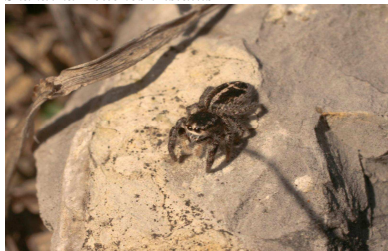
Ze všech hodnocených environmentálních charakteristik pomocí programového balíku CANOCO se ukázal jako signifikantní pouze vliv geologického substrátu (Test of significance of first canonical axis: $E = 0.551$, $F = 2.166$, $P = 0.0560$; test of significance of all canonical axes: $T = 0.894$, $F = 1.848$, $P = 0.0240$). Modely byly počítány pomocí Monte-Carlo permutačního testu pod 999 permutacemi. Ostatní environmentální charakteristiky nevyšli průkazné (Test of significance of first canonical axis: Eigenvalue = 0.999, $F = 1.399$, $P = 0.1020$; test of significance of all canonical axes: $T = 7.166$, $F = 12.388$, $P = 0.0010$).

Obr. 2 Vliv geologického substrátu na výskyt pavouků ve šnečích ulitách (výsledky DCA analýzy). Zároveň jsou zde fotografie některých významných druhů: *Pellenes nigrociliatus*, *Xysticus striatipes* a *Myrmarachne formicaria* (řazeno dle hodinových ručiček).



Obr. 3 Skákavka *Pellenes tripunctatus* je typickým obyvatelem šnečích ulit na spraších, naopak nález plachetnatky *Diplocephalus cristatus* byl na xerothermních lokalitách jižní Moravy překvapením (foto V. Hula).

Skákavka *Pellenes tripunctatus*



Plachetnatka *Diplocephalus cristatus*



LITERATURA

- Bauchhens E. (1995): Überwinternde Spinnen aus Schneckenhäusern. *Arachnologische Mitteilungen* 9: 57–60.
- Bellmann H. (1999): Zur Nutzung leerer Schneckenhäuser durch Arthropoden. *Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie* 29: 169–172.
- Bellmann H. (2001): Kosmos-Atlas Spinnentiere Europas. Franckh-Kosmos Verlags-GmbH&Co., Stuttgart, 304 s.
- Bryja V., Svatoň J., Chytil J., Majkus Z., Růžička V., Kasal P., Buchar J., Dolanský J., Chvátalová I., Řezáč M., Kubcová L., Erhard J. & Fenclová I. (2005): Spiders (Araneae) of the Lower Morava Biosphere Reserve and closely adjacent localities (Czech Republic). *Acta Musei Moraviae, Scientiae biologicae* (Brno) 90: 13–184.
- Buchar J., Růžička V. (2002): Catalogue of spiders of the Czech Republic. Peres Publishers, Praha, 351 s.
- Horn H. (1980): Die Bedeutung leerer Schneckengehäuser für Überwinterung und Brutverhalten von *Pellenes nigrociliatus* L. Koch, 1874 in Stenosenformationen (Araneae:Salticidae). *Beitraege zur naturkundlichen Forschung in Südwestdeutschland* 39: 167–175.
- Růžička V. (2005): Araneae (pavouci), s. 76-82. In: Farkač J., Král D., Škorpič M.(eds.): Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Bezobratlí. Red list of threatened species in the Czech Republic. Invertebrates. Agentura ochrany přírody a krajiny ČR, Praha, 760 s.
- Szinetár Cs., Gál Zs., Eichardt J. (1998): Spiders in snail shells in different Hungarian habitats. *Miscellanea zoologica hungarica* 12: 67–75

THE STANDARTIZATION OF RADIOSPECTROMETRIC ASSESMENT OF RADIOCESIUM (^{137}Cs) IN FISH *IN VIVO* IN A MODEL AQUATIC ENVIRONMENT

Růžičková E.

Department of Molecular Biology and Radiobiology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xrusic13@mendelu.cz

ABSTRACT

Activities of radiocaesium (^{137}Cs) in organisms occurring in all the affected aquatic ecosystems considerably fluctuated after the Chernobyl (1986) accident. After a certain period of time a relative balance of the radionuclide was seen in the aquatic environment, but all the same the content of radiocaesium in the organisms differed considerably. The model environment in an aquarium with definable conditions can provide new information about the biological accumulation of ^{137}Cs in the vegetation and in living organisms, and about the transfer indicators between the individual compartments of the aquatic environment.

This work was focused on the standardization of a *in vivo* radiospectrometric assessment of ^{137}Cs in small aquarium fish using the gamma-spectrometric system with a pure germanium (HPGe) detector.

Key words: radiocaesium, aquatic environment, fish, *Poecilia reticulata*

Acknowledgments: This work was supported from the institutional financial resources of the Faculty of Agronomy of the Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno

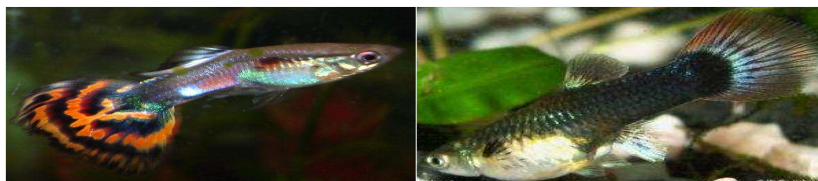
ÚVOD

Problematika biogenní migrace radionuklidů zůstává i v současnosti v zájmu ochrany životního prostředí před škodlivými faktory. Zvláštní pozornost je věnována radiocesiu pro jeho chemické a fyzikální vlastnosti a z nich plynoucí potenciální možnosti kontaminace potravinových zdrojů. Práce byla v souvislosti se sledováním zákonitostí distribuce a transferu radiocesia (^{137}Cs) u drobných živočichů (akvarijních ryb rodu *Poecilia reticulata*) v modelovém vodním prostředí (mikrosystému) zaměřena na standardizaci radiospektrometrického stanovení radiocesia (^{137}Cs) v uspořádání *in vivo*.

MATERIÁL A METODIKA

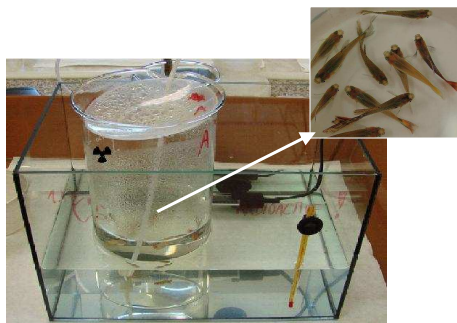
V experimentu byly použity ryby rodu *Poecilia reticulata* (váha $0,5 \div 0,6$ g; délka cca 3 cm) (obr. 1), které byly kultivovány po dobu 24 a 48 hodin v 1 litru kontaminované vody ($^{137}\text{CsCl}$, $1,5 \text{ kBq l}^{-1}$) s kontinuální aerací (obr. 2).

Obr. 1 *Poecilia reticulata* (vlevo: samec, vpravo:samice)

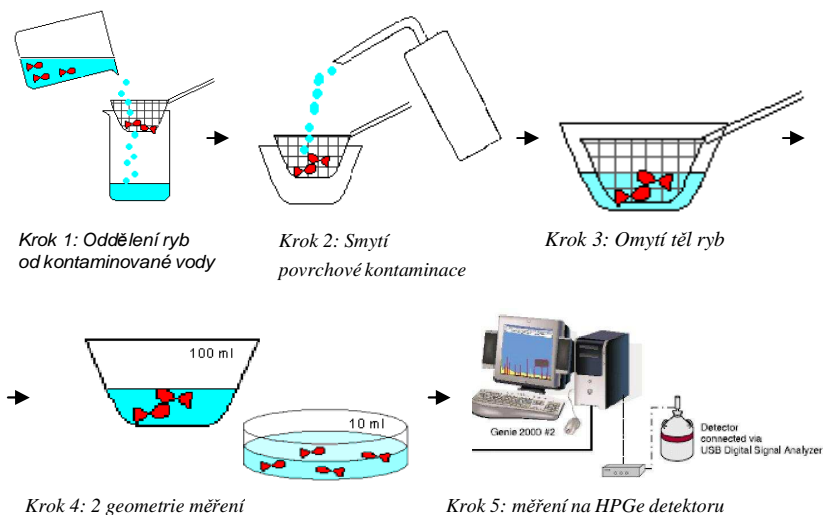


Po smytí povrchové kontaminace z těl ryb v pokusné skupině byla měřena aktivita cesia v uspořádání *in vivo* s využitím gamaspektrometrické trasy s HPGe detektorem. Měření probíhalo ve dvou různých geometriích – 10 ml (v Petriho misce) a 100 ml (kelímek), vždy po dobu 15 minut. Experimentální postup je znázorněn na obrázku 3. Po 24 (48) hodinách kultivace a změření, byly ryby umístěny do čisté nekontaminované vody a v měsíčních intervalech byl sledován úbytek radiocesia z ryb. Měření probíhalo v geometrii 100 ml po dobu 30 min.

Obr. 2 Kultivace ryb



Obr. 3 Experimentální postup



VÝSLEDKY

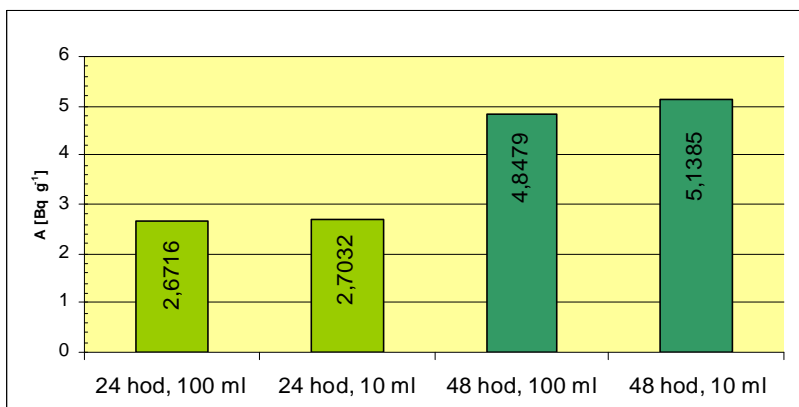
Zvolený experimentální postup (Obr. 2 a 3) se ukázal jako velmi dobře proveditelný a opakovatelný. Zjištěné hodnoty hmotnostní aktivity ^{137}Cs v rybách, MVA (minimální významná aktivita) a MDA (minimální detekovatelná aktivita) jsou uvedeny v tabulce 1. Aktivity měřené ve dvou různých geometriích nebyly významně rozdílné. Chyba měření (Tab. 1) v geometrii 100 ml byla vyšší ve srovnání s měřením v geometrii 10 ml. Hodnoty MVA a MDA byly u obou dvou geometrií velmi nízké. Hodnoty MVA a MDA byly významně nižší u geometrie 10 ml.

$$A_{MVA(MDA)} = \frac{L_C(L_D)}{\epsilon_E \cdot t \cdot y \cdot m \cdot K_a \cdot K_1 \cdot K_2}$$

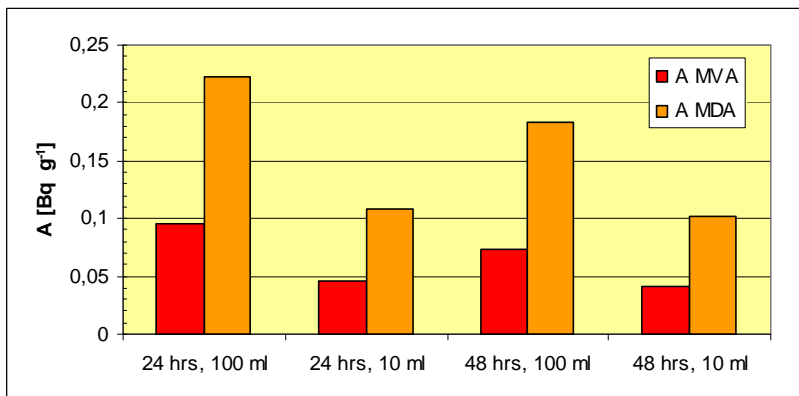
Tab. 1 Aktivita ^{137}Cs a hodnoty A_{MDA} a A_{MVA}

Doba kultivace	Geometrie [ml]	Aktivita ^{137}Cs [$\text{Bq}\cdot\text{g}^{-1}$]	Chyba měření [%]	A_{MVA} [$\text{Bq}\cdot\text{g}^{-1}$]	A_{MDA} [$\text{Bq}\cdot\text{g}^{-1}$]
24 h	10	2,7032	4,73	0,0466	0,1085
	100	2,6716	6,32	0,0962	0,2226
48 h	10	5,1385	3,74	0,0412	0,1015
	100	4,8479	5,07	0,0725	0,1828

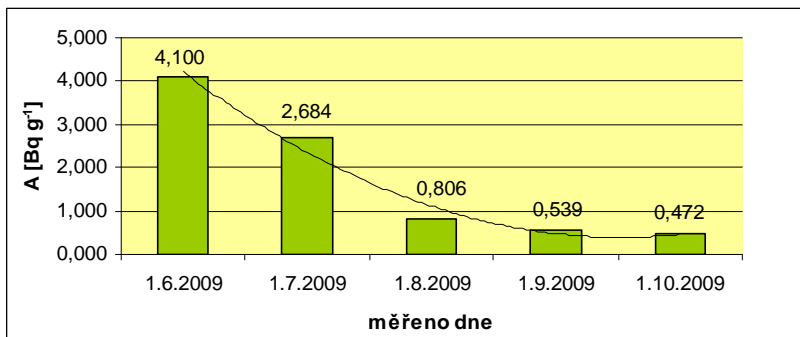
Graf 1 Aktivita ^{137}Cs v rybách po 24 a 48 h kultivace



Graf 2: A_{MDA} a A_{MVA} ve dvou sledovaných geometriích



Graf 3: Sledování úbytku radiocesia z ryb



ZÁVĚR

Bylo prokázáno, že použitý postup kontaminace a přípravy malých akvarijských ryb pro měření *in vivo* je vhodný. Dále bylo potvrzeno, že detekce aktivity radiocesia v rybách je v daném uspořádání měřicí soustavy velmi spolehlivá. Geometrie 10 ml (Petriho miska) poskytuje lepší výsledky pro citlivost a přesnost měření aktivity radiocesia v rybách v uspořádání *in vivo* ve srovnání s geometrií 100 ml (kelímek).

DEGRADATION OF NUCLEIC ACIDS IN VARIOUS LABORATORIAL CONDITIONS

Sedláčková T., Knoll A., Svobodová K.

Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: sedlact@seznam.cz

ABSTRACT

The aim of this study was to gather knowledge about the degradation of nucleic acids due to laboratory conditions. The work was focused on deoxyribonucleic acid and ribonucleic acid. The study factors were temperature (20, 5, -20 and -70°C), time (0-4 weeks) and the input concentration of nucleic acid. For the DNA analysis the PCR product included selected sequence of *EEF1a2* gene was used. The sample of RNA was isolated from pig muscle. For the analysis PCR resp. Real-time PCR were used and optimized. The results were evaluated by Ct values obtained from real-time PCR reaction. To monitor the degradation (quantity and quality) of RNA resp. rRNA the agarose gel electrophoresis was used. The DNA samples stored in 20 °C was completely degraded after the first week but in other temperatures only slightly. The rRNA samples stored in the room temperature were also completely degraded after one week. Based of our results, the nucleic acids are best preserved at temperatures 5, -20 and -70 °C. Inappropriate storage of nucleic acids could result in degradation and subsequently in wrong results therefore.

Key words: degradace, nukleové kyseliny, real-time PCR

ÚVOD

V současnosti se nám naskytují spousty možností jak zvýšit užitkovost u hospodářských zvířat. Jednou z nich je využití molekulárně-genetických metod. Základem těchto metod je důkladná znalost projevů o chování nukleových kyselin v prostředí ve kterém se právě nacházejí. Od těchto znalostí se odvíjí následná manipulace a uschování. Práce s nukleovými kyselinami musí být šetrná, kvalita záleží na posouzení konečného výsledku. Musejí zůstat kompaktní a izolace provedena co nejšetrnějším způsobem, aby nedošlo k nežádoucímu poškození. Důležitým faktorem je uschování nukleových kyselin za příhodných podmínek. Pokud není vhodně nukleová kyselina uschována, nastává proces degradace, který zapříčiní nevratné změny na struktuře nukleové kyseliny a následné znehodnocení případného vzorku. Dojde-li k degradaci či znehodnocení, mohou nastat případy, ve kterých dojde k ovlivnění konečných výsledků a ty pak mohou být zavádějící. Typické vlastnosti a chování této molekuly v různých podmínkách prostředí se dají z větší části odvodit ze struktury a složení. Nejčastějším případem degradace nukleových kyselin je teplota a čas.

V těchto podmínkách (teplota, čas) byly zjišťovány změny struktury kyseliny deoxyribonukleové pomocí vysoce přesné laboratorní metody real-time PCR (real-time polymerázová řetězová reakce). Pro zjištění změn struktury u ribonukleové kyseliny byla vybrána metoda gelové elektroforézy.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky: Jako vstupní materiál pro tuto studii sloužil vzorek izolovaný ze svaloviny (m. biceps femoris) prasete. Pro DNA byl vybrán gen *EEF1A2B* a pro RNA - rRNA. Testováno bylo plemeno České bílé ušlechtilé, Llandrasse, Pietrain a křížence plemen Pietrain a Meishan.

PCR: Vlastní PCR byla prováděna ve zkumavkách Eppendorf v termálním cyklu na přístroji GeneAmp® PCR 2400 firmy Perkin Elmer (Applied Biosystems, Foster City California, USA). Použit pro amplifikaci PCR produktu.

Použité chemizmy pro PCR: Celkový objem jednoho vzorku 20 μ l ; 11,3 μ l PCR vody, 2 μ l Blue master mix Top-Bio (Top-Bio s.r.o., Praha, ČR) , 0,5 μ l dNTPs (10 mM) (MBI Fermentas, St. Leon-Rot, SRN), 0,5 μ l EEF1A (10 μ M), 0,5 μ l EEF2B(10 μ M), 0,2 (μ l) Polymeráza Unis (5U/ μ l) (Top-Bio s.r.o., Praha, ČR), 5 μ l lyzátu DNA

Průběh vlastní PCR: Po úvodní denaturaci (95 °C /2 min.) následovalo sekvenování, detekce polymorfismů ve 30 cyklech (95 °C/20 s), dále annealing primerů (64 °C/30 s) a syntéza DNA (72 °C/ 60 s). Závěrečná elongace probíhala při 72 °C/7 min.

Real-time PCR: Reakce byly prováděny na bázi SYBR Green chemismu, konkrétně s kity SYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, California, USA) na přístroji 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, California, USA) a na cyklu PTC-200 s použitím detektoru Opticon 4 Detector (MJ Research, součást firmy Bio-Rad Laboratories, Inc., California, USA).

Použité chemizmy pro real-time PCR: Celkový objem jednoho vzorku 20 μ l; 7,6 μ l PCR Ultra H₂O, Top-Bio (Top-Bio s.r.o., Praha, Česká republika), 10 μ l SYBR® Green PCR Master Mix, 0,1 μ l EEF1A (10 μ M), 0,1 μ l EEF2B (10 μ M), 0,2 μ l UNG, 2 μ l vzorku DNA.

Průběh vlastní real-time PCR: 2 min při 50 °C, 10 min. při 95 °C, 50 cyklů při opakování kroků denaturace po dobu 15s při 95 °C a annealing a elongace, které probíhaly v jednom kroku po dobu 1 min, při 60 °C. Podmínky následné disociace: 95 °C /15 s, 60°C/1 min, 95 °C/15 s. Každý vzorek byl analyzován v jednom opakování. Další část výzkumu zahrnovala optimalizační proces real-time PCR a vlastní relativní kvantifikaci. Real-time PCR byla prováděna na přístroji 7500 Real-Time PCR System a byl použit originální software SDS verze 1.2 (Applied Biosystems, Foster City, California, USA).

Primery: byly navrženy ze sekvence příslušného genu z dostupných elektronických databází nově zjištěných sekvencí EEF1A2 (draft, Sequencing, Porcine sequence TC348097 (<http://complibio.dfci.harvard.edu/tgi/>)). Ověřování primerů bylo prováděno v programu Primer Express software verze 2 (Applied Biosystems, Foster City, California, USA). Zohledňována byla především teplota 60 °C, která byla dána použitým systémem, dále délka PCR produktu, která nepřesáhla 250 bp, zastoupení G+C bazí a stabilita na 3'-konci, kde byl důraz kladen zejména na eliminaci sekundárních vnitřních struktur a vzájemnou komplementaritu primerů. Pro každém měření byly také analyzovány slepé vzorky, neboli NTC (no template control). Koncentrace primerů byla 50 nM. Vzorky byly před započítáním vlastní real-time PCR ošetřeny enzymem AmpErase® Uracil N-glycosylase (Applied Biosystems, Foster City, California, USA).

Izolace RNA: Homogenizace vzorků probíhala v homogenizátoru FastPrep FP 120 (ThermoSavant, Holbrook, New York, USA). Celková RNA byla izolována izolačním kitem FastRNA Pro Green Kit (Q-BIOgene, Solon, Ohio, USA). Vzorky izolované RNA resp. rRNA byly vizuálně kontrolovány a hodnoceny pomocí gelové elektroforézy dle Rapley et Manning (1998). Byl použit 3% agarózový gel Agarose Serva for DNA Electrophoresis (Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg, Německo) při napětí 100 V po dobu 10 min. Jako velikostní marker byl použit RNA Ladder, High Range – 2 μ l (Fermentas, Ontario, Kanada).

Gelová elektroforéza: Byla provedena na 3% agarózovém gelu obsahujícím ethidiumbromid. Obsah každého vzorku - 5 μ l. Byl použit tentýž gel jako u izolace RNA (viz výše). Izolovaná neporušená celková RNA dává při kontrole elektroforetickou separaci v agarózovém gelu dva silně viditelné pruhy: 28S rRNA a 18S rRNA. Výsledek byl po ukončení elektroforézy zjišťován na transiluminátoru a poté vyfotografován.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Degradace DNA

Tato studie byla zaměřena na několik faktorů účastnících se degradace DNA. Vzorky byly inkubované za různých podmínek. Teplota 20 °C zastupovala běžnou teplotu laboratoře, 5 °C je teplota vzorků uchovaných v chladničce a -20 °C pro mrazničku. Teplota -70 °C byla vybrána z důvodu

dostupnosti mrazáku (nebývá standardním vybavením laboratoří) a především jako teplota pro referenční, neboli kontrolní vzorky. Tato teplota je všeobecně považována za nejvhodnější pro uchování vzorků (Stratagene, 2007). Teplota - 70 °C je také všeobecně považována za konečnou pro DNázy a RNázy. Prostřednictvím real-time PCR a programu SDS v 1.2 byla na základě posunu Ct hodnot hodnocena degradace nebo stabilita vzorků. Tato studie probíhala vždy v několika řádech ředění. U DNA byly změněny Ct hodnoty uvedené v tabulce č.1 a průběh znázorněn v grafu 1 (100x ředění). U získaných hodnot musíme zohlednit možnou pipetovací chybu. Je patrné, že Ct hodnoty u teploty 20 °C jsou výrazně vyšší, než-li u ostatních zbývajících (5 °C a -20 °C a -70 °C). Tato indikace prokazatelně naznačuje na rychlou degradaci DNA v laboratorní teplotě. Závěry se shodují i s výsledky Almeida *et al.*, (2004). V práci Almeida *et al.*, (2004) byla dokonce studována pomocí real-time PCR i teplota 37 °C. V této studii tato teplota nebyla zkoumána z důvodu, že není relevantní pro laboratorní podmínky.

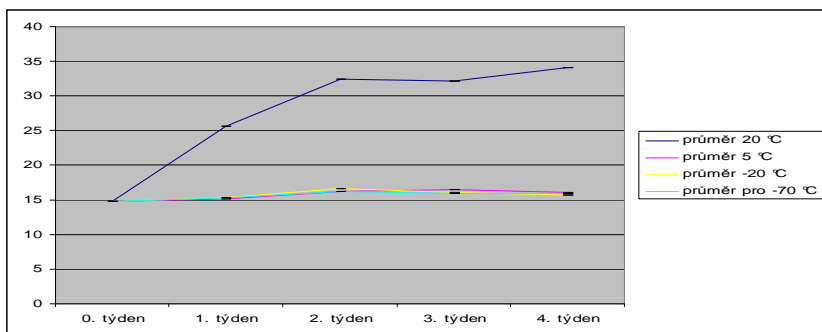
Tedy skladování při laboratorní teplotě je absolutně nevyhovující. Důvodů může být hned několik: příliš vysoká teplota, v této teplotě není zastavena činnost DNáz a RNáz, samotný vliv teploty na strukturu nukleových kyselin. Naopak vzorky uchované v nižších teplotách mají degradaci jen minimální, tj. jejich Ct hodnoty se vůbec, nebo jen málo mění v závislosti na času. Dle těchto hodnot lze utvořit závěr, že nejvhodnější uschování se pohybuje od 5 °C a -20 °C a -70 °C. Při teplotě 5 °C jde o uschování krátkodobé. V mrazničce -20 a při -70 jsou podmínky nejvhodnější pro dlouhodobé uchování. Tímto zjištěním lze zajistit kvalitu vzorků, které jsou rozhodujícím faktorem pro určení správnosti výsledků. Pokud vzorek špatně uschováme, musíme vynaložit další náklady pro získání nových a to je z ekonomického hlediska nežádoucí. Nicméně je třeba zdůraznit, že skladování vzorků je různorodá otázka, záleží jak na managementu tzn. zajištění správného popisu a postupu, tak i na existenci záložních zdrojů pro případný výpadek proudu. Pokud dojde k selhání přístroje či výpadku proudu a není zajištěný krizový management, jsou veškeré snahy marné.

Ani při nejlepší skladovací teplotě nebo médiu nelze odhadnout kvalitu vzorku, pokud není použito správné čistoty vody (Mabic *et al.*, 2003).

Tab. 1 Průměrné Ct hodnoty s ±SD, 0-4 týden, 4 teploty (20 °C, 5 °C, -20 °C a -70 °)

	Ø Ct	SD	Ø Ct	SD	Ø Ct	SD	Ø Ct	SD
	20 °C	20 °C	5 °C	5 °C	-20 °C	-20 °C	-70 °C	-70 °C
0. týden	14,77	4.398	14,77	4.398	14,77	4.398	14,77	4.398
1. týden	25,56	4.483	15,165	6.382	15,325	7.581	15,215	7.457
2. týden	32,49	4.462	16,19	5.002	16,68	7.053	16,185	6.970
3. týden	32,075	2.852	16,49	6.964	16,005	6.521	15,945	6.299
4. týden	34,06	3.054	16,025	6.905	15,74	6.245	15,9	6.555

Graf 1 \bar{C}_t hodnoty $\pm SD$, 0.-4. týden, 4 teploty (20 °C, 5 °C, -20 °C a -70 °), ředění 0.01

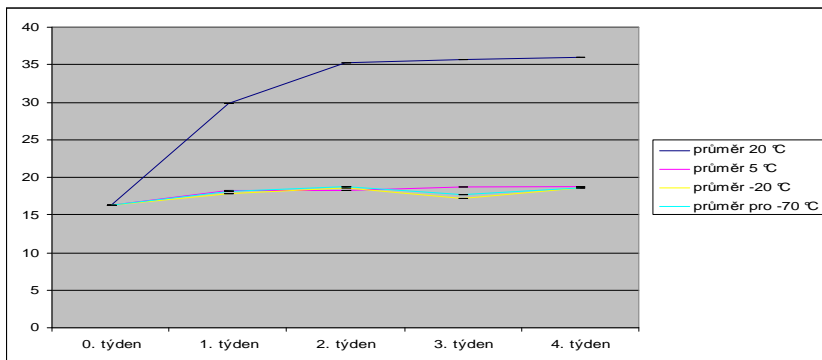


V tabulce 2 jsou naměřeny hodnoty při 1000x ředění. Tyto hodnoty lze interpretovat stejně jako u ředění 100x. Tj. nejvíce degradoval vzorek, který byl uchován při teplotě 20 °C, a zbylé vzorky ostatních teplot (5 °C a -20 °C a -70 °C) zůstaly jen s nepatrnou degradací. (i zde musíme zohlednit možnou pipetovací chybu např. ve třetím týdnu).

Tab. 2 průměrné C_t hodnoty $\pm SD$, 0-4 týden, 4 teploty (20 °C, 5 °C, -20 °C a -70 °)

	\bar{C}_t 20 °C	SD 20°C	\bar{C}_t 5 °C	SD 5°C	\bar{C}_t -20 °C	SD -20°C	\bar{C}_t -70 °C	SD -70°C
0. týden	16,31	4,398	16,31	4,398	16,31	4,398	16,31	4,398
1. týden	29,8	4,483	18,255	6,382	17,905	7,581	18,145	7,457
2. týden	35,26	4,462	18,245	5,002	18,595	7,053	18,85	6,970
3. týden	35,585	2,852	18,715	6,964	17,13	6,521	17,695	6,299
4. týden	35,96	3,054	18,865	6,905	18,545	6,245	18,615	6,555

Graf 2 \bar{C}_t hodnoty $\pm SD$, 0-4 týden, 4 teploty (20 °C, 5 °C a -20 °C a -70 °C), ředění 0.001

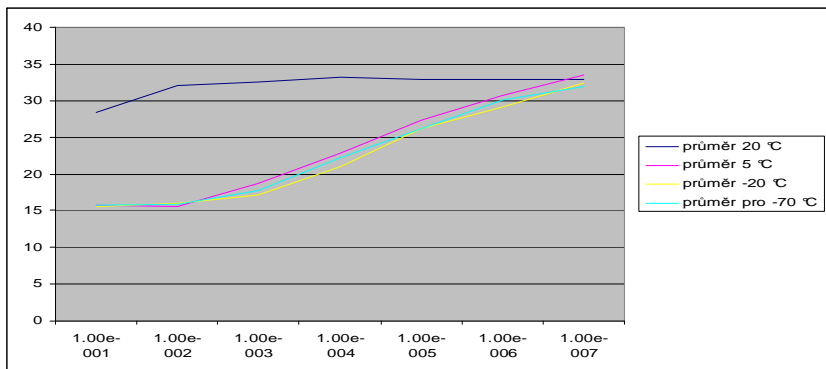


Při studiu bylo také sledováno, zda je vztah mezi koncentrací vzorku a degradací. Tato hypotéza se nám však nepodařila potvrdit. Bylo provedeno ředění do sedmého řádu. Tyto hodnoty nám vykazují, že s vyšším řádem ředění se vytváří stále méně produktu, tudíž vysoké stupně ředění při této studii se nedoporučují. Je zde patrné, při kterém ředění jsou podmínky nevhodnější.

Tab. 3 Druhý týden, průměr Ct hodnoty, ředění do sedmého řádu.

	Ø Ct 20 °C	Ø Ct 5 °C	Ø Ct -20 °C	Ø Ct -70 °C
1.00e-001	28,325	15,84	15,53	15,8
1.00e-002	32,075	15,49	16,005	15,945
1.00e-003	32,585	18,715	17,13	17,695
1.00e-004	33,155	22,88	21,035	22,25
1.00e-005	32,86	27,42	26,165	26,125
1.00e-006	32,88	30,725	29,06	30,055
1.00e-007	32,96	33,525	32,38	31,91

Graf 3 Druhý týden, Ø Ct hodnoty, ředění do sedmého řádu.



Degradace RNA

Vyizolovaná RNA resp. rRNA ze svalu (*m. biceps femoris*) prasete byla nanesena na gelovou elektroforézu. Základní profil složení savčí buňky RNA obsahuje především rRNA 28S, 18S, 5,8S a 5S (Creighton, 1999). Tyto hodnoty jednotlivých molekul RNA jsou obarvené pozorovatelné na gelové elektroforéze (Rapley, 1998). Pro sledování jsou dnes k dispozici i modernější, nutno však podotknout, že i nákladnější, metody, jako např. RIN metoda (Bustin *et al.*, 2004). Výsledek byl po ukončení elektroforézy zjišťován na transluminátoru a poté vyfotografován. Vzorky byly uchovány při inkubačních teplotách 20 °C, 5 °C a -20 °C a -70 °C po dobu 1, 2, 3 týdnů. Při porovnání výsledků z každého časového intervalu zjistíme, do jaké míry byl vzorek degradován. Za předpokladu, že RNA resp. rRNA není degradována, profil zůstává zachován. V opačném případě se ostře

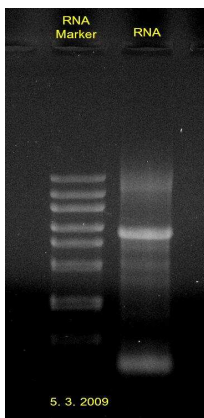
definované pruhy rRNA mění v tzv. smír, což je směs různě dlouhých molekul nukleových kyselin, resp. RNA.

To je patrné na fotografii gelu č. 2., 3 a 4. Vzorek skladovaný při teplotě 20 °C je přeměněn na tzv. smír, ostatní vzorky si uchovaly viditelné profily.

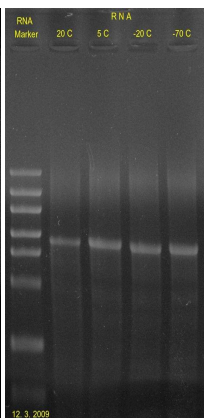
Patrné jsou dva pruhy – tenčí, vrchní pro 28S rRNA - a 2x silnější, spodní pro 18S rRNA. Vzorek uchovávaný při teplotě 20 °C degradoval do jednoho týdne nejvíce. V dalších týdnech je již patrné, že byl degradován zcela. Vzorek uchovávaný při teplotě 5 °C měl degradaci pozvolnější. První týden nepatrnou, v dalších týdnech již výraznější. Teploty -20 °C a -70 °C v posledním týdnu degradovaly jen nepatrně. Tyto výsledky se shodují se studii, které byly provedeny v poslední dekádě Bustin *et al.*, (2004) nebo Breit (2004). Stejně tak jako Bílek (2008) dospěl k podobným výsledkům a to, že není zásadní rozdíl při skladování RNA v lednici, anebo mrazáku.

Obrázek 1) 5. 3. 2009, zobrazení markeru (RNA Ladder, High Range), vyzolovaná RNA.;
Obrázek 2) 12. 3. 2009, č. 3) 19.3. 2009 a č.4) 26. 3. 2009, zobrazení markeru (RNA Ladder, High Range), RNA ve čtyřech vzorcích po čtyřech teplotách (20 °C, 5 °C a -20 °C a -70 °C), proužky; menší pro 28S rRNA a větší pro 18S rRNA.

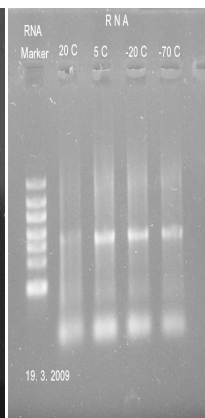
Obr. 1)



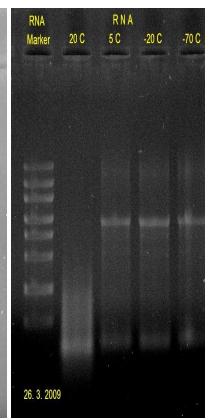
Obr. 2)



Obr. 3)



Obr. 4)



ZÁVĚR

V této studii byly vybrány vlivy ovlivňující degradaci nukleových kyselin v podobě teploty a času. Teploty se pohybovaly v hodnotách 20 °C, 5 °C, -20 °C a -70 °C. Časovou jednotkou byl zvolen jeden týden. K posouzení, zda k degradaci DNA došlo a do jaké míry, jsme určili velice přesnou metodu real-time PCR a k posouzení degradace RNA byla využita metoda gelové elektroforézy. Úsek genu *EEF1A2* byl definován jako vhodný u zkoumání degradace DNA a byl před vlastní analýzou amplifikován pomocí PCR reakce. Tento PCR produkt byl rozdělen a zkoumán v čase a v definovaných

teplotách. Po optimalizaci podmínek pro PCR a optimalizaci podmínek real-time PCR jsme získali výsledky v podobě Ct hodnot se směřodatnými odchylkami. Ty jsou reprodukovány v podobě tabulek a grafů.

K analýze ribonukleové kyseliny byl vybrán izolát RNA určovaná byla rRNA ze svaloviny prasete (*m. biceps femoris*). Ze zjištěných poznatků je patrné, že nejvíce degradované vzorky jak DNA, tak RNA byly ty, které byly uschovány při laboratorní teplotě. A to již po prvním týdnu velice markantně. V dalším týdnu byly zcela degradovány. Nejvhodnější teplota se nachází při -20 °C až -70 °C. Tyto hodnoty vykazovaly jen nepatnou degradaci. U RNA se výsledky pohybovaly velice podobně. RNA v laboratorní teplotě degradovala po týdnu zcela, za ostatních teplot pozvolněji.

Tato práce dospěla k cenným zjištěním, které je možné aplikovat na mnoha pracovištích. V analýzách bylo potvrzeno, že vodné skladování nukleových kyselin je skutečně podmínkou pro správné analýzy a ty jsou základem pro zdokonalování zjištěných metod a dalšího vývoje nových technologií.

LITERATURA

Almeida A., Thiery P., Magdelnat H., Radvanyi F.: Gene expression analysis by real-time reverse transcription polymerase chain reaction: influence of tissue handling. *Animal Biochem.*, 2004, p. 101-108.

Bílek K., Zrůstová J., Knoll A.: Determination of RNA stability using reverse transcription real-time PCR. *Acta Universitatis agriculturae et silviculturae Mendelianae Brunensis* č. 4. 2008.

Breit S., Ness M., Schaefer U., Pfoersich M., Hagemeyer CH., Muckenthaler M., Kulozik E.: Impact of pre-analytical handling on bone marrow mRNA gene Expression. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 2004, p. 231-243.

Bustin S.A., Nolan T.: Pitfalls of Quantitative Real-Time Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction. *J Biomol Tech.* 2004, p. 155-166.

Creighton T.E.: *The encyclopedia of molecular biology* (4-Volume Set). John Wiley & Sons, Inc. 1999, p.3500.

Rapley R., Manning D. L. :RNA Isolation and Characterization Protocols. Humana Press. 1998. p. 280.

Mabic S., Kano: Impact of Purified Water Quality on Molecular Biology Experiments. *Clinical chemistry and laboratory medicine*. 2003, p. 1434-6621.

Stratagene [online]. *Methods and Applications Guide – Introduction to Quantitative PCR*. 2007. <https://www.surveymonkey.com/s.asp?u=664272792012>. 10 MB.

INNERVATION OF UTERINE WALL IN ASPECT OF MUSCULAR LAYER CONTRACTION IN CAT'S REPRODUCTION CYCLE

Sobczyk I.¹, Kuropka P.², Szyszkowska A.¹

¹Department of Animal Nutrition and Feed Science, Faculty of Biology and Animal Science, Wrocław University of Environmental and Life Sciences, 25/27 C. K. Norwida Street, 50-375 Wrocław Poland

²Department of Animal Anatomy and Histology, The Faculty of Veterinary Medicine, 1 Koźuchowska Street, 51-631 Wrocław, Poland

E-mail: iga.sobczyk@up.wroc.pl

ABSTRACT

Female cats are seasonally polyestrous, which means they may have many periods of heat. The seas was beginning in January or February and ending in late October. The adult cat is seasonally polyestrous, cycling repeatedly throughout the breeding season, unless interrupted by pregnancy or illness. Several major phases compose the estrous cycle, and variations in the level of normal circulating hormones contribute to these different phases (proestrus, estrus, diestrus, anestrus, nonestrous). Proesterus is the period that precedes estrus when males are attracted to nonreceptive females. Nonestrous is the period of hormonal inactivity. The innervation of uterine wall depends on the phase of the reproductive cycle. Cat's reproductive cycle is stimulated by the longer period of daylight as winter turns to spring and is regulated by hormones produced both in the brain and in the ovary. These hormones not only produce the changes in the reproductive organs needed for pregnancy but also cause some dramatic departures in cat's normal behavior. Hormones influence fertility and reproductive behavior in both the dog and the cat, although their heat and reproductive cycles vary depending on environment on sexual behavior.

In cats, mating behavior is required to induce ovulating. Domestic cats usually reach sexual maturity (puberty) between five to 12 months, at which time they experience their first estrus. The ovulation is the liberation of one or more ovules from the ovaries to the oviduct and the fecundating is the moment in which the spermatozoids join with the free ovules. It is fundamental to indicate that the female cat, in contrast with female dog, does not have a spontaneous ovulation. This ovulation is induced by the mating.

Key words: innervation, cat reproduction cycle

INTRODUCTION

The aim of this study was define to localization and distribution the elements of nervous system (ganglion, cells) in the uterine wall. In the fact of growing interest of cat's breeding it is impossible to avoid subject area relating physiology and cat's reproduction. The morphological modification in innervations of kitten uterus and it's dynamic changes are poorly understood. Modification in structure of reproduction organ are well-known however/but change relating innervations dependent on reproduction's phase is the subject of this study.

MATERIAL AND METHODS

The material was uterine horns taken from 11 cats in different stages of reproductive cycle.

The investigation of dynamics contraction in uterus realized by Videokstensometer (*Messphysik ME 46*) and contractile reaction on electric impulse were recorded by PC computer. It is a visual reading tension by numbered vision analysis .The mean property is: simplicity in use, accurate and non-contact during measurement investigation. After analysis in videokstensometer material was fixed and satined with osmium tetraoxide for the presence of nerve fibers in uterine horns

RESULT AND DISCUSSION

The investigations confirm necessity realization analysis which including uterus contraction and hormone's impact. In the first anoestral group, uterine horn has very regular, repeatability contraction. The second group, diestral uterus characterized an average in force contraction. Smooth muscle cells during pregnancy, undergo strong hypertrophy, what prepare the reproductive organ to the moment of parturition. The histological analysis of uterine horns in different stages of reproductive cycle confirm the fact, that number of nerves innervating uterine wall vary and have influence on muscle activity.

REFERENCES

- Christiansen I.: Reproduction in the Dog and Cat, Bailliere Tindall, London 1984, 248-251
- Drury R.: Histological technique, Oxford University, 1967
- Little S.: Rozród kotów, Weterynaria po Dyplomie 2002, 3, 10-17
- Scot J.: The action of glandular upon the contraction of the uterus, Philadelphia, 1908

THE INFLUENCE OF PITFALL TRAPS ON THE SOIL EPIGEAL FAUNA

Šafář J., Hula V., Šťastná P., Vítková Z.

Department of Zoology, Fisheries, Hydrobiology and Apiculture, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry Brno, Zemedelska 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: jardasafar@centrum.cz

ABSTRACT

The thesis deals with the influence of ground traps on the soil epigeal fauna. The results are compared with those in the bachelor thesis researching into the quantitative and qualitative evaluation of the most frequently used types of ground traps through the use of the so-called Latin Quarter, which in the total number of 81 pieces of traps demonstrates the differences between the traps. The Latin Quarter, which was also used for the needs of this thesis, used three kinds of preserving agents (formaldehyde, ethylene glycol and salt concentrate) and three kinds of marquises over the used Barber trap (one made of plexiglass, one without a marquise or a wooden board laid on the vegetation over the trap). The experiment was carried out at the locality of Kameničky, near the Žďárské vrchy protected landscape area, with an only collection from the ground traps between 30th April and 5th June 2008. A redund analysis (RDA) from the Cannoco package was used for the statistical evaluation.

Through the use of the Latin Squares, differences in the reaction to the preserving agent were noted. An attractive influence of formaldehyde on several species of the studied target order Carabidae was proved. *Poecilus cupreus*, *Amara lunicollis*, *Pterostichus diligens* and *Bembidion guttula* were trapped in higher numbers. Ethylene glycol was attractive for *Carabus granulatus*.

Key words: Carabidae, pitfall trap, formaldehyde, ethylene glycol, salt

ÚVOD

Zemní pasti jsou metodou sběru hmyzu tradičně využívanou pro sledování biodiverzity epigeicky žijících živočichů (na zemi žijících). Je využíváno mnoho metodik (konzervačních médií, stříšek nad pastmi apod.), přičemž jen velmi málokdy jsou zohledněny sofistikované výzkumy řešící rozdílnosti mezi těmito metodikami.

Smyslem práce bylo zjistit, zda konzervační látky či typy stříšek mají atraktivní či pozitivní vliv na více zástupců cílové skupiny brouků čeledi *Carabidae*. Tato práce se týká právě užití různých typů zemních pastí a různých konzervačních médií. Smyslem je najít rozdíly, pokud existují, při sběru do zemních pastí s různou stříškou a médiem. Sběr ze zemních pastí je využíván pro hodnocení druhového spektra (faunistický výstup = kvalitativní zhodnocení) či početnosti resp. abundanci zástupců každého druhu (kvantitativní zhodnocení).

Odchyt do zemních pastí se stal nedílnou součástí biomonitoringu přesto, že u preferovaného typu pastí (formalínová s kovovou stříškou) není ujasněno zda nedochází k rozdílnostem v odchyceném materiálu.

MATERIÁL A METODIKA

Studovaná lokalita se nacházela poblíž obce Kameničky (okres Chrudim, CHKO Žďárské vrchy, GPS lokalizace Loc: 49°43'31.215"E). Poblíž sledované lokality se nachází chráněný krajinný útvar Vojtěchův kopec 657 m. n. m. Zemní pasti o stejné velikosti se lišily typem konzervační látky a typem zastřešení. Byly využity tři konzervační média: 4 % formaldehyd, 5 % ethylenglykol a nasycený roztok chloridu sodného (sůl). Zastřešení pastí bylo buď stříškou z plexiskla na čtyřech dřevěných nožkách, nebo dřevěnou deskou volně loženou nad pastí na vegetaci, nebo past nebyla zakryta. Pasti byly umístěny tak, aby se v linii opakovaly všechny modifikace, kterých bylo devět a byly umístěny v devíti liniích – tzv. latinský čtverec (Obr. 2). Vzdálenost mezi pastmi byla 5 m. Bylo tak vytvořeno opakování modifikací pastí vždy v úhlopříčném směru ve čtverci o celkovém počtu 81 ks. Pasti byly uloženy na lokalitě měsíc od 30.4.2008 do 5.6.2008.

Pro vizualizaci a statistické zpracování dat bylo použito programového balíku Canoco for Windows – ver. 4.54 (Ter Braak & Šmilauer, 1998). Byla provedena základní PCA analýza, pomocí které jsme zjistili délku gradientu (>3), z čehož vyplynulo, že pro další analýzu musíme využít metodu RDA.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Celkem bylo na sledované lokalitě odchyceno 21 druhů střívků v celkovém počtu 1123 kusů. Celkový přehled odchycených druhů je uveden v Tab. I. Nejpočetnějšími druhy byli *Poecilus cupreus* v počtu 915 ks a *Carabus granulatus* v počtu 99 ks. Pasti byly velice různorodé z hlediska početnosti odchycených jedinců příslušných druhů.

Reakce druhů na konzervační látku s použitím nejrůznějšího typu stříšky nad pastí je zřejmé z Obr. 1. Formaldehyd jako konzervační látka se stříškou nad pastí je pro nejvíce druhů lákavý a tento test má největší vypovídací schopnost (Tab. II.). K formaldehydu inklinují druhy: *Poecilus cupreus*,

Amara lunicollis, *Dyschirius globosus*, *Oodes helopioides*, *Harpalus latus*, *Pterostichus diligens*, *Pterostichus niger* a *Bembidion guttata*. Po testu na samostatná konzervační média (test vyšel signifikantně, ale nedosahoval takových hodnot jako v testu pro média i stříšky dohromady) bylo zřejmé, že na formaldehyd kladně reagovaly druhy dle početnosti *Poecilus cupreus* (915 ks), *Amara lunicollis* (22 ks), *Pterostichus diligens* (13 ks) a *Bembidion guttata* (11 ks). K dřevěné desce, která volně ležela nad pastí byl spekulativní pozitivní efekt druhu *Abaxparallelepipedus*. K nekryté pasti měl pozitivní směr *Agonum sexpunctatum*, *Poecilus versicolor*, *Anisodactylus binotatus*, *Carabus cancelatus* a *Pseudoophonus griseus*.

Formaldehyd, který je pro více zástupců střevelíků atraktivní není přírodní látkou proto je s podivem, že může mít atraktivní vliv na epigeickou faunu. Ovšem aldehydy jsou látky, se kterými hmyz běžně komunikuje a proto zřejmě dochází k chybnému vnímání formaldehydu. Atraktivnost či odpudivost stříšky nad pastí může být způsobena tím, že vytvoří nad pastí jiné mikroklima jako se tak děje zvláště u kovových stříšek či stříšek z plexiskla.

Dále se v literatuře hovoří o vyšší koncentraci jedinců kolem pastí s atraktivním médiem, která vede ke stresu mezi jednotlivými druhy, vyšší aktivitě v biotopu a vyšší odchycené početnosti určitých druhů, i nereagujících na atraktivní médium (jsou druhy reagujícími opět stresováni), a zároveň potlačením aktivity některých druhů (Thiele, 1977). Je nutné brát v úvahu pozitivní efekt formaldehydu na odchycené střevelíky. Tímto způsobem nutně vzniká tzv. chyba prvního druhu. Z pohledu statistického hodnocení se o reálnou chybu sice nejedná (chyba se stále opakuje, takže vlastně neexistuje), ale z pohledu faunistických či kvantitativně ekologických dat se jedná o jisté zkresení.

Tab. 1 Počty odchycených jedinců příslušných druhů

Druhy	Počet jedinců v zemních pastech
<i>Abaxparallelepipedus</i> (Miller et Mitterpacher, 1783)	15
<i>Agonumsexpunctatum</i> (Linnaeus, 1758)	1
<i>Amara communis</i> (Panzer, 1797)	7
<i>Amara lunicollis</i> (Schiodte, 1837)	22
<i>Amara ovata</i> (Fabricius, 1792)	1
<i>Anisodactylusbinotatus</i> (Fabricius, 1787)	2
<i>Bembidion guttata</i> (Fabricius, 1792)	11
<i>Carabus cancelatus</i> (Illiger, 1798)	5
<i>Carabus glabratus</i> (Paykull, 1797)	5
<i>Carabus granulatus</i> (Linnaeus, 1758)	99
<i>Clivina collaris</i> (Herbst, 1784)	1
<i>Clivina fossor</i> (Linnaeus, 1758)	1
<i>Dyschirius globosus</i> (Herbst, 1794)	2
<i>Harpalus latus</i> (Linnaeus, 1758)	1
<i>Oodes helopioides</i> (Fabricius, 1792)	3
<i>Poecilus cupreus</i> (Linnaeus, 1758)	915
<i>Poecilus versicolor</i> (Sturm, 1824)	4
<i>Pterostichus diligens</i> (Sturm, 1824)	13
<i>Pseudoophonus griseus</i> (Panzer, 1797)	1
<i>Pterostichus nigrita</i> (Paykull, 1790)	8
<i>Pterostichus vernalis</i> (Panzer, 1796)	6
Celkový počet jedinců	1123
Celkový počet druhů	21

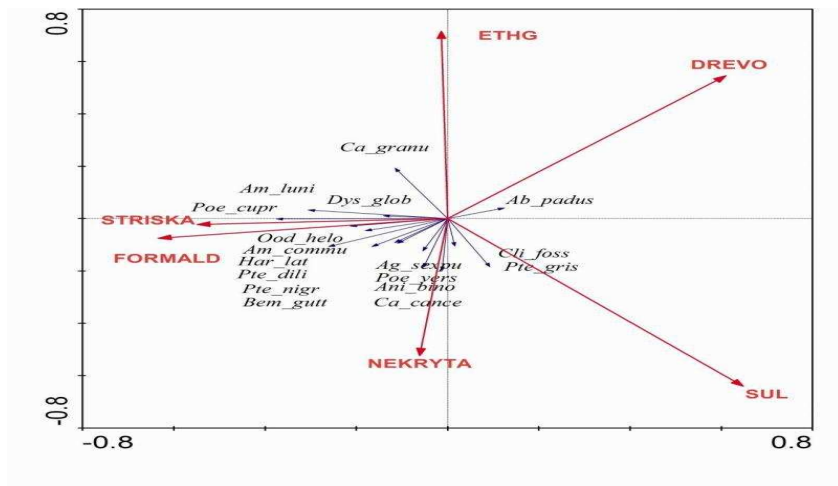
Tab. 2 Test pro konzervační médium i typy stříšek

Osy	I	II	III	IV	Total inertia
Eigenvalues	0.136	0.001	0.000	0.000	0.137

Test of significance of all canonical axes :

Trace = 0.137
 F-ratio = 3.020
 P-value = 0.0240

Obr. 1 Výsledek RDA analýzy reakce fauny střevlíkovitých brouků na konzervační médium i typy stříšek.



Tab. 3 Zkratky druhů použité pro RDA analýzu

Druhy	Zkratky
<i>Abax parallelepipedus</i> (Miller et Mitterpacher, 1783)	Ab_padus
<i>Agonum sexpunctatum</i> (Linnaeus, 1758)	Ag_sexpu
<i>Amara communis</i> (Panzer, 1797)	Am_commu
<i>Amara lunicollis</i> (Schiodte, 1837)	Am_luni
<i>Amara ovata</i> (Fabricius, 1792)	Am_ovata
<i>Anisodactylus binotatus</i> (Fabricius, 1787)	Ani_bino
<i>Bembidion guttula</i> (Fabricius, 1792)	Bem_gutt
<i>Carabus cancelatus</i> (Illiger, 1798)	Ca_cance
<i>Carabus glabratus</i> (Paykull, 1797)	Ca_glabr
<i>Carabus granulatus</i> (Linnaeus, 1758)	Ca_granu
<i>Clivina collaris</i> (Herbst, 1784)	Cli_coll
<i>Clivina fossor</i> (Linnaeus, 1758)	Cli_foss
<i>Dyschirius globosus</i> (Herbst, 1794)	Dys_glob
<i>Harpalus laeus</i> (Linnaeus, 1758)	Har_lat
<i>Oodes helopioides</i> (Fabricius, 1792)	Ood_helo
<i>Poecilus cupreus</i> (Linnaeus, 1758)	Poe_cupr
<i>Poecilus versicolor</i> (Sturm, 1824)	Poe_vers
<i>Pterostichus diligens</i> (Sturm, 1824)	Pte_dili
<i>Pseudoophonus griseus</i> (Panzer, 1797)	Pte_gris
<i>Pterostichus nigrata</i> (Paykull, 1790)	Pte_nigr
<i>Pterostichus vernalis</i> (Panzer, 1796)	Pte_vern

Obr. 2 Latinský čtverec

Linie	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	△	□	○	△	□	○	△	□	○
2	○	△	□	○	△	□	○	△	□
3	□	○	△	□	○	△	□	○	△
4	△	□	○	△	□	○	△	□	○
5	○	△	□	○	△	□	○	△	□
6	□	○	△	□	○	△	□	○	△
7	△	□	○	△	□	○	△	□	○
8	○	△	□	○	△	□	○	△	□
9	□	○	△	□	○	△	□	○	△

Vysvětlivky: (△) past se stříškou, (○) nekrytá past, (□) past s deskou

 Ethylenglykol,
  Formaldehyd,
  sůl

ZÁVĚR

Tato práce demonstruje možnosti zkreslení kvantitativních výsledků odchycené epigeické fauny do zemních pastí. Pokus byl veden na lučném biotopu PR Volákův kopec na lokalitě Kameničky v Českomoravské vrchovině.

Statistická metoda, která byla užitá se nazývá analýza redundance (RDA), která prokázala vazbu jednotlivých druhů na konstrukční typy pastí a konzervační médium. Největší vypovídající schopnost měl test, který testoval konzervační médium a stříšku nad pastmi zároveň. Při zjištění vazby mezi použitými stříškami nad pastmi a druhy byl zjištěn nesignifikantní rozdíl. Při testování na samotná média vyšel rozdíl signifikantně, i když nebylo dosaženo tak velkých hodnot jako při testu na média i stříšky dohromady. Tato práce prokázala atraktivní vliv některých druhů cílové skupiny stěvlíkovitých (Carabidae) na konzervační médium. Na formaldehyd jako konzervační médium kladně reagovala celá skupina stěvlíků jako druhy: *Poecilus cupreus*, *Amara lunicollis*, *Pterostichus diligens* a *Bembidion guttula* z druhů chytaných početněji.

V literárním přehledu mé diplomové práce je komentován vliv feromonů na jedince, který může být příčinou atraktivity konzervačních médií a z toho vyplývající větší pohyblivost jedinců, která

má za příčinu ovlivnění ostatních druhů, které na konzervační látku nereagují a jsou přesto do pastí více chytány. Atraktivnost formaldehydu pro stěvlíky byla zřejmě způsobena chybným vnímáním chemických sloučenin.

LITERATURA

ADIS J., 1976: *Bodenfallenfänge in einem Buchenwald und ihr Aussagewert*. Ökologie – Arbeiten, Berichte, Mitteilungen (Sollingprojekt- Zool. Beitr.), Ulm, 49 s.

ADIS J., 1979: Problems of interpreting arthropod sampling with pitfall traps. *Zool. Anz.* (Jena), 202: 177-184.

BARBER H. S., 1931: Traps for cave-inhabiting insects. *Journ. Of The Elisha Mitchell Soc.*, 46: 259-266.

BRIGGS, J. B., 1961: A comparison of pitfall trapping and soil sampling in assessing populations of two species of ground beetles (Coleoptera: Carabidae) s. 108 – 112. In: *Rep. East Malling Res. Stn. for 1960*.

HOLLAND M. J., 2002: *The Agroecology of Carabid Beetles*. Intercept Limited, Hampshire, 356 s.

HEYDEMANN B., 1956: Über die Bedeutung der „Formalinfallen“ für die zoologische Landesforschung. *Faunist. Mitt. Norddeutschland*, 6: 19-24.

PETRUŠKA F., 1967: Stěvlíkovití jako součást entomofauny řepných polí Uničovské roviny (Coleoptera, Carabidae). *Acta UP v Olomouci*. 25: 121 – 243.

SKUHRAVÝ V., 1957: Metoda zemních pastí. Die Fallenfangmethode. *Čas. Čs. Spol. ent.* 54: 27 – 40.

SKUHRAVÝ V., 1970: Zur Anlockungsfähigkeit von Formalin für Carabiden in Bodenfallen. *Beitr. Ent.* 20: 374 – 381.

TER BRAAK, C J. F., ŠMILAUER, P., 1998: *CANOCO Reference Manual and User's Guide to Canoco for Windows: Software for Canonical Community Ordination (version 4)*, Ithaca, USA, Microcomputer Power, 352 s.

THIELE H. U., 1977: *Carabid Beetles in Their Environments*. Springer – Verlag Berlin, Heidelberg, 354 s.

WEEKS, R. D., McIntyre, N. E., 1997: A comparison of live versus kill pitfall trapping techniques using various killing agents. *Entomol. Exp. Appl.*, 82: 267-273.

ASSOCIATION BETWEEN LACTOFERRIN GENE POLYMORPHISM AND BOVINE MAMMARY GLAND INFLAMMATION

Šrubařová P., Dvořák J.

Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: s.petra@volny.cz

ABSTRACT

Lactoferrin, glycoprotein, plays an important role in defense mechanism of mammary gland of milk producing animals. The amount of lactoferrin increases during inflammatory process and viral infections. *Lactoferrin* gene (*LTF*) is localized on the 22q24 bovine chromosome. In locus of *LTF* gene two different allelic variants were mapped. These variants code three different genotypes – *AA*, *AB* and *BB*. Genotype *AA* is associated with lower somatic cell count, genotype *AB* with higher somatic cell count. It was confirmed that *LTF* gene can be used as a genetic marker for somatic cell concentration in milk and as a marker for susceptibility/resistance to mastitis in dairy cows. Mastitis is one of the main reasons of decreasing cow's milk quality. Mastitis has an influence to composition and technological properties of milk. The aim of this study was to analyze *lactoferrin* gene polymorphism and evaluate interactions between genotypes of this gene and selected traits in chosen group of dairy cattle.

DNA was isolated from milk (n=49) using JETQUICK Blood & Cell Culture DNA Spin Kit (Genomed GmbH, Germany). PCR was performed according to SEYFERT and KUHN (1994). PCR product was restricted by *EcoRI*, fragments were visualized on 3% agarose gel. Genotypes were associated with somatic cell count, yield of milk and lactation. Data were processed by Proc GLM SAS 9.1.4. Two genotypes of *LTF* gene were found in this study: *AA* and *AB*, of frequencies equal to 57.14% and 42.86%, respectively. Genotype *BB* was not detected. It was established that no statistically significant association exist between the somatic cell count and *LTF* genotype, lactation and yield of milk. Some of the reasons of differences between studies could be different amount of animals, variation in frequencies of genotypes and alleles and fact that mastitis is multifactorial disease caused especially by pathogens. According to results of this study *lactoferrin* gene cannot be used as a marker for resistance/susceptibility to mastitis in dairy cattle.

Key words: *Lactoferrin* gene, Mastitis, Somatic Cell Count

Acknowledgments: Author would like to thank Anna Zielak-Steciwo from Institute of Animal Breeding, Faculty of Biology and Animal Science, University of Environmental and Life Sciences in Wrocław, Poland, for helpful advice and cooperation. This study was supported by Ministry of Agriculture of the Czech Republic (project No. 1G58073).

ÚVOD

Laktoferin, glykoprotein dříve známý jako laktotransferin, patří do skupiny transferinů. Molekulární hmotnost proteinu je 80 kDa (1). Podobně jako transferin je i laktoferin složen ze dvou vazebných míst pro železo (Fe^{3+}) a z bikarbonátového aniontu. Je hlavním proteinem v sekundárních granulech neutrofilů (4). Významným zdrojem laktoferinu jsou neutrofilové granulocyty. Laktoferin má různé biologické funkce. Hraje významnou roli v metabolismu železa, dělení a proliferaci buněk a vyznačuje se také antibakteriální, antivirovou a antiparazitickou aktivitou (1). Laktoferin hraje důležitou roli v obranném mechanismu mléčných žláz zvířat produkujících mléko. Bakterie potřebují železo pro růst a laktoferin dokáže inhibovat výskyt těchto bakterií díky chelaci železa, může přímo zabít některé kmeny bakterií (2). Množství laktoferinu se výrazně zvyšuje během zánětlivého procesu a virového onemocnění (8). Poprvé byl laktoferin izolován z kravského mléka, následně potom i z mléka mateřského. Kromě mléka byl detekován např. ve slinách, slzách, nosních a průduškových sekretech, gastrointestinální tekutině, žluči a moči. Slezina a kostní dřeň obsahují velké množství tohoto proteinu. Množství laktoferinu v mléce je rozdílné mezidruhově – vyšší je u lidí, prasat a myší, nižší potom v kravském mléce a mléce ostatních přežvýkavců (3). Množství laktoferinu v kravském mléce se může výrazně zvýšit při výskytu mastitidy a stání na sucho (7).

Gen *laktoferin (LTF)* se skládá ze 17 exonů. Velikost genu je variabilní mezi druhy skotu, myším a lidským genem, a to od 23 do 35 kb. Hlavní rozdíl leží mezi exony 2 a 11, protože myší, kravský a prasečí *LTF* obsahuje o jednu až dvě aminokyseliny méně než *LTF* lidský (4). Exprese genu *LTF* byla poprvé detekována ve stádiu 2 - 4 buňky embryonálního vývoje (6). *LTF* gen skotu se nachází na chromozomu 22q24. V rámci tohoto genu byla zmapována mutace. V lokusu tohoto genu byly nalezeny dvě alely, alela A a alela B, které kódují tři rozdílné genotypy – AA, AB, BB. Genotyp AA je spojován s nízkým výskytem somatických buněk v mléce, kdežto u genotypu AB je počet somatických buněk nejvyšší. Počet somatických buněk se zvyšuje s narůstajícím věkem dojnice a obdobím laktace. Bylo potvrzeno, že *LTF* gen může sloužit jako genetický marker pro koncentraci somatických buněk v mléce a také jako marker pro rezistenci/náchylnost mléčných krav k mastitidě, onemocnění mléčné žlázy (5). Koncentrace laktoferinu v mléce je ovlivněna stádiem laktace a počtem somatických buněk (2).

Mastitida je jedno z onemocnění, které může postihnout dojný skot. Ve většině případů je způsobena především infekčními patogeny, mezi které patří zejména *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis* a *Escherichia coli* (9). Rozdíly ve výskytu tohoto onemocnění jsou značné. Mléčná plemena pocházející z východní Francie (např. Montbeliarde) a střední Evropy (např. Simmental, Brown Swiss) mají nižší počet somatických buněk v mléce a výskyt klinické mastitidy než holštýnský skot. Existují i rozdíly v rámci plemene, které jsou způsobené zejména prostředím. Přímá selekce zvířat proti mastitidě je složitá, protože ve většině zemí nejsou případy výskytu mastitidy zaznamenávány a heritabilita tohoto onemocnění je velmi nízká (10).

Mastitida je jednou z hlavních příčin snižování kvality mléka skotu. Kromě smyslových vlastností mléka jsou narušeny i jeho fyzikální, biologické a nutriční vlastnosti a složení. Snižena je i jeho

technologická zpracovatelnost. Zdraví člověka je ohroženo patogeny, které se vyskytují v mléce nebo toxiny, které tyto patogeny produkují, popřípadě i rezidui antibiotik používaných při léčbě mastitid.

Cílem této práce bylo stanovit polymorfismus genu *laktoferin* u vybraného souboru dojného skotu a zjistit vztah mezi stanovenými genotypy a vybranými vlastnostmi mléka.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky mléka byly získány s klinicky zdravých dojnic hollštýnského plemene skotu (n=49). Vzorky byly odebírány bez ohledu na věk dojnic a laktaci. Získané vzorky byly před následnými analýzami uchovány v mrazáku při -20 °C.

DNA byla izolována z mléka kolonkovou metodou pomocí kitu JETQUICK Blood & Cell Culture DNA Spin Kit (Genomed GmbH, Germany). Fragment genu *LTF* o délce 301 bp (base pair) byl namnožen pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) podle metodiky SEYFERT and KUHN (1994). PCR reakce proběhla v termálním cyklueru MJ Research PTC-200 Peltier Thermal Cycler®. Získaný PCR produkt byl štěpen restrikční endonukleázou *EcoRI* (Fermentas) při 37 °C po dobu 3 hodin. Tento restrikční enzym rozpozná mutaci v genu *LTF* a rozštěpí PCR produkt o délce 301bp na fragmenty o délkách 201bp a 100bp. Pokud není fragment štěpen restrikční endonukleázou, tzn. pokud se v úseku DNA nenachází mutace, jedná se o alelu *A*. Alela *B* je charakterizována dvěma fragmenty (201bp a 100bp). Získané fragmenty byly vizualizovány elektroforeticky na 3 % agarozovém gelu.

Stanovené genotypy byly porovnávány s počtem somatických buněk, množstvím nadojeného mléka a stádiem laktace dojnic. Data byla zpracována GLM procedurou programu SAS 9.1.4. Pro výpočet byla použita následující rovnice:

$$y = \mu + E_1 + E_2 + E_3 + e$$

kde:

y = počet somatických buněk (pozorovaná hodnota)

μ = průměr počtu somatických buněk

$E_1 - E_3$ = efekty: laktace, množství nadojeného mléka a *LTF* genotyp

e = náhodná reziduální chyba

VÝSLEDKY A DISKUZE

U sledovaného souboru zvířat byly u genu *LTF* detekovány genotypy *AA* a *AB*, genotyp *BB* se nevyskytl. Frekvence jednotlivých genotypů byly následující: genotyp *AA* 57.14 % a genotyp *AB* 42.86 %. Frekvence alely *A* byla 78.57 %, alely *B* byla 21.43 %. Při srovnání výsledků frekvencí alel s WODJDAK-MAKSYMIEC *et.al.* (2006) se data výrazně neliší (alela *A* 67.74 %; alela *B* 32.56 %). Rozdíl je ve frekvencích genotypů, a to z důvodu nepřítomnosti genotypu *BB* v řešené studii. To může být způsobeno výběrem zvířat pro tuto studii. Výběr byl náhodný, rozložení genotypů v populaci by mělo být rovnoměrné, a to v tomto případě není. Rozšířením počtu jedinců by se populace mohla dostat do genetické rovnováhy.

Podle WODJDAK-MAKSYMIEC *et al.* (2006) existuje statisticky průkazná asociace mezi počtem somatických buněk a *LTF* genotypem a laktací. Podle CHENG *et al.* (2007) byl gen *LTF* významně asociován s laktací a denní produkcí mléka. Podle WODJDAK-MAKSYMIEC *et al.* (2006) je genotyp *AA* spojován s nízkým počtem somatických buněk v mléce, genotyp *AB* s vyšším počtem somatických buněk v mléce. Analýzou dat použitých v této studii nebyl stanoven statisticky průkazný rozdíl mezi genotypem genu *LTF* a počtem somatických buněk, množstvím nadojeného mléka a laktací. Pouze v případě asociace mezi počtem somatických buněk a genotypy *AA* a *AB* v první laktaci se vypočítaná hodnota blížila statistické průkaznosti (0.0569).

Jednou z možných příčin rozdílného výsledku analýz mezi výše zmíněnými publikacemi a vypracovanou studií může být velikost souboru zvířat použitých k analýze, dále pak v rozdílnost plemen a to, že se studovaná populace nenachází v genetické rovnováze. Navýšením počtu jedinců může dojít k tomu, že populace bude v genetické rovnováze, tzn. že při laboratorní analýze budou detekovány všechny možné alely a genotypy genu *laktoferin*. Další příčinou toho, že výsledek asociací analýz nebyl statisticky průkazný, může být i to, že mastitida je onemocnění, které není způsobeno jen jednou příčinou. Je to polyfaktorové onemocnění, na jejím vzniku se podílí celá řada činitelů vnějšího prostředí, a proto asociací analýza vybraného genu a vlastností nemusí být statisticky průkazná.

ZÁVĚR

Mastitidy představují problém především ve snížení kvality mléka a jeho zpracování. Podle recentních publikací je gen *laktoferin* vhodným markerem pro množství somatických buněk v mléce, tedy jako marker pro náchylnost/rezistenci mléčného skotu k mastitidám. Cílem této práce bylo stanovit polymorfismus genu *laktoferin* u vybrané populace holštýnského skotu a provést asociací analýzu mezi stanovenými genotypy genu *LTF* a vybranými znaky (počet somatických buněk, množství nadojeného mléka, laktace). Výsledky získané v této studii hypotézu, že *LTF* gen je vhodným molekulárně-genetickým markerem pro náchylnost/rezistenci dojného skotu k mastitidám, nepotvrzují. Jednou z příčin, proč nebyla prokázána žádná asociace mezi polymorfismem genu *LTF* a vybranými znaky, může být velikost populace, popřípadě plemeno dojného skotu a také fakt, že mastitida je ve většině případů způsobena různými činiteli vnějšího prostředí. V další studii bude otestován větší soubor zvířat, provedena asociací analýza a výsledky porovnány s recentní literaturou.

LITERATURA

- (1) ADLEROVA, L., BARTOSKOVA, A., FALDYNA, M. Lactoferrin: a review. *Veterinarni Medicina*. 2008, no. 53, s. 457-468.
- (2) CHENG, J.B., et al. Factors affecting the lactoferrin concentration in bovine milk. *J.Dairy Sci.* 2007, no. 91, s. 970-976.
- (3) ÖZTAS, Y.E., ÖZGÜNES, N. Lactoferrin: a multifunctional protein. *Adv.Mol.Med.* 2005, no. 4, s. 149-154.
- (4) TENG, Ch.T. Lactoferrin gene expression and regulation: an overview. *Biochem.Cell Biol.* 2002, no. 80, s. 7-16.

- (5) WODJAK-MAKSYMIEC, K., KMIEC, M., ZIEMAK, J. Associations between bovine lactoferrin gene polymorphism and somatic cell count in milk. *Veterinari Medicina*. 2006, no. 51, s. 14-20.
- (6) WARD, P.P., PAZ, E., CONNEELY, O.M. Multifunctional roles of lactoferrin: a critical overview. *Cell.Mol.Life Sci.* 2005, no. 62, s. 2540-2548.
- (7) O'HALLORAN, F., et al. Characterisation of single nucleotide polymorphism identified in the bovine lactoferrin gene sequences across a range of dairy cow breeds. *Biochimie*. 2009, no. 91, s. 68-75.
- (8) KANYSHKOVA, T.G., BUNEVA, V.N., NEVINSKY, G.A.. Lactoferrin and its biological functions. *Biochemistry*. 2001, vol. 66, no. 1, s. 5-13.
- (9) CHANETON, L., et al. Relationship between milk lactoferrin and etiological agent in the mastitic bovine mammary gland. *J.Dairy Sci.* 1.1.2008, vol. 91, no. 5, s. 1865-1873.
- (10) RUPP, R., BOICHARD, D.. Genetics of resistance to mastitis in dairy cattle. *Vet.Res.* 1.1.2003, no. 34, s. 671-688.
- (11) SEYFERT, H.M., KUHN, C. Characterization of a first bovine lactoferrin gene variant, based on EcoRI polymorphism. *Animal Genetics*. 1994, no. 25, s. 54.

IDENTIFICATION OF A POSSIBLE NEW WAP ALLELE IN A ROMANIAN LOCAL PORCINE BREED

Suteu M., Vlaic A., Balteanu V., Pop F., Pauliuc S.

Animal Genetics, Faculty of Animal Sciences and Biotechnologies University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca, 3 - 5 Manastur Street, 400372, Cluj-Napoca, Romania

E-mail: suteu_usamv@yahoo.com

ABSTRACT

In the milk of almost all livestock species there are six major milk proteins. Four of them belong to the casein fraction (α s1-, α s2-, β - and κ -casein) and two are whey proteins (β -lactoglobulin and α -lactalbumin). In porcine milk a third major whey protein was discovered named whey acidic protein (WAP).

WAP is the major whey protein in the case of mouse, rat, rabbit and camel milk. This protein has only recently been identified in sow's milk. The mature protein contains 113 amino acids (aa), has a molecular mass of 22985.86 Da and an isoelectric point $pI=5.04$ (signal peptide not included – 19 aa). The accession number of this protein in Swiss-Prot data base is O46655. The gene encoding porcine WAP has a length of 2087 bp (Genbank accession number AF3200306) and has been localized using FISH in the telomeric region of the two chromosomes 18.

The purpose of our study was to use the isoelectric focusing technique (IEF) in order to investigate milk protein polymorphisms in porcine breeds reared in Romania, in order to detect new genetic variants. Using this technique we have previously identified a polymorphism in the β -casein region of the gel, two variants (A and B) being reported.

In this paper, using IEF, as described in our previous studies, we report a polymorphic variant in the case of porcine WAP. The milk sample which contains this new variant belongs to a Mangalita breed individual (a local Romanian porcine breed). Studies at DNA level are in progress in order to characterize this new porcine WAP variant, which has been named: B^{MS}.

Key words: WAP, porcine milk, milk proteins, isoelectric focusing, polymorphism

INTRODUCTION

In the milk of almost all livestock species there are six major milk proteins. Four of them belong to the casein fraction (α s1-, α s2-, β - and κ -casein) and two are whey proteins (β -lactoglobulin and α -lactalbumin). In porcine milk a third major whey protein was discovered named whey acidic protein (WAP). The purpose of our study was to use the isoelectric focusing technique (IEF) in order to investigate milk protein polymorphisms in porcine breeds reared in Romania, in order to detect new genetic variants. To our knowledge this aspect has never been investigated in our country so far, and little work was done abroad. During our studies we found different migrating profiles at the β -casein locus, which indicates that there could be two genetic variants at this locus. We have named the fastest migrating allele A and the slower migrating one B. Further studies at DNA level are required in order to confirm and fully characterize this polymorphism.

As is true for most species (except certain marine mammals), the most abundant constituent (77 %) of porcine (*Sus scrofa*) colostrum is water. Other major constituents include proteins (13.8 %), lipids (4.7 %), lactose (3.6 %), and minerals (0.7 %). As the transition from colostrum to mature milk occurs, only the relative proportion of proteins decreases (5.3 %), whereas water (81.7 %), lipid (6.6 %), lactose (5.5 %), and mineral (0.8 %) contents all increase. Caseins are the most abundant proteins (>60 % in swine) in most mammalian milks and consist primarily of a group of heterogeneous phosphoproteins (Aimutis et al., 1981).

β -lactoglobulin was the first milk protein in which a polymorphism was identified (A and B alleles), on paper electrophoresis by Aschaffenburg and Drewry (1955).

In porcine milk the first genetic polymorphisms were reported by Glasnak (1966) and Gerrits et al. (1967, 1969).

Glasnak (1966) reported a polymorphism in the β -casein fraction of sow's milk. Three variants were labeled as alleles A, B, and C. Gerrits et al. (1967, 1969) also noted the polymorphism in the β -casein fraction of sow's milk; however, only two codominant autosomal alleles designated as Cn3A and Cn3B were reported. These two alleles correspond to the B and C alleles reported by Glasnak (1966). In a subsequent study, Glasnak (1968) reported that his fastest moving component designated allele A was probably an artefact caused by precipitation of proteins from solution.

Kraeling and Gerrits (1969) reported a polymorphism in a protein of sow's whey. Two variants were identified, giving rise to the three possible phenotypes. The faster moving component was identified as Wh1A and the slower as Wh1B. Kalan et al. cited by Althen (1971) isolated each of these whey variants from sows homozygous for the individual variant. These variant proteins have been characterized for amino acid composition, C-terminal and N-terminal amino acids, molecular weight, and isoionic point. Kessler and Brew have also reported a whey protein from pig's milk which appears to be similar, if not identical, to the polymorph designated AA in the reports of Kalan (Althen, 1971).

According to Gallagher (1996) it is difficult to interpret the work of early authors on porcine milk proteins as no official protein nomenclature system was used, and therefore, some of the proteins were incorrectly named. For example, Glasnak (1966, 1968) reported the presence of β -I and β -II caseins, while Gerrits et al. (1969) reported a casein3 protein. However, β -I and casein3 protein were later

identified as β -casein. Also, the whey protein identified by Kraeling and Gerrits (1969) and Althen and Gerrits (1971) is the same protein, identified later as β -lactoglobulin.

We started our study having in mind the inconsistencies between work previously done in the case of porcine milk, due to the lack of a standard protein nomenclature and to the different methods used for identifying milk protein polymorphisms. Our aim is to identify polymorphisms that occur in porcine milk proteins using the isoelectric focusing technique (IEF). This electrophoresis method, as described by Balteanu et al. (2007), allows the separation of proteins according to their electric charge.

The technique is based on protein separation according to their electric charge, into a pH gradient. By applying a high power electric field (up to 20 W), the proteins migrate into a polyacrylamide gel until they reach the point where their net charge is zero, named isoelectric point (Vlaic et al., 2008). This way 6 major milk proteins and their alleles can be easily identified after staining with Commassie blue. The high resolution of IEF makes it very useful in milk proteins polymorphisms studies, in any breed or specie. In the future, in order to fully characterize the observed polymorphisms we aim to study them at DNA level.

MATERIALS AND METHODS

Four sows belonging to Bazna and Mangalita breeds (local Romanian unimproved breeds) were milked in order to compare these breeds with highly improved breeds. Milk sample collection was done individually, in 15 ml Falcon tubes. No preservatives were added. Samples were stored during transport at 4 °C and then frozen at -20 °C.

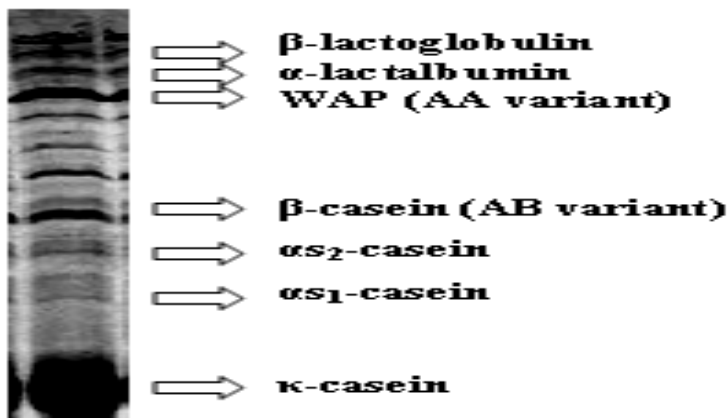
IEF was carried out, as described in our previous studies (Balteanu et al., 2007, Şuteu et al., 2009), in 4 % ultrathin (0.5 mm) polyacrylamide gels containing 8 M urea and a mixture of three ampholytes (Pharmacia LKB, Sweden): pH = 2.5 – 5; pH = 4.2 – 4.9 pH = 5.0 – 7.0. Ten microliters of each skim milk sample (obtained by centrifugation 15 minutes at 5000 rcf.), were diluted 1/10 with a solution containing 8 M urea and three microliters of β -mercaptoethanol. Whole casein was obtained by acid precipitation. The samples were vortexed and incubated at 4 °C for 24 hours. After the incubation period they were applied close to the anodic end of the gel, on small filter papers (5 x 6 mm).

IEF was carried out with a Multiphor II Electrophoresis System (Pharmacia LKB, Sweden), in 0.5 mm thick gels and 124 x 258 mm in size. After prefocusing at 14 °C and constant power (9 W) for 10 minutes, focusing was carried out at 16 W for 1 h and 20 minutes. During the run, the voltage rises from 350 V to 2500 V. After the run, the proteins were fixed in gel by immersing it in 10 % trichloroacetic acid for 30 minutes and then stained for 10 minutes in a solution containing 0.2 % (v/v) Commassie blue G-250, 50 % methanol and 10 % acetic acid in water. Destaining was carried out in an aqueous solution of 30 % methanol, 8 % acetic acid and 10 % glycerol, until the background was clear.

RESULTS AND DISCUSSION

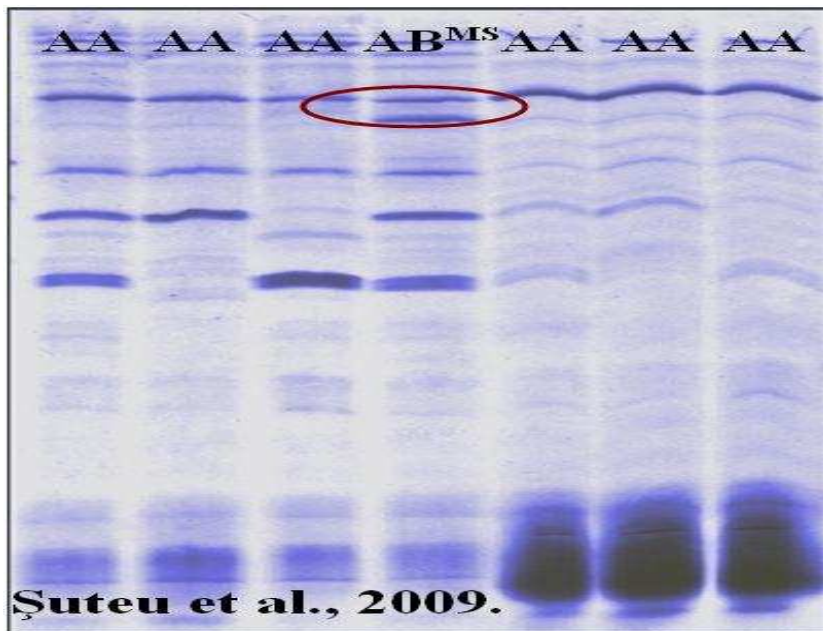
The migrating order in IEF gels, derived from the proteins' isoelectric points, is as follows: β -lactoglobulin; α -lactalbumin; WAP; β -casein; α s2-casein; α s1-casein; κ -casein (Fig. 1.)

Fig. 1. IEF migrating profiles of porcine milk proteins (Şuteu et al.,2009)



Because of the higher isoelectric point values (8.68) the κ -casein variants can't be visualized using these migrating conditions, the ampholytes covering only the 2.5 – 7 pH range.

Fig. 2. IEF migrating profile of porcine WAP B^{MS} .



In this study we report a new porcine WAP variant (Fig. 2.). We have named this new variant B^{MS}. Further studies are in progress in order to characterize this new variant at DNA level. The sample in which we have identified this new variant belongs to one of the Mangalita sows.

Because of the relatively small number of individuals taken into account (about 30 individuals belonging to different breeds, so far) we can not state that this is a breed specific variant, but in our studies this variant hasn't been identified in any other breed.

CONCLUSIONS

IEF is a very accurate and fast way of detecting milk protein polymorphisms. This study reveals the techniques applicability in the case of porcine milk. A slight modification in the pH range (4 - 10) we'll allow us to visualize the κ -casein variants too.

Main result of this study was to determine a porcine WAP polymorphism in the milk of Mangalita sows. From our knowledge no other polymorphisms have (up to date) been documented in the case of porcine WAP.

REFERENCES

- Aimutis W. R., Kornegay E. T., Eigel W. N. (1982): Electrophoretic and biochemical comparison of casein and whey protein from porcine colostrum and milk. *J. Dairy Sci.*, 65:1874-1881.
- Althen T. G., Gerrits J. (1971): Polymorphism of Whey₂ protein of sow's milk. *J. Dairy Sci.*, 55: 331-333.
- Aschaffenburg R., Drewry J. (1955): Occurrence of different β -lactoglobulins in cow's milk. *Nature*, 176: 218.
- Balteanu V. A., Vlaic A., Anda Raluca Rusu, Creanga S., Pop R. F., Cighi V. (2007): Milk proteins polymorphism in Romanian cattle breeds, identified by isoelectric focusing technique (IEF), *Lucrari Stiintifice seria Zootehnie, Iasi*, 50: 173-181
- Gallagher D. P., Cotter P. F., Mulvihill D. M. (1997): Porcine milk protein: a review. *Int. Dairy J.*, 7: 99-118.
- Gerrits R. J., Kraeling R. R. (1967): Polymorphism in a casein fraction of sow's milk. *Abstr. J. Animal Sci.*, 26: 874.
- Gerrits R. J., Kraeling R. R., Kincaid C. M. (1969): Polymorphism in a casein fraction of sow's milk. *Biochem. Genet.*, 3: 355.
- Glasnak V. (1966): Protein polymorphism in sow's milk. *Polymorphismes Bio-chimiques des Animaux*, p. 433.
- Glasnak V. (1968): Polymorphism of β_1 -caseins in sow's milk. *Folia Biologica.*, 14: 70.
- Kraeling R. R., Gerrits R. J. (1969): Polymorphism of a protein of sows' whey. *J. Dairy Sci.*, 52: 2036

Rival Sylvie, Attal J., Delville-Giraud Corinne, Yerle M., Laffont P., Rogel-Gaillard Claire, Houdebine Louis-Marie (2001): Cloning, transcription and chromosomal localization of the porcine whey acidic protein gene and its expression in HC11 cell line. *Gene*, 267: 37-47.

Simpson K. J., Bird P., Shaw D., Nicholas K. (1998): Molecular characterization and hormone-dependent expression of the porcine whey acidic protein gene. *J. Mol. Endocrinol.*, 20: 27-35.

Șuteu M., Vlaic A., Balteanu V., Pop F. (2009): Porcine Milk Protein Polymorphisms Detection by Means of Isoelectric Focusing. *Bulletin USAMV*, 66 (1-2)/2009: 146-150.

Vlaic A., Balteanu V. A., Pop F. D., Anda Raluca Rusu (2008): Molecular methods used for detection of cattle milk in buffalo, ewe and goat dairy products. *Lucrari Stiintifice seria Zootehnie, Iasi*, 51: 1016-1021.

GENETIC DIVERSITY IN CAUCASIAN SHEPHERD AND CZECH TERRIER DOG BREEDS USING MICROSATELLITE LOCI

Truksa M., Urban T., Putnová L.

Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: miloslav.truksa@seznam.cz, urban@mendelu.cz

ABSTRACT

Genetic variability of two dog breed, Caucasian Sheperd Dog and Czech Terrier was analyzed using a set of ten microsatellites. Caucasian Shepherd Dog is large and ancient population and Czech terrier is modern dog breed, its origin is clear. The Caucasian Sheperd Dog genetic variability was found very high, as it was expected. The Czech Terrier genetic variability was lower, but enough high for next breeding and unexpectedly variable when it was created with high degree of inbreeding.

Key words: Dog, *Canis familiaris*, diversity, inbreeding, microsatellites, genetic variability

Acknowledgments: This study was supported by IGA MZLU no. 21/2007.

ÚVOD

Příbuzenská plemenitba – inbreeding - s sebou nese riziko driftu a ztráty alel, přesto je od dob Roberta Backewella (1725 – 1795) jedním z pilířů moderního šlechtění, nehledě na to, že už ve starověku jejím prostřednictvím vznikala plemena koní, psů nebo i jiných zvířat, vždy ovšem za současného působení důkladné selekce.

Biodiverzita je skloňovaná ve všech oblastech biologie od ekologie, ochrany přírody až po biotechnologie, farmacii a zemědělství, jako podmínka stability ekosystémů země, zdroj výživy dosud hladem strádajícího lidstva, ale také genové bohatství živých organismů, které může a s jistotou i bude nalezištěm dosud neznámých léků. Z pohledu genetiky jde vlastně o bohatství genů, respektive alel.

Srovnání genetické diverzity u dvou plemen psů bylo myšleno především jako modelování situace různě velkých a různou selekcí vzniklých populací, přičemž bychom u jiných druhů hospodářských zvířat jen obtížně hledali populace nebo plemena s tak rozdílnou velikostí počáteční populace. Také správnost rodokmenů je u psů zřejmě o něco vyšší než například u skotu (záměny telat atd.)

Kavkazský pastevecký pes je velmi staré plemeno, jeho kořeny mohou sahát až do doby domestikace prvních ovcí a koz (nezbytná ochrana proti vlkům a medvědům), kdy se požadovali psi mohutnější než vlk.

Český teriér je plemeno vzniklé původně ze tří jedinců (fena a dva psi) s dodatečným přilítím krve dalšího jednoho zvířete (fena) asi po dvaceti letech a v počátcích chovu ještě byla uplatňována nejužší příbuzenská plemenitba. Je to jedna z nejužších příbuzenských plemenitb ze všech psích plemen chovaných v rámci FCI (Fédération Cynologique Internationale - Mezinárodní kynologická federace).

MATERIÁL A METODIKA

Sledované populace psů

Pro hodnocení genetické variability bylo vybráno 41 jedinců plemen kavkazský pastevecký pes a český teriér. Z plemene český teriér 21 jedinců z různých chovatelských stanic s původem z České republiky. U plemene kavkazský pastevecký pes 40 jedinců také z různých chovatelských stanic s původem z České republiky a několika zvířat importovaných z Ruska.

Sběr vzorků

Od obou plemen byly odebrány stěry sliznice dutiny ústní (bukální stěr), v počtu kavkazský pastevecký pes (KAO) 40 vzorků a český teriér (CT) 21 vzorků

Stanovení polymorfismu mikrosatelitů

Mikrosatelity (FHC2079, FHC2054, FHC2010, PEZ1, PEZ3, PEZ5, PEZ6, PEZ8, PEZ12, PEZ20) byly analyzovány (StockMark® Paternity PCR Typing Kit; Applied Biosystems) podle doporučené metodiky. Fragmentační analýza byla provedena pomocí ABI PRISM® Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)

Analýza byly provedena v laboratořích molekulární genetiky Ústavu morfologie, fyziologie a genetiky zvířat.

Statistická analýza

Statistická analýza byla provedena pomocí programu GENEPOP 4.0.7 (ROUSSET 2007)

Výpočet četnosti genotypů a alel

Výpočet četnosti výskytu alel vychází ze vzorce

$$p = d + \frac{1}{2} h$$

$$q = r + \frac{1}{2} h$$

kde

p = relativní četnost dominantní alely

q = relativní četnost recesivní alely

d = relativní četnost dominantních homozygotů

h = relativní četnost heterozygotů

r = relativní četnost recesivních homozygotů

Genotypové a alelové frekvence byly počítány pro obě populace na všech lokusech

Výpočet heterozygotnosti vychází z Hardy-Weinbergova zákona, H - W test byl počítán pro obě plemena na deseti lokusech. Byl použit exaktní test pro více než čtyři alely (kompletní výpočet), odhad exaktních P-hodnot pomocí metody Markovových řetězců (ROUSSET 2007).

VÝSLEDKY A DISKUZE

U plemene český teriér byly hodnoty heterozygotnosti pozorované oproti hodnotám heterozygotnosti očekávané, na pěti lokusech větší, na jednom lokusu (PEZ6) sobě rovné a na čtyřech lokusech menší.

U plemene kavkazský pastevecký pes byly hodnoty heterozygotnosti pozorované oproti hodnotám heterozygotnosti očekávané, na pěti lokusech větší, na jednom lokusu, shodném jako u ČT sobě rovné (PEZ6) a na čtyřech lokusech menší.

Tab. 1 Počet alel (PA), velikost fragmentu (bp), heterozygotnost očekávaná (H_E), heterozygotnost pozorovaná (H_O), polymorfní informační obsah (PIC), pro plemeno český teriér (CT)

Lokus	Velikost (bp)	PA	H_E	H_O	PIC
FHC2010	227 – 231	2	0,483	0,571	0,360
FHC2054	147 – 159	3	0,589	0,571	0,497
PEZ1	110 – 122	3	0,570	0,476	0,491
PEZ12	268 – 284	3	0,668	0,619	0,578
PEZ20	175 – 183	2	0,048	0,048	0,045
PEZ5	102 – 110	3	0,641	0,762	0,551
FHC2079	273 – 285	3	0,511	0,667	0,374
PEZ3	123 – 126	2	0,508	0,619	0,373
PEZ6	176 – 192	5	0,538	0,538	0,497
PEZ8	231 – 243	2	0,316	0,286	0,261

Tab. 2 Počet alel (PA), velikost fragmentu (bp), heterozygotnost očekávaná (H_E), heterozygotnost pozorovaná (H_O), polymorfní informační obsah (PIC), pro plemeno kavkazský pastevecký pes (KAO)

Lokus	Velikost (bp)	PA	H_E	H_O	PIC
FHC2010	223 – 239	5	0,641	0,575	0,591
FHC2054	151 – 171	6	0,796	0,750	0,753
PEZ1	110 – 122	4	0,733	0,800	0,673
PEZ12	260 – 308	10	0,798	0,825	0,764
PEZ20	171 – 195	6	0,677	0,725	0,626
PEZ5	98 – 114	5	0,674	0,675	0,617
FHC2079	269 – 285	4	0,615	0,550	0,540
PEZ3	108 – 135	8	0,823	0,775	0,790
PEZ6	168 – 196	8	0,768	0,768	0,723
PEZ8	223 – 239	5	0,732	0,825	0,685

ZÁVĚR

Získané výsledky zřetelně ukazují na velký rozdíl mezi oběma plemeny, pokud jde o pestrost alel a odpovídají předpokladům, vzhledem k vzájemně zcela odlišné historii obou plemen, jejich vzniku i současné početnosti populaci.

Kavkazský pastevecký pes je plemeno s dostatečnou genovou variabilitou, počet alel i míra heterozygotnosti svědčí o dobrém „genetickém zdraví populace“ a dává dostatek prostoru pro udržení plemene i další šlechtění, případně odstraňování nežádoucích geneticky podmíněných vad (např. dysplazie kyčelního kloubu)

Český teriér je podstatně více uniformní, což se taktéž dalo očekávat, vzhledem k jeho vzniku z pouhých tří jedinců, přesto i u něho je pozorovaná heterozygotnost na dobré úrovni a dokonce i srovnatelná s jinými plemeny, které vznikly z mnohem početnějšího základu.

LITERATURA

- ALTET, L., FRANCINO, O., SANCHEZ, A.: *Microsatellite polymorphism in closely related dogs*. J. Hered., 2001, 92: 276-279.
- ČÍSAŘOVSKÝ, M.: *Plemena psů A-Z*, Praha, Brázda, 1995, 272 s., ISBN 80-209-0256-2
- DOSTÁL, J.: *Genetika a šlechtění plemen psů*. České Budějovice, Dona, 2007, 262 s. ISBN 978-80-7322-104-1
- DOSTÁL, J.: *Chov psů – Genetika v kynologické praxi*. České Budějovice, Dona, 1995, 208 s. ISBN 80-85463-58-X
- FLEGR, J.: *Evoluční biologie*, Praha, Academia, 2005, 560 s., ISBN 80-200-1270-2
- HARTL, D.L., CLARK, A.G.: *Principles of population genetics*, Sinauer Associates, 4thed. 2006, 652 s.
- KENNEDY, L., BROWN, J., BARNES, A., OLLIER, W., KNYAZEV, S.: *Major histocompatibility complex typing of dogs shows further dog leukocyte antigen diversity*, Journal compilation, 2007 Blackwell Munksgaard – Tissue antigens 71, 151 – 156
- KIRKNESS, E. F., BAFNA, V., HALPERN, A. L., LEVY, S., REMINGTON, K., RUSCH, D. B., DELCHER, A. L., POP, M., WANG, W., FRASER, C. M., VENTER, J. C. *The dog genome: survey sequencing and comparative analysis*. Science, 2003, 301:1898-903
- KRASNOVSKAJA, O., PŠENIČNIKOVA, I., *Kavkazská ovčarka*, Moskva, Ipol, 1998, 224 s. ISBN 5-900144-11-9
- KUBYNOVÁ, S.: *Kavkazský pastevecký pes*, Praha, Fortuna Print, 2005, 157 s., ISBN 80-7321-161-0
- LUPKE, L., DISTL, O.: *Microsatellite marker analysis of the genetic variability in Hannoverian Hounds*. J. Anim. Breed. Genet., 2005, 122, 131-139.
- PETRUSOVÁ, H.: *Český teriér*, Shiba, 1999, 159 s.
- PUMPELLY, R.: *Explorations in Turkestan : Expedition of 1904, Prehistoric Civilization of Anau, Origin, Growth, and Influence of Environment* : vol.2 Washington, Carnegie Institution of Washington, 1908, dostupné na <http://dsr.nii.ac.jp/toyobunko/VIII-5-A-a-3/V-2/page/0147.html.ja>
- REDLICKI, M., REDLICKA, A.: *Owczarki kaukaskie*, Warszawa, Mako Press, 1999, 60 s., ISBN 83-86203-56-0
- ROUSSET, F.: 2007 *GENEPOP'007: a complete reimplementation of the GENEPOP software for Windows and Linux*. Mol. Ecol.
- RUVINSKY, A, SAMPSON, J.: *The Genetics of the Dog*, New York, CABI Publishing, 2001, 564 s.
- SAVOLAINEN, P., ZHANG, Y., LUO, J., LUNDEBERG, J., LEITNER, T.: *Genetic evidence for an east Asian origin of domestic dogs*, Science, Nov 22, 2002; 298; 5598; ProQuest Agriculture Journals, pg. 1610
- SHELLING, C., GAILLARD, C., DOLF, G. *Genetic variability of seven dog breeds based on microsatellite markers*. J. Anim. Breed. Genet., 122 (Suppl. 1) 2005: 71 – 77.

TRUKSA, M., TRUKSOVÁ, I.: *Kavkazský ovčák*, České Budějovice, Dona, 1998, 104 s., ISBN 80-85463-95-4

VISSCHER, P., SMITH, D., HALL, S., WILLIAMS, J. (2001): *A viable herd of genetically uniform cattle*, Nature 409, s. 303,

VYSOCKIJ, V.: *Kavkazskije i aiatskije ovčarki i drugie volkodavy*, Doněck, Stalker. 2003, 350 s., ISBN 966-696-082-6

WACHTEL, H.: *Chov psů v roce 2000*, České Budějovice, Dona, 1998, 280 s., ISBN 80-86136-29-9

WAYNE, K., OSTRANDER, A.: *Origin, genetic diversity, and genome structure of the domestic dog*, BioEssays 21: 247-257, 1999.

**ATYPICAL COMMUTING FLIGHTS OF FEMALES MOUSE-EARED
BAT (*MYOTIS MYOTIS*) IN THE UNDERGROUNDS
OF THE „NIETOPEREK“ BAT RESERVE (WESTERN POLAND)**

Wawrocka K., Kokurewicz T.

Institute of Biology, Wrocław University of Environmental and Life Sciences,
Kozuchowska 5b, 51-631 Wrocław, Poland

E-mail: kamila.freeme@gmail.com

ABSTRACT

The observations were made in the underground fortifications of the Międzyrzecz Fortified Front (MFF) (Western Poland) during preparation of Management Plan of Natura 2000 site PLH080003 "Nietoperek". Heretofore daily migrations of mouse-eared bat between maternity colony and foraging areas were noticed as fast flights (max. 50km/h) occurring ca. 10 m aboveground. Our observations made by use of radio-tracking and bat counts performed both under and aboveground made possible to identify atypical commuting flights taking place in the corridors of underground fortification system. The main benefits of underground flights could be: (1) predation avoidance, (2) increase the time of foraging by starting the emergence before darkness and (3) saving energy by avoiding flights in unfavourable weather conditions. The results show high adaptations abilities of this species.

Key words: *Myotis myotis*, radio-tracking, commuting flights, Natura 2000 site "Nietoperek"

Acknowledgments: We are very grateful to Marcin Rusiński ("ANSEE " Consulting, Poland), Jan Boratyński (Poznań University of Life Sciences, Poland) John Haddow (Auritus Wildlife Consultancy Ltd, UK), Joanna Nalewalska (Wrocław University, Poland) for invaluable help during the field study.

INTRODUCTION

Mouse-eared bats leave maternity roost ca. 20 minutes after sunset and perform direct flights (*commuting flight*) straight to foraging areas situated up to 25 km from the roost. Commuting flights of this species were described as fast flights (max. 50 km/h) occurring ca. 10 m aboveground (Arlettaz, 1999; Drescher, 2004; Zahn et al., 2005). We can assume that earlier flight of lactating females to feeding grounds extends the time of foraging and in consequence could increase the growth rate of juveniles. During the commuting flights bats are endangered by avian and mammalian predation (Speakman, 1991). Traveling long distances to foraging areas in bad weather conditions e.g. rain and low ambient temperature could cause the extra energy expenditure, unfavorable especially for lactating females. According to that, all adaptations increasing the foraging time of lactating females, minimizing the predation risk and making possible to avoid the bad weather condition could be favored by natural selection. During our observations we tried to find the most important benefits of flying underground for lactating females of mouse-eared bat.

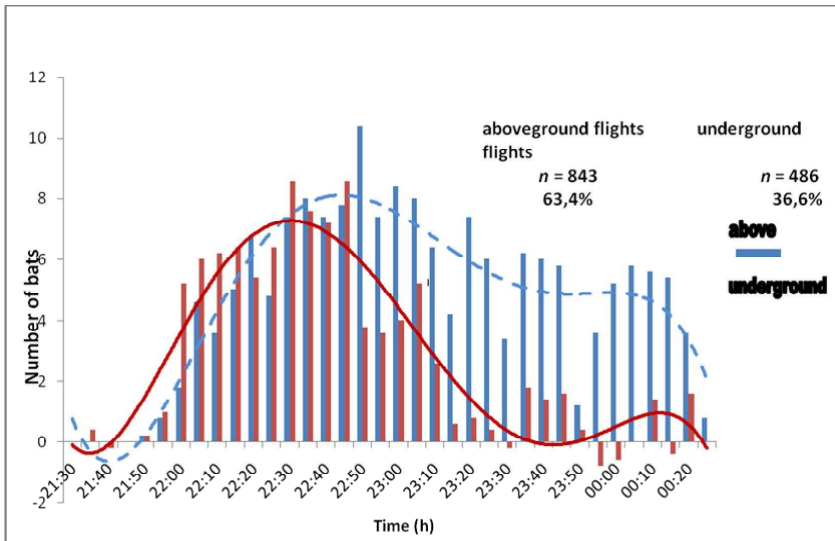
MATERIAL AND METHODS

The Central Sector of MMF was built during the Second World War to protect Germany from the invasion from the east. It is composed of 35 aboveground bunkers connected by underground railway tunnels of total length of 32 km. In 2007 the Natura 2000 site "Nietoperek" (area: 7377.37 ha) was established to protect bats hibernating underground, their foraging areas and maternity colonies. Undergrounds of MMF are largest winter colony of bats in Central Europe composed of at least 40 000 individuals of 13 species. Five lactating female have been marked by use of LB-2 transmitters (Holohil Systems Ltd., Canada). The weight of the radio-tags (0.52 g) did not exceed the 5 % of body mass of bats. The non-toxic *Torbot* surgical glue – improved *SkinBond* formula – was used to make possible the transmitters to fell off from bats after ca. two weeks. Two Australis 26K Scanning receivers and three-element Yagi collapsible antenna (Model AY/C) were used to monitor bat activity. On 12/13 of July the count of bats emerging from maternity colony situated underground was made by 2 groups of observers counting simultaneously bats emerging under and aboveground.

RESULTS AND DISCUSSION

We have found that 36,6 % of counted bats were commuting underground, while 63,4 % were emerging aboveground. The results obtained by use of radio-tracking showed similar proportion (60 % underground, 40 % aboveground). During the observation the weather was rainy and windy, which could explain the obtain results. The first underground commuting flights started 12 min earlier than emergence aboveground, however the earlier emergence was noticed in only 1,23 % of all bats commuting underground.

Fig. 1. Proportion of aboveground and underground flights of females mouse-eared bats from maternity colony in Natura 2000 site "Nietoperek" (12/13 of July 2009)



CONCLUSION

The results indicate that the main benefits of underground commuting flights of lactating females of mouse-eared bat are probably avoidance of predation and bad weather conditions. The earlier emergence from the colony could be less important because was performed only by very small proportion of the bats. Additionally, the results evidenced the high adaptation abilities of this species, able to benefit by use of main-made constructions as commuting corridors.

REFERENCES

- Arlettaz, R. (1999). Habitat selection as a major resource partitioning mechanism between the two sympatric sibling bat species *Myotis myotis* and *Myotis blythii*. *Journal of Animal Ecology*, 68: 460-471.
- Drescher, C. (2004). Radiotracking of *Myotis myotis* (Chiroptera, Vespertilionidae) in South Tyrol and implications for its conservation. *Mammalia*, 68(4): 387-395.
- Speakman, J.R. (1991). The impact of predation by birds on bat populations in the British Isles. *Mammal Review*, 21(3): 123-142: 1185-1194.
- Zahn, A., Haselbach, H. and Güttinger, R. (2005). Foraging activity of central European *Myotis myotis* in a landscape dominated by spruce monocultures. *Mammalian Biology*, 70(5): 265-270.

ANALYSIS OF *SERPINE1* GENE VARIABILITY IN PIGS

Weisz F., Knoll A.

Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: filipw@seznam.cz

ABSTRACT

SERPINE1 gene encodes for plasminogen activator inhibitor-1 (*PAI-1*) which plays a key role in incidence of thrombosis and atherosclerosis in human. Porcine *SERPINE1* or *PAI-1* gene is localised on porcine chromosome 3 near to QTL for fatness. The aim of study was to describe genetic structure and polymorphisms of intron 3 and CDS of *SERPINE1* gene in pigs. In our study we sequenced intron 3 and deposited the sequence to EMBL (accession number FN396538.1).

Thank comparative sequencing of intron 3 in breed Meishan, Wild Boar and Piétrain we found 15 SNPs and 1 indel. For next study FN396538:g.566G>A was chosen. SNP was determined in 98 pigs Czech Large White breed by MbiI PCR-RFLP and frequencies of allele A and G were 0.66 and 0.34, respectively. The association study with FN396538:g.566G>A and production traits (average daily gain, backfat thickness, lean meat content) was proceeded but no significant difference between genotypes of SNP and analysed traits was found.

In next part we have sequenced cDNA of *SERPINE1* gene from 2 pigs breed Meishan and 2 pigs Wild Boar. We have observed 5 SNPs in CDS and 1 of them changes amino acid in protein structure. Consequently we have sequenced this SNP summary from 15 Czech Large White, 15 Wild Boar, 15 Duroc, 15 Landrace and 12 Piétrain pigs. The SNP which changes amino acid in protein structure will be examined in next part of our study.

This gene is very important in human medicine and it is associated with obesity and fat deposition. One reason why we can study this gene is its function and effect for human. On the other hand our results may be used for linkage mapping of porcine chromosome 3 and detected polymorphisms will be used for more extensive association study with fat deposition in pigs.

Key words: *SERPINE1*, *PAI-1*, SNP, pig

Acknowledgments: This work was supported by Czech Science Foundation (Project No. 523/07/0353).

ÚVOD

Gen *SERPINE1* kóduje inhibitor aktivátoru plasminogenu typu 1 (PAI-1), jež je nedílnou součástí regulace fibrinolytického systému a mimo jiné má důležitou roli i v remodelaci a přestavbě extracelulární matrix, s čímž souvisí i účast PAI-1 při takových procesech jakými jsou zánět, nádorová invaze, trombóza či ateroskleróza (Bijnens *et al.*, 1997; Johnsen *et al.*, 1998).

PAI-1, neboli *SERPINE1*, je 50 kDa velký glykoprotein obsahující 379 až 381 aminokyselin a především díky své unikátní konformační flexibilitě patří do serpinové proteinové rodiny (Correia and Haynes, 2006; Bijnens *et al.*, 1997). Hlavními producenty tohoto proteinu jsou endotelální buňky a buňky hladké svaloviny; tento inhibitor je však produkován i trombocyty, hepatocyty, makrofágy či v tukové tkáni (Correia and Haynes, 2006). V nízké koncentraci se tento inhibitor vyskytuje u všech jedinců, ale jeho úroveň v plazmě se zvyšuje s vlivem některých onemocnění a u člověka slouží tento protein k predikci výskytu počátečních fází diabetes typu 2, obezity či infarktu myokardu (Crandall *et al.*, 2006).

Humánní gen *SERPINE1* či *PAI-1* byl lokalizován na chromozomu 7q21.3-q22. V oblasti promotoru byl u tohoto genu nalezen polymorfismus *4G/5G*, jehož *4G* varianta vede ke zvýšené transkripci PAI-1 proteinu a tím i ke zvýšenému riziku vzniku trombózy či infarktu myokardu v důsledku snížené aktivity fibrinolytického systému (Bučková, 2002; Correia and Haynes, 2006).

Gen *SERPINE1* u prasat byl lokalizován na SSC3 v blízkosti QTL pro ukládání tuku. Tento gen je tedy zkoumán i u prasat, jež jsou velmi vhodnými modelovými organismy pro člověka, z hlediska jeho asociace s ukládáním tuku a následným vznikem obezity. Výsledky takovýchto studií jsou využitelné nejenom v chovu a šlechtění prasat, ale i pro případné další zkoumání v humánní medicíně.

MATERIÁL A METODIKA

V první části jsem se zaměřili na nalezení a osekvenování intronu 3. Gen *SERPINE1* byl částečně klonován pomocí PCR s primery navrženými na základě RNA sekvence NM_213910 a následně sekvenován. Díky získané sekvenci byly navrženy primery pro sekvenování intronu 3 (přímý primer 5'-CCG TGG AAC AAA GAT GAG AT-3' a zpětný primer 5'-GCA CTC ACC ACC GCC TC-3'). PCR byla prováděna na teplotním cykleru GeneAmp PCR System 2400 (Applied Biosystems). Teplotní profil PCR byl následující: počáteční denaturace 95 °C / 2 min., 30 cyklů – denaturace 95 °C / 45s, annealing 54 °C / 30 s, elongace 68 °C / 40 s, závěrečná elongace 68 °C / 7 min. Složení PCR reakce je uvedeno v tab. 1; PCR produkt byl očekávané délky 1268 bp.

Tab. 1 Složení PCR

Složení reakční směsi	koncentrace
DNA	50 ng
specifický přímý primer	0,2 μM
specifický zpětný primer	0,2 μM
dNTPs mix	200 μM
PCR pufr kompletní	10x
LA polymeráza	1U
celkový objem reakce	25 μl

Komparativním sekvenováním PCR fragmentů 3 jedinců plemene meishan, 3 divokých prasat a 3 jedinců plemene piétrain byly nalezeny polymorfizmy intronu 3 daného genu pomocí programu ClustalW2 2.0.8. Detekované SNP FN396538:g.566G>A bylo genotypováno u 98 prasat plemene české bílé ušlechtilé pomocí *MbiI* PCR-RFLP (přímý primer 5'-TCC AGC ATC CTC TTC TCC AT AG-3' a zpětný primer 5'-CCT TCC TTC CTC TCT CTC TCT T-3'), složení reakční směsi je v tab. 1. V případě alely A, která neobsahuje restrikční místo pro enzym *MbiI*, zůstává PCR produkt dlouhý 648 bp a v případě alely G obsahující štěpné místo byl štěpen na 2 fragmenty o délce 292 a 356 bp. Separace fragmentů DNA byla provedena pomocí 2% agarózového gelu s ethidium bromidem. Po vizualizaci pod UV-světlem byly odečteny jednotlivé genotypy.

V druhé části práce byla provedena asociační analýza stanoveného FN396538:g.566G>A polymorfizmu u souboru 98 prasat plemene české bílé ušlechtilé. Statistická analýza byla provedena pomocí GLM modelu SAS/STAT verze 9.1.4. Asociované produkční znaky byly následující: výška hřbetního tuku, přírůstek od narození a podíl hlavních masitých částí. Do modelové rovnice byly zahrnuty následující efekty:

$$Y_{ijk} = \mu + \text{Serp}_i + \text{roknar}_j + e_{ijk}$$

Y_{ijk} = pozorovaná hodnota

μ = průměr,

Serp_i = pevný efekt genotypu polymorfizmu FN396538:g.566G>A (A, A/G, G)

roknar_j = efekt roku narození

e_{ijk} = náhodná reziduální chyba

V třetí části práce jsme se zaměřili na komparativní sekvenování cDNA genu *SERPINE1* u 2 jedinců plemen duroc a dvou jedinců plemene meishan. Pro amplifikaci specifického úseku genu pomocí PCR byly navrženy primery (přímý primer 5' – ATT GAG TCG CCA GCC AGT TAC – 3', a zpětný primer 5' – TGA GGT CTA AGA GGC AGA TTC G – 3'). PCR byla prováděna na teplotním cyklu GeneAmp PCR System 2400 (Applied Biosystems). Složení reakční směsi viz. tab. 1. Teplotní profil PCR byl následující: počáteční denaturace 95 °C / 2 min., 30 cyklů - denaturace 95 °C / 45 s,

annealing 58,2 °C / 30 s, elongace 68 °C / 40 s, závěrečná elongace 68 °C / 7 min. PCR produkt délky 1419 bp a obsahující celou CDS byl sekvenován pomocí BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit a přístroje ABI PRISM 3100-Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Pro sekvenování bylo použito stejných primerů jako pro PCR.

Dle získané sekvence byly navrženy primery (přímý primer - 5' - GGT TTC ATG CCC TAC TTC TTC A - 3' a zpětný primer 5' - GAG TGC TTT TCT CTG GGA AGG - 3') pro stanovení námi vybraných nových polymorfizmů z celogenomové DNA, které jsou obsaženy v CDS. Teplotní profil PCR byl následující: počáteční denaturace 95 °C / 2 min., 32 cyklů - denaturace 95 °C / 45s, annealing 58,2 °C / 30 s, elongace 68 °C / 40 s, závěrečná elongace 68 °C / 7 min. Složení reakční směsi je uvedeno v tab. 1. PCR produkt měl délku 1188 bp a byl sekvenován pomocí BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit a přístroje ABI PRISM 3100-Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Bylo sekvenováno 15 jedinců plemene bílé ušlechtilé, 15 divokých prasat, 15 jedinců plemene duroc, 15 jedinců plemene landrace, 12 jedinců plemene piétrain; vyhodnocení sekvencí bylo provedeno v programu SeqScape 2.1 (Applied Biosystems).

VÝSLEDKY A DISKUZE:

Byla osekvenována část genu *SERPINE1*, jehož délka je 1268 bp a tato sekvence byla vložena do databáze EMBL (FN396538.1); sekvence obsahuje i nově nalezený intron 3 (956 bp), který se nachází od mezi exony 3 a 4 (od 185 do 1140bp) . Při komparativním sekvenování tohoto intronu u prasat plemene meishan, piétrain a divokého prasete bylo nalezeno celkem 15 polymorfizmů (14 SNP a 1 indel, který se vyskytoval pouze v minus variantě u divokých prasat viz. obr. 1.).

Obr.1 - indel polymorfizmus

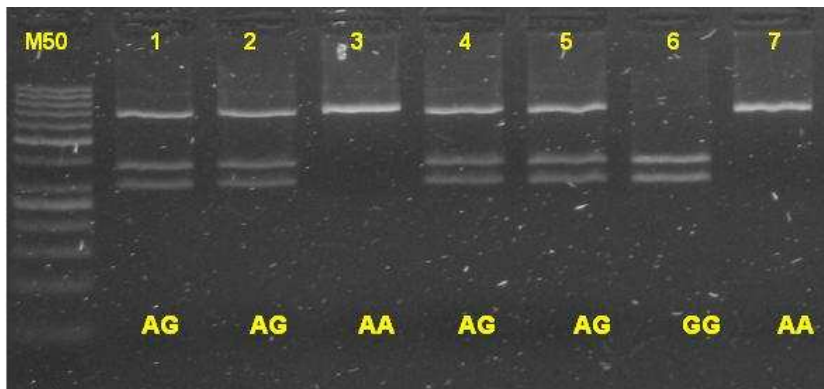
Piétrain	GCCTGCAGAGAAAAGGGGATTCGGAAACAAAGTCCCAAGTACCCCCACCCTCTCCTTCCAGC	240
Prase divoké	GCCTGCAGAGAAAAGGGGATTCGGAAACAAAGT-----ACCCCCACCCTCTCCTTCCAGC	211
Meishan	GCCTGCAGAGAAAAGGGGATTCGGAAACAAAGTCCCAAGTACCCCCACCCTCTCCTTCCAGC	201

Pro další studium bylo vybráno SNP FN396538:g.566G>A, jehož alela A byla nalezena u plemene piétrain a u divokého prasete a alela G byla detekována u meishana. Byly zjištěny následující frekvence: alela A 0.66 a alela G 0.34 viz. tab. 2, obr. 2.

Tab.2 Frekvence genotypů MbiI PCR-RFL

Serpine genotyp	absolutní četnost	relativní četnost
AA	43	0,44
AB	43	0,44
BB	12	0,12

Obr. 2- Genotypy MbiI PCR-RFL



U plemene české bílé ušlechtilé byla provedena asociační analýza s užitkovými vlastnostmi prasat. U tohoto plemene nebyly zjištěny žádné statisticky průkazné rozdíly mezi testovanými genotypy a uvedenými vlastnostmi.

Dále bylo provedeno sekvenování cDNA u 2 jedinců plemene meishan a 2 jedinců divokého prasete. Při vzájemném porovnání sekvencí bylo nalezeno 5 SNPs v CDS, z nichž 1 SNP mění aminokyselinu ve výsledné bílkovině. Jedná se o záměnu valinu za isoleucin. Další 3 SNPs mají jiný nukleotid než referenční sekvence NM_213910 viz.tab. 3. Pro poznání variability SNP měnicího aminokyselinu i u jiných plemen prasat byla sekvenována DNA jedinců různých plemen (české bílé ušlechtilé, prase divoké, duroc, landrace, piétrain). Při této analýze bylo použito celogenomové DNA, byl tedy opět nalezen i indel intronu 3, který byl polymorfní pouze u divokého prasete, u ostatních plemen se vyskytoval pouze v plus variantě. Výsledky této analýzy viz.tab. 3 a 4.

Tab.3 SPNs v CDS genu *SERPINE1*

	SNP pozice v NM_213910 / pozice v CDS	Triplet	výsledná AK
Vzorek	187/50		
Referenční sekvence	C	ACC	Thr
Divočák	T	ATC	Ile
Meishan	T	ATC	Ile
Vzorek	284/147		
Referenční sekvence	C	GCC	Ala
Divočák	C	GCC	Ala
Meishan	Y	GCY	Ala
Vzorek	581/444		
Referenční sekvence	C	GAT	Asp
Divočák	T	GAC	Asp
Meishan	T	GAC	Asp
Vzorek	612/475		
Referenční sekvence	A	ATC	Ile
Divočák	G	GTC	Val
Meishan	A	ATC	Ile
Vzorek	737/600		
Referenční sekvence	G	ACG	Thr
Divočák	G	ACG	Thr
Meishan	R	ACR	Thr
Vzorek	929/792		
Referenční sekvence	C	TAC	Tyr
Divočák	C	TAC	Tyr
Meishan	T	TAT	Tyr
Vzorek	1155/1018		
Referenční sekvence	A	ATG	Met
Divočák	G	GTG	Val
Meishan	G	GTG	Val
Vzorek	1219/1082		
Referenční sekvence	C	TCT	Ser
Divočák	Y	TYT	Phe, Ser
Meishan	C	TCT	Ser

Y= C nebo T; R= G nebo A

Tab. 4 Frekvence genotypů SNP měničého aminokyseliny

Plemeno	A	A/G	G
duroc	0,2	0,4	0,4
landrace	0	0,13	0,87
bílé ušlechtilé	0,27	0,6	0,13
prase divoké	0,13	0,13	0,74
piétrain	0,17	0,58	0,25

ZÁVĚR

Tato práce jako jedna z prvních mapuje část genu *SERPINE1* a snaží se nalézt asociaci mezi tímto genem a produkčními vlastnosti prasat. I když nebyl nalezen signifikantní rozdíl mezi genotypy námi testovaného SNP (FN396538:g.566G>A) a sledovanými znaky, neznamená to, že tento gen

nehraje důležitou roli při ukládání tuku. Kromě jmenovaného SNP bylo nalezeno velké množství polymorfizmů, včetně SNP, jež má za následek změnu aminokyseliny ve výsledné bílkovině. Tento gen je významně spojován v humánní medicíně s obezitou a nejen proto bude výzkum genu *SERPINE1* dále pokračovat ve spolupráci s AV ČR VÚZF Liběchov.

LITERATURA

BUČKOVÁ, DANA. *et al.* Polymorphism 4G/5G in the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene is associated with IgE-mediated allergic diseases and asthma in the Czech population. *Allergy*, 2002, vol. 57, no. 5, p. 447-449.

BIJNENS, A.P. *et al.* Expression and characterization of recombinant porcine plasminogen activator inhibitor-1. *Thrombosis and Haemostasis*, 1997, vol.77, p. 350-356.

CLUSTALW, 2.0.8 [online]. [cit. 21. 11. 2008]. Dostupné z: <http://www.ebi.ac.uk/clustalw/>

CORREIA, M.J.G., HAYNES, W.G. A role for plasminogen activator inhibitor-1 in obesity: from Pie to PAI? *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 2006, vol. 26, p. 2183-2185.

CRANDALL, D.L. *et al.* Modulation of adipose tissue development by pharmacological inhibition of PAI-1. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 2006, vol. 26, p. 2209-2215.

EMBL databáze – Genomická DNA *SERPINE1* [online]. [cit. 22. 5. 2009]. Dostupné z : [http://srs.ebi.ac.uk/srsbin/cgi-bin/wgetz?-e+\[EMBL:FN396538\]+-newld](http://srs.ebi.ac.uk/srsbin/cgi-bin/wgetz?-e+[EMBL:FN396538]+-newld)

JOHNSEN M. *et al.* Cancer invasion and tissue remodeling: common themes in proteolytic matrix degradation. *Current Opinion in Cell Biology*, 1998, vol.10, p.667-671.

NCBI databáze – mRNA *SERPINE1* (Gene ID: 396945) [online]. [cit. 30. 10. 2008]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/47522667>

SAS Institute Inc. 2004. SAS 9.1.4. Cary, NC

Section – Techniques and Technology

MIXING OF TWO- INGREDIENT GRAIN SYSTEM IN ROTATING AGITATOR

Bilos L., Szwedziak K.

Department of Agricultural and Forest Technology, Faculty of Mechanical Engineering ,
Opole University of Technology, 5 Mikołajczyka Street., 45-271 Opole, Poland

E-mail: lukasz206@wp.pl

ABSTRACT

That thesis has been a first step to establish the correlation between the mixing process parameters, physical parameters of components used in the mixing process and the quality of mixture obtained after mingling. In order to do that the research has been carried out in which ingredients were mixed in two-cone, drum mixer. As for ingredients, coal dust and biomass pellets, the two- ingredient system varying in physical features, have been used. The research was to analyse the arrangement of key component concentration in cross-section mixer. As tracer biomass pellets have been used.

Key words: Non homogeneous materials mixing, biomass pellets, co- combustion

RESEARCH DESCRIPTION

Biomass intended for energetic purposes can be used as individual fuel for heating power production or as mixture with coal in co-combustion process. As the first method of biomass usage, is concerned the main factors that influence the firing conditions are biomass moisture and connected with it calorific value. Fuel co-combustion conditions besides factors mentioned above are depending on good mixing of fuel components. Mixing biomass with coal fuels is claimed to be scientific researches object because of necessity of providing homogeneous mixture to the heating boiler and revision of product value sold by coal fuels store houses in Poland, offered ready mixtures of biomass with main fuel. Ready mixtures are not described by mixing degree value and there is possibility of mixture segregation during car transport. Co-combustion are supposed to be conducted due to the desire of decreasing pollutants to the atmosphere and according to authors of this paper homogeneity of mixture used in co-firing has a fundamental value.

RESEARCH METHODOLOGY

Four series of non heterogeneous materials mixing research have been made. Materials were different by physical parameters . Components were mixed. Mixer drum was filled with 20 kg. Fraction was pour to the mixer drum in the same manner one after another for all sample in this same way, mixing parameters had been set. Drum content was discharged to 10 rings system. (rings were arranged one upon the other). Mixture was photographed, and pictures were recordered in bmp format. To evaluate quality of mixture „PATAN” application was used. Content of each ring was additionally analysed by tracer distribution by weight. For each research series process parameters and components physical parameters were the same. For measuring distribution of key-component in mixture, which were always biomass pellets computer application “PATAN” has been used. Contents of each ring were additionally analysed by distribution of key-component (traser) in mixture with weight measuring method usage. Each of token pictures were filtrated by “erosion” computer filter in GIMP 2.6. computer application. Erosion filter is a basic morphological picture transformation. Forty digital pictures of non homogeneous mixtures had been compared for each method. Influence of erosion filter used to correctness revision of “PATAN” results had been compared. Mixture picture analysis with computer applications usage is one of modern methods proposed because of mixture quality evaluation rationalization purposes. Standard methods used for mixture quality evaluation are based on manual separating of mixture and it becomes big problem because of time-consumption and strenuous of performed actions. According to that facts we had decided to use innovative methods based on computer picture analysis in the purpose of making analysis easily and speeding them up.

RESULT'S AND CONCLUSION

Findings from computer picture analisys where different in very large scale from results received from traditional method of mixture quality measuring. Analysis of digital picture of mixture, realized with usage of computer applications, can provide possibility of applying many different kinds of filters and transformations, and that can give us chances for mining interesting data of mixing process characteristic. During pictures analysis it turned out, that light reflexes occurred on coal dust surface are

making problems with "PATAN" quality measuring ability. After erosion filter application there were observed an improvement of difference between two compared methods results. In spite of fact, that differences in results between proposed methods even after erosion filter application are steel on high level we supposed, that further search of the way of picture conversion without influence on physical sense of mixing process may lead to decreasing differences between results from methods proposed in article.

REFERENCE

Soliński I, Soliński B. :Polityka Energetyczna – Tom 7 Zeszyt 1 - Biomasa – ekologiczne i odnawialne paliwo XXI wieku

Kadłuczka J.: Bioenergetyka , PWN 2004

Aplikacja komputerowa Patan, autorstwa dr. Marka Krótkiewicza, Uniwersytet Opolski

MECHANICAL DEGRADATION OF ALUMINIUM ALLOYS

Dostál P., Černý M.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: pet.d@seznam.cz

ABSTRACT

The article is focused on mechanical degradation of Aluminium alloys. The main objective of the article is the research of fatigue properties of these alloys loaded on high-cyclic mechanism - elektro-resonance pulsator Rumul Cracktronic. The test pieces of aluminium alloys were subjected by fourpoints bend.

There are solved the problems of fatigue process and mechanism of crack dispersion. Also the origin and the speed of dispersion of fatigue crack is discussed. The particular stages of fatigue process such as cyclic hardening, nucleation of fatigue cracks, dispersion of fatigue cracks and fracture of remaining base section are observed. Also the fatigue limit of concrete material is detected.

Key words: aluminium, aluminium alloys, degradation, mechanical loading, fatigue loading, fatigue crack, cyclic loading, crack nucleation, crack dispersion.

1 ÚVOD

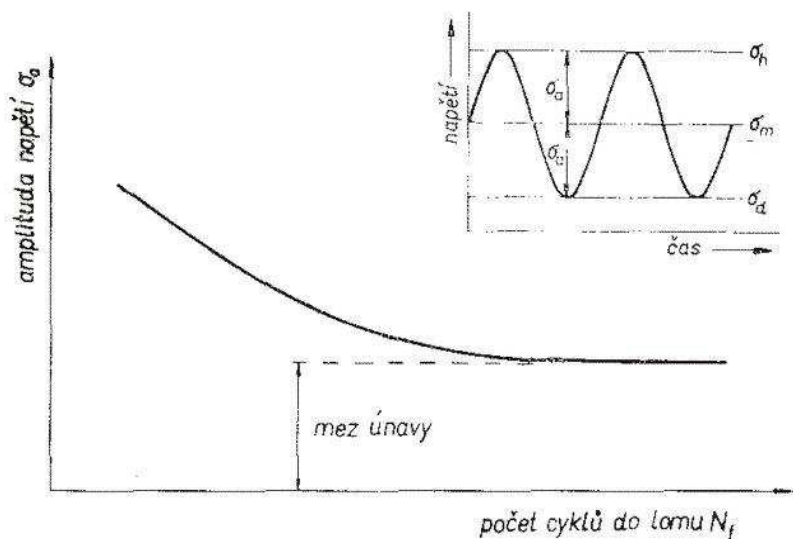
Práce se zabývá výzkumem mechanické degradace hliníkových slitin za působení únavového namáhání. Únava kovů je termín, který se na první pohled nehodí do přísné technické terminologie. Existuje však jistá analogie mezi únava v běžném slova smyslu a mezi únava kovů. Podrobíme-li strojní součást nebo konstrukci působení časově proměnlivých vnějších sil, dochází po určité době k jejímu lomu, který je výsledkem mikroskopických procesů probíhajících ve struktuře materiálu. Přítom velikost těchto vnějších sil může být tak malá, že její statické působení snáší kov bez známek porušení. Postupné rozrušování kovu při proměnlivém zatěžování má nevratný, kumulativní charakter, který se až v samotném závěru procesu hmatatelně projeví růstem makroskopické trhliny a lomem.

1.1 Historie

Historicky je první výskyt únavových lomů spojen s vývojem konstrukcí, které obsahovaly součásti podrobené cyklickému působení vnějších sil. Mezi ně patřily osy železničních vagonů, součásti parních strojů atd. Jako odezva na tyto provozní lomy vznikla snaha laboratorně stanovit mechanické charakteristiky, které by sloužily pro výpočet cyklicky zatěžovaných součástí.

První systematické experimenty prováděl August Wöhler v letech 1852 - 1870. Dodnes je jednou ze základních únavových charakteristik Wöhlerova křivka, která udává závislost amplitudy napětí na počtu cyklů do lomu. Amplituda napětí, při které nedochází k lomu ani po vysokém počtu cyklů (řádově 10^7), se nazývá mez únavy.

Obr. 1 Wöhlerova křivka, tzv. S-N křivka [1]



V počátcích druhé poloviny století se prosadila myšlenka, že bez poznání zákonitostí a podstaty probíhajících procesů není možný žádný další výrazný pokrok v oblasti optimálního využití stávajících materiálů a návrhu nových materiálů pro součásti pracující v podmínkách únavového zatěžování. Přispěl k tomu i vývoj moderní techniky, kladoucí na konstrukci stále se zvyšující nároky.

2 METODIKA

2.1 Cyklická plastická deformace

Existence únavy kovů je podmíněna cyklickou plastickou deformací. Například amplituda cyklické plastické deformace na mezi únavy je bez ohledu na typ materiálu řádu 10^5 . Jednosměrná, neopakovaná deformace tohoto řádu nevede k žádným závažnějším změnám ve struktuře materiálu, ani v jeho vlastnostech. Teprve mnohonásobné opakování plastické deformace, byť tak malé, že z hlediska běžného pojetí jde o zatěžování elastické (elasto-plastické), vede ke kumulativnímu poškození, končícímu únavovým lomením.

Elastická deformace nevede k nevratným změnám materiálu. Plastická deformace naopak k nevratným změnám ve struktuře a ve vlastnostech materiálu vede. V této souvislosti je možné rozdělit únavu na vysokocyklovou (počet cyklů do lomu řádu 10^5 a výše) a na únavu nízkocyklovou (počet cyklů do lomu řádu 10^4 a méně).

2.2 Degradanční fáze

Na základě typů nevratných změn, způsobených cyklickou plastickou deformací, lze celý únavový proces rozdělit na tři časově následující stádia:

2.2.1 Stádium změn mechanických vlastností

Při cyklickém zatěžování kovů a slitin dochází v důsledku změn v mikrostruktuře materiálu ke změnám jejich mechanických, elektrických, magnetických a jiných fyzikálních vlastností. Celá řada experimentálních prací ukázala, že všechny tyto změny mají zpravidla sytící charakter – nejvýraznější jsou na počátku cyklického zatěžování, s rostoucím počtem cyklů jejich intenzita klesá a po poměrně malém počtu cyklů (ve srovnání s celkovou životností) změny měřené veličiny ustanou zcela nebo jsou jen nevýrazné. Toto stádium je determinováno změnami v celém objemu zatěžovaného kovu. Mění se hustota a konfigurace mřížkových poruch a následkem toho i mechanické vlastnosti.

2.2.2 Stádium nukleace trhlin

Mikroskopické trhliny vznikají při cyklickém zatěžování v únavových skluzových pásmech, která se tvoří účinkem cyklické deformace v povrchové vrstvě kovu. Odlišují se výrazně od skluzových pásem vznikajících při jednosměrné deformaci nejen svým povrchovým reliéfem, ale zejména proto, že se při odleštění slabé povrchové vrstvy a po naleptání znovu objevují. Představují objemy kovové matrice odlišnou strukturou, která se projevuje jinou rezistencí proti chemickému působení. Proto dostala tato skluzová pásma název „perzistentní“. Perzistentní skluzová pásma leží podél aktivních skluzových rovin, v nichž působí dostatečně vysoká složka smykového napětí.

Obr. 2 První únavové mikrotrhliny v perzistentním skluzovém pásmu



Únavový proces je velmi citlivý na stav povrchu. Únavová životnost je výrazně ovlivnitelná povrchovým zpracováním. Důvodem k této citlivosti je fakt, že nukleace únavových trhlin probíhá vždy na volném povrchu cyklicky zatěžovaných kovů, a to v místech koncentrace cyklické plastické deformace.

Toto stádium se tedy týká již jen malé části z celkového objemu, a to povrchových vrstev. Společným jmenovatelem všech typů nukleace v povrchových vrstvách je koncentrace cyklické plastické deformace.

Přímé metody pozorování povrchu ukázaly, že jsou v podstatě tři typy nukleárních míst:

1. únavová skluzová pásma – nejčastěji se uplatňující typ
2. hranice zrn – v případě vysokoamplitudové únavy, zejména za zvýšených teplot
3. rozhraní mezi inkluzemi a maticí – v případě některých komerčních slitin a vícefázových materiálů, ve kterých se vyskytují tvrdé inkluze velikosti řádu alespoň mikronů

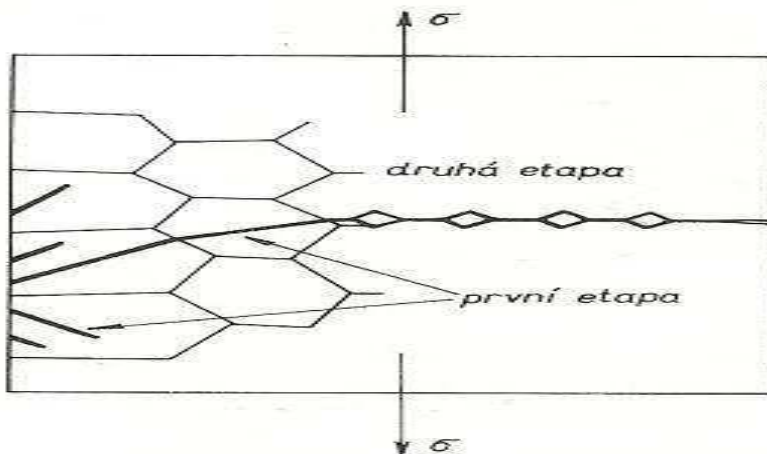
2.2.3 Stádium šíření trhlin

Nukleární stadium končí vytvořením povrchových mikrotrhlin. S narůstající délkou (měřeno směrem do hloubky) se trhliny vychylují z aktivních skluzových rovin a stáčí se do směru kolmého k vektoru hlavního napětí a na jejich čele lze vhodnými technikami identifikovat plastickou zónu vznikající účinkem vysoké koncentrace napětí.

Tento přechod roviny trhliny z aktivní skluzové roviny do roviny kolmé na vnější napětí se často označuje jako přechod z krystalografického šíření trhliny do nekrystalografického šíření trhlin. V této etapě se šíří zpravidla již jen jediná trhlina někdy označovaná jako magistralní. Pro krystalografické šíření podél aktivních skluzových rovin se vžil termín prvá etapa šíření

a pro nekystalografické šíření kolmo na vektor hlavního napětí termín druhá etapa šíření únavové trhliny. Schematicky jsou obě etapy zakresleny na obr. 3.

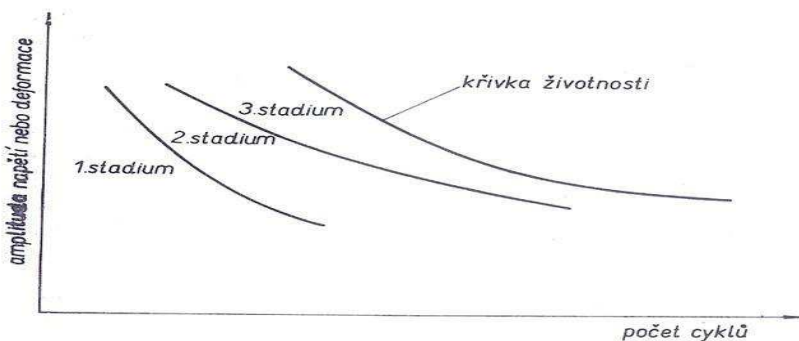
Obr. 3 Schéma etap šíření únavové trhliny



Schematicky je rozdělení únavového procesu na jednotlivá stádia znázorněno na obr. 4 v diagramu životnosti. Vlastní křivka životnosti (např. Wöhlerova křivka při zatěžování konstantními amplitudami napětí) sama o sobě reprezentuje konec třetího stádia.

Přesná definice rozhraní mezi stádii neexistuje. Je tedy jen věcí konvence, do jaké délky trhlin budeme hovořit o stádiu nukleace a od jaké délky o stádiu šíření. Délka a relativní význam jednotlivých stádií závisí na materiálu, geometrii součásti, typu zatěžování a prostředí.

Obr. 4 Stádia únavového procesu



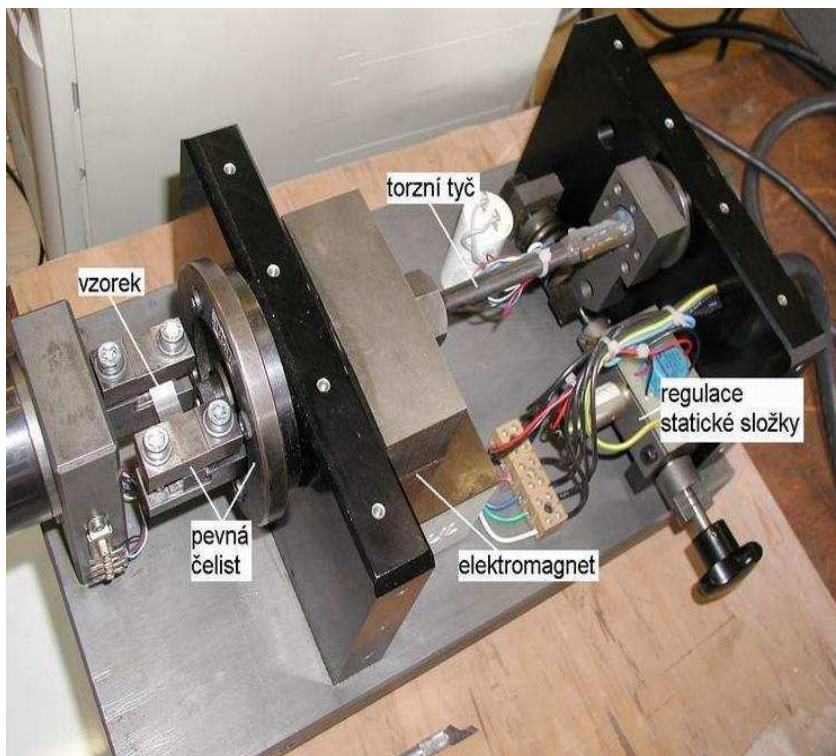
2.3 Experiment

2.3.1 Zkušební zařízení

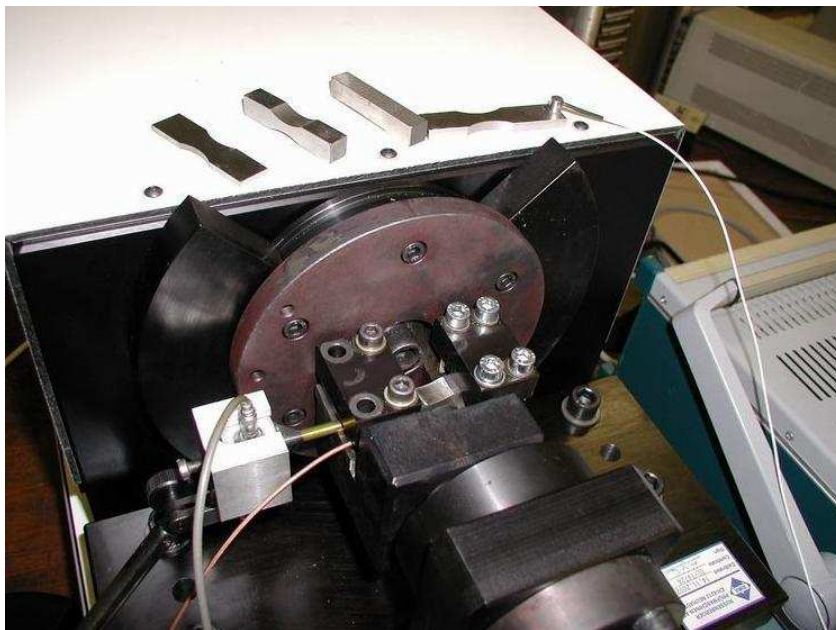
V laboratoři vysokocyklové únavy VUT FSI v Brně, ÚK jsou k dispozici dva elektrozonanční pulzátory. Prvním je pulzátor RUMUL Cracktronic 160. Jedná se o moderní, počítačem řízený stolní pulzátor, který pracuje v oblasti zatěžování plochým ohybem s frekvencí zatěžování v rozmezí 50 – 120 Hz. Součástí vybavení je software umožňující nejrůznější způsoby programového zatěžování vzorků. Maximální ohybové zatížení je 160 Nm.

Pulzátor RUMUL Cracktronic 70 starší pulzátor se stejným principem. Max. dosažené zatížení je 70 Nm. Obvyklé frekvence zatěžování se pohybují v rozmezí 120 – 150 Hz. Princip pulzátoru Rumul Cracktronic 160 je znázorněn na obrázku 5 a 6.

Obr. 5 Princip pulzátoru Rumul Cracktronic 160



Obr. 6 Detail upínací části pulzátoru Rumul Cracktronic 160



Rozhodující část života zatěžovaného materiálu se odehrává v oblasti kumulace poškození, iniciace a šíření krátkých trhlin. V oblasti zatěžování s vyšším počtem zátěžových cyklů je však velmi obtížné spolehlivě identifikovat a sledovat tyto procesy.

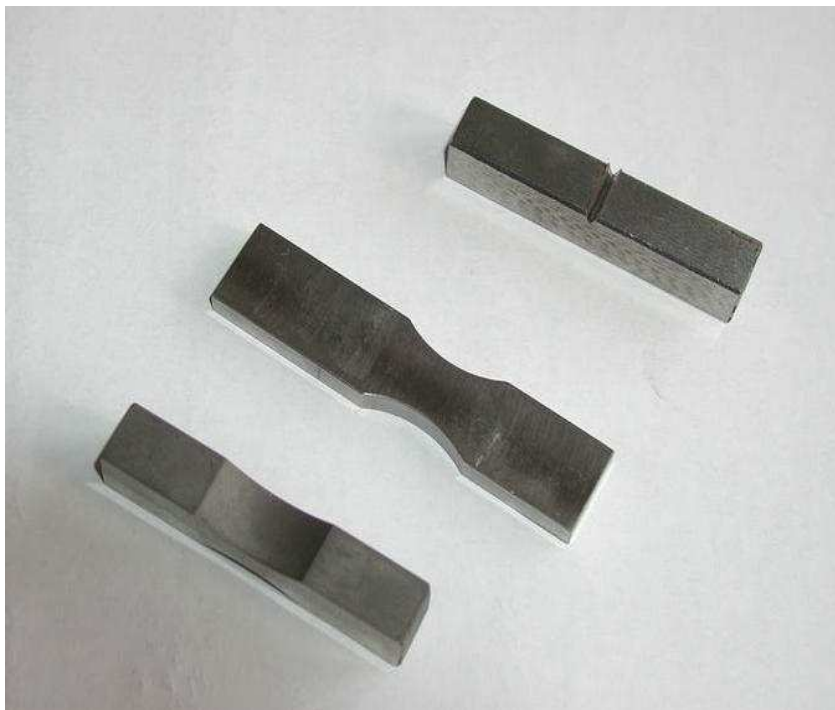
Pro sledování rozvoje únavového poškození je k dispozici řada metod, které mohou být založeny na principu hodnocení vizuálního, piezoelektrického, elektrostatického, elektromagnetického a mnoha dalších. Řada postupů umožňuje nedestruktivně stanovit základní mechanické vlastnosti a jejich změny v průběhu zatěžování, v některých případech je možno sledovat i šíření trhlin apod.

S rozvojem mikroelektroniky se ukazuje možnost aplikace moderních metod nedestruktivního zkoušení i pro testování těchto etap únavového poškození na slitinách hliníku. To však není předmětem této práce.

2.3.2 Parametry zkoušky:

Pro zkoušku vysokocyklického únavového namáhání používáme normované zkušební vzorky (viz. Obrázek 7). Vzorky jsou určeny pro elektrozonační zkušební stroje a mají délku 55 – 60 mm.

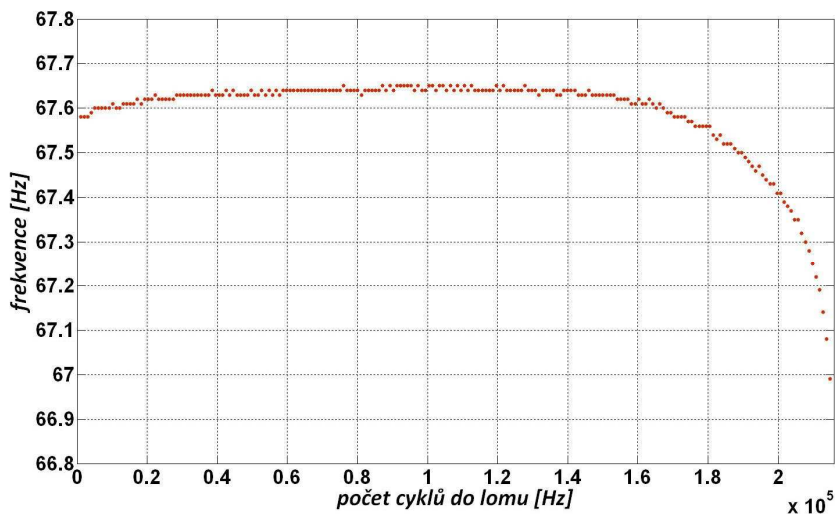
Obr. 7 Zkušební vzorky



- Na zkušebním zařízení se nastavuje amplituda zatěžování, kterou volíme maximálně 9,5 Nm, což odpovídá napětí 240 MPa.
- Počáteční frekvence zatěžování je určena automaticky strojem na základě tuhosti vzorku.
- Nastavuje se minimální možná změna frekvence pro ukončení zkoušky a automatické vypnutí zkušebního zařízení. Tato hodnota je pro slitiny hliníku cca 1,5 Hz. Při takto velké změně frekvence již ve vzorku nastává šíření únavové trhliny.
- Základní možností popisu únavového procesu je vytvoření tzv. S-N závislosti (příp. Wöhlerovy závislosti), která vyjadřuje závislost počtu cyklů do lomu na aplikovaném napětí.

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

Graf 1. Závislost frekvence na počtu cyklů do lomu



V grafu 1 je znázorněna závislost frekvence na počtu cyklů do lomu u hliníkového vzorku. Na počátku zkoušky je vidět cyklické zpevňování, tedy první stádium únavového namáhání. Z grafu je rovněž patrné, že přibližně při $1,4 \times 10^5$ cyklů nastává nukleace trhliny, což je v místě, kde křivka grafu začíná klesat. Od této chvíle se trhlina šíří až do konečného lomu materiálu, který nastává přibližně při $2,1 \times 10^5$ cyklů.

V příloze je i protokol z měření tohoto zkušebního vzorku. Pro vytvoření wöhlerových křivek je nutné, v rámci statistické přesnosti měření, provést zkoušku několika desítek vzorků a to při různých zatíženích.

4 ZÁVĚR

Poškození únavou je v praxi, navzdory veškerému dosavadnímu výzkumu a pokroku v poznání, stále častým důvodem mnohdy fatálních selhání mechanicky namáhaných konstrukcí. Intenzivní a velmi úspěšný rozvoj lomové mechaniky od sedmdesátých let minulého století a růst poznatků v posledních letech je nadějným příslibem, že konstruktéři budou mít k dispozici účinný nástroj, s jehož pomocí bude možné přesně a spolehlivě popsat a zejména predikovat jakékoli poškození únavovými trhlínami.

Přínos této práce lze spatřovat především v rozšíření poznatků o nukleaci a šíření únavových mikrotrhlin ve slitinách hliníku. Tyto poznatky lze dále aplikovat v řadě vědních oborů, kde využitím znalostí únavového procesu můžeme předcházet závažným nehodám.

LITERATURA

- [1] KLESNIL, M., LUKÁŠ,P: *Únava kovových materiálů při mechanickém namáhání*. ACADEMIA. Praha 1975. 222s. ISBN 509-21-857.
- [2] KLESNIL, M., LUKÁŠ,P: *Šíření únavových trhlin v oceli*. ACADEMIA. Praha 1973. 89s. ISBN 509-21-872.
- [3] KOUTSKÝ, J: *Degradační procesy a predikce životnosti*. Západočeská univerzita. Plzeň 1995.167s. ISBN 80-7082-177-9
- [4] BROOKS, CHARLIE, R.: *Failure analysis of engineering materials*. MC GRAW-HILL. New York 2002. 602s. ISBN 0-07-135758-0

THERMAL EFFECT ON STRUCTURE OF INTERMETALLIC PHASES FE-ZN

Horák K., Černý M.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xhorak39@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The article is focused on studying the effect of temperature on structure of intermetallic phases of the protective zinc layer. The main objective of the article is a description of the structure and the changes that can occur during the heating process. The first part of the article deals with the description of the structure and mechanical properties of the individual stages of transition and their arrangement. The main part of the article focuses on the study of brittle intermetallic phases, which should appear due to increased temperature. For this reason, a set of samples of steel 11 321 was prepared. These samples were subjected to thermal heating in the tempering furnace. Subsequently, metallographic thin sections were prepared, observed and assessed using SEM microscopy and EDS analysis. On the conclusion, the article is trying to explain the influence of intermetallic phases on degradation of the protective layer.

Key words: corrosion, zinc coating, structure, intermetallic phases, temperature, REM, EDS

Acknowledgments: The article was written in the context of the diploma thesis created in connection with the Institute of Design at Brno University of Technology.

ÚVOD

Problematikou zinkových vrstev se zabývá rok od roku více vědeckých prací, které jsou evokovány praktickými problémy, projevujícími se nejen při samotném využívání zinkových povlaků, ale i při jejich výrobě. U tohoto povlaku bylo již dříve prokázáno odlupování vrstvy, ke kterému dochází vlivem aplikace zvýšené teploty. Důvodem je pravděpodobně vznik křehkých intermetalických vrstev, jejichž výskyt bude verifikován.

Zinkový povlak je možné vytvořit např. metodou žárového stříkání (tzv. metalizace), nanášením kovového povlaku ve vakuu nebo elektrolytickým (galvanickým) vylučováním. Zdaleka nepoužívanější metodou je však žárové zinkování ponorem. Princip spočívá ve vytváření zinkového povlaku na pokovovaném dílci vzájemnou reakcí základního materiálu výrobku se zinkovou taveninou v lázni při teplotách 440 – 470 °C. Do taveniny je možné vedle zinku a železa přidávat i další prvky, které ovlivňují výsledné vlastnosti taveniny (Pb, Bi – snížení viskozity), tak i vzniklého povlaku (Sn – zvýšení křehkosti). Zpravidla je možné konstatovat, že houževnatost povlaku klesá s jeho rostoucí tloušťkou. Mezi výhody žárového povlaku patří proti ostatním technologiím především odolnost vůči nárazu a otěru, rovnoměrnost povlaku po celém povrchu a hlavně fakt, že povlak žárového zinku vzniká všude tam, kde došlo ke kontaktu čistého kovového povrchu s taveninou, tedy i na vnitřním povrchu dutých částí (nedochází ke vzniku galvanického stínu). [7]

Během procesu moření, katodickým elektrolytickém odmašťování i při vlastním zinkování dochází na povrchu materiálu (katoda) k usazování vodíku. Princip vzniku atomárního vodíku spočívá v katodické redukci vodíkových iontů nebo vody na kladně nabitě atomy vodíku, které jsou následně přitahovány k záporné elektrodě. Kladně nabitě atomy vodíku mohou vznikat i při termické disociaci molekuly vodíku. Vodík může následně difundovat do vlastního materiálu a usazovat se v jeho krystalografické mřížce – tetraedrální a oktaedrální polohy a vakance. Takto usazené atomy a molekuly vodíku vyvíjejí tlak v mřížce a způsobují křehnutí – vodíková křehkost. V důsledku silového zatížení materiálu dochází ke snížení meze kluzu až o dvě třetiny původní hodnoty. V případě navázání na uhlík dochází ke vzniku metanu, oduhličení materiálu a vzniká vodíková koroze. Pokud slitina obsahuje kyslík, může být napadena vodíkovou nemocí. V tomto případě se atomy vodíku váží na atomy kyslíku za vzniku vodní páry, která v materiálu opět vyvolává napětí. Mechanismus vodíkové nemoci lze tak považovat za zcela shodný s vodíkovou korozí. Z tohoto důvodu se maximálně do čtyř hodin po vytvoření povlaku provádí tzv. odvodňování. To je možné provádět buď dvoustupňovou nebo jedностupňovou metodou. Dvoustupňová metoda spočívá v krátkém nárazovém zinkování na tloušťku 3 - 4 μm zinku, následně tepelné úpravě při teplotě 180 – 200 °C po dobu 2 hodin, konečného zinkování na požadovanou tloušťku vrstvy a konečné tepelné úpravy s chromátováním. Hlavní nevýhodou dvoustupňové metody je její složitost a zároveň tepelné ovlivnění povrchové vrstvy, které může v některých případech způsobit puchýřkování povrchu a jeho odlupování. Jednostupňová metoda využívá toho, že bariera zinku je za vyšších teplot pro vodík propustná a je tedy možné vyloučení plynného vodíku i ze samotné součásti. Zinkování tedy probíhá v jednom kroku na konečnou tloušťku vrstvy s následným temperováním na teploty 210 - 240 °C po dobu 1-2 hodin. Všeobecně doporučenou teplotou je 225 °C, avšak právě při této teplotě dochází pravděpodobně k vylučování intermetalické fáze

gama₁ z fáze gama, která je pravděpodobně důvodem nesourodosti povlaku pro jeho diskontinuitu ve stavbě atomové mřížce. [7, 9]

MATERIÁL A METODIKA

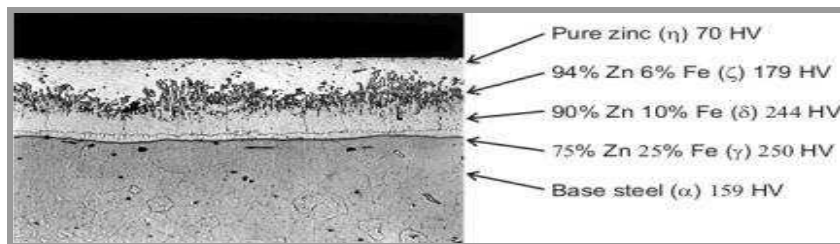
Intermetalické fáze, vznikající v průběhu reakce povrchu ocele s roztaveným zinkem, se od sebe odlišují jak množstvím zinku, které směrem k povrchu narůstá, tak i krystalografickou strukturou (viz tab.1).

Tab.1 Mikrotvrdość a krystalová struktura zároveň zinkovaných povlaků [2]

Fáze	Vzorec	Krystalová struktura	Mikrotvrdość VH _{25mg}
α Fe	Fe(Zn)	BCC	104
Γ	Fe ₅ Zn ₁₀	BCC	326
Γ ₁	Fe ₅ Zn ₂₁	FCC	505
δ	FeZn ₁₀	Hexagonální	358
ζ	FeZn ₁₃	Monoklinická	208
η	Zn(Fe)	HCP	52

Fáze γ₁ (Fe₅Zn₂₁) obsahuje přibližně 21 % Fe, její vrstva je velice tenká a na metalografickém výbrusu neviditelná. Krystalizuje v FCC mřížce a je charakteristická svojí vysokou tvrdostí (505 HV). Základní FCC buňka fáze gama₁ je tvořena osmi základními BCC buňkami a vlivem vyššího počtu skluzových rovin je snadněji deformovatelná než mřížky BCC a HCP. Při teplotě 550 °C se peritektoidně rozkládá na fáze delta a gama. [2] Fyzikálními vlastnostmi se velice podobá minerálu Franklinit (ZnFe₂O₄), který je charakteristický svojí tvrdostí, vysokou křehkostí a nepravidelným lomem, neboť neobsahuje skluzové roviny. Na výsledné vlastnosti vytvořeného povlaku má zásadní vliv též celkové rozložení jednotlivých fází (viz obr.1).

Obr.1 Intermetalické fáze Zn-Fe [4]



Experiment pro sledování změn ve struktuře zinkového povlaku vlivem zvýšené teploty byl proveden na vzorcích ocelového plechu jakosti 11 321. Rozměr vzorků je 160 x 65 mm při tloušťce plechu 1,0 mm (viz obr.2). Po nastříhání byly vzorky odmaštěny, mořeny a zároveň zinkovány na tloušťku vrstvy (50 - 80 μm). Následně byly vzorky uspořádány do skupin a uloženy do dvou předem vyhřátých popouštěcích pecí typu PP 20 – 540. Jedna sada zinkovaných plechů exponovala v peci při teplotě 250 °C a druhá při teplotě 300 °C. Po uplynutí 1 h, 3 h a 5 h byly vzorky postupně vyjmuty a zchlazeny na vzduchu. Právě při těchto teplotách a délce zahřívání by mělo zaručeně nastat vyloučení křehké intermetalické fáze γ₁ z fáze γ.

Obr.2 Ukázka připraveného žárově zinkovaného vzorku

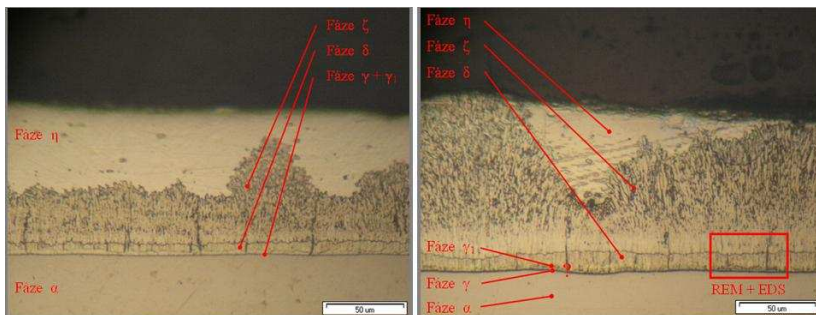


Pozorování změn v přechodové vrstvě železo-zinek bylo umožněno po vytvoření metalografických výbrusů, které byly dále podrobeny pozorování za využití optické a rastrovací mikroskopie, EDS analýzy a konečnému vyhodnocení.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Rozhodujícím faktorem při vyhodnocení metalografických výbrusů byla doba žhání vzorků, přičemž bylo ověřeno, že s rostoucí dobou žhání dochází k výraznému růstu intermetalické fáze dzéta ζ . Tato fáze prorůstá v podobě podlouhlých zrn přes vrstvu „čistého“ zinku a často vytváří tzv. keřčky (jev out-burst), které při delší době žhání prorůstají až na povrch ochranné vrstvy a tím jí rozrušují (viz obr. 3). Svoji přítomností pak umožňují rozvoj a šíření koroze do nitra povlaku.

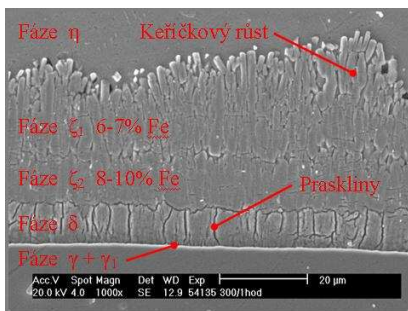
Obr.3 Metalografický výbrus vzorků žh. po dobu 1h při 250 °C a 5h při 300 °C



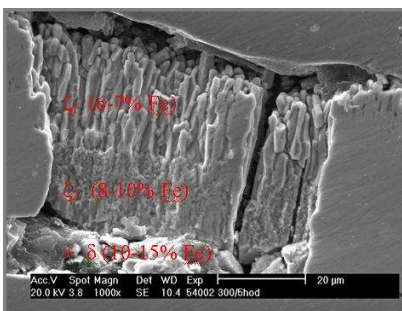
K využití SEM mikroskopie bylo přistoupeno z důvodu potřeby většího rozlišení a zvětšení, kterého je možno během pozorování dosáhnout. Z pravidla se jedná o rozlišení menší než 100 nm. Pořízené snímky byly vyhotoveny na zařízení PHILIPS XS-30 umístěného na VUT v Brně doplněného navíc o zařízení vyhodnocující EDS (Energy Dispersive Spectroscopy) analýzu. Složení studované látky lze touto metodou detekovat v místě o rozměrech přibližně 1-2 μm , přičemž limity detekce prvku se pohybují v rozmezí 0,1-0,5 hmot. %.

Průběh všech fází vyskytujících se v přechodové vrstvě Zn-Fe je zachycen na obr.4. Rozdělení oblasti ζ na ζ_1 a ζ_2 je v současné době ve stádiu výzkumu jak z hlediska krystalizačních, tak i mechanických vlastností.

Obr.4 SEM snímek naleptaného řezu Zn-Fe vrstvy 1000x (žih. 1h při 300 °C)



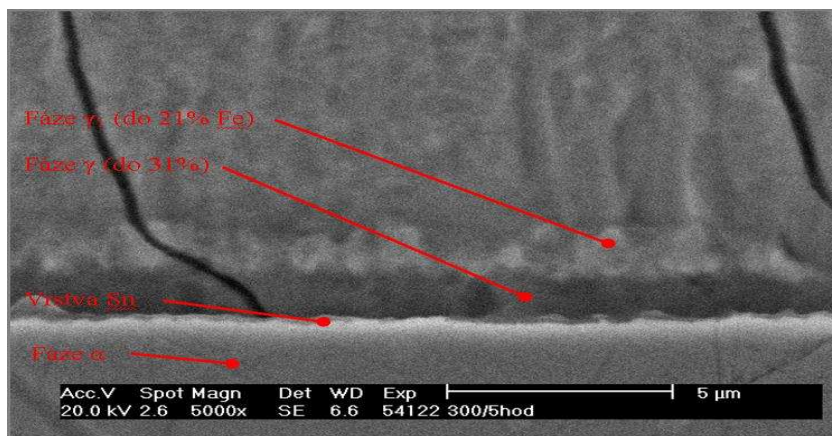
Obr.5 SEM snímek – Odslup vrstvy v nena-leptaném řezu Zn-Fe vrstvy 1000x



Překvapivým zjištěním při pozorování naleptaného povrchu vzorku byla přítomnost dutin mezi fázemi ζ_1 , ζ_2 a δ , které se vytvořily pravděpodobně při procesu žhání (viz obr. 5). Tvorbu těchto dutin umožňuje krystalografická odlišnost mřížek sousedních fází (viz tab. 1), která zamezuje jejich provázání. Jedním z důvodů vzniku těchto dutin může být i technologický postup, neboť vzorky byly po procesu zinkování chlazeny vodou. To může v nově vytvořeném povrchu zanechat zakonzervovaná tlaková pnutí, která se projeví právě při delších žhacích intervalech a mohou být příčinou redistribuce prvků. Obr.5 dokazuje obecně homogenní rozhraní (zřejmě i přechod typu mřížky) mezi fázemi ζ_1 a ζ_2 a diskontinuitu mezi η , ζ a δ .

Následující snímek vzorku žhaného po dobu pěti hodin při teplotě 300 °C s naleptaným povrchem nitalem na obr.6 je zaměřen na oblast výskytu fází γ a γ_1 . Na snímku je při 5000 násobném zvětšení možné pozorovat světlé a tmavé pásy, který byly dále analyzovány za použití EDS, neboť se pravděpodobně jedná o rozdílné struktury z hlediska obsahu prvků vzniklé difúzními pochody v průběhu variace tepelných polí při ochlazování. V případě stabilního ochlazování by oblast železa i fázového rozhraní byla mnohem zřejmější. Vzniklo by jasné oddělení fází δ a γ (do 31 % Fe) s případnou nižší koncentrací Fe v oblastech γ_1 (do 21 % Fe)

Obr.6 SEM snímek Zn-Fe vrstvy 5000x (300 °C, 5h)



Snímek na obr.6 tak při 5000 násobném zvětšení podává nejpravděpodobnější rozložení fází, což je podloženo již dříve dokázaným faktem, že se fáze γ_1 vyskytuje pouze lokálně. Vzniká difúzním přerozdělením atomů Fe v tepelně ovlivněné oblasti v řádu několika hodin.

Vrstva Sn (v podobě výrazného bílého pásu) je na povrch oceli nanášena jako první již při procesu zinkování a až na ní se ukládají ochranné zinkové vrstvy. Toho se využívá především k potlačení růstu fází (potlačení difúze atomů železa), které, jak bylo již řečeno, často prorůstají až na povrch vzorku a výrazně tak snižují jeho korozní odolnost. Podobné vlastnosti a využití má i hliník, který je navíc využíván jako deoxidátor (odebírání kyslíku), avšak ve sloučeninách je velice křehký a rovněž napomáhá k praskání vrstvy.

ZÁVĚR

Zvláštní pozornost byla v článku věnována mikrostruktuře zinkového povlaku vytvořeného metodou žárového zinkování. Na takto vytvořeném povlaku je možné zřetelně pozorovat fáze α , δ , ζ a η , které jsou po průřezu uloženy dle koncentračního spádu Zn-Fe. Fáze γ a γ_1 , vytvářející se vlivem zvýšené teploty a pravděpodobně způsobující degradaci povlaku, nebylo možné rozlišit. Proto se tento článek zabýval především problematikou jejich výskytu, následně pak i celkovou strukturou Zn-Fe přechodu.

Již na metalografických snímcích při 200x zvětšení bylo možné pozorovat nárůst fází ζ a δ , které prorůstají se zvyšující se teplotou směrem k povrchu vrstvy a v mnohých případech dochází k tvorbě tzv. keřčků (out-burst), které umožňují vznik bílé koroze.

Rozložení fází γ a γ_1 , které nebylo dříve přesněji popsáno, je za pomoci SEM mikroskopie zachyceno na obr.6. Potvrzuje fakt, že fáze γ_1 se vyskytuje pouze lokálně. Proč se ale objevuje právě v oblastech vyznačených v obrázku není doposud zcela zřejmé a bylo by zapotřebí dalších výzkumů a analýz. Práce dokazuje její existenci v průměrné tloušťce menší než u fáze γ (1 μm) s velkou

proměnlivostí této tloušťky. Střední aritmetická tloušťka určená na sedmi snímcích v krocích s délkou 1 μm byla určena hodnotou průměrné tloušťky 0,37 μm . Připočteme-li její členitost, tvrdost a z oblasti fáze δ pronikající četné trhliny (vrubový efekt), její lomové chování jí předurčuje pro fragmentaci a následné odloupení od vrstvy δ . Minimální tloušťka γ a γ_1 s vysokým obsahem Fe a přítomnost ocelového podkladu (spolu s Sn) tak evokuje předpoklady korozního napadení v případě místní degradace v důsledku napětí a následné fragmentace povlaku.

Překvapivým zjištěním bylo množství dutin, které se při delších žhacích časech a vyšších žhacích teplotách objevují na rozhraní fází. Konkrétně se jedná o přechody mezi fázemi η - ζ a ζ - δ . Jejich vznik pravděpodobně zapříčiňují konzervovaná pnutí v ochranné vrstvě, která vznikají již při zchlazení vzorků do vody bezprostředně po procesu žárového zinkování. Vznik dutin je projevem nehomogenity jednotlivých uvedených vrstev. Detailní studium via REM (obr.4 a 5) potvrdilo existenci rozhraní v oblasti ζ . Toto rozhraní, ačkoli je z hlediska porušení naprosto kontinuální, hraje při delaminaci fází η - ζ_1 a ζ_2 - δ patrně roli v utváření napětového a difúzního koncentračního spádu. ζ_1 je intermediální fáze s obsahem Fe do 7 hmot. %. Fáze ζ_2 má nepatrně vyšší obsah Fe (< 10 hmot. % Fe) a jemnější strukturu krystalů s drobnými objekty rovnoosého charakteru. Fáze ζ_1 je tvořena kolumnárními krystaly s výraznou orientací a délkou až 20 μm . Diskutovat lze například i souvislost a vliv obsahu Si v oceli a Sn vrstvy, která od sebe odděluje povrch ocelového vzorku a přechodové fáze FeZn.

U zinkovaných součástí podrobených tepelnému ohřevu na teploty blízké 250 °C není zřejmě možné z uvedených přičít garantovat protikorozní ochranu a zinkový povlak se tak stává naprosto nevhodný. Z tohoto důvodu je nutné při korozní exploataci součástí volit její kombinaci v rámci duplexní ochrany, která je synergickým celkem opatření v rámci ochrany strojních a stavebních konstrukcí proti korozní degradaci kombinovanými povlaky.

LITERATURA

- [1] TRČKA, J.: Vliv vnějších podmínek na stabilitu a vlastností antikorozních kovových povlaků na oceli. Disertační práce. VUT Brno, 2003.
- [2] ZMRZLÝ, M.: Vlastnosti modifikovaných povrchů kovových materiálů. Disertační práce. VUT Brno, 2004.
- [3] ČERNÝ, M. a kol.: Korozní vlastnosti kovových konstrukčních materiálů. SNTL Praha, 1984. 264 s.
- [4] Ing. KRAUS, V. CSc.: Povrchy a jejich úpravy. [online]. [Cit. 2009-10-07] Dostupné z: <<http://tzs.kmm.zcu.cz/POUcelk.pdf>>.
- [5] BEST B.: Lessons for Cryonics from Metallurgy and Ceramics. [online]. [Cit. 2009-10-07] Dostupné z: <www.benbest.com/cryonics/lessons.html>.
- [6] MM Průmyslové spektrum [online]. [Cit. 2009-10-07] Dostupné z: <<http://www.mmspektrum.com/clanek/ochrana-kovu-proti-korozni>>.

- [7] Konstrukce - časopis pro stavebnictví a strojírenství [online]. [Cit. 2009-10-07] Dostupné z:<<http://www.konstrukce.cz/clanek/zarove-zinkovani-ponorem-zakladni-informace-pro-uzivatele/>>.
- [8] Katedra mater. a strojír. metalurg. při ZČU v Plzni [online]. [Cit. 2009-10-07] Dostupné z: <<http://tzs.kmm.zcu.cz/kovov.pdf>>.
- [9] SurTec ČR s.r.o [online]. [Cit. 2009-10-07]. Dostupné z:<<http://www.surtec.cz/Publikace/Ti08.pdf>>.
- [10] Advanced Cover Concepts [online]. [Cit. 2009-10-07] Dostupné z:<<http://advancedcoverconcepts.com/images/galv3.gif>>.

THE PROCESSING OF BIOLOGICALLY DECOMPOSABLE WASTES IN „SBM“ TECHNOLOGY ARRANGEMENT

Junga P., Mareček J.

Department of Agriculture, Food and Environmental Engineering, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: petr.junga@mendelu.cz

ABSTRACT

Biologically decomposable materials are significant in general waste production. We can use this kind of renewable material and eliminate negative types of treatment with this material. One of possibility for processing of biologically decomposable wastes there is mechanically biological treatment (MBT). There is experimental project for development of new technological arrangement that make use of mechanical and hydrothermal treatment principles. Experimental development of this technological arrangement for stabilisation of biologically decomposable materials is fit for small and medium agglomeration and as a part of existing technologically links for this material. There are any operational problems which we will have to solve, but these problems are integral part of experimental development of any new arrangement. The results of experimental measurement are proving, that selected way of development is correct and this technological arrangement will be able to successful practically utilization.

Key words: Mechanical-Biological Treatment, Technological Arrangement, Stabilisation, Biological Decomposable waste.

ÚVOD

Mezi biologicky rozložitelné materiály (BRM) patří celá škála materiálů biotického původu. Řadíme sem jednak biologicky rozložitelné materiály s charakteristikami odpadu (ze zemědělství i komunálních služeb), ale i biologické materiály pěstované účelově pro získání biomasy. Biologicky rozložitelné odpady (BRO) tvoří významný podíl z celkové produkce odpadů. Mimo produkce zemědělských biologických odpadů mají velký význam rovněž biologické odpady z komunální sféry. Kvantitativní zastoupení této složky v komunálním odpadu KO závisí na řadě faktorů (region; typ osídlení; systém svozu, atd.) a pohybuje se mezi 30 až 40 %. Zpřísnující se legislativní požadavky mají vést k racionálnějšímu nakládání s tímto druhem odpadu a ke snížení jeho podílu v rámci komunálního odpadu (KO). Česká republika patří mezi země, kde je převážná část komunálního odpadu ukládána na skládky (82,57 % v roce 2007) [1]. Biologicky rozložitelný komunální odpad (BRKO) je, díky svým vlastnostem nežádoucí složkou, kterou je třeba z komunálního odpadu vytřídit a vhodným způsobem zpracovat. Směrnice Rady 99/31/EC, o skládkování odpadů ukládá členským státům závazky k redukci množství BRO ukládaného na skládky. V POH ČR jsou stanoveny cílové hodnoty a časové termíny pro splnění těchto požadavků, z nichž vyplývá snížení podílu BRKO ukládaného na skládky na 75 % hmotnostních do roku 2010, na 50 % hmotnostních do roku 2013 a 35 % hmotnostních do roku 2020, oproti stavu v roce 1995 [2].

Biologicky rozložitelné odpady mají vlastnosti, které jsou důvodem pro snahu o jejich redukci v rámci komunálního odpadu. Jedná se o biologický, silně reaktivní materiál, který podléhá rozkladu spojeným s fyzikálními a chemickými změnami, které mají negativní vliv na vnitřní prostředí tělesa skládky i na jednotlivé složky životního prostředí. Při rozkladných procesech dochází k výrazným objemovým změnám tohoto materiálu a následně k mechanickým poruchám terénu případně poruchám těsnící vrstvy. Rozkladné procesy výrazně zvyšují pH tělesa skládky, čímž způsobují zvýšení rozpustnosti rizikových prvků (těžkých kovů) a dalších nebezpečných látek. V současné době nabývá rovněž na důležitosti i produkce tzv. skleníkových plynů (např. CO₂, CH₄), které velmi pravděpodobně ovlivňují stav klimatu [3].

Nezanedbatelným faktorem je to, že biologicky rozložitelné odpady je možno zpracovat a pokud splňují legislativní požadavky, tak je následně využít jako organické hnojivo v zemědělství (jako průmyslový kompost případně digestát z bioplynových stanic). Vzhledem k vývoji v oblasti energetiky je také znatelný sílící trend pro energetické využití těchto materiálů, a to jednak produkcí obnovitelného paliva nebo kombinovanou produkcí tepla a elektrické energie využitím bioplynu z anaerobních transformací. Pro zpracování biologicky rozložitelných odpadů máme k dispozici několik základních technik, a to kompostování, anaerobní fermentaci a mechanicko-biologickou úpravu (MBÚ).

Praktická aplikace ukazuje, že zejména z legislativního hlediska je proces schvalování i samotného provozování kompostáren v České republice komplikovaný. Navíc o produkovaný kompost není ve většině regionů mezi odběrateli dostatečný zájem. Důvodem mimo jiné bývá problematická kvalita kompostu a také jeho vysoká cena. Provozovatel často není schopen, vzhledem ke heterogenosti dodávaného kompostovaného substrátu nebo používané technologii kompostování zaručit standardní kvalitu produktu. Investiční náročnost i ekonomika provozu kompostárny se negativně odráží v nekonkurenceschopné ceně produktu a doba ekonomické návratnosti investice je neúměrně dlouhá

(pokud je návratnost vůbec možná). U nejběžněji využívaných standardních kompostovacích technologií vznikají často problémy související zejména s dodržováním ustanovení zákona o ochraně ovzduší a dalších zákonů z oblasti životního prostředí, čímž je značně komplikován provoz těchto zařízení. Moderní technologie intenzivního kompostování jsou investičně i provozně velmi náročné, tudíž je jejich dostupnost omezena. Celkově jsou kompostárny vhodné zejména pro městská aglomerace, pro které není investiční a provozní náročnost kompostárny limitujícím faktorem. U menších a středních sídel není budování kompostáren ekonomicky ani provozně racionálním řešením a v dlouhodobém časovém horizontu může vést ke značným problémům.

Výhodnější, ale rovněž limitovanou možností je využití procesů anaerobní fermentace. V této oblasti nastal v ČR v posledních letech značný rozvoj. V rámci České republiky je provozováno více než 40 bioplynových stanic a další jsou ve fázi projektové přípravy či realizace. V současnosti se využívají zejména metody s využitím tekutých substrátů, ale je zde i snaha o aplikaci tuhých substrátů (probíhá experimentální ověřování zpracování tuhých substrátů). Co však komplikuje a limituje ještě větší rozvoj sítě bioplynových stanic je opět jejich komplikované povolování, provozování a zejména nedostatečná kapacita elektrické přenosové sítě, nedovolující připojení nových stanic k rozvodné soustavě. Samostatnou kapitolou je technologicky správné provozování bioplynových stanic, jehož dodržování je podmínkou bezproblémového provozu, s vyloučením negativního postoje veřejnosti (obtěžování zápachem), bez postihování sankcemi za znečišťování jednotlivých složek životního prostředí apod.

Další možností zpracování biologicky rozložitelných materiálů jsou metody mechanicko-biologické úpravy odpadů (MBÚ). Jedná se široké spektrum používaných technologií, které jsou přímo podporované POH ČR. Komplexní technologie MBÚ dosud nejsou v České republice rozšířené. Neexistuje zde žádné komplexní zařízení tohoto typu, ale je realizována řada zařízení využívajících dílčích stupňů procesu MBÚ. Investiční náročností je komplexní zařízení MBÚ srovnatelné s vybudováním zařízení pro termické zpracování, a tudíž vhodné pro větší aglomerace regionálního charakteru. Ze strany malých a středních obcí vyvstala společenská poptávka po vývoji technologického zařízení pro zpracování biologicky rozložitelných materiálů. Zařízení má být ekonomicky i provozně racionální, a to jak z hlediska povolenacího řízení, investiční náročnosti i samotného provozování zařízení (splnění legislativních požadavků: nakládání s BRO, dodržování emisních limitů apod.). Zařízení je koncipováno tak, aby ho bylo možné umístit v rámci existujících objektů pro nakládání s odpady (tj. sběrné dvory odpadů, zemědělské areály apod.). V rámci spolupráce akademických subjektů (MZLU v Brně a VŠB v Ostravě) a soukromého výrobního subjektu (Strojírna Olšovec spol. s r.o.), bylo vyvinuto experimentální technologické zařízení pro zpracování biologicky rozložitelných materiálů „SBM“. Experimentální technologické zařízení „SBM“ využívá principu hydrotermické stabilizace biologicky rozložitelných materiálů. Zařízení je schopno zpracovat široké spektrum biologických materiálů, pocházejících jak ze zemědělské činnosti, tak z oblasti komunálních služeb (BRKO a odpad z péče o veřejnou zeleň). Výstupem ze zařízení „SBM“ je stabilizovaný, upravený odpad, vhodný k dalšímu využití (jedná se o substrát s vlastnostmi kompostu, substrát pro anaerobní fermentaci nebo substrát pro výrobu obnovitelných paliv), případně substrát pro odstranění [4].

MATERIÁL A METODIKA

V rámci experimentálního ověřování zařízení „SBM“ je analyzován vliv jednotlivých druhů biologicky rozložitelných materiálů a jejich mechanické úpravy na proces stabilizace. Při experimentálních měřeních jsou sledovány a testovány jednotlivé části technologického zařízení „SBM“ při zpracování různých substrátů. K přípravě vzorků je využíváno stacionárního drtícího a míchacího zařízení, předřazeného vlastnímu zařízení „SBM“ (alternativně samostatného řetězového drtiče), které materiál podrtí a homogenizuje. Zkušební materiál byl po nadrcení a homogenizaci dávkován přímo do zařízení „SBM“ (do násypky na vstupu do 1. šnekového lisu).

K analýze zkušebních vzorků jsou využity následující přístroje:

- laboratorní digitální analytická váha (MB 45 od firmy Ohaus s chybou měření 0,005 %), k měření vlhkosti a sušiny,
- dotykový teploměr (Gulton Tastrotherm D700) pro měření teploty materiálu na vstupu a výstupu ze zařízení a teploty okolí,
- průmyslová decimální váha pro měření hmotnosti zkušebních vzorků na vstupu a výstupu ze zařízení.

Materiál pro míchání zkušebních vzorků se v rámci tohoto experimentálního ověřování přivážel ve velkoobjemových pytlích. Při přejímce zkušebního materiálu byla provedena vizuální kontrola obsahu a odběr vzorků pro analýzy vlastností vstupního materiálu, které prováděla akreditovaná laboratoř. Rovněž byly odebrány vzorky výstupního materiálu po zpracování. Sledovaly se tyto parametry: pH, poměr C:N, nerozložitelné příměsi, spalitelné látky, dusík dle Kjeldahla, sušina, vlhkost, dusičnany, dusitany, celkový dusík, hořčík, draslík, vápník a fosfor celkový.

V rámci ověřování experimentálního zařízení „SBM“ jsou zkušební vzorky vytvářeny z různých biologicky rozložitelných materiálů a jejich směsí (kombinace různých materiálů). Pro experimenty hodnocené v rámci tohoto článku byly použity tyto materiály: koňský hnůj, odpad z ořezu stromů, řepné řízky, kukuřičná siláž, sláma, lihovarské výpalky, dřevěné piliny, dřevní štěpka, travní fytomasa, odpad ze zeleniny.

Před zahájením procesu stabilizace byly odebrány zkušební vzorky (o hmotnosti 1 až 2 g), pro stanovení okamžité vlhkosti a sušiny. Na základě parametrů vlhkosti a struktury byl zkušební materiál přímo podroben procesu stabilizace nebo byl smíchán s dalšími substráty pro dosažení optimálních hodnot vlhkosti a sušiny. Vstupní experimentální materiál byl nadrcen a homogenizován (dle požadavků Nařízení ES č. 1774/2002). Následně byl materiál dopraven do zásobníku a odtud dále do technologického zařízení „SBM“, kde proběhl proces stabilizace. U zařízení „SBM“ je možno nastavit parametry procesu (pracovní režimy) stabilizace (dle charakteru zpracovávaného materiálu). Po nastavení příslušného pracovního režimu je materiál dávkován do šnekového lisu č. 1, kde je předehříván a odvodňován (v této sekci vzniká odpadní voda tzv. Prolis 1). Poté materiál postupuje do šnekového lisu č. 2 (vlastní reaktor), kde je zahříván při teplotě 240 až 300 °C a postupuje dále do šnekového lisu č. 3 (v této sekci vzniká odpadní voda Prolis 2). U materiálu je zde redukována vlhkost na požadovanou hodnotu, tak aby bylo možno materiál dále upravit (lisovat) do briket [5].

VÝSLEDKY A DISKUZE

Experiment s koňským hnojem

Při experimentálním ověřování stabilizace koňského hnoje byly zvoleny dva pracovní režimy, a to bez dodání tepelné energie (bez ohřevu substrátu) a s dodáním tepelné energie. Bylo zjištěno, že zařízení „SBM“ je schopno substrát částečně odvodnit i bez dodání tepelné energie. Zpracovávaný materiál se totiž vzájemným třením mezi částicemi a šnekovým lusem ohřívá a uvolňuje volnou vodu při průchodu substrátu zařízením. Další volná voda je uvolňována již v procesu drčení a míchání, protože dochází k rozrušení buněčných stěn rostlinných materiálů. Výsledky experimentu s koňským hnojem bez ohřevu substrátu dokumentuje Tab. 1.

Při stabilizaci koňského hnoje s ohřevem substrátu došlo při průchodu materiálu zařízením k vyšší redukci vlhkosti. Výsledky experimentu s koňským hnojem bez ohřevu substrátu dokumentuje Tab. 2. a prokazují, že koňský hnůj je výborným materiálem pro stabilizaci v zařízení „SBM“. Důvodem je zejména jeho složení, kdy velký podíl slámy (nebo dřevěných pilin) používaných jako stelivo, zaručuje optimální vstupní parametry substrátu (bez nutnosti míchání s jinými materiály).

Tab. 1 Experiment s koňským hnojem 1

Číslo měření	Vstupní relativní vlhkost materiálu [%]	Výstupní relativní vlhkost materiálu [%]	Teplota výstupního materiálu [°C]
1	77,01	45,45	30
2	81,70	68,00	27

Tab. 2 Experiment s koňským hnojem 2

Číslo měření	Vstupní relativní vlhkost materiálu [%]	Výstupní relativní vlhkost materiálu [%]	Teplota výstupního materiálu [°C]
1	77,01	49,46	81
2	77,01	48,09	68
3	76,37	39,31	86
4	72,89	48,10	78
5	72,89	37,79	80
6	77,11	37,97	65
7	77,11	48,54	60
8	77,17	54,31	80
9	77,17	53,81	90
10	77,17	50,38	78

Experiment s odpadem z ořezu stromů

Odpad z ořezu byl dezintegrován v řetězovém drtiči, tak aby bylo dosaženo požadované struktury materiálu. Experimentálnímu ověřování byl podroben stabilizaci v zařízení „SBM“ jednak bez příměsi jiného materiálu a jednak ve směsi s řepnými řízky. Při stabilizaci substrátu bez příměsi nedošlo k významným změnám sledovaných parametrů. Došlo k dalšímu rozmělnění a určité redukci vlhkosti. Vzhledem k nižšímu obsahu vlhkosti v tomto materiálu je vhodné jeho smísení s jiným materiálem o vyšší vlhkosti. Zjištěné výsledky znázorňuje Tab. 3.

Tab. 3 Experiment s odpadem z ořezu stromů

Číslo měření	Vstupní relativní vlhkost materiálu [%]	Výstupní relativní vlhkost materiálu [%]	Teplota výstupního materiálu [°C]
1	52,26	44,23	88
2	54,64	46,85	85
3	51,68	43,03	87

Experiment s řepnými řízky

Řepné řízky jsou materiálem s vysokým obsahem vlhkosti. Experimentálně byla ověřena jejich stabilizace v zařízení „SBM“ bez příměsi a vzhledem ke zjištěným výsledkům také ve směsi s odpadem z ořezu stromů. Při stabilizaci směsi bez příměsi bylo zjištěno, že materiál prošel procesem stabilizace téměř beze změn. Řepné řízky se jeví jako materiál vhodný do směsi s materiálem s nižším obsahem vlhkosti. Naměřené výsledné hodnoty dokumentuje Tab. 4.

Tab. 4 Experiment s řepnými řízky

Číslo měření	Vstupní relativní vlhkost materiálu [%]	Výstupní relativní vlhkost materiálu [%]	Teplota výstupního materiálu [°C]
1	86,89	79,17	70
2	86,83	79,06	74

Experiment s odpadem z ořezu stromů ve směsi s řepnými řízky

Další experiment řešil ověření stabilizace směsi odpadu z ořezu stromů a řepných řízků. Tato směs dvou materiálů s výrazně rozdílným obsahem vlhkosti částečně redukovala výslednou vlhkost zpracovávaného substrátu. Naměřené hodnoty stabilizovaného substrátu prokázaly, že řepné řízky nejsou vhodným materiálem pro zpracování v zařízení „SBM“ ani ve směsi s odpadem z ořezu stromů. Výsledky prokazují, že řepné řízky je lépe zpracovat v jiném technologickém zařízení, např. v bioplynové stanici. Naměřené výsledné hodnoty dokumentuje Tab. 5.

Tab. 5 Experiment s odpadem z ořezu stromů ve směsi s řepnými řízky

Číslo měření	Vstupní relativní vlhkost materiálu [%]	Výstupní relativní vlhkost materiálu [%]	Teplota výstupního materiálu [°C]
1	72,26	61,98	70
2	71,15	59,87	71
3	72,58	62,08	73

Experiment s kukuřičnou siláží

Kukuřičná siláž je materiálem s vysokým obsahem vlhkosti. Při experimentu byla ověřována stabilizace materiálu bez příměsí a bez ohřevu substrátu. V dalším experimentu byla kukuřičná siláž míchána s dřevní štěpkou (v poměru 10 : 5). Výsledky prokázaly, že kukuřičná siláž bez příměsí je pro stabilizaci v zařízení „SBM“ nevhodným materiálem a je vhodné ji zpracovávat např. anaerobní fermentací, ale kukuřičná siláž ve směsi s dřevní štěpkou je však optimální kombinací materiálů. Naměřené výsledné hodnoty dokumentuje Tab. 6 a 7.

Tab. 6 Experiment s kukuřičnou siláží 1

Číslo měření	Vstupní relativní vlhkost materiálu [%]	Výstupní relativní vlhkost materiálu [%]	Teplota výstupního materiálu [°C]
1	75,33	58,98	28
2	73,95	56,78	30

Tab. 7 Experiment s kukuřičnou siláží 2

Číslo měření	Vstupní relativní vlhkost materiálu [%]	Výstupní relativní vlhkost materiálu [%]	Teplota výstupního materiálu [°C]
1	74,23	41,20	78
2	74,23	47,14	99
3	73,58	42,30	84

Experiment se slámou

Sláma materiálem s nízkým obsahem vlhkosti, proto není bez příměsí vhodná pro stabilizaci. Při experimentálním ověřování navíc došlo (i přes předchozí dezintegraci materiálu v řezačce) k ucpaní zařízení s nutností jeho rozebrání a vyčištění. Výsledky prokazují, že sláma lze v zařízení „SBM“ použít pouze ve směsi j materiálem o vyšší vlhkosti. Naměřené hodnoty dokumentuje Tab. 8.

Tab. 8 Experiment se slámou

Číslo měření	Vstupní relativní vlhkost materiálu [%]	Výstupní relativní vlhkost materiálu [%]	Teplota výstupního materiálu [°C]
1	44,41	37,62	-
2	38,33	36,79	-
3	38,33	34,33	-

Experiment se směsí lihovarských výpalků a slámou

Lihovarské výpalky jsou materiálem s vyšším obsahem vlhkosti a tudíž jsou bez příměsí vhodné k jinému zpracování, např. v bioplynových stanicích. Při experimentálním ověřování byla testována směs lihovarských výpalků se slámou (zkoušený substrát se skládal celkem ze 122,5 kg výpalků a 16,5 kg slámy). Do zařízení SBM byly dávkovány zkušební vzorky směsi 2,5 kg slámy a 16,5 kg lihovarských výpalků. Výsledky prokázaly, že směs slámy a lihovarských výpalků je vhodným materiálem pro stabilizaci v zařízení SBM. Naměřené hodnoty dokumentuje Tab. 9.

Tab. 9 Experiment se směsí lihovarských výpalků a slámou

Číslo měření	Vstupní relativní vlhkost materiálu [%]	Výstupní relativní vlhkost materiálu [%]	Teplota výstupního materiálu [°C]
1	75,08	53,93	102
2	75,08	39,95	103
3	75,08	41,82	108
4	75,71	43,56	107

Experiment se směsí lihovarských výpalků a dřevěných pilin

Samotné dřevěné piliny jsou pro stabilizaci nevhodným materiálem. experimentálně bylo ověřována směs dřevěných pilin a lihovarských výpalků (zkoušený substrát se skládal celkem ze 49 kg výpalků a 23 kg dřevěných pilin). Výsledky prokázaly, že směs lihovarských výpalků a dřevěných pilin je vhodným materiálem. Naměřené hodnoty dokumentuje Tab. 10.

Tab. 10 Experiment se směsí lihovarských výpalků a dřevěných pilin

Číslo měření	Vstupní relativní vlhkost materiálu [%]	Výstupní relativní vlhkost materiálu [%]	Teplota výstupního materiálu [°C]
1	69,00	37,58	78
2	72,90	30,99	13 (po odstátí 30 min.)

Experiment s travnífytomasou

Travní fytoforma je významným odpadem, vznikajícím při údržbě veřejné zeleně a její zpracování činí obcím nemalé problémy. Experimentálně proto byla ověřována možnost její stabilizace v zařízení „SBM“. Bylo provedeno testování jednak travní fytoformy bez dezintegrace na drtícím a míchacím zařízení, ve stavu v jakém se materiál nachází po posečení travní sekačkou. V rámci druhého testu byl materiál navíc upraven v drtiči – míchači. Výsledky prokázaly, že vzhledem k vysokému obsahu vlhkosti bude vhodné trávu mísit s jiným materiálem, protože parametry výstupu ze zařízení nebyly optimální. Naměřené hodnoty dokumentuje Tab. 11.

Tab. 11 Experiment s travnífytomasou

Číslo měření a specifikace	Vstupní relativní vlhkost materiálu [%]	Výstupní relativní vlhkost materiálu [%]	Teplota výstupního materiálu [°C]
1 (čerstvě nasekaná)	75,79	71,63	-
2 (odležená cca 90 min.)	66,26	53,38	-
3 (čerstvě nasekaná)	78,37	61,10	-

Materiál, který projde procesem stabilizace v zařízení „SBM“ lze dále využít různým způsobem - záleží na složení substrátu a výsledných parametrech, tak aby byly splněny legislativní požadavky. Zpracovaný substrát je vhodný jako organické hnojivo (kompost), předkompostovaný substrát pro zakládku kompostu nebo jako obnovitelné palivo ve formě briquet. Odpadní vody, vznikající v průběhu technologického procesu (Prolis 1, Prolis 2 a kondenzát) lze použít jako hnojivou závlivu nebo pro zavlažování kompostovacích zakládek.

Nadále probíhá experimentální ověřování zařízení, kdy se testují nové materiály, s ohledem na parametry výstupu vhodného ke kompostování nebo produkci obnovitelných paliv (včetně zkoušek těchto paliv na VŠB Ostrava).

ZÁVĚR

Zařízení „SBM“ je zařízením experimentálním. Z důvodu nadále probíhajícího vývoje a zkvalitňování celého technologického zařízení lze očekávat zvýšení jeho efektivity. I přes komplikace a problémy při experimentech (technické provozní problémy související s úpravami částí strojního zařízení; problémy s testovanými materiály apod.) bylo dosaženo pozitivních výsledků a prokázalo se, že dané zařízení má šanci plnit funkce, které jsou od něj očekávány. Zařízení „SBM“ lze rovněž zapojit jako stupeň předpravy na lince pro zpracování biologicky rozložitelných materiálů. Zařízení může být součástí technologické linky pro zpracování např. kuchyňského odpadu, odpadní biomasy v zemědělských podnicích, ve sběrných dvorech pro zpracování biologicky rozložitelného komunálního odpadu apod. Ve fázi vývoje je osazení zařízení „SBM“ dalšími přídatnými součástmi, např. separátory pro oddělení kamenů a kovů, prosévací zařízení atd. (přídavná zařízení budou specifická pro dané spektrum zpracovávaných materiálů). Experimentální zařízení „SBM“ ve většině případů splňuje

požadavky pro použití výstupního produktu jako průmyslového kompostu a rovněž jako obnovitelného paliva ve formě briket. V rámci experimentálního vývoje je zvolen správný směr k dosažení optimálních parametrů tohoto zařízení.

LITERATURA

Internet: <http://www.csu.cz/>. Databáze Českého statistického úřadu.

Nařízení vlády č. 197/2003 Sb. o Plánu odpadového hospodářství České republiky.

FILIP, J. BOŽEK, F. KOTOVICOVÁ, J. Komunální odpad a skládkování. 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003. 128s. ISBN 80-7157-712-X.

Internet: <http://www.mbu.cz/>. Informační portál o mechanicko-biologické úpravě.

BUTTA, M. Vliv mechanické dezintegrace biologicky rozložitelného materiálu na průběh stabilizace. Diplomová práce, Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2009.

BIOGAS TRANSFORMATION OF LIQUID SUBSTRATES

Karafiát Z., Vítěz T.

Department of Agriculture, Food and Environmental Engineering, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xkarafi0@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The goal of research is to optimize liquid substrates fermentation process for different sources of materials and raise amount of findings which are necessary for more effective bio-gas stations production using liquid substrates technology. On the basis of time-schedule were chosen materials for testing in anaerobic fermentation (biomass) from agricultural basic industry. In concrete is negotiated on silage, herbal silage, cow and pig manure. These materials are gesticulate and step by step transformed on biogas in different time period, with uncertain dynamism and in different quality and quantity manure gas.

Key words: biogas, biogas station, fermentation, biomass

Acknowledgments: The project is implemented with financial support from the state budget through the Ministry of Industry and Trade of the National Research Program II – Permanent prosperity – Project number 2A-3TP/010

ÚVOD

Technologie fermentace netekutých substrátů je vhodná zejména pro materiály s vyšším obsahem sušiny (25 % a více), umožňuje zpracovávat materiály se 3 – 4 násobným obsahem organické hmoty ve srovnání s reaktory na tekuté substráty. Dokáže efektivně využít i substráty, které nelze jednoduše zpracovat například nedokonale vyčištěné bioodpady s příměsí plastů, dřeva, kovů, zeminy, a docílit tím snížení jejich množství ukládaných na skládky. Z důvodu chybějících nebo nedostatečných informací o procesu fermentace netekutých substrátů zahájila provoz výzkumná laboratoř určena pro výzkum anaerobní fermentace netekutých substrátů. Tento projekt byl realizován společností FORTX AGS a.s. ve spolupráci s Mendelovou zemědělskou a lesnickou univerzitou v Brně. Cílem výzkumu je získat podklady z experimentů prováděných s netekutými substráty a aplikovat je v provozních bioplynových stanicích, tak aby byla co nejvíce zefektivněna jejich hospodárnost. Získané poznatky bude možné ihned uvést do praxe v provozní bioplynové stanici, která s laboratorní stanicí bezprostředně sousedí.

MATERIÁL A METODIKA

Každý z 6 laboratorních fermentorů o objemu 0,48 m³ je po naplnění hermeticky uzavřen a postupně v něm začíná probíhat vlastní fermentační proces. Biomasa je zpracovávána při teplotě 37 °C ± 2 °C při pravidelném postřiku biomasy procesní tekutinou – perkolátem. Perkolát je bakteriální inokulum, které zajišťuje transport dostatečného množství mikroorganismů, které se podílí na rozkladu organického podílu biomasy ve zpracovávaných materiálech při vzniku bioplynu. Do tří dnů od počátku experimentu dojde k odstranění zbytkového kyslíku a stabilizaci celého anaerobního procesu. Vznikající bioplyn je jímán do plynových vaků. Proces je diskontinuální, minimální délka cyklu je 27 dnů. Na konci cyklu je část původního substrátu vyvezena a nahrazena novou biomasou v tzv. „směsném navýšení“ (poměr mezi původní, částečně anaerobně zpracovanou a čerstvou biomasou). Hmotnostní množství čerstvé biomasy je samozřejmě ovlivněno druhem zpracovávané biomasy a její objemové hmotnosti. Směs biomasy při vsázce dosahuje sušiny 20 - 60 %, přičemž optimální hodnotou je 25 - 35 %. Měrná hmotnost se pohybuje v rozmezí 600 - 800 kg·m⁻³. Poměr C:N se pohybuje v rozpětí 20 - 35:1. Byla založena sada experimentů s anaerobní fermentací jednotlivých substrátů. Při každodenním laboratorním měření byly získány data: teplota biomasy, pH, teplota perkolátu, tlak v reaktoru, množství vzniklého plynu a jeho složení CH₄, CO₂, H₂S, O₂. Dále byla v pravidelných intervalech sledována sušina při 60 °C a 105 °C, ztráta žháním RL, obsah nižších mastných kyselin (octová, propionová, mléčná, máselná), amoniakální dusík, ztráta žháním NL. Pro analýzu bioplynu byl využit přenosný analyzátor plynů Dräger X-am 7000. Mezi testované materiály patří kukuřičná siláž, travní senáž, chlévská mrvu a vepřový hnůj.

Fáze procesu

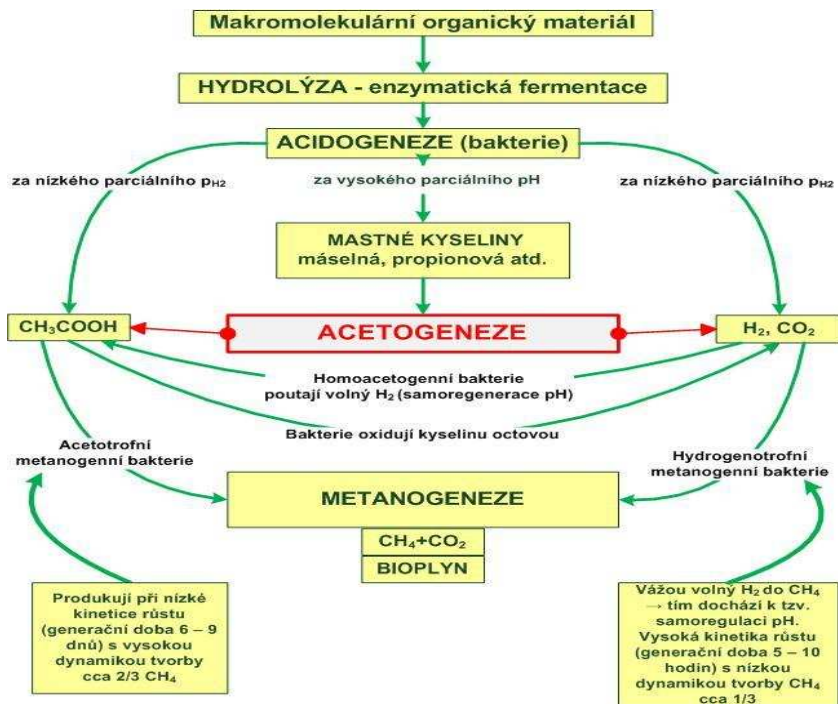
fáze I. – hydrolyza, začíná v době, kdy je v prostředí vzdušný kyslík a dostatečná vlhkost přesahující 50 % hm. podílu, dochází k rozkladu polymerů na jednodušší organické látky, tzv. monomery (jednoduché cukry, aminokyseliny, mastné kyseliny),

fáze II. – acidogeneze, dochází k odstranění zbytků vzdušného kyslíku a vytvoření anaerobního prostředí, prostřednictvím fakultativních anaerobních mikroorganismů schopných aktivace v obou prostředích,

fáze III. – acetogeneze, během této fáze převádějí acidogenní kmeny bakterií vyšší organické kyseliny na kyselinu octovou, vodík a oxid uhličitý,

fáze IV. – metanogeneze, metanogenní acetotrofní bakterie v alkalickém prostředí rozkládají hlavně kyselinu octovou na metan a oxid uhličitý, hydrogenotrofní bakterie produkují metan z vodíku a oxidu uhličitého. Některé kmeny bakterií provádějí obojí.

Obr. 1 Průběh čtyřfázové anaerobní fermentace



VÝSLEDKY A DISKUZE

Chlévská mrva

pH

Proces velmi stabilní. Průměrné hodnoty pH se pohybují po celou dobu v rozmezí 7,6 – 7,8 pH s minimálními výkyvy.

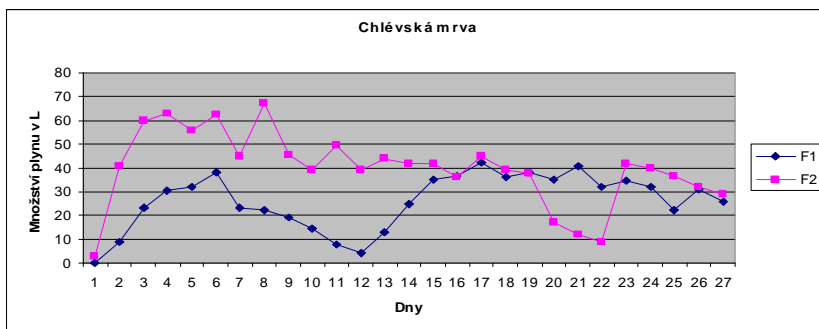
Složení bioplynu

Pro danou biomasu je typické málo proměnlivé složení bioplynu s vysokým obsahem metanu. Obsah metanu se rychle dostává na hranici 60 % objemových a po celou dobu cyklu se pohybuje v rozmezí 55 – 60% objemových metanu. Ve složení bioplynu nedochází k výraznějším výkyvům. Obsah CO₂ je ve srovnání s jinými substráty nejnižší, hodnoty oscilují v rozmezí 35 – 45 % objemových. Při hodnocení obsahu H₂S byly použity jeho maximální hodnoty a v rámci jednotlivých cyklů osciluje v rozmezí 56 – 300 ppm.

Množství bioplynu

Množství produkovaného bioplynu je velmi nízké. Charakteristickým znakem chlévské mrvy je propady produkce bioplynu uprostřed cyklu, následně však opět dojde ke zvýšení jeho produkce. Denní produkce bioplynu z jednoho fermentoru osciluje v rozpětí 30 – 60 litrů.

Graf. 1 Množství vyprodukovaného bioplynu z chlévské mrvy



Kukuřičná siláž

pH

U kukuřičné siláže je nutno věnovat hodnotě pH zvýšenou pozornost a to hlavně na začátku cyklu. Přídavkem nové siláže dochází k oxyselení biomasy a pH může klesnout až k hodnotě 5,1. Při silném poklesu pH je možno aplikovat do perkolátu vápenné mléko, které klesající trend zvrátí. Průměrné hodnoty pH ve všech cyklech oscilují v rozmezí hodnot 5,8 do 8,6.

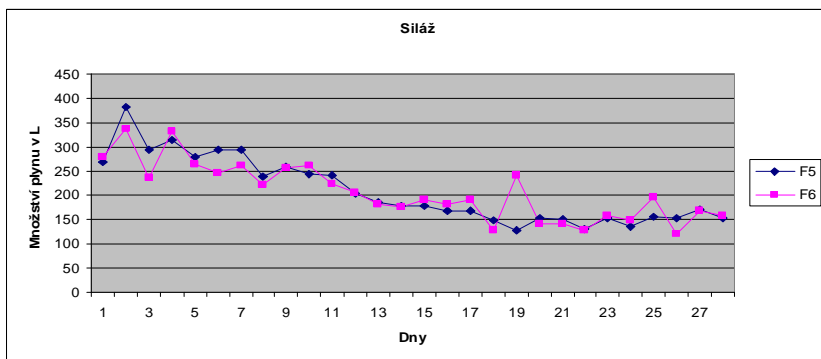
Složení bioplynu

Charakteristikou kukuřičné siláže je obsah metanu v rozmezí 50 až 55 % objemových. Obsah CO₂ je ve většině případů 46 – 50 % objemových. Při měření H₂S hodnoty pohybovaly do 300ppm, ojediněle byly naměřeny maximální nárazové hodnoty dosahující 3395 ppm (např. fermentor 6 cyklus 7).

Množství bioplynu

Kukuřičná siláž se vyznačuje nejvyšší produkcí bioplynu ze všech substrátů. Průměrná denní produkce bioplynu se pohybuje kolem 190 litrů. Pro kukuřičnou siláž je typický rychlý nárůst produkce bioplynu s pozvolným klesáním.

Tab. 2 Množství vyprodukovaného bioplynu z kukuřičné siláže



Travní senáž

pH

Průměrné hodnoty se oscilují v rozpětí od 7,3 do 8,0 s minimálními výkyvy.

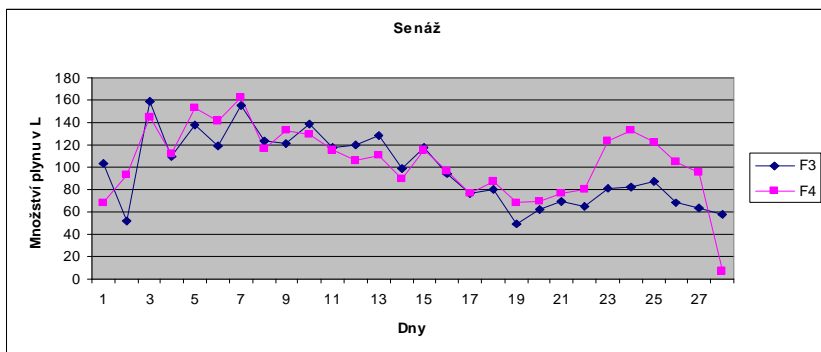
Složení bioplynu

Nevýhodou senáže je, že obsah metanu jen zřídka překročí hranici 50 % objemových. Ve všech cyklech jsou hodnoty velmi vyrovnané, průměrné hodnoty 47 – 52 % objemových. Obsah CO₂ je ve většině případů 45 – 47 % objemových. Při měření H₂S hodnoty oscilovaly v rozmezí od 200 do 300 ppm, ojediněle byly naměřeny maximální hodnoty 700 ppm (např. fermentor 4 cyklus 4).

Množství bioplynu

Co se týče produkce bioplynu, pohybuje se senáž na rozmezí chlévské mrvy a siláže. Průměrná denní produkce bioplynu se pohybuje kolem 114 litrů. Nejvyšší produkce je dosahováno v prvních 14 dnech, poté objem bioplynu pozvolna klesá.

Graf 3 Množství vyprodukovaného bioplynu z travní senáže



Vepřová mrva

pH

Průměrná hodnota 7,6.

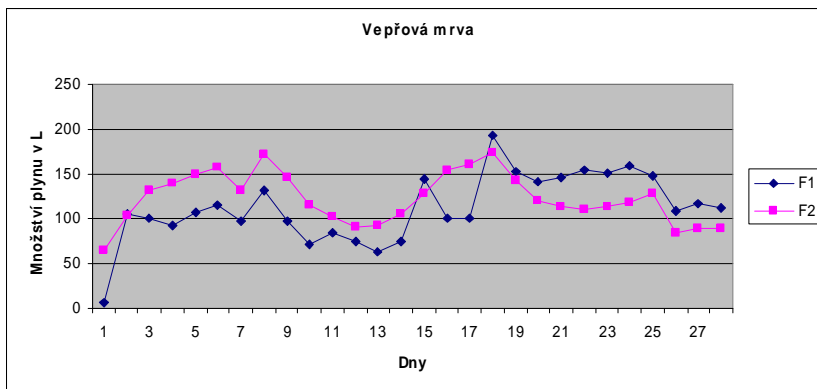
Složení plynu

V průběhu prvního cyklu nastala porucha analyzátoru plynů, hodnotíme složení plynu jen za prvních 18 dní cyklu. Obsah metanu za celou dobu měření nepřekročil hodnotu 50 % objemových. V průběhu cyklu byla dosahována střední hodnota metanu 47 % objemových. Průměrný obsah CO₂ je 50 % objemových. Obsah H₂S byl první den u obou fermentorů zvýšený 380 ppm v dalších dnech se pohyboval na úrovni 100 ppm.

Množství bioplynu

Oproti chlévské mrvě se vepřový hnůj vyznačuje 3 až 6 násobnou produkcí bioplynu. Průměrná denní produkce bioplynu se pohybuje kolem 117 litrů. Jako u chlévské mrvy je i zde typický propad uprostřed cyklu.

Graf 4 Množství vyprodukovaného bioplynu z vepřové mrvy



ZÁVĚR

Z dosavadních výsledků vyplývá, že pH je ovlivněno zejména druhem zpracovávaného substrátu. Má prokazatelně přímý vliv na složení i množství produkovaného bioplynu. Z výzkumu je zřejmé, že ideální hodnota pH pro anaerobní mezofilní fermentaci netekutých substrátů se pohybuje v rozmezí hodnot 7 – 8. Kvalitativní složení bioplynu není výrazněji ovlivňováno mírnými teplotními výkyvy v rámci několika stupňů Celsia. Ani intenzita perkolace výrazně neovlivnila složení vznikajícího bioplynu. Zcela zřejmý je však vliv pH na obsah metanu.

Množství produkovaného bioplynu je podstatně náchylnější na výkyvy jednotlivých parametrů. Prokázala se závislost mezi pH a množstvím vznikajícího bioplynu, zejména v prvních cyklech kukuřičné siláže (nízké pH znamenalo nižší objemy bioplynu ve srovnání s dalšími fázemi). Dále

se prokázala závislost na teplotě. Při poklesu teploty biomasy množství vznikajícího bioplynu klesá, při růstu teploty do určité hranice objem bioplynu roste.

Domníváme se, že nejvýraznější vliv na množství vznikajícího bioplynu má intenzita perkolace. V případě příliš intenzivní perkolace začalo množství vznikajícího bioplynu klesat, na druhou stranu při nedostatku perkolátu rovněž množství vznikajícího bioplynu výrazně klesalo. Po vyrovnání optimálních podmínek docházelo k opětovnému nárůstu množství vznikajícího bioplynu. Nastavení intenzity perkolace bude mít jednu z hlavních rolí na množství vyprodukovaného bioplynu.

Tab. 1 Souhrnné výsledky

		Chlévská mrva	Kukuřičná siláž	Travní senáž	Vepřová mrva
pH	[-]	7,6 - 7,8	5,8 - 8,0	7,3 - 8,0	7,4 - 7,6
Metan	[%]	55 - 60	50 - 55	47 - 52	47
Denní produkce bioplynu	[m ³]	0,03 – 0,06	0,190	0,114	0,117

LITERATURA

[1] SCHULZ, H. EDER, B. Bioplyn v praxi. 1. vyd. Ostrava: Nakladatelství HEL, 2004. 168s. ISBN 80-86167-21-6.

[2] STRAKA, František. Bioplyn. 2. rozš. vyd. Praha : GAS s.r.o., 2006. s. 9-338. ISBN 80-7328-090-6.

BACTERIA DETENTION BY NANOTEXTILES

Lev J., Černý M., Kalhotka L.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xlev@mendelu.cz

ABSTRACT

The article describes experiments concerning filtration by nanotextiles of microbiologically contaminated water. The aim of the project is to verify the filtering abilities of the chosen nanotextile materials. A high nanotextile porosity with the pores size of tens of nanometres, is a presumption for the use of nanotextiles for bacteria filtration. The size of bacteria is bigger, which is a good presumption for bacteria to be captured in the nanotextile net. Nanotextile layer from PA612, PUR and Tecoflex on the supporting unwoven textiles was used for the experiment. Bacteria *Escherichia coli* and *Micrococcus luteus* were chosen for the model simulation of microbial contamination. Contaminated water was filtrated during the activity of negative pressure on the output side of the filter from the mentioned material. After three-day incubation on the nutrient media, the cultures found in the water before and after the filtration were compared. In the filtrated water, both bacteria *E. Coli* and *Micrococcus luteus* were indicated, which did not validate the theoretical presumptions of the experiment. Better capturing characteristics of nanotextiles can be assumed for a material with bigger square weight and more effective filtration while using more layers of the nanotextile material.

Key words: filtration, bacteria, nanotextile

Acknowledgments: This study was supported and financed by the internal grant agency Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno – Faculty of Agronomy No. 2102/IG290161.

ÚVOD

Rozvoj lidské civilizace šel ruku v ruce s rozvojem nových technologií a materiálů. Každý objev něčeho nového posunul lidstvo o velký kus dopředu. Ne náhodou nazýváme některá období vývoje lidské civilizace podle materiálů, které byly v dané době nejvíce používány. Doba kamenná, bronzová, železná, 19. století je nazýváno stoletím páry apod. V 21. století je očekáván rozvoj miniaturizace strojů a elektroniky do rozměrů v řádu nanometrů, sestavování materiálů po jednotlivých atomech. Proto se o 21. století pomalu začíná hovořit jako o století nanotechnologií. Budoucnost dozajista ukáže, zda je toto označení oprávněné, avšak již dnes je zřejmé, že nanotechnologie a nanomateriály výrazně ovlivňují a jistě ještě výrazně ovlivní vývoj lidské populace. Výroba elektroniky, strojů a materiálů se strukturami v dimenzi nano posouvá hranice lidského bádání o velký krok dopředu. Otevírá obrovské „prostory“ pro objevování něčeho nového v mnoha oborech lidské činnosti. Nanotechnologie mohou přinést lidstvu řadu vynálezů a objevů, které mohou pomoci lidstvu vyřešit mnoho problémů (získávání energie, uchovávání energie, odpadové hospodářství, výroba nových materiálů apod.) Na druhou stranu, je třeba zmínit, že nanotechnologie mohou představovat také rizika v podobě nanočástic a nanostrojů, které mohou nekontrolovatelně zamořit životní prostředí a negativně ovlivnit lidský organismus.

Doba nanotechnologií a nanomateriálů přináší lidstvu další možnosti, jak zlepšit a zvýšit efektivitu doposud používaných technologií a zároveň chránit a šetřit cenné přírodní zdroje, důležité pro budoucnost lidské populace. Jedním ze základních přírodních zdrojů, nezbytných pro život, je pitná voda. Odhady Světové zdravotnické organizace (WHO) hovoří zhruba o 1,2 miliardy lidí, kteří nemají přístup k čisté pitné vodě. Ročně zemřou dva miliony lidí na následky nemoci z kontaminované vody, většinou se jedná o děti a staré lidi. Největší problém představují ve znečištěné vodě bakterie a viry, které způsobují závažné zdravotní problémy, jejichž důsledkem může být i smrt. Toto znečištění je možno odstranit buď chemickou cestou, filtrací nebo kombinací těchto metod. Právě v oblasti filtrace vody, kde je třeba odfiltrovat velmi malé částice, se nabízí možnost uplatnění nanotechnologií. Struktura filtru musí být dostatečně pórovitá, aby se neucpávala a zároveň póry musí být dostatečně malé, aby nepropustily nežádoucí nečistoty. Jako vhodný materiál se nabízí nanotextilie. Nanotextilie je netkaná textilie tvořená vlákny o velikosti průměru 50 - 500 nm. Velikost pórů nanotextilie se pohybuje v řádu desítek nanometrů. Teoreticky by tedy filtr vyrobený z nanotextilie měl být schopen zachytit např. bakterie, jejichž velikost se pohybuje mezi desetinami až desítkami mikrometrů. V případě filtrace virů by rozměry pórů musely být menší, velikost virů je od 20-300nm.

Tuto hypotézu jsme se ověřovali v laboratorních podmínkách na různých nanotextilních materiálech. Pokud by vzorky nanotextilií dokázaly zachytit nebezpečné bakterie případně viry, nabízela by se další možnost snadné a levné úpravy kontaminované vody, bez použití chemikálií.

MATERIÁL A METODIKA

Pro experiment byly použity materiály viz tab.1. Vzorek byl kruhového průřezu o průměru 50 mm.

Tab. 1. Použité materiály

Materiál	Plošná hmotnost [gsm]	Průměr vláken [nm]
PA 612 na matrici z viskózy	0,7	100-400
Tecoflex na PP spunbond	3,3	100-300
PUR na PP spunbond	8,1	400-600

2.1 Metodika

Jako testovací mikroorganismy byly použity bakterie *Escherichia coli* a *Micrococcus luteus* získané z CCM. Tyto bakterie jsou jedním z indikátorů fekálního znečištění vody.

Velikosti bakterií:

Escherichia coli: 1,1 - 1,5 x 2 – 6 µm [1]

Micrococcus luteus: 0,5 - 2 µm [2]

Sterilizace nanotextilie UV zářením 4 hodiny.

Živná média:

Živný bujón č. 2 (Imuna, Šarišské Michaľany)

Nutrient Agar No. 2 (Himedia, India) pro stanovení *Micrococcus luteus*

Endo – agar (Merck, Germany) pro stanovení *Escherichia coli*

Sterilní bujón byl inokulován *E.coli* a *Micrococcus luteus*. Po 24 hodinové kultivaci při 37 °C (*E.coli*) resp. 30 °C (*M. luteus*), byly 2 ml kultury inokulovány do 198 ml sterilní destilované vody, takto připravený roztok byl přefiltrován přes nanotextilii umístěnou na Saitzově nálevce. 100 ml filtrátu bylo za pomoci vodní vývěvy přefiltrováno přes sterilní membránový filtr. Filtr byl poté položen na Petriho misku s živným médiem a inkubován 72 h. Pro zjištění přítomnosti *E.coli* byl použit Endo – agar (Merck, Germany), kultivační teplota 37 °C po dobu 72 h, pro zjištění přítomnosti *Micrococcus luteus* byl použit Nutrient Agar No. 2 (Himedia, India), kultivační teplota 30 °C po dobu 72 h. Na filtrech pak byly spočítány narostlé kolonie bakterií.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Srovnání použitých materiálů je uvedeno v tab.2.

Tab. 2. Výsledky filtrace

Materiál (material)	Plošná hmotnost (area weight) gsm	Analýza (analysis)	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
PA612	0,92	Nerozlišitelná změna	Nerozlišitelná změna
Tecoflex	3,3	Nerozlišitelná změna	Nerozlišitelná změna
PUR	8,1	Nepropustí vodu	netestováno
PA612 – 3 filtry	0,92 – 3x	před filtrací 8727273 tj. $8,7 \times 10^6$ po filtraci 40136 tj. $4,0 \times 10^4$ Snížení počtu koloníí cca o 2 řády	netestováno

ZÁVĚR

Výsledky experimentu nepotvrzují jednoznačně teoretické předpoklady, že velikost pórů vybraných nanotextilií zabrání průniku zvolených bakterií. Kontaminovaná kapalina, s výjimkou PUR, byla přefiltrována přes nanotextilii, avšak při následném vyhodnocení bylo prokázáno bakteriální znečištění. Silnější nanotextilie z PUR již nebyla k filtraci vhodná z důvodu nepropustnosti vody (příliš velká vrstva). V případě použití tří vrstev z PA612 byl zaznamenán rozdílný počet kolonií před a po filtraci. Po filtraci došlo ke snížení počtu bakterií o dva řády. Takový obsah mikrobiologického znečištění je sice stále zdraví škodlivý, ale technologie uspořádání filtru může naznačit směr kterým dále postupovat.

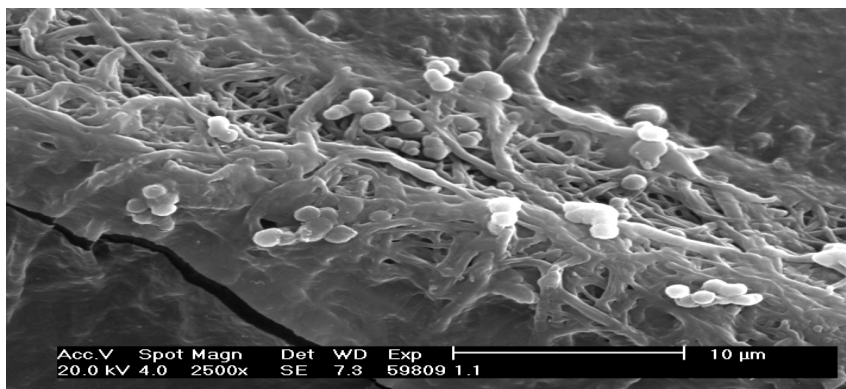
Důvodů, proč bakterie pronikly nanotextilií by mohlo být několik:

Otvory v nanotextilii byly příliš velké. Možným řešením by bylo snížit velikost pórů zmenšením průměru nanovláken a zvětšením nanotextilní vrstvy (plošná hmotnost nanotextilie). Nutno však nalézt vhodný poměr velikosti průměru vlákna a vrstvy, aby nedošlo k naprosté nepropustnosti.

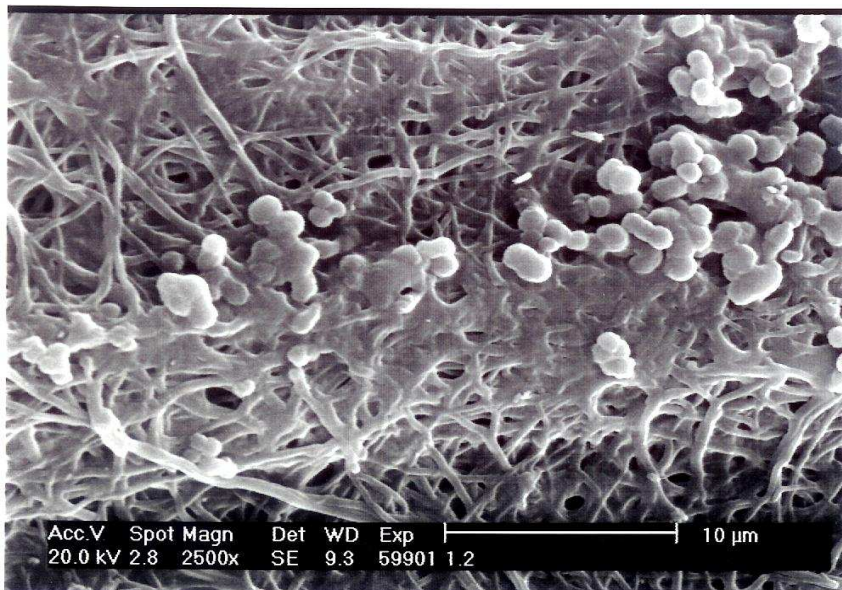
Nanotextilní vrstva mohla být poškozena, při výrobě či manipulaci, bakterie prošly defektem. Výroba nanotextilie pomocí elektrospinningu vykazuje vysokou kvalitu nanotextilie, tudíž defekt při výrobě lze téměř eliminovat. Může však dojít k mechanickému poškození při manipulaci a přepravě. Řešením by byla důkladná kontrola použitých materiálů, nebo použití více vrstev. Použitím více vrstev by se podstatně eliminovala možnost průniku bakterií filtrem s defektem.

Další možností, jak zabránit pronikání bakterií by byla modifikace vrstvy látkou, která bakterie zabije. Zde by bylo možno využít nanočástice stříbra, které mají dobré antibakteriální vlastnosti, nebo další antibakteriální prostředky. Lze však očekávat podstatnější navýšení ceny takto upravených filtrů, což by mohlo způsobit nekonkurenceschopnost při srovnání s chemickou úpravou vody. Chemická úprava bakterie sice zabije, ale na rozdíl od filtrace mrtvé bakterie zůstávají ve vodě. Z uvedených úvah tedy plyne, že nejlepším řešením filtru by bylo použití několika vrstev nanotextilie s dostatečně malými póry. Nanotextilie by zachytila bakterie, a vícevrstvé řešení by eliminovalo průnik mikroorganismů případným mechanickým poškozením. Na snímcích z elektronového mikroskopu (obr. 1až obr. 4) jsou zachyceny bakterie na vzorcích z PUR a PA612.

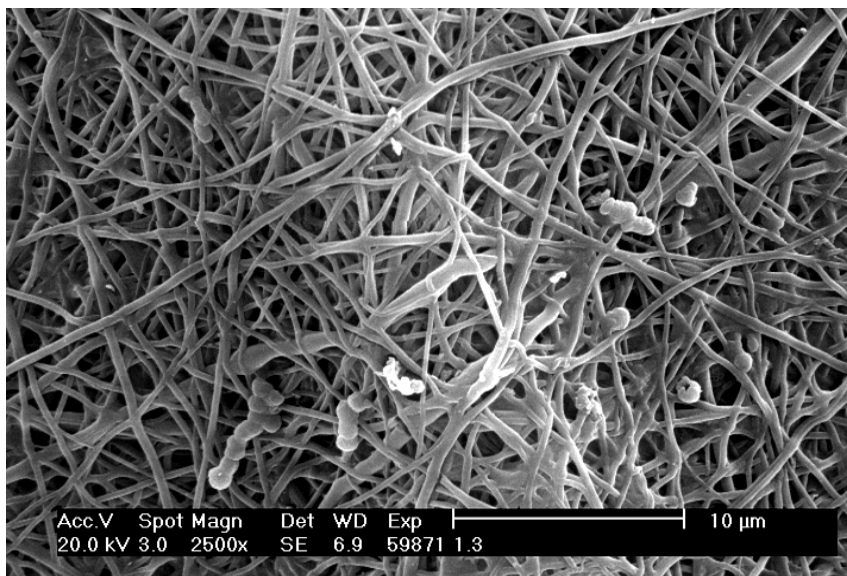
Obr. 1. Bakterie *E. coli* zachycena na nanotextilii z PA612 I, vrstva (zvětšeno 2500x)



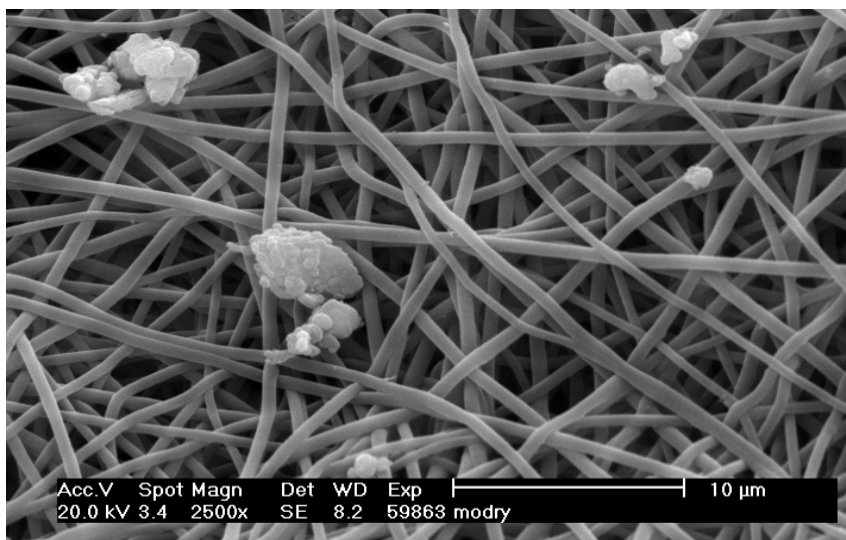
Obr. 2. Bakterie *E. coli* zachycena na nanotextilii z PA612 2; vrstva (zvětšeno 2500x)



Obr.3. Bakterie *E. coli* zachycena na nanotextilii z PA612 3; vrstva (zvětšeno 2500x)



Obr.4. Bakterie *E. coli* zachycena na nanotextilii z PUR (zvětšeno 2500x)



Na obr. 1, 2, 3 jsou zachyceny bakterie *E.Coli* na jednotlivých vrstvách filtru z PA 612. Jednotlivé vrstvy filtru obr.1 první vrstva, obr. 2 druhá vrstva, obr. 3 třetí vrstva. Na snímcích je patrný úbytek počtu bakterií. Jak bylo uvedeno, ve filtrované kapalině se při použití tohoto filtru snížil počet bakterií o dva řády. Lze tedy diskutovat, zda by bylo možno docílit 100 % filtrace bakterií použitím většího množství vrstev. Na Obr. 4 je snímek nanotextilie z PUR. Tento materiál měl podstatně větší plošnou hmotnost (větší tloušťka nanotextilie) i větší průměr vláken. Na snímku lze pozorovat zachycené bakterie na povrchu textilie, vrstva nanotextilie byla však již příliš velká, a nepropouštěla filtrovanou kapalinu ani za podtlaku.

Dalším cílem práce tedy bude hledat optimální velikost průměru nanovláken, tloušťku vrstvy a počet vrstev filtru z nanotextilie. Výsledkem by měl být závěr o vhodnosti použitých druhů nanotextilie k filtraci vody, případně návrh filtračního zařízení k úpravě pitné vody bez použití chemických látek.

LITERATURA

- [1] GARRITY, M.G. At al. Bergey's Manual of Systematic bacteriology, second edition, Volume two, The Proteobacteria. Michigan State University, 2005, ISBN-10: 0-387-24144-2.
- [2] Holt, J.G. Bergey's At al. Manual of Determinative Bakteriology, Ninth edition, Baltimore: Wiliams Wilkins, 1994, ISBN: 0-683-0063-7.

HYGIENISATION OF SEWAGE SLUDGES

Mach P., Mareček J.

Department of Agriculture, Food and Environmental Engineering, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xmach1@mendelu.cz

ABSTRACT

Sewage sludge should be treated before use to minimize the risk of activity to the environment and to human health. The article treats about legislation for sewage sludge use and ways for sewage sludge treatment.

Key words: hygienisation, sewage sludge, indicator microorganisms, legislation.

ÚVOD

Při nakládání s kaly z čistíren odpadních vod je nutné zajistit, aby byly vyloučeny jejich negativní vlivy na životní prostředí a zdraví lidí. Pro nakládání s kaly jsou vypracovány legislativní předpisy, které se zaměřují na určení kvalitativních a kvantitativních požadavků a na způsob využití.

Minimalizace obsahu patogenních mikroorganismů je hlavní podmínkou pro zajištění bezpečnosti zdraví lidí při manipulaci a využití kalů z čistíren odpadních vod. V České republice je snížení obsahu patogenních mikroorganismů legislativně upraveno příslušnými zákony a vyhláškami, které rovněž vycházejí z příslušných směrnic Rady ES.

MATERIÁL A METODIKA

V minulosti, před přijetím zákona o odpadech a prováděcích vyhlášek, byla hygienizace kalů z čistíren odpadních vod řešena procesem kompostování. Přijetím zákona č. 185/2001 Sb., o odpadech, a prováděcí vyhlášky č. 382/2001 Sb., o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě, došlo k implementaci Směrnice Rady 86/278/EEC do českých právních předpisů.

Směrnice Rady ES přímo nestanovuje postupy snížení patogenních mikroorganismů a rovněž neuvádí jejich limitní hodnoty, pouze definuje užití kalů čistíren odpadních vod v zemědělství na základě právních předpisů jednotlivých států EU, které považují tyto státy za nezbytné pro zajištění ochrany životního prostředí a zdraví obyvatel.

Vyhláška č. 382/2001 Sb., v posledním znění, upravuje podmínky použití upravených kalů na zemědělské půdě a pro hodnocení zdravotního rizika stanovuje maximální počty termotolerantních koliformních bakterií, enterokoků a salmonel uvedených v příloze č. 4 vyhlášky (tabulka 1).

Tab. 1 Mikrobiologická kritéria pro použití kalů na zemědělské půdě podle vyhlášky č. 382/2001 Sb.

Kategorie kalů	Přípustné množství mikroorganismů (KTJ*) v 1 gramu sušiny aplikovaných kalů		
	termotolerantní koliformní bakterie	enterokoky	Salmonella sp.
I.	$< 10^3$	$< 10^3$	negativní nález
II.	$10^3 - 10^6$	$10^3 - 10^6$	nestanovuje se

Vysvětlivky:

* KTJ- kolonie tvořící jednotku

Kategorie I - kaly, které je možno obecně aplikovat na půdy využívané v zemědělství při dodržení ostatních ustanovení této vyhlášky.

Kategorie II - kaly, které je možno aplikovat na zemědělské půdy určené k pěstování technických plodin, a na půdy, na kterých se nejméně 3 roky po použití čistírenských kalů nebude pěstovat polní zelenina a intenzivně plodící ovocná výsadba, a při dodržení zásad ochrany zdraví při práci a ostatních ustanovení vyhlášky.

Rovněž vyhláška č. 341/2008 Sb., o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady a o změně vyhlášky č. 294/2005 Sb., o podmínkách ukládání odpadů na skládky a jejich využívání na povrchu terénu a změně vyhlášky č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady (vyhláška o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady) řeší problematiku hygienizace čistírenských kalů a definuje limitní hodnoty indikátorových mikroorganismů pro případ jejich dalšího materiálového využití.

V případě použití upravených kalů na zemědělské půdě jako hnojiva, je nutné postupovat dle zákona č. 156/1998 Sb., o hnojivech, pomocných půdních látkách, pomocných rostlinných přípravcích a substrátech a o agrochemickém zkoušení zemědělských půd (zákon o hnojivech), ve znění pozdějších předpisů. Tento zákon a příslušné prováděcí předpisy nedefinují podmínky použití upravených kalů na zemědělské půdě, ale při registraci kalu jako hnojiva požaduje Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský mikrobiální rozbor dle vyhlášky č. 382/2001 Sb.

V současné době je možné při hygienizaci kalů volit některý z řady technologických postupů, a to s ohledem na dosažení požadované hygienické kvality kalu (Vítěz, Groda; 2008). Zvoleným technologickým postupem může být například:

- sušení kalu při teplotě vyšší než 80 °C a na sušinu vyšší než 90 %,
- autotermní aerobní termofilní stabilizace při teplotě nad 55 °C,
- termická předúprava surového kalu při teplotě nad 70 °C a s dobou zdržení minimálně 30 minut (pasterizace),
- alkalizace kalu vápnem při dosažení pH nad 12 a teploty nad 55 °C a udržení těchto hodnot po dobu nejméně 2 hodin.

VÝSLEDKY A DISKUZE

V rámci studie hygienizace kalů čistíren odpadních vod byly vyhodnoceny výsledky provedených analýz vzorků hygienizovaného kalu na čistírně odpadních vod vybrané společností VAS, a.s., která využívá pro hygienizaci kalů pasterizační linku.

Pro úspěšnou pasterizaci vyprodukovaného čistírenského kalu bylo nutné ohřát kalu na teplotu 70 °C s výdrží delší než 30 minut za intenzivního míchání, které zajišťovalo homogenizaci kalu v pasterizační nádobě. Proces hygienizace kalu byl ukončen usmrcením patogenních mikroorganismů. Výsledky dostupných analýz na výstupu kalu z hygienizace prokazují, že doba 60 minut je dostatečná pro zdržení kalu v pasterizační nádobě při teplotě 70 °C, aby byly zajištěny příslušné legislativní požadavky na použití upraveného kalu.

Vzhledem ke skutečnosti, že může při provozu dojít ke změnám v charakteru a množství patogenních mikroorganismů, je nutné, aby byla pasterizační linka navržena takovým způsobem, který by umožňoval případné prodloužení doby zdržení kalu v pasterizační nádobě nebo zvýšení teploty pasterace.

ZÁVĚR

Studiem legislativních požadavků, dostupné literatury zabývající se nakládáním s kaly z čistření odpadních vod a následným vyhodnocením provedených laboratorních analýz hygienizovaného čistřenského kalu bylo potvrzeno, že pro úspěšnou pasterizaci čistřenského kalu je dle dostupné literatury nutné zahřátí kalu na teplotu 70 °C s výdrží minimálně 30 minut.

Nedodržením principů hygienizace kalů a bezpečnostních předpisů při jejich použití může mít za následek narušení stability životního prostředí a ohrožení zdraví obyvatelstva. Zohlednění všech možných rizik při nakládání s kaly je nezbytné při tvorbě nových legislativních úprav vedoucích k ošetření a využití kalů z čistření odpadních vod s následnou aplikací na zemědělské půdy.

LITERATURA

Matějů L., Zimová M., Štěpánková M. (2009): Nakládání s čistřenskými kaly v souvislosti s hodnocením účinnosti hygienizace. Řešení extrémních požadavků čistření odpadních vod, konference s mezinárodní účastí, Blansko 26. - 27. 2. 2009 s. 131 - 138. ISBN 978-80-7399-687-1

Vítěz T., Groda B. (2008): Čistření a čistřiny odpadních vod. ES MZLU, Brno. s. 90 - 124. ISBN 978-80-7375-180-7

Vyhláška č. 382/2001 Sb., o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě.

Vyhláška č. 341/2008 Sb., o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady a o změně vyhlášky č. 294/2005 Sb., o podmínkách ukládání odpadů na skládky a jejich využívání na povrchu terénu a změně vyhlášky č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady (vyhláška o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady).

USING OF PAPER SLUDGE WASTE MATERIAL, MADE OF CORRUGATED CARDBOARD AND SOLID FIBREBOARD

Sklenář M., Kotovicová J.

Department of Applied and Landscape Ecology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: milan.sklenar@post.cz

ABSTRACT

Our objective is to analyse the paper sludge, which is a clay-like material consisting of clays and short fibers. In the paper recycling process, waste paper is received and de-inked prior to recovery of the fiber. During the de-inking process fiber sludge is generated, which contains particles of ink and fibers too short to be converted to a finished paper product. In the past, paper sludge has typically been land filled. With landfill costs rising and the potential for ground water contamination from landfill operations, many environmentally conscious paper producers are recovering the energy from this waste stream. Thanks to the chemical analyses was FOUND, that in the paper sludge, there are elements useful for next industrial use. Whatever kind they are, it is important to get rid of the present ink, there is a possibility of using sludge in building industries. Interesting is the rate C:N (carbon to nitrogen), which is from 16:1 to 20:1. This makes the possibility to compose DE-inked material. There is still a problem with the composing of the paper sludge, there are often present heavy metal particles like cadmium or zinc. THE vermi-composing will be our further target.

Key words: paper sludge, landfill, fiber, de-inked, compose, contamination, particles

DYNAMICS OF THE HAY AGGREGATOR FELLA TS1602 HYDRO

Šmíd V., Bartoň S.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: vlasmi@centrum.cz

ABSTRACT

The work presents mathematical modelling of working cycle of hay aggregator. Analytical model is based on the programme Maple 11. It leads to the evaluation of the influence of dimensions of constructional parts and working parameters on dynamics and power consumption during one working cycle. It also enables determination of the power consumption of the whole machine. This approach enables creation of precise graphs showing kinematics of the working parts as well as computation and drawing of graphical dependencies showing dynamic stress or energy consumption. The model is a powerful tool for predicting of fuel consumption dependence and operational wear of working parts.

Key words: Maple 11, mathematical modelling, stroke area, working curve, power, force.

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

Trvalé travní porosty a píceiny na orné půdě zaujímají stále významné místo v našem i celosvětovém zemědělství i když celková plocha osetá pícninami se stále zmenšuje z 1 099 tis. ha pícnin na orné půdě v roce 1990 na 513 tis. ha v roce 2003. Tento trend souvisí s útlumem živočišné výroby v našem zemědělství.

Rozloha luk a pastvin se naopak postupně zvyšuje. Tak např. v roce 1990 bylo v České republice asi 833 tis. ha luk a pastvin a v roce 2003 bylo již 971 tis. ha trvalých travních porostů.

Výhledově je možné předpokládat, že v nejbližších letech budou oba naznačené vývojové trendy rozlohy těchto plodin pokračovat (pokles rozlohy pícnin pěstovaných na orné půdě a nárůst rozlohy luk a pastvin). Celková rozloha pícnin se proto bude měnit ve prospěch trvalých travních porostů. Nicméně i ty je nutné v rámci krajinnotvorné funkce zemědělství udržovat.

Píceiny jsou velmi důležitou plodinou z hlediska zajištění krmivové základny hospodářských zvířat. Jsou 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 (květen až červen) a sklizně silážních plodin (podle technologické zralosti). Hlavním problémem při sklizni je zmenšit riziko počasí a tím snížit sklizňové a konzervační ztráty. Nejjistější metodou je maximálně zkrátit sklizňový postup. 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.

Porosty je vhodné sklízet v optimální technologické zralosti, v době, kdy obsah živin a vitamínů je maximální. Podle druhu píce a účelu jejího použití je doba sklizně například u vojtěšky na začátku květu, u jetele lučního červeného před začátkem kvetení, u lučních travních porostů v období od počátku metání do počátku kvetení převládajících trav. Ze vztahu mezi dobou sklizně v optimální vegetační fázi a koeficientem počasí vyplývá, že je nutno sklizeň jedné seče provést za 21 kalendářních dnů, z čehož je asi 10 pracovních dnů vhodných pro sklizeň. Píceiny je nutno sklízet nejen v oblastech rovinatých a se svahy do 12 stupňů, ale i v podhorských a horských se svahovitostí do 22 až 25 stupňů.

Vlastnosti porostů pícnin jsou z hlediska sklizňových operací velmi rozmanité, kolísají v dost širokých mezích a mnohé se mění se změnou vlhkosti pícní hmoty. Výnos zelené hmoty při jedné seči u tenkostébelných pícnin (jetel, vojtěška, trávy, směsky, luční porost) je 15 až 50 t . ha⁻¹ při obsahu sušiny 15 až 40 %. Hustota porostu na metr čtvereční se pohybuje od 1 000 až 1 300 lodyh vojtěšky, u jetele lučního 750 až 4 000 lodyh a do 3 000 až 15 000 stébel u travních porostů. Výška rostlin u tenkostébelných pícnin je 150 až 1 500 mm. Tloušťka stébel ve výši řezu je u tenkostébelných pícnin 0,7 až 12 mm (z toho vojtěška 2,5 až 5,4 mm, jetel 2,8 až 6,2 mm, tráva 0,7 až 3,1 mm).

Výška sečení má vliv na velikost současné i následující sklizně a pohybuje se u tenkostébelných pícnin v rozmezí 30 až 80 mm (trvalé luční porosty 30 až 40 mm, dočasné travní

porosty 40 až 50 mm, vojtěška, jetel, jetelotrávy 50 až 60 mm, směsky 60 až 80 mm). Příliš nízké sečení (pod 30 mm) působí negativně na obrůstání jetelovin a trav a na výnosy následující seče. Při vyšším sečení, než je uvedeno, se snižuje výnos (10 mm výšky porostu v přízemní vrstvě představuje 300 až 400 kg sušiny na hektar), zvyšuje se hromadění stařiny, zhoršuje se další etapa sklizně, například sbírání pícní hmoty a ztěžuje se další seč.

Seční tenkostěbelných pícnin lze provádět na řádky – pokosy nebo na široko. Šířka řádků – pokosů je jeden až dva metry, výška řádků u zelené i zavadlé píče je 100 až 250 mm. Při sečení na široko nebo po rozhození řádků na široko je hmotnost rozprostřené píče u zelené hmoty 1,5 až 5 kg · m⁻², u zavadlého materiálu 0,6 až 1,8 kg · m⁻², u suchého materiálu (sena) 0,4 až 1,1 kg · m⁻². Šířka řádků shrnutého suchého nebo zavadlého materiálu je 0,6 až 2 m, výška řádku 0,15 až 0,8 m a hmotnost jednoho metru řádku zavadlé píče (nad 30 % sušiny) do 8 kg podle záběru shrnovače. Výnosy sena tenkostěbelných pícnin z jedné seče se pohybují podle druhu pícniny a podle toho, o kolikátou seč jde, v rozmezí tři až 10 t · ha⁻¹.

Základními články technologické linky pro sklizeň píče 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. Shrnutí píče 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 píče snižuje počet přejezdů těchto strojů na pozemku a podíl ztrátových časů pro otáčení.

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 píče. 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 lze vyšplhat do 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.

V současnosti se v podnicích nejvíce vyskytují i uplatňují širokozáběrové dvojrotorové shrnovače s bočním nahnováním, které umožňují při malém výnosu hmoty ve dvou protiběžných jízdách nahnout 2 řádky na sebe a tím dostatečně vytížit odvozový prostředek.

MATERIÁL A METODIKA

Proto se ve své práci zabývám matematickým modelem dynamiky jednoho ramene shrnovače píce při jeho aktivní půlotáčce. Jde o stroj FELLA TS 1602 Hydro, typický zástupce této kategorie. 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 a jsou vybaveny 12 shrnovacími 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 ze zušlechtné a ořezuvzdorné 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 60 kW, otáčky vývodového hřídele 540 min^{-1} celková hmotnost 1950 kg.

Tato práce navazuje na detailní matematický model kinematiky shrnovače vypracovaný Šmídem a Bartoněm (2008). Proto bude využívat stejné vstupní hodnoty konstrukčních parametrů a bude opět využito programu Maple, tentokrát již verze 13. Výše uvedený model proto zde již nebude dále diskutován.

Vzhledem k rozsáhlým tvarům analytických výrazů odvozených v průběhu výpočtu použijeme následující konstrukční substituce, které korespondují s reálnými konstrukčními parametry.

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 km 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
σ	=	plošná hustota píce – 15 kg m^{-2}
g	=	tíhové zrychlení – $9,81 \text{ m s}^{-2}$

```
> restart; with(plots):
```

```
> 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,sigma=15,g=9.81];
```

$$KSu := \left[r = \frac{1}{10}, R = \frac{1}{2}, T = 1, L = \frac{3}{2}, l = \frac{2}{5}, V = \frac{-10}{3}, Mt = 5, Mp = 1, dp = \frac{1}{10}, n = 4, \sigma = 15, g = 9.81 \right]$$

Stanovení velikosti plochy záběru a jejího časového průběhu

Znalost průběhu plochy záběru je nejdůležitějším parametrem při následných výpočtech. Pracovní plocha je vytýčena prvním a čtvrtým prstem, její počátek sklopením prstů do pracovní polohy (souřadnice z dosáhne svého minima) a její konec vyzdvižením prstů z pracovní polohy (souřadnice z opustí své minimum). Pro veškeré další výpočty se bude předpokládat že souřadnice z je ve svém minimu a proto ji můžeme zanedbat a dále budeme pracovat pouze s x a y souřadnicí polohy prstu. Použijeme vztahy odvozené Šmídem a Bartoňem (2008)

```

> Prst1 := [-l*cos(2*Pi/T*t)*sin(arccos(z(t)/r)+1/4*Pi)
+L*sin(2*Pi/T*t)+(R+r)*cos(2*Pi/T*t),
V*t-l*sin(2*Pi/T*t)*sin(arccos(z(t)/r)+1/4*Pi)-L*cos(2*Pi/T*t)
+(R+r)*sin(2*Pi/T*t),l*cos(arccos(z(t)/r)+1/4*Pi)];
Prst1 := [-l*cos(2*Pi/T*t)*sin(arccos(z(t)/r)+1/4*Pi)+L*sin(2*Pi/T*t)+(R+r)*cos(2*Pi/T*t),
V*t-l*sin(2*Pi/T*t)*sin(arccos(z(t)/r)+1/4*Pi)-L*cos(2*Pi/T*t)+(R+r)*sin(2*Pi/T*t),
l*cos(arccos(z(t)/r)+1/4*Pi)];
> Prst4 := [-l*cos(2*Pi/T*t)*sin(arccos(z(t)/r)+1/4*Pi)
+(L-3*dp)*sin(2*Pi/T*t)+(R+r)*cos(2*Pi/T*t),
V*t-l*sin(2*Pi/T*t)*sin(arccos(z(t)/r)+1/4*Pi)
-(L-3*dp)*cos(2*Pi/T*t)+(R+r)*sin(2*Pi/T*t),
l*cos(arccos(z(t)/r)+1/4*Pi)];
Prst4 := [-l*cos(2*Pi/T*t)*sin(arccos(z(t)/r)+1/4*Pi)+(L-3*dp)*sin(2*Pi/T*t)+(R+r)*cos(2*Pi/T*t),
V*t-l*sin(2*Pi/T*t)*sin(arccos(z(t)/r)+1/4*Pi)-(L-3*dp)*cos(2*Pi/T*t)+(R+r)*sin(2*Pi/T*t),
l*cos(arccos(z(t)/r)+1/4*Pi)];
> P1:=subs(KSu,eval(subs(z(t)=-r/sqrt(2),Prst1)[1..2]));
> P4:=subs(KSu,eval(subs(z(t)=-r/sqrt(2),Prst4)[1..2]));
P1 := [3/2*sin(2*Pi*t)+3/5*cos(2*Pi*t), -10/3-3/2*cos(2*Pi*t)+3/5*sin(2*Pi*t)]
P4 := [6/5*sin(2*Pi*t)+3/5*cos(2*Pi*t), -10/3-6/5*cos(2*Pi*t)+3/5*sin(2*Pi*t)]

```

Dále je nutné stanovit časové okamžiky počátku a konce záběru a dobu jeho trvání. Z důvodů přehlednosti následujících grafů se posuneme o jednu pracovní periodu – trvání jedné otáčky zpět.

```

> T2:=solve(diff(P1[1],t),t); T1:=subs(KSu,simplify(T2-T/2));
T2 := 1/2 * arctan(5/2) / pi    T1 := 1/2 * (-arctan(5/2) + pi) / pi
> t1:=evalf(subs(KSu,T1-T)); t2:=evalf(subs(KSu,T2-T)); d_t:=t2-t1;
t1 := -1.310559471    t2 := -0.8105594708    d_t := 0.5000000002

```

Nyní je možné stanovit velikost a časový průběh plochy záběru. Pro výpočet plochy, jejíž obvod tvoří uzavřená křivka C použijeme Greenovu větu.

$$S = \oint_C x \, dy - y \, dx,$$

kerou zjednodušíme na výpočty dílčích ploch. Postup výpočtu nejlépe znázorní Obrázek 1., který vyrobíme za pomoci Maple.

```

> Tt:= [seq(t1+(t2-t1)*i/100,i=0..100)]:

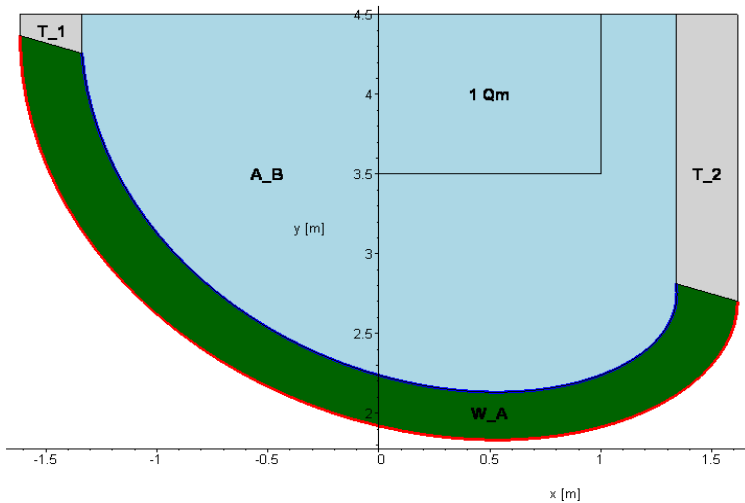
```

```

> G0:=plot([[P1[],t=t1..t2],[P4[],t=t1..t2]],color=[red,blue],
thickness=3):
> G1:=polygonplot([seq(evalf([subs(t=Tt[j],[P1,P4)][]],
subs(t=Tt[j+1],[P4,P1)][])),j=1..100)],
color="DarkGreen",style=patchnogrid):
> G2:=polygonplot([evalf(subs(t=t1,[P1[1],4.5],
[P4[1],4.5],P4,P1)),evalf(subs(t=t2,[P1[1],4.5],[P4[1],4.5],
P4,P1))],color="LightGrey"):
> G3:=polygonplot(evalf([subs(t=t1,[P4[1],4.5],
seq(subs(t=Tt[j],P4),j=1..101),subs(t=t2,[P4[1],4.5]))],
color="LightBlue"):
> G3a:=polygonplot([[0,4.5],[1,4.5],[1,3.5],[0,3.5]],
color="LightBlue"):
> G4:=plot([[-1.75,-2],[1.75,-2]],[[0,-1.8],[0,-5.5]]],
color=black,thickness=3):
> G4a:=plot([[-2,-2],[2,-2]],[[-2,-3],[2,-3]],[[-2,-4],[2,-4]],
[[-2,-5],[2,-5]],[[-2,-2],[2,-5.4]],[[-1,-2],[1,-5.4]],
[[1,-2],[1,-5.4]],[[2,-2],[2,-5.4]]],color=black):
> G5:=textplot([[-1.47,4.4,"T_1"],[1.48,3.5,"T_2"],
[-0.5,3.5,"A_B"],[0.5,4,"1 Qm"],[0.5,2,"W_A"]],
font=[HELVETICA,BOLD,12],color=black):
> display({G0,G1,G2,G3,G3a,G5},labels=["x [m]","y [m]"]);

```

Obr. 1 Stanovení plochy pracovního záběru



Plochu záběru W_A vypočteme jako rozdíl plochy vymezené osou x a červenou křivkou – dráha 1. prstu a plochy A_B vymezené osou x a modrou křivkou – dráha 4. prstu. Od výsledku je ještě nutné odečíst plochy lichoběžníků T_1 a T_2 , které jsou vymezeny osou x a počátkem, resp. koncem záběru. Pro zvýšení přehlednosti je přikreslena plocha 1 m^2 , která má tvar obdélníku, protože byla použita rozdílná měřítka pro osu x a y .

> **A_R:=Int(P1[2]*Diff(P1[1],t),t=t1..t1+tau);** *Plocha pod červenou křivkou*

$$A_R := \int_{-1.310559471}^{-1.310559471 + \tau} \left(-\frac{10t}{3} - \frac{3}{2} \cos(2\pi t) + \frac{3}{5} \sin(2\pi t) \right) \left(\frac{\partial}{\partial t} \left(\frac{3}{2} \sin(2\pi t) + \frac{3}{5} \cos(2\pi t) \right) \right) dt$$

> **A_R:=evalf(value(A_R));**

$$A_R := 7.507578739 + 1.825344226 \cos(-8.234488014 + 6.283185308 \tau) + 6.871107239 \sin(-8.234488014 + 6.283185308 \tau) - 4.999999999 \sin(-8.234488014 + 6.283185308 \tau) \tau - 2.000000000 \cos(-8.234488014 + 6.283185308 \tau) \tau - 0.9449999999 \cos(-8.234488014 + 6.283185308 \tau) \sin(-8.234488014 + 6.283185308 \tau) - 8.199556825 \tau - 0.9000000000 \cos(-8.234488014 + 6.283185308 \tau)^2$$

> **A_B:=Int(P4[2]*Diff(P4[1],t),t=t1..t1+tau);** *Plocha pod modrou křivkou*

$$A_B := \int_{-1.310559471}^{-1.310559471 + \tau} \left(-\frac{10t}{3} - \frac{6}{5} \cos(2\pi t) + \frac{3}{5} \sin(2\pi t) \right) \left(\frac{\partial}{\partial t} \left(\frac{6}{5} \sin(2\pi t) + \frac{3}{5} \cos(2\pi t) \right) \right) dt$$

> **A_B:=evalf(value(A_B));**

$$A_B := 6.185380725 + 1.984499169 \cos(-8.234488014 + 6.283185308 \tau) + 5.560547770 \sin(-8.234488014 + 6.283185308 \tau) - 4.000000001 \sin(-8.234488014 + 6.283185308 \tau) \tau - 2.000000000 \cos(-8.234488014 + 6.283185308 \tau) \tau - 0.5399999999 \cos(-8.234488014 + 6.283185308 \tau) \sin(-8.234488014 + 6.283185308 \tau) - 5.654866778 \tau - 0.7199999999 \cos(-8.234488014 + 6.283185308 \tau)^2$$

> **T_1:=evalf(subs(t=t1,(P1[2]+P4[2])*(P4[1]-P1[1])/2));**

Plocha levého lichoběžníku je konstantní

$$T_1 := 1.201306679$$

> **T_2:=evalf(subs(t=t1+tau,(P1[2]+P4[2])*(P1[1]-P4[1])/2));**

Plocha pravého lichoběžníku – funkce času

$$T_2 := 0.1500000000 (8.737063140 - 6.666666667 \tau - 2.700000000 \cos(-8.234488014 + 6.283185308 \tau) + 1.200000000 \sin(-8.234488014 + 6.283185308 \tau)) \sin(-8.234488014 + 6.283185308 \tau)$$

> **W_A:=A_B+T_1+T_2-A_R;**

> **W_AF:=evalf(subs(tau=d_t,W_A));** *celková plocha jednoho záběru*

$$W_{AF} := 1.390562352$$

Pro ilustraci je možné vykreslit závislosti jednotlivých dílčích ploch na čase, viz Obr. 2.

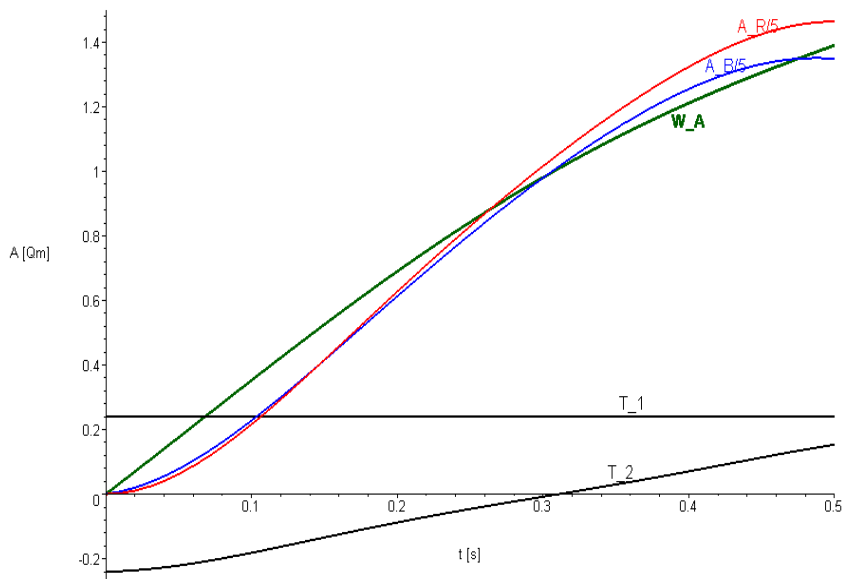
```
> display( {plot([A_R/5,A_B/5,T_1/5,T_2/5,W_A],tau=0..d_t,
color=[red,blue,black,black,"DarkGreen"],thickness=[2,2,2,2,3]),
textplot(subs(tau=d_t*0.95,[tau,A_R/5,"A_R/5"]),color=red,
align=LEFT,font=[HELVETICA,12]),
textplot(subs(tau=(t2-t1)*0.9,[tau,A_B/5,"A_B/5"]),color=blue,
align=LEFT,font=[HELVETICA,12]),textplot(subs(tau=(t2-t1)*0.75,
```

```

[tau,W_A,"W_A"],color="DarkGreen",align=RIGHT,
font=[HELVETICA,BOLD,12]),
textplot(subs(tau=(t2-t1)*0.75,[tau,T_2/5,"T_2"]),color=black,
align={LEFT,ABOVE},font=[HELVETICA,12]),
textplot(subs(tau=(t2-t1)*0.75,[tau,1.1*T_1/5,"T_1"]),
color=black,align={LEFT,ABOVE},font=[HELVETICA,12]),
labels=["t [s]","A [Qm]"]);

```

Obr. 2 Závislosti jednotlivých ploch na čase



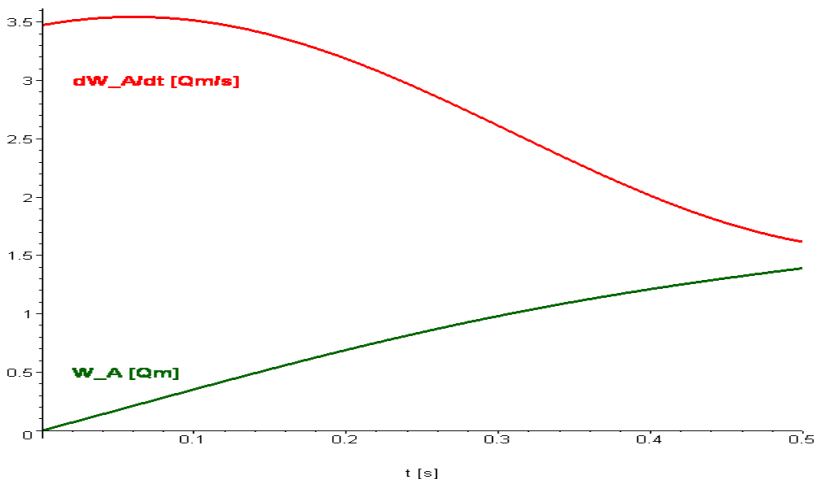
Dále je možné vykreslit graf, zobrazující velikost plochy záběru a její derivaci podle času, viz Obr. 3.

```

> dW_A:=diff(W_A,tau):
> display({plot([W_A,dW_A],tau=0..d_t,labels=["t [s]",""],
color=["DarkGreen",red],thickness=3),
textplot([0.02,0.5,"W_A [Qm]"],color="DarkGreen",
font=[HELVETICA,BOLD,12],align=RIGHT),
textplot([0.02,3,"dW_A/dt [Qm/s]"],color=red,
font=[HELVETICA,BOLD,12],align=RIGHT)});

```

Obr. 3 Časová závislost plochy záběru a její derivace podle času



Kinematika středového bodu pracovního záběru

Za středový bod pracovního záběru zvolíme střed úsečky tvořené prvním a čtvrtým prstem. Pro dynamické výpočty je nutné nejprve znát kinematické charakteristiky středového bodu. Těmito charakteristikami jsou:

Název veličiny	Označení v Maple
Polohový vektor středového bodu, dále <i>SB</i>	T_c
Vektor rychlosti <i>SB</i>	V_c
Absolutní velikost vektoru rychlosti <i>SB</i>	VA
Vektor zrychlení <i>SB</i>	A
Absolutní velikost vektoru zrychlení <i>SB</i>	AA
Tečné zrychlení <i>SB</i>	At
Normálové zrychlení <i>SB</i>	An
Složka <i>x</i> vektoru rychlosti <i>SB</i>	V_x
Složka <i>y</i> vektoru rychlosti <i>SB</i>	V_y
Složka <i>x</i> vektoru zrychlení <i>SB</i>	A_x
Složka <i>y</i> vektoru zrychlení <i>SB</i>	A_y

```
> T_c:=evalf(expand(subs(t=t1+tau, (P1+P4)/2))):
> V_c:=collect(diff(T_c,tau),[sin,cos]):
> VA:=combine(expand(sqrt(V_c[1]^2+V_c[2]^2))):
> A_c:=collect(simplify(diff(T_c,tau,tau)),[sin,cos]):
> AA:=combine(expand(sqrt(A_c[1]^2+A_c[2]^2))):
```

```

> At:=evalf(diff(VA,tau)):
> An:=evalf(sqrt(AA^2-At^2)):
> V_x:=V_c[1]; V_y:=V_c[2]:
> A_x:=A_c[1]; A_y:=A_c[2]:

```

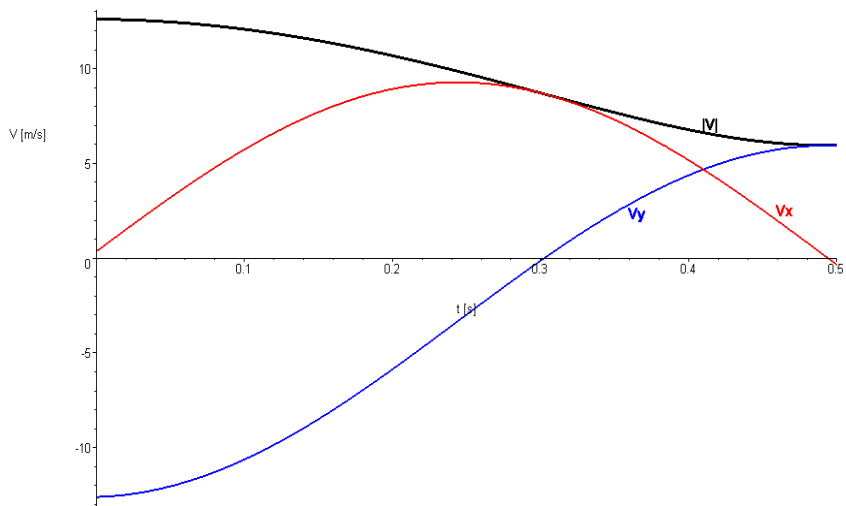
Nyní je možné vykreslit graf znázorňující průběh vektoru rychlosti středového bodu, Viz Obr. 4.

```

> display({plot([V_x,V_y,VA],tau=0..d_t,color=[red,blue,black],
  labels=["t [s]","V [m/s]"],thickness=[2,2,3]),
  textplot(subs(tau=0.8*d_t,[tau,VA,"|V|"]),
  font=[HELVETICA,BOLD,12],color=black,align={ABOVE,RIGHT}),
  textplot(subs(tau=0.9*d_t,[tau,V_x,"Vx"]),
  font=[HELVETICA,BOLD,12],color=red,align=RIGHT),
  textplot(subs(tau=0.7*d_t,[tau,V_y,"Vy"]),
  font=[HELVETICA,BOLD,12],color=blue,align=RIGHT)});

```

Obr. 4 Rychlostní charakteristiky středového bodu



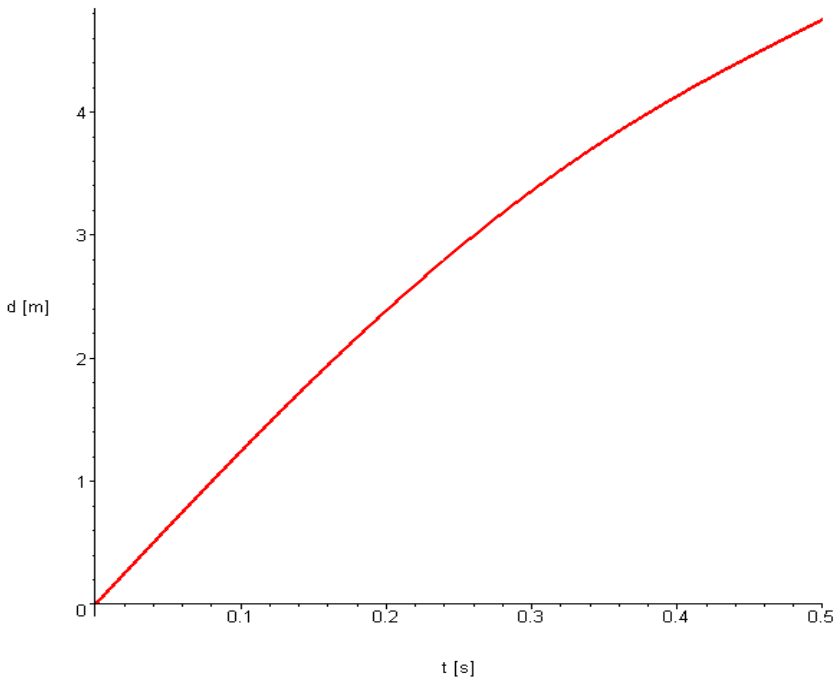
Délku dráhy pracovního bodu v závislosti na čase je možné vykreslit jako integrál absolutní velikosti rychlosti podle času, viz Obr. 5.

```

> plot(evalf(Int(VA,tau=0..tau)),tau=0..d_t,thickness=3,
  labels=["t [s]","d [m]"]);

```

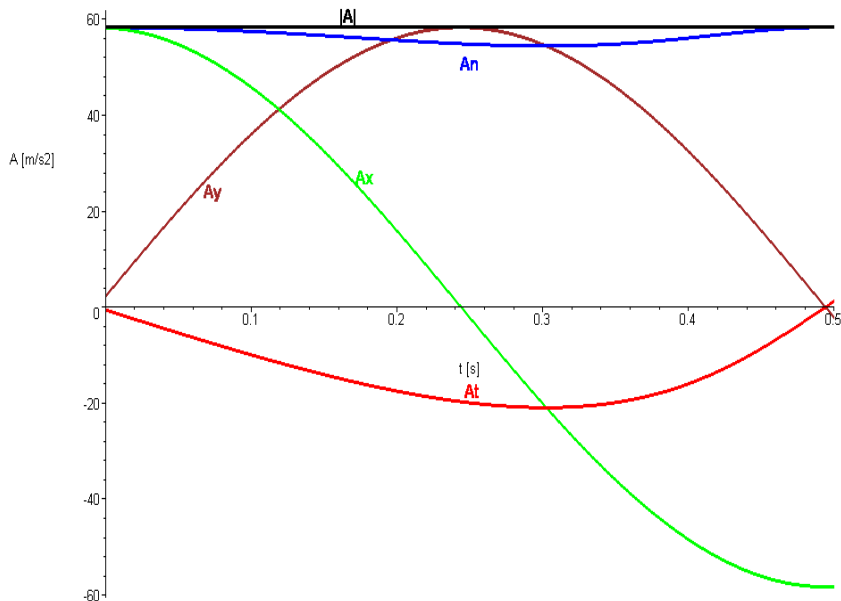

Obr. 5 Délka trajektorie pracovního bodu v závislosti na čase



Na závěr této části je možné vykreslit časový průběh vektoru zrychlení pracovního bodu, viz. Obr.6.

```
> display({plot([AA,At,An,A_x,A_y],tau=0..d_t,  
  color=[black,red,blue,green,brown],  
  thickness=3,labels=["t [s]","A [m/s2]"),  
  textplot(subs(tau=d_t/3,[tau,AA*1.02,"|A|"],align=ABOVE,  
  font=[HELVETICA,BOLD,12],color=black),  
  textplot(subs(tau=d_t/2,[tau,At*0.95,"At"],align=ABOVE,  
  font=[HELVETICA,BOLD,12],color=red),  
  textplot(subs(tau=d_t/2,[tau,An*0.9,"An"],align=ABOVE,  
  font=[HELVETICA,BOLD,12],color=blue),  
  textplot(subs(tau=d_t/3,[tau,A_x,"Ax"],align=RIGHT,  
  font=[HELVETICA,BOLD,12],color=green),  
  textplot(subs(tau=d_t/8,[tau,A_y,"Ay"],align=RIGHT,  
  font=[HELVETICA,BOLD,12],color=brown))});
```

Obr. 6 Časový průběh vektoru zrychlení pracovního bodu



Výpočet výkonu potřebného v průběhu pracovního záběru

Celková spotřeba energie pro jeden pracovní záběr je součtem předané kinetické energie a práce třecí síly. Je důležité si uvědomit, že jde o pohyb tělesa s proměnnou hmotností. Na začátku záběru je množství píče nesené prsty nulové a s přírůstkem plochy záběru se zvyšuje. Energetickou bilanci záběru udává rovnice eq1.

$$\begin{aligned} > \text{eq1} := \mathbf{E}(t) = m(t) \cdot (\mathbf{V}_x(t)^2 + \mathbf{V}_y(t)^2) / 2 + \\ & \quad \text{Int}(m(t) \cdot g \cdot \mu \cdot \sqrt{\mathbf{V}_x(t)^2 + \mathbf{V}_y(t)^2}, t); \end{aligned}$$

$$\text{eq1} := E(t) = \frac{1}{2} m(t) (\mathbf{V}_x(t)^2 + \mathbf{V}_y(t)^2) + \int m(t) g \mu \sqrt{\mathbf{V}_x(t)^2 + \mathbf{V}_y(t)^2} dt$$

Derivací této rovnice a využitím zjednodušujících substitucí je možné vypočítat potřebný výkon.

$$> \text{eq2} := \text{map}(u \rightarrow \text{diff}(u, t), \text{eq1});$$

$$\begin{aligned} \text{eq2} := \frac{d}{dt} E(t) = \frac{1}{2} \left(\frac{d}{dt} m(t) \right) (\mathbf{V}_x(t)^2 + \mathbf{V}_y(t)^2) + \frac{1}{2} m(t) \left(2 \mathbf{V}_x(t) \left(\frac{d}{dt} \mathbf{V}_x(t) \right) + 2 \mathbf{V}_y(t) \left(\frac{d}{dt} \mathbf{V}_y(t) \right) \right) \\ + m(t) g \mu \sqrt{\mathbf{V}_x(t)^2 + \mathbf{V}_y(t)^2} \end{aligned}$$

```

> DSu:=[diff(E(t),t)=P(t),diff(m(t),t)=sigma*dS(t),
m(t)=sigma*S(t),diff(Vx(t),t)=Ax(t),
diff(Vy(t),t)=Ay(t),Vx(t)^2+Vy(t)^2=V(t)^2];
DSu := [ d/dt E(t) = P(t), d/dt m(t) = sigma dS(t), m(t) = sigma S(t), d/dt Vx(t) = Ax(t), d/dt Vy(t) = Ay(t),
Vx(t)^2 + Vy(t)^2 = V(t)^2 ]
> eq3:=expand(simplify(subs(DSu,eq2),symbolic));
eq3 := P(t) = 1/2 sigma dS(t) V(t)^2 + sigma S(t) Vx(t) Ax(t) + sigma S(t) Vy(t) Ay(t) + sigma S(t) g mu V(t)

```

Výsledný výkon je možné rozdělit na tři rozdílné členy.

> P_1=select(has,rhs(eq3),dS); Výkon udělující rychlost V přibírané hmotě

$$P_1 = \frac{1}{2} \sigma dS(t) V(t)^2$$

> P_2=select(has,rhs(eq3),mu); Výkon třecí síly, který závisí na koeficientu tření – μ .
Tento výkon udržuje nabranou hmotu v pohybu.

$$P_2 = \sigma S(t) g \mu V(t)$$

> P_3=factor(remove(has,rhs(eq3),[dS,mu])); Výkon měnící vektor rychlosti již nabrané pohybuující se hmoty

$$P_3 = \sigma S(t) (Vx(t) Ax(t) + Vy(t) Ay(t))$$

> P_1:=subs(KSu,sigma)*dW_A*VA^2:

> P_2:=subs(KSu,sigma*g)*W_A*mu*VA:

> P_3:=subs(KSu,sigma*g)*W_A*(V_x*A_x+V_y*A_y):

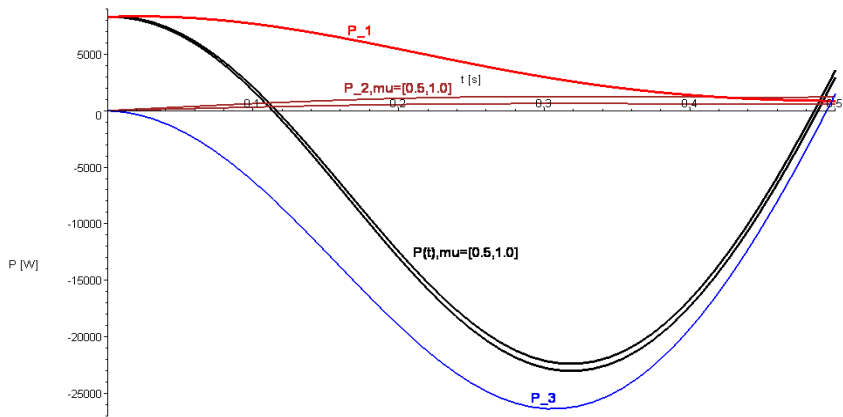
Tyto tři dílčí výkony i jejich výsledný součet je možné znázornit graficky, viz Obr. 7.

```

> display({plot(P_1,tau=0..d_t,color=red,thickness=3),
plot(P_3,tau=0..d_t,thickness=2,color=blue),
plot([seq(P_2,mu=[0.5,1])],tau=0..d_t,color=brown,thickness=2),
plot([seq(P_1+P_2+P_3,mu=[0.5,1])],tau=0..d_t,
color=black,thickness=3),
textplot(subs(tau=0.15,[tau*1.1,P_1,"P_1"]),
font=[HELVETICA,BOLD,12],color=red,align={ABOVE,RIGHT}),
textplot(subs(tau=0.2,mu=1,[tau,P_2*1.5,"P_2,mu=[0.5,1.0]"]),
font=[HELVETICA,BOLD,12],color=brown,align=ABOVE),
textplot(subs(tau=0.3,[tau,P_3*0.98,"P_3"]),
font=[HELVETICA,BOLD,12],color=blue,align=ABOVE)},
textplot(subs(tau=0.2,mu=1,[tau*1.05,P_1+P_2+P_3,"P(t)",
mu=[0.5,1.0]"]),font=[HELVETICA,BOLD,12],
color=black,align=RIGHT),labels=["t [s]","P [W]"]);

```

Obr. 7 Celkový potřebný výkon a jeho skladba



Ze záporných hodnot celkového výkonu označeného černou křivkou a výkonu P_3 označeného modrou křivkou je možné konstatovat:

- 1) Píce je urychlena z klidu na rychlost posunu, tomu odpovídá kladná část černé křivky.
- 2) Rychlost posunu klesá, tomu odpovídá i záporné tečné zrychlení z Obr. 6. Protože rychlost již nabrané píce je vyšší, takže prst ji netlačí protože letí vzduchem před ním. Brzdí ji jen odpor vzduchu, který lze zanedbat.
- 3) Výkon třecí síly lze zanedbat oproti ostatním i pro velké koeficienty μ . Na Obr. 7. jsou vykresleny křivky pro $\mu=0,5$ a $\mu=1,0$, což je již skutečně vysoká hodnota koeficientu tření. Při této velikosti μ je již na vlečení tělesa nutná síla rovná tíze tělesa!
- 4) Jediný nezanedbatelný výkon konající práci je P_1 označený červenou křivkou. Tento výkon urychluje ležící píci z klidu na rychlost posunu prstu.
- 5) Proto se dále bude uvažovat pouze výkon P_1 . Ostatní výkony buď nemají význam, protože nekonají práci, nebo je lze zanedbat

V dalším kroku vypočteme střední hodnotu výkonu P_1 v průběhu jednoho pracovního záběru. Dále vykreslíme graf, ve kterém bude naznačen průběh tohoto výkonu a jeho střední hodnota. Je nutné si uvědomit, že v průběhu záběru prvního ramene předcházející ramena v záběru již jsou a další ramena do záběru nastupují, ještě než první rameno svůj záběr dokončí. Tyto skutečnosti jsou dobře patrné z grafu na Obr. 8.

> $P_S := 1 / 'd_t' * \text{Int}('P_1', \text{tau} = 0 .. 'd_t')$

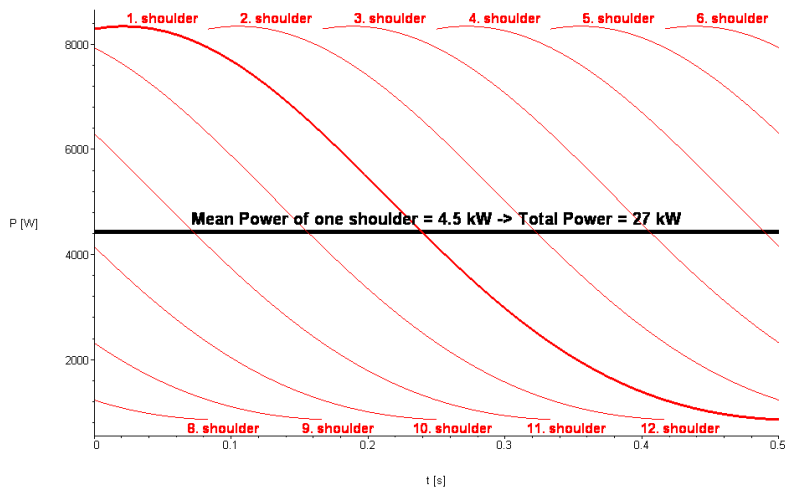
$$P_S := \frac{1}{d_t} \int_0^{d_t} P_1 dt$$

```

> P_S:=evalf(P_S);
                                P_S := 4425.325592
> display([seq(plot(subs(tau=tau-j*d_t/6,P_1),
tau=j*d_t/6..d_t),j=1..5),seq(plot(subs(tau=tau+j*d_t/6,P_1),
tau=0..d_t-j*d_t/6),j=1..5),
plot(P_1,tau=0..d_t,thickness=3),
plot(P_S,tau=0..d_t,color=black,thickness=5),
textplot([seq([0.05+j*d_t/6,8500,cat(convert(j+1,string),
". shoulder")],j=0..5)],font=[HELVETICA,BOLD,12],color=red),
textplot([seq([0.095+j*d_t/6,700,cat(convert(8+j,string),
". shoulder")],j=0..4)],font=[HELVETICA,BOLD,12],color=red),
textplot([0.25,4700,"Mean Power of one shoulder = 4.5 kW -> Total
Power = 27 kW"],
font=[HELVETICA,BOLD,15],color=black)],labels=["t [s]","P [W]"]);

```

Obr. 8 Výkon prvního ramene a současné výkony dalších ramen



Z Grafu na Obr. 8. je zcela jasně patrné, že celkový činný výkon stroje je 6x střední výkon prvního ramene, tedy cca **27 kW!**

Dynamika záběru

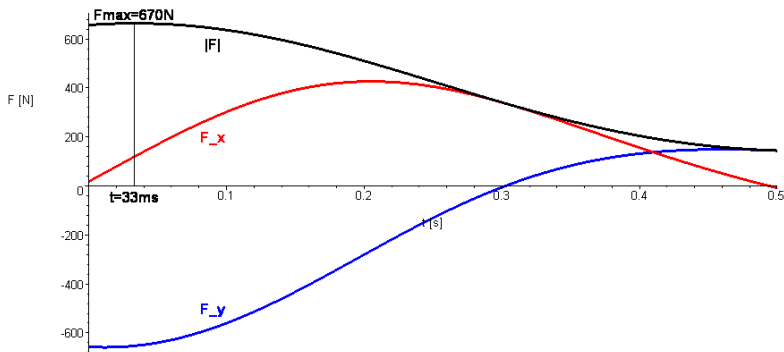
Jsou li výkony P_2 a P_3 zanedbatelné, musí být zanedbatelné i odpovídající síly. Sílu F_I odpovídající P_I je možné stanovit ze vztahu $P_I = |F_I(t)| |V(t)| \cos(\alpha)$. Protože F_I a V jsou rovnoběžné, síla F_I působí přesně ve směru pohybu, tedy vektoru V , pak $\alpha = 0$ a $\cos(\alpha) = 1$. Výpočet absolutní velikosti F_I je pak jednoduchý a směr vektoru síly F_I je rovnoběžný s vektorem rychlosti V . Dále vypočteme maximální silové namáhání a stanovíme okamžik, kdy nastává. Na závěr vypočteme moment síly, která ohýbá prst a celkový moment síly působící na všechny čtyři prsty.

```

> F_1:=subs(KSu,sigma)*dW_A*VA: F_1x:=subs(KSu,sigma)*dW_A*V_x:
> F_1y:=subs(KSu,sigma)*dW_A*V_y:
> t_F_1max:=fsolve(diff(F_1,tau),tau=0.02);
> F_1max:=evalf(subs(tau=t_F_1max,F_1));
      t_F_1max := 0.03336439077   F_1max := 664.0589152
> MoF_1:=subs(KSu,1/n)*F_1max;
      MoF_1 := 66.40589152
> display({plot([F_1,F_1x,F_1y],tau=0..d_t,thickness=3,
  labels=["t [s]", "F [N]"],color=[black,red,blue]),
  textplot([0.09,200,"F_x"],font=[HELVETICA,BOLD,12],color=red),
  textplot([0.09,-500,"F_y"],font=[HELVETICA,BOLD,12],color=blue),
  textplot([0.09,580,"|F|"],font=[HELVETICA,BOLD,12],color=black),
  textplot([t_F_1max,680,"Fmax=670N"],font=[HELVETICA,BOLD,12],
  color=black,align=ABOVE),
  textplot([t_F_1max,-20,"t=33ms"],font=[HELVETICA,BOLD,12],
  color=black,align=BELOW),
  plot([[t_F_1max,0],[t_F_1max,F_1max]],color=black,thickness=1)});

```

Obr. 9 Časový průběh vektoru síly a maximum velikosti síly



VÝSLEDKY A DISKuze

Popisovaný výpočet dynamiky shrnovače píce Fella TS 1602 Hydro navazuje na výpočty, které provedli Šmíd a Bartoň (2008) a tyto výpočty dále rozšiřuje.

Umožňuje stanovit základní dynamické parametry, ale také potřebné výkony nejen pro pohyb samotného stroje, ale i pro jeho vlastní práci, tj. hnutí posečené píce po strništi. Při vnikání pracovních prstů do shrnovaného řádku dochází k narůstání odebraného výkonu vlivem přibývajícého objemu shrnované píce, ovšem v tu samou chvíli již jiné pracovní prsty materiál hrnou a další z nich daný řádek opouští, a tím se jejich energetický požadavek snižuje. Tudíž se celkový odebraný výkon drží na zhruba stálé hladině.

Výkonnostní požadavky plně korespondují s potřebným výkonem tažného prostředku, který udává výrobce.

Z výpočtů je možné zjistit i namáhání konců pracovních prstů které v okamžiku vstupu do posečeného materiálu je mžikově dosti extrémní. Tyto prudké skokové změny v namáhání kladou velmi vysoké požadavky na jakost materiálu i na jejich upevnění ke shrnovacímu ramenu.

ZÁVĚR

Výše uvedený postup umožňuje provést všechny výpočty potřebné ke stanovení dynamických charakteristik základních pracovních částí stroje, jejich energetických požadavků, i vybraných sil, které na ně působí. Z důvodů úspory místa a zvýšení přehlednosti nebyly uvedeny všechny výstupy programu. Nicméně je zcela zřejmé, že při použití výše 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.

ŠMÍD, V., BARTOŇ, S. *Matematický model shrnovače píce FELLA TS 1602*, In *MendelNet '08 Agro*, listopad 2008, MZLU Brno, s. 82, ISBN 987-80-7375-239-2

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

RECYCLATION OF PLASTIC WASTES FROM PRODUCTION OF PVC ROOFING SHEETS

Špaček I.¹, Kotovicová J.²

¹Department of Environment, Fatra, T. Bati 1541, Napajedla, Czech Republic

²Department of Applied and Landscape Ecology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: ivospacek@seznam.cz

ABSTRACT

Our goal in the experimental part is describing of project of material recycling of heterogeneous (composite) plastics. Especially it is a production waste from isolation roofing sheets made from soft PVC and textile. From the point of LCA this production waste can be identify such as pre-consumer waste. Production waste has advantages for recycling and next using in production. Production waste is defined of quality, purity and known properties. Recycling plastic from production waste can be easily return back to production.

This project describes production line for mechanical recycling. It works on the principle of mechanical shredding (grinding) and separating of PVC roofing sheets. Crushed material contains PVC and textile PES fibers. PVC and textile PES fibers such as “synthetic wool” - “PES wadding” are pneumatically separated from crushed material. Process of mechanical shredding and separating is multistage process. Target this process is granulate of PVC with defined quality as purity and dimension. Product of recycling can be used back to the some product – roofing sheets. Project of recycling is environmental friendly method for recovery PVC composite waste PVC with textile. Project can decrease mass of disposal waste.

Key words: PVC, recycling of composite plastic waste, mechanical shredding, roofing sheets, cleaner production, waste generation

ÚVOD

Plasty se pro svoje užité vlastnosti staly nepostradatelnou součástí výrobků uplatňovaných na dnešních trzích.. Podíl plastů ve výrobcích se neustále zvyšuje a současně se zvyšuje i diverzita (různorodost) plastů v různých aplikacích. V některých případech je použití plastů nezastupitelné pro svoje specifické užité vlastnosti.

Použití plastů přináší své environmentální aspekty v průběhu jejich života. Aspekty souvisí s fází výroby, užití a nakonec s fází konce života výrobku. Jedním z aspektů provázející všechny fáze je vznik odpadů. Uplatňováním prevenčních metodik (např. metodiky CP) lze hlavně ve výrobní fázi redukovat vznik odpadů. Přes všechna uplatňovaná opatření odpady vznikají a je nutno environmentálně šetrným způsobem s odpady nakládat. Z hlediska trvale udržitelného rozvoje je v první řadě žádoucí odpady využívat materiálově. Odpady využitě jako druhotné suroviny umožní částečně nahradit primární suroviny.

Nedílnou roli mezi plasty zaujímá PVC – polyvinylchlorid, jak ve formě tvrdého PVC, tak ve formě měkčeného PVC. Podle uskutečněných socio – ekonomických průzkumů bylo v roce 2000 ve státech EU celkem 6 mil. tun výrobků na bázi PVC a odvětví průmyslu zaměstnávalo 530 tis. zaměstnanců ^[1]. Širokou škálu aplikací PVC v různých oborech lidských činností včetně materiálů konkurujících PVC v daných oblastech uvádí tabulka č. 1.

V současné době existují četné tlaky “zelených iniciativ” i veřejnosti k omezení či až k zákazu používání PVC. Faktem však zůstává, že PVC se stalo plastem s prakticky nejširší uplatnitelností pro svoje vhodné fyzikálně-mechanické vlastnosti, chemickou odolnost a v neposlední řadě i pro výhodnou cenu. Samostatnou kapitolou z hlediska vlivu na zdraví je použití plastifikačních přísad (změkčovadel) nutných pro výrobu měkčeného PVC. V současné době je nejvíce diskutovanou problematikou použití změkčovadel na bázi ftalátů. Některé typy ftalátů, jako DEHP a DBP jsou dokonce dle nařízení REACH ^[2] zařazeny jako kandidáti na přílohu XIV („látky vzbuzující zvlášť velké obavy“). Tyto látky bude možno používat pouze pro vybrané aplikace. V některých druhích výrobků jsou dokonce zakázány jakékoliv typy ftalátů. Typickým příkladem jsou výrobky pro děti. V těchto případech je nutno používat změkčovadla např. na bázi esterů kyseliny adipové (adipáty).

Z hlediska užití je PVC nejvíce zastoupeno v aplikacích uplatněných ve stavebnictví – viz tabulka 2 ^[1]. Dle tohoto zdroje je ve stavebnictví použito 57 % PVC. Významný podíl užití PVC tvoří izolační folie využívané pro

- spodní izolace staveb jako ochrana proti průsakům spodní vody do stavebních konstrukcí,
- izolace proti průniku látek nebezpečných vodám do půdy a vod,
- střešní hydroizolační foliové systémy.

Tab. 1 Aplikace PVC ^[1]

Sector	PVC Application	principale competing materials	share of used PVC mass	market share of PVC
building and construction:				
profiles and sheets (rigid)	window frames	wood, aluminium, steel, PUR, polyolefins	9%	major
	cladding	aluminium, steel, fibre cement, wood		
	sheets	acrylics, glas, PS (non transparent), PC (transparent)	9%	major
	conduits, shutter, rails, skirts	ABS, PS, SB, PP, PMMA, PC, wood, metals		
sheets and foils (flexible)	flooring (incl. Sport)	carpet, wooden flooring, laminate, linoleum (soft), polyolefins, tiles (hard), natural stone, rubber, cork	8%	major (soft)
	roofing sheets	bituminous sheets, PIB, EPDM, PE, EVA	1%	major
	membranes	polyolefins, polyester (coated)/ glassfiber (coated)/ PA (coated)	1%	major
	wallpaper	paper, mineral plaster, acrylics	2%	medium
pipes and fittings	waste-rain-water	polyolefins, cast iron, concrete, stoneware/clay, Cu, Al, Zn	12%	major
	drinking water	(stainless) steel, copper, polyolefins, PB, ABS	4,5%	medium
	gas pipes	polyolefins	< 0,5%	small
	irigation and draining pipes	polyolefins	2,5%	major
toys/sports goods:				
	dolls, bath ducks, snorcle	polyolefins, wood	< 0,1%	small
	inflatable beach toys, balls, padding pools	rubber, polyolefins		
	rubber boats, rafts	composites, PUR, rubber	3%	major
	building blocks, play figures	polystyrene, polyolefins	negl.	negl.
	camping/tents	rubber, TPE	< 0,5%	medium
	luggage	lether, cotton, polyester, ABS, PUR	1%	medium
consumer goods:				
furniture	edge protection, furniture profiles	wood, ABS	1,5%	medium
	coating	melamine paper, veneer, varnish (exoxy, acryl, alcyd, PUR)	0,5%	major
	garden hoses		1,5%	major
	garden furniture	wood, steel, aluminium, polyolefins, PA	negl.	negl.
clothing	wellingtons, ski boots	leather, PA, EVA, rubber	2%	medium
	soles/bottoms	leather, PUR		
	rain covers	cotton, PUR, polyester, PA (all coated)		
	fashion ware	wool, polyester, cotton, PA, silk, latex	< 0,5%	small
office equipment	transparancies, trays, folders	polyolefins, PS, cardboard	2%	medium
	credit cards	PET, ABS	< 0,5%	major
household goods	shower curtains	cotton, polyester	< 0,5%	major
	packaging-/electrical tapes	PET, PI, PP	1%	major
	sealants	silicons, PUR, TPE	< 0,5%	medium
packaging:				
container	bottles	PET, glass, polyolefins, ceramics	1,5%	small
	food packs	PET, aluminium, paper, polystyrene, polyolefine, PA		medium
	shrink foils	polyolefins,	6,5%	small
	blister packs	COC, PP/COC/PP, PE/PVDC, paper		medium
transport:				
cars and trucks	plastisol (sealing, underbody protection)	polymer bitumen, PB rubber, SMA, Zn	2,5%	major
	parts	PP-GF, PP/EPDM, PP, PB, PBT, PC/ABS, SMC, PC, PA	1%	small
	tarpaulins	acrylics, PUR (all coated)	0,5%	major
	dashboard	PP, PP/EPDM, leather, PUR		medium
	artificial leather	PUR, leather, cotton, wool, polyester	1,5%	major
	cable harness	PE-X, TPU	1%	major
yachting	foams, fenders, ...	wood, PUR	< 0,5%	major
trains	seat covering	PUR, polyester	< 0,5%	small
electric- and electronic equipment:				
	cables	PE, PEX, rubber, TPE, PP	11%	major
	casings	ABS, PC, PS, polyolefine (all with FR), metals	0,5%	small
	cable ducts	polyolefins		major
medical applications:				
	blood and infusion bags and medical devices	multilayer polyolefins, glass		
	gloves	rubber, PU	0,5%	major
agriculture:				
	green houses sheets	polyethylene, glass, PMMA	negl.	negl.
	foils	polyolefins	< 0,5%	small
others	undefined		~ 7,5%	
		sum	100%	

Tab. 2 Procentuelní zastoupení PVC v aplikacích a průměrná doba životnosti [1]

Use / Application	Percentage	Average life-time (years)
Building	57	10 to 50
Packaging	9	1
Furniture	1	17
Other household appliances ¹⁰	18	11
Electric/Electronic	7	21
Automotive	7	12
Others	1	2 to 10

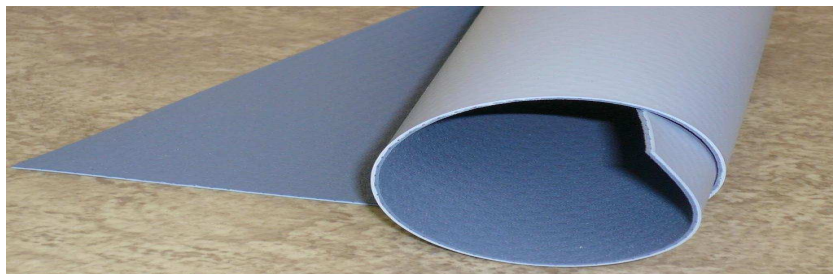
Výše popsanou problematiku řeším v rámci své doktorské práce s názvem „Prevence vzniku odpadů plastů a výzkum možností jejich využití“. Jako člen řešitelského týmu jsem se v rámci projektu podílel na řešení koncepcí zpracování výrobních odpadů z výroby PVC střešních hydroizolačních fólií. Řešil jsem environmentální dopady výrobního zařízení na životní prostředí s cílem jejich minimalizace včetně problematiky povolování zařízení orgány státní správy. Podílel jsem se na výběru vhodného výrobního zařízení, na zkouškách výrobního zařízení v rámci zkušebního provozu a na systému vyhodnocování výstupů ze zařízení (vznikajících recyklátů). Cílem projektu uvedeného v tomto příspěvku bylo vyřešit problematiku zpracování heterogenních plastových PVC odpadů vznikajících ve výrobním procesu výroby střešních hydroizolačních fólií na bázi PVC s textilní polyesterovou výztuží.

Dále popisovaná linka je součástí koncepcí zpracování odpadů plastů ve společnosti Fatra, a. s.. její realizace úzce navazuje na zvýšení kapacity střešních hydroizolačních fólií. Koncepcí linky a její realizace je prací řešitelského týmu složeného ze zaměstnanců Fatry, projekčních organizací a zástupců dodavatelů technologických uzlů.

MATERIÁL A METODIKA

V tomto příspěvku je popisován projekt zpracování odpadů ze střešních izolačních fólií. Jedná se o problematiku, mající svá specifika a omezení z hlediska konstrukce fólie a potom následně i pracovatelnosti odpadů. Pro zvýšení pevnosti a rozměrové stálosti se u tohoto druhu izolačních fólií používá jako výztužný prvek textilní výztuž ve formě řídké textilie (textilní mřížka), případně netkané textilie. Jako materiál jsou používána skleněná vlákna, či častěji vlákna na bázi polyesteru (PES). V popisovaném případě je výztužný materiál na bázi PES ve formě mřížky – viz obr. 1, 2 a 3.

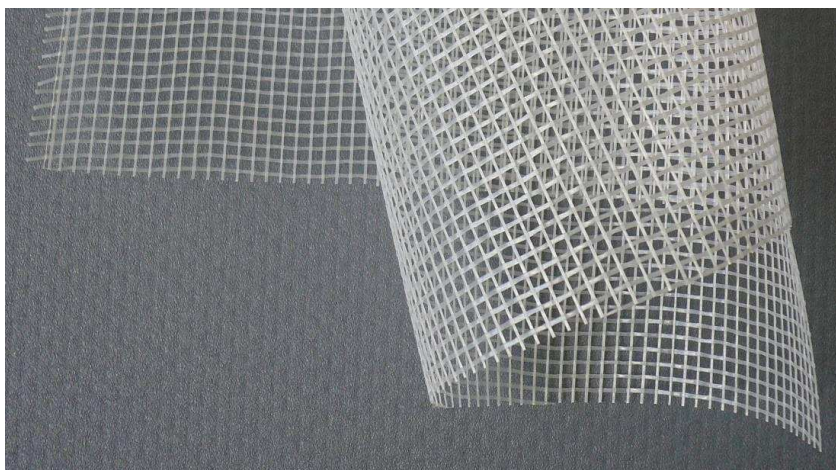
Obr. 1 – střešní hydroizolační folie s výztužným materiálem PES



Obr. 2 – detail zabudované PES mřížky na řezu fólie



Obr. 3 – výztužný materiál – textilní mřížka PES



Výhodou termoplastů, do kterých patří i PVC, je možnost jejich recyklovatelnosti zpět do daného výrobku, případně do výrobku s nižšími užitnými vlastnostmi (z hlediska barevnosti, mechanických vlastností). Recyklace naráží na některá úskalí a limitující faktory:

- čistota vstupního odpadu,
- definovatelnost složení odpadu,
- heterogenita odpadu, to znamená kombinace s jinými materiály.

Právě v popisovaném případě není možné přímé zpracování odpadu zpět do výrobku vzhledem k obsahu výztužného PES textilu.

Z hlediska **životního cyklu výrobku (LCA)** zde popisovaný případ řeší problematiku zpracování odpadů z fáze výroby – pre-consumer waste. Výhodou zpracování odpadů z výrobní fáze je:

- definovatelné složení odpadů,
- zaručená čistota daná technologií a technologickou kázní zaměstnanců.

Čistší produkce (CP) pohlíží na odpad jako na surovinu, energii, atd. nepřeměněné na žádaný produkt^[3]. Na odpad je ve smyslu CP nutno pohlížet jako na ztrátu, která v sobě zahrnuje:

- náklady na surovinu obsažené v odpadu
- náklady na energie nutné pro uskutečnění výroby (elektrická energie, tepelná energie, paliva ...)
- mzdy zaměstnanců,
- opotřebená zařízení, náklady na údržbu
- náklady na odstranění odpadu, či na recyklaci odpadu.

Z tohoto pohledu i následné recyklování s materiálovým využitím odpadu vnáší další náklady a přináší environmentální dopady. Princip materiálového využití je v souladu s požadavky zákona o odpadech, který rovněž zavádí prvky prevence vzniku odpadu a preferuje materiálové využití vzniklých odpadů před energetickým využitím, termickým odstraněním či uložením na skládku.

Za současného stavu znalostí techniky a technologií je nereálné dosahovat bezodpadové technologie. Pro snížení environmentálních dopadů jsou ve výrobě střešních izolačních PVC fólií uplatňována preventivní opatření CP, minimalizující vznik odpadů, zejména:

- technologické odladění výrobního procesu, umožňující rychlé nastavení požadovaných parametrů výrobku při spuštění výrobní linky, to znamená minimalizace odpadů při najíždění linky,
- technologická kázeň obsluhy – snižování množství neshodných výrobků,
- kontrola vstupních surovin – snižování množství neshodných výrobků,
- optimalizace vstupních výztužných materiálů dle daného výrobku – minimalizace nutných ořezů okrajů fólie,
- optimalizace tloušťkového profilu folie – minimalizace ořezů okrajů,
- používání velkonábalů a následné převržení do spotřebitelského balení – minimalizace odpadů ze spojů jednotlivých balíčků, minimalizace odpadů při navjžení,

Odpady z výroby střešních izolačních PVC fólií tvoří:

- technologicky nutné ořezy fólií na požadovanou šířku,

- odpady ze zajiřdění linky a odstavování linky,
- spoje balíků výztužného PES textilu,
- neshodné výrobky,
- odpady vznikající při poruchách výrobního zařízení

Z hlediska zařazení odpadu ve smyslu zákona o odpadech ^[4] a vyhlášky MŽP č. 381/2001 Sb. Katalog odpadů ^[5], se jedná o odpad kategorie „O“ – ostatní, katalogové číslo 04 02 09 odpady kompozitních tkanin.

Možnosti nakládání z hlediska zákona o odpadech:

Způsob nakládání	Výhody	Nevýhody
Materiálové využití	PVC obsažené v odpadu je využitelné do dalších výrobků.	- Značná investiční náročnost zařízení.
Energetické využití	---	- Vzhledem o obsahu PVC nelze odpad spalovat v běžných spalovacích zařízeních. - Malá výhřevnost
Termické odstranění	Za dodržení podmínek spalování odpad po odstranění dále nezatěžuje životní prostředí.	- Ztratí se využitelný materiál jednou provždy. - Vyžaduje odpovídající spalovnu odpadů. - Finanční náročnost – cena za spalování.
Uložení na skládku - skládkování	V současné době nejnižší finanční náročnost.	- Hromadění odpadů na skládkách. - Prozatím nereálnost dalšího využití uloženého odpadu.

Společně s řešitelským týmem jsme vzali v úvahu všechny možnosti nakládání s odpadem. Přesto, že jako nejjednodušší a nejlevnější řešení se na první pohled jeví skládkování, rozhodli jsme v řešitelském týmu využít odpad materiálově. Tato varianta je sice investičně nejnáročnější, zato je však z environmentálních a nakonec i materiálových důvodů nejvýhodnější.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Koncepce materiálového využití

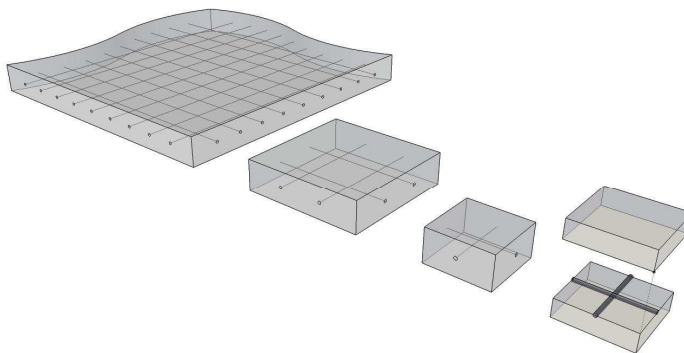
Materiálové využití (recyklace) heterogenních odpadů PVC/PES textil přináší s sebou nutnost oddělit od sebe PVC a textil. V podobě, v jaké se nachází odpady z výroby, je zpětné zpracování do výrobků nereálné.

Při separaci musí být vzaty v úvahu následující vstupní parametry a požadované výstupy:

- odpady z fólií mají v sobě zabudovanou PES textilní mřížku s rozměry mřížky řádově stejnými jako je tloušťka folie. Poměr kolísá mezi cca 1 : 5 do 2 : 5 (tloušťka : rozměry mřížky),
- odpad tvoří výše jmenované útvary,
- tvrdost a ostatní fyzikálně-mechanické vlastnosti se mění s teplotou,
- je specifikována velikost částic recyklátu (drtě) vzhledem k požadavkům dalších zpracovatelských technologií,
- zbytkový textil v recyklátu nesmí zhoršovat možnost dalšího zpracování,
- textilní vlákna v recykláži nesmí zhoršovat fyzikálně-mechanické vlastnosti a vzhled (povrch) finálního výrobku.

Popisovaná problematika materiálového využití heterogenních odpadů z PVC hydroizolačních fólií je v současné době realizována ve společnosti Fatra, a.s. Napajedla. Na základě předchozích zkušeností byla zvolena technologie drcení a separace od dodavatele Hosokawa Alpine. Princip recyklace je znázorněn na obr. 4. Postupným drcením a mletím dochází ke zmenšování částic za současného mechanicko-pneumatického odlučování PES vláken.

Obr. 4 – schematické znázornění průběhu mechanické recyklace

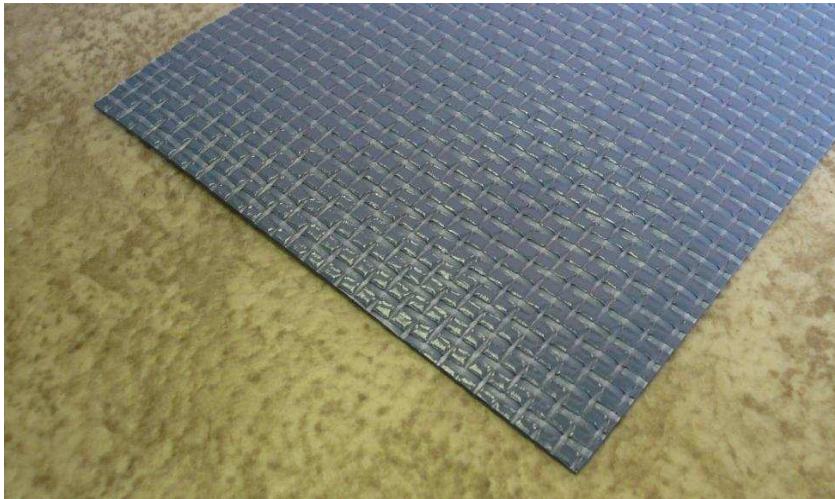


Odpad fólie je ve dvou stupních drcení postupně zmenšen na rozměry částice řádově stejné jako původní tloušťka folie. Důležitým momentem je schopnost zařízení převážně ve 3. stupni docílit

smykovými silami rozdělení částice v rovině zakotvené mřížky a obnažení vláken. Tím je umožněno dokončit uvolnění vláken ze struktury materiálu.

Pro názornost obr. 5 představuje vrstvu folie s nanesenou mřížkou PES před nanášením druhé vrstvy PVC. Je zřetelná úroveň zapracování mřížky do fólie.

Obr. 5 - jednostranný nános PVC na PES mřížce



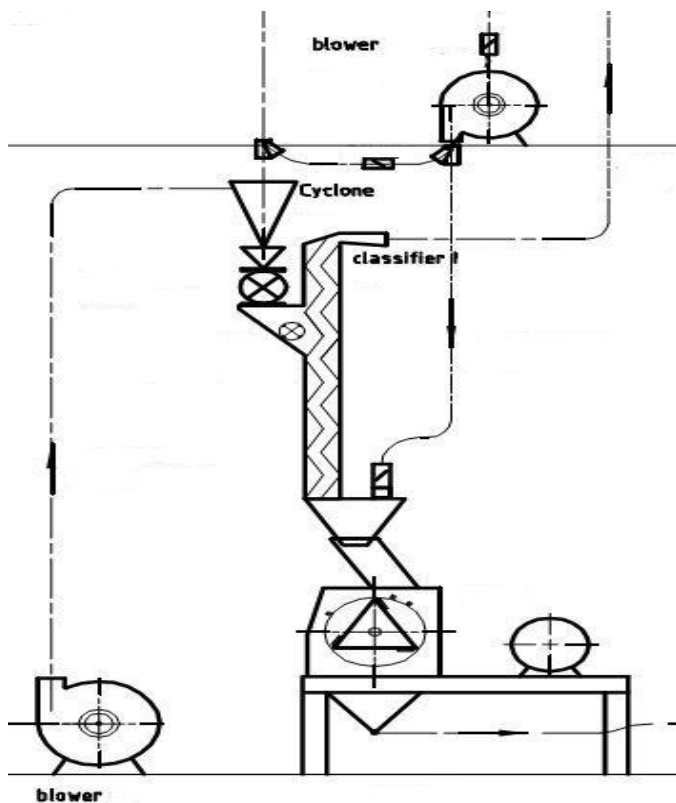
Kromě drtě PVC se v jednotlivých stupních tvoří shluky uvolněných PES vláken ve formě „vaty“ či dle jiné terminologie je vznikající hmota nazývána jako „cupanina“. Úkolem linky je kromě nadrcení odpadu separovat PVC drť od PES vláken. Princip odlučování vláken spočívá v rozdílném odporu částic vůči proudícímu vzduchu. Lépe vznosná část PES vláken je unášena přes separátor vzduchotechnikou k odlučovacímu filtru, kdežto drť PVC s odlišným odporem vůči vzduchu odchází spodní částí separátoru k dalšímu stupni zpracování.

Schéma separátoru představuje obr. 6. Materiál (drť z předchozího stupně) vstupuje do separátoru přes turniket, který:

- dávákuje do separátoru nastavený tok drtě,
- pneumaticky odděluje separátor od předcházející pseudopravy

Separátor tvoří lomená komora, která nutí procházející dělený materiál měnit směr a rychlost. Separátorem je materiál unášen regulovatelným proudem vzduchu. Množství vzduchu a tím i současně rychlost pohybu je rozhodující pro správné dělení. Průtok vzduchu je v jednotlivých stupních individuálně nastavován s ohledem na stupeň drcení (velikost částic) a množství uvolněných vláken.

Obr. 6 – schéma separátoru s drtičem



Linka umožňuje vytvářet dva druhy kvality drtě podle stupně rozdrcení a separace PES vláken. Kvalita „B“ vzniká po dvou stupních drcení a separace PES vláken. Velikost částic je řádově v mm a obsahuje zvýšené množství zbytkových vláken v drcených částicích. Drť kvality „A“ vzniká po průchodu posledním stupněm s upraveným drtičem, kde vlivem smykových sil dochází k účinnému rozrušování drtě z předchozího stupně v rovině PES výztuže a tím i ke snadnějšímu uvolnění vláken tak, jak bylo popsáno předešle. Stupeň drcení musí být zvolen tak, aby nedocházelo ke ztrátám příliš jemné drtě odloučením v třídíči.

V současné době je linka odlaďována z hlediska kvality drtě a stupně výtěžnosti. Cílovým stavem je výroba pouze drtě s nejvyšším stupněm odloučení vláken vznikající po průchodu celou linkou. Podle dosavadních výsledků získaných při ověřovacích zkouškách lze dosáhnout cca 80%-ní výtěžnosti kvality „A“.

Obrázky 7 a 8 ukazují výsledný produkt – drť PVC vhodnou k dalšímu zpracování zpět do původního výrobku a odpadní „cupaninu“ tvořenou PES vlákny a neodloučeným PVC. Tento zbytkový materiál v současné době nemá uplatnění a bude po zahájení trvalé výroby předáván k uložení na skládce. V dalším stupni vývoje koncepce zpracování heterogenních materiálů je uvažována i možnost vývoje výrobku umožňujícího využít i odpadní PES vlákna.

Obr. 7 – výsledný produkt linky - drť PVC



Obr. 8 – odpad PES vláken



ZÁVĚR

Popisovaná linka pro recyklaci odpadu z výroby střešních PVC hydroizolačních fólií byla realizována pro možnost materiálového využití vznikajících technologických odpadů. Ověřovacími zkouškami byla prokázána funkčnost sestavy a možnost z heterogenního odpadu s poměrně dokonale zabudovanou strukturou mřížky z PES vláken získat zpětně materiál použitelný do původního výrobku, nahrazující primární suroviny. Linka umožňuje nastavit takový stupeň rozrušení původního fóliového materiálu do formy drtě, který umožní separaci PVC od PES vláken. Bylo prokázáno, že zbytková vlákna po zpracování plní funkci plniva, které má příznivý vliv na zvýšení pevnosti následně vyráběných produktů. Z procesu vzniká odpad PES vláken s podílem neodloučeného PVC, prozatím bez dalšího využití s nutností odstranit jako odpad. Linka umožňuje zpětně zhodnotit cca 80% vstupujícího odpadu do formy použitelné pro další zpracování. Vzhledem k tomu, že odladění linky není v konečném stádiu, lze očekávat zvýšení efektivity procesu. Rovněž se naskytuje možnost rozšíření sortimentu zpracovávaných odpadů. Poznatky a výstupy uvedené v tomto příspěvku budou součástí řešení, která budu zpracovávat v rámci závěrečné doktorské práce.

LITERATURA

- [1] Life Cycle Assessment of PVC and of principal competing materials Commissioned by the European Commission, July 2004 Project Coordination - PE Europe GmbH Dr. Martin Baitz, Mr. Johannes Kreißig, Ms. Eloise Byrne
- [2] Nařízení Evropského parlamentu a Rady(ES) č.1907/2006 - REACH
- [3] Kotovicová, J. a kol.: Čistší produkce. MZLU v Brně 2003, ISBN 80-7157-675-1
- [4] Zákon č. 185/2001 Sb., o odpadech, ve znění pozdějších předpisů
- [5] Vyhláška MŽP č. 381/2001 Sb. Katalog odpadů, ve znění pozdějších předpisů

THE DATA STRUCTURE AND ITS ELEMENTS AS GRAPHIC OUTPUT FOR GEOGRAPHIC INFORMATION SYSTEM IN THE ENVIRONMENT AND WASTE MANAGEMENT

Štachová Z., Rybář R.

Department of Agriculture, Food and Environmental Engineering, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: zuzana.stachova@mendelu.cz

ABSTRACT

This project deals with the data structure and its elements in term of the design and graphic expression in the project of the Geographic Information System Design in the Environment and Waste Management for the company Czech Railways. The system's aim is to create complex evidence for Czech Railways Waste Management. The aim of this work is to create data content and the chosen elements visualize in a map as graphic output useful in this system. The procedure design come out from the standard methodology of prototype method of system development. The developed prototype can be used as the new part of the next project. The digital map perform here as a graphic underlayer, where the chosen data elements are visualized in the program MapInfo. The data elements were chosen in the view of the practical demonstration as a point, line and area visual display. The railway stations as the waste producers were chosen as the point elements, the interference of the protected landscape areas and the railway route represent the line elements and the flood lands in the railway route area are displayed as area elements. The proposed system is of course a big contribution; it ensures better overview, transparency and control of the evidence and meeting of the law limits. Information systems ensure better communication between subjects and contribute to the better and more efficient searching. The work is getting effective thanks to the information technologies and the information systems simplify everyday work not only in the waste and environment questions.

Key words: Geographic Information System, Data Structure, Environment

Acknowledgments: I would like to thank the Project team of the Geographic Information System Design for a company České dráhy, a. s. and doc. Ing. Rudolf Rybář, CSc. for their help.

ÚVOD

V této práci byla řešena datová struktura a její prvky z hlediska návrhu a grafického vyjádření v rámci projektu návrhu Geografického informačního systému pro oblast životního prostředí a odpadového hospodářství pro společnost České dráhy. Cílem tohoto systému je vytvoření komplexní evidence v oblasti odpadového hospodářství Českých drah. Cílem této práce je navrhnout obsah datové struktury a vybrané prvky vyjádřit v mapě jako grafické výstupy, použitelné v rámci systému.

MATERIÁL A METODIKA

Návrh postupu řešení vychází ze standardní metodiky projektování informačních systémů při uplatňování prototypové metody vývoje. Vynutý prototyp pak může kdykoliv posloužit jako součást nového zadání při nastartování dalšího cyklu. Každý informační systém jako produkt je úměrně k zadání, ze kterého vyšel, funkční a může tak být použit při jeho dalším rozvoji. Grafické a geografické informační systémy poskytují odpovídající informace o přesném rozmístění objektů, vzájemných prostorových vztazích, topologii železniční sítě apod. Jako podklad systému je pro potřeby Českých drah v rámci informačního a geografického informačního systému vhodné se řídit tzv. TUDU příp. kilometrází. TUDU je traťový úsek a definiční úsek, do kterých jsou členěny jednotlivé tratě. Definiční úseky slouží, tak jako v systému ČD k základnímu popisu polohy jednotlivých tratí. Jsou definovány čísla, což slouží k přesné lokalizaci určitého místa. TUDU spolu se staničením, což je číselný údaj na staničníku, vyznačují kilometrickou polohu kolejí od začátku do konce příslušné trati, slouží při generaci do mapy. K lokalizaci traťových úseků potom slouží tzv. mapa M12.

Jako grafická podkladová vrstva zde slouží digitální mapa, což je účelová mapa v měřítku, kterou lze rozdělit na Jednotnou železniční mapu (JŽM), zachycující základní polohopis a informace o zařízeních na povrchu drážního pozemku a v jeho blízkém okolí, a na Mapu podzemních vedení a zařízení (Mapa PVZ), která zachycuje informace o zařízeních pod povrchem. Pro účely tohoto projektu byla využívána Jednotná železniční mapa, do které byly v prostředí MapInfo zaneseny vybrané prvky datové struktury

Základní představy k čemu by systém mohl sloužit se odvíjí od potřeby ekologa či odpadového hospodáře a jiných složek Českých drah, které by systém využívali. V systému by měli být zaneseny stávající střediska odpadů, o která se ekolog ČD stará, provozované skládky a také veřejné skládky, kam by se v případě potřeby dal odvést odpad. Dále by zde mohla být zanesena místa zpětného odběru např. pneumatik či recyklační linky v okolí nebo místa vzniku nebezpečných odpadů. Jistě by také mělo význam zaznamenat chráněné krajinné oblasti (CHKO), kde je zaveden určitý režim, co se týče odpadů příp. havárií. Co se týká tzv. černých skládek, tak i ty by zde mohly být zakresleny, význam by měly zejména ty skládky, které se řeší dlouhodobě.

Co se týče struktury uživatelů s přiřazenými přístupovými právy, kteří by k systému přistupovali, ta by procházela napříč Českými drahami. Primární správce a zdroj dat by měl být ekolog Správy dopravní cesty (SDC), který by měl mít všechna práva a aktivní přístup k systému. Aktivní přístup by měl mít také ekolog odboru generálního ředitelství, kde by se systém a jeho plnění metodicky řídil. Pasivní přístup by pak měli mít ostatní správci SDC např. elektroúseku, úseku sdělovacího

a zabezpečovacího, úseku mostů a budov a úsek tratí. Externě by k systému mohla také přistupovat hasičská záchranná služba Českých drah..

VÝSLEDKY A DISKUZE

Lze říct, že geografický informační systém je systém, který zahrnuje prostorovou povahu objektů s nimiž pracuje. Představuje organizované spojení technických a programových prostředků s pracovními postupy a funkcemi, které umožňují sběr, ukládání, kontrolu, manipulaci, prezentaci a analýzu informací vztažených k prostoru. Základním pojmem v oblasti GIS je objekt.

Objekt je taková část zobrazované reality, která lze jednoznačně popsat souborem typických vlastností. Na objekt se lze dívat ze dvou možných pohledů a sice grafický popis, který určuje geometrické vlastnosti jako je tvar, poloha apod. nebo faktografický popis, který přiřazuje každému objektu určitou množinu tematických vlastností definujících třídu objektů. Konkrétní objekt je v rámci určité třídy definován atributy, které představují již konkrétní hodnoty daných vlastností.

Z hlediska systému je potřeba nadefinovat prvky či objekty, které zde budou zobrazovány v rámci datového modelu. Mapové značky jsou potom symboly, kterými jsou v mapě vyznačovány objekty a útvary. Rozlišují se tři základní typy symbolů. Jsou to bodové symboly, liniové symboly a plošné symboly.

Bodové symboly jsou např. železniční stanice s produkcí odpadu, střediska odpadů, místa zpětného odběru či místa vzniku nebezpečného odpadu apod.. Bodovým je tento symbol proto, že jeho umístění v souřadnicích je dáno jedním řídicím bodem. Liniové symboly jsou např. dopravní komunikace (např. dráha, silnice), úsek dotčené tratí, vodní toky (např. řeka, potok), hranice ploch (např. hranice zástavby, chráněné území) apod. K umístění liniového symbolu do souřadnic jsou potřeba alespoň dva body, obvykle celá řada bodů. Liniové symboly jsou obvykle tvořeny čarou určité barvy a síly nebo opakujícími se symboly uspořádanými liniově. Plošné symboly jsou např. vodní plochy (např. moře, jezero, nádrž), lesy, pole nebo jiné zemědělské plochy (např. vinice, chmelnice, pastvina), také lze takto zobrazit území s jiným zvláštním režimem (např. vojenské území), skládky (černé skládky), záplavová území apod.. Texty nebo jinak také popisky jsou také druhem symbolu. V jednoduché podobě se podobají bodovým symbolům a k jejich umístění stačí jediný bod. Umísťují se k bodovým, liniovým i plošným mapovým značkám. Jejich parametry zahrnují zejména typ, velikost a barvu písma.

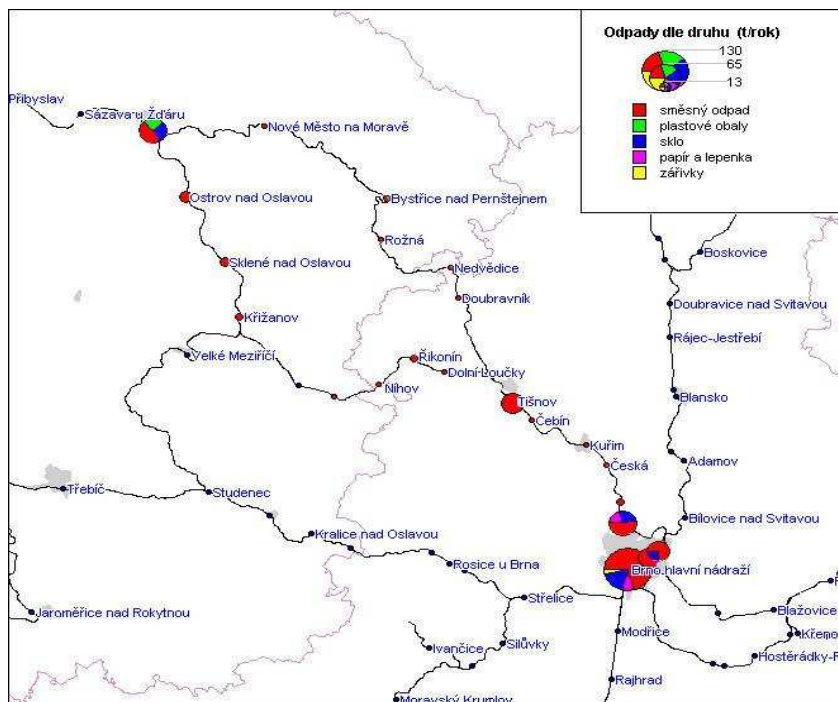
Prvky byly vybrány tak, aby bylo možné ukázat jak bodové zobrazení, tak liniové a plošné zobrazení. Všechna schémata byla vytvářena v prostředí MapXtreme resp. MapInfo, kde byly na podkladových vrstvách schémat tratí vytvořeny následující prvky.

Jako bodové prvky byly zvoleny železniční stanice s produkcí odpadů, jejichž původcem jsou České dráhy a.s., liniové prvky vyznačují střet chráněného krajinného území (CHKO) s tratí a jako plošný prvek byl vybrán střet záplavových území s tratí.

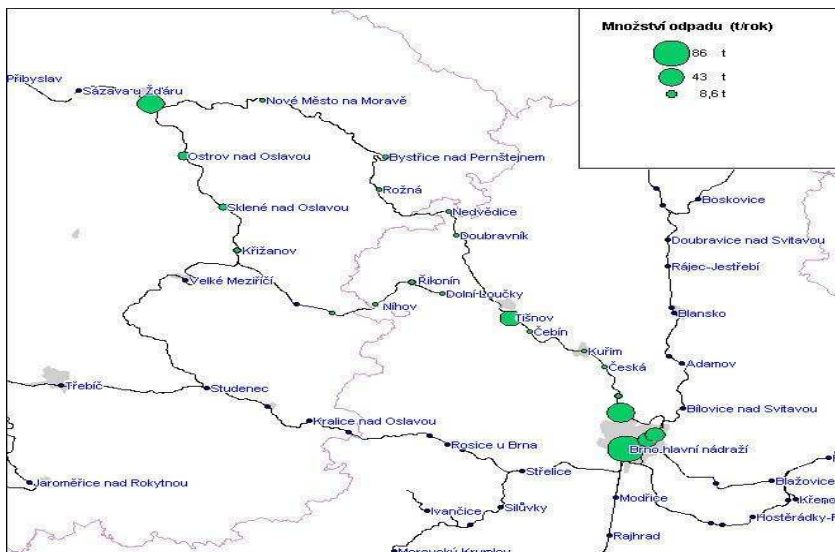
Tab. 1 Produkce odpadu ve vybrané železniční stanici

Provozovna	Kilometráž	Druh odpadu	Značka odpadu	Kód druhu odpadu	Kategorie odpadu	Množství odpadu [t/rok]
Brno – hlavní nádraží zst.	1,0	Směsný komunální odpad	•	200301	OO	151,9440
		Odpadní tiskařský toner obsahující nebezpečné látky	•	080317	NO	0,0400
		nikl-kadmiové baterie a akumulátory	•	160602	NO	0,0250
		zářivky a jiný odpad obsahující rtuť	•	200121	NO	0,1500
		Sklo	•	200102	OO	27,2200
		Papírové a lepenkové obaly	•	150101	OO	13,1200

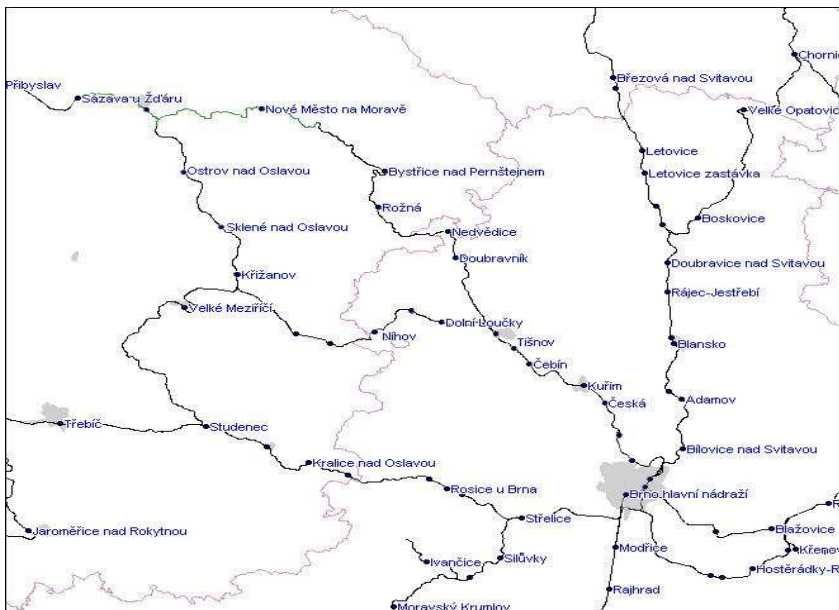
Obr. 1 Mapa s vyznačenými železničními stanicemi trati podle druhu odpadu



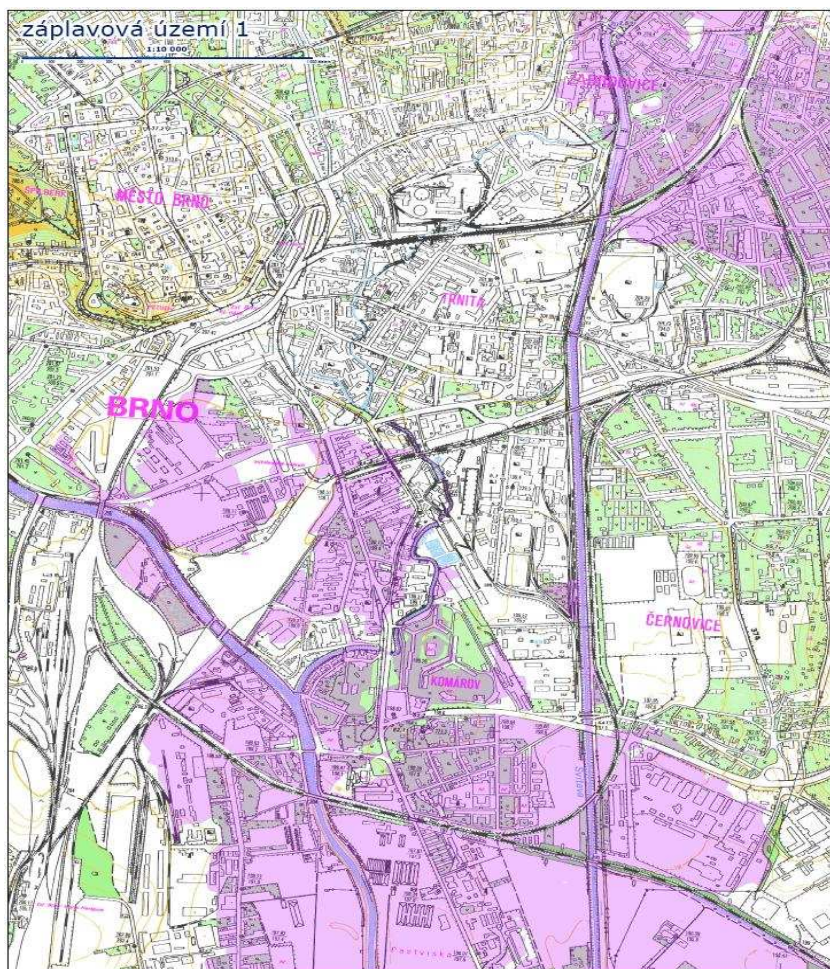
Obr. 2 Mapa s vyznačenými železničními stanicemi trati podle množství odpadu



Obr. 3 Mapa trati a její střeš s CHKO Žďárské vrchy



Obr. 4 Mapa tratí a jejich střet se záplavovým územím Brno 1



ZÁVĚR

Stávající stav evidence a dokumentace zahrnuje rozsáhlý informační fond tvořený soustavou dokumentů soustředěných v rámci několika oddělení. Je založen na odděleném a někde i ručním vedení evidenčních částí dokumentace. Takovýto způsob je velmi náročný, zejména na průběžnou aktualizaci a navíc oddělená evidence grafických a popisných údajů znamená několikanásobný zápis stejné změny, což značně komplikuje vedení aktuální a všem dostupné evidence. Navrhovaná struktura dat a její grafické vyjádření v rámci geografického informačního systému by bylo vhodným řešením této situace

s ohledem na práci ekologa a odpadového hospodáře. Takový systém je určitě velkým přínosem, zajišťuje lepší přehled, transparentnost a kontrolu nad evidencí a splňování limitů daných zákonem. Informační systémy také zajišťují lepší komunikaci mezi příslušnými subjekty a přispívají i k lepšímu a účinnějšímu vyhledávání. Díky informačním technologiím se usnadňuje a zefektivňuje práce a informační systémy se tak stávají každodenním pomocníkem a to nejen v oblasti odpadů.

LITERATURA

Albrecht I. (2008): Mapové podklady záplavových území pro České dráhy. Odbor životního prostředí a zemědělství. Krajský úřad Jihomoravského kraje.

Štachová Z. (2008): Aplikace informačních a geografických informačních systémů v odpadovém hospodářství. 76 s. Agronomická fakulta. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. Ústav zemědělské, potravinářské a environmentální techniky. Vedoucí diplomové práce doc. Ing. Rudolf Rybář, CSc.

THE EFFECT OF THE LOAD OF A COMBUSTION ENGINE ON ENERGETIC AND PERFORMANCE PARAMETERS OF TRACTOR AGGREGATE

Tatíček M., Bauer F., Sedlák P., Čupera J.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xtaticek@node.mendelu.cz

ABSTRACT

Through increasing price of propellant, the fuel consumption becomes the main factor which influences economy of the tractor aggregates running. The paper shows influence of load combustion engine and his operational mode to effective feature of tractor aggregates. The measurement was realized with a tractor New Holland T7050, aggregate with 5-furrow reversible plough. Data such as engine load, engine revolution, diesel fuel consumption, diesel fuel temperature, were got from CAN Bus network during the measurement. Then were measured following parameters total time of ploughing, dept of ploughing, time of turning and swath of tractor aggregate. The specific consumption of diesel fuel and the efficiency of the aggregate were calculated using the aforementioned parameters. The measurements were made in different engine operational mode. The speed gears were shifted automatically and manually. The results were then confront

Key words: tractor aggregate, efficienci, specific fuel consumption, loading of engine

Acknowledgements: These measurements were performed on the base of results obtained within the framework of an research and development project EU COST 356 „Agricultural transportation and its environmental effects“. The presented study was supported by the Research plan No. MSM6215648905 "Biological and technological aspects of the sustainability of controlled ecosystems and their adaptability to climate change" financed by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

ÚVOD

Stále rostoucí ceny energií a nízké výkupní ceny zemědělských produktů nutí zemědělce snižovat výrobní náklady zemědělských komodit. S tímto požadavkem úzce souvisí zvyšování kvality a produktivity zpracování půdy. Proto se v rostlinné výrobě stále více prosazují traktory s vyššími výkony, které jsou vybaveny moderními elektronickými systémy pro řízení motoru, převodového ústrojí a regulační hydrauliky. Aby však byl využit veškerý potenciál této techniky, je velice důležitým prvkem obsluha stroje, která nejen tento stroj řídí, ale musí být schopna celou pracovní soupravu vhodně seřadit. Prováděné polní zkoušky ukázaly vliv nastavení pracovního režimu spalovacího motoru resp. převodovky na výkonnostní a ekonomické parametry traktorové soupravy.

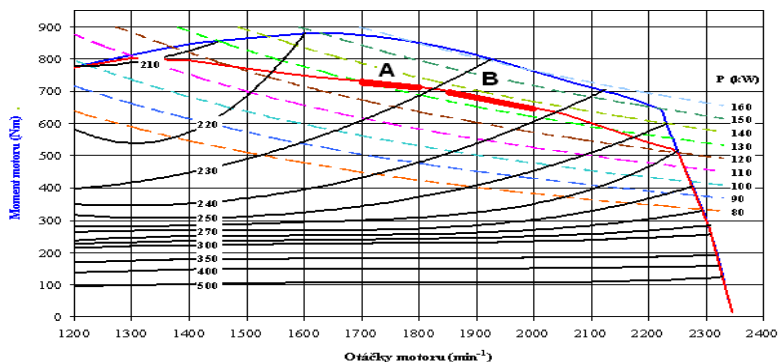
MATERIÁL A METODY

Polní měření proběhlo v katastru obce Rakvice na honu Dílce. Vlhkost půdy se během měření pohybovala mezi 14 – 16 % hm. K vlastnímu měření byl použit traktor New Holland T7050, který byl agregován s neseným pluhem HUARD VM 150 5 NS.

Technické parametry traktoru New Holland T7050

Kolový traktor s pohonem 4K4 typ New Holland T7050. Motor: řadový šestiválcový kapalinou chlazený vznětový se vstřikováním Common Rail, přeplňovaný turbodmychadlem s mezichladičem stlačeného vzduchu. Zdvihový objem 6728 cm³. Jmenovitý výkon: 145 kW, při navýšení výkonu 172 kW (ECE R120). Jmenovité otáčky: 2200 min⁻¹. Maximální výkon: 156 kW, při navýšení výkonu 177 kW. Maximální točivý moment/otáčky: 860 Nm / 1400 min⁻¹, při navýšení výkonu: 965 Nm / 1600 min⁻¹. Převýšení točivého momentu: 37 %, při navýšení: 30 %. Na obr. 1 je zobrazena úplná charakteristika motoru bez a s navýšením výkonu. Měření bylo provedeno v laboratoři vozidel Ústavu techniky a automobilové dopravy MZLU v Brně, přes vývodový hřídel dle metodiky OECD. Převodovka: PowerShift a PowerShuttle plně řazená pod zatížením mokřými lamelovými spojkami. Počet převodových stupňů 19 vpřed / 6 vzad. Možnost automatického řazení s nastavením poklesu otáček. Pneumatiky: Přední náprava: Michelin Multibib 540/65 R 30, zadní náprava: Michelin Multibib 550/65 R 42. Hmotnost traktoru při zkouškách: 7560 kg, maximální celková hmotnost traktoru: 12000kg.

Obr. 1 Úplná charakteristika motoru bez navýšení a s navýšením výkonu



Obr. 2 Souprava traktoru NH T7050 s pluhem HUARD Variomaster 150



Charakteristika pluhu

Výrobce: HUARD. Model: VM 150 5 NS. Typ: Variomaster 150.

Jedná se o pětiradličný nesený otočný pluh s plynule měnitelnou šířkou záběru. Změna záběru je prováděna přes vnější hydraulický okruh traktoru. Záběr jednoho orebního tělesa je stavitelný v rozmezí 14' - 20'. Orební tělesa jsou opatřena dlátovou čepelí s výměnným dlátem a výměnnou hrudí odhrnovačky. Konec křídla je opatřen přestavitelným perem. Orební tělesa jsou jištěny hydropneumatickými pojistkami se stavitelnou silou na vyhloubení.

METODIKA POLNÍHO MĚŘENÍ

Během celého měření byl motor provozován v základním režimu bez navýšení výkonu. Při práci traktoru na pozemku, byl k síti CAN Bus traktoru připojen měřicí počítač, do kterého se ukládala potřebná data. Jednalo se zejména o okamžité zatížení motoru, spotřebu paliva, teplotu paliva a další parametry motoru. Současně byly zaznamenávány s využitím externích snímačů ještě další veličiny. Pro měření skutečné pojezdové rychlosti soupravy byl na traktoru namontován radar RDS TGSS, viz. obr. 3. Pro měření teoretické rychlosti soupravy byl na disku zadního kola traktoru na pomocném rámu umístěn snímač otáček, viz. obr. 4.

Obr. 3 Radar RDS TGSS pro měření skutečné rychlosti, namontovaný na traktoru NH T7050



Obr. 4 Snímač otáček zadního kola traktoru



Mimo uvedené hodnoty byly ještě měřeny parametry orby jako hloubka, záběr pluhu a údaje potřebné pro stanovení výkonnosti orební soupravy. Pracovní záběr pluhu byl měřen podle ON 47 0166. Průměrný pracovní záběr pluhu se z vypočte podle vztahu:

$$B = \frac{\sum_{i=1}^n b_i}{n.z} \quad [\text{m}] \quad (1)$$

kde:

- n - počet měření [-]
- b_i - i – té měření záběru stroje [m]
- z - počet jízd soupravy [-]

Měření hloubky orby bylo prováděno podle oborové normy ON 47 0169. Ve stejných místech kde byl měřen záběr byla měřena i hloubka orby. Měření bylo prováděno po každé jízdě soupravy. Pracovní hloubka byla měřena hloubkoměrem jako kolmá vzdálenost roviny povrchu pole a dna brázdy. Průměrná hloubka orby se vypočte pomocí vztahu:

$$h = \frac{\sum_{i=1}^n h_i}{n} \quad [\text{m}] \quad (2)$$

kde:

- n - počet měření [-]
- h_i - okamžitá hloubka orby [m]

Kolísání pracovního záběru a hloubky orby bylo hodnoceno pomocí variačního koeficientu vypočteného ze vztahu.

$$V = \frac{s}{x_s} \cdot 100 \quad [\%] \quad (3)$$

kde:

- s - směrodatná odchylka (záběru, hloubky) [m]

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - x_s)^2}{n - 1}} \quad [\text{m}] \quad (4)$$

- x_i - i-tá hodnota (záběru, hloubky) [m]
- x_s - průměrná hodnota sledovaného faktoru [m]

Pro stanovení energetických a výkonnostních parametrů soupravy pro byl měřen celkový čas na zpracování parcely tzv. operativní čas T₀₂ a celkový čas otáček na souvrati T₂₁ (čas vedlejší). Na základě těchto údajů byl dopočítán čas hlavní T₁, který charakterizuje délku samotné orby.

$$T_1 = T_{02} - T_{21} \quad [\text{s}] \quad (5)$$

kde:

- T₀₂ - čas operativní [s]
- T₂₁ - čas vedlejší [s]
- T₁ - čas hlavní na zorání měřící parcely [s]

Z naměřených hodnot byla vypočtena zoraná plocha. Z časového snímku a plochy následně podle vztahu (6) plošná efektivní a podle vztahu (7) operativní výkonnost.

$$W_I = \frac{S}{T_I} \cdot 3600 \quad [\text{ha} \cdot \text{h}^{-1}] \quad (6)$$

$$W_{02} = \frac{S}{T_{02}} \cdot 3600 \quad [\text{ha} \cdot \text{h}^{-1}] \quad (7)$$

kde:

- S - zoraná plocha [ha]
- T₁ - čas hlavní na zorání měřící parcely [s]
- T₀₂ - čas operativní [s]
- W₁ - výkonnost efektivní [ha.h⁻¹]
- W₀₂ - výkonnost operativní [ha.h⁻¹]

Spotřeba paliva traktoru na zorání parcely, včetně otáček na souvratí, byla odečítána ze sítě traktoru. Okamžitá spotřeba udávaná v litrech za hodinu je ze sítě snímána s frekvencí 20 Hz. Dosažená průměrná operativní hodinová spotřeba se stanoví pomocí vztahu (8) a průměrná efektivní hodinová spotřeba podle vztahu (9).

$$Q_{h02} = \frac{\sum q_i}{T_{02} \cdot f} \quad [\text{l} \cdot \text{h}^{-1}] \quad (8)$$

$$Q_{h1} = \frac{\sum q_i}{T_I \cdot f} \quad [\text{l} \cdot \text{h}^{-1}] \quad (9)$$

kde:

- q_i - okamžitá spotřeba paliva při orbě [l/h]
- T₁ - čas hlavní na zorání měřící parcely [s]
- T₀₂ - čas operativní [s]
- f - frekvence odpočtu spotřeby ze sítě [Hz]

Operativní a efektivní spotřeba nafty na hektar zoraného pozemku byla vypočtena podle vztahů (10) a (11).

$$Q_{02} = \frac{Q_{h02} \cdot T_{02}}{3,6 \cdot S} \cdot 10^{-3} \quad [\text{l} \cdot \text{ha}^{-1}] \quad (10)$$

$$Q_I = \frac{Q_{h1} \cdot T_I}{3,6 \cdot S} \cdot 10^{-3} \quad [\text{l} \cdot \text{ha}^{-1}] \quad (11)$$

kde:

- Q_{h02} - operativní hodinová spotřeba nafty [l/h]
- Q_{h1} - efektivní hodinová spotřeba nafty [l/h]
- T₀₂ - čas operativní [s]
- T₁ - čas hlavní na zorání měřící parcely [s]
- S - zoraná plocha [ha]

Měrná operativní spotřeba orby je dána vztahem (12). Pro objektivnější porovnání s vyloučením vlivů časových ztrát na souvratích byla vypočtena také měrná efektivní spotřeba paliva dle vztahu (13).

$$Q_{02m} = \frac{Q_{02}}{h} \cdot 10 \quad [\text{ml} \cdot \text{m}^{-3}] \quad (12)$$

$$Q_{1m} = \frac{Q_1}{h} \cdot 10 \quad [\text{ml} \cdot \text{m}^{-3}] \quad (13)$$

kde:

- Q_{02} - operativní spotřeba nafty na hektar zoraného pozemku [$\text{l} \cdot \text{ha}^{-1}$]
- Q_1 - efektivní spotřeba nafty na hektar zoraného pozemku [$\text{l} \cdot \text{ha}^{-1}$]
- h - hloubka orby [m]

Výpočet teoretické hodinové spotřeby paliva z parametrů odečtených z úplné charakteristiky motoru byl proveden podle následujícího vztahu.

$$Q_{th} = \frac{m_{pe} \cdot P_e}{10^3 \cdot \rho_{nafta}} \quad [\text{l} \cdot \text{h}^{-1}] \quad (14)$$

kde:

- m_{pe} - měrná efektivní spotřeba motoru [$\text{g} \cdot \text{kW}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]
- P_e - efektivní výkon motoru [kW]
- ρ_{nafta} - měrná hmotnost nafty [$\text{kg} \cdot \text{l}^{-1}$]

Při zkouškách orební soupravy bylo provedeno celkem 10 měření. Motor byl provozován v běžném režimu bez navýšení výkonu. Při prvních čtyřech měřeních byly pracovní otáčky motoru udržovány v rozmezí 1700 – 1800 min^{-1} , tato oblast práce motoru je označena jako A. Další skupina měření byla realizována při otáčkách motoru 1850 – 2000 min^{-1} , tento režim motoru je dále označen jako B. Každé měření sestávalo ze čtyř jízd po parcele se třemi otáčkami na souvratích. Ve střední části délky jízdy byl vyměřen úsek na kterém probíhalo měření parametrů orby. Při každém průjezdu soupravy byl měřen prokluz kol přední a zadní nápravy, všechny zkoušky proběhly se sepnutou uzávkou diferenciálu. Dále byla po každém průjezdu soupravy měřena hloubka orby, minimálně v 10 místech. Po čtyřech jízdách byla změřena šířka zorané parcely pro výpočet pracovního záběru pluhu. Při orbě byl také měřen celkový čas na zorání parcely a časy otáček soupravy na souvratích. Během celé doby orby parcely, byly do paměti měřícího počítače s frekvencí 20 Hz ukládány údaje snímané ze sítě traktoru, především okamžitá hodinová spotřeba paliva, teplota paliva, otáčky motoru, rychlost jízdy, zatížení motoru, teploty olejových náplní, tlak mazacího oleje v motoru, otáčky ventilátoru chlazení, teplota chladicí kapaliny a další hodnoty. Na základě zjištěných průměrných otáček motoru při jednotlivých měřeních, byly do úplné charakteristiky motoru vyneseny body charakterizující jeho pracovní režim. Jelikož byl motor vhodným řazením převodových stupňů dotěžován, lze předpokládat provoz motoru s téměř plnou dávkou paliva. Tento předpoklad byl dále ověřen i pomocí integrovaného snímače zatížení motoru, který je sériově montován na setrvačnicku motoru. U tohoto snímače byla pro zpřesnění naměřených hodnot provedena kalibrace v laboratoři MZLU. Zatížení motoru se během orby pohybovalo mezi 90 – 100 %.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Základní naměřené a vypočtené parametry orební soupravy včetně hodnot odečtených z úplné charakteristiky jsou pro jednotlivé pracovní oblasti uvedeny v tab.1 a tab.2. Následně byly potřebné parametry vyneseny do grafů.

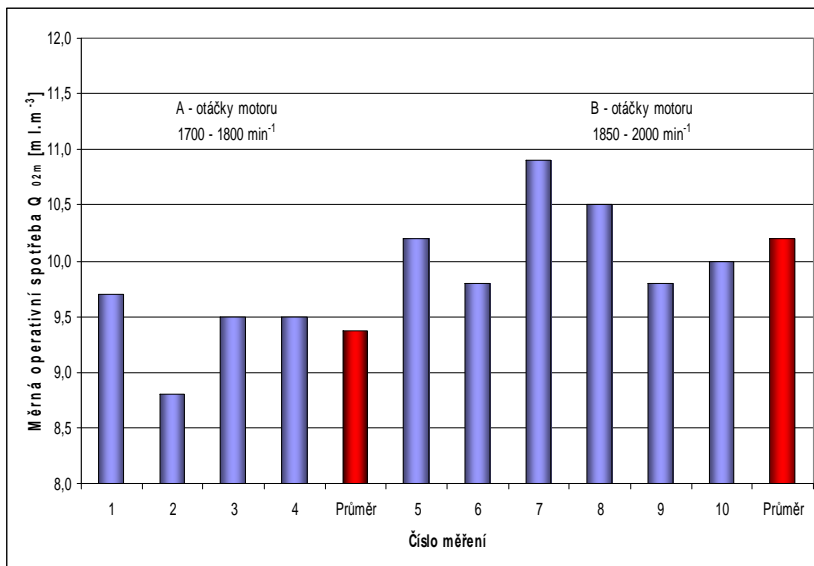
Tab. 1 Tabulka vypočtených parametrů z naměřených hodnot orební soupravy

Pracovní oblast A					
Měření	1	2	3	4	Průměr
Ø Otáčky motoru n [min^{-1}]	1794	1736	1709	1732	1743
Ø Hodinová spotřeba paliva Q_h [l.h^{-1}]	34,0	32,4	31,8	32,4	32,7
Ø Záběr B [m]	2,11	2,17	2,10	2,00	
Ø Hloubka h [cm]	28,3	27,6	25,1	25,6	
Variační koeficient - záběr Vz [%]	0,84	0,72	0,45	1,53	
Variační koeficient - hloubka Vh [%]	4,68	4,16	8,72	6,33	
Zoraná plocha S [m^2]	2591	2767	2863	2763	2746
Objem zpracované půdy V [m^3]	732,1	763,6	717,1	705,9	729,7
Měrná operativní spotřeba Q_{02m} [ml.m^{-3}]	9,7	8,8	9,5	9,5	9,4
Měrná efektivní spotřeba Q_{1m} [ml.m^{-3}]	8,3	7,6	8,2	8,2	8,1
Operativní výkonnost W_{02} [ha.h^{-1}]	1,24	1,33	1,33	1,34	1,31
Efektivní výkonnost W_1 [ha.h^{-1}]	1,46	1,55	1,55	1,56	1,53
Parametry odečtené z úplné charakteristiky motoru					
Výkon motoru p_e [kW]	133	131	130	131	131,3
Měrná efektivní spotřeba m_{pe} [$\text{g.kW}^{-1}\text{h}^{-1}$]	228	226	226	227	226,8
Vypočtená hodinová spotřeba paliva Q_{th} [l.h^{-1}]	37,0	36,1	35,8	36,3	36,3

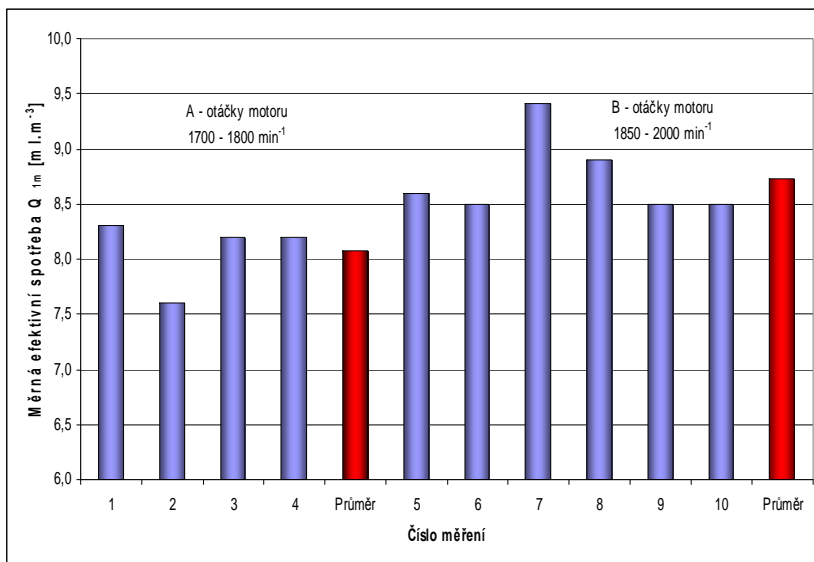
Tab. 2 Tabulka vypočtených parametrů z naměřených hodnot orební soupravy

Pracovní oblast B							
Měření	5	6	7	8	9	10	Průměr
Ø Otáčky motoru n [min^{-1}]	1867	1865	1925	1908	1863	1901	1888
Ø Hodinová spotřeba paliva Q_h [l.h^{-1}]	34,3	35,3	34,8	34,3	34,3	33,1	34,4
Ø Záběr B [m]	2,07	2,10	1,97	2,06	2,12	2,00	
Ø Hloubka h [cm]	27,8	28,7	27,2	27,0	25,9	25,2	
Variační koeficient - záběr Vz [%]	0,57	0,82	0,91	0,99	1,25	1,23	
Variační koeficient - hloubka Vh [%]	4,78	4,42	3,92	5,46	5,79	9,43	
Zoraná plocha S [m^2]	2515	2648	2578	2719	2830	2706	2666
Objem zpracované půdy V [m^3]	698,0	760,1	701,1	734,9	734,3	681,2	718,3
Měrná operativní spotřeba Q_{02m} [ml.m^{-3}]	10,2	9,8	10,9	10,5	9,8	10,0	10,2
Měrná efektivní spotřeba Q_{1m} [ml.m^{-3}]	8,6	8,5	9,4	8,9	8,5	8,5	8,7
Operativní výkonnost W_{02} [ha.h^{-1}]	1,21	1,25	1,17	1,22	1,35	1,32	1,25
Efektivní výkonnost W_1 [ha.h^{-1}]	1,43	1,45	1,36	1,43	1,55	1,55	1,46
Parametry odečtené z úplné charakteristiky motoru							
Výkon motoru p_e [kW]	136	136	137	137	136	137	136,5
Měrná efektivní spotřeba m_{pe} [$\text{g.kW}^{-1}\text{h}^{-1}$]	231	231	235	234	232	234	232,8
Vypočtená hodinová spotřeba paliva Q_{th} [l.h^{-1}]	38,3	38,3	39,3	39,1	38,5	39,1	38,8

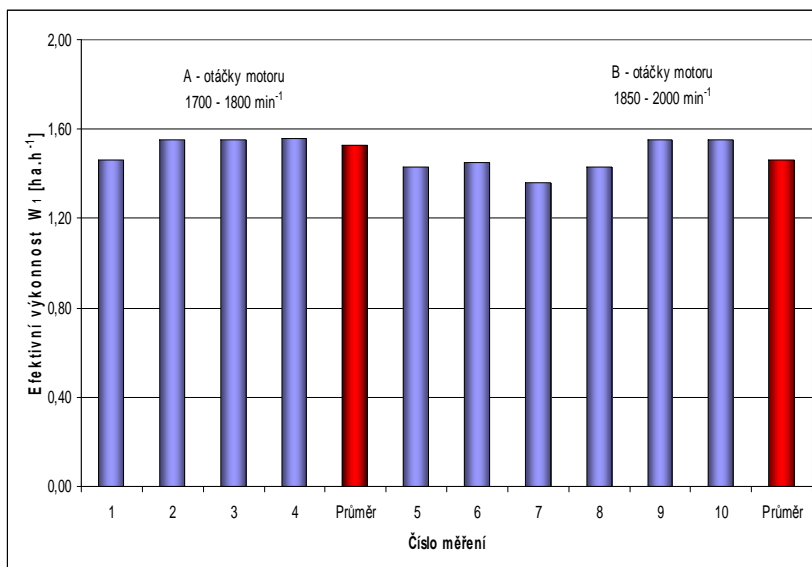
Obr. 5 Výsledky měření operativní spotřeby paliva při orbě



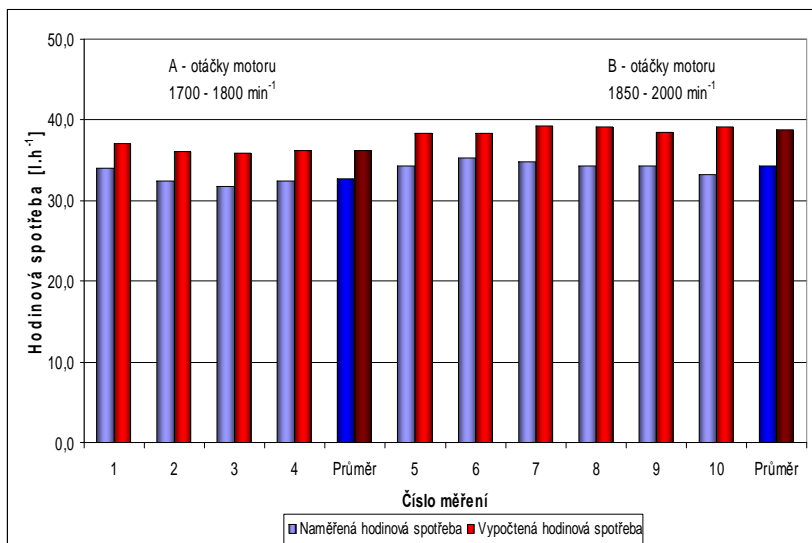
Obr. 6 Výsledky měření měrné efektivní spotřeby paliva při orbě



Obr. 7 Výsledky měření efektivní výkonnosti při orbě



Obr. 8 Porovnání naměřené a vypočtené hodinové spotřeby paliva při orbě



Na základě porovnání naměřených a vypočtených hodnot je zřejmé jaký vliv má zvolený pracovní režim motoru na ekonomiku jeho provozu. Při udržování motoru v pracovním režimu A, tedy v intervalu otáček $1700 - 1800 \text{ min}^{-1}$ při plné dávce paliva, bylo dosaženo průměrné měrné operativní spotřeby $9,4 \text{ ml.m}^{-3}$. Naproti tomu pokud motor pracoval v režimu B při otáčkách $1850 - 2000 \text{ min}^{-1}$ s velkou rezervou točivého momentu, byla naměřena průměrná měrná operativní spotřeba $10,2 \text{ ml.m}^{-3}$. Nárůst spotřeby v režimu B oproti režimu A činí $0,8 \text{ ml.m}^{-3}$, což představuje $8,5 \%$. Pro objektivnější porovnání výsledků je vhodnější porovnávat měrnou efektivní spotřebu, protože tato veličiny charakterizuje samotnou pracovní činnost soupravy a nezahrnuje otáčky soupravy na úvratích. V pracovním režimu A byla naměřena průměrná měrná efektivní spotřeba $8,1 \text{ ml.m}^{-3}$ naproti tomu v pracovním režimu B byla dosažena průměrná měrná efektivní spotřeba $8,7 \text{ ml.m}^{-3}$. Je tedy zřejmé, že při provozu motoru v režimu B dochází k nárůstu spotřeby o $0,6 \text{ ml.m}^{-3}$, což představuje přírůstek $7,4 \%$ oproti režimu A.

Pro porovnání výkonnostních parametrů orebních souprav byla zvolena efektivní výkonnost, která charakterizuje samotnou pracovní činnost soupravy. V pracovním režimu A byla dosažena efektivní výkonnost $1,53 \text{ ha.h}^{-1}$, naproti tomu při práci motoru v oblasti B došlo ke snížení efektivní výkonnosti o $0,07 \text{ ha.h}^{-1}$ na $1,46 \text{ ha.h}^{-1}$, což představuje pokles výkonnosti o $4,6 \%$. Tato skutečnost je dána snížením pojezdové rychlosti v důsledku zařazeného nižšího převodového stupně.

Jako další možné srovnávací kritérium lze použít naměřenou průměrnou hodinovou spotřebu paliva, která byla v režimu A $32,7 \text{ l.h}^{-1}$, kdežto v režimu B $34,4 \text{ l.h}^{-1}$. Přírůstek je v tomto případě $1,7 \text{ l.h}^{-1}$ respektive $5,2 \%$.

K podobným výsledkům lze dojít také na základě teoreticky určené spotřeby z hodnot odečtených z úplné charakteristiky motoru. Ze známých průměrných otáček motoru a na základě předpokladu, že motor pracuje s plnou dávkou paliva, lze určit pracovní bod v úplné charakteristice. V tomto bodě byl dopočítán efektivní výkon motoru a z grafu odečtena měrná efektivní spotřeba paliva. Z těchto parametrů byla stanovena teoretická hodinová spotřeba. V pracovním režimu A byla tato průměrná spotřeba $36,3 \text{ l.h}^{-1}$, v režimu B byl zjištěn nárůst spotřeby o $2,5 \text{ l.h}^{-1}$, což představuje relativní přírůstek $6,9 \%$. Porovnání naměřené a teoreticky určené hodinové spotřeby je zobrazeno na obr.8. Ačkoli je průměrná teoretická hodinová spotřeba vyšší o $3,6 \text{ l.h}^{-1}$ resp. $11,0 \%$ v pracovním režimu A a o $4,4 \text{ l.h}^{-1}$ resp. $12,7 \%$ v pracovním režimu B oproti průměrné naměřené hodinové spotřebě, je nutné zdůraznit, že teoreticky určený nárůst hodinové spotřeby je $6,9 \%$, zatímco naměřené zvýšení hodinové spotřeby je $5,2 \%$. Je tedy zřejmé, že teoretický výpočet hodinové spotřeby, resp. její přírůstek, vykazuje relativně malou odchylku od naměřené hodinové spotřeby, a tudíž lze konstatovat, že teoretický výpočet spotřeby je správný.

Při udržování otáček motoru v oblasti A ($1700 - 1800 \text{ min}^{-1}$) pracuje motor v ekonomickém režimu a vykazuje menší měrnou efektivní spotřebu, $225 - 230 \text{ g.kW}^{-1}.\text{h}^{-1}$, a tudíž i menší měrnou orební spotřebu. Průměrná měrná efektivní spotřeba byla $8,1 \text{ ml.m}^{-3}$. Průměrná hodinová spotřeba dosahovala $32,7 \text{ l.h}^{-1}$. Průměrná efektivní výkonnost v tomto režimu byla $1,53 \text{ ha.h}^{-1}$. Provoz je však náročnější pro obsluhu, protože motor má v této oblasti malou zálohu točivého momentu a obsluha musí rychle reagovat na změnu jízdních odporů soupravy vhodným přeřazením převodového stupně. Proto je výhodné a v poslední době také stále častější využití automatického řazení.

Naproti tomu pracuje-li motor v oblasti B s velkou rezervou točivého momentu ($1850 - 2000 \text{ min}^{-1}$), je tento provoz sice méně náročný pro obsluhu, protože není nutná tak častá změna převodového stupně, ale motor dosahuje poměrně vysoké měrné efektivní spotřeby, $230 - 240 \text{ g.kW}^{-1}.\text{h}^{-1}$, a tudíž i měrná orební spotřeba je vyšší. Při zkouškách byla průměrná měrná efektivní spotřeba v tomto pracovním režimu $8,7 \text{ ml.m}^{-3}$, což představuje nárůst o 7,4 % oproti režimu A. Obdobně se zvýšila také hodinová spotřeba a to o $1,7 \text{ l.h}^{-1}$ na $34,4 \text{ l.h}^{-1}$. Navíc ještě v důsledku poklesu pojezdové rychlosti pracovní soupravy došlo ke snížení průměrné efektivní výkonnosti soupravy na $1,46 \text{ ha.h}^{-1}$, což představuje pokles o $0,07 \text{ ha.h}^{-1}$, respektive 4,6 %. Touto problematikou se zabývali též autoři DUĐÁK., PETRANSKÝ (2002) a SYROVÝ (1997) a dosáhli podobných výsledků. Z těchto poznatků vyplývá, že pokud má být traktorová souprava pro tahové práce provozována ekonomicky, musí být sestavena tak, aby pracovní rychlost a odpor stroje odpovídaly maximálnímu tahovému výkonu traktoru pro danou pojezdovou rychlost.

Důležitým zjištěním je také skutečnost, že velikost nárůstu hodinové spotřeby lze při dostupné úplné charakteristice motoru poměrně přesně zjistit i teoreticky. Takovouto analýzou je tudíž možné určit pracovní oblast motoru, ve které by měl být převážně provozován, aby bylo dosaženo nejmenších provozních nákladů. Případně lze takto i vyčíslit možnou úsporu paliva, v různých pracovních režimech motoru.

Závěrem lze konstatovat, že pokud je obsluha traktoru schopna udržet motor v oblasti nejvyššího točivého momentu, kde motor vykazuje nejmenší měrnou efektivní spotřebu, lze docílit snížení spotřeby paliva až o 6,9 % za současného zvýšení efektivní výkonnosti až o 4,6 %. Tato úspora je jistě velice zajímavá nejen z hlediska ekonomického, ale i z hlediska ekologického.

ZÁVĚR

Cílem příspěvku je poukázat na možnosti snižování spotřeby nafty a zvyšování výkonnosti traktorových souprav. Zde konkrétně se jednalo o traktor New Holland T7050, který byl agregován s otočným neseným pětiradličním pluhem HUARD VM 150 5 NS. Během měření byly zaznamenávány do měřicího počítače ze sběrnice CAN Bus otáčky, okamžitá spotřeba a zatížení spalovacího motoru. Dále byl měřen celkový čas, čas na otáčku, hloubka orby a záběr pluhu. Z naměřených hodnot byla vypočtena měrná operativní a efektivní spotřeba nafty a efektivní výkonnost traktorové soupravy. Traktor byl během měření vhodně dotěžován a pracoval tudíž s plnou dávkou paliva. Měření se provádělo nejprve v ekonomické oblasti otáček motoru $1700 - 1800 \text{ min}^{-1}$, oblast A, a v oblasti maximálního výkonu motoru při otáčkách $1850 - 2000 \text{ min}^{-1}$, oblast B. Z naměřených hodnot je zřejmé, že v oblasti B došlo oproti oblasti A k nárůstu měrné efektivní spotřeby o $0,6 \text{ ml.m}^{-3}$ na $8,7 \text{ ml.m}^{-3}$, což představuje zvýšení spotřeby o 7,4 %. Naproti tomu v oblasti A byla zjištěna efektivní výkonnost $1,53 \text{ ha.h}^{-1}$ a v oblasti B $1,46 \text{ ha.h}^{-1}$, což představuje snížení výkonnosti o 4,6 %. Dalším cílem tohoto příspěvku bylo také ukázat, že úsporu paliva v jednotlivých pracovních režimech, lze poměrně přesně dopočítat na základě úplné otáčkové charakteristiky motoru. Kdy naměřené zvýšení průměrné hodinové spotřeby paliva bylo 5,2 %, zatímco vypočítaný nárůst hodinové spotřeby paliva dosahoval 6,9 %.

LITERATURA

Syrový, O a kol., 1997: Orientační hodnoty měrné spotřeby paliva a energie v zemědělství. Metodiky pro zemědělskou praxi. Praha, ÚZPI,č. 7: 45-47.

Dudák, J., Petranský, I., 2002: Vplyv pracovných podmienok a režimov práce na energetickú náročnosť traktorových orbových súprav. Acta Techn. Agric. Univ. Agric. Nitra, č. 4: 90-95.

RESEARCH OF ANAEROBIC FERMENTATION OF ORGANIC MATERIALS IN SMALL VOLUME BIOREACTORS

Trávníček P., Vítěz T., Dundálková P., Karafiát Z.

Department of Agriculture, Food and Environmental Engineering, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: petr.travnicek@mendelu.cz

ABSTRACT

The biotechnology of biogas production is a complicated process because of the service and technology. It demands quality process monitoring with a high-speed response. Because of that there was established a specialized working compartment – The Wholerepublic Reference Laboratory of the Biogas Transformation. The main aim of our laboratory is to provide an expert assistance for the biogas station operators during the optimalization of the used substrates and entry materials. The expert analysis can help operators to reach the maximum feasible production. Currently we are focussed on the monitoring of the bioenzymatic preparation influence on the biogas station operations.

Key words: biogas, laboratory, bacterialconcentrate

Acknowledgements: The project is financed by Skupina ČEZ „Green Energy“: The project number 2007.S044.02 and number 2008.S047.02

ÚVOD

Ústav zemědělské, potravinářské a environmentální techniky na Mendelově zemědělské a lesnické univerzitě v Brně úspěšně zareagoval na zvýšenou poptávku a trend směřující k většímu využívání obnovitelných zdrojů energie. Obnovitelný zdroj energie, který lze považovat za zemědělskému sektoru nejbližší, je výroba bioplynu. Jedná se o anaerobní rozklad substrátů ze zemědělské (např. hnůj, kejda, kukuřičná siláž atd.) a potravinářské výroby (např. výpalky, pokrutiny a další odpady z potravinářské výroby). Pomocí anaerobní fermentace lze zpracovávat i biologicky rozložitelné odpady jako např. vytříděnou biologickou složku komunálního odpadu nebo odpady z kuchyní a jídelen.

Z finančního příspěvku z prostředků projektu „Zelená energie“ Skupiny ČEZ byla na Mendelově zemědělské a lesnické univerzitě v Brně založena Celorepubliková referenční laboratoř bioplynových transformací.

Základním principem anaerobní fermentace je anaerobní rozklad biologicky rozložitelného substrátu na dvě základní složky – bioplyn a vzniklou biomasu. Hlavní složku bioplynu tvoří metan (cca 60 %) a nese využitelnou energii. Další složky jsou oxid uhličitý (cca 39 %) a další plynné látky (cca 1 %), které považujeme za doplňkové. Hlavní fáze bioplynových transformací tvoří hydrolýza, acidogeneze, acetogeneze a metanogeneze a dochází při nich ke štěpení polymerních látek (polysacharidy, tuky a bílkoviny) na látky monomerní (cukry, mastné kyseliny, aminokyseliny). Z těchto monomerů pak vzniká prostřednictvím mikroorganismů bioplyn, který lze energeticky využívat v kogeneračních jednotkách ke kombinované výrobě elektrické energie a tepla.

V současné době jsme díky garantovaným výkupním cenám elektřiny a dotační politice svědky rozmachu ve stavbě bioplynových stanic. Projektování těchto staveb je často založeno pouze na přibližných údajích charakterizujících výtěžky bioplynu z používaných substrátů. Nepřesnosti v projekční fázi potom vedou k odchylkám od plánované produkce bioplynu, špatnému odhadu potřebného výkonu instalované kogenerační jednotky nebo ke špatnému dimenzování fermentačních a skladovacích prostor.

Provozovatel bioplynové stanice se může setkávat s problémy jak na začátku, při projekci stavby, tak během provozu bioplynové stanice. Nejčastějšími provozními problémy je udržení správné teploty v celém objemu fermentoru a poruchy čerpadel následkem jejich nevhodné volby nebo nedostatečnou předúpravou substrátu. Další úskalí představuje biochemie fermentačního procesu. Ve fermentorech se vedle produkce bioplynu sleduje rovněž hodnota pH, která se mění následkem biochemických změn ve fermentoru. Optimální hodnoty pH leží v rozmezí 7,5 – 8,1. Pokud dojde k poklesu pH pod hodnotu 7, hrozí kolaps celého fermentačního procesu. Kolaps systému anaerobní fermentace představuje pro provozovatele ztráty v zastavení produkce bioplynu a v horším případě i náklady, potřebné na vyprázdnění nefunkčního fermentoru. Změna pH je však až sekundárním následkem nestability fermentačního procesu. Počínající nerovnováhu procesu lze charakterizovat i na základě sledování chemických parametrů jako jsou chemická spotřeba kyslíku, sušina, organická sušina, celkový dusík, amonný dusík a především koncentrace nižších mastných kyselin.

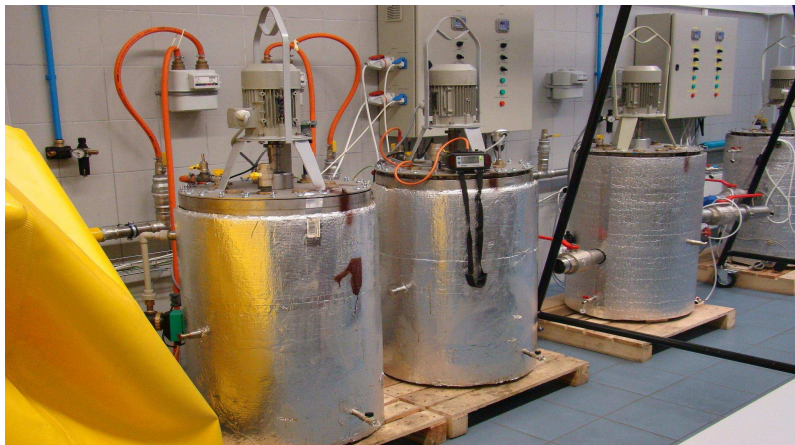
Biotechnologie výroby bioplynu je provozně a technologicky složitý proces, který vyžaduje kvalitní technologii, provozní kázeň obsluhy a kvalitní monitoring procesu s rychlou odezvou. V České

republiky byl a je nedostatek pracovišť a laboratoří, které by provozovatelům bioplynových stanic byly schopny poskytnout servis v podobě konzultací, výzkumu a chemických analýz. Laboratoř bioplynových transformací je v současné době vybavena čtyřmi pokusnými, vsázkovými bioreaktory o objemu 0,1 m³, které jsou určeny k testům plynové výtěžnosti substrátů dávkovaných do bioplynových stanic. Na dovybavení čekají další dva obdobné bioreaktory, které jsou upraveny pro semikontinuální provoz.

Analytická část laboratoře je vybavena a bude dále vybavována přístroji pro získání kvalitních výsledků chemických analýz, na jejichž základě může poskytovat data k optimalizaci procesu bioplynových transformací.

Úkolem laboratoře bioplynových transformací je sběr dat, podpora provozovatelů bioplynových stanic a výzkum v oblasti zefektivnění bioplynových transformací. Tím by měla přispět ke stabilitě provozu bioplynových stanic v České republice a zvyšovat nezávislost na fosilních energetických zdrojích.

Obr. 1 Pokusné fermentory



Zkušenosti s laboratorními pokusy nasvědčují, že to, co v laboratorních podmínkách funguje, nemusí dobře fungovat v reálném provozu bioplynových stanic. Díky spolupráci s Ústavem využití plynu Brno s.r.o. (ÚVP Brno), má pracoviště možnost ověřovat laboratorní výsledky v poloprovozních podmínkách pilotního bioreaktoru na bývalé skládce komunálního odpadu v Brně Černovicích. Bioplynový reaktor má objem 70m³ a je určen k produkci bioplynu s vysokým obsahem metanu (průměrně 63 %). Tento bioplyn je směřován se skládkovým plynem o nízké koncentraci metanu (průměrně 29 %), který je odplyňovacím systémem čerpán z tělesa skládky. Obsah metanu ve směsném plynu, který je odváděn k energetickému využití v kogenerační jednotce, se pohybuje okolo 31 %. Jedná se o první a zatím jedinou realizaci podobného typu v České republice.

Obr. 2 Pilotní zařízení anaerobní fermentace v Brně Černovicích, ÚVP Brno



MATERIÁL A METODIKA

Laboratorní testy s přípravkem APD BIO GAS

V současné době jsou velmi diskutovaným tématem přípravy na biologické bázi, které se přidávají do fermentorů bioplynových stanic pro optimalizaci výroby bioplynu. Naše Celorepubliková referenční laboratoř bioplynových transformací ve spolupráci s firmou BAKTOMA spol. s.r.o. a ATHEA IMPORT spol. s.r.o., nyní testuje nový výrobek APD BIO GAS, který je určený pro využívání v bioplynových stanicích.

Popis přípravku

Přípravek APD BIO GAS je nový bio-enzymatický přípravek pro optimalizaci výkonu bioplynových stanic a následné odstranění zápachu stabilizovaného materiálu po fermentaci. Je to směs bakteriálních kultur, enzymů a živin, které posilují a zrychlují v přírodě vlastní biodegradční proces. V přirozeném životním prostředí mají jak bakterie, tak i enzymy (katalyzátory rozkládající makromolekuly) významnou roli v procesu biologického odbourávání. Výsledkem působení přípravku v bioplynových stanicích by mělo být lepší, účinnější a rychlejší rozklad biomasy (exkrementy zvířat, fytomasa – senáž, kukuřičná siláž, vybrané části rostlin, odpady ze zpracovatelského a potravinářského průmyslu nebo např. masokostní moučka). Pravidelným denním dávkováním přípravku APD BIO GAS by mělo docházet k účinnější metanogenezi a k navýšení množství produkovaného bioplynu. Zároveň by měl přípravek omezovat zápach.

Bakteriální koncentrát APD BIO GAS není geneticky manipulován nebo měněn. Vyskytuje se přirozeně v prostředí (v půdě, vodě). Je bezpečný, stabilní, nepatogenní a netoxický. Má povahu fakultativní, to znamená, že je schopen růstu za přítomnosti i nepřítomnosti kyslíku. Přípravek je silným producentem enzymů a při tom neobsahuje žádné salmonely.

Laboratorní test

Laboratorní test jsme prováděli srovnáním výsledků ve dvou pokusných fermentorech o objemech 0,1 m³. V obou fermentorech probíhal proces anaerobní fermentace současně, za stejných podmínek a se stejným vstupním materiálem. Do jednoho reaktoru bylo pravidelně, po dobu 10 dnů, přidáváno 100 ml vodného roztoku aktivovaného přípravku APD BIO GAS v určité koncentraci a do druhého pro zachování poměru 100 ml vody. Sledovali jsme a vyhodnocovali množství a složení vzniklého plynu, teplotu a hodnotu pH. Jako vstupní substrát byla použita kejda s kukuričnou siláží odebraná z homogenizační jímky farmářské bioplynové stanice. Test byl proveden v několikopakováních. V současnosti probíhá v laboratoři další opakování testu s upravenými dávkami přípravku APD BIO GAS.

Obr. 3 Dávkování přípravku APD BIO GAS



VÝSLEDKY A DISKUZE

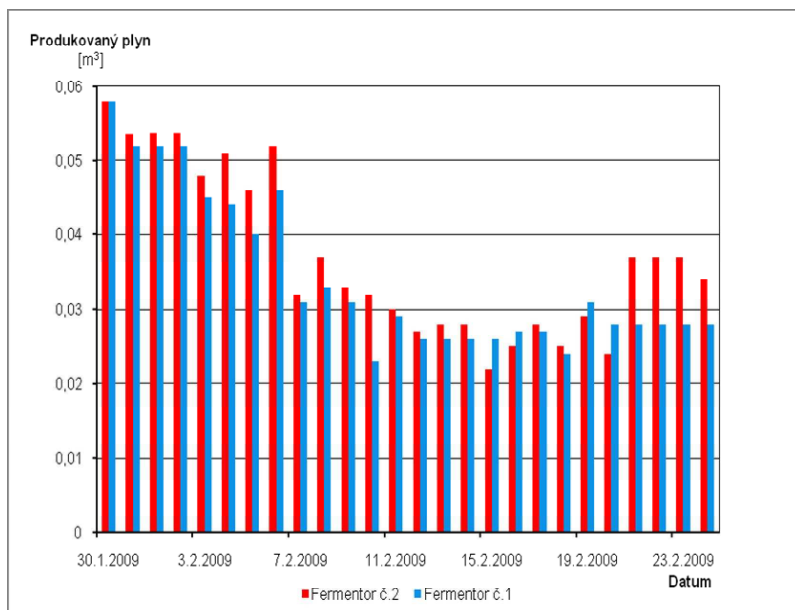
Naměřené hodnoty, resp. jejich průměrné hodnoty jsou uvedeny v tab. 1. Z uvedených výsledků je patrné, že pokud srovnáme proces anaerobní fermentace s přidávkou přípravku ABD BIO GAS a bez přidávky, tak největší rozdíl vidíme v celkové produkci plynu. Celková produkce plynu z fermentoru

č. 2, tedy s bio-enzymatickým přípravkem, je o 7 % vyšší, než v procesu, který probíhá za běžných podmínek. Porovnání denní produkce plynu v m³ je názorně zobrazeno i v grafu 1. Ze sledovaných hodnot lze vyvodit závěr, že přípravek pozitivně ovlivňuje množství vzniklého plynu, ale na složení plynu nemá významný vliv.

Tab. 1 Výsledek sledovaných parametrů v průběhu testu

Sledované parametry	Fermentor č. 1	Fermentor č. 2 s přípravkem
teplota materiálu [°C]	40	39,5
pH	7,65	7,80
denní produkce plynu [m ³]	0,03454	0,03696
celková produkce plynu [m ³]	0,898	0,961
složení plynu:		
– CH ₄ [%]	55,90	56,53
– CO ₂ [%]	44,1	43,47
– H ₂ S [ppm]	0	0

Graf 1 Porovnání denní produkce plynu



ZÁVĚR

Bioplyn má v rámci produkce energie z obnovitelných zdrojů nezastupitelný význam. Úkolem laboratoře bioplynových transformací je sběr, zpracování a vyhodnocení dat, tak aby bylo možno provádět kvalitní výzkum v dané oblasti. Poznatky zjištěné z výzkumu by měly primárně sloužit jako

informační podpora vlastníkům a provozovatelům bioplynových stanic, kteří by mohli na základě našich poznatků zefektivnit své technologie a přispět tak ke stabilitě provozu bioplynových stanic v České republice a tím zároveň ke zvyšování nezávislosti na tradičních energetických zdrojích.

Na základě provedených testů s bioenzymatickým přípravem APD BIO GAS lze říci, že tento produkt pozitivně ovlivňuje celkovou produkci plynu v anaerobním procesu, ale nemá významný vliv na složení vzniklého plynu. Pro vyvození relevantních závěrů je však nezbytně nutné testy opakovat a vytvořit tak širší spektrum dat, ze kterých bude jednoznačně možno určit jak dávkování bioenzymatických přípravků může ovlivnit provoz bioplynových stanic. Ve sledování vlivu bioenzymatických přípravků na provoz bioplynových stanic pokračujeme a již nyní probíhají experimenty s upravenou koncentrací přípravku. Také připravujeme sérii testů s různými druhy vstupních substrátů, aby bylo možno potvrdit vliv těchto přípravků na celou škálu substrátů používaných v praxi.

LITERATURA

- [1] SCHULZ, Heinz , EDER, Barbara. *Bioplyn v praxi*. 1. vyd. Ostrava: HEL, 2004. 168 s. ISBN 80-86167-21-6.
- [2] STRAKA, František. *Bioplyn*. 2. rozš. vyd. Praha: GAS s.r.o., 2006. s. 9-338. ISBN 80-7328-090-6.

DIAGNOSTICS OF A HYDRAULIC PUMP STATUS USING ACOUSTIC EMISSION

Varner D., Černý M., Mareček J.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: info@davar.cz

ABSTRACT

Presented article describes status evaluation of a hydraulic pump used in a aircraft construction. Acoustic emission (AE) signals have been monitored both for new and used hydraulic pump. Two significant parameters have been taken into account: RMS and values of PSD fiction for individual AE events. The AE monitoring method has proven significant changes of RMS and minor changes of PSD function between the new and the used hydraulic pump.

Key words: acoustic emission, hydraulic pump, aircraft construction

ÚVOD

Nové a použité hydraulické zubové čerpadlo bylo podrobeno řadě diagnostických měření. Jako nedestruktivní diagnostická metoda byla použita metoda měření akustické emise. Ta se v leteckém průmyslu používá převážně při únavových zkouškách, kdy se většinou skutečné provozní situace (vzlet, přistání, turbulentní proudění) simulují pomocí silových zatížení konstrukce letounu či jeho částí. Měření akustické emise pak pomáhá určit místo iniciace únavové trhliny a její progresi, čímž poskytuje jeden z podkladů pro případnou implementaci nových či vylepšených konstrukčních řešení. Dalším krokem v pokračujícím výzkumu hydraulických zařízení leteckých konstrukcí by mohlo být navržení metodiky pro hodnocení stavu hydraulických čerpadel, například pomocí klasifikace LPG zásobníků měřením akustické emise.

MATERIÁL A METODIKA

Cílem experimentu bylo posouzení opotřebením hydraulického zubového čerpadla na základě výsledků měření akustické emise. Spolu s údaji dalších diagnostických metod bude možné určit míru opotřebenění a pravděpodobnost selhání za určitých provozních podmínek. Měření bylo prováděno při dvou hodnotách otáček čerpadla (30 a 50 Hz) a při dvou typických tlacích (12 a 20 MPa). Úkolem měření signálu akustické emise bylo nalézt případné významné rozdíly mezi jeho parametry (RMS a PSD) u nového a použitého hydraulického zubového čerpadla.

Akustická emise

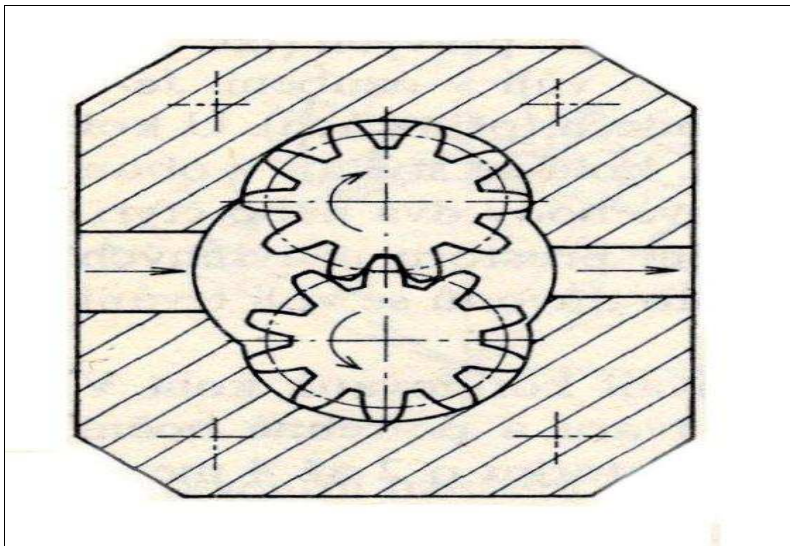
Fyzikální jev, při kterém plastickou deformací kovů doprovází akustické popraskávání či akustický šum emitovaný uvnitř materiálu v průběhu plastické deformace. Dle názvosloví normy CSN EN 1330-9 akustickou emisí nazýváme elastické napětíové vlny generované dynamickým uvolněním mechanického napětí uvnitř materiálu nebo procesem působícím vznik elastických napětíových vln na povrchu tělesa. Metodou akustické emise nazýváme metodu detekce akustické emise, následně elektronické zpracování detekovaného signálu akustické emise a konečně též vyhodnocení parametrů detekovaného signálu akustické emise. První systematické práce jsou datovány do 50. let 20. století. Celý proces vzniku a detekce akustické emise zahrnuje několik fází: událost zdroje akustické emise, šíření napětíových vln od zdroje ke snímači, detekce napětíových vln snímačem a převod na elektrický signál a konečně vyhodnocení výsledného elektrického signálu akustické emise měřicím systémem. [1]

V technické diagnostice je metoda akustické emise používána především při diagnostice rotačních objektů (tření a kavitace u ložisek, převodovek aj.), při detekci a lokalizaci vznikajících mikrotrhlin a jejich šíření, rozevírání a svírání ve stěnách tlakových nádob a potrubních systémů, u leteckých konstrukcí, mostů apod. Metoda akustické emise se také využívá při únavových materiálových zkouškách nebo destruktivních testech. Výhodou akustické emise oproti jiným defektoskopickým metodám je kontinuální monitorování objektu a úspora času v porovnání s postupným testováním jinými metodami. Nevýhodou této metody je, že příčinu vzniku akustické vlny přesně neznáme, neboť uvolněná energie je ovlivňována řadou faktorů jako je tvar a povrch tělesa, přenosová cesta vlny daná strukturou a homogenitou materiálu apod. [2]

Hydraulická zubová čerpadla

Na následujícím obrázku je zjednodušený řez typickým hydraulickým zubovým čerpadlem s vyznačenými směry proudění transportované kapaliny a pozicí zubů při provozu.

Obr. 1 Zjednodušený řez hydraulickým zubovým čerpadlem s mezizubními prostory a směry proudění kapaliny. [3]



Hlavní součástí zubových čerpadel je dvojice spoluzabírajících ozubených kol uložených v příslušném vybrání tělesa čerpadla. Pracovní prostor tvořený zubovými mezerami kol je ohraničen zuby kol, plochami radiálně a axiálně přiléhajícími k ozubeným kolům a stykem zubů v záběru. Funkce hydraulického zubového čerpadla je následující: kapalina je nasávána do vstupního (sacího) prostoru podtlakem vznikajícím cyklickým zvětšováním objemu vstupního prostoru při otevírání zubových mezer tak, jak vycházejí jednotlivé zuby ze záběru. Potom postupuje v zaplněných zubových mezerách po obvodu kol do výstupního prostoru. Výstupní prostor je vůči vstupnímu prostoru těsněn malou radiální a axiální vůlí kol v tělese čerpadla (zuby tvoří vícenásobné labyrintové těsnění) a záběrem zubů. Hydraulická zubová čerpadla jsou v moderních hydraulických systémech široce využívána kvůli svému vysokému výkonu, dlouhé životnosti a nízkým nákladům na pořízení a provoz. Soustavným vývojem bylo docíleno vysokých pracovních tlaků, vynikající objemové účinnosti a nízké hlučnosti. [4]

Předpoklady vzniku akustické emise u zkoušeného čerpadla

Akustická emise při provozu hydraulického zubového čerpadla vzniká nejpravděpodobněji při kontaktu zubů kol čerpadla a v důsledku anomálního průběhu proudění kapaliny v mezizubních prostorech. Průběh kontaktu jednotlivých zubů a četnost vznikajících událostí akustické emise jsou závislé

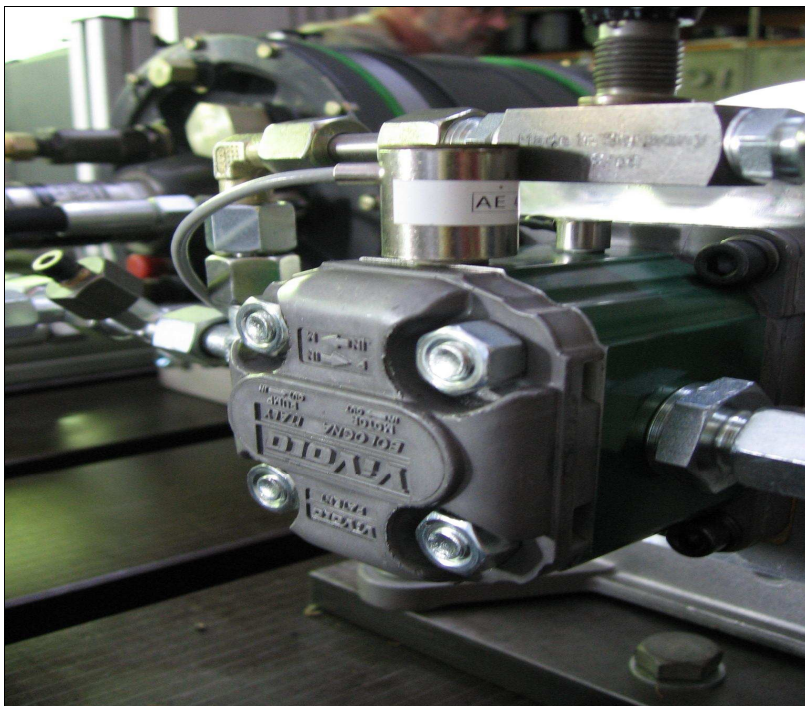
na rychlosti otáčení ozubených kol čerpadla. Při měření akustické emise u hydraulického zubového čerpadla byly sledovány dvě frekvence otáčení: 30 Hz (1800 ot/min) a 50 Hz (3000 ot/min).

Při opotřebením vnitřních ploch ozubených kol a zvýšení netěsností dochází k nedokonalému plnění mezizubních prostor. V kapalině transportované po obvodu zubového čerpadla poté dochází ke krátkodobým variacím tlaku a rychlosti spojenými případně se vznikem turbulentního proudění. V extrémních případech může dojít i ke vzniku kavitace projevující se rázy a nerovnoměrným chodem čerpadla. V případě měření akustické emise tyto jevy způsobují zvýšení počtu a mohutnosti událostí akustické emise.

Uspořádání měřicí sestavy

V rámci tohoto experimentu bylo posuzováno opotřebením zubového hydraulického čerpadla z hliníkové slitiny typu XV1P/0.9 od společnosti Rerosa. Měření akustické emise bylo provedeno dne 3. 6. 2008 pomocí aparatury Dakel XEDO a piezoelektrického snímače Dakel AE. Akustické emise byla měřena u použitého a nového hydraulického zubového čerpadla. Snímač byl v obou případech přilepen na horní plochu pouzdra čerpadla. Kontakt snímače akustické emise s pouzdrům čerpadla byl zajištěn pomocí sekundového lepidla (viz obrázek 2).

Obr. 2 Piezoelektrický snímač akustické emise na zkoušeném čerpadle. Foto D. Varner.



Signály akustické emise generované při běhu čerpadla byly snímány a vyhodnocovány analyzátozem XEDO s deskou AE 3.0 od společnosti DAKEL ZD Rpety. Jedná se o výkonný vícekanálový systém pro analýzu signálů akustické emise umožňující vzorkování a ukládání naměřených dat na disk řídicího PC. Deska analyzátoru pokrývá frekvenční rozsah přibližně 80 – 550 kHz. Data z analyzátoru Dakel XEDO byla odesílána přes rozhraní Ethernet do řídicího PC, kde byly v softwaru Daemon sledovány měřené parametry a data byla ukládána na disk pro následné vyhodnocení (viz následující obrázek).

Obr. 3 Řídicí PC se spuštěným softwarem Dakel Daemon, za ním analyzátor Dakel XEDO a v pozadí sestava hydraulického okruhu se zkoušeným hydraulickým zubovým čerpadlem. Foto D. Varner.



Měření parametry akustické emise

Při měření akustické emise bylo sledováno RMS signálu akustické emise, počty překmitů C1 a C2 a maxima PSD událostí akustické emise. Tyto parametry jsou stručně charakterizovány následovně:

- ❑ **RMS signálu** (z anglického Root Mean Square) označuje tzv. efektivní hodnotu signálu. U střídavého napětí je RMS rovno hodnotě stejnosměrného napětí, které by při přiložení na odporovou zátěž dávalo stejný průměrný výkon. Jednotkou RMS je V. tato hodnota odpovídá o kvantitativní charakteristice naměřených událostí akustické emise (množství energie).
- ❑ **Funkce PSD** událostí akustické emise (z anglického Power Spectral Density) označuje spektrální výkonovou hustotu. Je to veličina, která udává rozložení výkonu ve frekvenční oblasti. Jednotkou funkce PSD je mW/Hz nebo při logaritmickém vyjádření dBm/Hz. U grafů funkce PSD je významná mj. maximální hodnota (peak, extrém), který označuje

frekvenci, pomocí níž je přenesena největší část výkonu signálu. Transformace signálu z časové do frekvenční oblasti byla prováděna interně pomocí okna Hanning. Tato hodnota charakterizuje vzorky jednotlivých událostí akustické emise a podává přehled o frekvenčních složkách signálu.

Průběh měření akustické emise

Pro měření akustické emise byla použita metodika srovnávacího měření. Akustická emise byla měřena pro nové i opotřebované hydraulické zubové čerpadlo XV1P/0.9 při dvou hodnotách otáček čerpadla (30 a 50 Hz) a při dvou typických plnicích tlacích (12 a 20 MPa). Kalibrace snímače akustické emise a analyzátoru Dakel XEDO byla provedena na základě Pen Testu s tuhou 0,5 mm a certifikovaným adaptérem.

Nejprve bylo testováno nové hydraulické zubové čerpadlo. Po provedení měření bylo toto čerpadlo demontováno z hydraulického okruhu a nahrazeno čerpadlem použitým. Měření akustické emise proběhlo u každého čerpadla po dobu 1 minuty pro každou kombinaci provozních podmínek.

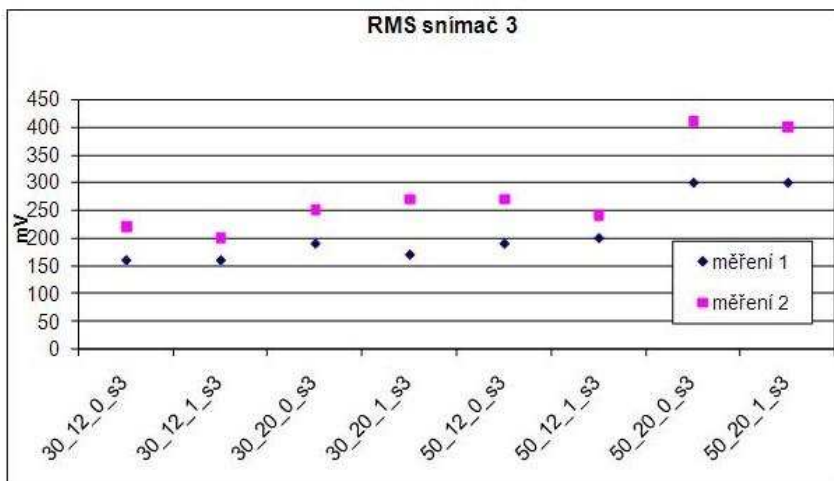
VÝSLEDKY PRÁCE A DISKUSE

Během provozu nového a použitého hydraulického zubového čerpadla XV1P/0.9 byly vyhodnocovány 2 parametry signálů akustické emise: RMS signálu a funkce PSD událostí akustické emise.

RMS signálu akustické emise

U použitého čerpadla došlo ve všech sledovaných provozních režimech k výraznému nárůstu RMS signálu akustické emise oproti novému hydraulickému zubovému čerpadlu o 25 až 58 %, viz obrázek 4.

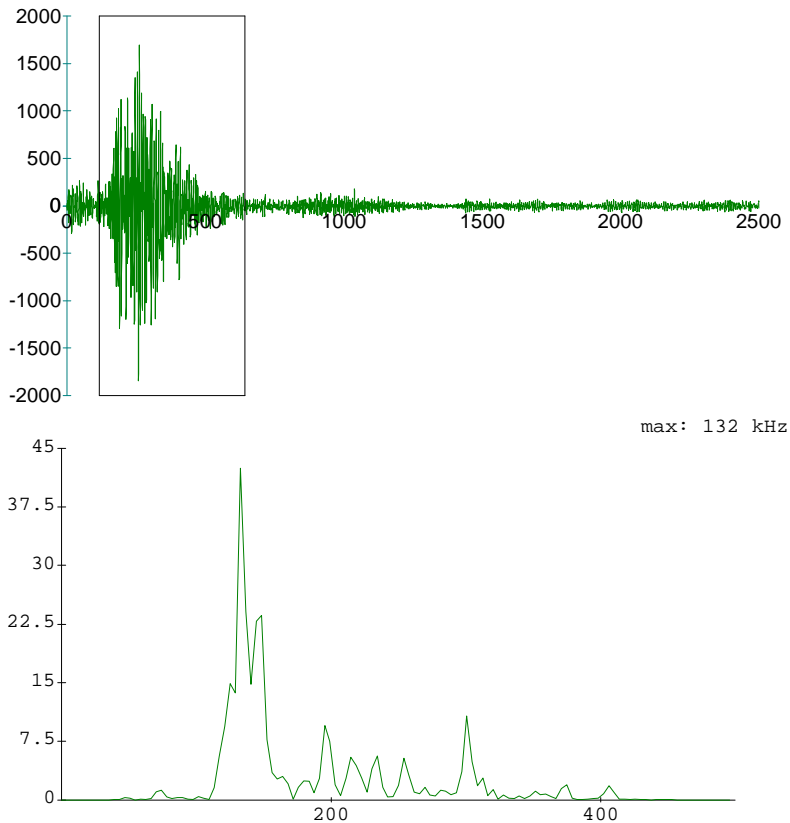
Obr. 4 Hodnoty RMS signálu akustické emise u nového čerpadla (měření 1) a použitého čerpadla (měření 2) při různých konfiguracích otáček a tlaku.



Funkce PSD událostí akustické emise

Maxima funkce PSD se nachází v oblasti 120 kHz – 320 kHz. U použitého čerpadla došlo k zvýšení mohutnosti akustické emise při vyšších frekvencích. Výraznější posun frekvence maxima funkce PSD oproti novému čerpadlu však nebyl jednoznačný.

Obrázek 5: Ukázka typického grafu funkce PSD (konfigurace 30_12, použité čerpadlo)



ZÁVĚR

Stav hydraulického zubového čerpadla byl sledován měřením akustické emise za provozních podmínek specifikovaných otáčkami a tlakem v hydraulickém okruhu.

Při měření akustické emise byly vyhodnocovány 2 parametry: RMS signálu a funkce PSD událostí akustické emise. U použitého čerpadla došlo ve všech sledovaných provozních režimech k výraznému nárůstu RMS oproti novému hydraulickému zubovému čerpadlu. Průběhy funkcí PSD událostí

akustické emise zjištěné při provozu nového a použitého čerpadla neumožnily jednoznačné posouzení stavu čerpadla. Stav zubového čerpadla za provozu proto doporučujeme stanovit měřením RMS signálu akustické emise.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] KOPEC, Bernard. *Nedestruktivní zkoušení materiálů a konstrukcí: Nauka o materiálu IV*. 1. vyd. Brno : Akademické nakladatelství CERM, s. r. o., 2008. 571 s. ISBN 978-80-7204-591-4.
- [2] KREIDL, Marcel, ŠMÍD, Radislav. *Technická diagnostika*. 1. vyd. Praha : Nakladatelství BEN - technická literatura, 2006. 406 s. ISBN 80-7300-158-6.
- [3] PIVOŇKA, Josef, et al. *Tekutinové mechanismy*. 1. vyd. Praha : SNTL - nakladatelství technické literatury, 1987. 624 s.
- [4] *Katalog čerpadel Bucher* [online]. 2001 , 06.02 [cit. 2009-03-25]. Soubor PDF obsahující specifikace hydraulických čerpadel Bucher. Angličtina. Dostupný z WWW: <http://www.hydrocom.cz/doc/ap_200_p_991218_e_001.pdf>.
- [5] VARNER, David. Znalecký posudek na posouzení stavu hydraulického čerpadla . [s.l.], 2009. 27 s. , 1 Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. Program ICV: Technické znalectví a likvidace pojistných událostí. Vedoucí absolventské práce prof. Ing. Jan Mareček, DrSc.

PODĚKOVÁNÍ

Autoři článku děkují doc. Ing. K. Třetinovi, CSc. za odborné připomínky z oblasti hydraulických systémů letadel a společnosti Dakel ZD Rpety za instrumentaci experimentu.

Name of publication:	MendelNet'09 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. Vít Mareček; Ing. Ivo Vyskočil.
Number of pages:	836
Publisher:	Mendel University in Brno, Faculty of Agronomy Zemědělská 1, 613 00 Brno Czech Republic
ISBN:	978-80-7375-352-8

Contributions are published in original version, without any language correction.

www.af.mendelu.cz/mendelnet