



Faculty
of Agronomy

Mendel⁰
Net¹
⁰
²



Mendel
University
in Brno

Proceedings of
International Ph.D. Students Conference
November 24th, 2010
Brno, Czech Republic

MENDEL UNIVERSITY IN BRNO

Faculty of Agronomy



Proceedings of International Ph.D. Students Conference

2010, November 24th

BRNO

MendelNet 2010

Published by:

Faculty of Agronomy
Mendel University in Brno

Editor-in-Chief

Ing. Petr Škarpa, Ph.D.

Review Editors

Assoc. Prof. Ing. Pavel Ryant, Ph.D.
Ing. Radim Cerkal, Ph.D.

Technical Editors

Ing. Jaromír Kovárník
Ing. Vít Mareček
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 2010

Brno, Czech Republic

2010, November 24th

Organizer

Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno

Acknowledgement:

The Conference MendelNet 2010 was realized thanks to:
the special fund for the specific university research according to the Act about the support of the research, the experimental development and innovation granted by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic

and

the support of the Research Plan No. MSM6215648905 "Biological and technological aspects of sustainability of controlled ecosystems and their adaptability to climate change" funded by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

Sources of cover illustrations:

<http://www.research.ibm.com/people/d/dfb/screensavers/cow.jpg>,

<http://www.drvara.com/images/lab.jpg>,

http://www.pfahnl.cz/uploads/tx_artworxsormentliste/goldperle.jpg.

ISBN: 978-80-7375-453-2

Scientific Committee

Assoc. Prof. Ing. Josef Filípek, CSc.
Prof. RNDr. Bořivoj Klejdus, Ph.D.
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

Assoc. Prof. Ing. Pavel Ryant, Ph.D.
Ing. Petr Škarpa, Ph.D.
Mgr. Marie Konečná, Ph.D.
Ing. Radim Cerkal, Ph.D.
Ing. Gabriela Růžičková, Ph.D.
Ing. Petr Sláma, Ph.D.
Ing. Ivo Vyskočil

Secretariat

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

Reviewers

Ing. Gabriela Růžičková, Ph.D.
Ing. Petr Mareš
Ing. Petr Hlavinka, Ph.D.
Ing. Miroslav Jůzl, Ph.D.
Nagavalli Subbanna Kiran, Ph.D.
Ing. Petr Sláma, Ph.D.
Ing. Josef Los, Ph.D.
RNDr. Vojtěch Adam, 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 2010 Conference** is an ideal form for scientific survey acquirement in a given specialization.

Prof. Ing. Ladislav Zeman, CSc.

Dean of FA MENDELU

Contents

Section Plant Production

SIZE MEASUREMENTS OF ALFALFA ROOT SYSTEM UNDER AGRICULTURAL TREATMENTS USING ELECTRIC CAPACITY	
ESMAIL AL-M., JÚZL M.	17
WATER CONSUMPTION AND BIOMASS YIELDS RELATION IN SHORT ROTATION POPLAR COPPICE	
FISCHER M., TRNKA M., KUČERA J., ŽALUD Z.	25
ASSESSMENT OF ACHENES GERMINATION OF SPECIES <i>TARAXACUM OFFICINALE</i> AND <i>TUSSILAGO FARFARA</i>	
FRANTIŠÁKOVÁ L., WINKLER J.	34
EVALUATION OF ROOT SYSTEM CHARACTERISTICS BY MEASUREMENT OF ELECTRICAL CAPACITY AND IMAGE ANALYSIS	
HAJZLER M., STŘEDA T., KLIMEŠOVÁ J.	48
THE CHANGE UTILISATION <i>SORGHUM BICOLOR</i> FOR PRODUCE OF BIOGASS	
HODOVAL J., PULKRÁBEK J.	56
EFFECT OF FERMENTED MANURE BY FLY CADDICES ON SELECTED SOIL PARAMETERS	
JANČICH M., KOVÁČIK P.	62
BALANCE OF NITROGEN AND MAGNESIUM IN INTEGRATED AND ECOLOGICAL FARMING SYSTEMS	
KAJANOVIČOVÁ I., LOŽEK O.	67
FILAMENTOUS FUNGI IN GRAIN MAIZE HYBRID (<i>ZEA MAYS</i> L.)	
KMOCH M., ŠAFRÁNKOVÁ I., KRÉDL Z., POLIŠENSKÁ I., POKORNÝ R.	73
MOLECULAR DETECTION OF VIRAL PATOGENS IN GENERA <i>CANNA</i> AND <i>HOSTA</i> IN THE CZECH REPUBLIC	
KOLÁČKOVÁ A., ŠAFRÁNKOVÁ I., HOLKOVÁ L.	80
DIFFERENCES OF RELATIVE AIR HUMIDITY IN SELECTED STAND SITES	
KRÉDL Z., STŘEDA T., POKORNÝ P., KMOCH M.	91
EFFECT OF DIFFERENT TILLAGE AND STRAW MANAGEMENT ON THE YIELD OF WINTER WHEAT	
MIKEL O., SMUTNÝ V., PROCHÁZKOVÁ B.	99
THE CROP ROTATION INFLUENCE OF THE WEED INFESTATION AT THE SPRING BARLEY CROP	
NEISCHL A., ZELENÁ V., WINKLER J.	104
THE INFLUENCE OF THE VARIOUS CEREALS STRAW FARMING ON A WEED INFESTATION	
PIŠŤÁK M., WINKLER J.	111

EFFECT OF FERTILISATION AND TERM OF HARVEST ON THE STRUCTURE OF THE MEADOW STAND	
RAUS J., HRABĚ F., KNOT P.	122
OCCURRENCE OF GARLIC'S PESTS IN THE AREA OF SOUTH-EAST MORAVIA AND CONTROL POSSIBILITIES	
SAPÁKOVÁ E., ŠEPROVÁ H.	131
VIRULENCE OF ISOLATES OF <i>COLLETOTRICHUM ACUTATUM</i> TO SELECTED HOST PLANTS AND DETECTION OF ISOLATES BY PCR	
STAŇKOVÁ B., VÍCHOVÁ J., POKORNÝ R., HRUDOVÁ E., HOLKOVÁ L.	137
THE EFFECT OF NITROGEN APPLICATION DATE ON YIELD AND QUALITY OF MALTING BARLEY GRAIN	
SYROVÁ H., RYANT P.	146
EFFECT OF WATER DEFICIENCY ON YIELD AND FOOD QUALITY OF WINTER WHEAT.	
ŠIPLÁKOVÁ T., HRSTKOVÁ P.	154
RESISTANCE OF POLLEN BEETLE (<i>MELIGETHES AENEUS</i>) IN DIFFERENT LOCALITIES TO PYRETHROIDS OF SOUTHERN MORAVIA	
TÓTH P., HRUDOVÁ E.	163
NITROGEN NUTRITION OF OILSEED RAPE	
VARGA P., DUCSAY L.	172
ASSESSMENT OF WEED SPECTRUM IN ORNAMENTAL NURSERY-GARDENS	
ZAHRAJ P., WINKLER J.	178

Section Animal Production

EFFECT OF PARITY AND LACTATION STAGE ON MILK FLOW CHARACTERISTICS OF HOLSTEIN DAIRY COWS	
ANTALÍK P., STRAPÁK P.	189
DIGESTIBILITY NUTRIMENTS FEEDING RATIIONS OF DAIRY COWS WITH REFERENCE TO FORM ZINC	
BALABÁNOVÁ M., HOŠKOVÁ Š., ZEMAN L.	196
COMPARISON OF FOUR DILUENTS FOR CRYCONSERVATION OF BULL SEMEN AND THEIR EFFECT ON SPERM SURVIVAL	
BERAN J., STÁDŇÍK L., DUCHÁČEK J., LOUDA F.	204
THE EFFECT OF DIETS WITH NUPRO® (FUNCTIONAL PROTEIN FROM YEAST) ON INITIAL REARING OF LARVAL TENCH (<i>TINCA TINCA</i> L.)	
CILEČEK M., GULAS J., BRABEC T., MAREŠ J.	222
IMPROVING OF AN <i>IN VITRO</i> METHOD TO ESTIMATE DEGRADATION RATE OF SMALL PARTICLES OF STARCH	
ČERMÁKOVÁ J., DOLEŽAL P., KUDRNA V.	211

THE EFFECT OF AGE ON DOG SEMEN QUALITATIVE PARAMETERS	
DOLEŽELÍK R., VÁGENKNECHTOVÁ M., HOŠEK M., MÁCHAL L.	229
RELATIONSHIP OF CITRIC ACID CONTENT AND BODY CONDITION TO FAT / PROTEIN RATIO IN MILK AS INDICATORS OF NEB	
DUCHÁČEK J., BERAN J., STÁDNIK L., VACEK M., ŠTOLC L.	234
THE INFLUENCE OF THE GROWING SEASON DURATION OF SORGHUM AND SUDAN GRASS HYBRIDS ON THE CHEMICAL COMPOSITION AND DIGESTIBILITY OF ORGANIC MATTER	
DVOŘÁČKOVÁ J., DOLEŽAL P., DVOŘÁČEK J.	242
CATEGORIZATION OF CROWDING BEHAVIOUR IN DAIRY COWS DURING SUMMER PERIOD	
ERBEZ M., FALTA D., CHLÁDEK G.	247
PORK MEAT ENRICHED WITH ORGANIC SELENIUM AND ITS EFFECT ON TOTAL ANTIOXIDANT STATUS IN HUMANS	
GAJDOŠOVÁ L., BOBČEK B.	253
COMPARISON OF THE INFLUENCE OF ORGANIC AND ANORGANIC FORM OF ZINC AND MANGANESE ON THE QUALITY AND QUANTITY OF THE EJACULATE OF BOARS	
HORKÝ P., JANČÍKOVÁ P., ZEMAN L.	259
RELATIONSHIP OF FEED ADDITIVES TO BLOOD FORMATION AND PERFORMANCE OF HORSES	
JANČÍKOVÁ P., HORKÝ P., ZEMAN L.	265
OPTIMIZATION OF PHOSPHORUS RETENTION FROM THE FEED BY BROILER CHICKENS ORGANISM USING PHYTASE	
KLIMENT M., ANGELOVIČOVÁ M.	271
USE OF HORSES IN THE MOUNTED POLICE	
KRÁLOVÁ B., JISKROVÁ I., SOBOTKOVÁ E.	275
MODEL OF NUTRIENT BALANCE IN GROWING PIGS IN RELATION TO „CARBON FOOTPRINT“	
KROBOT R., ZEMAN L.	278
UTILIZATION OF ORGANIC AND INORGANIC FORMS OF SELENIUM IN RATS	
LOHNISKÝ A., MAREŠ P., KROBOT R., ZEMAN L.	287
STUDY OF RELATIONS BETWEEN TOTAL MIXED RATION COMPOSITION AND OCCURRENCE FREQUENCY OF LAME COWS	
PAROULEK J., DOLEŽAL P.	292
INFLUENCE OF SEX AND AGE ON THE PERFORMANCE OF HORSE IN WESTERN DISCIPLINES	
PETLACHOVÁ T., JISKROVÁ I., PÍŠOVÁ M., SOBOTKOVÁ E.	297

EVALUATION OF BASIC BODY MEASURE TO MOVEMENT OF THE WELSH PONIES AND COBS	
PÍŠOVÁ M., JISKROVÁ I.	302
DYNAMIC OF CHANGES IN DAILY MILK YIELD AND BASIC MILK COMPOSITION IN EWES DEPENDING ON PARITY AND LITTER SIZE	
POKORNÁ M., KUČTÍK J.	307
THE INFLUENCE OF HYBRID, LOCALITY AND SILAGE PREPARATION ON THE NEUTRAL DETERGENT FIBER DIGESTIBILITY OF MAIZE SILAGE	
POŠTULKA R., DOLEŽAL P.	313
ECONOMICALLY EFFECTIVE ALTERNATIVES TO SOYBEAN MEAL IN BROILER NUTRITION	
RADA V., LICHOVNÍKOVÁ M.	320
ENZYMES IN LAYING HENS NUTRITION AND THEIR INFLUENCE ON THE PERFORMANCE, ENERGY AND MINERAL COMPOSITION OF EGGS OF LAYERS FED DIET WITH HIGHER CONTENT OF NON-STARCH POLYSACCHARIDES	
RUŽSÍKOVÁ E., HORŇIAKOVÁ E., GÁLIK B.	325
GROWTH OF STERLET <i>ACIPENSER RUTHENUS</i> EMBRYOS AND LARVAE UNDER CONTROLLED CONDITIONS	
RYBNÍKÁR J., MAREŠ J., PROKEŠ M.	333
THE EFFECT OF FREQUENCY OF SEMEN COLLECTION ON DOG SEMEN QUALITATIVE PARAMETERS	
VÁGENKNECHTOVÁ M., MÁČAL L., HOŠEK M., FILIPČÍK R.	341
INFLUENCE OF YEAR AND NUMBER OF LACTATION ON MILK PRODUCTIVITY OF COWS CZECH FLECKVIEH BREED	
VEČEŘA M., FALTA D.	347
DOG BEHAVIOR ON WALKS	
VIZIOVÁ P., ŘEZÁČ P., BRANDA M.	353
SUMMER TEMPERATURES OF COW BARN MICROCLIMATE AND THEIR EFFECT ON MILK PRODUCTION OF DAIRY COWS	
ZEJDOVÁ P., WALTEROVÁ L., FALTA D., CHLÁDEK G.	362
EFFECT OF ADDITIVES ON THE QUALITY OF FERMENTATION AND AEROBIC STABILITY OF CORN SILAGE	
ŽVÁČKOVÁ P., DOLEŽAL P.	369

Section Agroecology

IMPACT OF THE PROBIO ORIGINAL™ (EM-FARMING™) ON THE COMPOSTING PROCESS OF THE BIODEGRADABLE WASTE	
HLISNIKOVSKÝ L., KOTVICOVÁ J.	376

RESEARCH OF SUSTAINABLE FOREST MANAGEMENT IN MEDITERRANEAN AREA	
JAKEŠOVÁ L., VALLS P., VALLÉS M., GALIANA F.	384
OIL MINING IN SOUTHERN MORAVIA-CASE STUDY OF DAMBOŘICE	
LIPOVSKÁ Z., KNIEZKOVÁ T.	391
RESEARCH INTO THE USE OF BIODEGRADABLE WASTE	
MRKVIC A M.	402
SEASONAL VARIABILITY OF WINDBREAK AFFECTIVITY AND THEIR OPTICAL POROSITY	
MUŽÍKOVÁ B., JAREŠ V.	412
RURAL SOUTH MORAVIAN RAVINE-CASE STUDIES MICROREGION MODRÉ HORY	
NÁPLAVOVÁ M.	427
SOUTH MORAVIAN SMALL TOWNS AS DRIVING FORCE OF RURAL DEVELOPMENT-CASE STUDY TIŠNOV	
NOVOTNÁ K.	445
EVALUATION OF THE ANTROPOGENETIC CHANGES IN LANDSCAPE ON EXAMPLE OF DIAKOVCE CADASTRAL TERRITORY	
PÁKOZDIOVÁ M., TRNKA P.	453
THE PLAN OF ANTIEROSION MEASURES IN THE AREA OF UHERSKÉ HRADIŠTĚ	
SOCHOREC M., KNOT P.	469
EVALUATION OF HEAVY METALS CONTENT IN SOIL AND HARVESTED PRODUCTION IN ENVIRONMENTALLY UNLOADED AREA OF CENTRAL SLOVAKIA	
SZABÓOVÁ G., TOMÁŠ J., BONČÍKOVÁ D., BAJČAN D.	483
ASSESSMENT OF EFFECTIVENESS OF MECHANICAL-BIOLOGICAL WASTE WATER TREATMENT	
ŠEVČÍKOVÁ J., VÍTĚZ T., GRODA B.	476

Section Techniques and Technology

SUPPLIER ASSESSMENT FOR SEAT PARTS IN AUTOMOTIVE INDUSTRY	
ANDRÁSSYOVÁ Z., HRUBEC J., PICHŇA P., MARTIN K.	491
MONITORING OF THE ACOUSTIC EMISSION DURING MECHANICAL AND CORROSION DEGRADATION	
DOSTÁL P., ČERNÝ M.	497
PROCESS PARAMETERS AND THEIR UTILIZATION BY THE TREATMENT OF THE BIOGAS PRODUCTION	
HAITL M., VÍTĚZ T.	507

INFLUENCE OF SURFACE STRESS ON THE COHERENCE OF HOT DIP GALVANIZED STEEL	
HORÁK K., ČERNÝ M., VOTAVA J., FAJMAN M.	517
WASTE MANAGEMENT AND <i>HERMETIA ILLUCENS</i>	
KALOVÁ M., BORKOVCOVÁ M.	524
POSITION OF THE REFERENCE TEMPERATURE SENZOR IN A REAL ROOM	
KARAFIÁT P., FAJMAN M., SEVERA L., HAVLÍČEK M.	528
LABORATORY REACTOR OF NON LIQUID SUBSTRATES FERMENTATION	
KARAFIÁT Z., VÍTĚZ T.	534
CHARACTERIZATION OF FABRIC COMPONENT FROM USED TIRES WITH DIFFERENTIAL SCANNING CALORIMETRY	
KNAPČÍKOVÁ L., ORAVEC P.	541
TEMPERATURE DEPENDENT KINEMATIC VISCOSITY OF NEW AND USED ENGINE OIL	
KUMBÁR V., SEVERA L., HAVLÍČEK M.	546
ANTI-ABRASIVE COATING OF MOULDS FOR POURING CUPS	
LÍŠKA J., FILÍPEK J.	562
EMISSIONS FROM THE COMBUSTION OF VEGETABLE OIL IN A DIESEL ENGINE	
LUKŮVKA R., ČUPERA J.	574
USE SPREADERS FOR SOWING	
MARADA P., ČERVINKA J.	584
THE USING OF MATERIAL MANUFACTURING PROCESS OUTPUT POWER LEDVICE	
NOVÁKOVÁ M., KONRÁD Z.	590
EFFECT OF COMBUSTION OF ALTERNATIVE FUELS ON DIESEL ENGINE EXHAUST EMISSIONS	
POLČAR A., ČUPERA J.	611
USING OF PAPER SLUDGE, CREATED IN THE PAPER RECYCLATION PROCESS	
SKLENÁR M., KOTOVICOVÁ J.	621
MECHANICAL PROPERTIES OF RECYCLING MATERIALS FROM HETEROGENIC PVC WASTES	
ŠPAČEK I., KOTOVICOVÁ J.	625
THE BOUNDARY CONDITIONS FOR A NUMERICAL MODELING OF A BIOMASS COMBUSTION PROCESS	
TRÁVNÍČEK P., VÍTĚZ T., MAREČEK J.	634

ASSESSMENT OF ENERGY-BIOGAS PROCESS AT STATIONS USING THERMOGRAPHY METHODS	
URBAN L., JUN J., FRYČ J.	640
METHODOLOGY AND MONITORING OF AGRICULTURAL SOIL BY BIOFILTR THERMOVISION METHODS	
URBAN L., MARADA P., MAREČEK J.	645
MONITORING OF BEER FERMENTATION PROCESS USING ACOUSTIC EMISSION METHOD	
VARNER D., ČERNÝ M., MAREČEK J., LOS J.	651
COMPARISON OF TENSILE CHARACTERISTICS OF TRACTOR CHALLENGER MT 875B	
VYKYDAL P., BAUER F.	660
TECHNOLOGY OPTIONS RENEWAL OF RUNNING LIFE SKIVE FARMET	
VYSOČANSKÁ M., ČIČO P., BORIKOVÁ P., KOTUS M.	668

Section Food Technology

INSECT AS FOOD IN CZECH REPUBLIC	
BEDNÁŘOVÁ M., BORKOVCOVÁ M., ZORNÍKOVÁ G., ZEMAN L.	674
EVALUTION AND COMPARISON OF TOTAL POLYPHENOLS CONTENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY IN CHOSEN VARIETY PEARS AND APPLES FROM DIFFERENT CULTIVATION AREAS OF SLOVAKIA	
BONČÍKOVÁ D., TOMÁŠ J., TÓTH J., SZABÓOVÁ G.	683
THE INFLUENCE OF CULTIVATION TECHNOLOGY ON QUALITY OF POTATOES	
BUBENÍČKOVÁ A., JÚZL M.	688
SENSORY ANALYSIS OF ORIGINAL OLOMOUC SMELLY CHEESE STORED AT DIFFERENT TEMPERATURE REGIMES	
KOVAŘÍK A., JAROŠOVÁ A., CWIKOVÁ O.	694
IMPACT SITES ON THE CONTENT OF BIOACTIVE COMPOUNDS IN WILD BLUEBERRIES	
KRÍŽOVÁ L., VOLLMANNOVÁ A., DANIEL J., MEDVECKÝ M., MARGITANOVÁ E.	702
THE FATE OF MYCOTOXINS DURING MALTING AND BREWING	
MALACHOVÁ A., CERKAL R., EHRENBERGEROVÁ J., HAJŠLOVÁ J.	708
ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SELECTED VARIETIES OF MALTING BARLEY	
MAREČEK V., CERKAL R.	716
CONTENT OF RUTIN CREATION IN ANATOMICAL PARTS IN CHOSEN VARIETES OF AMARANTH (<i>AMARANTHUS L.</i>) DURING GROWING	
MARGITANOVÁ E., VOLLMANNOVÁ A., ČIČOVÁ I., KRÍŽOVÁ L., BYSTRICKÁ J.	723

EFFECT OF APPLICATION OF PROBIOTIC PREPARATION WITH MULTISTRAIN COMPOSITION ON CHEMICAL PROPERTIES OF MOST VALUABLE PARTS IN CHICKEN	
MIHOK M., HAŠČÍK P., ČUBOŇ J., KAČÁNIOVÁ M., PRÍVARA Š., HLEBA L., ARPÁŠOVÁ H.	728
FOOD FOR LOW - CALORIE NUTRITION	
MLEJNKOVÁ V., ŠULCEROVÁ H.	734
GROWTH OF IMPORTANT GROUPS OF MICROORGANISMS IN COW AND GOAT MILK	
NĚMCOVÁ M, KALHOTKA L.	742
EFFECT OF MILK CONTENT ON TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF POOL SAMPLE COW'S MILK	
POLÁK O., FALTA D., CHLÁDEK G.	750
SENSORY ANALYSIS OF BLUEBERRY CULTIVARS	
PRIATKOVÁ L., HLAVÁČOVÁ Z., KERTÉSZ Á., VIETORIS V., SEDLÁČKOVÁ - HORČINOVÁ V.	756
USING PROBIOTIC STRAINS FOR SOURDOUGH PRODUCTION	
PŘICHYSTALOVÁ J., KALHOTKA L., ŠUŠKOVIČ J., KOS B., BEGANOVIČ J., PAVUNC A., HABJANIČ K.	764
CHANGING THE CONTENT OF DI-N-BUTYL PHTHALATE AND DI-2-ETHYLHEXYL PHTHALATE IN THE CARCASS OF PACKAGED CHICKEN DURING REFRIGERATED STORAGE	
PUŠKÁROVÁ L., JAROŠOVÁ A., ZORNÍKOVÁ G.	770
THE BIOGENIC AMINES CONTENT OF CHEESE RIPENING UNDER THE SMEAR DURING PRODUCTION	
REJCHRTOVÁ E., ZEMÁNEK L., SLÁDKOVÁ P., KOMPRDA T.	780
WESTERN BLOT ANALYSIS OF CELIAC ACTIVE PROTEINS	
SOCHA P., MICKOWSKA B., URMINSKÁ D.	787
ANALYSIS OF CADMIUM AND NICKEL ENTRY FROM SOIL TO PLANT PRODUCTION AFTER THE APPLICATION OF BIOSLUDGE ON VPP KOLÍŇANY	
TÓTH J., TÓTH T., BONČÍKOVÁ B., SZABÓOVÁ G., ÁRVAY J.	796

Section Plant Biology

THE INFLUENCE OF STRIGOLACTONE ON AUXIN TRANSPORT EXPRESSION OF ELIPS AT DIFFERENT LIGHT CONDITIONS IN <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> WITH ELEVATED CYTOKININ LEVELS	
BALDRIANO VÁ J., BRZOBOHATÝ B.	805
MODERN PROTEOMICS IN PLANT SCIENCE	
ČERNÝ M., BRZOBOHATÝ B.	806

ANALYSIS OF THE DEVELOPMENT OF TRANSGENIC <i>NICOTIANA TABACUM</i> SEEDLINGS OVERPRODUCING THE CYTOKININ-GLUCOSIDE SPECIFIC BETA-GLUCOSIDASE ZM-P60.1	
CHMELÍK D., DUBOVÁ J., KIRAN N.S., BRZOBOHATÝ B.	810
INTENSITY OF WHITE LIGHT MODULATES PHOSPHOPROTEOME DYNAMICS IN RESPONSE TO CYTOKININ TREATMENT IN <i>ARABIDOPSIS</i>	
DIVÍŠKOVÁ E., BRZOBOHATÝ B.	820
DESIGNING RECOMBINANT MAIZE b-GLUCOSIDASE Zm-p60.1: DEVELOPMENT OF NOVEL ENZYMES MODULATING CYTOKININ METABOLISM	
FILIPÍ T., MAZURA P., DOPITOVÁ R., JANDA L., DAMBORSKÝ J., KIRAN N.S., BRZOBOHATÝ B.	821
EFFECT OF DECREASED LIGHT INTENSITY ON <i>ARABIDOPSIS RESPONSIVENESS</i> TO INCREASED LEVELS OF ENDOGENOUS CYTOKININS – A PROTEOMIC ANALYSIS	
JAJTNEROVÁ M., DYČKA F., BOBALOVÁ J., BRZOBOHATÝ B.	824
THE RNA ISOLATION FROM GENETIC RESOURCES OF COLOURED GRAIN WHEAT	
MUSILOVÁ M., TROJAN V., VYHNÁNEK T., HAVEL L.	826
HEAVY- METAL TOLERANCE IN GENUS <i>SILENE</i> – PLAY METALOTHIONEINS A CRUCIAL ROLE?	
NEVRTALOVÁ E., HOBZA R.	831
INCREASED LEVELS OF CYTOKININS INDUCE HR-LIKE CELL DEATH	
NOVÁK J., PAVLŮ J., NOVÁK O., BRZOBOHATÝ B.	836
PREPARATION OF CONSTRUCTS TO INDUCE VIRAL RESISTANCE IN PEA	
ROHRER M., HANÁČEK P., REINÖHL V., PROCHÁZKA S.	837
METHODS OF PROTEOME ANALYSIS IN INVESTIGATION OF HORMONAL REGULATIONS IN PLANTS	
SKALÁK J., ČERNÝ M., JEDELSKÝ P., BRZOBOHATÝ B.	841
THE GENETIC VARIABILITY OF COLOURED GRAIN WHEAT COLLECTION	
TROJAN V., MUSILOVÁ M., VYHNÁNEK T., HAVEL L.	845

Section Animal Biology

MC4R, LPIN1 AND SERCA1 POLYMORPHISMS AND THEIR ASSOCIATION WITH MEAT QUALITY IN CZECH LARGE WHITE PIG BREED	
CHALUPOVÁ P., KNOLL A., URBAN T., GREGOR T., ŠULCEROVÁ H., SEDLÁČKOVÁ T., WEISZ F., SLÁMA P.	852
MILK COMPOSITIONS AND BLOOD METABOLITES OF HOLSTEIN DAIRY COWS DURING IMPORTANT STAGES OF LACTATION	
FILÍPEJOVÁ T., KOVÁČIK J., KIRCHNEROVÁ K.	855

COMPARISON OF FIVE SELECTED SITES IN TERRITORIES SVRATKA 7-8 ACCORDING TO SELECTED INDICATORS FOR EVALUATION FISH COMMUNITIES	
GRMELA J., SPURNÝ P.	872
SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IN <i>LCAT</i>, <i>HMGCR</i>, <i>CTSZ</i> AND <i>TCF7L2</i> GENES WITH INFLUENCE ON MEAT QUALITY TRAITS IN CZECH LARGE WHITE PIGS	
KAPLANOVÁ K., BRYNDOVÁ M., WEISZ F., URBAN T., ŠULCEROVÁ H., JÚZL M., SLÁMA P.	880
THE EFFECT OF TOXIC CONCENTRATIONS OF COPPER ON THE CELL VIABILITY IN VITRO	
KŇAŽICKÁ Z., TVRDÁ E., LUKÁČ N., FORGACS Z., KERTI A.	888
WOLF SPIDERS (<i>ARANEAE</i>, <i>LYCOSIDAE</i>) OF EASTERN PART OF HUSTOPEČE BIOREGION	
KOŠULIČ O., HULA V.	899
ANALYSIS OF THE ASSOCIATION SINGLE NUCLEOTID POLYMORPHISIN IN THE GENE <i>PDK4</i> WITH MEAT PERFORMANCE	
KRATOCHVÍLOVÁ L., KNOLL A.	908
THE EFFECT OF T-2 TOXIN, HT-2 TOXIN AND DEOXYNIVALENOL ON THE SECRETION ACTIVITY OF PORCINE OVARIAN GRANULOSA CELLS	
MARUNIAKOVA N., MEDVEDOVA M., KOLESAROVA A., CAPCAROVA M., SIROTKIN A.V., BULLA J.	917
ANALYSIS OF <i>EEF1A2</i> GENE POLYMORPHISM IN PIGS	
PAVELKOVÁ M., KNOLL A., SVOBODOVÁ K.	925
UPTAKE AND ELIMINATION OF RADIOCESIUM IN FISH	
RŮŽIČKOVÁ E.	933
ASSOCIATION ANALYSIS OF GENE <i>H-FABP</i> IN A GROUP OF PIGS CZECH LARGE WHITE BREED TO MEAT QUALITY	
SEDLÁČKOVÁ T., URBAN T., GREGOR T., CHALUPOVÁ P., KAPLANOVÁ K., SLÁMA P.	940
BIOINDICATIONS OF MOTHS (<i>LEPIDOPTERA</i>) FOR MAINTAINING BIODIVERSITY IN THE LANDSCAPE AN AFFINITY TO THEIR HABITAT	
ŠAFÁŘ J.	947
BIOCHEMICAL PROFILE OF EFFECT OF DEOXYNIVALENOL SUPPLEMENTED BY MOULDY CEREALS ON RATS	
ŠOBRŮVÁ P., VAŠÁTKOVÁ A., KRŮŽKOVÁ S., ZEMAN L., ADAM V., KIZEK R.	957
BOVINE SERUM ALBUMIN AS A POTENTIAL PROTEIN SUPPLEMENT FOR <i>IN VITRO</i> CULTIVATION OF SPERMATOOZA	
TVRDÁ E., KŇAŽICKÁ Z., MASSÁNYI P., STAWARZ R., FORMICKI G., LUKÁČ N.	964
ASSOCIATION ANALYSIS OF GENES <i>CSRP3</i>, <i>EDG4</i> A <i>PRKAG3</i> WITH MEAT QUALITY IN CZECH LARGE WHITE PIGS	
WEISZ F., KAPLANOVÁ K., ŠULCEROVÁ H., JÚZL M., URBAN T., SLÁMA P.	970

Section Applied Chemistry and Biochemistry

METALLOTHIONEIN – ZINC – PROSTATE CANCER: PATHOGENESIS AND DIAGNOSTIC USE GUMULEC J., CERNEJ N., ZÍTKA O., MASAŘÍK M., BABULA P., ADAM V., KIZEK R.	977
DYNAMICS OF A WHEAT CYTOKININ-BINDING PROTEIN DURING SEED GERMINATION KLÁSKOVÁ J., CHAMRÁD I., SIMERSKÝ R., ŠVEHLOVÁ L., ŠEBELA M., SPÍCHAL L., LENOBEL R., STRNAD M.	984
METALLOMIC STUDY OF EFFECT OF CADMIUM IONS ON PLANT TISSUE CULTURES OF SUNFLOWER KRYŠTOFOVÁ O., ZEHNÁLEK J., ADAM V., KIZEK R.	985
ISOELECTRIC PH FIELD STEP FOCUSING ŠÍŠPEROVÁ E., GLOVINOVÁ E., POSPÍCHAL J.	992
THE USE OF μELUTION PLATE AS A PART OF HYPHENATED EXTRACTION METHOD FOLLOWED BY RRLC-MS-MS ANALYSIS FOR THE ISOLATION AND DETERMINATION OF PHENOLIC COMPOUNDS IN SEA ALGAE ŠNÓBLOVÁ M., PLAZA M., LOJKOVÁ L., VALENTOVÁ E., VLČEK J., KLEJDUS B.	999
DESIGNING MOLECULAR TOOLS FOR DISCOVERING AND MODULATING PLANT HORMONE SYSTEM TUREK D., MAZURA P.	1013

SIZE MEASUREMENTS OF ALFALFA ROOT SYSTEM UNDER AGRICULTURAL TREATMENTS USING ELECTRIC CAPACITY

Esmail Al-M., Jůzl M.

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

E-mail: emosanif@yahoo.com

ABSTRACT

The current study aimed at evaluation of Root system size (RSS) of alfalfa (*Medicago sativa* L.). Quantitative morphological characterization was done on two varieties (Hodonínka and Oslava). Two experimental locations were investigated. Two different cultivations spacing (50×50 and 25×25cm) were used. Size of root system was estimated by using electrical capacitance method, and the other agronomic characteristics such as fresh weight and height of the plant were determined. The results showed that the highest values at the 1st cut were achieved by Oslava (increasing 18% in RSS, 82.02 % in fresh weight), L2 (increasing 247.2% for RSS, 93.1% in plant height and 323.21% in fresh weight). Also for the 2nd cut the higher values were achieved by Oslava variety (increasing 3.92% for RSS, 20.17% in plant height and 43.40% for fresh weight), for the location Troubsko (increasing 102.07% in RSS, 31.77% in plant height and 43.40 % in fresh weight), for 50 x 50 cm row spacing (increasing 66.14% in RSS, 95.42 % in fresh weight) and for row spacing 25 x 25 cm (increasing 20.76% in plant height).

Key words: alfalfa, row spacing, root system size

INTRODUCTION

Alfalfa (*Medicago sativa L.*) is an important perennial forage legume crop throughout the world. Alfalfa is the most forage crop in the world. It can keep and restoring soil fertility, and for a low-input type of farming. It is often preferred for feeding ruminants, due to the high feed value, moreover, high forage yields, and drought resistance in areas (**Russi et al, 1997**) and (**Dietz, 2003**).

In a large part of the semiarid and arid regions like in the Yemen republic, alfalfa is the most important forage legume, and is grown for hay, and silage. (**Mosanif, 2002**).

Seedling emergence was usually higher in some varieties of alfalfa than others. On the other hand, all root traits were affected by plant spacing but no germplasm plant spacing interactions were found (**Lamb et al, 2000**).

Dalton (1995) studied nutrient solution using tomato (*Lycopersicon esculentum Mill.*) results showed a good correlation between plant root capacitance and root mass. Stage of development studies showed plant root capacitance measurements capable of detecting root development rate and suggested the method to be sensitive to root function. The size of root system of alfalfa can affect persistence, growth and forage yield (**Chloupek et al, 1998**).

Dostal et al (2009) measured the RSS of the barley during elongation, heading and grain filling. It was influenced by the location of the experiments (48-88%), by the variety (3-16%) and between 2-8% of the total variation was unexplained. Varieties with a greater RSS had a significantly higher yield in the dry year of 2007, which was characterized by a yield decrease of 18% for the four standard varieties in comparison to the other three years, at all 20 stations for both treatments ($r=0.480$ and 0.470 , respectively, $P<0.05$ for both).

Chloupek et al (2006) indicated that Root system size (RSS) was measured in field by its electrical capacity, which is suitable for plant breeding. Preliminary results showed that greater RSS of malting varieties was in dry and warm locations advantageous for yield level, overall for yield stability and for higher malt extract. However, the total malting quality was worse in lines with greater RSS.

Kupecsek and Molnarova (2009) studied that the RSC measurements in spring barley were done using the LCR – meter in growth stages of in the stage of four leaves, in full tillers, in the stage heading (BBCH 51) and at the stage of ripening. The results showed a positive correlation relationship between grain yield and fertilization ($r = 0.44^{***}$).

Material and Methods

Morphological investigation was performed on alfalfa on three characterizations namely; plant height, wet weight of the plant and the size of roots. Quantitative comparison was carried out on two different varieties of alfalfa; Hodonínka variety (Old Moravian variety from 1940. S-LV from Moravia / Grimmova Vojteska) Gene Bank from Prague and Oslava (Agrogen Spol. s.r.o.). Sampling was done on 240 plants collected from two different locations, the first site was from the Field Research Station in Žabčice (Faculty Agronomy Mendel University in Brno), and the second site was the Experimental Station of The Research Institute for Fodder Crops Ltd. (Troubsko) During two successive mowing seasons 2008/2009 and 2009/2010. Alfalfa seeds were prepared for the germination by scoured to each other with rubbing surface. Germination process was carried out in four petri dishes. Each dish contains 200 seeds. Activation of germination continued for 48 hr. Newly germinated seedlings were transferred and transplanted in Peat moss cultivation plastic boxes 60x40x5 cm. Six weeks seedlings were transplanted on two differ spacing distances as the following (50x50 cm and 25x25 cm).

The root system size was measured with ELC-131D LCR Meter at measuring frequency of 1 kHz in units of nf (nanofarad). Previous investigations indicated this as the optimum operating frequency for Alfalfa root system measurements. Electrical contact with the plant was established by connecting the negative electrode to the alfalfa stem via a battery clamp at 6 cm above ground level. The positive electrode was connected via a battery clamp to a copper ground rod 25 cm in length inserted into the soil positioned 5 cm away from the stem base.

The experiment was planted in April 25, 2008 after planting the seed in green house. The first and second cut was in May 14, August, 2009 respectively. Plant height, fresh weight of plant leaves and stems: at beginning of flowering, dry weight was determined after drying at 75° C for 48 hours.

Statistical analysis:

The collected data of each experiment were subjected to the proper statistical analysis of variance according to Snedecor and Cochran (1967) using the Computer and SAS program. L.S.D at 0.05 level of significance was used for comparing between means.

RESULTS AND DISCUSSION

Data recorded at cutting

Data presented in Tables (1-2) summarized alfalfa root system size, plant height and forage yields (fresh weight) recorded at each of 2 cuts as affected by the grown alfalfa variety, row spacing's, location and their interactions.

1st cut

Size of root system ,plant height and fresh weight of plant leaves and stems of alfalfa at the 1st cut as affected by varietal differences, location and row spacing's and their interactions are shown in Tables (1).

Table (1). *Alfalfa RSS, plant height, forage yields (fresh weight) of the 1st cut as affected by varieties (V), location (L), row spacing's (S), and their interactions.*

Characters		RSS		Mean	Plant height(cm)		Mean	Fresh weight		Mean
Variable		S1(50x50)	S2(25x25)		S1(50x50)	S2(25x25)		S1(50x50)	S2(25x25)	
V1	L1	0.698	0.322	0.510	60.00	48.00	55.00	0.096	0.028	0.062
	L2	1.752	1.470	1.611	95.00	106.00	101.00	0.248	0.150	0.199
Mean		1.225	0.896	1.061	78.00	78.00	78.00	0.172	0.172	0.089
V2	L1	0.728	0.320	0.524	51.00	49.00	50.00	0.070	0.028	0.049
	L2	2.494	1.464	1.979	104.00	99.00	102.00	0.414	0.136	0.275
Mean		1.611	0.892	1.252	78.00	74.00	76.00	0.242	0.082	0.162
LSD , 0.05 for:										
L1		0.713	0.321	0.517	56.00	49.00	53.00	0.083	0.028	0.056
L2		2.123	1.467	1.795	100.00	103.00	101.00	0.331	0.143	0.237
Mean		1.418	0.894	1.156	78.00	76.00	77.00	0.207	0.086	0.146
V		0.0788			V	3.038		V	0.02323	
L		0.0788			L	3.038		L	0.02323	
S		0.0788			S	3.038		S	0.02323	
V×L		0.1114			V×L	4.296		V×L	0.03285	
V×S		0.1114			V×S	4.296		V×S	0.03285	
L×S		0.1114			L×S	4.296		L×S	0.03285	
V×L×S		0.1575			V×L×S	6.076		V×L×S	0.04645	

* L1: Žabčice, L2: Troubsko, V1: Hodonínka and V2: Oslava.

1- Varietal differences:

Plants of Hodonínka variety were smaller in RSS than Oslava variety and lighter in fresh weight at first cut (Table, 1). As a result of increasing root system size and the subsequent forage (fresh) yields of Oslava markedly surpassed of Hodonínka (by 18% in RSS, 82.02 % in fresh yield) while there was no significant difference of plant height between varieties. **Nanjundappa et al (1998)**

and Drobna (1999) recorded marked differences among alfalfa varieties in plant height. Differences among alfalfa varieties were detected in plant weight and regrowth intensity (**Drobna, 1999**). Inter varieties differences were recorded throughout the world with respect to alfalfa productivity either for fresh and/or dry forage yields (**Pelikan, 1996; Patel et al, 1990 and Bahrani, 1990**).

2- Effects of row spacing:

Between spacing showed significant increase in alfalfa RSS where reached to 58.61% in RSS as well as forage yields (fresh weight) was increased with the spacing in the distance between rows. This increase was higher with the application of 50x50cm- spaced rows where reached to 140.7 % in fresh yield, than 25x25cm which has not a significant effect in plant height. Alfalfa plant height was not affected by the row spacing's of 15, 20, 30, or 40 cm as concluded by **Bollettini et al (1997)**. High vigorous varieties at high population density may be responsible for gaining higher yields. . It could be mentioned that although weight of alfalfa plant is increased with the increase in row spacing, but it was not enough to compensate the reduction in plant number (stand) per unit area in thin planting.

3- Effects of location:

There was a significant increasing in RSS of alfalfa, plant height and the subsequent forage (fresh weight) yields for both varieties in Troubsko location than Žabčice location markedly surpassed (by 247.2% between locations in RSS, 94.00 % between locations in plant height and 323.21% between locations in fresh weight).

4- Interaction effects:

The highest values at the 1st cut were achieved by Oslava × Troubsko × (50×50 cm) 2.494 nf in RSS, Hodonínka × Troubsko × (25×25cm) 106.00 cm in plant height, Oslava × Troubsko × (50×50 cm) 0.414 kg in fresh weight, Oslava × (50×50 cm) 1.611 nf in RSS, Hodonínka × (50×50 cm) 78.00 cm in plant height, Oslava × (50×50 cm) 0.242 kg in fresh weight, Oslava × Troubsko 1.979 nf in RSS, 102.00 cm in plant height and 0.275 kg. in fresh weight respectively, Troubsko × (50×50 cm) 2.123nf in RSS, Troubsko × (25×25cm) 102.835cm in plant height and Troubsko × (50×50 cm) 0.331kg. In fresh weight

2nd cut

Data of RSS, plant height and fresh weight of alfalfa at the 2nd cut as affected by varietal differences, location, row spacing and their interactions are allocated in Tables (2).

Table (2). *Alfalfa RSS, plant height, forage yields (fresh weight) of the 2nd cut as affected by varieties (V), location (L), row spacing's (S), and their interactions.*

Characters		RSS		Mean	Plant height(cm)		Mean	Green weight		Mean
Variable		S1(50x50)	S2(25x25)		S1(50x50)	S2(25x25)		S1(50x50)	S2(25x25)	
V1	L1	1.74	1.238	1.489	67.00	70.00	69.00	0.161	0.066	0.113
	L2	3.858	2.336	3.097	58.00	111.00	84.00	0.204	0.206	0.205
Mean		2.799	1.787	2.293	63.00	90.00	76.00	0.183	0.136	0.159
V2	L1	1.894	1.32	1.607	72.00	74.00	73.00	0.218	0.074	0.146
	L2	4.184	2.132	3.158	100.00	104.00	102.00	0.440	0.180	0.310
Mean		3.039	1.726	2.383	87.00	89.00	88.	0.329	0.127	0.228
LSD , 0.05 for:										
L1		1.817	1.279	1.548	69.00	72.00	71.00	0.190	0.070	0.130
L2		4.021	2.234	3.128	79.00	108.00	93.00	0.322	0.193	0.258
Mean		2.919	1.757	2.338	74.00	90.00	82.00	0.256	0.131	0.194
V		0.1143			V	3.281		V	0.01704	
L		0.1143			L	3.281		L	0.01704	
S		0.1143			S	3.281		S	0.01704	
V*L		0.1617			V*L	4.639		V*L	0.02410	
V*S		0.1617			V*S	4.639		V*S	0.02410	
L*S		0.1617			L*S	4.639		L*S	0.02410	
V*L*S		0.2287			V*L*S	6.561		V*L*S	0.03408	

* **L1:** Žabčice, **L2:** Troubsko, **V1:** Hodonínka and **V2:** Oslava

1- Varietal differences:

Oslava variety has superiority than Hodonínka variety reached to 15.79 % in plant height and 43.40 % in fresh weight at the second cut while there was no significant different at RSS between varieties.

2- Effect of row spacing:

RSS and fresh weight were significantly improved by spacing the row distance. The increases achieved due to increase the distance between rows from 25 to 50 cm were 66.14 % in RSS, 95.42 % in fresh weight and increase in plant height 20.00 % between S2 and S1 in the 2nd cut.

3- Effect of location:

Root size system, plant height and fresh weight of alfalfa were affected by site where Troubsko site excelled Žabčice site (102.07 % in RSS), (31.00 % in plant height) and (98.46 % in fresh weight) respectively at the 2nd cut.

4- Interaction effects:

The highest values at the 2nd cut were achieved by Oslava × Troubsko × (50×50 cm) 4.184 nf in RSS, Hodonínka × Troubsko × (25×25cm) 111.00 cm in plant height, Oslava × Troubsko × (50×50 cm) 0.440 kg in fresh weight, Oslava × (50×50 cm) 3.039 nf in RSS, Hodonínka × (25×25cm) 90.00 cm in plant height, Oslava × (50×50 cm) 0.329 in fresh weight, Oslava × Troubsko 3.158 in RSS, 102.8 cm in plant height and 0.310 kg. In fresh weight respectively, Troubsko × (50×50 cm) 4.021 in RSS, Troubsko × (25×25cm) 107.00 cm in plant height and Troubsko × (50×50 cm) 0.322 kg in fresh weight.

CONCLUSION

Oslava variety revealed the higher value in RSS 1.252 nf and fresh weight 0.162 kg at the 1st cut while there was no significant difference in height of the plant between varieties.

The 50×50cm row spacing recorded at the 1st cut the higher value in RSS 1.418 nf and 0.207kg in fresh weight while there was no significant difference in height of plant between row spacing. The high value recorded at the 1st cut in RSS (1.795 nf), plant height (101cm) and fresh weight (0.237kg) respectively in site Troubsko. Lower RSS and green weight were obtained from variety Hodonínka, being 1.061 nf, 0.089kg respectively for one plant.

For the 2nd cut the Oslava variety (*Medicago sativa* L.) indicated also the higher value 2.383 in RSS, 88.00 cm in plant height and 0.228kg in fresh weight.

The location Troubsko presented significant effect at location Žabčice (increase 3.128 in RSS, 94.00cm in height plant and 0.285kg in fresh weight).

The 50×50cm row spacing showed the higher value 2.919 in RSS and 0.256 in fresh weight, while the 25×25 cm row spacing gave the higher value in plant height (90.00 cm).

Measurement of root capacitance with hand-held meters provided a good assessment of root fresh mass for alfalfa plants grown in field conditions. Measure the size of root system using electric capacity as a method be particularly useful in the alfalfa plant although this method of measurement to the size of the root is a relative.

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

REFERENCES

Bahrani, J. (1990): Yield trial, leaf and protein contents of five alfalfa varieties in Ahvaz. Scientific J. of Agric., Iran, 13 (13): 84-93.

- Bollettini, S.; C.A. Rosolem and M.A. Valerio (1997). Lucerne yield as a function of spacing and density. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 32 (12): 1273-1280.
- Dalton ,F.N(1994 – 1995): In-situ root extent measurements by electrical capacitance methods. US Department of Agriculture, Agricultural Research Service, US Salinity Laboratory, 4500 Glenwood Drive, Riverside CA, 92501, USA .
- Dostal, V., T. Streda, Drobna; Chloupek O. and Bodnot G. (2008): Methods for evaluating the size of the root system of spring barley(*Hordeum vulgare* L.) Brno, Czech Republic.
- Dostal,V.;T. Streda and O. Chloupek(2009): Electric capacity as a Measure of the Intact Root System Size in the Soil in 7th ISRR Symposium” Root Research and Applications” .I.vyd.Wien: Boku Wien, 2009, s.1-2.
- Chloupek,O; M. Dolezelova and V. Psota(2006): Root system size of barley as measured by its electrical capacitance in field. In *Plant Nutrition meets Plant Breeding*. Stuttgart: University of Hohenheim, 2006, s. 13--14.
- Chloupek O.; Skácel M.; and Ehrenbergerova J. (1995-1998): Effect of divergent selection for root size in field – grown alfalfa. Mendel University of Agriculture and Forestry.
- Drobna, J. (1999): Evaluation of the basic economical and biological characters in the set genetic resources of alfalfa. *Vyskumny Ustav Rastlinnej Vyroby*, p. 169-205.
- Kucepek A. and J. Molnarova (2009): The root system capacity development in relation to nutrition and fertilization and tillage methods concerning the amount of grain production of spring barley. Department of Crop Production, Faculty of agrobiolgy and food resources, Slovak university of Agriculture in Nitra, A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia
- Lamb, J.F.S.; L.D. Johnson; D.K. Barnes and J.J. Marques-Ortiz (2000): A method to characterize root morphology traits in alfalfa. *Canadian J. of Plant Sci.*, 80 (1): 97-104.
- Mosanif, I. (2002) collection and evaluation of alfalfa types in Yemen. Unpublished M.Sc. thesis Faculty of Agriculture Sana University.
- Nanjundappa, G.; S. Purushotham; Andani-Gowda; S.S. Babu and A. Gowda (1998): Evaluation of lucerne varieties for fresh forage yield. *Current Res. Univ. of Agric. Sci.*, Bangalore, 27 (6): 118.
- Patel, J.R.; P.C. Patel; A.C. Sadhu and B.G. Patel (1990): Response of lucerne genotypes to phosphorus and potash. *Indian J. of Argon*, 35 (3): 307-308.
- Pelikan, J. (1996): Forage and seed yields in lucerne (*Medicago sativa* L.) collection. *Scientific Studies Res. Inst. for Fodder Plants, Troubsko*, 14: 5-12.
- Russi , L.; V. Negri and M. Falcinelli (1997): Collection and characterization of Italian landraces of lucerne (*Medicago sativa* L.). *Rivista di Agronomia*, 31 (1): 183-186.

WATER CONSUMPTION AND BIOMASS YIELDS RELATION IN SHORT ROTATION POPLAR COPPICE

Fischer M.¹, Trnka M.¹, Kučera J.², Žalud Z.¹

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

²Environmental Measuring Systems, Turistická 5, Brno, Czech Republic

E-mail: fischer.milan@gmail.com

ABSTRACT

The plantations of short rotation coppice (SRC) usually based on poplar or willow species are promising source of biomass for energy use. To contribute to decision-making process where to establish the plantations we evaluated the water consumption and its relation to biomass yields of poplar hybrid clone (*Populus nigra* x *P. maximowiczii*) in representative conditions for Czech-Moravian Highlands. Water availability is usually considered as the main constraint of well profiting SRC culture and therefore we focused on analyzing the linkage between the aboveground biomass increments and the total stand evapotranspiration (ET) and thus on so called water use efficiency (WUE). During the seasons 2008 and 2009 the total stand ET measured by Bowen ratio system constructed above poplar canopy and the stem diameter increments of randomly chosen sample trees were examined. The stem diameters were subsequently converted to total above ground biomass by allometric equation obtained by destructive analysis at the beginning of 2010. The biomass volume and its increment of particular trees were subsequently transformed to the whole canopy growth and correlated with the ET values. Our results revealed that there was a statistically significant relation between water lost and biomass growth with coefficients of determination r^2 0.96 and 0.57 in 2008 and 2009 respectively. The dynamic of seasonal WUE varied from 4 to 0 g kg⁻¹ and from 6 to 0 g kg⁻¹ with means 2.8 and 3.4 g kg⁻¹ in both executed years respectively. These values are comparable with other broadleaved tree species of temperate climate zone and suggest that economically profitable plantation (defined by yield at least in the range of 10 – 12 Mg ha⁻¹ year⁻¹ of dry matter content) will consume more than 400 – 450 mm per year and thus will demand a locality with higher and adequately temporally distributed amount of precipitation especially in rain feed areas such as the discussed Czech-Moravian Highlands.

Key words: Short rotation coppice, biomass increment, water consumption

Acknowledgments: We gratefully acknowledge the support of the In-house Grant Agency at Mendel University in Brno no. IP 19/2010, In-house Grant Agency at Mendel University in Brno no. TP 11/2010 and the Research plan no. MSM6215648905 “Biological and technological aspects of sustainability of controlled ecosystems and their adaptability to climate change“.

INTRODUCTION

The term short rotation coppice (SRC) is generally used for any high-yielding woody species managed in a coppice system usually grown on arable land for energy use. Typically, these crops are harvested on a 3–7 year rotation and remain viable for 15–30 year. The SRC plantations are in conditions of middle Europe usually based on poplar or willow species and has recently represented promising source of bio-energy. The replacement of fossil fuel with biomass in the generation of energy has recently been an important strategy promote by the European Union (EU) to mitigate effect of climate change and enhance the security of the supply and diversification of energy sources (IEA, 2003). Biomass, and in particular energy crops, have attracted attention as a promising, renewable and local energy source (EU commission, 2005, Gasol et. al 2007), which could help the EU reduce its dependency on external energy sources, i.e., the main oil-exporting and gas-exporting countries. Within the biomass option, short-rotation coppice (SRC) plantations feature several environmental advantages. Of all the raw materials, such as winter rape oil, sugarcane, sorghum, soy and palm oil, wood chips show the best performance as biofuel with respect to the total environmental impact and greenhouse gas emissions (Scharlemann and Laurance, 2008). Only biofuels produced from waste materials (manure, whey) show a better performance. Furthermore, the life cycle assessment for poplar SRC plantations in Germany (Rödl, 2008) confirms the very low CO₂ emissions resulting from energy production using biomass from SRC. It produces just 0.015 kg CO₂-equivalent per kWh generated electricity. At the other extreme, lignite-fired power plants discharge 1.1 kg CO₂-equivalent per kWh. According to results of many research papers, SRCs has additionally positive impacts on their surround; e.g. on water cycle, carbon cycle, biodiversity, liveliness of the countryside, and also except the energetic independence also higher employment rate (Isebrands and Karnosky, 2001). Despite these facts, the areas of SRC plantations in the Czech Republic are still low compared with the neighbouring countries (Weger et al., 2009), however, higher popularity of SRCs and vote to plant them has been recorded during a few of last years. For successful establishing and choosing the new suitable localities for growing of SRC, the deep knowledge of their ecological demands is necessary. According to empirical and modelled results, the water availability constitutes the main constraint for SRC grown on arable land (Braatne et al., 1992, Cienciala and Lindroth, 1995, Deckymn et al., 2004, Lindroth and Báth, 1999). By relating the water use to the plant productivity we obtain so called water use efficiency (WUE, sometimes the reciprocal transpiration, evaporation or assimilation ratio is used) describing the increase in growth per unit of water use. WUE can be instantaneously measured at leave or stand levels as the rate of CO₂ uptake by photosynthesis per unit of water lost in transpiration or whole evapotranspiration (Lindroth and Cienciala, 1996, Linderson et al., 2007). More related to forestry practices is long term WUE which is estimated on the basis of dendrometric measurements and the

water lost (Cienciala and Lindroth, 1995). Depending on which method is used, factors such diurnal variation in root respiration, relative carbon allocation to roots and turnover of fine roots and leaves influence in resulting WUE (Dickamn et al., 2001, Lindroth et al., 1994).

The main aim of this paper is the short insight into water and biomass relation by using long term WUE based on stand aboveground biomass increment and water lost by evapotranspiration, and description of its seasonal variation in conditions representative for Czech-Moravian Highland where mostly only the precipitation is the source of available soil water.

MATERIALS AND METHODS

In April 2002, a high-density experimental field plantation for verification of the performance of poplar clone J-105 (*Populus nigra* x *P. maximowiczii*) with the total area of 4 ha was established in Domaníněk (Czech Republic, 49° 32' N, 16° 15' E and altitude 530 m a.s.l.). The plantation was established on agricultural land previously cropped predominantly for cereals and potatoes. Hardwood cuttings were planted in a double row design with inter-row distances of 2.5 m and spacing of 0.7 m within rows accommodating a density of 10,000 trees/ha. Soil conditions at the location are representative of the wider region with deep luvic Cambisol influenced by gleyic processes and with a limited amount of stones in the profile. The site itself is situated on a mild slope of 3° with an eastern aspect and is generally subject to cool and relatively wet temperate climate typical for this part of Central Europe with mingling continental and maritime influences. Although the area does not provide optimal conditions for SRC based on *Populus* sp. clones, the site itself is highly suitable for planting due to deep soil profile (Trnka et al., 2008).

In May 2008, 14 m high mast with system for estimating actual evapotranspiration (ET_a) by measuring Bowen ratio (EMS Brno, Czech Republic) was placed in the centre of the poplar plantation. At the same place below ground, three sensors EC - 20 (Decagon Devices, USA) for measuring volumetric water content of soil and six gypsum blocks (EMS Brno) to measure soil water potential were accommodated in the depths 0.1 m, 0.3 m and 0.9 m. All sensors were connected to datalogger ModuLog 3029 (EMS Brno) and measuring step was adjusted to measure each 2 minutes and to store each 10 minutes. At the same time, the tipping bucket rain gauge MetOne 370 (MetOne Instruments, USA) was placed next to the poplar plantation. For estimating biomass increment and its reaction to soil water availability an array of 15 mechanical - DB 20 and 3 automatic dendrometers - DRL 26 (EMS Brno) were fixed to trunks at the breast height at beginning of 2008. The values from DB 20 were usually read in a week period and the DRL 26 were adjusted to hourly measuring step. These measurements were updated by adding another 15 DB 20 and 1 DRL 26 dendrometers at start of the season 2009. These dendrometers are designed for long-term registration of tree trunk circumference via stainless tape that encircles the tree trunk. The values of increment of stem circumferences or diameters are very useful because they could be subsequently converted through the allometric equation to increment of biomass (e.g. Al Afas, 2008, Cienciala et al., 2005, Fajman et al., 2009). Moreover, in summer 2009 the plantation inventory took place and diameters at breast height (DBH) of 702 trees were measured with calliper at the area of cca 800 m² around the mast with Bowen ratio measuring system. Finally, destructive

measurements of 42 randomly chosen trees, where the dendrometers were placed and another randomly selected 80 trees, were carried out during the harvesting at the beginning of 2010 – the end of first eight years long rotation period. This procedure followed the same methodology as described by Fajman et al. (2009). From these measurements, the allometric relationship between DBH and the dry matter content (DMC) of aboveground biomass (AB) without leaves was analysed and the common biometric exponential function $AB = a \times DBH^b$ was parameterized. Secondly, also the dependence of tree length on DBH and the seasonal stem radius increment on DBH were investigated to get more parameters for up-scaling the sampled trees biomass increments into the whole stand and additionally to reveal the competitive interactions between the trees of different social position. By using the plantation inventory and the above mentioned allometric equation together with exponentially expressed dependence of increment rates on DBH, the growth of 42 regularly monitored trees were extrapolated in to the whole canopy and also convert to biomass increment per area of 1 m².

Furthermore, the AB increment was divided by the amount of ET_a [mm] and thus the long term WUE_{ET} was obtained. Because in this work, the WUE is defined only from part of above ground biomass (stems and branches - the growth of leaves and roots is not considered) which is divided by ET_a (not only transpiration), the term gross WUE_{ET} is used in order to point out the differences against typical view on WUE.

RESULTS

Figure 1 depicts the seasonal patterns of gross WUE_{ET} with means 2.78 and 3.39 g*kg⁻¹ in 2008 and 2009 respectively. Apparently, there are systematically higher values during the second investigated season which also showed much higher variability which is in fact rather the consequence of higher number of measured values than the effect of the different conditions.

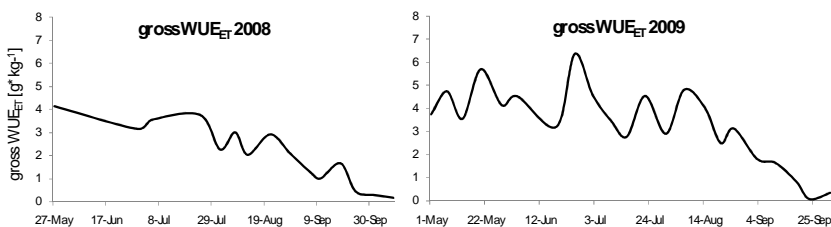


Fig. 1 The seasonal patterns of gross water use efficiency as the ratio of total evapotranspiration and allometrically defined aboveground biomass increments.

At the next figure 2, the water lost and change of allometrically defined biomass are correlated. There is narrower relationship in the year 2008 with the coefficient of determination 0.96 compared to lower 0.56 in 2009. On the other hand, again the correlation in 2009 was generated with higher number of the data and thus the other inherent factor like the root-shoot carbon allocation and the stem shrinking and swelling linked with the precipitation were not “hidden” in the long term course. With application of multiple linear regressions by adding the precipitation as another independent variable, much higher coefficient of determination 0.73 was obtained. The reasonable

and statistically best resulted was the separation of the precipitation simply into the two categories: amount lower and higher than 10 mm.

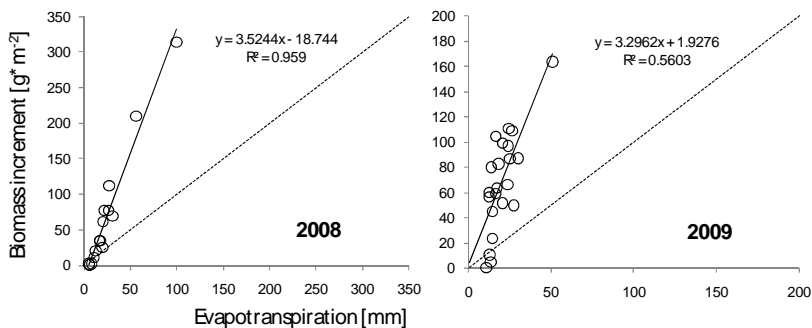
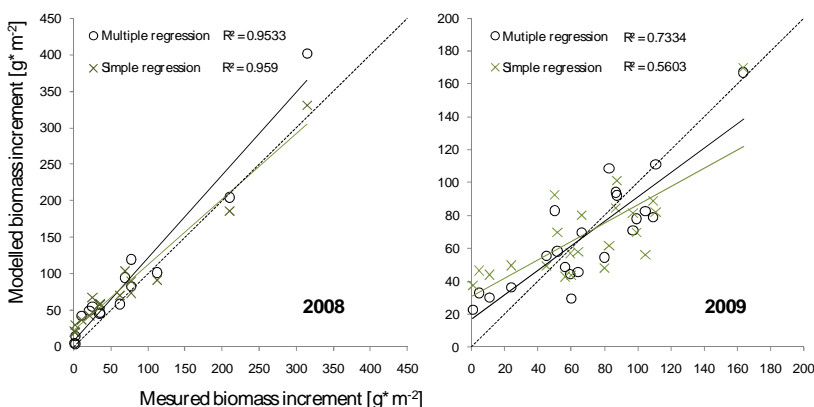


Fig. 2 The relationships between the total evapotranspiration and aboveground biomass increments during two consecutive seasons.

The multiple regression model created from the data of the season 2009 was subsequently compared with the first simple linear model as well as with the measured biomass increments for



both investigated seasons (Fig.3).

Fig. 3 The comparison of measured biomass increment with simple and multiple linear regression models based on water lost and aboveground biomass increment relationship.

The comparison of two linear regression functions with the measured data revealed that the models in both cases overestimated within the range of low values. The first simple linear function fitted quite well with the higher values in the case of 2008, whereas the multiple regression model systematically overestimated. For the 2009, there is quite equable under and over estimation ratio, except the low values which are overestimated by both models. For the simple linear function the Root mean square error (RMSE) was equal to 9.3 and 16.5 g*m⁻²; the Mean bias error (MBE) was

equal to -14.9 and $-3.8 \text{ g}^*\text{m}^{-2}$ of AB in 2008 and 2009 respectively. Multiple linear regression model amounted RMSE 29.7 and $19.7 \text{ g}^*\text{m}^{-2}$ an MBE -17.9 and $-4.8 \text{ g}^*\text{m}^{-2}$ of AB for both consecutive years 2008 and 2009.

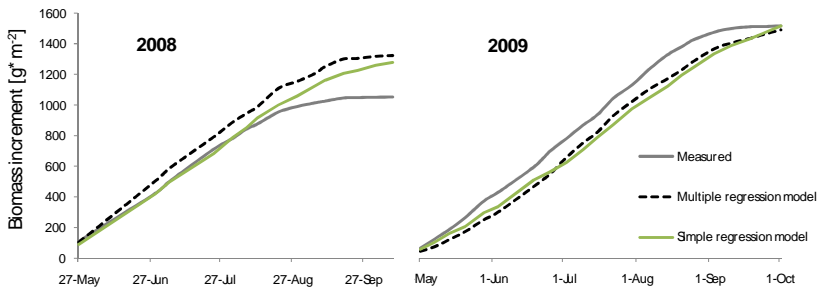


Fig. 4 Cumulative comparison of measured biomass increment with simple and multiple linear regression models based on water lost and aboveground biomass increment relationship.

At the last picture, the same comparison of modelled and measured AB increment is expressed in cumulative way. This graph is indicating that most problematic periods for expressing the biomass increment are the beginnings and the ends of the seasons when the antinomy of WUE is significant.

DISCUSSION

Gross WUE_{ET} based on synchronous measuring of AB increment and the canopy ET_c showed high seasonal variability in both of the evaluated years. The seasonal patterns were typical with the highest rates of gross WUE_{ET} at beginning of the season and with the decreasing at the end of summer. Lindroth et al. (1994) described the similar seasonal trends of WUE in willow SRC in Sweden, where the last most marked fall of WUE was linked with reducing LAI (leaf area index) at the end of summer. Our results confirmed this coherency with LAI dynamic since the pronounced decline of gross WUE_{ET} was observed around the mid August, when the period of LAI culmination in the investigated poplars culture was recorded. Lindroth et al. (1994) described the maxima in WUE, which was defined as the ratio of AB increment and transpiration, as an effect of rainy weather and thus with considerably amounts of evaporation of intercepted water and thus lower transpiration rates. However in our research taking in account with the gross WUE_{ET} based on total evapotranspiration, the maxima were also found during the rainy events. The higher gross WUE_{ET} as a consequence of precipitation could be explained by two reasons. Firstly, by using the long-term water use efficiency based on AB increment and not on CO_2 uptake and transpiration ratio, the relative carbon allocation to roots or AB can play important role (Dickmann et al., 2001, Lindroth et al., 1994). During the period with reduced soil water availability, the assimilated carbohydrates are directed away from shoots and towards root growth. After alleviated of such conditions by replenish the soil water status with rains or irrigation, the temporary carbon allocation toward the roots is compensated by a later increase in shoot growth (Kramer, 1983, Lindroth et al., 1994). The similar effect caused by mobile carbon pools influences also the seasonal variation with high WUE in the spring characteristic with so called spring flush (strong upward translocation of starch and sugars produced in assimilation during the end of previous season), and conversely with the drop to zero at the end of season linked with downward accumulation (Dickman et al., 2001). By the way,

the high accumulation of root reserves has great significance to coppicing. Secondly, growth is the biological phenomenon of increase in size with time. Growth involves the formation, differentiation and expansion of new cells, tissues or organs. The sudden increase in tree diameter often observed after rain is not necessary due to growth but reflects the saturation of shrunk xylem and other stem tissues with water after previous drier period (Herzog et al., 1995, Offenthaler et al., 2001). Within this context, the term WUE is very disputable and the using gross $WUE_{ET(T)}$ (either based on total evapotranspiration or just on pure transpiration) seems to be more reasonable and competent. Comparing the both executed years, there was notably higher gross WUE_{ET} during 2009. Similar situation was described also by Lindroth et al. (1994) where the authors explained the contrast in the consecutive seasons by different age of culture and with this linked different root-to-shoot ratio. The decreasing root-to-shoot ratio with ontogenically aging is well known phenomenon in SRC and also other tree species culture (Coleman et al., 2004, Ovington, 1957, Reynolds and D'Antonio 1996) and could provide an interpretation of higher AB increment during 2009. The heterogeneity in carbon allocation during the particular ontogenetic phases and also during the particular parts of the season causes difficulties to predict the yields with some simplified method based on evapotranspiration and biomass relation, but on the other hand such information could provide some general and gross estimation of the SRC production in condition of Czech-Moravian highland. Modelling the seasonal and yearly dynamic of root-to-shoot allocation could be key point to improve such approach.

Finally, considering that resulted values of gross WUE_{ET} with means 2.78 and 3.39 $g \cdot kg^{-1}$ in 2008 and 2009 respectively are calculated from total evapotranspiration which is in SRC usually around 30% higher than pure transpiration, the WUE of poplars is comparable and rather higher than other broadleaved tree species of temperate climate zone. The estimated economically profitable yields range at least from 10 to 12 $Mg \text{ ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$ of dry matter content which, according to our calculations, will consume more than 400 – 450 mm per year and thus will demand a locality with higher and adequately temporally distributed amount of precipitation especially in rain feed areas such as the discussed Czech-Moravian Highlands.

CONCLUSION

The gross WUE_{ET} for poplar SRC was characteristic with high variability in both of the investigated years 2008 and 2009 with means 2.78 and 3.39 $g \cdot kg^{-1}$ respectively. These values are situated in higher range comparing to the other broadleaved tree species of temperate zone and suggest that for well economically profiting biomass yields more than 400 – 450 of water per season will be consumed by the SRC plantation.

The relationship between AB increment and ET_a was investigated, and with considering that other factors like especially rains (soil water potential and stem water potential) are influencing the AB increment and volume, the multiple linear equation, with precipitation and ET_a as independent input variables, was proposed with yielding a satisfactory coefficient of determination 0.95 and 0.73 in 2008 and 2009 respectively.

Since the gross WUE_{ET} is influenced by seasonal and ontological variation caused by changing of allocation of mobile carbon pool, the modeling approach has to be updated by including this process to fit better the real seasonal and yearly dynamic of gross WUE_{ET} .

REFERENCES

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

Braatne, J.H., Hinckley, T.M., Stettler, R.F., 1992. Influence of soil water on the physiological and morphological components of plant water balance in *Populus trichocarpa*, *Populus deltoides* and their F1 hybrids. *Tree Physiology*, 11: 325–339.

Cienciala, E., Lindroth, A. 1995. Gas-exchange and sap flow measurements of *Salix viminalis* trees in short-rotation forest. II: Diurnal and seasonal variations of stomatal response and water use efficiency. *Trees*, 9: 295–301.

Cienciala, E., Černý, M., Apltauer, J., Exnerová, Z. 2005. Biomass functions applicable to European beech. *Journal of Forest Science*, 51:147–154.

Coleman, M., D., Friend, A., L., Kern, C., C. 2004. Carbon allocation and nitrogen acquisition in a developing *Populus deltoids* plantation. *Tree Physiology*, 24:1347–1357.

Deckmyn, G, Laureysens, I, Garcia, J, Muys, B, Ceulemans, R. 2004. Poplar growth and yield in short rotation coppice: model simulations using the process model SECRETS. *Biomass and Bioenergy*, 26: 221–227.

Dickmann, D., I, Isebrands, J., G., Terence, J., B., Kosola, K., Kort, J. 2001. Physiological ecology of poplars. In Dickmann, D.I., Isebrands, J.G., Eckenwalder, J.E., Richardson, J., (eds). *Poplar Culture in North America*, Ottawa: National Research Council of Canada, p. 77–118.

European Commission. Biomass action plan. 6282005, Brussels, 2005.

Fajman, M., Palát, M., Sedlák, P. 2009. Estimation of the yield of poplars in plantations of fast-growing species within current results. *Acta universitatis agriculturae et silviculturae Mendelianae Brunensis*, 2: 25–36.

Gasol, C. M., Gabarrell, X., Anton, A., Rigola, M., Carrasco, J., Ciria, P., et al. 2007. Life Cycle, Assessment of a Brassica carinata bioenergy system in southern Europe. *Biomass and Bioenergy* 31 (8): 543–555.

Herzog, K., M., Häslser, R., Thum, R. 1995. Diurnal changes in the radius of a subalpine Norway spruce stem: their relation to the sap flow and their use to estimate transpiration. *Trees*, 10: 94–101.

International, Energy, Agency, IEA statistics-renewable information, IEA/OECD, Paris 2003.

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

Kramer, P., J. 1983. *Water relation of plants*. Academic Press. San Diego, CA. 489 pp.

Linderson, M., L., Iritz, Z., Lindroth, A. 2007. The effect of water availability on stand-level productivity, transpiration, water use efficiency and radiation use efficiency of field-grown willow clones. *Biomass and Bioenergy*, 31: 460–468.

- Lindroth, A., Verwijst, T., Halldin, S. 1994. Water-use efficiency of willow: Variation with season, humidity and biomass allocation. *Journal of hydrology*, 1-4: 1–19.
- Lindroth, A., Cienciala, E. 1996. Water use efficiency of short-rotation *Salix viminalis* at leaf, tree and stand scales. *Tree Physiology*, 16: 257–262.
- Lindroth, A., Båth, A. 1999. Assessment of regional willow coppice yield in Sweden on basis of water availability. *Forest Ecology and Management*, 121: 57–65.
- Offenthaler, L., Hietz, P., Richter, H. 2001. Wood diameter indicates diurnal and long-term patterns of xylem water potential in Norway spruce. *Trees*, 15: 215–221.
- Ovington, J.D. 1957. Dry-matter production by *Pinus sylvestris* L. *Ann. Bot.* 21:287–314.
- Reynolds, H., L., D'Antonio, C. 1996. The ecological significance of plasticity in root weight ratio in response to nitrogen: opinion. *Plant Soil* 185:75–97.
- Rödl, A. Ökobilanzierung der Holzerzeugung im Kurzumtrieb. Arbeitsbericht des Instituts für Ökonomie der Forst- und Holzwirtschaft des vTI, Hamburg (2008).
- Scharlemann, J., P., W., Laurance, W., F., How green are biofuels? *Science* 4 (2008), pp 43–44.
- Trnka, M., Trnka, M., Fialová, J., Koutecký, V., Fajman, M., Žalud, Z., Hejduk, S. 2008. Biomass production and survival rates of selected poplar clones grown under a short-rotation on arable land. *Plant, Soil and Environment*, 54: 78–88.
- Weger, J. et al. 2009: Rámcová typologie zemědělských půd pro pěstování vybraných klonů topolů a vrb k energetickému využití v České republice. In Kubačka, J. (Ed.): Rychle rostoucí dřeviny zdroj biomasy pro energetiku. Hradec Králové: Česká lesnická společnost, 21.5.2009. ISBN 978-80-02-02110-0. s. 10–15.

ASSESSMENT OF ACHENES GERMINATION OF SPECIES *TARAXACUM OFFICINALE* AND *TUSSILAGO FARFARA*

Františáková L., Winkler J.

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

E-mail: ffranci@seznam.cz

ABSTRACT

The aim of bachelor work was to find how different locality influence achenes germination of *Taraxacum officinale* and *Tussilago farfara*. Collection of achenes of chosen weeds was carried out in different locations. *Taraxacum officinale* was assessed in locality Lidečko – orchard, Lačnov – orchard and Valašská Senice – orchard. *Tussilago farfara* was evaluated in locality Lidečko kříž, Lidečko – garden and Lidečko Račné. The germination of achenes was done in different light conditions. Analyses of variance and method of least square differences (LSD) were used for data assessment. The average of weight of hundred achenes was 0.0731 g by *Taraxacum officinale* and 0.0462 g by *Tussilago farfara*, where the weight differed with locality. The germination of achenes was 74% by *Taraxacum officinale* and 40% by *Tussilago farfara*. The germination of *Tussilago farfara* achenes was influenced by achenes maturity. Achenes by both species had higher germination in conditions of day light in comparison with night. This is in correlation with positive fotoblastic reaction of plants. Low germination showed that generative reproduction is important only in localities with favourable conditions for growth and development.

Key words: *Taraxacum officinale*, *Tussilago farfara*, achenes germination, weight of achenes

Acknowledgments: The results in paper are output of project of Internal Grant Agency, AF MENDELU, No. TP 11/2010 “Modification of crop management practices in areas threatened by drought”. 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

Plevel je rostlina, která roste v kulturním porostu proti vůli pěstitele. Může to být rostlina žádoucí a stejně tak v jiném porostu označena za plevel a hubena. Plevelé ochuzují polní plodiny o vodu, půdu o půdní vzduch a živiny. Snižují teplotu půdy, zastíňují polní plodiny, podporují šíření chorob a škůdců (MIKULKA et al., 2005). Plevelé obsazují lokality, které nejlépe vyhovují jejich základním nárokům. Plevelé jsou klasifikovány dle různých kritérií. Např. podle vazby na substrát, dle stupně škodlivosti, výskytu v jednotlivých plodinách nebo podle biologických vlastností (MIKULKA, KNEIFELOVÁ, 2005).

Pampeliška lékařská (*Taraxacum officinale*) je řazena do čeledi *Asteraceae* – hvězdnicovité. V současnosti se rozlišuje rod *Taraxacum* na tzv. sekce a druhy. Sekce je kategorií umožňující i nespécialistům pampelišky správně zařadit. K určování jednotlivých sekcí rodu *Taraxacum* slouží tzv. základní klíč. Dílčí klíče pro jednotlivé sekce mají spíše charakter přehledu druhové diverzity rodu *Taraxacum* v ČR. Jejich užitnost je omezena tím, že ve většině skupin jsou stále nalézány druhy na území ČR dosud neznámé, a také proto, že posouzení morfologických rozdílů vyžaduje určitou zkušenost. Rovněž klíč k určování sekcí je komplikován občasným výskytem druhů intermediárních mezi sekcemi. (KUBÁT et. al, 2002). Sekce *Taraxacum sect. Ruderalia* odpovídá rostlině dříve označované jako *Taraxacum officinale* – pampeliška lékařská (KIRSCHNER, ŠTĚPÁNEK, 1995 in MOLATA, 2007). Nové botanické zařazení je tedy následující Rod. *Taraxacum* Weber ex F.H.Wigg.; Sekce: *Taraxacum sect. Ruderalia* Kirschner, H. Ollgaard et Štěpánek .

Pampeliška je vytrvalá, 20 až 40 cm vysoká rostlina, obsahující ve všech částech souvislou soustavu mléčných buněk – tzv. mléčnic, s bílým hořkým mlékem. Pod zemí má statný, silný kůlový kořen a z vícehlavého oddenku vyrůstá přizemní růžice listů (TRÍSKA, 1979). Listy jsou nedělené, celokrajné až peřenolaločné nebo kracovitě peřenodílné (DOSTÁL, 1989). Ze středu růžice vyrůstají přímé až 40 cm vysoké, křehké a duté stvoly, zakončené vždy jedním velkým úborem, který tvoří 100 až 200 kvítků (TRÍSKA, 1979). Zákrv je dvouřadý, vnější listeny kratší a širší než vnitřní, bledě až bíle lemované, často pod špičkou růžkaté nebo mozolkaté (DOSTÁL, 1989). Kvítky jsou jazykovité, zlatožluté zbarvené a medově voní. Před rozkvětem jsou úbory zavřené a zavírají se též večer a při špatném počasí (TRÍSKA, 1979). Plodem jsou červenohnědé nebo slámově žluté, vřetenovité, nahoře přecházejí v kuželovitý nebo válcovitý násadec, osinkatý nebo bradavičnatý, nesoucí tenký zobánek s měkkým, víceřadým chmýrem. Chmýr se skládá ze štětiček jednoduchých, drsných (DOSTÁL, 1989). Plodenství tvoří po odkvětu známé bělostné, chmýraté koule (TRÍSKA, 1979). Pampeliška vykvétá od dubna do srpna a roste na všech loukách a travnatých místech od nížin do hor. Je rozšířena v celém severním a mírném pásmu Evropy a Asie

(TRÍŠKA, 1979). V České republice se vyskytuje po celém území. Osídluje zemědělskou i nezemědělskou půdu. V posledních letech její výskyt neustále stoupá (MIKULKA et. al., 1999).

Je to prastará léčivá rostlina. Dnes se především sbírá silně mléčící kořen a někdy i nať. Rostlina obsahuje hořčiny, třísloviny, inulin a látky hubící bakterie. Často se také pro potřeby farmaceutického průmyslu pěstuje. Ve Francii, Itálii a Německu je oblíben salát z mladých listů a pro tento účel se zde také smetánka pěstuje. Byly vypěstovány i kulturní, jemné formy smetánky, z jejichž kořenů se dělá salát pro diabetiky, nebo ť místo škrobu obsahuje inulin (TRÍŠKA, 1979).

Zdrojem zaplevelení jsou neudržované plochy jak zemědělské, tak nezemědělské půdy, odkud se šíří hlavně větrem do okolí. Vyskytuje se především tam, kde se minimalizuje zpracování půdy. K šíření přispívá i vysoká tvorba nažek s vysokou klíčovostí (MIKULKA et. al., 1999)

Podběl lékařský (*Tussilago farfara*) je řazen do čeledi *Asteraceae* – hvězdicovité. Vytrvalá bylina s plazivým, šupinatým oddenkem s podzemními výběžky často delšími než 1m. Kvetoucí rostliny 5 – 15 cm vysoké, za plodu až 30 cm. Lodyhy jsou přímé, tenké, porostlé šupinovitými listy. Listy v přízemní růžici se vyvíjí zpravidla až po odkvětu. Jsou masité, řapíkaté, čepel okrouhlá, široce vejčité až srdčité. Laloky oddáleně mělce zubaté, zuby s krátkými, pevnými, černými špičkami. Mladé čepelky po obou stranách hustě běloplstnaté, později svrchní strana olysávající. Řapík 10 – 20 cm dlouhý, ze stran zploštělý, svrchu v horní polovině s mělkou a širokou rýhou. Šupinovité lodyžní listy přisedlé, podlouhle vejčité, nažloutlé, často s červeným nebo hnědávým nádechem. Úbor 2 – 3 cm v průměru. Zákrvů válcovitě až zvonkovitě. Zákrvné listy četné, čárkovité až úzce kopinaté, tupé, zelené. V dolní polovině plstnatě chlupaté, v horní polovině načervenalé, za plodu napětě zahnuté, lůžko úboru bez plevek. Květy zlatožluté, velmi zřídka hnědavě oranžové, okrajové velmi četné, jazykovité. Květy terče zvonkovitě trubkovité s 5 korunními cípy. Nažky 3 – 5 mm dlouhé, hnědé, chmýr asi 10 mm dlouhý, hedvábně lesklý, bílý, paprsky chmýru drsné (BĚLOHLÁVKOVÁ, 2004). Kveté od konce února do dubna (JANČA, ZENTRICH, 1996).

Podběl je hojná rostlina, která si oblíbila zejména čerstvě nakypřené a provzdušněné půdy (JANČA, ZENTRICH, 1996). Vyskytuje se na staveništích, rumištích, v kamenolomech, na skládkách průmyslového odpadu, na výsypkách povrchových dolů, na sídlištích, náspech, šterkovištích, okrajích komunikací, v lesních lemech, ve slabě zastíněných nebo prosvětlených částech lesů, březích potoků i suchých řečištích. V polích je nepříjemným plevelem, neboť se dobře vegetativně rozmnožuje. Roste na půdách různého zrnitostního složení, často i slehlých, vlhkých i sušších, častěji na bazických, živinami chudších a osluněných stanovištích (BĚLOHLÁVKOVÁ, 2004).

Tussilago farfara je rozšířen na příhodných stanovištích obecně po celé České republice. Poměrně hojný je v Krkonoších, nejvyšších poloh dosahuje i ve Velké kotlině v hrubém Jeseníku (1150 –

1250 m), kde jej už v roce 1910 uvádí Laus. Jeho výskyt i jinde na horách může být přehlížen pro podobnost s *Petasites albus* ve sterilním stavu. Celkově je rozšířen v celé Evropě, na sever od Skandinávie až k 71° s. š., na východ přes Sibiř na Dálný východ, na jih do Španělska, na Sicílii, Kypr a Kavkaz. V horách s. Afriky, v Malé Asii, Íránu, ve Střední Asii, až do Indie. Do Severní Ameriky je zavlečen (BĚLOHLÁVKOVÁ, 2004).

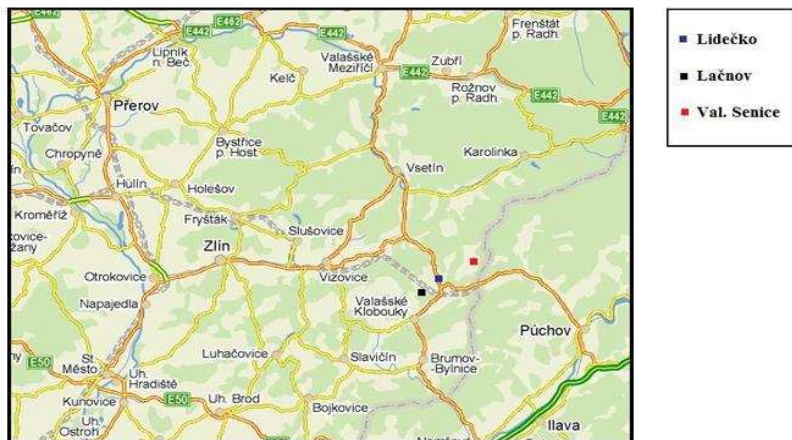
Přízemní listy a květy se užívají jako léčivá droga. V dnešní době jsou drogy *Flos farfarae* a *Folium farfarae* neoficinální kvůli tomu, že obsahují alkaloidy s karcinogenními, hepatotoxickými a genotoxickými účinky (ODYOVÁ, 1993). Přestože obsah škodlivých necidů je skutečně minimální, nedoporučují se podbělové drogy k dlouhodobému používání a také překračování dávek je považováno za nevhodné. Podběl patří k bylinám, které se nepoužívají pro vnitřní aplikaci čerstvé, protože právě sušením se obsah necidů snižuje (JANČA, ZENTRICH, 1996).

Vytrvalé rostliny podbělu setrvávají úporně na stanovišti. Tzv. hnízdo podbělu, je primárně tvořeno z rostliny vyrostlé ze semene. Ostatní výhony raší z kořenových výběžků. Šíří se na zemědělskou půdu z náspů, silničních a železničních svršků a skládek nažkami větrem. Patří mezi velmi nebezpečné plevele s rostoucím výskytem. Podběl má velmi vysokou konkurenční schopnost. Má vysoké nároky na vodu a živiny, a proto při silném výskytu úplně potlačí kulturní rostliny. Škodí ve všech kulturních rostlinách, žádná z nich není schopná se s konkurencí podbělu vyrovnat (MIKULKA et. al., 1999).

Cílem této práce bylo stanovit hmotnost a klíčivost nažek pampelišky lékařské a podbělu lékařského na rozdílných stanovištích a dále vyhodnotit vliv stanoviště na hmotnost a klíčivost nažek vybraných druhů a odhadnout význam generativního rozmnožování vybraných druhů plevelů pro zahradnické kultury.

MATERIÁL A METODIKA

V experimentu byla nejprve provedena charakteristika zájmových území, která se nachází v obcích Lidečko, Lačnov a Valašská Senice (*Obr. 1*). Všechny lokality leží v bývalém okrese Vsetín, nyníjším zlínském kraji a podhůří Beskyd. Zkoumané území spadá podle CULKA et al. (1995) do západokarpatské podprovincie, konkrétně vsetínského bioregionu. V bioregionu se vyskytují podzemní pseudokrasové tvary. Charakteristické jsou šterkové nivy toků, časté jsou sesuvy. Všechna zájmová území jsou na rozhraní chladné a mírně teplé podnebné oblasti.



Obr. 1 Zájmová území

Na těchto třech lokalitách byla vybrána odlišná stanoviště, kde probíhal sběr nažek. Sběr nažek pampelišky lékařské probíhal na stanovišti Lidečko, Lačnov a Val. Senice. V Lidečku byl vybrán ovocný sad, který se skládá převážně ze stromů jabloní, několika třešní a drobného ovoce. Plocha sadu bývá každoročně kosena a pampelišky zde byly v minulosti vypichovány pro potravu domácích zvířat. V současné době se výpich neprovádí. V lokalitě Lačnov se stanoviště nachází ve svažitém terénu, kde je pod stromy trvalý travní porost, který je každoročně několikrát sečen a mezi jednotlivými seči slouží porost pro pastvu. Stáří sadu se odhaduje asi na 40 až 50 let. V minulosti zde bylo kolem 40 stromů, v dnešní době je využíváno pouze několik plodných stromů jabloní, zbytek byl z důvodu neplodnosti a napadení chorobami a škůdci odstraněn. Podobné podmínky má i lokalita Valašská Senice, kde byl prováděn rovněž sběr nažek pampelišky. Nachází se zde hlavně keře drobného ovoce a stromy jabloní, švestek a třešňů. Sad má zároveň funkci odpočinkovou a travní porost je v letním období často sečen.

Pro sběr nažek podbělu byla v Lidečku vybrána 3 stanoviště, z nichž 2 se nachází v blízkosti hlavní komunikace ve středu obce. První místo sběru lemuje chodník a pamětní kamenný kříž v blízkosti hlavní komunikace (dále Lidečko kříž). Druhým místem je zahrádka u rodinného domu několik metrů od prvního místa (dále Lidečko zahrádka). Toto místo bylo ještě před pár lety loukou a po různých stavebních úpravách v obci je část louky změněna na silnici a část slouží jako zatím nezkulturněná zahrádka novostavby rodinného domu. Třetí stanoviště leží v údolí Račné, na místě bývalé skládky, později pro pastvu ovcí. Na tomto území se nevyskytují žádné keře a stromy.

Jako další bylo provedeno samotné stanovení hmotnosti a klíčivosti nažek jednotlivých druhů. Na každém stanovišti bylo vybráno 20 - 40 rostlin od každého druhu a z nich proveden sběr dozrálých nažek. Nažky nasbírané z jednotlivých rostlin každého stanoviště byly promíchány a zbaveny nežádoucích příměsí. Vyčištěný materiál pak byl umístěn do papírových sáčků a uskladněn v laboratoři při pokojové teplotě. Pro potřeby stanovení hmotnosti bylo z každého stanoviště

odpočítáno 100 nažek v 10 opakováních. Poté byly nažky zváženy na analytických vahách KERB 770, s přesností 0,0001.

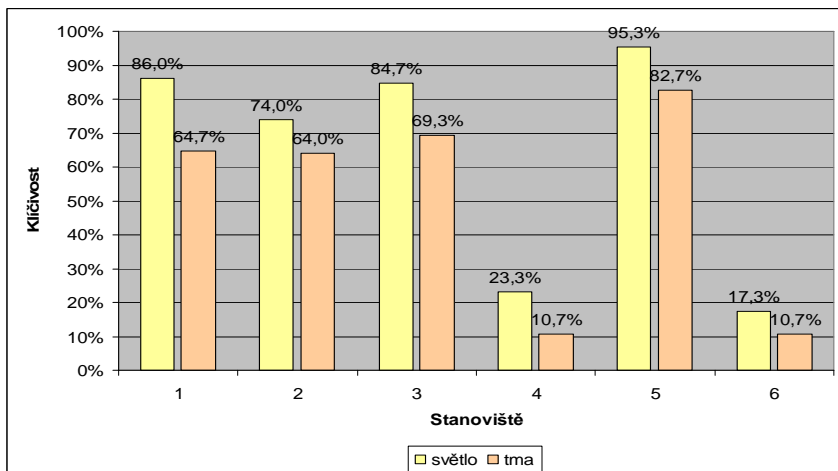
Stanovení klíčivosti nažek bylo provedeno pro každé stanoviště. Bylo použito 10 opakování po 15 nažkách pro všechny varianty. V pokusu byly použity dvě varianty podmínek klíčení. Část nažek klíčila za podmínek denního světla a druhá část nažek zcela za tmy. Vlastní klíčení semen probíhalo v laboratoři s řízenou teplotou, která byla 18 °C (\pm 3°C). Nažky klíčily na třech vrstvách navlhčeného filtračního papíru v Petriho miskách o průměru 90 mm a výšce 15 mm. Termín založení pokusu byl pro rok 5. 12. 2008.

Vyhodnocení klíčivosti bylo provedeno v pěti termínech. První hodnocení bylo provedeno 5 dnů po založení pokusu s klíčením. Termíny vyhodnocení: 10. 12, 15. 12, 19. 12. 2008 a 5. 1., 10. 1. 2009. V každém termínu vyhodnocení byl spočítán počet nově vyklíčených nažek. Získaná data byla zapsána do počítačového programu Excel. Tento program byl použit k vypočítání průměrné klíčivosti a hmotnosti semen, procenta klíčivosti a dále byl využit ke grafickému zpracování dat. Ke statistickému zpracování bylo použito počítačového programu Statistica.Cz, byla aplikována analýza rozptylu a následně metody minimální průkazné difference (LSD).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Při sledování byl zjištěn počet nově vyklíčených nažek pampelišky lékařské v jednotlivých kontrolních dnech ode dne založení pokusu. Nažky pocházející ze stanoviště Lidečko sad, kdy klíčení probíhalo za rozdílných světelných podmínek, měly průměrnou klíčivost za světla 12,9 a za tmy 9,7. Celková průměrná klíčivost nažek klíčících za světla i za tmy byla 11,3. Nažky pocházející ze stanoviště Lačnov sad, kde klíčení probíhalo opět za rozdílných světelných podmínek, měly průměrnou klíčivost za světla 11,1 a za tmy 9,6. Celková průměrná klíčivost nažek klíčících za světla i za tmy byla 10,4. Nažky pocházející ze stanoviště Valašská Senice sad, měly průměrnou klíčivost za světla 12,7 a za tmy 10,4. Celková průměrná klíčivost nažek klíčících za světla i za tmy byla 11,6.

Graf. 1 Procentická klíčivost nažek pampelišky a podbělu v rozdílných světelných podmínkách



- | | |
|----------------------------------|-------------------------------|
| 1 - Lidečko sad – pampeliška | 4 - Lidečko kříž – podběl |
| 2 - Lačnov sad – pampeliška | 5 - Lidečko zahrádka - podběl |
| 3 - Val. Senice sad – pampeliška | 6 - Lidečko Račné - podběl |

Výsledky analýzy rozptylu hmotnosti nažek pampelišky lékařské jsou uvedeny v Tab. 1 a podbělu lékařského v Tab. 2 Rozdíly v hmotnosti nažek byly statisticky průkazné u pampelišky i u podbělu.

V Tab. 3 jsou uvedeny výsledky testování LSD hmotnosti nažek pampelišky z rozdílných stanovišť a v Tab. 4 jsou uvedeny výsledky testování LSD hmotnosti nažek podbělu z rozdílných stanovišť. Nažky pampelišky ze stanoviště Lidečko byly statisticky vysoce průkazně těžší než nažky z ostatních stanovišť. U podbělu byly nažky ze stanoviště Lidečko zahrádka statisticky vysoce průkazně těžší než nažky z ostatních stanovišť.

Tab. 1 Výsledky analýzy rozptylu hmotnosti nažek pampelišky lékařské

	Součet čtverců	Stupně volnosti	Průměrný čtverec	F	p
Abs. člen	0,160367	1	0,160367	777,2367	0,000000
Stanoviště	0,003000	2	0,001500	7,2688	0,002982
Chyba	0,005571	27	0,000206		

Tab. 2 Výsledky analýzy rozptylu hmotnosti nážek podbělu lékařské

	Součet čtverců	Stupně volnosti	Průměrný čtverec	F	p
Abs. člen	0,064042	1	0,064042	874,4671	0,000000
Stanoviště	0,015999	2	0,007999	109,2260	0,000000
Chyba	0,001977	27	0,000073		

Tab. 3 Výsledky testování LSD hmotnosti nážek pampelišky lékařské z různých stanovišť

Stanoviště	HSN (průměr)	Statistická průkaznost ($\alpha = 0,01$)
Lačnov	0,0615	a
Valašská Senice	0,0720	a
Lidečko	0,0859	b

Vysvětlivky: stejná písmena (a, b) znamenají statistickou neprůkaznost, různá písmena (a, b) znamenají statistickou průkaznost mezi variantami.

Tab. 4 Výsledky testování LSD hmotnosti nážek podbělu lékařského z různých stanovišť

Stanoviště	HSN (průměr)	Statistická průkaznost ($\alpha = 0,01$)
Lidečko kříž	0,0269	a
Lidečko zahrádka	0,0787	b
Lidečko Račné	0,0330	a

Vysvětlivky: stejná písmena (a, b) znamenají statistickou neprůkaznost, různá písmena (a, b) znamenají statistickou průkaznost mezi variantami.

Výsledky analýzy rozptylu klíčivosti nážek pampelišky lékařské jsou uvedeny v Tab. 5 a podbělu lékařského v Tab. 6. Rozdíly v klíčivosti nážek byly statisticky průkazné u pampelišky i u podbělu.

Tab. 5 Výsledky analýzy rozptylu klíčivosti nážek pampelišky lékařské

	Součet čtverců	Stupně volnosti	Průměrný čtverec	F	p
Abs. člen	7348,267	1	7348,267	667,1258	0,000000
Stanoviště	16,033	2	8,017	0,7278	0,487643
Svět. Podmínky	81,667	1	81,667	7,4143	0,008696
Stanoviště*Svět. Podmínky	7,233	2	3,617	0,3283	0,721542
Chyba	594,800	54	11,015		

Tab. 6 Výsledky analýzy rozptylu klíčivosti nážek podbělu lékařské

	Součet čtverců	Stupně volnosti	Průměrný čtverec	F	p
Abs. člen	2160,000	1	2160,000	1761,934	0,000000
Stanoviště	1622,700	2	811,350	661,826	0,000000
Svět. Podmínky	38,400	1	38,400	31,323	0,000001
Stanoviště*Svět. Podmínky	2,700	2	1,350	1,101	0,339818
Chyba	66,200	54	1,226		

V Tab. 7 jsou uvedeny výsledky testování LSD klíčivosti nážek pampelišky z rozdílných stanovišť a v Tab. 8 jsou uvedeny výsledky testování LSD klíčivosti nážek podbělu z rozdílných stanovišť. U klíčivosti nážek pampelišky z rozdílných stanovišť nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl. U podbělu byla zjištěna statisticky vysoce průkazně vyšší klíčivost než u nážek ze stanoviště Lidečko zahrádka. Nážky obou druhů statisticky vysoce průkazně více klíčily za podmínek denního světla než za tmy.

Tab. 7 Výsledky testování LSD klíčivosti nažek pampelišky lékařské z různých stanovišť

Stanoviště	Klíčivost (průměr)	Statistická průkaznost ($\alpha = 0,05$)
Lidečko	11,30	a
Valašská Senice	11,55	a
Lačnov	10,35	a
Světelné podmínky	Klíčivost (průměr)	Statistická průkaznost ($\alpha = 0,01$)
Světlo	12,23	a
Tma	9,90	b

Vysvětlivky: stejná písmena (a a, b b) znamenají statistickou neprůkaznost, různá písmena (a, b) znamenají statistickou průkaznost mezi variantami.

Tab. 8 Výsledky testování LSD klíčivosti nažek podbělu lékařského z různých stanovišť

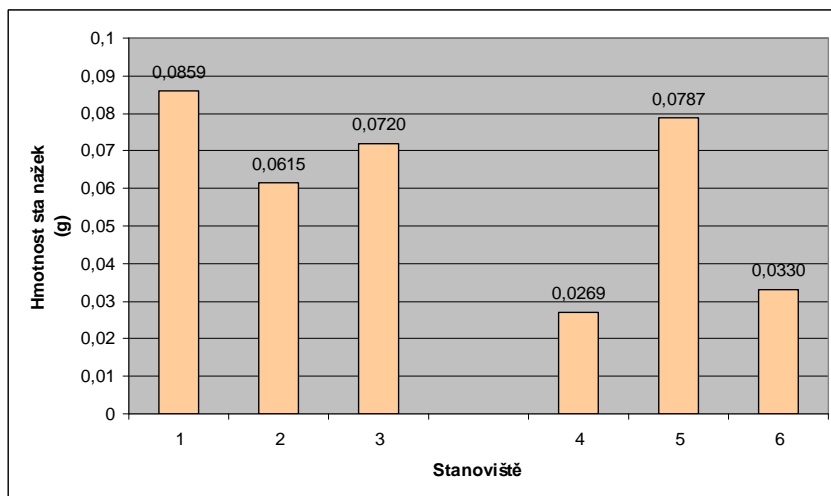
Stanoviště	Klíčivost (průměr)	Statistická průkaznost ($\alpha = 0,01$)
Lidečko kříž	2,10	a
Lidečko zahrádka	13,35	b
Lidečko Račné	2,55	a
Světelné podmínky	Klíčivost (průměr)	Statistická průkaznost ($\alpha = 0,01$)
Světlo	6,80	a
Tma	5,20	b

Vysvětlivky: stejná písmena (a a, b b) znamenají statistickou neprůkaznost, různá písmena (a, b) znamenají statistickou průkaznost mezi variantami.

Z Graf 2 je patrné, že hmotnost nažek pampelišky a podbělu je značně odlišná podle stanoviště. Statisticky vysoce průkazně vyšší byly nažky pampelišky ze stanoviště Lidečko sad a nažky

podbělu z Lidečka zahrádky. Vyšší hmotnost pampelišky na daném stanovišti (Lidečko sad) je nejspíš zapříčiněna minimálními až téměř žádnými pracovními operacemi a nepoužíváním herbicidů. Jelikož je pampeliška konkurenčně velmi zdatnou rostlinou a na dané lokalitě se nevyskytují výrazně škodlivé plevely, není její růst ničím potlačen. Podle MOLATY (1997) rovněž ničím nezkrácená vegetační doba umožnila rostlinám pampelišky lékařské optimální rozvoj vegetativních a následný vývin generativních orgánů schopných zajistit svým nažkám potřebnou výživu, která se projevila jejich vyšší hmotností. To mohlo být příčinou statisticky průkazně vyšší hmotnosti nažek na tomto stanovišti.

Graf 2 Srovnání průměrných hmotností nažek pampelišky a podbělu z různých stanovišť



1 - Lidečko sad – pampeliška	4 - Lidečko kříž – podběl
2 - Lačnov sad – pampeliška	5 - Lidečko zahrádka - podběl
3 - Val. Senice sad – pampeliška	6 - Lidečko Račné - podběl

Na ostatních stanovištích (Lačnov sad, Val. Senice sad) pampelišky byly hmotnosti nažek nižší zřejmě z důvodu kosení porostu ještě před kvetením. Poškozené rostliny jsou patrně nuceny vynakládat větší množství energie na regeneraci nadzemních orgánů a tím je omezena tvorba jejich generativních orgánů. To vše se nejspíš podílí i na snížené hmotnosti nažek.

Výrazně vyšší hmotnost u podbělu lékařského patrně způsobila poloha stanoviště. Stanoviště je ze všech světových stran chráněné před nepříznivými vlivy, nebyly zde nikdy používány herbicidy, kosení porostu a práce s půdou byla minimální, a proto má zde podběl pravděpodobně velmi dobré podmínky k dozrání nažek a jejich vyšší hmotnosti.

Ostatní stanoviště podbělu se výrazně lišily v hmotnostech nažek (Lidečko kříž, Lidečko Račné) od lokality Lidečko zahrádka. Na stanovišti Račné je vysoká konkurence ostatních plevelů, které

patrně způsobuje nižší hmotnosti nažek u podbělu. Podmínky na stanovišti Lidečko kříž jsou patrně pro vývoj nažek také nepříznivé. Toto stanoviště se nachází podél hlavní komunikace, kde dochází v zimním období k velmi značnému solení, které může mít možná vliv na samotnou klíčivost, kdy sůl narušuje pozdější správný vývoj generativních rozmnožovacích orgánů.

Na stanovišti Lidečko zahrádka byly nasbírány nažky s nejvyšší hmotností, to nasvědčuje tomu, že podmínky toho stanoviště jsou nejpříznivější pro vývoj nažek podbělu.

Klíčivost nažek pampelišky na všech stanovištích byla velmi podobná, nebyl tedy zjištěn statisticky průkazný rozdíl. Z *Graf 1* lze vyčíst, že průměrná klíčivost pampelišky je 11,1 nažek z 15 (74,0 %). MOLATA, 2007 uvádí průměrnou klíčivost nažek pampelišky pouze 9,38, tedy 62,5 %. Důvodem této nižší klíčivosti nažek mohou být nižší teploty způsobené vyšší nadmořskou výškou stanovišť nebo možným použitím herbicidů v okolí daných stanovišť. U podbělu byl naopak statisticky vysoce průkazný rozdíl v klíčivosti. Nejvyšší klíčivost nažek byla pozorována na stanovišti Lidečko zahrádka. Ostatní stanoviště měla oproti prvnímu klíčivost zanedbatelnou nejspíš v důsledku špatných podmínek v době dozrávání nažek. Podle získaných dat se můžeme domnívat, že by nízká hmotnost nažek podbělu mohla souviset s následnou nízkou klíčivostí. Byla – li hmotnost nažek výrazně nižší, byla výrazně nižší i klíčivost. Jedním z důvodů mohl být fakt, že nažky nebyly dobře vyzrálé. U pampelišky byla klíčivost na všech stanovištích poměrně vysoká, což si lze vysvětlit lepšími podmínkami pro růst a tvorbu generativních orgánů. Hmotnost i klíčivost nažek na všech stanovištích byla vyšší nejspíš i díky vyšší hmotnosti nažek, které by mohly být lépe vyvinuté a vyzrálé, ne jako u podbělu.

Podle PROCHÁZKY et al. (2005) není světlo většinou podmínkou ke klíčení, ale některá semena klíčí rychleji na světle než ve tmě. Podle toho se dále rozdělují na druhy kladně fotoblastické, které klíčí na světle. Světlo tedy podporuje klíčení semen. Opakem jsou druhy záporně fotoblastické, u kterých je klíčení semen světlem brzděno.

Klíčivost nažek pampelišky lékařské i podbělu lékařského byla pozorována za různých světelných podmínek. Bylo zjištěno, že pampeliška i podběl mají klíčivost za světla vysoce průkazně vyšší než za tmy. Můžeme se domnívat, že u pampelišky i podbělu světlo podporuje proces klíčení. Pampelišku lékařskou i podběl lékařský se dají považovat za druhy pozitivně fotoblastické. Ke stejnému zjištění došel i MOLATA (2007), který pampelišku lékařskou také považuje za pozitivně fotoblastickou.

ZÁVĚR

Bylo zjištěno, že celková průměrná hmotnost sta nažek pampelišky lékařské byla 0,0731 g a 0,0462g u podbělu lékařského. Průměrná hmotnost sta nažek pampelišky na stanovišti Lidečko sad byla 0,0859 g, na stanovišti Lačnov sad to bylo 0,0615 g a ve Valašské Senici 0,0720 g. U podbělu byly průměrné hmotnosti sta nažek rozdílné podle stanoviště, na kterém se nacházely. Na stanovišti Lidečko kříž byla hmotnost 0,0269 g a Lidečko Račné 0,0330 g. V Lidečku zahrádce byla hmotnost o mnoho vyšší než na předchozích stanovištích a to 0,0787 g.

Průměrná klíčivost nažek pampelišky lékařské činila 11,1 z 15 nažek, což je 74 %, u podbělu lékařského tomu bylo 6 nažek z 15, tedy 40 %. Nejvyšší klíčivost pampelišky byla ze stanoviště Valašská Senice sad (77 %), dále Lidečko sad (75 %) a Lačnov (69 %). Na stanovišti Lidečko zahrádka byla zjištěna nejvyšší klíčivost podbělu (89 %). Zbylá dvě stanoviště podbělu měla výrazně nižší klíčivost, Lidečko kříž (17 %), Lidečko Račné (14 %).

Byl zjištěn vliv stanoviště na hmotnost a klíčivost nažek podbělu lékařského. U nažek pampelišky lékařské byl tento vliv prokázán pouze u hmotnosti, u klíčivosti nebyl prokázán statisticky průkazný rozdíl. Na stanovištích, kde nedocházelo k žádným nebo minimálním zásahům do půdy a zároveň se na těchto stanovištích nevyskytovaly výrazně konkurující plevele, byly hmotnosti nažek vyšší než na ostatních stanovištích. Tyto podmínky byly na všech stanovištích pampelišky lékařské a na stanovišti Lidečko zahrádka u podbělu lékařského.

Nažky obou druhů statisticky vysoce průkazně více klíčily za podmínek denního světla než za tmy, což nasvědčuje pozitivně fotoblastické reakci rostlin. Z výsledků je patrné, že generativní rozmnožování je významné pouze na stanovištích s příznivými podmínkami pro růst a vývoj rostlin. Za nepříznivých podmínek klesá klíčivost.

LITERATURA

- CULEK, M. et al. (2005): Biogeografické členění České Republiky. Praha: Enigma, 347 s. ISBN 80-85368-80-3
- DOSTÁL, J. (1989): Nová květena ČSSR 1 a 2. 1. vyd. Praha : Academia, 1563 s. ISBN 80-200-0095-X
- JANČA, J., ZENTRICH, J. A. (1996): Herbář léčivých rostlin 4. Martínková Magdalena. Praha: Eminent, 287 s. ISBN 80-85876-20-5.
- KUBÁT, K. (2002): Klíč ke květeně České republiky. 1. vyd. Praha: Academia, 927 s. ISBN 80-200-0836-5.
- MIKULKA, J. et al. (1999): Plevelné rostliny polí, luk a zahrad. 1. vyd. Praha: Farmář, 160 s. ISBN 80-902413-2-8.

MIKULKA, J., et al. (2005): Plevelé a jejich regulace [online]. [cit. 2009-04-29]. Dostupný z WWW: <<http://www.vurv.cz/weeds/cz/druhy/index.html>>.

MIKULKA, J., KNEIFELOVÁ, M. a kol. (2005): Plevelné rostliny. 2. vyd. Praha: Profi Press, 148 s. ISBN 80-86726-02-9.

MOLATA, T. (2007): Stanovení klíčivosti nažek šířících se druhů z čeledi hvězdnicovitých. Bakalářská práce. Brno: MZLU, 36s.

ODYOVÁ, P. (1995): Velký atlas léčivých rostlin. Martin: Osveta, 192 s. ISBN 80-217-0521-3.

PROCHÁZKA, S, et al. (1998): Fyziologie rostlin. Praha: Academia, 484 s. ISBN 80-200-0586-2.

TŘÍŠKA, J. (1979): Evropská flóra. Praha: Artia, 299 s.

EVALUATION OF ROOT SYSTEM CHARACTERISTICS BY MEASUREMENT OF ELECTRICAL CAPACITY AND IMAGE ANALYSIS

Hajzler, M., Středa, T., Klimešová, J.

Department of Crop Science, Breeding and Plant Medicine, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1/1665, 613 00 Brno, Czech republic

E-mail: martin.hajzler@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this study is to compare a root system size (RSS) in different moisture conditions using two methods of measurement. The first method involves electrical capacity measurement of the root system, the second one image analysis of roots. A sample must be taken by special tube before analyzing. Consequently, the sample must be strain by grain size analysis to remove soil. A captured roots are selected, colored and scanned. Both these methods were used for evaluation of four varieties of spring barley grown in four moisture conditions. The first mentioned method showed that root system of stressed plants dies back earlier. An effect of root system size on above ground biomass wasn't a statistically proven ($r = 0.56$). When evaluating the second-mentioned method statistically significant relation between length and surface of the root system was found ($r = 0.98^{**}$). Between length, surface of the root system and its electrical capacity, was discovered significant correlation ($r = 0.72^{**}$, $r = 0.63^*$).

Key words: Root system size, electrical capacity, image analysis, moisture condition

Acknowledgments: This work was supported by the grant project IGA SP2100061.

ÚVOD

Základním systémem zajišťující příjem živin a vody je kořenový systém. Tyto funkce může zajišťovat pouze zdravý a řádně vyvinutý kořenový systém. Studie zkoumá pomocí dvou metod velikost kořenového systému (VKS) v interakci s produkcí nadzemní hmoty za různých podmínek.

VKS je ovlivňována mnoha faktory, mezi kterými dominuje vliv prostředí, ve kterém se rostlina nachází (vlhkost půdy, zásoba živin v půdě a jejich dostupnost, teplota půdy apod.). Žádný z výše vyjmenovaných faktorů není v přirozených podmínkách stabilní. O to větší jsou nároky na kořenový systém. Rostlina se musí během vegetace vypořádat s nedostatkem eventuelně přebytkem vody v půdě, nedostatkem vzduchu v kořenové zóně. Acuna (2007) uvádí, že při vodním deficitu přestávají kořeny rostoucí z odnožovacího uzlu dříve růst a příjem vody zajišťují zárodečné kořeny. Rovněž rozvrstvení živin v půdním profilu udává směr růstu kořenů. Až 80 % celkové délky kořenového systému je tvořena jemnými kořeny a kořenovými vlásky, které jsou menší než 0,30 mm (Costa et al.2001, Zobel, 2008). Hustota kořenového vlášení závislá na přítomnosti fosforu a dusíku (Foese, 1983). Mezi důležitý faktor ovlivňující VKS patří odrůdová variabilita (Středa, 2009). U pšenice ozimé činí dokonce 8-10 % (Chloupek, 2007). Byly proto vybrány a následně vyhodnoceny odrůdy ječmene jarního, u kterých byl předpoklad k rozdílným velikostem kořenového systému. Pro měření VKS byly pro srovnání zvoleny dvě metody. Metoda měření VKS pomocí elektrické kapacity zohledňuje vliv kořenového vlášení a pouze živou část kořenů. Metoda analýzy digitálního obrazu (považována zpravidla za referenční metodu) zachycuje parametry kořenového systému bez kořenových vlásků.

MATERIÁL A METODIKA

V pokusu byl kořenový systém měřen dvěma způsoby. V průběhu vegetace byla velikost kořenového systému (VKS) měřena pomocí jeho elektrické kapacity. Tato metoda měří přenos elektronů mezi půdou a kořenovým systémem. K přenosu elektronů dochází pouze mezi živou částí kořenového systému, která vykazuje určitou elektrickou aktivitu. K polarizaci dochází u membrán živých buněk a živých buněk jako takových. Mladé kořeny a kořenové vlášení mají tak největší elektrickou kapacitu, protože nemají suberizované buněčné stěny. Leží tak v těsném kontaktu s půdou nebo substrátem a jejich povrch má vysoký obsah vody.

K měření elektrické kapacity byl použit měřicí přístroj VOLTcraft LCR 4080. Měřicí frekvence byla 1 kHz a získané hodnoty byly v jednotkách 1 nF (nanofarad). Měření probíhá tak, že se katoda (kleště) uchytí za stonk rostliny ve výši jednoho centimetru nad půdou. Anoda (jehla) se zasune do půdy v blízkosti rostliny.

Měření bylo prováděno v nádobovém pokusu v areálu Mendelovy univerzity v Brně. Byly použity 4 plastové nádoby o objemu asi 0,19 m³. V těchto nádobách byly v řádkovém výsevu ve sponu 10 x 10 cm pěstovány 4 odrůdy ječmene jarního - Aksamit, Blaník, Aktiv a Prestíge. V každém řádku bylo zaseto 10 semen dané odrůdy. V každé nádobě byly simulovány rozdílné vláhové podmínky. V první nádobě byla půda sycena vodou na optimální vlhkost (dle fyzikálních rozborů použité půdy), ve druhé byl udržován mírně deficitní vláhový režim. Substrát v nádobě třetí byl udržován na hranici fyziologického sucha. Tyto tři nádoby byly chráněny proti úhrnu přírodních srážek plastovým přístřeškem. Čtvrtá nádoba byla kontrolní, nekrytá, s přirozeným vláhovým režimem. U všech nádob byla kontinuálně sledována půdní vlhkost pomocí čidel VIRRIB, s manuálním odečítáním dat. Rostliny nebyly nijak hnojeny a chemicky ošetřovány. Likvidace plevelů byla prováděna mechanicky. Měření byla prováděna v několika termínech, od fáze sloupkování po fázi plnění zrna.

Druhá porovnávací metoda je založena na měření kořenového systému pomocí jeho analýzy obrazu vyplavených a naskenovaných kořenů. Naskenované kořeny byly vyhodnocovány speciálním programem WinRHIZO ve verzi Basic. Tento program hodnotí mimo jiné celkovou délku kořenů, celkový povrch kořenů a povrch kořenu v porovnání na jednotku objemu, počet kořenových čepiček apod.

Odběr vzorků byl prováděn ve fázi plnění zrna. Z každého řádku v každé nádobě byl odebrán speciální vzorkovací sondou blok půdy s kořenovým systémem. Průměr odebraného válce byl 6,5 cm a výšce 30 cm. Z válce byly vytvořeny 2 vzorky o výšce válce 10 cm. Podstatná část kořenového systému se vyskytuje právě v hloubce do 20 cm (Russell, 1977). Vzorky byly uchovávány při teplotě -20°C a poté byly plaveny pod tekoucí vodou nad sestavou sít. Síta měla oka o velikosti 1,6 mm a 0,6 mm, a sloužila k zachycení kamínků, rostlinných zbytků včetně kořenového systému. Kořeny byly následně manuálně vybírány a oplachovány ve vodě. Vyplavené kořeny byly uchovávány ve zkumavkách v roztoku alkoholu a vody v poměru 1:3. Byly obarveny v methylenové modři. K obarvení dochází pouze u živých kořenů. Kořeny byly rozprostřeny v tenké vodní vrstvě tak, aby nevznikaly vzduchové bubliny, které by znehodnocovaly naskenovaný obraz. Počítačový program WinRHIZO vyhodnotil naskenovaný obraz a provedl analýzu. Každý vzorek kořenového systému byl poté vysušen a zvážen.

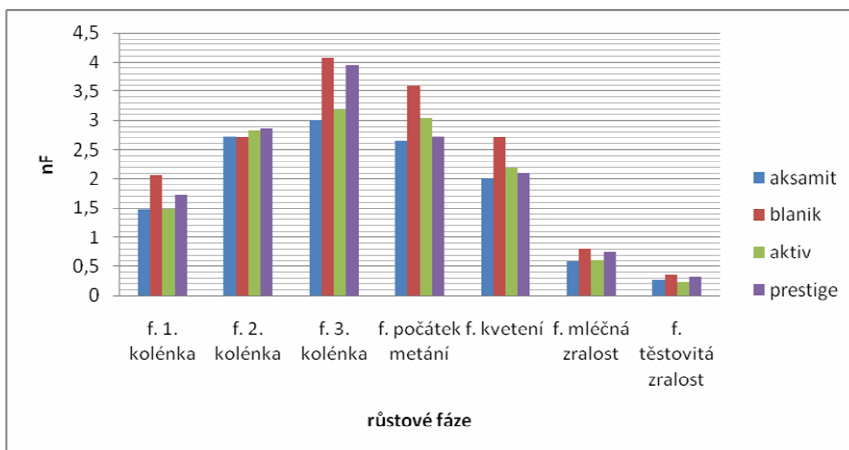
VÝSLEDKY A DISKUZE

Ve čtyřech nádobových pokusech byly pěstovány 4 odrůdy ječmene jarního. Pomocí měření elektrické kapacity kořenů bylo zjištěno, že rostlina v příznivých vláhových podmínkách udržuje růst kořenového systému do fáze metání a kvetení. V grafech č. 1 a 2 je rovněž vidět, že nejsilnější růst je ve fázi sloupkování. Z grafu č. 3 a 4 lze usuzovat, že pokud je rostlina ve stresu, přestává v době metání a kvetení investovat do kořenového systému, který tak postupně odumírá. V nádobě č. 3 byl totiž udržován silný stres suchem. V nádobě č. 4 byl vlivem deštivého počasí v období pokusu (vegetace roku 2010) simulován do značné míry stres opačného směru. Substrát byl často zaplaven vodou a kořeny trpěly zamokřením a nedostatkem vzduchu. U všech vláhových variant

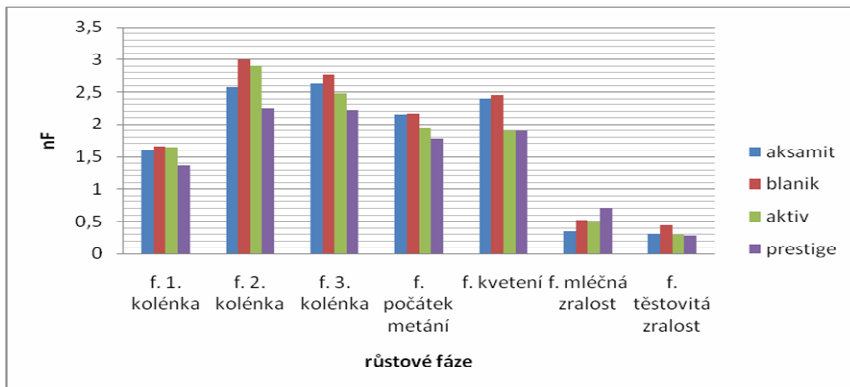
byla však zaznamenána nízká elektrická kapacita kořenů v růstové fázi mléčné a voskové zralosti. V těchto fázích rostlina již ukončuje vegetaci. Ač je nadzemní biomasa fotosynteticky aktivní, kořenový systém je již v silném útlumu.

V příznivých vláhových podmínkách dominuje kořenový systém odrůdy Blaník. I produkci nadzemní biomasy se Blaník spolu s odrůdou Prestige pohybuje na špičce. Prestige v těchto vláhových podmínkách však patří k odrůdám s menším kořenovým systémem. Odrůda Aksamit, u které byl předpoklad k velkému kořenovému systému, měla ve variantě č. 1 malý kořenový systém. U varianty č. 2 měla odrůda Aksamit poměrně velkou elektrickou kapacitu kořenů. Od fáze počátku metání ve čtvrté variantě měla dokonce největší kapacitu, ovšem u všech variant měla tato odrůda nejmenší produkci nadzemní biomasy. Ve stresové variantě suchem měl dominantní kořenový systém Prestige. Na základě výsledků pokusu se tato odrůda vzhledem k produkci nadzemní biomasy zdá být vhodnou k pěstování v extrémních vláhových podmínkách. Při stresu suchem i přemokřením měla totiž největší výnos biomasy (stejně jako ve variantě 1, bez stresu). Pouze ve variantě s mírným stresem měla největší výnos odrůda Blaník.

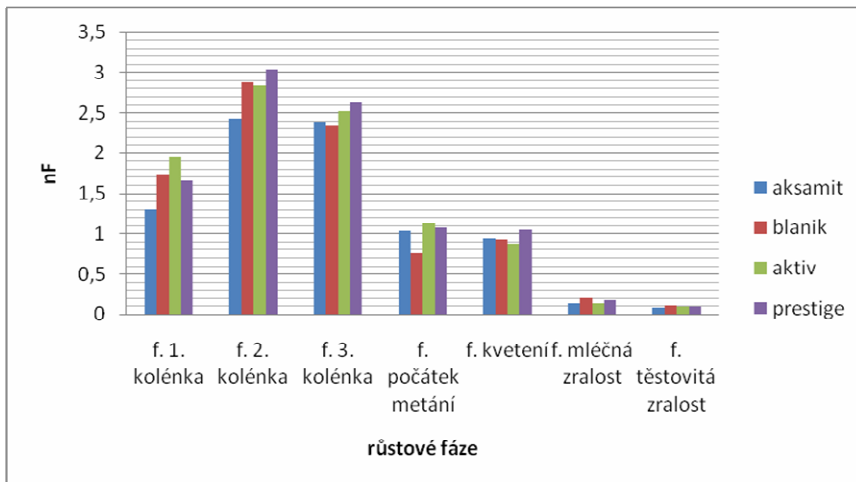
Graf č. 1: Elektrická kapacita kořenu v nádobě č.1, bez vláhového stresu



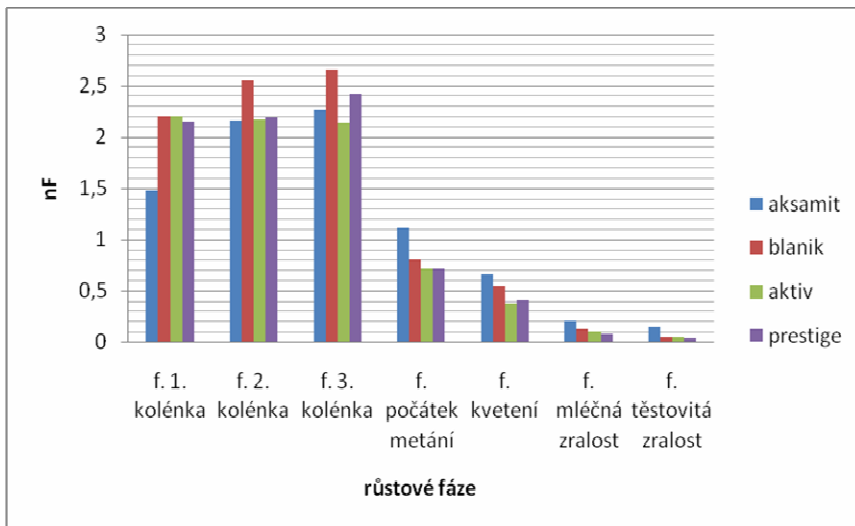
Graf č. 2: Elektrická kapacita kořenů v nádobě č. 2, v mírném vláhovém stresu



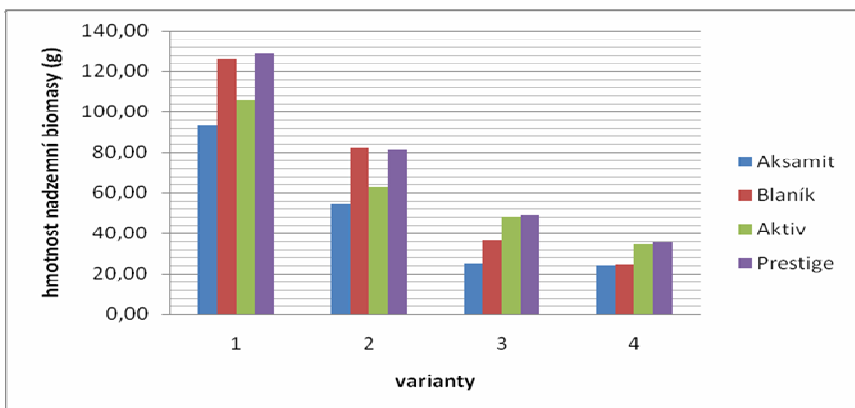
Graf č. 3: Elektrická kapacita kořenů v nádobě č. 3, v silném vláhovém stresu



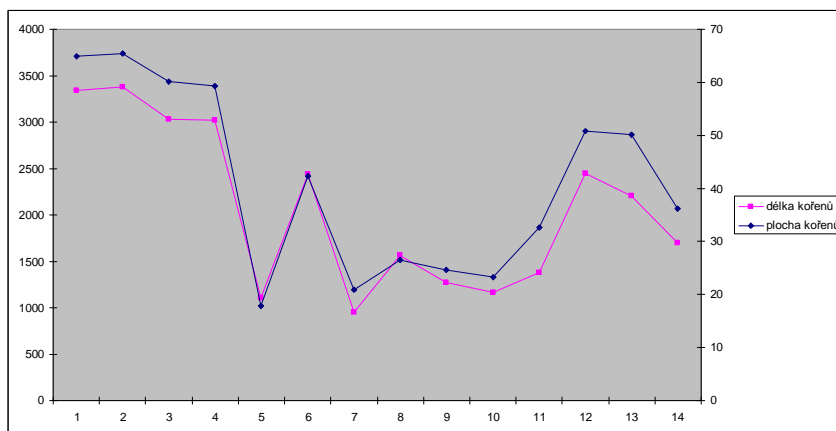
Graf č. 4: Elektrická kapacita kořenů v nádobě č. 4, v přirozených vláhových podmínkách



Graf č. 5: Produkce nadzemní biomasy v různých variantách.



Při vyhodnocování analýzy obrazu byla zjištěna významná korelace mezi délkou kořenového systému a jeho povrchem. Korelační koeficient napříč odrůdami a variantami byl 0,98**. Tato těsná závislost je vidět i z grafu č. 6. Závislost délky či povrchu kořenového systému na velikost jeho elektrické kapacity ovšem už tak těsná není. Korelační koeficient činí 0,72** a 0,63*.



Byla také provedena analýza korelace elektrické kapacity kořenového systému ve vztahu k výnosu nadzemní biomasy. Korelační koeficient napříč odrůdami i variantami činil 0,92**. Ovšem po očištění od pokusných vlivů činil pouze 0,56, Chloupek (1996). Vliv elektrické kapacity na výnos nadzemní biomasy není dle této metody statisticky průkazný.

ZÁVĚR

V práci byla porovnávána velikost kořenového systému (VKS) v různých vláhových prostředích za pomoci dvou metod měření kořenového systému. Metoda měření elektrické kapacity kořenového systému a metoda analýzy obrazu kořenového systému. Obě metody byly použity v nádobovém pokusu na 4 odrůdách ječmene jarního. Ve čtyřech nádobách byl simulován různý vláhový režim. Ve všech vláhových režimech byl pozorován nárůst elektrické kapacity kořenového systému ve fázi sloupkování. Ve stresových variátech (3 a 4) byl značný pokles elektrické kapacity již od fáze metání. Ve variátech bez a s mírným vláhovým stresem byl pozorován významný pokles kapacity až od fáze mléčné zralosti. Z toho lze usuzovat, že rostlina ve vláhovém stresu ukončuje aktivitu kořenového systému dříve než rostlina nestresovaná.

Při analýze obrazu kořenového systému byla pozorována vysoká míra korelace ($r = 0,98^{**}$) mezi délkou a povrchem kořenového systému. Korelace mezi povrchem či délkou a elektrickou kapacitou kořenového systému byla však statisticky neprůkazná. Korelace očištěná od pokusných vlivů rovněž statisticky neprokázala vliv VKS (dle jeho elektrické kapacity) na výnos nadzemní biomasy.

LITERATURA

ACUNA, T., L., B., Genotypic differences in root penetration ability of wheat through thin wax layers in contrasting water regimes and in the field, 2007, *Plant and Soil*, vol. 301, p. 135-149.

COSTA, C., DWYER, L.M., HAMEL, C., MUAMBA, D.F., WANG, X.L., NANTAIS, L., SMITH, D.L., Root contrast enhancement for measurement with optical scanner-based image analysis, 2001, *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne de Botanique*, vol. 79, p. 23-29.

FOEHSE, D., JUNGK, A., Influence of phosphate and nitrate supply on root hair formation of rape, spinach and tomato plants, 1983, *Plant and Soil*, vol. 74, p. 359-368.

CHLOUPEK, O. *Zemědělský výzkum. Učebnice Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně*. 1996. Academia. Praha

CHLOUPEK, O., STŘEDA, T., DOSTÁL, O.: Kvalita odrůd pšenice a velikost kořenového systému. 2007. *Úroda*. Č. 11. Str. 11-15.

RUSSELL, R., S., *Plant root systems their function and interaction with the soil*, 1977, McGraw-Hill Book Company, London, UK.

STŘEDA, T. et al.: Je šlechtění na toleranci k suchu náhodný, nebo záměrný proces? XIII. Seminář šlechtitelů. 2009.

ZOBEL, R., W., Hardware and software efficacy in assessment of fine root diameter distributions. Elsevier, 2008, *Computers and electronics in agriculture*, vol. 60, p. 178-189, ISSN: 0168-1699.

THE CHANGE UTILISATION *SORGHUM BICOLOR* FOR PRODUCE OF BIOGASS

Hodoval J., Pulkrábek J.

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

E-mail: hodoval.jan@af.czu.cz , pulkrabek@af.czu.cz

ABSTRACT

Our objective was to tested five species *Sorghum bicolor* var. sacharatum for produce of biomass (Bovital, Goliath, Sucrosorgho, Maja a Zerberus). Sorghum was harvest in three times, three interlinear ranges on small area. We mesure on sorghum plants height, dry mass, number of node, stem diametr, yield dry mass from hectar. We acknowledge that species *Sorghum bicolor* has differential reaction on. Species Bovital reacted in small interlinear range yield depressed but species Maja reacted yield heighten. Highest was species Goliath 22.03 t/ha dry mass. Sorghum produce a lot of dry mass from hectar for utilization on biogas.

Key words: sorghum, biomass, biogass, yield

Acknowledgments: MSM 6046070901

ÚVOD

Životní prostředí je v posledních desetiletích stále více zatěžováno produkcí CO₂, jež je způsobené velkou měrou spalováním fosilních paliv, jež mají podíl na tvorbě skleníkového efektu (Oerlemans J, 2005). Využíváním rostlinné biomasy jako obnovitelného zdroje energie nedochází k dalšímu zatěžování ovzduší skleníkovými plyny. Jednou z možností, jak nahradit fosilní paliva, je využití biomasy na produkci bioplynu. 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 (Hrnčířik a spol., 1997). V posledním desetiletí se jako hlavní zdroj pro bioplynové stanice využívá pěstování kukuřice na siláž. Zastoupení kukuřice v osevním postupu se stává neúnosné z hlediska její produkční schopnosti a úrodnosti půd. S růstem teplotních výkyvů a častějším výskytem suchého léta se hledají alternativní plodiny jež by těmto podmínkám lépe vyhovovaly. Jednou z možných rostlin, cíleně pěstovanou na produkci bioplynu, jež by mohla nahradit kukuřici v suchých oblastech, je čirok cukrový. Čirok vyniká svojí velkou odolností vůči dlouho trvajícím suchu. Výnosem je srovnatelný a v některých lokalitách předčí i bioplynovou kukuřici (Stuchlík, 1951).

MATERIÁL A METODIKA

V experimentu bylo použito pět vybraných odrůd čiroku cukrového (Bovital, Goliath, Sucrosorgho, Maja a Zerberus) vhodných pro pěstování na produkci biomasy s využitím na bioplyn. Vybrané odrůdy byly pěstovány ve třech meziřádkových vzdálenostech 75, 50 a 25 cm, sklizené ve třech termínech sklizně v časovém rozmezí 14 dní v období od poloviny září do poloviny října. Lokalita pěstování byla obec Počaply, okres Litoměřice. Odrůdy byly vysety 10. června, velikost výsevu 250 tis. semen na ha, hloubka setí 2 cm. Délka vegetace byla 102, 116 a 130 dní. Při sklizni byly sledovány tyto parametry: výška rostlin, obsah sušiny, počet kolének, tloušťka stonku, výnos nadzemní biomasy z ha. Pokus byl proveden ve třech opakováních.

VÝSLEDKY A DISKUZE

U sledovaných odrůd byl nejvyšší výnos sušiny v prvním termínu sklizně u odrůdy Zerberus 15,28 t/ha⁻¹ a nejnižší u odrůdy Bovital 6,34 t/ha⁻¹ (tab. 1). V druhém termínu sklizně byl nejvyšší výnos u odrůdy Goliath 19,77 t/ha⁻¹ a nejnižší u odrůdy Maja 9,7 t/ha⁻¹ (tab. 2). Ve třetím termínu sklizně byl nejvyšší výnos sušiny u odrůdy Goliath 22,03 t/ha⁻¹ a nejnižší u odrůdy Bovital 12,81 t/ha⁻¹ (tab. 3).

Nejmenší rozdíly ve výnosu v rámci rozdílné meziřádkové vzdálenosti byly zjištěny u odrůdy Sucrosorgho 51,36 % a nejvyšší u odrůdy Maja 59,84 %. Meziřádková vzdálenost měla vliv na výšku rostlin a tloušťku stonku. Byla prokázána závislost mezi obsahem sušiny a meziřádkovou vzdáleností (tab.4), počtem kolének a raností jednotlivých odrůd (tab. 5). Odrůda Bovital

v mezirádkové vzdálenosti 75cm ve všech termínech sklizně měla nejnížší počet kolínek a nejvyšší obsah sušiny.

Tab. 1 Produkční ukazatele čiroku při prvním termínu sklizně 20. září 2010

Odrůda	Mezirádková vzdálenost (cm)	Výška rostlin (cm)	Obsah sušiny (%)	Výnos sušiny (t/ha ³)	Počet kolínek (ks)	Tloušťka stonku (mm)
Bovital	75	272	24,26	10,58	9	11
	50	271	24,11	10,29	10	13
	25	270	17,29	6,34	13	13
Goliah	75	310	17,30	10,71	13	14
	50	311	18,30	15,03	13	18
	25	305	18,44	14,28	13	16,5
Sucrosorgho	75	317	17,28	11	11	20
	50	319	16,89	11,18	13	18
	25	313	17,16	8,25	13	22,5
Maja	75	315	17,41	7,31	12	19
	50	310	20,34	11,2	12	19
	25	301	17,61	11,82	11	22
Zerberus	75	317	20,23	15,28	14	18,5
	50	314	20,15	9,15	14	19
	25	301	20,14	11,28	13	19,5

Zdroj: vlastní

Tab. 2 Produkční ukazatele čiroku při druhém termínu sklizně 4. října 2010

Odrůda	Mezirádková vzdálenost (cm)	Výška rostlin (cm)	Obsah sušiny (%)	Výnos sušiny (t/ha ³)	Počet kolínek (ks)	Tloušťka stonku (mm)
Bovital	75	285	28,62	13,26	9	12
	50	282	27,7	12,48	10	13,5
	25	280	28,57	11,17	13	14
Goliah	75	323	22,49	14,17	13	15
	50	327	23,29	19,77	13	18,5
	25	315	22,61	16,74	13	17,5
Sucrosorgho	75	327	20,6	13,3	11	21
	50	329	20,58	13,92	13	19
	25	324	22,73	11,29	13	23
Maja	75	325	21,05	9,7	12	20
	50	320	27,9	16,15	12	20
	25	312	27,43	15,92	11	23
Zerberus	75	329	25,86	17,19	14	19,5
	50	325	24,59	11,93	14	20
	25	312	24	13,58	13	20,5

Zdroj: vlastní

Tab. 3 Produkční ukazatele čiroku při třetím termínu sklizně 18. října 2010

Odrůda	Meziřádková vzdálenost (cm)	Výška rostlin (cm)	Obsah sušiny (%)	Výnos sušiny (t/ha ²)	Počet hlánek (ks)	Ploušťa stonku (mm)
Bovital	75	295	30,9	15,16	9	12
	50	293	30,89	14,61	10	14
	25	293	30,79	12,81	13	14
Goliath	75	335	26,55	17,01	13	15
	50	338	25,58	22,3	13	18,5
	25	327	26,52	20,02	13	17,5
Sucroso rgho	75	339	23,48	15,42	11	21,5
	50	338	24,68	16,96	13	19,5
	25	332	28,53	14,61	13	23
Maja	75	334	28,38	13,36	12	20
	50	336	29,93	17,92	12	20,5
	25	327	30,34	18,2	11	23
Zerberus	75	341	28,17	19,17	14	19,5
	50	337	27,14	13,68	14	20
	25	327	26,93	16,02	13	21

Zdroj: vlastní

Tab. 4 Statistické zhodnocení závislosti obsahu sušiny, vlivu odrůdy, meziřádkové vzdálenosti a data sklizně

	df Effect	df Error	F	P
Odrůda	4	12	1858.939	<10 ⁻⁶
Meziřádková vzdálenost	2	6	81.2617	<10 ⁻⁴
Sklizeň	2	6	5138.118	<10 ⁻⁶
Odrůda x Meziřádková vzdálenost	8	24	212.6208	<10 ⁻⁶
Odrůda x Sklizeň	8	24	50.46959	<10 ⁻⁶
Meziřádková vzdálenost x Sklizeň	4	12	125.5577	<10 ⁻⁶
Odrůda x Meziřádková vzdálenost x Sklizeň	16	48	63.13757	<10 ⁻⁶

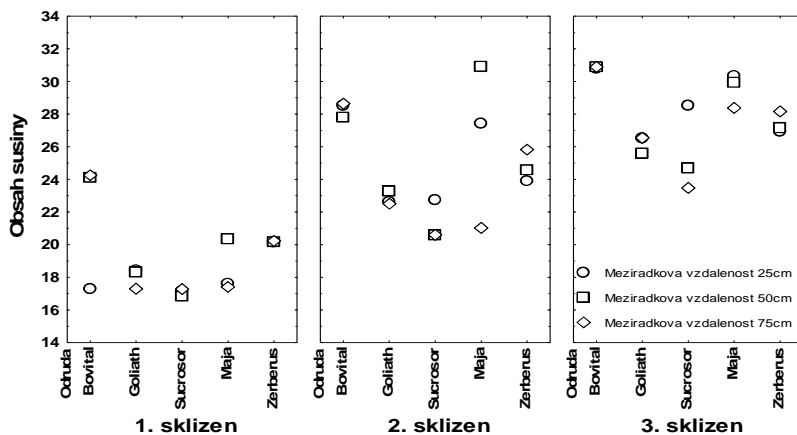
Zdroj: vlastní

Tab. 5 Statistické zhodnocení závislosti počtu kolének, vlivu odrůdy, meziřádkové vzdálenosti a datu sklizně

	df Effect	df Error	F	P
Odrůda	4	12	440.7778	<10 ⁻⁶
Meziřádková vzdálenost	2	6	367	<10 ⁻⁶
Sklizeň	2	6	-19693.4	0.999
Odrůda x Meziřádková vzdálenost	8	24	114.5	<10 ⁻⁶
Odrůda x Sklizeň	8	24	-249.402	0.999
Meziřádková vzdálenost x Sklizeň	4	12	-19690.6	0.999
Odrůda x Meziřádková vzdálenost x Sklizeň	16	48	4.537057	<10 ⁻⁴

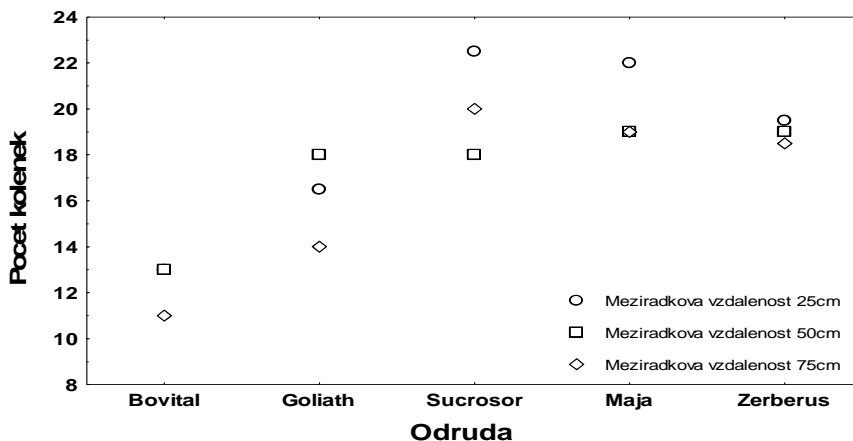
Zdroj: vlastní

Graf. 1 Vliv meziřádkové vzdálenosti na obsahu sušiny u jednotlivých odrůd



Zdroj: vlastní

Graf. 2 Vliv počtu kolének vzdálenosti na obsahu sušiny u jednotlivých odrůd



Zdroj: vlastní

ZÁVĚR

Jednoleté výsledky ukazují, že odrůdy čiroku mají rozdílnou reakci na meziřádkovou vzdálenost. Byla prokázána statistická závislost mezi obsahem sušiny a meziřádkovou vzdáleností, dále mezi počtem kolének odrůdami a meziřádkovou vzdáleností. U odrůdy Bovital došlo při zúžení meziřádkové vzdálenosti k nejvyššímu snížení výnosu z hektaru ze všech testovaných odrůd. Odrůda Maja reagovala nejvyšším zvýšením výnosu.

LITERATURA

Hrnčířik J., Klíma, J., Kupec J. (1997): Aparatura pro volumetrické sledování anaerobního rozkladu organických látek, Chemické listy 91, : 877-883.

Oerlemans J (2005): Extracting a Climate Signal from 169 Glacier Records, Science, volume 308, issue 5722, pp. 675 – 677

Stuchlík V., (1951): O čiroku cukrovém a jeho použití v průmyslové výrobě, nakladatelství Jednotného svazu českých zemědělců, Praha: 7-10.

EFFECT OF FERMENTED MANURE BY FLY CADDICES ON SELECTED SOIL PARAMETERS

Jančich M., Kováčik P.

Department of Agrochemistry and Plant Nutrition, Faculty of Agrobiolgy and Food Resources, Slovak Agricultural University in Nitra, Trieda A. Hlinku 2, 949 01 Nitra, Slovakia

E-mail: m.jancich@gmail.com, peter.kovacik@uniag.sk

ABSTRACT

The effect of pig manure produced on sawdust litter and fermented for seven days by fly caddices on selected soil parameters was examined in vessel experiment conducted in vegetation cage in area of the Slovak Agricultural University in Nitra. The experiment has six treatments (0, NPK, Hnoj₁, Hnoj₂, Hnoj₃, Hnoj₁+NPK). From the obtained results emerge that manure produced this way has positive effects on levels of available nutrients (N, P, K), bulk density (decrease value), total soil porosity, on content of oxidizable carbon and carbon of humic acids and fulvic acids, and significantly increased content of humic acids and fulvic acids which in consequence narrowed the ratio between C_{HA}:C_{FA}.

Key words: pig manure, sawdust, caddices of domestic fly, sunflowers

Acknowledgments: This work was supported by the grant project VEGA No. 1/0654/10

ÚVOD

Najmä od päťdesiatych až po začiatok osemdesiatych rokov minulého storočia bolo v bývalom Československu vykonaných viacero pokusov s maštalným hnojom na základe ktorých sa zistil ich vplyv na niektoré pôdne parametre a na samotné rastliny (Duchoň a Hampl, 1959; Čvančara, 1962; Škarda, 1982). Zisťoval sa i vplyv spôsobov uskladnenia hnoja, termínu aplikácie hnojov na straty živín (Ivanič et al., 1975; Havelka, 1984). Od uvedeného obdobia sa mnohé zmenilo. Znížila sa produkcia hnojov. Viaceré podniky sú špecializované buď na rastlinnú výrobu, alebo na živočíšnu. To spôsobilo, že veľké podniky zaoberajúce sa chovom zvierat mávajú problém so zhodnocovaním vedľajšieho produktu, so zhodnocovaním hnojov. Na základe tejto skutočnosti bolo nutné zaoberať sa myšlienkou výroby hnojov takou technológiou, ktorá umožní ich skladovať dlhodobo, bez výraznejších nárokov na skladovacie kapacity pri minimálnych kvalitatívnych zmenách v čase. Jedným z riešení tohto problému je výroba hnoja pomocou lariev muchy domácej ktoré ho spracujú za 7 dní. Takto získaný hnoj je následne dosúšaný na viac ako 85 % sušinu ktorá ho umožňuje relatívne dlhodobo skladovať v halách. Menej ako 15 % vody v takto vyrobenom hnoji v porovnaní s cca 75 % obsahom vody v štandardne vyrobenom maštalnom hnoji znižuje skladovacie nároky 3,4 krát.

Cieľom predkladaného príspevku je zistiť vplyv takto vyrobeného hnoja na vybrané parametre pôdy.

MATERIÁL A METODIKA

Nádobový pokus sa realizoval vo vegetačnej kletke nachádzajúcej sa v areály Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre (48°18' N, 18°05' E). Do 30 kg nádob sa na jeseň, 7. X. 2009 navážilo 23,5 kg hnedozeme modálnej (Haplic Luvisol) odobratej z 0,3 m humusového horizontu zmiešanej s testovaným hnojom a priemyselnými P a K hnojivami podľa schémy uvedenej v tabuľke 1.

Tabuľka 1 Varianty pokusu

Variant		Hnojivá		
		Prasací hnoj fermentovaný larvami muchy domácej	Jednoduchý superfosfát	60 % KCl
číslo	označenie	t.ha ⁻¹	kg.ha ⁻¹	
1	PK	0	628	100
2	Hnoj ₁	4	0	0
3	Hnoj ₂	6	0	0
4	Hnoj ₃	8	0	0
5	Hnoj ₁ + PK	4	628	100

Agrochemické parametre hnedozeme a fermentovaného hnoja použitých v pokuse uvádza tabuľka 2 a metódy ich stanovenia sú uvedené pod tabuľkou 2.

V pokuse testovaný hnoj sa získal tak, že do čerstvého vyhrnutého prasacieho hnoja s pilinovou podstielkou boli vložené vajíčka muchy domácej. Vyliahnuté larvy ho 7 dní spracovávali. Následne sa zakuklili. Kukli boli pozbierané, hnoj vysušený a pomletý.

Tabuľka 2 Agrochemická charakteristika hnedozeme modálnej a hnoja fermentovaného larvami muchy domácej (100 % sušina)

Vzorka	N _{an}	P	K	Ca	Mg	N _t	C _{ox}	Org.l.	C:N	pH	
										KCl	H ₂ O
	[mg.kg ⁻¹]						(%)				
Pôda	14,3	65,6	437,5	1053	353	1369	1,34	4,61	9,8 : 1	5,68	6,07
Fer.hnoj	1030	4908	24293	5839	451	19686	7,55	92,51	3,8 : 1	7,53	7,67

N_{an} – counted as a sum $N-NH_4^+$ + $N-NO_3^-$; $N-NH_4^+$ – (colorimetrically, Nessler agent); $N-NO_3^-$ – (colorimetrically, phenol acid – 2,4 disulphonic); *P* – (colorimetrically, Mehlich II); *K* – (flame photometry, Mehlich II); *Mg* – (atomic absorption spectrophotometry, Mehlich II); *Ca* (flame photometry, Mehlich II, *N_t* – Kjeldahl, *C_{ox}* – (as oxidizable carbon – Tjurin), *Org. l.*(organic substances) – gravimetric analysis, pH_{KCl} – (1,0 M KCl), pH_{H_2O} – (H₂O)

Pokus mal 6 variantov so štvornásobným opakovaním a bol založený metódou znáhodnených blokov. Na variante 1 neboli aplikované žiadne hnojivá, na variante 2 boli na jeseň aplikované priemyselné PK hnojivá, pričom dávky priemyselných hnojív boli vypočítané na základe rešpektovania obsahu prístupného P a K v pôde a potreby daných živín pre plánovanú úrodu 3,5 t.ha⁻¹ slnečnice. Na variantoch č. 4, 5 a 6 sa testovali stupňované dávky fermentovaného prasacieho hnoja (4, 6 a 8 t.ha⁻¹). Dávka 8 t.ha⁻¹ hnoja (var. 6) reprezentovala dávku dusíka cca 160 kg.ha⁻¹ N, t.j. neprevyšovala maximálnu dávku 170 kg.ha⁻¹ N povolenú v zmysle platnej nitrátovej smernice v zraniteľných územiach SR.

Sto sedemdesiat tri dní od aplikácie hnojivých látok sa odobrali vzorky pôdy a zisťoval sa v nich vplyv hnojov na obsah anorganického dusíka, prístupného P a K, obsah solí (konduktivita), pH_{KCl} , celkového uhlíka, uhlíka humusových látok, uhlíka humínových a fulvokyselín.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Jesenná aplikácia prasacieho hnoja vyrobeného na pilinovej podstielke a fermentovaného 7 dní larvami muchy domácej sa po 173 dňoch v hnedozemi modálnej, bez vplyvu pestovanej rastliny, prejavila štatisticky vysoko preukazným vplyvom na obsah živín (N_{an}, P a K), obsah solí (vodivosť), objemovú hmotnosť pôdy a pórovitosť pôdy. Vplyv na výmennú pôdnu reakciu bol významný (tab. 3).

Aplikáciou 4 t.ha⁻¹ fermentovaného hnoja sa obsah N_{an} nezvýšil (tab. 4). Obsahy solí, prístupného P a K, výmenná pôdna reakcia a celková pórovitosť sa zvýšili štatisticky významne. Objemová hmotnosť sa znížila. Uvedené zistenia, s výnimkou zmeny vodivosti (obsahu solí), sú pozitívne. Napriek negatívne vplyvu fermentovaného hnoja na pôdnu vodivosť, bol tento vplyv pri dávkach 4 a 6 t.ha⁻¹ štatisticky významne menší ako vplyv priemyselných PK hnojív (var. 3 versus var 2). Dávka 8 t.ha⁻¹ fermentovaného hnoja mala identický vplyv na pôdnu vodivosť ako aplikácia priemyselných PK hnojív.

MENDELNET 2010

So stupňovanou dávkou fermentovaného hnoja sa štatisticky významne zvyšovali obsahy N_{an} , P, K, solí a celková pórovitosť, čo potvrdzuje zistenia (Benton Jonesa, 2003). Objemová hmotnosť a výmenná reakcia pôdy sa znižovali čo je dôsledok vylahčovacieho vplyvu organických látok na pôdu a mineralizácie organických látok ktorej výsledkom sú predovšetkým kyslé produkty (Tobiášová a Šimanský, 2009; Szombathová, 2010).

Tabuľka 3 Vplyv zdrojov premenlivosti na vybrané parametre pôdy

Zdroj premenl.	n	N_{an}	P	K	EC	pH_{KCl}	Pór.	Obj.hm.
Variant	5	866,679 ⁺⁺	1 559,047 ⁺⁺	485,014 ⁺⁺	437,413 ⁺⁺	3,675 ⁺	107,408 ⁺⁺	4,740 ⁺⁺
Opakov.	3	1,222	0,671	0,534	1,351	0,474	0,710	0,572
Nekontr. fakt.	15							
Celkom	23							

Najzchutnenejšia pôda s najnižšou pórovitosťou sa zistila na variante kde boli aplikované priemyselné PK hnojivá podporujúce mineralizačný proces a proces zhutňovania pôd. K podobným záverom dospeli Kováčik a Wisniowska-Kielian, (2009).

Aplikáciou fermentovaného hnoja s obsahom 92,5 % organických látok sa obsahy oxidovateľného uhlíka zvýšili (tab. 5), pričom štatisticky významné zvýšenia sa zaznamenali iba na variantoch kde aplikačné dávky boli vyššie ako 4 t.ha⁻¹, t.j. na variantoch kde boli do pôdy zapravené dávky 6 a 8 t.ha⁻¹ (var. 4 a 5). So stupňovanou dávkou fermentovaného hnoja sa nezvyšovali len obsahy C_{ox} ale zvyšovali sa aj obsahy uhlíka humínových kyselín, t.j. obsahy stabilných humusových kyselín, čo je v protirečení s poznatkami Tobiášovej a Šimanského (2009) uvádzajúcich, že pri zapracovaní pôdnych kondicionérov sa zvyčajne zvyšuje predovšetkým obsah nestabilných humusových kyselín. Rozširovanie pomeru $C_{HK}:C_{FK}$ (var. 3, 4, 5 versus var 1) potvrdzuje, že použitie hnoja fermentovaného larvami muchy domácej sa v priebehu 173 dní (t.j. za cca 5,5 mesiaca) prejavuje pozitívne v zmene kvality humusu.

Tabuľka 4 Vplyv aplikácie fermentovaného hnoja na vybrané parametre pôdy

Variant		N_{an}	P	K	Vodivosť ²	pH_{KCl}	Pórovitosť ²	Objem. hm.
		mg.kg ⁻¹			mS.cm ⁻¹		%	g.cm ⁻³
1	0	17,85a	55,0a	378a	0,070c	5,94b	49,60b	1,25bc
2	PK	18,40a	93,8b	458c	0,195d	5,79ab	48,76a	1,29c
3	Hnoj ₁	17,95a	96,3b	428b	0,115b	6,00c	53,01d	1,18ab
4	Hnoj ₂	25,45b	121,9c	483d	0,125c	5,87abc	54,93e	1,15a
5	Hnoj ₃	53,40d	124,4c	508e	0,205e	5,71a	55,68e	1,11a
6	Hnoj ₁ +PK	31,55c	151,3d	554f	0,200de	5,78ab	52,19c	1,20abc
HD _{0,05}		1,418	2,528	8,448	0,008	0,170	0,808	0,090
HD _{0,01}		1,960	3,495	11,679	0,011	0,236	1,118	0,125

Tabuľka 5 Vplyv aplikácie fermentovaného hnoja na vybrané parametre pôdy

Variant		C _{ox}	C _{HK}		C _{FK}		C _{HK} :C _{FK}
č.	označenie	%	%				
1	0	1,485 b	0,224 abc	100,00	0,280 b	100,00	0,80
2	PK	1,360 a	0,208 a	92,86	0,260 a	92,86	0,80
3	Hnoj ₁	1,515 b	0,229 bc	102,23	0,267 ab	95,37	0,86
4	Hnoj ₂	1,615 c	0,241 cd	107,59	0,269 ab	96,07	0,93
5	Hnoj ₃	1,775 c	0,257 d	114,73	0,282 b	100,71	0,91
6	Hnoj ₁ +PK	1,500 b	0,220 ab	98,21	0,274 ab	88,21	0,80
HD _{0,05}		0,0582	0,0185		0,0186		
HD _{0,01}		0,0805	0,0256		0,0257		

ZÁVER

Prasací hnoj vyrobený na pilinovej podstielke a fermentovaný len sedem dní larvami muchy domácej mal pozitívne účinky na obsahy prístupných živín (N, P, K), na objemovú hmotnosť pôdy (znižuje ju), celkovú pórovitosť pôdy, na obsah oxidovateľného uhlíka a uhlíka humínových kyselín a fulvokyselín, pričom výraznejšie zvyšoval obsah humínových kyselín ako fulvokyselín následkom čoho sa pomery C_{HK} : C_{FK} zužovali. Z tohto aspektu možno túto technológiu fermentácie hnoja, ktorej hlavným cieľom je znížiť skladovacie nároky na priestor, považovať za vhodnú.

LITERATÚRA

Benton Jones, J. Jr. (2003): Agronomic handbook. Management of crops, soils and their fertility. CRC Pres : Boca Raton 2003, 450 p., ISBN 0-8493-0897-b.

Čvančara, F. (1962): Zemědělská výroba v číslech (první díl). Praha : SZN 1962, 1172 s.

Duchoň, F. – Hampl, J. (1959): Agrochemie. Praha. SZN Praha 1959, 423 s

Havelka, B. (1984): Hnojivá organická (statková). In: Ivanič, J. – Havelka, B. – Knop, K. Výživa a hnojenie rastlín. Bratislava – Praha: Příroda – SZN, 1984, 488 s.

Ivanič, J. a kol. (1975): Výživa a hnojenie plodín. Bratislava : Příroda 1975, 196 s.

Kováčik, P. – Wiśniowska-Kielian B. (2009): Effect of waste rock wools on the spring barley (*Hordeum vulgare* L.) yield and some soil parameters. Ecological chemistry and engineering A. 16: 5-6. 589 – 597.

Szombathová, N. (2010): Chemické a fyzikálno-chemické vlastnosti humusových látok pôd ako ukazovateľ antropogénnych zmien v ekosystémoch (lokality Báb a Dolná Malanta). SPU v Nitre : Nitra 2010, 96 s., ISBN 978-80-552-0329-4.

Škarda, M. (1982): Hospodaření s organickými hnojivy. Praha : SZN Praha 1982, 324 s.

Tobiášová E. – Šimanský, V. (2009): Kvantifikácia pôdnych vlastností a ich vzájomných vzťahov ovplyvnených antropickou činnosťou. SPU v Nitre : Nitra 2009, 114 s., ISBN 978-80-552-0196-2

BALANCE OF NITROGEN AND MAGNESIUM IN INTEGRATED AND ECOLOGICAL FARMING SYSTEMS

Kajanovičová I., Ložek O.

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

E-mail: ivana.kajanovicova@zoznam.sk, Otto.Lozek@uniag.sk

ABSTRACT

Balance of nitrogen and magnesium was monitored in a small – plot experiment which was established in year 2008-2009 on experimental research base of SPU Nitra – Dolná Malanta. Experiment was under integrated (IS) and ecological (ES) farming system. In both farming systems were two variants: fertilized and non fertilized. Crop rotation was within six-field. We used subsequent crops in the experiment: winter wheat, spring barley, lucerne, pea, silage corn and faba bean. Fertilization was performed on the basis of soil and plant analyses using balance method. In both farming systems was applied farm yard manure (40 t.ha⁻¹). In integrated system were applied except organic manorial also industrial fertilizers: LAV 27, superphosphate and potassium salt. Inputs of nutrient included nutrients from seed, organic and industrial fertilizers, by nitrogen symbiotic fixation, asymbiotic fixation and precipitation. Outputs of nutrients were represented by off-take by crop yield, off-take by by-product. Other outputs of nitrogen were also calculated with leaching, volatilization and denitrification. Then balance was calculated as difference of total inputs and outputs. Percentage nutrient substitution was calculated as total inputs divided total outputs and multiple handrid. In integrated farming system the percentage of nitrogen substitution on non fertilized variant and on fertilized variant was 60.31% and 98.22% respectively. Percentage of nitrogen substitution on ecological farming system reached on the level of 68.05% on non fertilized variant and 84.40% on fertilized variant. Percentage of magnesium substitution amounted on I/O, I/OR, E/O, E/OR was 2.54%; 34.54%; 1.98%; 30.94% respectively.

Key words: balance of nutrients, rotation of crop, nitrogen, magnesium.

Acknowledgments: This work has been supported by the project VEGA no. 1/0457/08 "Balance of inputs and outputs of nutrients in the integrated and ecological farming system on soil."

ÚVOD

Základným parametrom predurčujúcim výsledok bilancie živín v pôde je osevný postup (KOVÁČIK, 2005), v rámci ktorého treba do kolobehu vnášať len také množstvo živín, ktoré zaistí potrebnú produkciu, dobrú kvalitu výroby a udržanie, prípadne zlepšenie pôdnej úrodnosti (BALÍK a i., 2009). Osevné postupy v podmienkach ekologického poľnohospodárstva maximálne využívajú pozitívne účinky predplodín. Nakoľko pri tomto systéme hospodárenia je obmedzené (v organickom hospodárení úplne vylúčené) používanie syntetických chemických látok (priemyselne hnojivá, herbicídy, ochranné látky), je účelné opierať sa o využitie alelopatie a fytosanitárnych účinkov niektorých plodín v osevnom postupe (LÍŠKA, 2008). K základným údajom umožňujúcim bilancovať živiny v pôde sa zaraďujú informácie o množstvách N vstupujúcich do pôdy prostredníctvom symbiotickej a asymbiotickej fixácie, suchým a mokrym spádom, prostredníctvom aplikácie organických hnojív a povolených hnojivových látok (KOVÁČIK, 2001). Vstupy do pôdy v podobe aplikovaných minerálnych a organických hnojív sa radia medzi faktory, ktoré významne vplývajú na tvorbu úrody ako aj jej kvalitu (KOBZA – GÁBORÍK, 2008). Ďalej sú to informácie o stratách N v dôsledku zberu úrody, denitrifikácie, volatilizácie, vodnej a veternej erózie, prípadne vyplavením (KOVÁČIK, 2001). Všeobecne sa konštatuje, že hnojenie poľnohospodárskych plodín, ktoré rastú na pôdach chudobných na horčík, strednými dávkami horčíka, napomáha zvýšenému prijímaniu rastlín nielen Mg, ale aj Ca a iných prvkov, v dôsledku čoho sa zlepšujú podmienky pre rast koreňovej sústavy a zväčšuje sa aktívny sorpčný povrch (ZAUJEC – GONET, 2003). Mg-hnojenie sa prakticky ani v minulosti na našich pôdach výraznejšie nerealizovalo, pretože naše pôdy sú prirodzene dobre zásobené horčíkom (KOBZA – GÁBORÍK, 2010).

MATERIÁL A METODIKA

Poľný pokus sa sledoval v rokoch 2008 – 2009 na maloparcelovom pokuse výskumnej bázy SPU – Nitra – Dolná Malanta, v rámci výskumného projektu VEGA č. 1/0457/08 „Bilancia vstupov a výstupov makroživín v integrovanom a ekologickom systéme hospodárenia na pôde“. Výskumná oblasť patrí do makrooblasti teplej, podoblasti veľmi suchej, okrsku mierne chladnej zimy s priemernou ročnou teplotou vzduchu 9,9 °C a s priemernou teplotou za vegetačné obdobie (IV.-IX.) 16,5 °C. Priemerné ročné atmosférické zrážky boli 547,6 mm (ŠPÁNIK – ŠÍŠKA, 2006). Hodnotené boli dva systémy hospodárenia na pôde, a to integrovaný (IS) a ekologický (ES) systém. V oboch systémoch hospodárenia boli dva varianty: hnojený (OR) a nehnojený (0). Na hnojených variantoch v oboch sústavách sa aplikoval maštalný hnoj ku kukurici na siláž v dávke 40 t.ha⁻¹. V integrovanej sústave boli aplikované okrem organických hnojív aj priemyselne hnojivá, a to LAV 27 (N – 27%, Ca – 8 %) trojitý superfosfát (P – 21%, Ca – 20 %, S – 9,5%) a draselná soľ 60% (K – 50%). Hnojenie sa realizovalo jednorazovo na jeseň, iba dávku dusíka ku pšenici sme v integrovanej sústave aplikovali v delených dávkach na základe rozboru rastlinného materiálu.

MENDELNET 2010

Osevný postup bol šesť honový. Plodiny zaradené v osevnom postupe sú nasledovné: pšenica letná, forma ozimná – BALADA; jačmeň siaty, forma jarná – EPSON; hrach siaty – SANTOS; KUKURICA NA SILÁŽ – LG 23.06; bôb obyčajný – VÝBER a lucerna siata – PÁLAVA. Pôdne vzorky boli odoberané 2 x ročne (na jar a na jeseň) z hĺbky 0 – 0,3 m. Po zbere úrod sa odobrali vzorky hlavných a vedľajších produktov. K zisťovaniu obsahu dusíka a horčíka sme využili chemické analýzy rastlín. Získané výsledky rozborov a využili na výpočet množstva odobraných živín. Medzi vstupy do sústavy sme započítali osivo, organické a priemyselné hnojivá, pri dusíku atmosférickým spadom, symbiotickou a asymbiotickou fixáciou. Výstupy boli odberom živín hlavného a vedľajšieho produktu, pri dusíku sme počítali i s vyplavením, volatilizáciou a denitrifikáciou. Výslednú bilanciu sme vypočítali z rozdielu vstupov a výstupov živín. Na záver sme vypočítali podiel (%) nahradenia úrodou odčerpánych (výstupy) živín dodanými (vstupy) živinami.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Celkové vstupy dusíka v priemere dvoch rokov v integrovanej sústave na nehnojenom variante boli 105,22 kg.ha⁻¹ a na hnojenom 186,99 kg.ha⁻¹. Výstupy dusíka na nehnojenom variante boli 174,02 kg.ha⁻¹ a na hnojenom 190,27 kg.ha⁻¹, čo predstavovalo percento nahradenia na úrovni 60,31% na nehnojenom variante a 98,22% na hnojenom variante (tab. 1).

Tab. 1 Bilancia dusíka v integrovanej sústave (priemer rokov 2008-2009).

	Integrovaná sústava					
	Bilancia živín v kg.ha ⁻¹					
	N		N		N	
	2008		2009		2008-2009	
	I/O	I/OR	I/O	I/OR	I/O	I/OR
Vstupy v kg.ha ⁻¹	94,67	178,66	115,77	195,31	105,22	186,99
Výstupy v kg.ha ⁻¹	166,32	186,43	181,72	194,12	174,02	190,27
Bilancia živín v kg.ha ⁻¹	-71,65	-7,77	-65,95	1,19	-68,80	-3,29
Percento nahradenia živín	56,92	95,83	63,71	100,61	60,31	98,22

Vstupy dusíka v ES boli 127,68 kg.ha⁻¹ na nehnojenom variante a 164,41 kg.ha⁻¹ na hnojenom variante. Výstupy N na nehnojenom variante boli 186,74 kg.ha⁻¹ a na hnojenom 194,65 kg.ha⁻¹. Celková bilancia na E/O predstavuje deficit -59,07 kg.ha⁻¹ a na E/OR -30,24 kg.ha⁻¹. Percento nahradenia živín dosiahlo na nehnojenom variante úroveň 68,05% a na hnojenom 84,40% (tab. 2).

Tab. 2 Bilancia dusíka v ekologickej sústave (priemer rokov 2008-2009).

Ekologická sústava						
	Bilancia živín v kg.ha ⁻¹					
	N		N		N	
	2008		2009		2008-2009	
	E/0	E/OR	E/0	E/OR	E/0	E/OR
Vstupy v kg.ha ⁻¹	108,56	144,40	146,79	184,43	127,68	164,41
Výstupy v kg.ha ⁻¹	166,88	172,19	206,61	217,12	186,74	194,65
Bilancia živín v kg.ha ⁻¹	-58,32	-27,79	-59,82	-32,69	-59,07	-30,24
Percento nahradenia živín	65,05	83,86	71,05	84,94	68,05	84,40

Vstupy horčička na nehnosenom variante v integrovanej sústave boli 0,48 kg.ha⁻¹ a na hnojenom 7,15 kg.ha⁻¹. Výstupy Mg na I/0 18,94 kg.ha⁻¹ a na I/OR 20,72 kg.ha⁻¹, čo potvrdzuje údaje FECENKA – LOŽEKA (2000), podľa ktorých sa v SR počíta s priemerným ročným odberom horčička poľnohospodárskymi plodinami 20 – 25 kg Mg.ha⁻¹. Celková bilancia bola v I/0 -18,46 kg.ha⁻¹ a na I/OR -13,57 kg.ha⁻¹. Percento nahradenia živín na nehnosenom variante bolo len na úrovni 2,54 % a na hnojenom variante a bolo 34,54 % (tab. 3). Napriek tomu obsah horčička zostal v kategórii vysoký.

Tab. 3 Bilancia horčička v integrovanej sústave (priemer rokov 2008-2009).

Integrovaná sústava						
	Bilancia živín v kg.ha ⁻¹					
	Mg		Mg		Mg	
	2008		2009		2008-2009	
	I/0	I/OR	I/0	I/OR	I/0	I/OR
Vstupy v kg.ha ⁻¹	0,48	7,15	0,48	7,15	0,48	7,15
Výstupy v kg.ha ⁻¹	18,00	20,05	19,87	21,39	18,94	20,72
Bilancia živín v kg.ha ⁻¹	-17,52	-12,90	-19,39	-14,24	-18,46	-13,57
Percento nahradenia živín	2,68	35,65	2,42	33,42	2,54	34,54

Tab. 4 Bilancia horčička v ekologickej sústave (priemer rokov 2008-2009).

Ekologická sústava						
	Bilancia živín v kg.ha ⁻¹					
	Mg		Mg		Mg	
	2008		2009		2008-2009	
	E/0	E/OR	E/0	E/OR	E/0	E/OR
Vstupy v kg.ha ⁻¹	0,43	7,10	0,43	7,10	0,43	7,10
Výstupy v kg.ha ⁻¹	19,54	21,22	24,48	24,99	22,01	23,10
Bilancia živín v kg.ha ⁻¹	-19,11	-14,12	-24,05	-17,89	-21,58	-16,00
Percento nahradenia živín	2,20	33,46	1,76	28,42	1,98	30,94

V ekologickej sústave boli vstupy horčička na nehnojenom variante 0,43 kg.ha⁻¹ a na nehnojenom variante 7,10 kg.ha⁻¹. Výstupy na nehnojenom variante boli výstupy 22,01 kg.ha⁻¹ a na hnojenom 23,10 kg.ha⁻¹. Celková bilancia bola na E/0 -21,58 kg.ha⁻¹ a na E/OR -16,00 kg.ha⁻¹. V predchádzajúcom výskumnom období JAKUB (2009) zistil výraznejšie rozdiely v deficite horčička (I/0 -23,9 kg.ha⁻¹, I/OR -21,9 kg.ha⁻¹, E/0 -2,72 kg.ha⁻¹, E/OR 23,4 kg.ha⁻¹), čo bolo spôsobené vyššími odbermi tejto živiny hlavným a vedľajším produktom. Percento vstupov z výstupov bolo v ES nižšie v porovnaní s IS. Predstavovalo nahradenie na úrovni 1,98% na E/0 a 30,94% na E/OR (tab. 4).

ZÁVER

Výpočtom bilancie dusíka a horčička v integrovanej a ekologickej sústave sme zistili negatívne bilancie. Na základe získaných dvojročných výsledkov bol deficit výraznejší v ekologickom systéme ako v integrovanom. Rozdiel bol zistený iba pri dusíku na nehnojenom variante v ekologickej sústave, kde bolo percento nahradenia živín vyššie 68,05% ako v integrovanej sústave 60,31%. To bolo spôsobené väčším percentuálnym zastúpením bôbových rastlín v osevnom postupe, ktoré majú schopnosť vstupovať do symbiotického vzťahu s baktériami rodu *Rhizobium* a tak dokážu fixovať vzdušný dusík. Na hnojených variantoch bolo percentuálne nahradenie dusíka vyššie. V ekologickej sústave predstavovalo 84,40% a v integrovanej sústave dosiahlo úroveň až 98,22%. Percento nahradenia horčička bolo na nehnojených variantoch v oboch sústavách veľmi nízke. V integrovanej sústave dosiahlo hodnotu 2,54% a v ekologickej iba 1,98%. Na hnojených variantoch predstavovala hodnota nahradenia tejto živiny 34,54% v integrovanej sústave a 30,94% v ekologickej sústave. Napriek tomu sa zásoba horčička udržala hodnote v kategórii vysoká.

LITERATÚRA

Balík J., Pavlíková D., Vaňek V., Černý J. (2009): Vliv hnojení na půdní vlastnosti a půdní úrodnost. In: Racionální použití hnojiv zaměřené na půdní úrodnost, organickou hmotu v půdě a použití statkových a minerálních hnojiv. Praha : ČZU, 2009, s. 11-15. ISBN 978-80-213-2006-2

Fecenko J., Ložek O. (2000): Výživa a hnojenie poľných plodín. Nitra : SPU, 2000, 442 s. ISBN 80-7137-777-5

Jakub P. (2009): Bilancia živín v ekologickom a integrovanom systéme hospodárenia na pôde. Dizertačná práca, Nitra : SPU, 2009, s. 105

Kobza J., Gáborík Š. (2008): Súčasný stav a vývoj obsahu makro- a mikroelementov v poľnohospodárskych pôdach slovenska. Bratislava : VÚPaOP, 2008. s. 57. ISBN 978-80-89128-47-1

KOBZA, J. – GÁBORÍK, Š. 2010. Aktuálny stav a vývoj obsahu fosforu, draslíka a horčíka v poľnohospodárskych pôdach Slovenska. In: Agrochémia, roč. 50, 2010, č. 1, s. 3-8. ISSN 1333-2415

Kováčik P. (2001): Metodika bilancie živín v pôdach ekologicky hospodáriacich podnikov. Nitra : SPU, 2001, 44 s. ISBN 80-7137-957-3

Kováčik P. (2005): Výživa a hnojenie rastlín v ekologickom poľnohospodárstve. In: Lacko-Bartošová M. a i.2005. Udržateľné a ekologické poľnohospodárstvo. Nitra : SPU, 2005, 575 s. ISBN 80-8069-556-3

Líška E. (2008): Všeobecná rastlinná výroba. Nitra : SPU, 2008, s. 398. ISBN 978-80-552-0016-3

Zaujec A., Gonet S. (2003): Horčík v pôde. In: Efektívnosť hnojív obsahujúcich síru a horčík vo výžive rastlín. Šoporňa. 2003. s. 131-140.

FILAMENTOUS FUNGI IN GRAIN MAIZE HYBRID (*ZEA MAYS* L.)**Kmoch M., Šafránková I., Krédl Z., Polišíenská I., Pokorný R.**

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

E-mail: martin.kmoch@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of the work was determination of the spectrum of filamentous fungi in hybrid grains maize (*Zea mays* L.) harvested in 2009 from four sites representing the main growing area of grain maize in the Czech Republic. The intensity of fungal infection of grains from conventional hybrids and Bt-derived versions was compared in the experiment. Microbiological method was used for identification of pathogens. The maize grains were infected by *Nigrospora* (48.9%), *Fusarium* (24.3%), *Alternaria* (23.3%) and *Cladosporium* (1.8%), in average. Sporadic occurrence has been reported in the genus *Mucor* (0.5%), *Penicillium* (0.4%), *Chaetomium* (0.4%) and *Trichoderma* (0.3%). Less fungal isolates were isolated from grains of Bt-version, generally. There were not found any statistically significant differences in the number of isolates of the fungal genera *Alternaria*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Chaetomium* and *Trichoderma* occurring on traditional hybrids and their Bt-version. Statistically significant differences between several samples were determined in the genus *Nigrospora*, only. Information concerning occurrence of fungi on maize grains are important in prevention of deterioration in quality and quantity of harvested production.

Key words: Maize, *Fusarium* spp., hybrids**Acknowledgments:** The research project was funded by the Internal Grant Agency, Mendel University in Brno number IP 14/2010.

ÚVOD

Kukuřice setá (*Zea mays* L.) je významnou zemědělskou plodinou, která se v České republice pěstuje především na krmivo pro hospodářská zvířata a jako surovina pro zpracovatelský průmysl, pro potravinářský průmysl se využívá jen okrajově. U kukuřice je v souvislosti s napadením popsáno několik rodů vláknitých hub, které mohou negativně ovlivnit kvantitu a kvalitu sklizené produkce. Některé produkují sekundární metabolity – mykotoxiny, které jsou příčinou akutních a chronických onemocnění hospodářských zvířat a člověka (González et al., 1995). Toxinogenní druhy se vyskytují ve všech hlavních taxonomických skupinách hub (Betina, 1990), z nichž důležitý je rod *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* a *Alternaria* (Niessen, 2007). Informace o houbách vázaných na obilku kukuřice jsou důležité v zabránění nebezpečí mykotoxinové kontaminace produkce (González et al., 1994). Důležitým faktorem pro napadení kukuřice druhy rodu *Fusarium* jsou stresové faktory. Kromě abiotických stresů (sucho, zamokření apod.) je v současnosti hlavním predispozičním faktorem napadení porostů zavíječem kukuřičným (*Ostrinia nubilalis* Hübner). Jednou z možností takto podmíněných ztrát je využívání rezistentních Bt-hybridů, obsahujících v genomu gen z půdní bakterie *Bacillus thuringiensis* (Bt), který indukuje v rostlině tvorbu letálního delta-endotoxinu (Magg et al., 2002).

Cílem studie bylo stanovení spektra patogenů obilky kukuřice a porovnání rozdílů v intenzitě napadení obilek klasických hybridů a jejich Bt-verzí získaných z hlavní oblasti pěstování kukuřice na zrno v České republice v roce 2009.

MATERIÁL A METODIKA

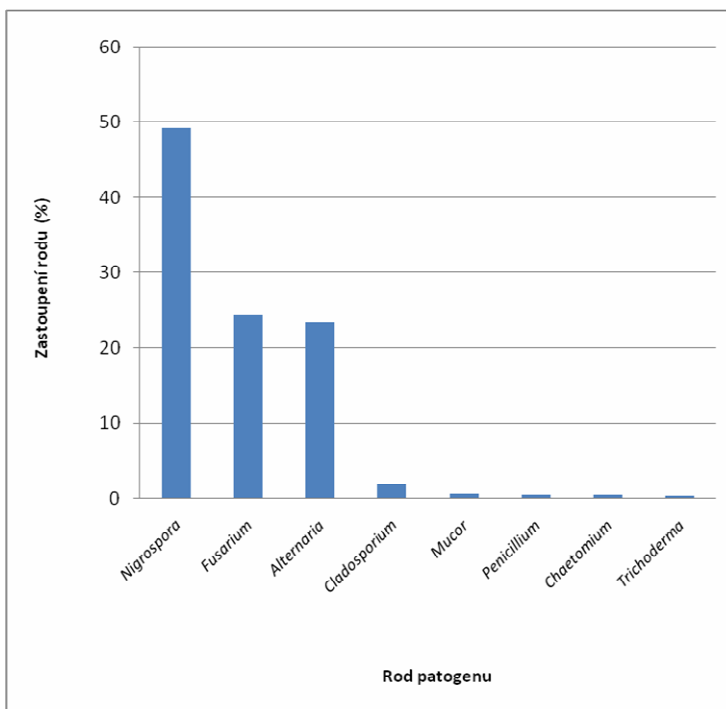
Do experimentu bylo zařazeno 28 vzorků hybridů (5 klasických hybridů a 5 Bt-verzí hybridů) kukuřice seté ze čtyř lokalit (Čejč, Hodonín, Otrokovice a Rostěnice), které reprezentovaly hlavní pěstitelskou oblast kukuřice na zrno v České republice. Na každé lokalitě byly vždy zastoupeny páry (klasický hybrid a odvozená Bt-verze hybridu), vzorky o hmotnosti 1 kg byly získány z přirozeně infikovaných porostů ve fázi plná zralost (BBCH 89). K izolaci patogenů bylo použito 50 obilek z každého vzorku. Obilky byly povrchově dezinfikovány (60 sec, 5% chlornan sodný) a následně dvakrát opláchnuty sterilní destilovanou vodou. Potom byly vyskládány na agar (Potato dextrose agar) do Petriho misek (10 ks/PM; 5 opakování). Inkubace probíhala při laboratorní teplotě 21–23 °C. Po 4–7 dnech byla provedena izolace patogenů z obilek a následně vypěstovány čisté kultury pro identifikaci. K rozlišení jednotlivých hub byla použita mikrobiologická metoda. Pro determinaci byly využity především morfologické znaky konidií a charakteristiky kultur hub.

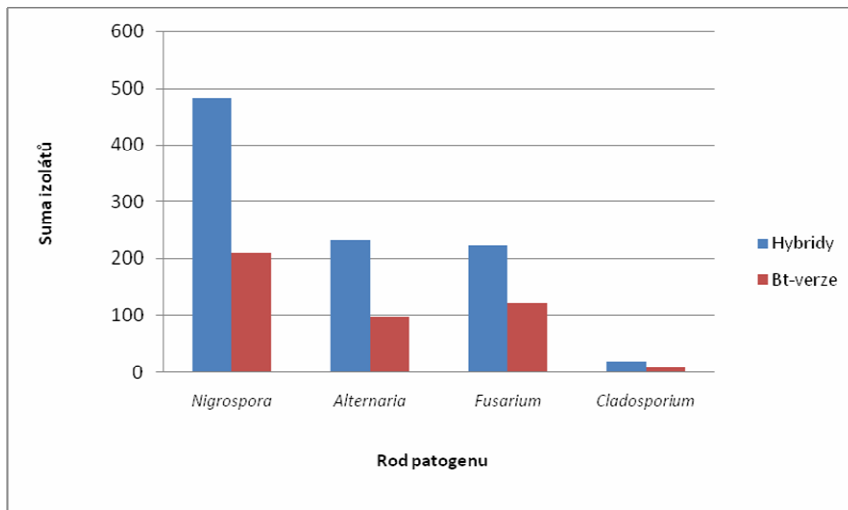
Statistické vyhodnocení rozdílů intenzity infekce patogeny mezi konvenčními hybridy a jejich Bt-verzemi bylo provedeno pomocí analýzy rozptylu a mnohonásobného porovnávání (Tukey-HSD; $\alpha = 0,05$) za použití statistického programu UNISTAT 5.1.

VÝSLEDKY A DISKUZE

V pokusu bylo získáno 969 izolátů vláknitých hub z obilek klasických hybridů a 445 izolátů z obilek Bt-verzí hybridů (celkem 1414 izolátů). Na infekci obilek klasických hybridů kukuřice a jejich odvozených Bt-verzí se podílely rody *Nigrospora* (48,9 %), *Fusarium* (24,3 %), *Alternaria* (23,3 %) a *Cladosporium* (1,8 %). Ojedinělý výskyt byl zaznamenán u rodu *Mucor* (0,5 %), *Penicillium* (0,4 %), *Chaetomium* (0,4 %) a *Trichoderma* (0,3 %) – graf 1.

Graf 1 Zastoupení jednotlivých rodů hub v mykoflóre obilky hybridů kukuřice v roce 2009





Více izolátů hub bylo izolováno z obilek kukuřice klasických hybridů než z jejich Bt-verzí (graf 2).

V tabulkách 1-4 jsou zaznamenány průměrné počty izolátů (intenzita infekce) jednotlivých rodů hub na sledovaných lokalitách získaných z obilek hybridů kukuřice. V řádku je barevně vyznačen pár klasický hybrid (H)/Bt-verze hybridu (Bt). Celkem bylo na všech lokalitách hodnoceno 14 párů hybridů.

Tab. 1 Intenzita napadení hybridů kukuřice houbami rodu *Fusarium* na jednotlivých lokalitách

Hybrid / Lokalita		Otrokovice	Rostěnice	Hodonín	Čejč
DKC 3511	H	1,2 ^{ab}	1,2 ^{ab}	1,2 ^a	3,8 ^a
DKC 3512 YG	Bt	1,4 ^{ab}	1,6 ^{ab}	1,0 ^a	2,8 ^a
DKC 4490	H	1,4 ^{ab}	1,4 ^{ab}	2,2 ^a	1,2 ^a
NC 4702 KDDZ	Bt	1,4 ^{ab}	1,4 ^{ab}	3,0 ^a	1,6 ^a
DK 440	H	1,0 ^{ab}	1,0 ^{ab}	2,0 ^a	NT
DKC 4442 YG	Bt	0,2 ^a	0,2 ^a	0,8 ^a	NT
DK 315	H	2,2 ^b	2,2 ^b	NT	NT
DKC 3946 YG	Bt	1,2 ^{ab}	1,2 ^{ab}	NT	NT
DKC 3420	H	2,6 ^b	NT	NT	NT
DKC 3421 YG	Bt	2,6 ^b	NT	NT	NT

Tab. 2 Intenzita napadení hybridů kukuřice houbami rodu *Alternaria* na jednotlivých lokalitách

Hybrid / Lokalita		Otrokovice	Rostěnice	Hodonín	Čejč
DKC 3511	H	2,8 ^a	2,8 ^a	0,2 ^a	1,8 ^a
DKC 3512 YG	Bt	3,2 ^a	3,4 ^a	0,6 ^{ab}	1,0 ^a
DKC 4490	H	0,8 ^a	0,8 ^a	0,2 ^a	0,8 ^a
NC 4702 KDDZ	Bt	1,8 ^a	1,8 ^a	2,0 ^{ab}	0,6 ^a
DK 440	H	0,4 ^a	0,4 ^a	2,6 ^b	NT
DKC 4442 YG	Bt	2,8 ^a	2,8 ^a	1,8 ^{ab}	NT
DK 315	H	2,8 ^a	2,8 ^a	NT	NT
DKC 3946 YG	Bt	1,4 ^a	1,4 ^a	NT	NT
DKC 3420	H	0,8 ^a	NT	NT	NT
DKC 3421 YG	Bt	2,8 ^a	NT	NT	NT

Tab. 3 Intenzita napadení hybridů kukuřice houbami rodu *Cladosporium* na jednotlivých lokalitách

Hybrid / Lokalita		Otrokovice	Rostěnice	Hodonín	Čejč
DKC 3511	H	0,4 ^a	0,4 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a
DKC 3512 YG	Bt	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0,2 ^a
DKC 4490	H	0,2 ^a	0,2 ^a	0,4 ^a	0,2 ^a
NC 4702 KDDZ	Bt	0,0 ^a	0,0 ^a	0,8 ^a	0,0 ^a
DK 440	H	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	NT
DKC 4442 YG	Bt	0,2 ^a	0,2 ^a	0,6 ^a	NT
DK 315	H	0,0 ^a	0,0 ^a	NT	NT
DKC 3946 YG	Bt	0,0 ^a	0,0 ^a	NT	NT
DKC 3420	H	0,0 ^a	NT	NT	NT
DKC 3421 YG	Bt	0,2 ^a	NT	NT	NT

Tab. 4 Intenzita napadení hybridů kukuřice houbami rodu *Nigrospora* na jednotlivých lokalitách

Hybrid / Lokalita		Otrokovice	Rostěnice	Hodonín	Čejč
DKC 3511	H	4,2 ^{cd}	7,4 ^c	7,4 ^b	3,8 ^a
DKC 3512 YG	Bt	3,4 ^{bcd}	3,6 ^{ab}	6,0 ^{ab}	2,8 ^a
DKC 4490	H	1,2 ^{abc}	1,2 ^a	4,0 ^{ab}	1,2 ^a
NC 4702 KDDZ	Bt	3,2 ^{bcd}	3,2 ^{ab}	3,0 ^a	1,6 ^a
DK 440	H	1,6 ^{abc}	1,6 ^a	3,8 ^{ab}	NT
DKC 4442 YG	Bt	6,0 ^d	6,0 ^{bc}	6,0 ^{ab}	NT
DK 315	H	1,0 ^{ab}	1,0 ^a	NT	NT
DKC 3946 YG	Bt	2,2 ^{abc}	2,2 ^a	NT	NT
DKC 3420	H	0,4 ^{ab}	NT	NT	NT
DKC 3421 YG	Bt	0,0 ^a	NT	NT	NT

Při porovnání počtu izolátů hub rodu *Fusarium* (Tab. 1), *Alternaria* (Tab. 2), *Cladosporium* (Tab. 3), *Mucor*, *Penicillium*, *Chaetomium* a *Trichoderma* v obilkách kukuřice nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl mezi klasickými hybridy a jejich Bt-verzemi na žádné lokalitě. Pouze u rodu *Nigrospora* byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi několika vzorky.

ZÁVĚR

Na infekci obilek klasických hybridů kukuřice a jejich odvozených Bt-verzí se podílely rody *Nigrospora* (48,9 %), *Fusarium* (24,3 %), *Alternaria* (23,3 %) a *Cladosporium* (1,8 %). Ojedinelý výskyt byl zaznamenán u rodu *Mucor* (0,5 %), *Penicillium* (0,4 %), *Chaetomium* (0,4 %) a *Trichoderma* (0,3 %). Obecně méně izolátů hub bylo izolováno z obilek Bt-verzí.

Mezi klasickými hybridy a Bt-verzemi nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl v počtu izolátů hub rodu *Alternaria*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Chaetomium* a *Trichoderma*. Pouze u rodu *Nigrospora* byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi několika vzorky. Předpokládané nižší napadení Bt-verzí hybridů houbami nebylo statisticky potvrzeno.

Informace o výše zjištěných houbách vázaných na obilku kukuřice jsou důležité při šlechtění a výběru vhodného hybridu pro pěstování. Může se tak zabránit nebezpečí zhoršení kvality sklizené produkce vlivem kontaminace nebezpečnými mykotoxiny a pozitivně ovlivnit výnos.

LITERATURA

Betina, V. (1990): *Mykotoxiny. Chémia – biológia – ekológia*. První vydání. Bratislava: Alfa. 288 s. ISBN 80-05-00631-4.

González, H., H., L., Resnik, S., L., Boca, R., T., Marasas, W., F., O. (1995): Mycoflora of Argentinian corn harvested in the main production area in 1990. *Mycopathologia*, 130: 29-36.

Magg, T., Bohn, M., Klein, D., Merditaj, V., Melchinger, A., E. (2003): Concentration of moniliformin produced by *Fusarium* species in grains of transgenic Bt maize hybrids compared

MENDELNET 2010

to their isogenic counterparts and commercial varieties under European corn borer pressure. *Plant Breeding* 122: 322-327.

Niessen, L. (2007): PCR-based diagnosis and quantification of mycotoxin producing fungi. *Int. J. Food Microbiol.* 119, 38–46.

MOLECULAR DETECTION OF VIRAL PATOGENS IN GENERA *CANNA* AND *HOSTA* IN THE CZECH REPUBLIC

Kolářková, A., Šafránková, I., Holková, L.

Department of Crop Science, Breeding and Plant Medicine, Faculty of Agronomy, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xbradaco@mendelu.cz, ivana.safrankova@mendelu.cz,
ludmila.holkova@mendelu.cz

ABSTRACT

The purpose of the study was to evidence occurrence of *Canna yellow mottle virus* (CaYMV) and *Canna yellow streak virus* (CaYSV) in *Canna* spp. and *Hosta virus X* in *Hosta* spp. in the Czech Republic. *Canna* plants showing symptoms such as mottling and veinal streaking and *Hosta* plants showing symptoms such as mosaic, mottling and chlorosis were analyzed by PCR in the year 2010. The viruses were detected from leaves. Symptomatic leaves of *Canna* were collected at the locality Lednice (FH MENDELU BRNO), other samples were purchased at garden centres in areas: South Moravia, Hradec Králové, Central Bohemia and Prague. Symptomatic leaves of *Hosta* were collected at the locality Lednice (FH MENDELU BRNO), Arboretum Brno (MENDELU Brno), horticulture Prague, garden Brno, other samples were purchased at garden centres in areas: South Moravia, Central Bohemia. Occurrence of all of three viruses was confirmed. This is the first report of the identification of CaYMV, CaYSV and HVX in the Czech Republic. Occurrence of CaYMV was 44%, CaYSV was 96% and HVX was 76%. CaYMV and CaYSV were found in mixed infections, too (40%). Viruses, which were detected by PCR method, were compared with sequences available in the GenBank. Identity of sequence CaYMV was > 98%, identity of sequence CaYSV was > 96% and identity of sequence HVX was > 98%.

Key words: *Canna*, *Hosta*, CaYMV, CaYSV, HVX, PCR

Acknowledgments: This project was supported by IGA AF MENDELU Brno No. IP 6/2010 and IGA AF MENDELU BRNO No. TP 4/2010.

ÚVOD

Dosny (*Canna* L., *Cannaceae*) jsou vytrvalé okrasné rostliny s širokými plochými listy a atraktivními květy. Přestože pocházejí z tropických a subtropických oblastí, byla většina kultivarů vyšlechtěna pro mírné klima. S kosmopolitním rozšířením dosen souvisí i zvýšený výskyt virových onemocnění podmíněný vegetativním množením a častými mezinárodními výměnami necertifikovaného materiálu. V počátečním stadiu napadení se na listech objevují světle zelené skvrny a krátké zelené proužky podél žilnatiny (okolní pletivo je tmavší než barevné změny), dochází ke kroucení a deformacím listů. Při vyšší intenzitě napadení skvrny blednou, žloutnou a postupně nekrotizují. Stejně příznaky se mohou projevit i na stoncích. Silně napadené rostliny zůstávají zakrnělé a odumírají. V případě, že infikované rostliny kvetou, jsou květy hůře vybarvené, se světlými skvrnami a proužky. Na dosnách byl dosud zaznamenán výskyt pěti virů, přičemž pouze dva z nich jsou specializované pouze na dosny. *Canna yellow mottle virus* (CaYMV) z rodu *Badnavirus* (YAMASHITA a kol. 1985), byl poprvé zaznamenán v Japonsku v roce 1985, následně také v USA, Velké Británii, Rakousku, Holandsku a Itálii. *Canna yellow streak virus* (CaYSV) z rodu *Potyvirus* byl identifikován teprve v roce 2007 ve Velké Británii, a to na základě konkrétního symptomu, tj. pruhovitosti listů (Monger a kol. 2007). CaYMV a CaYSV jsou často přítomny v rostlinách ve směsné infekci, v tomto případě bývají symptomy mnohem výraznější. Viry se šíří infikovanými rhizomy, přenos hmyzem u nich dosud prokázán nebyl. ALAN (2010) uvádí přenos CaYMV i osivem (ALAN 2010). K identifikaci těchto virových patogenů se používá metoda PCR s využitím specifických primerů. K detekci CaYMV byly navrženy dva druhy primerů CaYMV-3, CaYMV-4 (MOMOL a kol. 2004) a pCan1, pCan2 (BORROTO-FERNÁNDEZ a kol. 2008).

Bohyšky (*Hosta* Tratt.) patří mezi trvalky z čeledi *Liliaceae*. Dlouho byly považovány za rostliny, které nejsou poškozovány škůdci a netrpí chorobami. V posledních letech však bylo zaznamenáno rozšíření nového druhu viru *Hosta virus X* (HVX), který je považován z hlediska výskytu a hospodářského dopadu za velmi významný (LOCKHART 2002). Virus byl poprvé objeven v USA v roce 1996 (CURRIER a LOCKHART 1996). Postupně bylo zaznamenáno značné rozšíření jak v USA, tak v dalších zemích, včetně Kanady, Koreje, Velké Británie a Nového Zélandu. PARK a RYU (2003) prokázali, že HVX je samostatný druh rodu *Potexvirus*. Infekce listů se obvykle projevuje mozaikami, chlorózami, skvrnitostmi podél žilnatiny a nekrotizacemi, přičemž u rostlin často dochází k redukci růstu a změně zbarvení (RYU a kol. 2006). HVX se šíří vegetativním rozmnožováním infikovaných rostlin, nebo mechanicky prostřednictvím zahradnických nástrojů a půdy, ve které jsou úlomky infikovaných rostlinných částí. Přenos HVX živočišnými vektory nebyl dosud zaznamenán. RYU a kol. (2006) prokázali přenos HVX

semenem. K přenosu viru nedochází v době odkvétání rostliny, a když je rostlina v dormanci. K identifikaci tohoto patogenu se využívají dvě metody, serologická DAS-ELISA a molekulární RT-PCR. PARK a RYU (2003) vyvinuli metodu detekce pomocí RT-PCR s HVX - specifickými primery PHVXCP5 a PHVXCP3.

Nejnovější výzkumy jsou zaměřeny na rozšíření a identifikaci těchto tří virů v různých kultivarech r. *Hosta* a r. *Canna*. Symptomy na listech bohyšek a dosen poukazovaly na to, že se tyto viry v České republice pravděpodobně vyskytují, avšak systematické vyhledávání a identifikace dosud prováděny nebyly. Cílem práce bylo zjistit výskyt CaYMV, CaYSV a HVX v ČR.

MATERIÁL A METODIKA

V roce 2010 byly odebrány listy dosen a bohyšek se symptomy ukazujícími na výskyt virových patogenů. V případě dosen byly za symptomy považovány barevné změny na listech, hlavně podél žilnatin (Obr. 1, 2) a listové deformace (Obr. 3). Symptomy na bohyškách byly skvrnitosti podél žilnatin (Obr. 4), mozaiky (Obr. 5), chlorózy (Obr. 6) a deformace listové plochy (Obr. 7). Vzorky symptomatických dosen byly sbírány na lokalitě Lednice (ZF Mendelu Brno), ostatní vzorky pocházely ze zahradnických center v Jihomoravském, Královéhradeckém, Středočeském kraji a Praze. Vzorky symptomatických bohyšek byly odebírány na lokalitách Lednice (ZF Mendelu Brno), Botanická Zahrada a Arboretum Brno (BZA Mendelu Brno), zahradnictví (lokalita Praha), zahrádky (lokalita Brno), ostatní vzorky pocházely ze zahradnických center v Jihomoravském a Středočeském kraji. Při vlastním odběru byly nástroje desinfikovány v 70 % etanolu, tak aby byl co nejvíce eliminován přenos viru mezi jednotlivými rostlinami.

K molekulární detekci CaYMV, CaYSV a HVX byla použita metoda PCR. K extrakci nukleové kyseliny bylo použito 100 mg rostlinného pletiva pocházejícího ze symptomatických listů. Vzhledem k tomu, že CaYSV a HVX jsou RNA viry, kdežto CaYMV DNA virus, musely být použity rozdílné metody extrakce. DNA byla extrahována pomocí DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Německo) a k PCR byla použita Hot Start DNA Polymerase (Finnzymes, Finsko). RNA byla extrahována pomocí RNeasy Plant Mini Kit a k PCR byl použit One step RT PCR Kit (oba Qiagen, Německo). K detekci CaYMV byly použity specifické primery CaYMV-3, CaYMV-4 (MOMOL a kol. 2004) a pCan1, pCan2 (BORROTO-FERNÁNDEZ a kol. 2008). K detekci CaYSV specifické primery Canna-F1 a Canna-R2 (MONGER a kol. 2007). K detekci HVX specifické primery PHVXCP5 a PHVXCP3 (PARK a RYU 2003). PCR produkty byly analyzovány elektroforézou na 1% agarózovém gelu. Pro potvrzení jednotlivých virů byla provedena sekvenace vybraných vzorků. Jednotlivé produkty byly izolovány z gelu, přečištěny pomocí MinElute Gel Extraction Kit (Qiagen, Německo) a sekvenovány. Přečtené sekvence byly porovnány se sekvencemi v GenBank.



Obr. 1: Počáteční stadium napadení



Obr. 2: Vyšší intenzita napadení



Obr. 3: Deformace čepele listu



Obr. 4: Skvrnitosti podél žilnatiny



Obr. 5: Mozaika na listu



Obr. 6: Chloróza listu

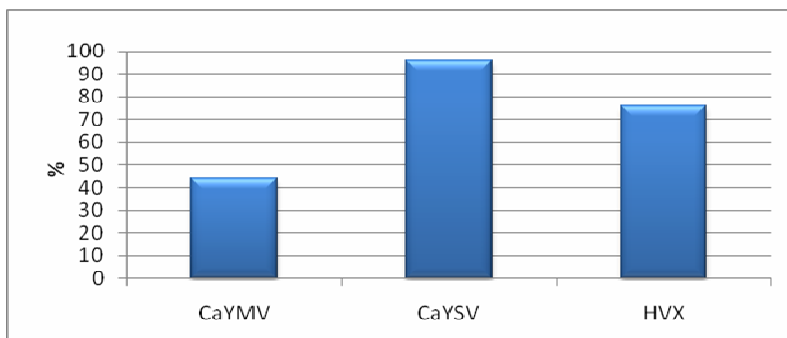


Obr. 7: Deformace (zvrásnění) listu

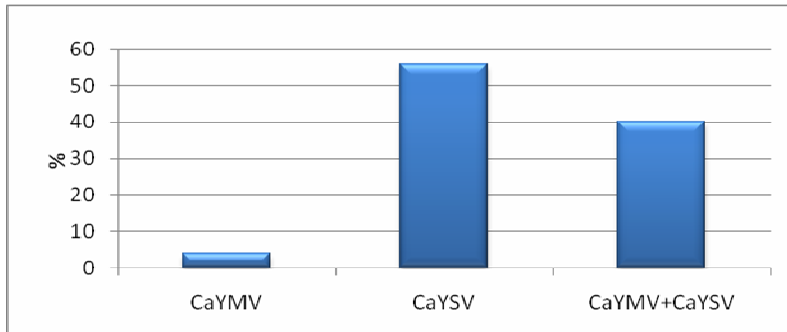
VÝSLEDKY A DISKUZE

Celkem bylo získáno 25 rostlin dosen z pěti lokalit a 25 rostlin bohyšek z šesti lokalit. Výskyt CaYMV byl potvrzen v 44 %, CaYSV v 96 % a HVX v 76 % (Graf 1). Druhy, které napadají dosny, byly v rostlinách přítomny buď samostatně, nebo ve směsné infekci. Výskyt jednotlivých druhů virů ve vybraných lokalitách a výsledky analýz jsou shrnuty v Tabulce 1 a Tabulce 2.

Graf 1: Výskyt CaYMV a CaYSV na dosnách a HVX na bohyškách v České republice v roce 2010 (%)



Graf 2: Zastoupení jednotlivých druhů virů (v %) v testovaných vzorcích listů dosen



MENDELNET 2010

Tab. 1: Molekulární detekce CaYMV a CaYSV na různých druzích a kultivarech rodu *Canna* v jednotlivých lokalitách České republiky v roce 2010

	PCR			PCR	
	CaYMV	CaYSV		CaYMV	CaYSV
Vzorky Lednice			Nákup Jihomoravský kraj		
<i>Canna</i> 'Wyoming'	-	+	<i>Canna indica</i> 3	+	-
<i>Canna</i> 'Spitfire'	+	+	<i>Canna indica</i> 4	+	+
<i>Canna</i> 'Perkeo'	+	+	<i>Canna indica</i> 5	+	+
<i>Canna</i> 'Picher'	-	+	<i>Canna indica</i> 6	+	+
<i>Canna</i> 'Centanaire de Rozain – Bourcharlat '	-	+	<i>Canna indica</i> 7	-	+
<i>Canna</i> <i>coccinea</i>	-	+	<i>Canna indica</i> 8	-	+
<i>Canna</i> <i>lanuginosa</i>	-	+	Nákup Královehradecký kraj		
<i>Canna</i> <i>indica</i> 1	-	+	<i>Canna</i> 'Cleopatra'	+	+
<i>Canna</i> <i>indica</i> 2	-	+	<i>Canna</i> 'Perkeo'	+	+
<i>Canna</i> <i>indica</i> <i>lososová</i>	+	+	<i>Canna</i> 'Lucifer'	-	+

MENDELNET 2010

Nákup Praha			<i>Canna 'Wyoming'</i>	-	+
<i>Canna indica 9</i>	-	+	<i>Canna 'Black knight'</i>	-	+
<i>Canna indica 10</i>	+	+	<i>Canna 'Louis cotton'</i>	-	+
Nákup Středočeský kraj					
<i>Canna indica 11</i>	+	+			

Tab. 2: Molekulární detekce HVX na různých druzích a kultivarech bohyšek v jednotlivých lokalitách České republiky v roce 2010

	PCR		PCR
Vzorky Lednice	HVX	Vzorky zahrádky Brno	HVX
<i>Hosta 'Stiletto'</i>	+	<i>Hosta neznámá 1</i>	-
<i>Hosta 'Blue Wedgewood'</i>	+	<i>Hosta neznámá 2</i>	-
<i>Hosta 'Blue Angel'</i>	+	<i>Hosta neznámá 3</i>	-
<i>Hosta undulata 'Univittata'</i>	-	<i>Hosta neznámá 4</i>	-
<i>Hosta Krossa regal'</i>	-	Nákup Jihomoravský kraj	
<i>Hosta 'Patriot'</i>	+	<i>Hosta neznámá 5</i>	+

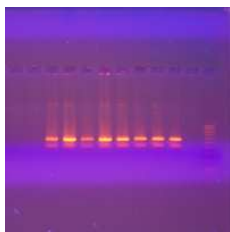
Vzorky Arboretum Brno			<i>Hosta neznámá 6</i>	+
<i>Hosta ventricosa</i>	+		<i>Hosta neznámá 7</i>	+
<i>Hosta minor</i>	+		<i>Hosta neznámá 8</i>	+
<i>Hosta fortunei</i>	+		<i>Hosta neznámá 9</i>	+
<i>Hosta 'DuPage Delight'</i>	+		Nákup Sřídedočeký kraj	
<i>Hosta 'Wide Brim'</i>	+		<i>Hosta sieboldiana</i>	+
Vzorky Praha				
<i>Hosta 'Mourning Dove'</i>	+			
<i>Hosta 'Scooter'</i>	+			
<i>Hosta 'Sum and Substance'</i>	+			
<i>Hosta 'Paul's Glory'</i>	+			

Rostliny dosen byly nejčastěji napadeny CaYSV (96 %, samostatně či ve směsné infekci), což se shoduje s výsledky uváděnými MONGER a kol. (2007), kteří zaznamenali 100% napadení rostlin virem CaYSV. CaYMV byl v rostlinách samostatně přítomen pouze ve 4 %, ve většině případů byl nalezen ve směsné infekci s CaYSV (Graf 2). U rostlin, které se nacházely na lokalitě Lednice, nebyly před odstraněním nadzemních částí (na podzim) nástroje opakovaně desinfikovány, a proto se předpokládá přenos virů mezi rostlinami navzájem. Tento předpoklad se potvrdil u CaYSV (Tab. 1). U CaYMV byly napadeny pouze 3 rostliny z 10 (Tab. 1), což může být způsobeno obtížnějším přenosem tohoto viru.

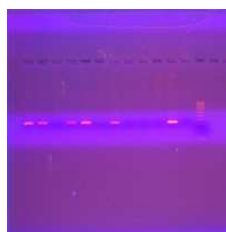
Symptomy na listech bohyšek nebyly v porovnání s rostlinami dosen tak výrazné, i přesto byl výskyt HVX prokázán i u rostlin s méně viditelnými symptomy. Sedmdesát šest procent rostlin bohyšek, ze kterých byl odebrán symptomatický materiál, bylo napadeno HVX. Při srovnávání lokalit, kde byly vzorky odebrány bylo zjištěno, že nejvíce napadené byly rostliny zakoupené

v zahradnických centrech. Na lokalitách Lednice a BZA Brno, kde se jedná o sbírky různých kultivarů bohyšek, byl výskyt potvrzen u 9 rostlin z 11 (Tab. 2). U těchto dvou sbírek může být výskyt HVX způsoben i tím, že probíhá vzájemná výměna rostlinného materiálu. Rostliny odebrané ze zahrádek (Brno) byly na přítomnost HVX negativní. Je zde možnost, že byly tyto rostliny vysazeny ještě před rokem 2000, než došlo k masivnímu rozšíření viru HVX.

Přítomnost CaYYSV, CaYMV a HVX byla potvrzena metodou druhově-specifické PCR. U CaYMV byly porovnávány primery CaYMV-3, CaYMV-4 (MOMOL a kol. 2004) a pCan1, pCan2 (BORROTO-FERNÁNDEZ a kol. 2008). V případě primerů CaYMV-3 a CaYMV-4 docházelo k tvorbě nespecifických produktů (Obr. 8). Pro další analýzy byly proto používány pouze primery pCan1 a pCan2. Amplifikované fragmenty měly velikost 315 bp (Obr. 9) pro CaYMV, 691 bp (Obr. 10) pro CaYYSV a 720 bp (Obr. 11) pro HVX. Pro další potvrzení specificity PCR byly PCR produkty pozitivních vzorků sekvenovány. Získaná sekvence byla srovnána se sekvencemi dostupnými v GenBank. Identita srovnávané sekvence CaYYSV byla více než 98 %, identita srovnávané sekvence CaYYSV byla více než 96 % a identita srovnávané sekvence HVX byla více než 98 %.



Obr. 8

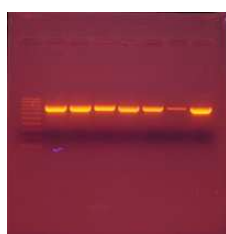


Obr. 9

Obr. 8, 9: Vizualizace CaYMV pomocí specifických primerů CaYMV-3 a CaYMV-4 (obr. 8) a pCan1 a pCan2 (Obr. 9)



Obr. 10



Obr. 11

Obr. 10, 11: Vizualizace CaYYSV pomocí specifických primerů Canna-F1 a Canna-R2 (Obr. 10) a vizualizace HVX pomocí specifických primerů PHVXCP5 a PHVXCP3

ZÁVĚR

Na základě analýz provedených v roce 2010 byl potvrzen výskyt CaYYSV, CaYMV na dosnách a HVX na bohyškách v České republice. Nejvíce byly rostliny dosen napadeny CaYYSV, což je

MENDELNET 2010

velice zajímavý výsledek, vzhledem k tomu, že se jedná o virus objevený teprve v roce 2007. Byl také potvrzen výskyt směsných infekcí, CaYMV a CaYSV, což se shoduje s údaji profesora LOCKHARTA (2010, písemné sdělení) z univerzity v Minnesotě, který uvedl, že je velmi obtížné nalézt jednotlivé viry v rostlinách samostatně. Identifikace CaYMV, CaYSV a HVX byla provedena metodou PCR, byla tak ověřena funkčnost této metody pro izoláty vyskytující se v České republice.

Virové patogeny na doznách a bohyškách způsobují závažné ztráty, ochrana proti nim je velmi obtížná. Ochrana proti virům, které jsou přenášeny mechanicky, spočívá v preventivních opatřeních. Je důležité, aby veškeré nástroje a zařízení, které přijdou do styku s infikovaným materiálem, byly patřičně očištěny a desinfikovány, tak aby nedošlo k přenosu virů mezi jednotlivými rostlinami. Největší potenciál má ozdravování virózního materiálu metodou mikropropagace *in vitro*. Bohužel distribuce netestovaného materiálu stále převažuje nad snahou některých pěstitelů prodávat pouze zdravé rostliny z explantátových kultur. Přesto se tato metoda dostává stále více do podvědomí jak pěstitelů, tak i zákazníků a představuje cestu, jak zamezit rozšiřování virových patogenů.

LITERATURA

BORROTO-FERNÁNDEZ, E.G., MAGHULY, F., FELLNER, A., LAIMER, M. (2008): Determination of viral infections in an Austrian collection of *Canna indica*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 115 (3): 102–103.

CURRIER, S., LOCKHART, B.E.L. (1996): Characterization of a potexvirus infecting *Hosta* spp. *Plant Dis.* 80: 1040–1043.

LOCKHART, B.E.L. (2002): Differential response of *hosta* cultivars to infection by *Hosta virus X* potexvirus - a basis for practical disease management. *Acta Horticulturae* 568: 69–72.

HOLLINGS, M., STONE, O.M. (1971): *Tomato aspermy virus*. CMI=AAB Descriptions of Plant Viruses No. 79, Wallingford.

LOCKHART, B.E.L. (1988): Occurrence of *Canna yellow mottle virus* in North America. *Acta Hort.* 234: 69–72.

MARINO, M. T., RAGOZZINO, E., ALIOTO, D. (2009): *Canna yellow mottle badnavirus* (CaYMV) in Central and Southern Italy. *Protezione delle Colture*. 1: 18–21.

MOMOL, M.T., LOCKHART, B.E.L., DANKERS, H., ADKINS, S. (2004): *Canna yellow mottle virus* detected in *canna* in Florida. *Plant Health Progress*. 1–3.

MONGER, W.A., HARJU, V., SKELTON, A., SEAL, S.E., MUMFORD, R.A. (2007): *Canna yellow streak virus*: a new potyvirus associated with severe streaking symptoms in *Canna*. *Archives of Virology* 152 (8): 1527–1530.

PARK, M.H., RYU, K.H. (2003): Molecular evidence supporting the classification of *Hosta virus X* as a distinct species of the genus *Potexvirus*. *Archives of Virology* 148: 2039–45.

MENDELNET 2010

RYU, K.H., PARK, M.H., LEE, M.Y., LEE, J.S. (2006): Characterization and seed transmission of Hosta virus X isolated from Hosta plants. *Acta Hort.* 722: 91–93.

SAMUITIEN, M., NAVALINSKIENE, M. (2008): Occurrence of *Cucumber mosaic cucumovirus* on ornamental plants in Lithuania. *Zemdirbyste (Agriculture)*. 95 (3): 135–143.

YAMASHITA, S., NATSUAKI, T., DOI, Y., YORA, K. (1985): *Canna yellow mottle virus*, a non-enveloped small bacilliformvirus in *Canna* sp. *Ann Phytopathol Soc Japan* 51: 642–646.

ALAN, P. (2010): “Canna” We Save the Canna???. [cit. 2010]. Dostupné: <http://longwoodgardens.wordpress.com/2010/08/24/canna-we-save-the-canna/>

LOCKHART (2010): písemné sdělení

DIFFERENCES OF RELATIVE AIR HUMIDITY IN SELECTED STAND SITES

Krédl Z., Středa T., Pokorný P., Kmoch M.

Department of Crop science, Breeding and Plant Medicine, Faculty of Agronomy, Mendel university in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: kredl.zdenek@centrum.cz

ABSTRACT

The results of air humidity measuring in microclimate of winter wheat and winter rape stands compared with lawn stand are presented in this contribution. Experimental data were obtained on the experimental field station in Žabčice. Data recording was ensured by using a portable weather station containing HOBO registrars. Air humidity was measured on the ground and the effective stand height and 2 meters above ground. The evaluation was conducted in day and night differences. The results indicate that wheat and rape had higher air humidity of 30% on the ground, and on the effective height of up to 10-25%. Crops of wheat and oilseed rape reduced fluctuations in humidity, which was at the lawn at 30-40%. Humidity amounted to 100% in these stands from May to June.

Key words: stand microclimate, wheat, rape, air humidity

Acknowledgments: The research was financially supported by the project number IP 11/2010 of the Internal Grant Agency of the Mendel University in Brno.

ÚVOD

V průběhu procesu výměny hmoty a energie mezi aktivním povrchem a nejnižšími vrstvami ovzduší se do atmosféry dostává značné množství tepla a vodní páry. To má za následek změnu teploty a vlhkosti vzduchu uvnitř porostu a těsně nad ním. Tímto způsobem si každé rostlinné společenství utváří své vlastní mikroklima a mohou tak být výrazně ovlivněny klimatické poměry stanoviště. Mikroklima je tedy omezeno na vrstvu vzduchu přiléhající k zemskému povrchu. Podle Litschmanna a Hadaše (2003) lze proto předpokládat, že režim meteorologických dějů se bude lišit podle toho, jak se liší charakter jednotlivých rostlinných společenstev včetně charakteru jejich okolí. Specifické mikroklima se tedy nevytváří pouze výjimečně, ale je formováno celou řadou parametrů. Mezi tyto parametry můžeme považovat rozsah a architekturu porostu, aktivitu průduchového aparátu, bilanci vody, snížení proudění vzduchu v porostu, radiální bilanci aj.

Z pohledu trendu pěstování a zvyšujících se ploch obilnin a řepky je funkční znalost o mikroklimatických dějích uvnitř porostů více než aktuální. Výstupy mikroklimatického měření mohou tak být použity jako vstupní údaje pro matematické modelování procesu tvorby výnosu a produkce biomasy. Matějka et al. (2002) uvádějí, že výsledky monitorování mikroklima porostů rostlin rovněž slouží jako podklad pro predikci výskytu patogenů a živočišných škůdců. Pro účely predikce výskytu patogenů a živočišných škůdců polních plodin jsou běžně používána data ze standardních klimatologických stanic ČHMÚ. S ohledem na všechny abiotické faktory ovlivňující mikroklima porostů je tato metoda nutně zatížena nepřesnostmi. Z uvedeného vyplývá, že pro precizní vymezení nároků, pro účely monitoringu a predikce výskytu škodlivých činitelů je nezbytné realizovat mikroklimatická měření meteorologických prvků a současné pozorování patogena ideálně přímo v porostu konkrétní plodiny (Středa, Rožnovský, Pokladníková, 2009). Cílem příspěvku bylo vymezit odlišnosti ve vlhkosti vzduchu u porostních stanovišť polních plodin, především řepky ozimé a pšenice ozimé. Kvantifikovat rozdíly mezi vlhkostmi vzduchu v porostu sledovaných plodin a vlhkostí vzduchu nad TTP, který je standardním povrchem na klimatologických stanicích ČHMÚ.

MATERIÁL A METODIKA

Experimentální údaje byly získány na polní pokusné stanici Mendelovy univerzity v Brně v katastru obce Žabčice v porostu pšenice ozimé, řepky ozimé a trvalého travního porostu (dále jen TTP). Jedná se tedy o porostní stanoviště lišící se významně charakterem aktivního povrchu. Experimentální rovinatá plocha je situována v nivě řeky Svatky v průměrné nadmořské výšce 184 m n. m. Podle agroklimatického členění (Kurpelová et al., 1975) je lokalita řazena do makroblasti teplé, oblasti převážně teplé, podoblasti převážně suché, okrsku s poměrně mírnými zimami.

MENDELNET 2010

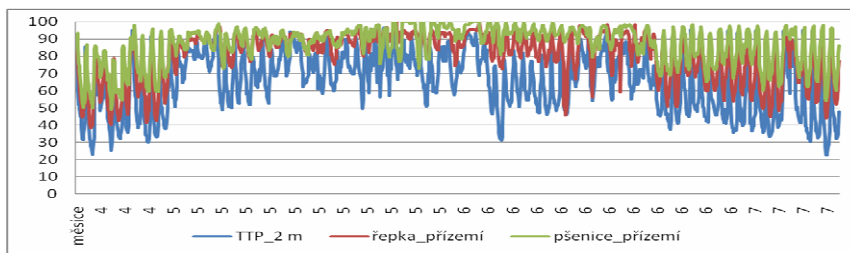
Z hlediska zemědělské kategorizace se jedná o kukuřičnou výrobní oblast. Roční teplotní normál v období 1961 - 1990 činí 9,2 °C, roční srážkový normál 483 mm.

Záznam dat byl v každé plodině a TTP zajištěn pomocí mobilní meteorostanice osazené elektronickými registrátory teploty a vlhkosti vzduchu HOBO (výrobce Onset Computer, USA) umístěných ve stínítku. Pro zajištění celého vertikálního profilu porostu byly registrátory umístěny ve třech úrovních (při zemi, v efektivní výšce porostu a 2 metry nad zemí) s výjimkou TTP, kde nebylo měřeno v tzv. efektivní výšce porostu. Efektivní výška porostu je výška odpovídající zhruba 70 % výšky porostu. Tato část porostu je významná z pohledu výskytu patogenů a živočišných škůdců. TTP se považuje jako standard, kde travní porost musí být kosěn na 10 cm výšky. Z tohoto pohledu nebylo možné měřit u TTP v efektivní výšce porostu. Po týdenní kalibraci snímačů byly všechny meteorologické prvky souvisle zaznamenávány od 7. 4. do sklizně řepky (13. 7.) ve čtvrt hodinových intervalech. Pro postižení případných odlišností tyto intervaly plně dostačují. Hodnoty meteorologických prvků z registrátorů byly zapisovány do LOGGERu a stahovány za pomoci obslužného programu do přenosného počítače. Pro účely tohoto příspěvku byly vybrány a hodnoceny údaje průměrných hodinových vlhkostí vzduchu v období od 21. 4 do 11. 7. 2010 (počítáno aritmetickým průměrem ze čtvrt hodinových údajů). Údaje byly dále rozděleny na noční a denní amplitudy podle východů a západů slunce v měřeném období (den 6 – 20 h, noc 21 – 5 h). Výsledky porostních měření ve všech výškách byly porovnány s TTP ve 2 m (standardní výška při měření na klimatologických stanicích).

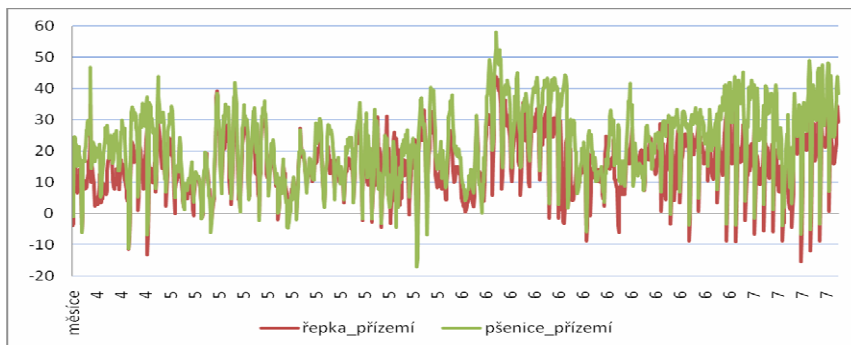
VÝSLEDKY A DISKUZE

Průběh hodinových vlhkostí vzduchu za dne v porostech řepky a pšenice v přízemí a TTP ve 2 m znázorňuje Graf 1. Je patrné, že porosty pšenice a řepky měly mnohem vyšší vlhkosti vzduchu, než TTP. Současně porost pšenice dosahoval na přelomu května a června stoprocentní nasycení vzduchu vodní parou. Výkyvy vlhkostí vzduchu se nejvíce projevují u TTP a v průměru dosahují 30 – 40 %. Diference mezi těmito stanovišti jsou zřejmé z Grafu 2. Relativní vlhkost vzduchu v porostech pšenice i řepky byla v průměru o 20 % vlhčí než v TTP, v některých měsících až o 30 – 40 %. Distinkce vlhkostních poměrů mezi pšenicí a řepkou v přízemí se pohybují na úrovni 5 %.

Graf 1. Průběh hodinových relativních vlhkostí vzduchu v % ve dne u porostů v přízemí a TTP ve 2 m za sledované období

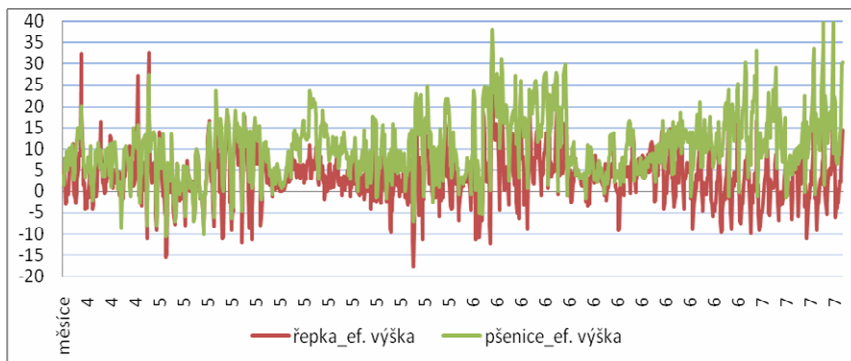


Graf 2. *Diference hodinových relativních vlhkostí vzduchu v % ve dne mezi porosty v přízemí a TTP ve 2m*



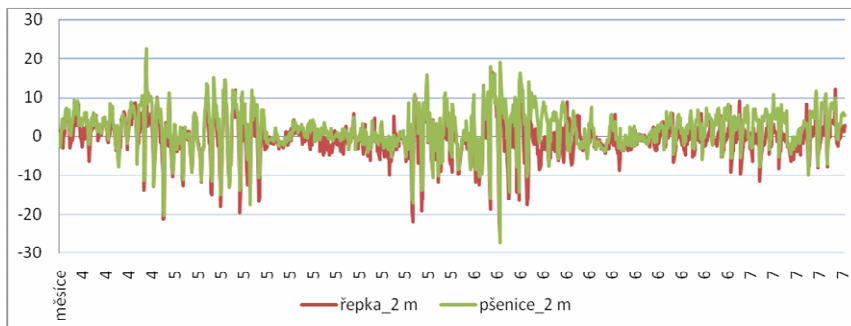
Graf 3. zachycuje rozdíly rozdílů vlhkostních poměrů během světelné části dne mezi porosty v efektivní výšce a TTP ve 2 m, a také mezi porosty samotnými. Pšenice si v porostu s postupujícími měsíci držela stále vyšší vlhkost oproti TTP. Nejvyšší diference jsou patrné v první polovině června a začátkem července, které dosahují 30 %. Mnohem nižší vlhkostní distinkce se projevují v porostu řepky ve srovnání s TTP. Zde se dynamika vlhkostních průběhů v jednotlivých měsících liší. Řepka měla současně nižší vlhkost vzduchu v porovnání s porostem pšenice o 5 – 10 % , nejvíce se však projevila až v měsíci červenci, kde rozdíl činil až 15 % .

Graf 3. *Diference hodinových relativních vlhkostí vzduchu v % mezi porosty v ef. výšce a TTP ve 2m během světelné části dne*



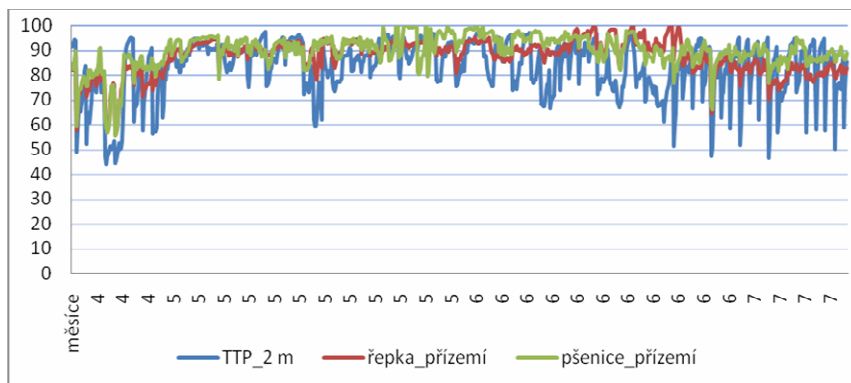
Vývoj vlhkostí vzduchu v denních hodinách mezi porosty a TTP ve výškách 2 m prezentuje Graf 4. Vlhkostní režimy obou plodin mají podobnou tendenci. Ve srovnání s TTP se objevují kladné i záporné odchylky bez výrazného trendového charakteru

Graf 4. Diference hodinových relativních vlhkostí vzduchu v % mezi porosty ve 2m a TTP ve 2m během světelné části dne

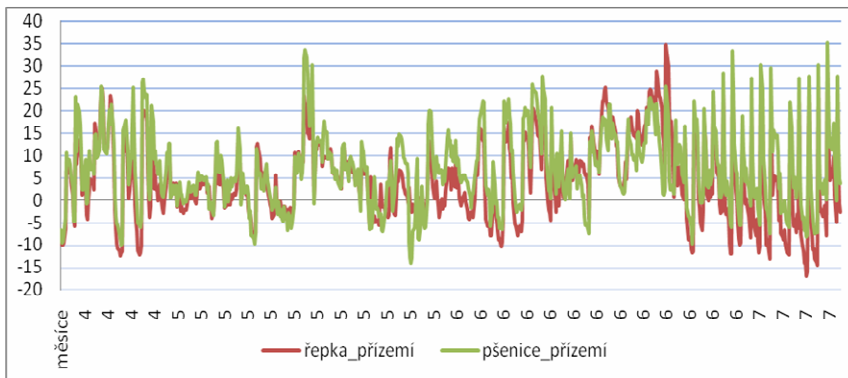


Noční průběhy hodinových teplot mezi porosty v přizemí a TTP ve 2 m ve sledovaném období demonstruje Graf 5. Porosty pšenice a řepky měly opět vyšší vlhkost, nicméně za pozornost zde stojí to, jak dovedou porosty plodin tlumit výkyvy vlhkostí vzduchu. Tyto výkyvy se u TTP nejvíce projevovaly od měsíce června a dosahovaly až 40 %, zatímco vlhkostní rozdíly mezi porosty plodin jsou nepatrné, přesto jsou mezi nimi zajímavé odlišnosti. Porost pšenice dosáhl stoprocentní relativní vlhkosti vzduchu v úseku od poloviny května do začátku června, kdežto porost řepky o dva týdny později, a to až v polovině června. Můžeme tak usuzovat na to, že se vlhkost vzduchu v porostu řepky zvýšila až po úplném zapojení porostu a konečném nárůstu nadzemní biomasy. Diference vlhkostí vzduchu v uvedených porostech znázorňuje Graf 6. Relativní vlhkost vzduchu v porostech polních plodin zde byla v průměru o 10 % vyšší, v maximech dosahovaly rozdíly až 30 %.

Graf 5. Průběh hodinových relativních vlhkostí vzduchu v % v noci u porostů v přizemí a TTP ve 2 m za sledované období

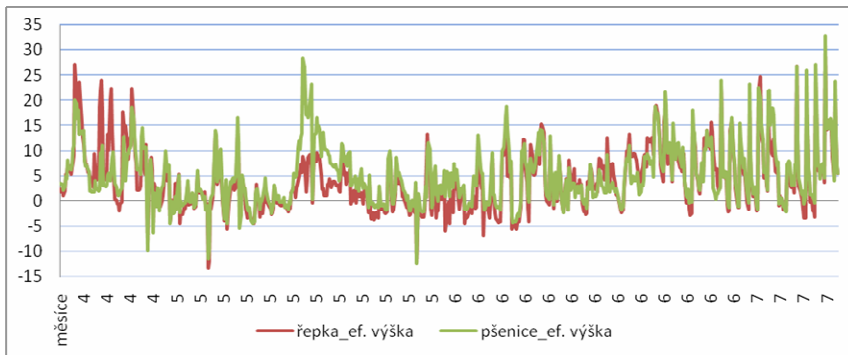


Graf 6. *Diference hodinových relativních vlhkostí vzduchu v % v noci mezi porosty v přízemí a TTP ve 2m*



Při porovnání relativních vlhkostí vzduchu během tmavé části dne u porostů v efektivní výšce a TTP ve 2 m můžeme vidět, že pšenice i řepka si drží vyšší vlhkost v průměru o 10 %, v maximech až o 25 %.

Graf 7. *Diference hodinových relativních vlhkostí vzduchu v % v noci mezi porosty v ef. výšce a TTP ve 2m*



Vývoj vlhkostí vzduchu v nočních hodinách u porostů pšenice, řepky a TTP ve výškách 2 m prezentuje Graf 8. Je patrné, že vlhkost vzduchu ve 2 m nad trávníkem byla na přelomu dubna a května a na přelomu května a června vyšší, a to v průměru o 10 %. Přesně opačné hodnoty jsou zřetelné při pohledu na konec června a průběh měsíce července, zde byly porosty pšenice a řepky zase o 10 % vlhčí. Z tohoto pohledu je zřejmé, v jaké míře ovlivňuje charakter aktivního povrchu, a tedy vlastnosti porostního stanoviště vlhkost vzduchu i nad porostem.

LITERATURA

Litschmann T., Hadaš P. (2003): Mikroklima vybraných porostních stanovišť. Seminář "Mikroklima porostů", Brno, 26. března 2003: 59 – 65. ISBN 80-86690_05-9

Matějka F., Rožnovský J., Hurtalová T., Janouš D. (2002): Effect of soil drought on evapotranspiration of a young spruce forest. *Journal of Forest Science*. 48: 166-172.

Sředa, T., Rožnovský, J., Pokladníková, H. (2009): Monitoring teplot půdy pro predikci aktivity dospělčů bázlivce kukuřičného (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte). In CERKAL, R., HRSTKOVÁ, P. MZLU pěstitelům 2009 - sborník odborných příspěvků a sdělení. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2009: 94-97. ISBN 978-80-7375-304-7.

EFFECT OF DIFFERENT TILLAGE AND STRAW MANAGEMENT ON THE YIELD OF WINTER WHEAT

Mikel O.¹, Smutný V.², Procházková B.²

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

²Department of Agrosystems and Bioclimatology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xmikel@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The impacts on yields of winter wheat planted after winter wheat and safflower, are analysed in thesis, concentrating on the effect of different soil tillage combined by the use of fungicides. The monitoring proceeded in the years 2006-2008 within the frame of a field experiment. Two technologies of soil tillage were focused on: (I) conventional tillage and (II) minimum tillage, as well as two methods of fungicide treatment: (1) with treatment and (2) no treatment. Higher yields of winter wheat were reached for both technologies of soil tillage by planting after safflower. Higher yields after winter wheat were obtained for conventional tillage, whereas the yields after safflower were higher for minimum tillage with loosening. Considering both preceding crops and conventional tillage, slightly higher yields were gained for application of no fungicides. For minimum tillage with shallow loosening, higher yields were achieved after applying fungicides.

Key words: winter wheat, preceding crop, soil tillage, application of fungicides, yield

Acknowledgments: Research plan č. MSM6215648905 " Biological and technological aspects of sustainability of controlled ecosystems and their adaptability to climate change " granted MŠMT and the research project of the National Research Program II MŠMT no. 2B06101 "Optimization of agricultural land and river in the Czech Republic with an emphasis on developing biodiversity".

ÚVOD

Zemědělství má svůj historický význam, tak jako každé odvětví výroby. Základním požadavkem českého zemědělství je stále hledat nové zdroje úspor a omezení nákladů v pěstování rostlin. Zpracování půdy je z agrotechnických opatření energeticky pracovně nejnáročnější. Při konvenčním zpracování půdy orbou tvoří náklady průměrně 35 % z celé rostlinné výroby. Jednou z možností změny je zavádění a používání minimalizačních technologií.

V pokusu je popsáno hodnocení vlivu různého zpracování půdy, předplodiny a možnost ošetření fungicidy na výnosy ozimé pšenice.

Sledování probíhalo v rámci polního pokusu založeného v roce 2003 na jílovitohlinité fluvizemi glejové v kukuřičné výrobní oblasti. Pokus se celkově zabývá ověřením vhodných technologií zpracování půdy k jednotlivým plodinám při hospodaření bez živočišné výroby.

V práci jsou vyhodnoceny výsledky sledování vlivu různého zpracování půdy v kombinaci s ošetřením fungicidy na výnosy ozimé pšenice pěstované po ozimé pšenici a safloru v letech 2006-2008.

MATERIÁL A METODIKA

Sledování probíhalo v rámci polního pokusu založeného v roce 2003, který se celkově zabýval použitím vhodných technologií zpracování půdy k jednotlivým plodinám při hospodaření bez živočišné výroby. Sláma jednotlivých plodin zůstává na pozemku.

Pokusné stanoviště se nachází v nadmořské výšce 179 m. n. m. Obsah humusu je 2,5 %. Zásobnost půdy P, K, Ca, Mg je dobrá a půdní reakce neutrální.

Pokusné stanoviště Mendelovy univerzity v Žabčicích leží v klimatickém regionu VT (velmi teplý, suchý). Průměrná roční teplota je 9,2°C a průměrný roční úhm srážek je 480 mm.

Sledování probíhalo v rámci pětihonného osevního postupu, kde se střídají plodiny kukuřice na zrno, ječmen jarní, saflor, ozimá pšenice, ozimá pšenice.

U varianty konvenčního zpracování půdy orbou (I) je nejprve provedena podmínka orby do hloubky 0,10 m, poté se provádí středně hluboká orba na hloubku 0,15 m a následuje setí secí kombinací.

U minimalizačního zpracování půdy kypřením (II) je provedena nejprve podmínka do hloubky 0,10 m, následovaným mělkým kypřením do hloubky 0,15 m a setí secí kombinací.

Na variantě ošetřené fungicidy se provádí ošetření v termínech květen a červen.

MENDELNET 2010

Jako osivo u ozimé pšenice je použita odrůda Sulamit o výsevnm množství 4 mil. klíčivých semen na jeden hektar.

Celkové dávky minerálních hnojiv jsou v množství 90 kg.ha⁻¹ u N a P₂O₅, pro K₂O 120 kg.ha⁻¹. Vyrovnávací dávky C:N se neprovádí.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Vliv pokusných faktorů na výnos ozimé pšenice byl hodnocen v letech 2006 – 2008. Výsledky sledování a statistické hodnocení jsou uvedeny v tab. 1 a 2.

Tab. 1 Vliv pokusných faktorů na výnos ozimé pšenice

Předplodina	Zpracování půdy	Fungicid	2006	2007	2008	Průměr
Pšenice	I	Ano	7,33	4,92	7,97	6,73
		Ne	7,38	5,40	8,44	7,07
		průměr	7,35	5,16	8,20	6,90
	II	Ano	5,68	5,40	8,40	6,49
		Ne	6,00	5,04	8,26	6,43
		průměr	5,84	5,22	8,33	6,46
Průměr celkem						6,68
Saflor	I	Ano	8,02	6,46	8,38	7,61
		Ne	8,14	6,38	8,51	7,64
		průměr	8,08	6,42	8,45	7,62
	II	Ano	8,04	7,77	8,93	8,24
		Ne	8,06	6,64	8,76	7,82
		průměr	8,05	7,20	8,85	8,05
Průměr celkem						7,84

Tab. 2 Statistické hodnocení vlivu pokusných faktorů na výnos ozimé pšenice

Vliv na výnos (t.ha ⁻¹)			
	Stupně - volnosti	PČ	F
{1}rok	2	47,337	300,53**
{2}predplodina	1	31,543	200,26**
{3}zprac. půdy	1	0,022	0,14
{4}ošetření fungicidem	1	0,012	0,08
rok*predplodina	2	3,633	23,07**
rok*zprac. půdy	2	3,324	21,11**
predplodina*zprac. půdy	1	4,051	25,72**
rok*ošetření fungicidem	2	0,365	2,31
predplodina*ošetření fungicidem	1	0,606	3,85
zprac. půdy*ošetření fungicidem	1	1,153	7,32**
rok*predplodina*zprac. půdy	2	0,744	4,73*
rok*predplodina*ošetření fungicidem	2	0,173	1,10
rok*zprac. půdy*ošetření fungicidem	2	0,519	3,29*
predplodina*zprac. půdy*ošetření fungicidem	1	0,010	0,07
1*2*3*4	2	0,067	0,42

** statisticky vysoce průkazný rozdíl $p < 0.01$

* statisticky průkazný rozdíl $p < 0.05$

Vliv ročníku na výnos ozimé pšenice je statisticky vysoce průkazný. Celkově největší vliv na výnos ozimé pšenice měly povětrnostní podmínky a to nejvíce úhrn srážek v době růstu pšenice a tvorby výnosu. Potvrdilo se to v roce 2007, kdy za celý duben spadlo pouze 4,40 mm srážek, což mělo za následek pokles ve výnosu až na průměrných 6 tun z hektaru. Nejpříznivější podmínky pro tvorbu výnosu byly v roce 2008, kdy byl průměrný výnos 8,45 tun z hektaru.

Vliv předplodiny na výnos ozimé pšenice je vysoce průkazný. Vyšší průměrný výnos dosahovala ozimá pšenice při pěstování po safloru. Průměrný výnos po předplodině saflor byl 7,84 t.ha⁻¹ a po předplodině ozimá pšenice 6,68 t.ha⁻¹, rozdíl činí 1,2 t.ha⁻¹. Střídání plodin v osevním postupu je vedle příslušné agrotechniky, jedním z opatření, které mohou zvýšit produkční stabilitu výnosu u ozimé pšenice a je zcela nenahraditelné pro dlouhodobé zachování půdní úrodnosti.

Ozimá pšenice je ze všech obilnin nejnáročnější a nejlépe výnosově reaguje na předplodinu. Při výběru předplodiny je nutné zohlednit podmínky výrobní oblasti. Pěstování ozimé pšenice po sobě je méně vhodné, ale v dnešní době velmi časté. Ozimá pšenice zvyšuje riziko zaplevelení specifickými plevele obilnin a vyšší napadení patogeny. Tyto negativní dopady nevhodné předplodiny je pak nutné kompenzovat vyššími dávkami minerálních hnojiv a pesticidů, což zhoršuje rentabilitu pěstování.

Vliv zpracování půdy na výnosy ozimé pšenice pěstované po obou předplodinách byl statisticky průkazný. Po ozimé pšenici byly dosaženy vyšší výnosy po orbě, po safloru naopak po mělkém zpracování půdy kypřením. Po obou předplodinách byly na variantě s orbou dosaženy mírně vyšší výnosy na variantě bez aplikace fungicidů. Naopak na variantě s mělkým kypřením půdy byly vyšší výnosy po aplikaci fungicidů.

Ozimá pšenice při pěstování na úrodnějších půdách většinou dobře reaguje na snížení hloubky a intenzity zpracování půdy. V porovnání s orbou jsou dosahovány stejné nebo mírně vyšší výnosy (Kováč, 1998).

Procházková a Dovrtěl (2000) sledovali vliv různého zpracování půdy (klasická technologie s použitím pluhu a minimalizační technologie s použitím kypřiče) na výnosy ozimé pšenice v kukuřičné výrobní oblasti na černozemní půdě. Uvádí, že při pěstování ozimé pšenice byly výnosy jak po klasickém, tak i po minimalizačním zpracování půdy téměř vyrovnané.

Vliv ošetření fungicidy na výnos ozimé pšenice byl v daných pokusných podmínkách statisticky neprůkazný, projevovala se pouze určitá tendence ke zvýšení výnosů po aplikaci fungicidů.

Lasák (2004) porovnával vliv fungicidů na výnos a ekonomiku pěstování ozimé pšenice, kdy vyšších výnosů se dosahovalo při ošetření porostů fungicidy, než u neošetřené varianty.

ZÁVĚR

Vyšší výnosy ozimé pšenice byly u obou technologií zpracování půdy dosaženy při jejím pěstování po safloru. Saflor je jednou z předplodin, které zanechávají půdu v dobrém stavu. Naopak pěstování

ozimé pšenice po sobě může mít za následek vyšší výskyt chorob a škůdců.

Vliv zpracování půdy na výnosy ozimé pšenice pěstované po obou předplodinách byl statisticky průkazný. Po ozimé pšenici byly dosaženy vyšší výnosy po orbě, po safloru naopak po mělkém zpracování půdy kypřením.

Vliv aplikace fungicidů na výnosy ozimé pšenice byl statisticky neprůkazný. Po obou předplodinách byly po orbě dosaženy mírně vyšší výnosy na variantě bez fungicidů. Naopak při mělkém zpracování půdy byly vyšší výnosy po aplikaci fungicidů.

Výsledky sledování v daných půdně-klimatických podmínkách celkově ukazují na možnost použití minimalizačního zpracování půdy k ozimé pšenici pěstované po dobré předplodině (v našem případě po safloru).

LITERATURA

Kováč K. (1998): Vplyv roznej predplodiny, oborábania pody a hnojenia na výšku a strukturu úrody a efektivnosť pestovania ozimnej pšenice. Rostl. Výr., 44: 133 - 139

Lasák V. (2004): Vliv fungicidu na výnos a ekonomiku pěstování ozimé pšenice. Úroda, Roč. 52, 5, s. 17-19

Procházková B., Dovrtěl J. (2000): Vliv různého zpracování půdy na výnosy ozimé pšenice. Rostlinná výroba, 46, 10: 437-442.

THE CROP ROTATION INFLUENCE OF THE WEED INFESTATION AT THE SPRING BARLEY CROP

Neischl A.¹, Zelená V.¹, Winkler J.²

¹Department of Plant Biology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

²Department of Agrosystems and Bioclimatology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: alexandr.neischl@syngenta.com

ABSTRACT

The weed infestation has been monitored at three field plots with various crop patterns, at Žabčice site. The first trial plot was established in 1970 as a multiyear crop monoculture. The second trial plot was established in 2003, the spring barley was cultivated in 5 crop pattern: false saffron, winter wheat, winter wheat, corn, spring barley. The third trial plot was established in 2003, the spring barley was cultivated in seven crop pattern: alfalfa, alfalfa, winter wheat, corn (silage), winter wheat, sugar beet, spring barley.

The weed infestation was evaluated once, in the spring barley crop, before the herbicidal application, evaluated using counting method. From the results it's clear the multiyear crop monoculture has the highest weed infestation together with most diverse weeds varieties. Mostly the varieties harming the spring cereals were present (*Avena fatua*, *Galium aparine* and *Viola arvensis*).

The spring barley crop (7 crop pattern trial) was infested mostly with perennial weeds *Artemisia vulgaris*, *Arctium tomentosum*, *Cirsium arvense*, *Malva neglecta*, *Plantago major* and the annual *Veronica polita*. At the spring barley crop, from the five crop pattern trial, there were mostly present late spring weed varieties (*Chenopodium album* a *Amaranthus* sp. K, *Galium aparine* and *Fallopia convolvulus*).

The crop rotation is significantly influencing the weed infestation intensity and its variety diversity. With the higher concentration of cereal crops is growing the share of varieties such as *Galium aparine*.

Key words: the weeds, crop rotation, spring barley

Acknowledgments: The results in paper are output of project of Internal Grant Agency, AF MENDELU, No. TP 11/2010 "Modification of crop management practices in areas threatened by drought". 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

Pěstovaná plodina má největší vliv na strukturu a intenzitu zaplevelení a často potlačí vliv ostatních podmínek. Plodina velmi výrazně ovlivňuje druhové spektrum plevelů a četnost jedinců jednotlivých druhů. Hustota porostu, rychlost vývoje, habitus plodiny a způsob pěstování působí na vzházení, růst a vývoj jednotlivých druhů plevelů (Dvořák, Smutný, 2003).

Stav zaplevelení na daném pozemku je proto významně ovlivňován konkurencí a střídáním plodin v osevních sledech. Jak uvádí Mikulka (1999), v případě převážného pěstování ozimých plodin dochází k přemnožení především přezimujících (ozimých) druhů plevelů. Je-li naopak převaha pěstování jařin dochází k nárůstu zaplevelení jarními druhy.

Na změny v druhové skladbě plevelů, upozornil Kühn (1986), který popisuje přibývání nitrofilních druhů, druhů odolných k herbicidům, u některých druhů trav, plevelů zavlečených k nám v nedávné době a plevelů snášejících utuženou půdu. Naopak ubývá druhů s dlouhou vegetační dobou, druhů světlomilných, skromných druhů šířících se osivem a druhů citlivých na herbicidy.

Změny druhového spektra jsou patrné i z průzkumů prováděných Státní rostlinolékařskou správou. Tento výzkum se provádí od roku 1968, kdy na popud Ministerstva zemědělství začal na území tehdejšího Československa Odbor karantény a ochrany rostlin ÚKZÚZ (Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský) mapovat druhy polních plevelů odolných k herbicidům na bázi MCPA a 2,4 D. V roce 1971 vypracoval J. Müller novou metodiku průzkumu výskytu a rozšíření plevelů, který výsledky zpracovával od roku 1968 až do roku 1984, od roku 1985 až do roku 1990 zpracovával výsledky F. Fischer, od roku 1991 až dodnes výsledky vyhodnocuje L. Buryšková (Müller, 1996).

Nověji na změny v druhové skladbě upozorňuje také Mikulka (1999), který popisuje šíření u řady druhů jako například svízel přítula, heřmánkovec nevonný, locika kompasová, pcháč oset, pýr plazivý, merlík bílý, m. tuhý, m. mnohosemenný, laskavec ohnutý, l. zelenoklasý a jiných druhů.

MATERIÁL A METODIKA

Zaplevelení bylo sledováno na třech polních pokusech s rozdílným střídáním plodina. Pokusy jsou vedeny na polní pokusné stanici v Žabčicích (Jihomoravský kraj, Česká republika), která patří Mendelově univerzitě v Brně. Dlouhodobý průměrný roční úhrn srážek činí 481 mm, dlouhodobý průměr teplot je 9,2 °C. Nadmořská výška je 184 m. n. m.

První pokus byl založen v roce 1970 a jedná se o dlouhodobou monokulturu jarního ječmene (Mono). Druhý pokus byl založen v roce 2003 a ječmen je zde pěstován v pětihonném osevním postupu: světlice barvířská, ozimá pšenice, ozimá pšenice, kukuřice na zrno, jarní ječmen (5-rotati).

Ve třetím pokusu, který byl založen v roce 2003, je jarní ječmen pěstován v sedmihonném osevním postupu (7-rotati). Sled plodin je následující: vojtěška setá – první užitkový rok, vojtěška setá – druhý užitkový rok, ozimá pšenice, kukuřice setá (silážní), ozimá pšenice, cukrovka, jarní ječmen.

Zaplevelení bylo vyhodnocováno jednou v termínu od 2. 5. 2009 do 5. 5. 2009 před aplikací herbicidů v porostech jarního ječmene. Počty jedinců jednotlivých druhů plevelů byly zjišťovány na ploše 1 m².

Ke zjištění vlivu střídání plodin na jednotlivé druhy plevelů, které se vyskytovaly na polních pokusech, byly použity mnohorozměrné analýzy ekologických dat. Výběr optimální analýzy se řídil délkou gradientu (*Lengths of Gradient*), zjištěného segmentovou analýzou DCA (*Detrended Correspondence Analysis*). Dále byla použita kanonická korespondeční analýza (*Canonical Correspondence Analysis*, CCA). Při testování průkaznosti pomocí Monte-Carlo testem bylo propočítáno 499 permutací. Data byla zpracována pomocí programu Canoco 4.0. (Ter Braak, 1998).

VÝSLEDKY A DISKUZE

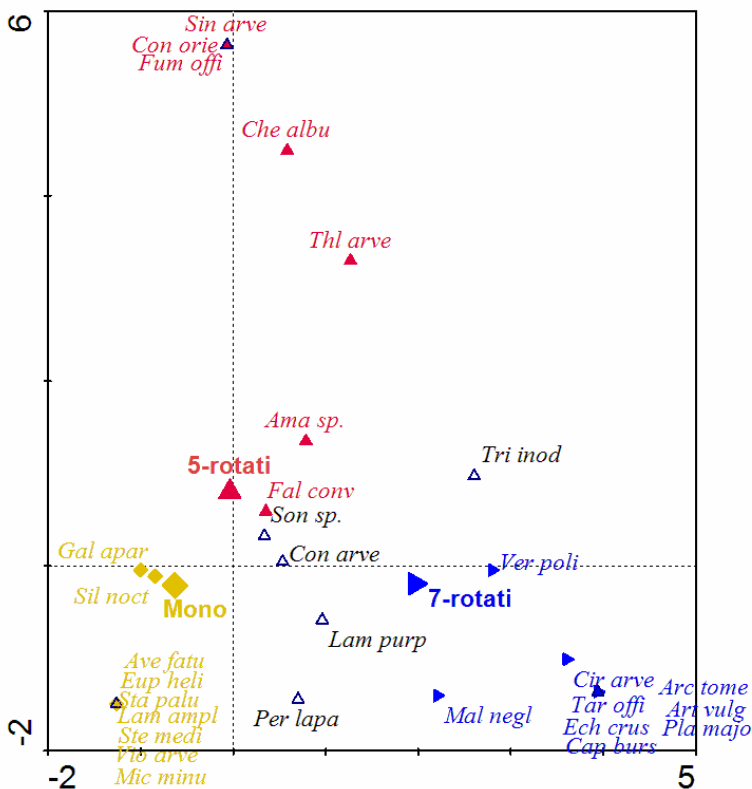
Na třech polních pokusech bylo nalezeno 30 druhů plevelů v porostech jarního ječmene. Průměrný počet jednotlivých druhů plevelů na variantách střídání plodin je uveden v Tab. 1.

Data získaná z pokusných porostů ječmene jarního byla zpracována pomocí DCA analýzy. Délky gradientu vypočteného analýzou DCA byla 6.092. Proto byla zvolena pro další zpracování dat kanonická korespondeční analýza (CCA). Výsledky analýzy CCA jsou signifikantní na hladině významnosti $\alpha = 0,002$, pro všechny kanonické osy. Grafické znázornění výsledků analýzy CCA je na Obr.1.

Tab. 1 Průměrný počet plevelů v jarním ječmenu na variantách střídání plodin

Druhy plevelů	Osevní postup		
	5-honný	7-honný	Monokultura
<i>Amaranthus sp.</i>	0,17	0,24	0,11
<i>Arctium tomentosum</i>		0,01	
<i>Artemisia vulgaris</i>		0,04	
<i>Avena fatua</i>			0,06
<i>Capsella bursa-pastoris</i>		0,01	
<i>Cirsium arvense</i>	0,03	1,01	0,01
<i>Consolida orientalis</i>	0,06		
<i>Convolvulus arvensis</i>	0,23	0,57	0,45
<i>Echinochloa crus-galli</i>		0,22	
<i>Euphorbia helioscopia</i>			0,01
<i>Fallopia convolvulus</i>	0,42	0,64	0,59
<i>Fumaria officinalis</i>	0,01		
<i>Galium aparine</i>	0,88	0,03	2,92
<i>Chenopodium album</i>	0,28	0,10	
<i>Lamium amplexicaule</i>			0,15
<i>Lamium purpureum</i>	0,02	0,14	0,08
<i>Malva neglecta</i>		0,03	0,01
<i>Microrrhinum minus</i>			0,51
<i>Persicaria lapathifolia</i>		0,28	0,22
<i>Plantago major</i>		0,06	
<i>Silene noctiflora</i>	0,41	0,14	1,41
<i>Sinapis arvensis</i>	0,02		
<i>Sonchus sp.</i>	0,01	0,01	0,01
<i>Stachys palustris</i>			0,08
<i>Stellaria media</i>			0,03
<i>Taraxacum officinale</i>		0,03	
<i>Thlaspi arvense</i>	0,02	0,01	
<i>Tripleurospermum inodorum</i>	0,01	0,03	
<i>Veronica polita</i>	0,14	0,97	0,05
<i>Viola arvensis</i>			0,01
Počet druhů	1,65	2,21	2,37
Počet jedinců	2,70	4,57	6,71

Obr. 1 Ordinační diagram vyjadřující vliv osevního postupu na druhy plevelů



Vysvětlivky k ordinačnímu diagramu: střídání plodin, Mono – monokultura, 5-rotati – pětihonný osevní postup, 7-rotati – sedmihonný osevní postup

Ama sp. – *Amaranthus sp.*, *Arc tome* – *Arctium tomentosum*, *Art vulg* – *Artemisia vulgaris*, *Ave fatu* – *Avena fatua*, *Cap burs* – *Capsella bursa-pastoris*, *Cir arve* – *Cirsium arvense*, *Con orie* – *Consolida orientalis*, *Con arve* – *Convolvulus arvensis*, *Ech crus* – *Echinochloa crus-galli*, *Eup heli* – *Euphorbia helioscopia*, *Fal conv* – *Fallopia convolvulus*, *Fum offi* – *Fumaria officinalis*, *Gal apar* – *Galium aparine*, *Che albu* – *Chenopodium album*, *Lam ampl* – *Lamium amplexicaule*, *Lam purp* – *Lamium purpureum*, *Mal negl* – *Malva neglecta*, *Mic minu* – *Microrrhinum minus*, *Per lapa* – *Persicaria lapathifolia*, *Pla majo* – *Plantago major*, *Sil nocti* – *Silene noctiflora*, *Sin arve* – *Sinapis arvensis*, *Son sp.* – *Sonchus sp.*, *Sta palu* – *Stachys palustris*, *Ste medi* – *Stellaria media*, *Tar offi* – *Taraxacum officinale*, *Thl arve* – *Thlaspi arvense*, *Tri inod* – *Tripleurospermum inodorum*, *Ver poli* – *Veronica polita*, *Vio arve* – *Viola arvensis*.

Ze získaných výsledků je patrné, že nejvyšší zaplevelenost a druhová diverzita byla v roce 2009 zjištěna v dlouhodobé monokultuře jarního ječmene. Naopak nejnižší zaplevelení a nejméně druhů bylo zjištěno v porostu jarního ječmene z pětihonného osevního postupu.

Na základě analýzy CCA můžeme nalezené druhy plevelů rozdělit do čtyř skupin. První skupina je na Obr. 1 znázorněna žlutě a patří sem druhy, které se více vyskytovaly v dlouhodobé monokultuře jarního ječmene (*Avena fatua*, *Euphorbia helioscopia*, *Galium aparine*, *Lamium amplexicaule*, *Microrrhinum minus*, *Silene noctiflora*, *Stachys palustris*, *Stellaria media*, *Viola arvensis*).

Druhou skupinu plevelů tvoří druhy, které byly četnější v porostech ječmene z pětihonného osevního postupu (*Amaranthus sp.*, *Consolida orientalis*, *Fallopia convolvulus*, *Fumaria officinalis*, *Chenopodium album*, *Sinapis arvensis*, *Thlaspi arvense*) a obarvena červenou barvou.

Modrá barva byla určena druhům, které se více vyskytovaly v porostech jarního ječmene ze sedmihonného osevního postupu (*Arctium tomentosum*, *Artemisia vulgaris*, *Capsella bursa-pastoris*, *Cirsium arvense*, *Echinochloa crus-galli*, *Malva neglecta*, *Plantago major*, *Taraxacum officinale*, *Veronica polita*).

Poslední skupina plevelů (*Convolvulus arvensis*, *Lamium purpureum*, *Persicaria lapathifolia*, *Sonchus sp.*, *Tripleurospermum inodorum*) je tvořena druhy, u kterých byl patrně výskyt ovlivněn jinými faktory, které ovšem nejsou v analýze zachyceny.

Dlouhodobá monokultura jarního ječmene patrně vytváří podmínky pro vyšší zaplevelení. Zvýšení zaplevelení je důsledek rozvoje některých druhů a to především *Galium aparine*, *Silene noctiflora*, a *Microrrhinum minus*.

Pětihonný osevní postup s převahou obilnin a bez pícnin je podle našich výsledků nejméně příznivý z pohledu intenzity zaplevelení. Vysoký podíl z má opět *Galium aparine* a také *Fallopia convolvulus*. Zvyšuje se zde také podíl pozdně jarních druhů plevelů, které jsou pro ječmen nebezpečné především v pozdějších fázích jeho vývoje (*Amaranthus sp.*, *Chenopodium album*, *Persicaria lapathifolia*).

V sedmihonném osevním postupu byl jarní ječmen zaplevelen především vytrvalými druhy plevelů, jako jsou *Cirsium arvense*, *Arctium tomentosum*, *Artemisia vulgaris*, *Plantago major*, *Taraxacum officinale*. Výskyt těchto druhů je pravděpodobně způsoben zastoupením dvouleté vojtěšky v jejichž porostech se vytrvalé druhy mohou prosadit. Podobně se v porostech vojtěšky hojně vyskytují některé jednoleté druhy *Capsella bursa-pastoris*, *Veronica polita*. Tyto druhy pak vzcházejí v následných plodinách jako je ječmen a zvyšují jeho zaplevelení. Naopak nízký výskyt byl zaznamenán u druhu *Galium aparine*.

ZÁVĚR

Z výsledků zaplevelení je patrné, že dlouhodobá monokultura jarního ječmene má nejvyšší zaplevelení a také zde bylo nalezeno nejvíce druhů plevelů. Vyskytují se zde především druhy škodící především v jarních obilninách jako *Avena fatua*, *Galium aparine* a *Viola arvensis*.

Jarní ječmen (ze sedmihonného osevního postupu) byl zaplevelen více vytrvalými druhy plevelů: *Artemisia vulgaris*, *Arctium tomentosum*, *Cirsium arvense*, *Malva neglecta*, *Plantago major* a také jednoletým druhem *Veronica polita*. Výskyt těchto druhů je pravděpodobně umožněn zastoupením vojtěšky v osevním postupu, ve které se mohou rozšiřovat.

V porostu jarního ječmene z pětihonném osevním postupu byly častěji zaznamenány pozdně jarní druhy plevelů jako *Chenopodium album* a *Amaranthus* sp. K další často ve vyskytující druhů patří *Galium aparine* a *Fallopia convolvulus*.

Střídání plodin výrazně ovlivňuje intenzitu zaplevelení a také druhou diverzitu plevelů. S vyšší koncentrací obilnin narůstá podíl druhů jako je *Galium aparine*. Zastoupení víceletých pícnin v osevním postupu umožňuje patrně vyšší výskyt vytrvalým druhům plevelů.

LITERATURA

Dvořák, J., Smutný, V. (2003): *Herbologie – Integrovaná ochrana proti plevelům*. Skriptum MZLU v Brně. 186 s. ISBN 80-7157-732-4.

Mikulka, J. (1999): *Plevelné rostliny polí, luk a zahrad*. 1. vyd. Praha, 160 s. ISBN 80-902413-2-8.

Kühn, F. (1986): Změny ve frekvenci polních plevelů během posledních 35 let na Moravě. Zprávy ÚSKÚZ, Brno.

Müller, J. (1997): Průzkum výskytu a rozšíření plevelů v České republice, prováděný v ÚKZÚZ od r. 1968 až do současnosti. – In: Buryšková, L.: *Průzkum výskytu a rozšíření plevelů v České republice za rok 1996 ve víceletých pícninách*. SRS, Brno.

Ter Braak, C., J., F. (1998): CANOCO – A FORTRAN program for canonical community ordination by [partial] [detrended] [canonical] correspondence analysis (version 4.0.). Report LWA-88-02 *Agricultural Mathematics Group*. Wageningen.

THE INFLUENCE OF THE VARIOUS CEREALS STRAW FARMING ON A WEED INFESTATION

Pišťák M., Winkler J.

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

E-mail: m.pistak@seznam.cz

ABSTRACT

The goal of the thesis is the weed infestation evaluation in various cereals straw farming conditions. The evaluation of the trials was proceeded in a long-term spring barley monoculture, set in 1970, at Žabčice site. The straw farming was applied at 3 varieties. The first variety represents transportation from the site, second the ploughing of the straw, the third represents a burning of the straw. Soil farming is represented by one traditional ploughing variety. The results were processed with DCA (*Detrended Correspondence Analysis*) and RDA (*Redundancy Analysis*) analysis.

The weed varieties spectrum from the plots was quite similar. The straw transportation variety was infested with the *Amaranthus* sp., *Silene noctiflora* and the *Microrrhinum minus*. The straw ploughing variety was infested with *Galium aparine* weed. The straw burning variety was infested with *Lamium amplexicaule* and *Fallopia convolvulus* weeds.

Key words: the weeds, straw farming, straw burning

Acknowledgments: The results in paper are output of project of Internal Grant Agency, AF MENDELU, No. TP 11/2010 “Modification of crop management practices in areas threatened by drought”. 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

Vytvoření obecně platné definice pojmu plevel je velice složité. Důvodem je téměř neznatelná hranice mezi kulturními a palnými rostlinami. Každá dnešní kulturní rostlina byla původně planou a lze předpokládat, že některé z dnešních plevelů se stanou v budoucnu po zušlechtění pěstovanými rostlinami. Dále také záleží na prostředí, ve kterém se rostlina vyskytuje. Na jednom stanovišti můžeme rostlinu považovat za pěstovanou, zatím co týž rostlinný druh na jiném stanovišti nebude druhem přímo škodlivým a na další lokalitě bude velmi nebezpečný plevel (HRON, VODÁK, 1959).

V porostech pěstovaných rostlin rozlišujeme rostliny plevelné, tj. druhy plané, člověkem nezušlechtěné, rostoucí spolu s kulturními rostlinami a škodící jim a rostliny zaplevelující, tj. druhy pěstované, zušlechtěné, které se však objevili v porostu jako nežádoucí příměs (KOTT, 1947).

Souhrnným názvem pro plevelnou flóru je také termín „segetální rostliny“, vyskytující se na stanovištích vzniklých lidskou činností a pravidelně obhospodařovaných (KUBÁT et al., 2002).

Podle definice Evropské společnosti pro výzkum plevelů, jak je uvádí URBAN (2003), je plevel rostlina, která překáží cílům člověka. Plevelem se tedy může stát jakákoliv nekulturní, ale i kulturní rostlina.

Škodlivost plevelných rostlin je od ostatních škodlivých organismů odlišná. Choroby a živočišní škůdci přímo napadají a ničí plodiny. Plevelné rostliny a výjimkou poloparazitických a parazitických druhů, plodiny nepoškozují přímo. Jejich škodlivost spočívá ve zhoršování životního prostředí plodin odčerpáváním vegetačních faktorů, event. ovlivněním půdního prostředí produkty metabolismu. Z těchto důvodů plevele velmi reagují na agrotechniku a způsoby pěstování plodin. Plevle patří mezi nejvýznamnější škodlivé činitele v České republice. Celkem je na regulaci plevelů vynakládáno více než 72% všech nákladů v ochraně rostlin (MIKULKA, CHODOVÁ, 2000).

O plevelných rostlinách je známo, že každoročně způsobují více než 10% ztrát na rostlinné produkci. To je způsobeno tím, že většina plevelných druhů lépe využívá půdního prostoru než kulturní rostliny a snadněji se přizpůsobuje nepříznivým životním podmínkám. Plevle jsou ve svých nárocích mnohem skromnější a současně odolnější proti nepříznivým vlivům prostředí. Dovedou z daných podmínek vytěžit maximum na úkor pěstovaných kulturních rostlin. Následně odplevelení porostů vyžaduje značné náklady. Náklady na herbicidy představují celosvětově přes 60% celkových nákladů na pesticidy. Regulace zaplevelení polí a luk se stává stále složitější, přestože jsou v současné době k dispozici vysoce účinné chemické prostředky do všech plodin.

Součastné změny v systémech hospodaření změnily i způsoby regulace zaplevelení (KOHOUT, 1993).

RULE et al., (1990) porovnávali zapravení slámy do půdy s pálením slámy. Efekt na výnosy byl malý, kromě případů vyššího zaplevelení. Po zapravení slámy nebylo pozorováno zvýšené napadení chorobami a škůdci. Největší problém byl se zaplevelením travovitými pleveli, speciálně na těžkých půdách po mělkém zpracování půdy nebo setí ozimé pšenice do nezpracované půdy.

PREW at al. (1990) zaznamenali při zapravování slámy do půdy vyšší napadení houbovými chorobami. Naproti tomu KOS (1981) uvádí na základě dlouholetých výsledků, že nejsou odůvodněné obavy ze zvyšování napadení ozimé pšenice chorobami pat stébel po zaorávání slámy. Dále uvádí, že účinek zaorávané slámy závisí na povětrnostních podmínkách, které ovlivňují průběh rozkladu slámy. Lepší účinek má sláma ve vláhově příznivých letech.

Tato práce je věnována právě reakci plevelů na rozdílné hospodaření se slámou a rozdílné zpracování půdy v ječmenu jarním.

MATERIÁL A METODIKA

Pokusný pozemek se nachází v katastrálním území obce Žabčice, které patří do geomorfologické oblasti Dyjsko–svratecký úval. Žabčice se nachází v kukuřičné výrobní oblasti ječného subtypu, v nadmořské výšce 184 metrů nad mořem v rovinatém terénu. Obec leží ve vzdálenosti necelých 25 km jižně od města Brna v okrese Brno - venkov. Katastrálním územím protéká říčka Šatava a spadá do povodí řeky Svratky.

Oblast Žabčic patří do kukuřičné výrobní oblasti a do velmi teplého a suchého klimatického regionu. Podle sledování klimatu za posledních třicet let je průměrná roční teplota 9,2°C, úhrnem srážek náleží lokalita k sušším oblastem. V třicetiletém průměru činí roční úhrn srážek 483,3 mm. Údaje o srážkách a o teplotách byly použity z meteorologické stanice v pokusné stanici v Žabčicích (MZLU v Brně). Dlouhodobé průměry srážek a teplot za jednotlivé měsíce jsou uvedeny v Tab. 1. Srážky za jednotlivé měsíce pro rok 2009 a za část roku 2010 v Tab. 2. Průměrné teploty za jednotlivé měsíce pro rok 2009 a za část roku 2010 jsou uvedeny v Tab. 3.

Převládající severozápadní větry způsobují na stanovišti vodní deficit. Tyto rozdíly způsobené převahou výparu nad srážkami jsou znatelné zejména v jarním období přibližně od března do června. Porosty jsou proto po velkou část vegetačního období odkázány na půdní zásobu vláhy.

Tab. 1 Dlouhodobé průměry teplot a úhrnů srážek za jednotlivé měsíce (1961 až 1990)

Měsíc	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.
Srážky (mm)	25	25	24	33	63	69	57	54	36	32	37	26
Teploty (°C)	-2,0	0,2	4,3	9,6	14,6	17,7	19,3	18,6	14,7	9,5	4,1	0,0

Tab. 2 Úhrny srážek (mm) za jednotlivé měsíce

Měsíc	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.	Roční úhrn
Rok													
2009	20,0	57,6	78,1	3,6	42,4	114,7	74,0	29,6	24,7	21,2	55,4	37,6	559,0
2010	46,8	22,8	9,8	53,1	102,4								

Tab. 3 Průměrné teploty (°C) za jednotlivé měsíce

Měsíc	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.	Roční průměr
Rok													
2009	-3,3	0,4	5,0	14,5	15,6	17,3	20,7	21,1	17,2	8,9	5,7	0,1	10,3
2010	-3,9	-0,6	4,8	10,2	14,0								

Zájmové území Žabčic se širokým okolím leží v úvalu Dyjsko-svrateckém, který je tvořen převážně sedimenty neogenními. Geologický útvar, na kterém se pozemky statku nacházejí, je reprezentován čtvrtohorními štěrky a částečně aluviálními naplaveninami. Druhým kvartérním pokryvem jsou spraše.

Stanoviště je situováno v nívné oblasti řeky Svratky, patří vývojově k mladým lužním glejovým půdám. Jde o půdy vytvořené na holocenních, vápenitých nívních usazeninách. Půdní profil je zde pod stálým vlivem spodní vody, což má za následek intenzivní glejový proces do hloubky silně narůstající. Hladina podzemní vody se nachází 180 cm pod povrchem. V suchém období půda tudíž vysychá a vznikají velké trhliny. Ornice je hlinitá až jílovitohlinitá, mocná 35 cm, přechodný horizont sahá do hloubky 45 cm, je však zrnitostně těžší, šedohnědý. Glejový horizont dosahuje do hloubky 90 cm, je šedohnědý a jílovitý. V dalším glejovém horizontu do 130 cm nastává zesílení oglejení. Je šedý a má prismatickou strukturu jílového charakteru. V hloubce pod 130 cm se nachází půdotvorný substrát s glejovým procesem. Ten je již bez struktury a převládají v něm redukční procesy. Z toho tedy vyplývá, že spodina je těžká, má špatnou vodopropustnost. Díky tomu se však v ní udržuje zásoba půdní vláhy a ta se pak kapilárním zdvihem dostává až do povrchových vrstev. V orničním horizontu půdy je střední obsah humusu 2.28% a půdní reakce je neutrální, pH 6,9. Půdy mají dobré sorpční vlastnosti, sorpční komplex je nasycený ($V=99,0-99,8$) a rovněž zásoba snadno přístupných živin je většinou dobrá.

Na polní pokusné stanici v Žabčicích patřící Mendelově zemědělské a lesnické univerzitě v Brně byla v roce 1970 založena monokultura jarního ječmene.

V pokusu jsou použity dvě varianty základního zpracování půd. První, tradiční, varianta zpracování půdy s orbou na hloubku 0,22 m a druhá, minimalizační, varianta zpracování půdy talířovým nářadím do hloubky na hloubku 0,12 m. Skutečná hloubka zapracování půdy kolísá $\pm 10\%$. V následujícím textu jsou tyto varianty označovány jako tradiční a minimalizační varianta. Dále jsou zde použity tři rozdílné způsoby hospodaření se slámou, a to první varianta se sklizením slámy, druhá varianta se zaoráním slámy a třetí varianta, na které je sláma pálena.

Vyhodnocení zaplevelení proběhlo 4. 5. 2009 a 2. 5. 2010. Byla použita početní metoda, počet jedinců byl zjišťován na ploše 1 m², v osmi opakováních pro každou variantu zpracování půdy, hospodaření se slámou a rok. Vyhodnocování bylo prováděno před aplikací herbicidů.

Výsledky zaplevelení byly vyhodnoceny pomocí mnohorozměrné analýzy ekologických dat. Výběr optimální analýzy se řídil délkou gradientu (*Lengths of Gradient*), zjištěného segmentovou analýzou DCA (*Detrended Correspondence Analysis*). Dále byly použity redundanční analýza (*Redundancy Analysis*, RDA), která je založena na modelu lineární odpovědi (*Linear Response*). Při testování průkaznosti pomocí Monte-Carlo testem bylo propočítáno 499 permutací. Data byla zpracována pomocí počítačového programu Canoco 4.0.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Přehled nalezených druhů plevelů

Následuje přehled plevelů, vyskytujících se na sledovaném pokusu a jejich systematické zařazení. Celkem bylo nalezeno 25 druhů plevelů.

MENDELNET 2010

- Anagallis arvensis* – drchnička rolní, čeleď: *Primulaceae* - Prvosenkovité
- Avena fatua* – oves hluchý, čeleď: *Poaceae* – Lipnicovité
- Cirsium arvense* – pcháč rolní, čeleď: *Asteraceae* – Hvězdnicovité
- Fallopia convolvulus* – opletka obecná, čeleď: *Polygonaceae* – Rdesnovité
- Galium aparine* – svízeľ přítula, čeleď: *Rubiaceae* – Mořenovité
- Chenopodium album* – merlík bílý, čeleď: *Chenopodiaceae* – Merlíkovité
- Lamium amplexicaule* – hluchavka objímavá, čeleď: *Lamiaceae* – Hluchavkovité
- Lamium purpureum* – hluchavka nachová, čeleď: *Lamiaceae* – Hluchavkovité
- Microrrhinum minus* – hledíček menší, čeleď: *Scrophulariaceae* – Krtičníkovité
- Persicaria lapathifolia* – rdesno blešník, čeleď: *Polygonaceae* – Rdesnovité
- Polygonum aviculare* – truskavec ptačí, čeleď: *Polygonaceae* – Rdesnovité
- Silene noctiflora* – silenka noční, čeleď: *Caryophyllaceae* – Hvozdíkovité
- Sonchus arvensis* – mléč rolní, čeleď: *Asteraceae* – Hvězdnicovité
- Sonchus oleraceus* – mléč zelinný, čeleď: *Asteraceae* – Hvězdnicovité
- Stachys palustris* – čistec bahenní, čeleď: *Lamiaceae* – Hluchavkovité
- Stellaria media* – ptačinec prostřední, čeleď: *Caryophyllaceae* – Hvozdíkovité
- Taraxacum officinale* – pampeliška lékařská, čeleď: *Cichoriaceae* - Čekankovité
- Thlaspi arvense* – penízek rolní, čeleď: *Brassicaceae* – Brukvovité
- Veronica persica* – rozrazil perský, čeleď: *Scrophulariaceae* – Krtičníkovité
- Veronica polita* – rozrazil lesklý, čeleď: *Scrophulariaceae* – Krtičníkovité
- Viola arvensis* – violka rolní, čeleď: *Violaceae* – Violkovité

Vyhodnocení zaplevelení monokultury jarního ječmene

Tab.1 Počty druhů plevelů v roce 2009

Druhy plevelů	Sumy jedinců na jednotlivých variantách hospodaření se slámou		
	Tradiční odklid slámy	Zaorávka slámy	Pálení slámy
<i>Galium aparine</i>	97	273	68
<i>Silene noctiflora</i>	109	62	41
<i>Fallopia convolvulus</i>	20	31	37
<i>Persicaria lapathifolia</i>	10	12	11
<i>Amaranthus</i> sp.	15	1	1
<i>Lamium amplexicaule</i>	7	9	6
<i>Microrrhinum minus</i>	68	3	5
<i>Veronica polita</i>	4	3	0
<i>Avena fatua</i>	6	1	2
<i>Euphorbia helioscopia</i>	1	0	0
<i>Cirsium arvense</i>	0	2	0
<i>Viola arvensis</i>	0	1	1
<i>Stellaria media</i>	0	4	1
<i>Lamium purpureum</i>	0	8	4
<i>Stachys palustris</i>	5	7	0
<i>Convolvulus arvensis</i>	12	21	35
<i>Sonchus arvensis</i>	0	2	0
<i>Malva neglecta</i>	0	0	1
Průměrný počet druhů	2,36	2,72	2,04
Průměrný počet jedinců	7,08	8,8	4,26

Tab.2 Počty druhů plevelů v roce 2010

Druhy plevelů	Sumy jedinců na jednotlivých variantách hospodaření se slámou		
	Tradiční odklid slámy	Zaorávka slámy	Pálení slámy
<i>Galium aparine</i>	836	1232	163
<i>Silene noctiflora</i>	176	136	91
<i>Fallopia convolvulus</i>	37	23	15
<i>Persicaria lapathifolia</i>	9	19	37
<i>Lamium amplexicaule</i>	36	45	70
<i>Microrrhinum minus</i>	26	1	6
<i>Veronica polita</i>	15	25	6
<i>Avena fatua</i>	2	1	0
<i>Euphorbia helioscopia</i>	1	0	0
<i>Cirsium arvense</i>	0	1	0
<i>Viola arvensis</i>	1	0	1
<i>Stellaria media</i>	18	104	65
<i>Convolvulus arvensis</i>	4	4	0
<i>Sonchus arvensis</i>	0	0	0
<i>Sonchus oleraceus</i>	8	1	2
<i>Polygonum aviculare</i>	2	0	0
<i>Chenopodium album</i>	1	0	0
<i>Fumaria officinalis</i>	0	1	0
<i>Echinochloa crus-galli</i>	0	1	0
<i>Veronica persica</i>	3	0	0
<i>Anagallis arvensis</i>	1	0	0
<i>Malva neglecta</i>	0	0	1
Průměrný počet druhů	3,38	3,48	3,54
Průměrný počet jedinců	23,52	31,88	9,14

Výsledky zaplevelení z pokusných porostů ječmene jarního byla zpracována pomocí DCA analýzy. Pro zpracování dat byla vybrána redukční analýza (RDA) na základě délky gradientu vypočteného analýzou DCA, která byla 3,189. Analýza RDA vymezuje prostorové uspořádání jednotlivých druhů plevelů a variant faktorů, a to na základě dat, která byla o frekvenci výskytu plevelných druhů zjištěna. Toto je graficky vyjádřeno ordinačním diagramem. Druhy plevelů jsou zobrazeny šipkami, které mají různou orientaci v prostoru. Varianty hospodaření se slámou jsou pak představovány body odlišného tvaru a barvy.

Na základě analýzy CCA je možné nalezené druhy plevelů rozdělit do 4 skupin. První skupina plevelů se vyskytovala především na variantě s tradičním odvozem slámy a jsou to druhy označené modrou barvou (*Microrrhinum minus*, *Sonchus oleraceus*, *Anagallis arvensis*, *Euphorbia helioscopia*, *Chenopodium album*, *Polygonum aviculare*, *Amaranthus*, *Veronica persica*).

Druhá skupina plevelů se více vyskytoval na variantě se zaoráváním slámy a je obarvena červeně (*Lamium purpureum*, *Galium aparine*).

Třetí skupina byla nejčastěji nalézána na variantě s pálením slámy a jednotlivé druhy jsou obarveny žlutě (*Lamium amplexicaule*, *Fallopia convolvulus*, *Convolvulus arvensis*).

Čtvrtá skupina plevelů nebyla jednoznačně ovlivněna některou variantou hospodaření se slámou a výskyt těchto druhů byl více ovlivněn jinými faktory.

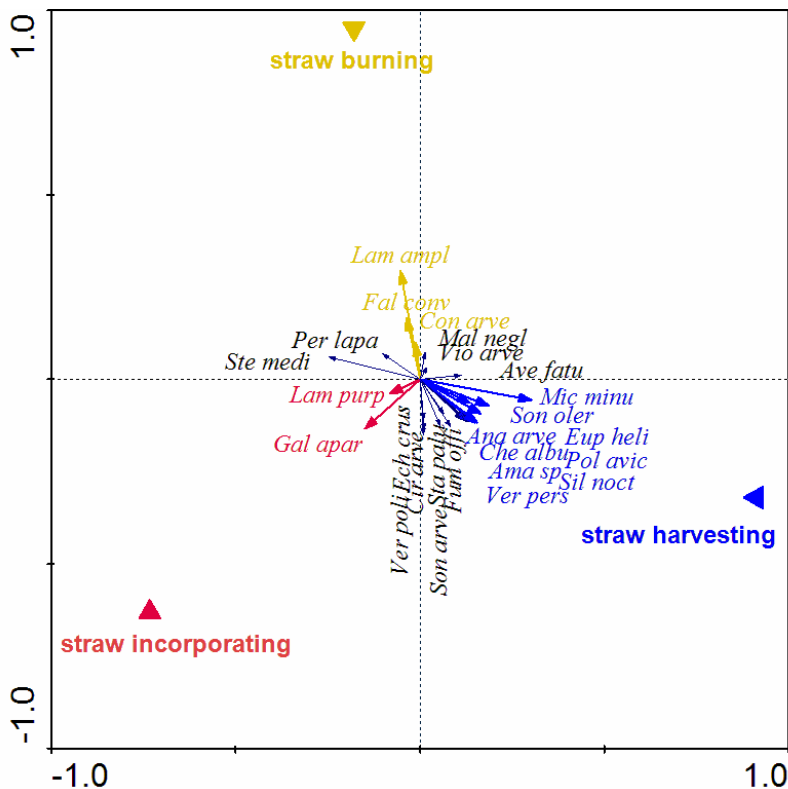
Nejvyšší zaplevelení bylo zaznamenáno na variantě se zaoráváním slámy, patrně je důsledek faktu, že většina dozrálých se plodů a semen zůstává na místě a je se slámou zaorána. Tato semena pak následně vzhází v příštím roce.

Naopak nejnižší zaplevelení bylo zjištěno na variantě s pálením slámy. Při pálení slámy je pravděpodobně zničena většina semen plevelů ve slámě a není obohacena půdní semenná banka. Omezené obohacování půdní semenné banky se projevuje v poklesu aktuálního zaplevelení.

Druhovú diverzitu je na všech variantách relativně vyrovnaná a odlišnost v druhovém složení je minimální.

Dominantním druhem je v obou letech *Galium aparine*, který patří k neškodlivějším druhům plevelů. Jeho výskyt je výrazně vyšší na variantě se zaorávkou slámy. Plody tohoto druh se šíří pouze zoochorií nebo zůstávání na místě ve slámě obilnin. Masivní zaorávání slámy obilnin v provozních podmínkách může být také důvodem masivního rozšíření v posledních desetiletích na našich polích.

Obr.1 Ordinační diagram vyjadřující vliv hospodaření se slámou na výskyt plevelů při tradičním zemědělství.



Legenda k ordinačnímu diagramu (obr.1): ▲ **straw incorporating** – zaorávka slámy, ◀ **straw harvesting** – odklid slámy, ▼ **straw burning** – pálení slámy

Zkratky druhů plevelů: *Ama sp* (*Amaranthus*), *Ana arve* (*Anagallis arvensis*), *Ave fatu* (*Avena fatua*), *Cir arve* (*Cirsium arvense*), *Con arve* (*Convolvulus arvensis*), *Ech crus* (*Echinochloa crus-galli*), *Eup heli* (*Euphorbia helioscopia*), *Fal conv* (*Fallopia convolvulus*), *Fum offi* (*Fumaria officinalis*), *Gal apar* (*Galium aparine*), *Che albu* (*Chenopodium album*), *Lam ampl* (*Lamium amplexicaule*), *Lam purp* (*Lamium purpureum*), *Mal negl* (*Malva neglecta*), *Mic minu* (*Microrrhinum minus*), *Per lapa* (*Persicaria lapathifolia*), *Pol avic* (*Polygonum aviculare*), *Pol avic* (*Polygonum aviculare*), *Sil noct* (*Silene noctiflora*), *Son arve* (*Sonchus arvensis*), *Son oler* (*Sonchus oleraceus*), *Sta palu* (*Stachys palustris*), *Ste medi* (*Stellaria media*), *Ver pers* (*Veronica persica*), *Ver poli* (*Veronica polita*), *Vio arve* (*Viola arvensis*).

ZÁVĚR

Druhové složení plevelů na jednotlivých variantách hospodaření se slámou bylo velice podobné. Na variantě s odvozem slámy se nejvíce vyskytovala silenka noční a hledíček menší, naopak zanedbatelné počty plevelů na dané variantě např.: ptačinec prostřední, oves hluchý aj.

Na variantě s odvozem slámy se nejvíce vyskytovaly *Amaranthus* sp., *Silene noctiflora*, *Microrrhinum minus*. Na variantě se zaoráním slámy byly nejčastěji *Galium aparine*. Na variantě s pálením slámy nejčastěji *Lamium amplexicaule* a *Fallopia convolvulus*.

Dominantním druhem je v obou sledovaných letech *Galium aparine*. Jeho výskyt je výrazně vyšší na variantě se zaorávkou slámy.

Je nutné si ovšem uvědomit, že hospodaření se slámou působí na plevele jen jako jeden z mnoha faktorů a také, že působí jako faktor polyfunkční za spolupůsobení mnoha jiných faktorů a to především zpracování půdy.

LITERATURA

MIKULKA, J., et al. (1999): Plevelné rostliny polí, luk a zahrad. Farmář – Zemědělské listy, Praha, 160 s.

KOHOUT, V. (1996): Herbologie. Plevelé a jejich regulace. ČZU, Praha, 115 s.

RULE, J. S., (1990): Seven years` straw incorporation. Arable Farming, 50 s.

PREW, R. D. et al., (1983): Effects on eight factors on the growth and nutrient uptake of winter wheat and on the incidence of pests and diseases. J. agric. Sci., Camb., 382 s.

KOS, M., (1981): Modely specializovaných osevních sledů pro jednotlivé výrobní oblasti. Metodika UVTIZ, UVTIZ Praha, 33 s.

HRON, F., VODÁK, A. (1959): Plevelé a boj proti nim. SZN Praha, 380 s.

KOTT, S. A. (1947): Biologičeskije osobennosti sornych rastěnij i borba s zasorženost' u počvy. Moskva, 112 s.

KUBÁT, J. (1998): Podmínky udržování vyrovnané bilance organické hmoty v půdě. Metodika pro zemědělskou praxi. ÚZPI/UVTIZ, Praha, 27 s.

URBAN, J., ŠARAPATKA, B. (2003): Ekologické zemědělství. MŽP Praha, 280 s. ISBN: 80-7212-274-6

EFFECT OF FERTILISATION AND TERM OF HARVEST ON THE STRUCTURE OF THE MEADOW STAND

Raus J., Hrabě F., Knot P.

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

E-mail: jraus@seznam.cz

ABSTRACT

The objective was to assess changes in botanical composition driven by different term of harvest and different level of fertilisation in the extensive-managed meadow. The experiment was founded in 2003 in the permanent alluvial meadow in Vatin (49°30'57"N, 15°58'10"E). There were two terms of harvest, early (15th June, 15th September) and late term (30th June, 30th September). Four levels of fertilisation were applied: no fertilisation, 30 kg P/ha + 60kg K/ha, 90 kg N/ha + PK and 180 kg N/ha + PK. Sward composition was analysed immediately before the first harvest by cover estimation method. Dominance (% D) of agro-botanical groups (grasses, legumes and other herbs) as well as D of each species was assessed. The changes in number of species and their dominance were expressed using Klimeš' "stand composition change" index (ZPS). Experimental data from 2004, 2008 and 2009 were analysed to assess both long-term and inter-annual changes.

Botanical composition was influenced mainly by fertilisation. The term of harvest was not significant. Under used doses of nitrogen (90 and 180 kg/ha) the portion of grasses was higher than 52% (in average from three years) compared to 45 % in non-fertilised and PK-fertilised variants. In the same time the portion of legumes and other herbs was decreased. Value of ZPS was about 30 % in long term period and 9 – 15% in 2008-2009 period. These values are optimal for stable meadow stand.

Key words: fertilisation, grassland, botanical composition

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

Různé formy travinné a bylinné vegetace jsou nejrozšířenějším pokryvem zemského povrchu. Vyvinuly se tam, kde ekologické podmínky nedovolují růst souvislého lesa, ať už je limitujícím faktorem nedostatek vody, hloubka půdního profilu či jeho promrzání (Rychnovská et. al., 1985). Česká republika leží – stejně jako většina Evropy – v zóně opadavých listnatých lesů a přirozená travinná společenstva jsou zde rozšířena omezeně ve fragmentech stepní vegetace, na podmáčených stanovištích a nad hranicí lesa (Moravec et al., 2004). Lidskou činností však vznikla na místech původních lesů náhradní společenstva, která se časem diferencovala a stabilizovala v závislosti na stanovištních podmínkách a určitém hospodářském režimu. Primární funkcí těchto polopřirozených porostů – luk a pastvin – byla produkce píce pro hospodářská zvířata. Díky svým vlastnostem vyplývajícím z charakteristik porostových komponent však travní porosty plní i řadu ekologických funkcí a stávají se vedle lesů významným prvkem ve stabilizaci krajiny (Chytrý, 2007). Pro zachování produkčních i mimoprodukčních funkcí lučních porostů jsou nezbytné opakované zásahy člověka. Vhodnými opatřeními je možno ovlivnit charakteristiky porostu a usměrnit jeho vývoj k plnění požadovaných funkcí.

Tato práce se zabývá vlivem dvou základních pratotechnických zásahů – hnojením a termínem seče – na botanické složení dvousečného lučního porostu. Právě hnojení má z lidských zásahů největší vliv na floristické složení lučního porostu. Zvláště dusíkaté hnojení působí na složení porostu velmi rychle a intenzívně. Zvyšuje podíl vysokých trav a snižuje podíl jetelovin a méně vzrůstných bylin. Hnojení fosforem zpravidla zvyšuje zastoupení jetelovin; zvláště při zvýšených dávkách dusíku je žádoucí dostatečným fosforečným hnojením udržovat optimální botanickou skladbu a kvalitu píce. Vliv draslíku na druhové složení je při dávkách do 100 kg/ha pozitivní. Podporuje rozšíření hodnotných trav a jetelovin. Při trvalém nadbytku v kombinaci s dusíkem dochází k rozvoji plevelů (šťovíky, bršlice kozí noha, kerblík lesní). Při dlouhodobém hnojení draslíkem a fosforem jsou potlačovány nitrofilní trávy a dominují jeteloviny a ostatní dvouděložné byliny (Hrabě et Buchgraber, 2009; Mrkvička et Veselá, 2001).

MATERIÁL A METODIKA

Přesný maloparcelkový pokus byl založen v roce 2003 ve stávajícím porostu trvalé louky na pozemku Výzkumné pícninářské stanice Vatín, 7 km jižně od Žďáru nad Sázavou, v katastrálním území Vatín, v bramborářské výrobní oblasti. Nadmožská výška je asi 535 m n. m. Lokalita se nachází v aluvii řeky Oslavy. Podložím jsou kvartérní říční sedimenty hlinité až šterkovité, uložené na silně metamorfovaných horninách moldanubika paleozoického až proteozoického stáří (pararuly). Půdním typem je pseudoglej modální. Dlouhodobý průměr (1971 – 2000) ročního úhrnu

srážek je 617,5 mm, průměrná teplota 6,9°C. Ve sledovaných letech se teploty i srážkové úhrny pohybovaly nad dlouhodobým průměrem.

Podle termínu seče jsou rozlišeny varianty raná (sklizeň 15. 6. a 15. 9.) a pozdní (30. 6. a 30. 9.). Tyto jsou kombinovány se čtyřmi variantami výživy: bez hnojení, fosfor 30 kg/ha + draslík 60 kg/ha, dusík 90 kg/ha + PK, dusík 180 kg/ha +PK. Každá varianta je sledována ve čtyřech opakováních. Celková dávka dusíku byla dělena na dvě dávky v poměru 1:1. Tedy 45 resp. 90 kg N/ha na jaře a 45 resp. 90 kg N/ha po první seči z celkové dávky 90 resp. 180 kg/ha. Dusík byl dodáván ve formě LAV (27 % N), draslík ve formě draselné soli a fosfor ve formě superfosfátu. Porost byl hodnocen před 1. sečí metodou projektivní dominance.

Byla použita data z let 2004, 2008 a 2009. Na základě údajů o počtu druhů a jejich pokryvnostech byly vyhodnoceny struktura porostu (zastoupení agrobotanických skupin) a změna porostové skladby dle Klimeše (1994). Bylo provedeno stanovení změn sukcesního charakteru mezi lety 2004 a 2009 a stanovení změn fluktuálního charakteru (2008 – 2009).

Základní vztah pro výpočet změny porostové skladby:

$$\text{ZPS} = 0,5 * \sum (x_i - z_i)$$

ZPS – změna porostové skladby

x_i – pokryvnost i -tého druhu v prvním posuzovaném roce

z_i – pokryvnost i -tého druhu v druhém posuzovaném roce

Rozpracované vzorce pro výpočet celkové, externí a interní změny:

$$C = \left[\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n |y_{ij} - z_{ij}| \right] / 2$$

$$E = \left[\sum_{i=1}^m \left| \sum_{j=1}^n (y_{ij} - z_{ij}) \right| \right] / 2$$

$$I = \left[\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n |y_{ij} - z_{ij}| - \sum_{i=1}^m \left| \sum_{j=1}^n (y_{ij} - z_{ij}) \right| \right] / 2$$

C celkové změny porostové skladby

E externí změny (mezi agrobotanickými skupinami)

I interní změny (uvnitř agrobotanických skupin)

$y_{i,j}$, $z_{i,j}$ podíl (%) jednotlivých druhů ve srovnávaných variantách

i ... m	jednotlivé skupiny rostlin
j ... n	jednotlivé druhy rostlin

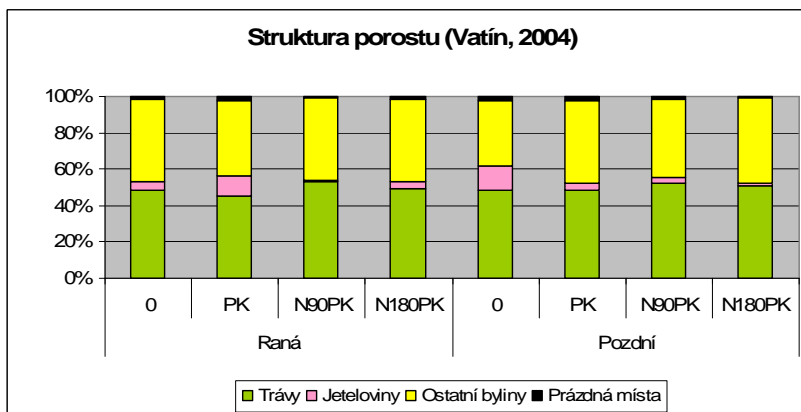
VÝSLEDKY A DISKUZE

Z grafu 1 je rok po založení pokusu patrná u většiny variant hnojení téměř shodná struktura porostu; tj. podíl trav 48,3 – 52,8 %, ostatních bylin 36,5 – 46,5 %, pouze u jetelovin je patrný zvýšený podíl při PK hnojení ve variantě rané sklizně. Překvapením je vysoký podíl jetelovin ve variantě bez hnojení u později sklizeného porostu. Již v této fázi je zřetelný kladný vliv N hnojení na rozvoj trav.

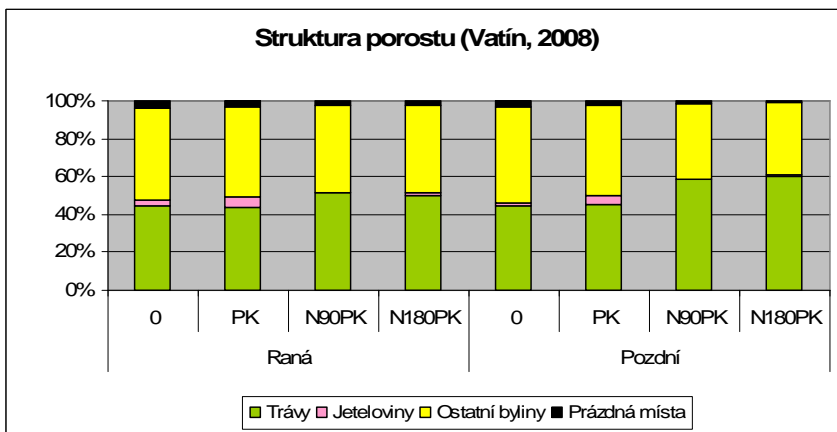
V roce 2008 (graf 2) lze pozorovat výraznější diferenciaci porostu v závislosti na hnojení. Podíl jetelovin je výrazně vyšší (3,3 – 9,8 %) ve variantách bez dusíkatého hnojení v porovnání s hnojenými (0 – 1,75 %). Vliv NPK hnojení se projevil zejména v pozdní variantě zvýšením podílu trav až na 60,25 %. Protikladem je snížení zastoupení bylin na úroveň 38 – 39,8 % a téměř úplné vymizení jetelovin.

V roce 2009 (graf 3) je u rané varianty poměr travní a bylinné složky vyrovnaný s výjimkou varianty bez hnojení, kde zastoupení bylin tvoří téměř 50 %. U později sklizeného porostu dominuje bylinná složka u variant bez hnojení a s PK hnojením, kdežto u variant s NPK hnojením dominuje travní složka (52,3 – 60 %). U obou variant sklizně dochází u porostů bez N hnojení ke zvyšování podílu jetelovin – u pozdní varianty 3,8 – 5,8 %, u rané varianty 4,25 – 9,8 %. U variant s NPK hnojením se, zvláště u pozdní varianty, zvyšuje dominance travní složky (až 60 %). Na druhé straně dochází k adekvátnímu snížení podílu ostatních bylin a především jetelovin.

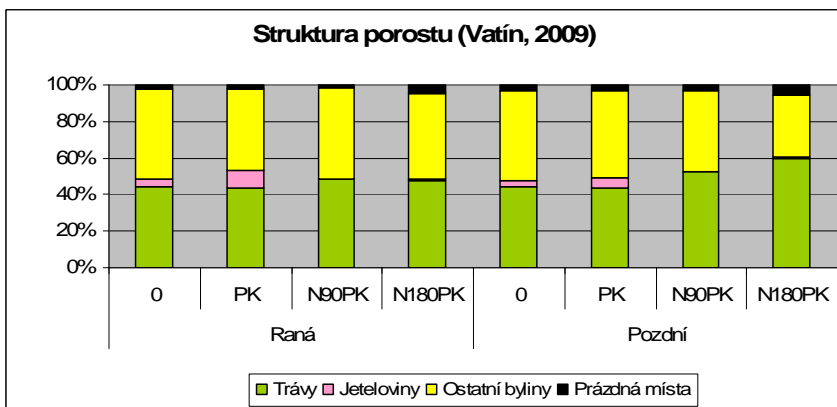
Graf 1 Struktura porostu (Vatín, 2004)



Graf 2 Struktura porostu (Vatín, 2008)



Graf 3 Struktura porostu (Vatín, 2009)



Z průměru všech sledovaných let (tab. 1) lze vypočítat jen nepatrné rozdíly ve struktuře porostů v závislosti na termínu sklizně, pouze u travní složky existuje statisticky průkazný rozdíl mezi ranou a pozdní variantou. Velmi dobře patrné jsou naopak rozdíly ve struktuře porostu v závislosti na úrovni hnojení (tab. 2). Dominance trav přesahuje u obou variant dusíkatého hnojení 52 %, zatímco u variant s PK a bez hnojení dosahuje 45 a 45,5 %. Naopak jeteloviny zaujímají větší podíl při PK hnojení (6,6 %) a bez hnojení (5,2 %), což je průkazný rozdíl oproti 0,9 a 1,6 % při 90 resp. 180 kg N/ha. Vyšší pokryvnost ostatních bylin u variant nehnojených dusíkem je statisticky neprůkazná.

MENDELNET 2010

Podpoření travních druhů dusíkatým hnojením znižuje celá řada autorů. Např. Mrkvička a Veselá (2002) udávají dominanci travní složky 75 % při dávkách 200 kg N/ha oproti 37 % v nehnojené variantě. Skládanka et al. (2008) zaznamenali velmi podobné hodnoty dominance trav – 38 % u nehnojeného porostu a 70 % při dávkách 180 kg N/ha. Oba zdroje se shodují též v kladném vlivu PK hnojení na jetelovinovou složku a její výrazný ústup vlivem vysokých dávek dusíku.

Vliv ročníku (tab. 3) se významně nepodílel na změnách v dominanci trav a ostatních bylin. Pouze u jetelovin byl zaznamenán průkazný rozdíl mezi ročníky 2004 – 2008 a 2004 – 2009.

Tab. 1 Vliv termínu seče na strukturu porostu, Vatín, 2004, 2008, 2009

Sklizeň	D %			
	Trávy	Jeteloviny	Byliny	Celkem
Raná	47,4a	3,8a	46,3a	97,5a
Pozdní	50,7b	3,3a	43,7a	97,7a

Tab. 2 Vliv hnojení na strukturu porostu, Vatín, 2004, 2008, 2009

Hnojení	D %			
	Trávy	Jeteloviny	Byliny	Celkem
0	45,5a	5,2b	46,6a	97,3a
PK	45,0a	6,6b	45,9a	97,5a
N90+PK	52,7b	0,9a	44,6a	98,2a
N180+PK	52,9b	1,6a	42,8a	97,3a

Tab. 3 Vliv ročníku na strukturu porostu, Vatín, 2004, 2008, 2009

Ročník	D %			
	Trávy	Jeteloviny	Byliny	Celkem
2004	49,4a	5,3b	43,7a	98,4b
2008	49,8a	2,2a	45,7a	97,7ab
2009	48,0a	3,2ab	45,5a	96,7a

Změna porostové skladby dle Klimeše

Celková změna porostové skladby v letech 2004 – 2009 se pohybuje (tab. 4) v rozmezí 24,5 – 32,8 %. Největší je u variant hnojených 90 kg N/ha (32,8 a 29,7 %), přičemž v obou případech se na této celkové změně podílí z více než 90 % změny interní (obměna druhů v rámci jednotlivých skupin). Zvýšení podílu externí změny na celkové u nehnojené a plně hnojené varianty u extenzivní varianty naznačuje, že později provedená první seč poměrně výrazně zasahuje do průběhu sukcese.

Údaje v tab. 5 zachycují meziroční změnu porostové skladby (2008 – 2009), která je způsobena především odlišným průběhem počasí. Celková změna vykazuje nižší hodnoty. Vyrovnanější podíl externí a interní změny na změně celkové u některých variant může být důsledkem poměrně značných meziročních srážkových rozdílů (2008: 716,5mm, 2009: 820,8 mm).

Meziroční změna porostové skladby by u nově setých porostů měla být v rozmezí 25 – 40 % Klimeš, 1994). Pro trvalá travní společenstva ve stabilizované fázi sukcese by tato změna měla být nižší, což se potvrzuje předloženými výsledky. Vysoký podíl interní změny na celkové změně porostu ukazuje, že se zde odehrávají spíše mezidruhové změny v rámci agrobotanických skupin a že společenstva jsou stabilizovaná z hlediska struktury základních složek.

Tab. 4 Změna porostové skladby sukcesního charakteru (Vatín, 2004, 2009)

Sklizeň	Hnojení	ZPS %				
		C	E	podíl z C	I	podíl z C
Raná	0	28,7	3,9	13,8	24,7	86,2
	PK	24,5	2,2	8,8	22,4	91,2
	N90PK	32,8	3,1	9,6	29,7	90,5
	N180PK	30,9	3,5	11,4	27,4	88,6
Pozdní	0	28,7	13,0	45,3	15,7	54,8
	PK	27,2	4,4	16,1	22,8	83,9
	N90PK	29,7	2,6	8,6	27,1	91,4
	N180PK	28,4	11,2	39,4	17,2	60,6

Tab. 5 Změna porostové skladby fluktučního charakteru (Vatín, 2008, 2009)

Skližeň	Hnojení	ZPS %				
		C	E	podíl z C	I	podíl z C
Raná	0	9,3	1,3	14,3	8,0	85,7
	PK	8,9	4,1	46,1	4,8	53,9
	N90PK	14,7	3,2	21,9	11,5	78,1
	N180PK	15,0	2,2	14,5	12,8	85,5
Pozdní	0	9,5	1,6	16,5	7,9	83,5
	PK	11,1	2,1	18,8	9,0	81,2
	N90PK	15,0	5,9	39,6	9,1	60,5
	N180PK	12,9	4,3	33,4	8,6	66,6

ZÁVĚR

Rozdílný termín sklizní měl u dvousečného lučního porostu jen minimální vliv na zastoupení agrobotanických skupin. Významnější vliv na strukturu porostu měla úroveň hnojení, zvl. dusíkem. U varianty pozdní sklizně došlo při dávce 180 kg N/ha ke zvýšení podílu travní složky ze 48 % na 60 %, dále k výraznému ústupu jetelovin a snížení podílu ostatních bylin ze 46 na 34 %. Při provedení ranější první sklizně zůstala zachována struktura společenstva s vyrovnaným podílem trav a ostatních bylin. Byl též potvrzen negativní vliv dusíkatého hnojení na výskyt jetelovin.

Celková změna porostové skladby dle Klímeše se pohybovala okolo 30 % za období 2004 – 2009 a meziroční změna (2008 – 2009) dosáhla max. 15 %. Tyto hodnoty dokazují, že trvalé luční společenstvo při dvousečném využití a při odpovídající úrovni výživy dosahuje stabilizované struktury.

LITERATURA

HRABĚ F., BUCHGRABER K. *Pícninářství. Travní porosty*. 2. přepr. vyd. Brno: MZLU v Brně, 2009. 154 s.

CHYTRÝ M. (ed.). *Vegetace České republiky. 1, Travninná a keříčková vegetace*. 1. vyd. Praha: Academia, 2007. 528 s. ISBN 978-80-200-1462-7.

MORAVEC J. et al. *Fytocenologie*. 1. vyd. Praha: Academia, 2004. 403 s. ISBN 80-200-0128-X.

MRKVIČKA J., VESELÁ M. *Vliv různých forem hnojení na botanické složení a výnosový potenciál travních porostů*. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 2001. 26 s.

MENDELNET 2010

MRKVIČKA J., VESELÁ M. The influence of long-term fertilisation on species diversity and yield potential of permanent meadow stand. *Rostlinná výroba*, 2002, 48 (2): 69 – 75.

KLIMEŠ F. *Ekologické a ekonomické aspekty uplatnění dočasných travních porostů*. Praha: UZPI, 1994. 36 s.

RYCHNOVSKÁ M., BALÁTOVÁ-TULÁČKOVÁ E., ÚLEHLOVÁ B., PELIKÁN J. *Ekologie lučních porostů*. 1. vyd. Praha: Academia, 1985. 292 s.

SKLÁDANKA J., HRABĚ F., HEGER P. Vliv intenzity hnojení a využití na druhovou diverzitu a kvalitu travního porostu. *Acta Universitatis Agriculturae Et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 2008, 51(2): 131 – 138. ISSN 1211-8516.

OCCURRENCE OF GARLIC'S PESTS IN THE AREA OF SOUTH-EAST MORAVIA AND CONTROL POSSIBILITIES

Sapáková E., Šefrová H.

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

E-mail: xsapako0@node.mendelu.cz

ABSTRACT

There has been a traditional area of garlic's growing in the south-east Moravia. The preliminary annual research has been realized on five plots in south-east Moravia during 2008–2009: Uherské Hradiště (181 m), Milotice (191 m), Vlčnov (240 m), Dolní Němčí (256 m) and Vápenky (484 m). There were outplanted varieties in the autumn (Mojmír, Záhorský, Dukát, Elin, Blanin) but there was outplanted only one variety (Lumír) in the plot Milotice in the spring. There was not any chemical protection except for insecticide Reldan 40 EC on plot Dolní Němčí. There were white non-wovens on plot Milotice. There was controlling of plants with coloured bowls regularly. There were found out occurrence of three pests – allium leaf miner (*Phytomyza gymnostoma*) (40%) in Vlčnov, garlic fly (*Suillia univittata*) (20%) in Dolní Němčí, and onion weevil (*Oprohinus suturalis*) (30%) in Uherské Hradiště. There was not appeared any pest in study area Vápenky.

Key words: *Suillia univittata*, *Phytomyza gymnostoma*, *Oprohinus suturalis*

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

Česnek kuchyňský *Allium sativum* je rostlina, která má svou dlouhou tradici v pěstování nejen v České republice, ale i po celém světě. Je to plodina poměrně nenáročná na pěstování, jednoletá, vytrvalá, vegetativně množená rostlina. Řadí se do II. nebo III. tratě, vyhovují mu hlubší, úrodné, humózní, záhřevné a dobře provzdušněné půdy.

Na česneku může škodit poměrně široké spektrum škůdců z různých skupin živočichů. Hád'átko zhoubné patří mezi hlístice, vlnovník česnekový mezi roztoče. Nejvyšší počet škůdců patří do hmyzu: mšice broskvoňová (polokřídílí), třásněnka zahradní (třásnokřídílí), molík česnekový (motýli), krytonosec cibulový, drátovci (brouci), houbomilka česneková, květilka cibulová, vrtalka pórová (dvoukřídílí). Mezi nejvýznamnější škůdce se řadí hád'átko zhoubné a houbomilka česneková. Těmto druhům mohou být připisovány škody způsobené jinými škůdci.

MATERIÁL A METODIKA

V oblasti jihovýchodní Moravy byl sledován výskyt a druhové spektrum škůdců česneku kuchyňského. Monitoring škůdců probíhal v letech 2008–2009 na pěti studijních plochách v různé nadmořské výšce: Vápenky (484 m), Dolní Němčí (256 m), Vlčnov (240 m), Milotice (191 m) a Uherské Hradiště (181 m). Na všech plochách byly vysazeny ozimé odrůdy česneku (Uherské Hradiště – Elin, Blanin; Vlčnov – Dukát; Dolní Němčí – Mojmír, Záhorský; Vápenky – Dukát), pouze v Miloticích byla vysazena jarní odrůda Mojmír. Ochranná opatření: netkaná textilie v Miloticích, dvě aplikace Reldanu (7.4., 21.4.) v Dolním Němčí. Škůdci byli zjišťováni vizuální kontrolou porostu česneku během vegetace a při sklizni a pomocí různě barevných misek s formaldehydem.

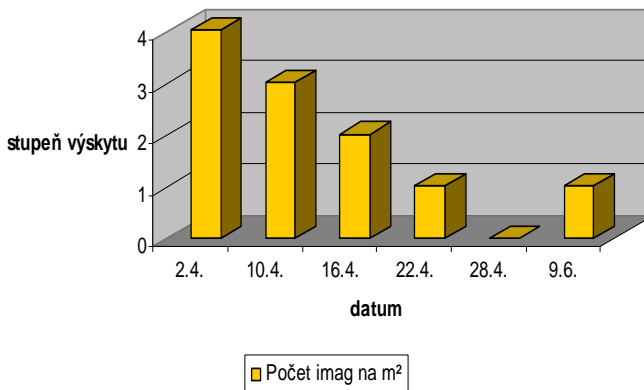
VÝSLEDKY A DISKUZE

Vzhledem k nepříznivému počasí byl první výskyt imag houbomilky zaznamenán 2.4.2009 (obrázek 1), kdy se teploty pohybovaly nad 10 °C. Imaga houbomilky létají v blízkosti nad povrchem země. Maximum náletu houbomilek bylo v období 4.4.–11.4.2009, kdy byla také sledována aktivita dospělých houbomilek pomocí různě barevných (červená, bílá, zelená, modrá, žlutá) misek, naplněných formaldehydem, rozmístěných 7–9 metrů od sebe v obou odrůdách (Mojmír a Záhorský). Kontrola misek probíhala denně kolem 18. hodiny. Z výsledků monitoringu vyplývá, že houbomilku česnekovou pravděpodobně nejvíce přitahuje barva bílá (13 imag houbomilky česnekové) (obrázek 2). Podle pokusů Szwejdý (1994) může být podzemní výsadba česneku zničena až z 90 % houbomilkou česnekovou. V oblastech, kde dochází pravidelně ke značným škodám způsobeným houbomilkou, doporučuje jarní výsadbu česneku. Houbomilka klade vajíčka brzy z jara převážně do báze listů a česnek vysázený na jaře není v té době dosud vzešlý. Jedna samička naklade v průměru 60 vajíček. Škůdce má jednu generaci ročně. Při

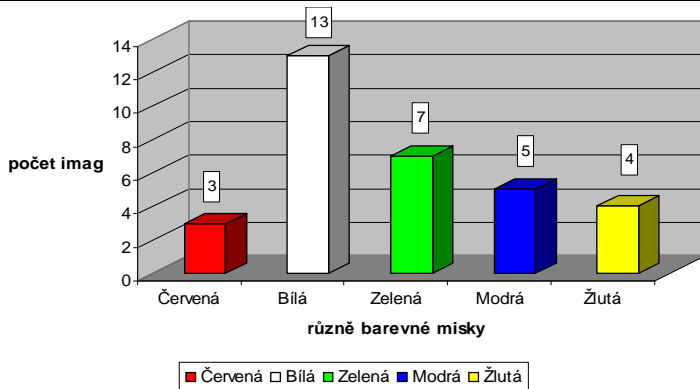
pěstování česneku na malých plochách se jako účinná ochrana osvědčila netkaná textilie (Szwejda, 1994).

Vrtalka pórová byla zjištěna ve Vlčnově (obrázek 3) a v Miloticích. Ve Vlčnově dosahovala vyšší početnosti (40 %) než v Miloticích (6 %). Ve Vlčnově nebyl porost ošetřen, v Miloticích byla použita jako ochrana netkaná textilie. Imaga byla pozorována 11.4.–27.4., vajíčka 15.4.–29.4., larvy 30.4.–20.5., puparia od 21.5. Podle Duškové a Kopřivy (2009) je vhodné při napadení vrtalkou pórovou odstranění napadených rostlin z porostu a likvidace posklizňových zbytků. Při maloparcelovém pěstování je účinné zakrytí porostu bílou netkanou textilií.

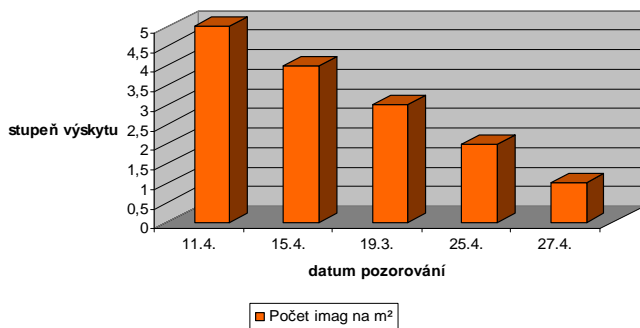
Krytonosec cibulový byl zaznamenán v odrůdách Elin a Blatin na studijní ploše v Uherském Hradišti (obrázek 4). Na této ploše nebyla použita žádná ochrana česneku, aby mohla být sledována bionomie tohoto škůdce. Přezimující imaga byla pozorována 6.4–8.4., vajíčka 9.4–16.4., larvy 17.4.–16.5., kukly 17.5., nová imaga 15.6. Podle Szwejdy (2006) je konkurentem krytonosece cibulového molík česnekový, který se vyskytuje na česneku ve stejné době jako krytonosec. V Polsku v letech 1970–2000 definitivně převládá molík česnekový, ale v posledním desetiletí se zvyšuje škodlivost krytonosece cibulového. Krytonosec a molík způsobují na česneku podobné poškození. Miller (1956) uvádí, že larvy krytonosece vykusují ve stěnách nepravidelná okénka podobně, jak to činí housenky molíka česnekového. Na rozdíl do symptomů od krytonosece jsou požerky způsobené housenkami molíka sepfedeny pavučinou.



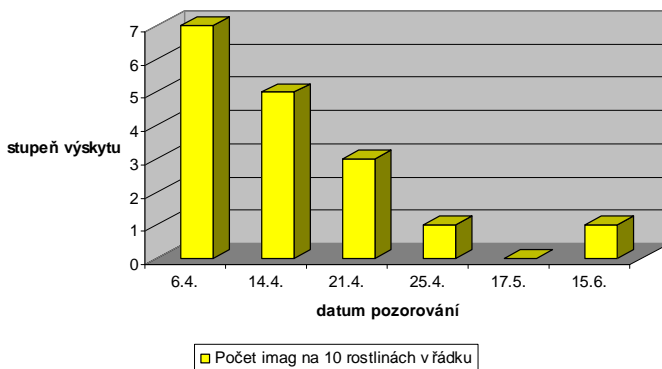
Obrázek 1: Počet imag houbo milky česnekové na 1 m² na studijní ploše v Dolním Němčí



Obrázek 2: Početnost imag houbomilky česnekové v různě barevných miskách na studijní ploše v Dolním Němčí



Obrázek 3: Počet imag vrtalky pórové na 1 m² na studijní ploše ve Vlčnově



Obrázek 4: Počet imag krytonosec cibulového na 10 rostlinách v řádku na studijní ploše v Uherském Hradišti

ZÁVĚR

Byly zjištěny tři druhy škůdců: houbomilka česneková, vrtalka pórová a krytonosec cibulový.

Výnosové ztráty, způsobené napadením houbomilkou česnekovou na studijní ploše v Dolním Němčí, byly vyhodnoceny kolem 20 %. Z výsledků monitoringu vyplynulo, že houbomilku česnekovou pravděpodobně nejvíce přitahuje barva bílá (13 imag houbomilky česnekové).

Na studijní ploše ve Vlčnově bylo zjištěno 40% napadení česneku vrtalkou pórovou. Na studijní ploše ve Vápenkách nebyli pozorováni žádní škůdci česneku. Pro česnek má mimořádný význam výběr odrůd, které jsou dobře přizpůsobené podmínkám dané oblasti. Netkaná textilie se osvědčila jako účinná ochrana na pokusné ploše v Miloticích, kde v průběhu roku 2008/2009 kromě nízkého výskytu (6 %) vrtalky pórové nebyl zaznamenán žádný ze škůdců česneku.

Na studijní ploše v Uherském Hradišti byl pozorován krytonosec cibulový. Ztráty na výnosu česneku vlivem napadením krytonoscem cibulovým a následnou fuzáriovou hnilobou byly 30 %.

LITERATURA

DUŠKOVÁ L. & KOPŘIVA J., 2009: Ochrana proti chorobám a škůdcům. Grada, Praha, 96 s.

MILLER F., 1956: Zemědělská entomologie. Československá akademie věd, Praha 1057 s.

SZWEJDA J., 1994: Szkodliwość i zwalczanie blotniszki czosnkówki. Ochrona Roslin, 38(7): 4–5

SZWEJDA J., 2006. Pest management in ecological production of vegetables in Poland. [in Polish with English summary] Ann. Warsaw Agriculture University Horticulture and Landscape Architecture, 27: 5–15

VIRULENCE OF ISOLATES OF *COLLETOTRICHUM ACUTATUM* TO SELECTED HOST PLANTS AND DETECTION OF ISOLATES BY PCR

Staňková B., Vichová J., Pokorný R., Hrudová E., Holková L.

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

E-mail: Stankova.b@seznam.cz

ABSTRACT

Colletotrichum acutatum belongs to the polyphagous fungal pathogens in temperate, subtropical and tropical climate. The biggest losses are caused in strawberry production (anthracnose of strawberry) in Central Europe and *Colletotrichum acutatum* has become the most important pathogen of safflower recently. The aim of work was the assessment of the virulence of *Colletotrichum acutatum* isolates obtained from different host plants to young plants of two varieties of safflower (*Carthamus tinctorius* L) and ripe fruits of two strawberry varieties (*Fragaria x ananassa* Duch.).

Conventional PCR using specific primers Col1, Col2, CaInt2 and ITS4 was demonstrated that selected isolates belong to the species *Colletotrichum acutatum* and the specific differences between isolates was detected.

Among the various varieties of safflower was not shown a statistical difference. The most important virulence to experimental plants of both varieties had isolate 1209, isolate thus obtained from safflower. Ripe fruits of variety Pegasus of strawberry were more susceptible to *Colletotrichum acutatum* than fruits of variety Elkas. Isolate 710, isolated from *Hypericum perforatum* L., showed the highest virulence in terms of the index of infection intensity. The frequency of infection of strawberry fruits almost always reached 100%, which led to the conclusion that the strawberry fruits were sensitive to selected isolates of the pathogen significantly. We proved that isolates of pathogen had different virulence to different plant species.

Key words: *Colletotrichum acutatum*, *Carthamus tinctorius*, *Fragaria x ananassa*, virulence, cross-infection, PCR

Acknowledgments: This project was supported by IGA AF MENDELU Brno No. IP 17/2010, IGA AF MENDELU Brno No. TP 4/2010 and NAZV Mze No. QH811029: Innovation protection of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) against important fungal pathogens.

ÚVOD

Colletotrichum acutatum J. H. Simmonds patří mezi polyfágní houbové patogeny s kosmopolitním rozšířením způsobující významné ztráty na produkci hospodářských plodin (Peres et al., 2005) jako jsou např. jahodník velkoplodý (*Fragaria x ananassa* Duch.), jablňo (*Malus pumila* Mill. a *Malus sylvestris* Mill.), třešeň (*Prunus cerasus* L.), paprika roční (*Capsicum annuum* L.), rajče jedlé (*Lycopersicon esculentum* Mill.), lupina mnoholistá (*Lupinus polyphyllus* Lindl.) (Sreenivasaprasad, Talhinhos, 2005), mandloň obecná (*Prunus dulcis* Mill.), olivovník evropský (*Olea europaea* L.), papája melounová (*Carica papaya* L.), citrusy (*Citrus* spp.). Hostiteli *C. acutatum* jsou i některé okrasné rostliny a jehličnany (Guerber et al., 2003). *Colletotrichum acutatum* je v současnosti hospodářsky nejzávažnějším patogenem světlice barvířské (*Carthamus tinctorius* L.) (Víchová, 2009).

Colletotrichum acutatum je původcem onemocnění nazývaného antraknóza, jenž je především u jahod klíčovým onemocněním způsobujícím až 80% odumírání rostlin a 50% ztráty na produkci (Debode et al., 2009). Všeobecně patogen napadá jak klíčící, tak i plně vzrostlé rostliny a příznaky choroby se projevují na listech, stoncích, květních částech. Typickými příznaky onemocnění na plodech jsou okrouhlé či hranaté, propadlé skvrny, na kterých je po určité době zřetelná naoranžovělá masa spor. Při silnějším infekčním tlaku léze splývají (Lewis Ivey et al., 2004). U rostlin, kde patogen napadá bylinnou část, jsou charakteristickými symptomy nepravidelné či okrouhlé skvrny na listech, které se později slévají a listy zasychají. Na stoncích jsou rovněž nepravidelné, vpadlé, hnědé skvrny, na nichž se po určité době objevují oranžové masy spor. U *C. acutatum* byla také prokázána latentní infekce (Šindelková et al., 2008), jež je hlavní příčinou velkého rozšíření patogena (Debode et al., 2009). U *Colletotrichum acutatum* existuje i značná vnitrodruhová variabilita projevující se fenotypově, ale i genotypově, což by mohlo mít vliv na virulenci patogena (Sreenivasaprasad, Talhinhos, 2005; Guerber et al., 2003).

Z hlediska systému patří *Colletotrichum acutatum* do třídy *Ascomycetes*. Rozmnožuje se konidiiemi (velikost 8 - 16 x 2,5 - 4 µm, většinou oválného tvaru s tenkou buněčnou stěnou, bez přehrádek, barva je hyalinní) (Kloutvorová et al., 2007), které se tvoří neomezeně a šíří se větrem a vodou, např. prosakováním, zálivkou, deštěm. Optimální podmínky pro rozvoj infekce je teplota 25 °C a oteplení po dešťových srážkách. K infekci však dochází i při širším rozmezí teplot (18 - 33 °C), vysoké relativní vlhkosti vzduchu (95 - 100 %) a ovlhčení závlahou, rosou či srážkami po dobu 13 hodin a více. Inkubační doba je pouze několik dní (Šindelková et al., 2008).

Pro detekci rodu *Colletotrichum*, jeho druhů a popřípadě i vnitrodruhových skupin se v současné době, kromě klasických diagnostických metod, používá molekulární genetická metoda PCR. Pro

tuto práci byla zvolena konvenční PCR a specifické primery pro ověření rodové a následně druhové pravosti.

Cílem této práce bylo stanovit virulenci vybraných izolátů *Colletotrichum acutatum* získaných z různých hostitelských rostlin na vybrané hostitele - jedná se o tzv. křížovou infekci - a pomocí PCR stanovit rodovou i druhovou pravost a zjistit vnitrodruhové odlišnosti prostřednictvím primerů navržených do variabilních oblastí DNA patogena.

MATERIÁL A METODIKA

Pro hodnocení virulence vybraných izolátů patogena *Colletotrichum acutatum* byly zvoleny dva hostitelské rostlinné druhy – světlice barvířská (*Carthamus tinctorius* L.) a jahodník velkoplodý (*Fragaria x ananassa* Duch.). Od obou druhů byly vybrány dvě odrůdy.

Izoláty. Celkem bylo zkoušeno devět izolátů *Colletotrichum acutatum* různého rostlinného původu (viz *Tabulka č. 1*). Pro zajištění čistoty byly ze všech izolátů patogena připraveny monosporecké izoláty a kultury byly kultivovány na PDA za vhodných podmínek pro sporulaci.

Tabulka č. 1 Testované izoláty Colletotrichum acutatum a jejich původ

Izolát	Rostlina	Dodavatel	Provedený test
CBS 786.86	<i>Malus sylvestris</i>	CBS	Virulence, PCR
CBS 292.67	<i>Capsicum annuum</i>	CBS	Virulence, PCR
CBS 112202	<i>Fragaria x ananassa</i>	CBS	PCR
PCF 231	<i>Fragaria x ananassa</i>	PCFruit	Virulence, PCR
PCF 437	<i>Lupinus alba</i>	PCFruit	Virulence, PCR
710	<i>Hypericum perforatum</i>	ÚPŠRR Brno	MENDELU Virulence, PCR
608	<i>Carthamus tinctorius</i>	ÚPŠRR Brno	MENDELU PCR
1109	<i>Carthamus tinctorius</i>	ÚPŠRR Brno	MENDELU PCR
1209	<i>Carthamus tinctorius</i>	ÚPŠRR Brno	MENDELU Virulence, PCR

Inokulace světlice barvířské. U světlice barvířské byla virulence jednotlivých izolátů testována na odrůdách Sabina (registrovaná v ČR) a India. Obě tyto odrůdy byly získány z VÚP Troubsko. Na třítydenní rostliny světlice barvířské se dvěma až třemi páry pravých listů bylo pomocí ručního postřikovače aplikováno 20 ml roztoku inokula o koncentraci $8,1 \times 10^4$ konidií/ml. Rostliny byly zabaleny na 48 hodin do mikroténové fólie, aby byla udržena potřebná vlhkost vzduchu a ovlhčení listů pro správný růst patogena, a umístěny do kultivační místnosti s řízenou teplotou 25 °C. Po 4 - 5 dnech od inokulace bylo hodnoceno napadení rostlin, pozornost byla vždy soustředěna na poslední (tedy nejmladší) tři listy, dle vytvořené stupnice: stupeň 1 – zdravý list, stupeň 2 – jednotlivé skvrny na listu, stupeň 3 – polovina listu napadena (seschlá), stupeň 4 – celý list napaden (suchý) viz *Obr. 1*.

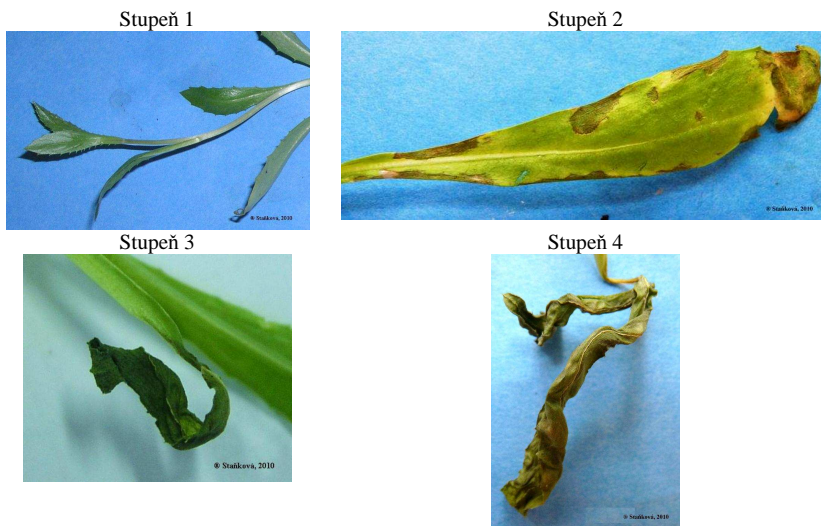
Inokulace jahodníku velkoplodého. U jahodníku velkoplodého byla virulence hodnocena na zralých plodech odrůd Elkas a Pegasus zakoupených v Jahodárně Bratčice. Plody byly pečlivě umyty, aby se odstranily posklizňové nečistoty, povrchově vydezinfikovány 3% chlornanem sodným a opláchnuty destilovanou vodou. Po osušení byly plody poraněny sterilní jehlou a do rány bylo pomocí pipety nainokulováno 10 μ l suspenze se spory o koncentraci $8,1 \times 10^4$ konidií/ml. Plody byly vyskládány dle jednotlivých izolátů na umělohmotná plata, kde před tím byla na dno - pro následné udržení zvýšené vlhkosti vzduchu v okolí vzorku - položena textilie a filtrační papír dostatečně nasycené destilovanou vodou. Plata s plody byla přenesena do kultivační místnosti a důkladně zabalena do mikrotenové fólie na 48 hodin. Inkubace probíhala při teplotě kolem 25 °C. Po 4 dnech od inokulace byla vizuálně hodnocena schopnost patogenity jednotlivých kmenů *Colletotrichum acutatum* dle vytvořené stupnice: 1 – zdravý plod, 2 – do 20 % plodu napadeno včetně, 3 – do 50 % plodu napadeno včetně, 4 – do 75 % napadeno včetně, 5 – do 100 % napadeno (viz Obr. 2).

Extrakce DNA. Izoláty *Colletotrichum acutatum* byly kultivovány na Petriho miskách na PDA při teplotě 25 °C po dobu 10 – 14 dnů. Pomocí tekutého dusíku bylo mycelium v třecí misce důkladně rozmělněno a dále se při extrakci DNA postupovalo dle protokolu DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany).

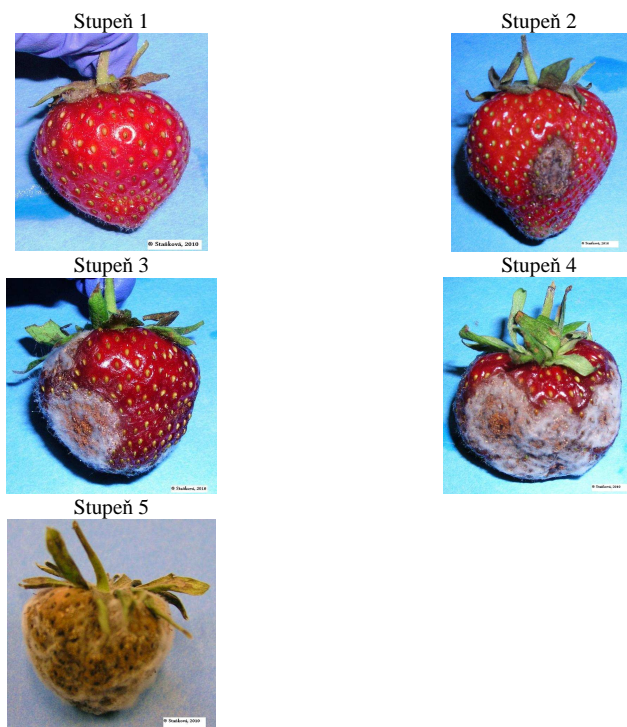
PCR reakce. Pro rodovou detekci byl použit primer Col1 a reverzní primer Col2, pro druhovou detekci byl použit druhově specifický primer CaInt2 a reverzní primer ITS4 nasedající do variabilnějších oblastí ITS1 a ITS2 genu 5.8S (Garrido et al., 2009).

Amplifikace s rodově specifickými primery probíhala: počáteční denaturace 3 min při 94 °C, následovalo 40 cyklů 1 min při 94 °C, 1 min při 56 °C a 1 min při 72 °C a na závěr jeden 10 min cyklus při 72 °C. Amplifikace s druhově specifickými primery se skládala: počáteční denaturace 3 min při 94 °C, následovalo 35 cyklů 30 s při 94 °C, 30 s při 60 °C, 2 min při 72 °C a na konec jeden cyklus 10 min při 72 °C. Produkty byly odděleny na 1% agarose pomocí elektroforézy a zviditelněny ethidium bromidem pod UV lampou (Garrido et al., 2008).

Sekvenování. Jednotlivé produkty byly izolovány z gelu, přečištěny dle protokolu MinElute Gel Extraction Kit (Qiagen, Hilden, Germany) a odeslány na sekvenování na Ústav morfologie, fyziologie a genetiky zvířat MENDELU v Brně. Přečtené sekvence byly porovnány se sekvencemi v GenBank.



Obr. 1 Stupnice napadení světlice barvířské *Colletotrichum acutatum*



Obr. 2 Stupnice napadení plodů jahodníku velkoplodého *Colletotrichum acutatum*

Statistické vyhodnocení. V rámci testování byly nezávisle hodnoceny tři soubory izolátů.

Výsledky byly statisticky zpracovány programem UNISTAT, a to nejprve vícefaktorovou ANOVA (pro světlici barvířskou - faktor: odrůda, izolát, list, pro jahodník – faktor: odrůda, izolát) a následně vyhodnoceny Tukey-HSD testem. Dále byla provedena jednofaktorová analýza (faktor izolát) odděleně pro každou odrůdu jednotlivých testovaných souborů pro porovnání virulence izolátů v rámci dané odrůdy (*Tabulka č. 2, č. 3, č. 4*).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Ze statistického zpracování dat získaných z hodnocení virulence pro světlici barvířskou a jahodník velkoplodý lze stanovit tyto výsledky.

Soubor A - světlice barvířská: Mezi odrůdami nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl, jak v četnosti napadení, tak i v indexu napadení. Mezi jednotlivými listy rovněž nebyl statisticky významný rozdíl v četnosti a i v indexu napadení. Statistické rozdíly mezi testovanými izoláty u odrůdy Sabina a India demonstruje *Tabulka č. 2*. U odrůdy Sabina i India byly všechny izoláty mezi sebou statisticky rozdílné v indexu i četnosti napadení, přičemž nejnižší míru virulence vykazoval izolát 231 a nejvyšší izolát 1209, a to u obou odrůd.

Soubor B - světlice barvířská: Mezi odrůdami z hlediska četnosti a indexu napadení nebyly statisticky významné rozdíly. V indexu napadení byly statistické rozdíly mezi 1. a 2. - 3. listem, v četnosti napadení se již odlišnosti nevykázaly. *Tabulka č. 3* ukazuje rozdíly mezi sledovanými izoláty u jednotlivých odrůd. Při hodnocení indexu a četnosti napadení byly statistické rozdíly mezi izoláty 710, 29267 a 1209 jak u odrůdy Sabina, tak u odrůdy India, přičemž nejméně virulentní byl izolát 710 a nejvíce izolát 1209.

Soubor C - jahodník: Mezi odrůdami Pegasus a Elkas byly zjištěny statisticky průkazné rozdíly. Mezi izoláty – při testování napříč odrůdami – v indexu napadení statistické rozdíly nebyly, v četnosti napadení se statistické rozdíly potvrdily mezi izoláty 29267 a 1209. Při hodnocení izolátů u jednotlivých odrůd (viz *Tabulka č. 4*) nebyly zjištěny v indexu napadení ani u jedné odrůdy statistické rozdíly. U četnosti napadení nebyly potvrzeny žádné statistické rozdíly mezi izoláty u odrůdy Pegasus, u odrůdy Elkas byly statisticky průkazné rozdíly mezi izolátem 29267 a izoláty ostatními. Nevyšší míru virulence vykazoval u odrůdy Pegasus izolát 710 a nejnižší izolát 231, u odrůdy Elkas nejvyšší opět izolát 710 a nejnižší izolát 29267.

Tabulka č. 2 Stanovení hladiny virulence u izolátů Colletotrichum acutatum pro jednotlivé odrůdy světlice – soubor A

Izolát	Sabina		India	
	Index průměr	Četnost průměr	Index průměr	Četnost průměr
231	1,02 ^A	2,22 ^A	1,23 ^A	13,33 ^A
437	1,59 ^B	23,33 ^B	1,89 ^B	41,11 ^B
1209	2,99 ^C	88,89 ^C	2,97 ^C	86,67 ^C

Pozn.: Odlišná velká písmena označují statisticky průkazně odlišné skupiny ($\alpha=0,05$)

Tabulka č. 3 Stanovení hladiny virulence u izolátů *Colletotrichum acutatum* pro jednotlivé odrůdy světlice - soubor B

Izolát	Sabina		India		
	Index	Četnost	Index	Četnost	
	průměr	průměr	průměr	průměr	
710	1,08 ^A	7,78 ^A	1,17 ^A	12,22 ^A	
29267	1,19 ^A	13,33 ^A	1,24 ^A	16,67 ^A	
1209	3,02 ^B	100,00 ^B	3,19 ^B	82,22 ^B	

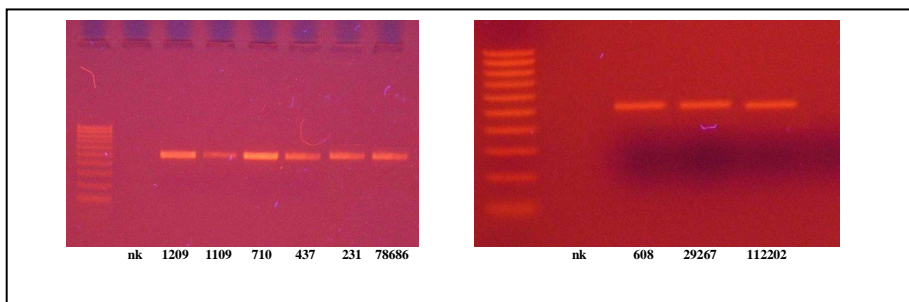
Pozn.: Odlišná velká písmena označují statisticky průkazně odlišné skupiny ($\alpha=0,05$)

Tabulka č. 4 Stanovení hladiny virulence u izolátů *Colletotrichum acutatum* pro jednotlivé odrůdy jahodníku – soubor C

Izolát	Pegasus		Elkas		
	Index	Četnost	Index	Četnost	
	průměr	průměr	průměr	průměr	
231	3,60 ^A	96,67 ^A	2,63 ^A	100,00 ^B	
29267	3,87 ^A	100,00 ^A	2,17 ^A	73,33 ^A	
78686	4,00 ^A	100,00 ^A	2,67 ^A	96,67 ^B	
1209	4,07 ^A	100,00 ^A	2,23 ^A	100,00 ^B	
437	4,20 ^A	100,00 ^A	2,67 ^A	96,67 ^B	
710	4,23 ^A	100,00 ^A	2,70 ^A	96,67 ^B	

Pozn.: Odlišná velká písmena označují statisticky průkazně odlišné skupiny ($\alpha=0,05$)

Molekulárně genetickou metodou PCR pomocí specifických primerů Col1 a Col2 bylo u všech testovaných izolátů potvrzeno, že náleží do rodu *Colletotrichum*. Velikost produktu byla stanovena na 460 bp. Prostřednictvím druhově specifických primerů Calnt2 a ITS4 bylo prokázáno, že všechny izoláty patří do druhu *Colletotrichum acutatum* o velikosti produktu 490 bp (Obr. 3)



Pozn.: nk znamená negativní kontrola

Obr. 3 Vizualizace PCR produktů: *C. acutatum* – specifické produkty o velikosti 490 bp získané primery Calnt2-ITS4

Osekvenováno bylo celkem 6 izolátů - izolát 1209, 1109, 710, 437, 231, 78686 - izoláty z rozdílných druhů rostlin a pomocí programu ClustalW2 byly porovnány mezi sebou za účelem

hodnocení jejich vnitrodruhové variability. Bylo zjištěno, že vybraná oblast ITS1, 5.8S, ITS2 není příliš variabilní oblastí, přesto zde byly objeveny bodové mutace, kterými vznikly určité malé rozdíly mezi jednotlivými izoláty získaných z různých druhů rostlin. Izolát 78686 se bodovou mutací lišil od ostatních izolátů. Izoláty 78686 a 231 byly odlišné třemi bodovými mutacemi od zbylých a izoláty 710, 437 a izoláty 1209 a 1109 byly od ostatních rozdílné v jedné bodové mutaci. Testované izoláty byly srovnány s jinými izoláty *Colletotrichum acutatum* z genové banky Genbank, kde byly potvrzeny další vnitrodruhové odlišnosti.

ZÁVĚR

Na základě provedených hodnocení lze říci, že virulence jednotlivých izolátů *Colletotrichum acutatum* pro světlíci barvířskou a jahodník velkoplodý byla různá. Nejvýznamněji na pokusné rostliny světlíce působil izolát 1209, tedy izolát získaný ze světlíce. U jahodníku velkoplodého byla ke *Colletotrichum acutatum* náchylnější pozdní odrůda Pegasus a nejvyšší virulenci vykazoval pro obě odrůdy z hlediska indexu napadení izolát 710 vyzolovaný z třešalky, naopak nejnižší virulenci pro odrůdu Pegasus měl izolát 231 vyzolovaný z jahodníku a pro odrůdu Elkas izolát 29267 z papriky. Izolát 710 prokázal i odlišnou virulenci v rámci hostitelských druhů rostlin – zatímco pro obě odrůdy jahodníku měl nejvyšší hodnotu indexu napadení, tedy virulence, pro odrůdy světlíce (hodnotícího souboru B) vykazoval virulenci nejnižší. Četnost napadení plodů jahodníku téměř vždy dosahovala 100 %, z čehož plyne závěr, že plody jahodníku byly k vybraným izolátům patogena výrazně citlivé.

Pokus tedy potvrdil rozdílnou virulenci *Colletotrichum acutum* schopného infikovat různé rostlinné hostitele napříč rody i čeleděmi a metodou PCR prokázal, že mezi vybranými izoláty byla mírná vnitrodruhová variabilita určitým způsobem mající i pravděpodobně souvislost s hostitelským rostlinným druhem (izoláty 78686, 231 čeleď *Rosaceae* 3 bodové mutace, izoláty 1209, 1109 čeleď *Asteraceae* 1 bodová mutace odlišující tyto izoláty od ostatních).

LITERATURA

- Debode, J. et al. Quantitative detection and monitoring of *Colletotrichum acutatum* in strawberry leaves using real-time PCR. *Plant Pathology* 58, 2009. s. 504 - 514.
- Garrido, C. et al. Development of protocols for detection of *Colletotrichum acutatum* and monitoring of strawberry anthracnose using real-time PCR. *Plant Pathology* 58, 2009. s. 43 – 51.
- Garrido, C. et al. Isolation and pathogenicity of *Colletotrichum* spp. causing anthracnose of strawberry in south west Spain. *Eur J Plant Pathology* 120, 2008. s. 409 – 415.
- Guerber, J., C. et al. Characterization of diversity in *Colletotrichum acutatum sensu lato* by sequence analysis of two gene introns, mtDNA and intron RFLPs, and mating compatibility. *Mycologia*, 95(5), 2003. s. 872–895.
- Kloutvorová, J. et al. *Colletotrichum acutatum* Simmonds - biologie, hospodářský význam, možnosti ochrany - 2007. Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy, 2007, literární rešerše.

Lewis Ivey, M., L. et al. Identification and management of *Colletotrichum acutatum* on immature bell peppers. *Plant Disease* 88, 2004. s. 1198 - 1204.

Peres, N., A. et al. Lifestyles of *Colletotrichum acutatum*. *Plant Disease* 89 (8), 2005. s. 784-796.

Sreenivasaprasad, S., Talhinhas, P. Genotypic and phenotypic diversity in *Colletotrichum acutatum*, a cosmopolitan pathogen causing anthracnose on a wide range of hosts. *Molecular Plant Pathology* 6 (4), 2005. s. 361-378.

Šindelková, M. et al. *Původce antraknózy jahodníku Colletotrichum acutatum*. Ministerstvo zemědělství ve spolupráci se Státní rostlinolékařskou správou. Praha, 2008.

Víchová, J. Ústní sdělení. [cit. 2009-10-04].

THE EFFECT OF NITROGEN APPLICATION DATE ON YIELD AND QUALITY OF MALTING BARLEY GRAIN

Syrová H., Ryant P.

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

E-mail: xsyrova@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this work was to assess the influence of year, variety of barley, fore-crop and date of the application of nitrogen fertilizer on quality and yield of malting barley grain. The influence of these factors was monitored in grain yield, content of nitrogen substances, weight of thousands grains and grain over the sieve overflow (> 2.5 mm). Nitrogen was applied in the form of ammonium nitrate with limestone during the sowing in the growing stage DC 23 and DC 31. The problem was of small plot field experiment with two varieties of barley (Jersey, Sebastian) and three fore-crops (sugar beet, wheat, maize).

Later term of nitrogen fertilization did not affect significantly any of the monitored parameters. High significant effect of year and the fore-crop was showed at the grain yield. Conversely term effect of nitrogen fertilization did not show significantly. Nitrogen substances in grain were significantly affected by the year. Effect of variety, date of nitrogen fertilization and fore-crop was evaluated as statistically insignificant. The effect of year and variety was evaluated as very highly significant at weight of thousands grains.

Very high influence of variety and highly significant effect of year was developed at the grain over the sieve overflow. The values of the fore-crops influence and the date of nitrogen fertilization were statistically insignificant. Effect of nitrogen fertilization at later dates, did not show statistically significant neither in the yield or quality indicator. Only the appropriateness of early application of nitrogen, preferably during sowing, proved up.

Key words: malting barley, quality, the nitrate fertilization date, yield

Acknowledgments: Grant No. 1G58038 Innovation of growing technologies of malting barley for development of diagnostic methods to evaluation stand structure, health and nutritional status and No. 1M0570 Research Center for the Study of substances contained in the barley and hops.

ÚVOD

Dusík, jako živina rozhodující o tvorbě sušiny a kvality zrna, je limitující pro obsah bílkovin v znu, jeho mechanické vlastnosti a kvalitativní parametry sladu. Optimalizace dusíkaté výživy sladovnického ječmene je problematická zejména díky rozdílným nárokům na přísun dusíku v jednotlivých vývojových fázích. Další problém nastává v případě potřeby dusíku k vytvoření dostatečného počtu odnoží a jejich udržení. Proto je nutný dostatečný přísun dusíku během odnožování a v počátcích sloupkování. Obsah veškerých dusíkatých látek v znu je základní technologickou hodnotou ječmenného zrna určeného ke sladování. Optimální obsah dusíkatých látek se pohybuje v rozmezí 9,5 % - 11,5 %. U zrn s obsahem dusíkatých látek s více jak 12 % dochází k záporné korelaci k obsahu škrobu, který je velmi potřebnou složkou kvalitního extraktu. Slady vyrobené z takovýchto ječmenů mají vysoký obsah dusíkatých látek, které dál přechází do piva, a projeví se potom špatnou koloidní stabilitou a sklonem k zákalům. Proto je obsah dusíku a jeho přístupnost pro rostliny jedním z nejdůležitějších faktorů pěstování sladovnického ječmene.

MATERIÁL A METODIKA

Pokusy probíhaly na pokusné stanici Obora Školního zemědělského podniku Mendelovy univerzity v Brně v Žabčicích. Zvolená lokalita patří do kukuřičné výrobní oblasti s průměrnou roční teplotou 9,2°C a průměrným úhrnem srážek 480 mm. Půdu lze charakterizovat jako středně těžkou půdu typu fluvizem. Problematika termínu přihnojení sladovnického ječmene dusíkem byla řešena v letech 2008 a 2009 formou maloparcelkového polního pokusu s dvěma odrůdami sladovnického ječmene (Jersey a Sebastian) a třemi předplodinami (pšenice ozimá, cukrovka a kukuřice na zno). Sledované faktory uvádí tabulka č. 1. Jednotlivé varianty byly založeny vždy ve třech opakováních. Výsev byl proveden bezsezónovým maloparcelkovým secím strojem Wintersteiger a výsev činil 4 MKS/ha. Dusík byl v termínech, uvedených v tabulce 1 aplikován ve formě ledku amonného s vápencem. Po sklizni byl stanoven výnos zrna, obsah N-látek a fyzikální vlastnosti zrn (hmotnost tisíce zrna a přepad zrna nad sítem). Byly použity dvě odrůdy sladovnického ječmene Jersey a Sebastian. Získaná data byla zhodnocena vícefaktorovou analýzou variance s využitím softwaru STATISTICA version 9.0 a s následným testováním Tuckeyovým testem významnosti rozdílů.

faktor	úroveň faktoru
ročník	2008
	2009
odrůda	Jersey
	Sebastian
předplodiny	cukrovka
	pšenice ozimá
	kukuřice
termín hnojení	bez hnojení
	při setí
	v DC 23
	v DC 31

VÝSLEDKY A DISKUZE

Analýza rozptylu hodnot výnosu zrna ukázala vysoce významný vliv ročníku a předplodiny, významný je i vliv odrůdy. Naopak vliv termínu dusíkatého přihnojení se ukázal jako statisticky nevýznamný (graf 1). Výnos zrna se pohyboval v roce 2008 v rozmezí 5,24 – 9,02 t/ha a v roce 2009 v rozmezí 3,06 – 7,54 t/ha. Signifikatně vyšší výnos zrna ječmene v roce 2008 odpovídá příznivějším pěstebním podmínkám zejména vhodnějším rozložením srážek. Průkazné rozdíly byly zaznamenány i mezi odrůdami, kdy Jersey dosahovala výnosu v rozmezí 3,06 – 8,89 t/ha a Sebastian v rozmezí 3,79 – 9,02 t/ha (graf 2). Jak uvádí Chloupek a Dostál (2006), rozdíly mezi odrůdami mohou být způsobeny velikostí kořenového systému, která je řízena geneticky v souvislosti s obsahem genu *mlo*. Větší kořenový systém koreluje vyšší výnos. Sebastian, jako odrůda s větším kořenovým systémem vykazovala prokazatelně větší výnos než odrůda Jersey. Tento fakt se potvrdil i z námi získaných výsledků. Největších výnosů bylo dosaženo po předplodině cukrovce, což jenom potvrzuje její výborné vlastnosti jako předplodiny pro sladovnický ječmen. Termín dusíkatého přihnojení se v souvislosti s výnosem neprokázal jako statisticky významný (graf 1 a 2).

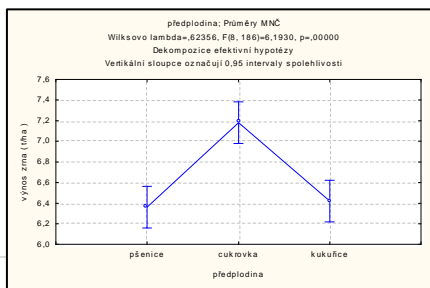
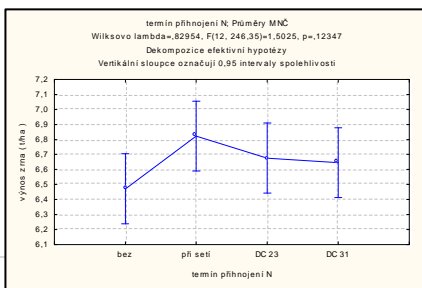
Na obsah dusíkatých látek v zru ječmene měl statisticky velmi významný vliv ročník. Ostatní faktory se statisticky významně neprojeví. ČSN 46 11 00 – 5 požaduje obsah dusíkatých látek v zru sladovnického ječmene v rozsahu 10,5 – 11,5 %. Klimatické podmínky v roce 2009, kdy extrémní sucha na počátku vegetace a nadbytek vláhy během dalšího vývoje vedl k tomu, že rostliny neměly dostatečný přísun dusíku na dostatečnou tvorbu odnoží a později už jen docházelo k akumulaci dusíkatých látek v zru. Proto jsou obsahy dusíkatých látek v zru v roce 2009 nadlimitní. Rozdíly mezi odrůdami (graf 4), a rozdíly mezi předplodinami a v termínu dusíkatého přihnojení (graf 3) se neprojeví jako statisticky průkazné. To tak úplně nesouhlasí s tvrzením některých autorů. Například Benada a kol. (2001) nebo Černý a kol. (2007) doporučují maximální termín přihnojení do fáze 3. – 4. listu, což zdůvodňují vyšším obsahem dusíkatých látek v zru.

Richter a kol. (2005) naopak doporučuje právě přihnojení až v DC 31 s tím, že tato dávka se v obsahu dusíkatých látek v zrnu neprojeví. S tím souhlasí naše výsledky i zjištění Timmera a kol. (1991) kteří uvádí, že se pozdějším přihnojením nezvýší dramaticky výnos, ale ani se nezvýší obsah dusíkatých látek v zrnu. To ve vztahu k výnosu uvádí i Glauder (2006).

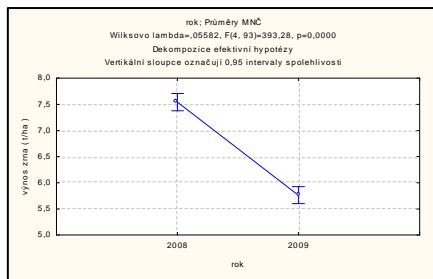
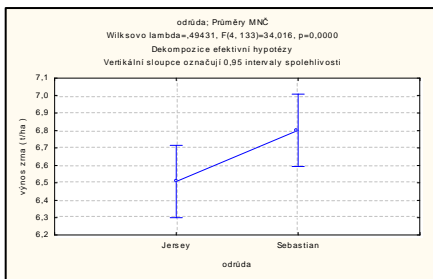
Hmotnost tisíce zrn byla velmi vysoce ovlivněna ročníkem a odrůdou (graf 6). Předplodina a termín dusíkatého přihnojení se statisticky neprojevily. Termín dusíkatého přihnojení měl lehce sestupnou tendenci, kdy nejvyšší hmotnosti tisíce zrn bylo dosaženo při aplikaci dusíku během setí (graf 5). Rozdíly však nejsou průkazné, takže se nedá říci, zda termín přihnojení dusíkem může zásadně ovlivnit hmotnost tisíce zrn. Z předplodin se projevila nejlépe kukuřice. Průměrná hmotnost tisíce zrn byla v roce 2008 43 g, a v roce 2009 40 g, kdy celkově menší a slabší rostliny nebyly schopny vytvořit dostatečný výnos a tím i optimální hmotnost tisíce zrn. Hmotnost tisíce zrn stoupla s větším výnosem. Prokazatelně vyššího výnosu i hmotnosti tisíce zrn bylo dosaženo v roce 2008. Sebastian, jako odrůda s vyšším výnosem, vykazovala i vyšší hmotnost tisíce zrn.

U přepadu zrna nad sítím 2,5 mm se velmi vysoce průkazně se projevil vliv odrůdy a vysoce významný pak byl vliv ročníku (graf 8). Podíl zrna ječmene nad 2,5 mm nebyl signifikantně ovlivněn předplodinou a termínem dusíkatého přihnojení. Nejnižších hodnot bylo dosaženo aplikací dusíku při setí, přihnojení v DC 23 a DC 31, se díky zvýšeným hodnotám jeví jako nevhodnější. Rozdíly však nejsou statisticky průkazné (graf 7). Předplodiny byly vyhodnoceny v pořadí od nejlepší pšenice přes cukrovku po nejhorší kukuřici. Ani tyto rozdíly však nejsou statisticky významné. Následným testováním dle Tukeye jsme došli k závěru, že vyšší přepad zrn nad sítím byl v roce 2009 u odrůdy Jersey. Lehce zvýšené byly hodnoty při aplikaci dusíku v DC 23 a 31 a po předplodině pšenici, nebyly však statisticky průkazné. Statisticky velmi významně byl hodnocen vliv odrůdy. Vyššího přepadu zrna nad sítím dosahovala odrůda Jersey. V případě přepadu zrn nad sítím, který charakterizuje vyrovnanost a plnost zrn, vykazoval rok 2009 výraznější rozdíly oproti roku 2008, kdy rostliny nebyly ovlivněny atypickým průběhem počasí. Glauder (2006) uvádí vzestup přepadu zrna nad sítím se stoupajícím výnosem ječmene jarního. Toto zjištění jsme se v našem případě nepotvrdil. Největšího přepadu zrn bylo dosaženo v roce 2009 spolu s nejmenším výnosem.

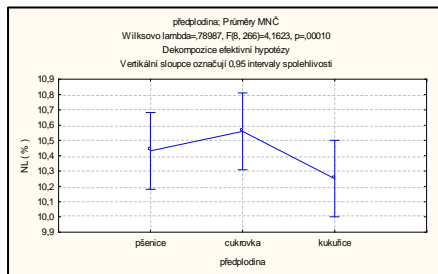
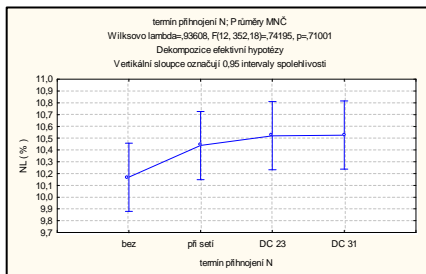
Graf č. 1 Vliv termínu přihnojení dusíkem a předplodiny na výnos zrna



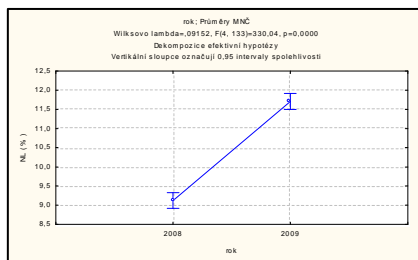
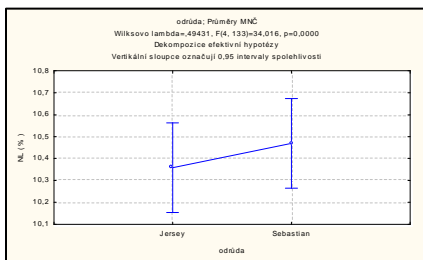
Graf č. 2 Vliv odrůdy a ročníku na výnos zrna



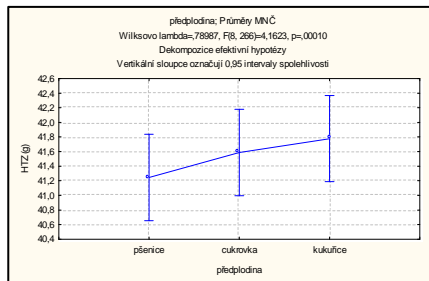
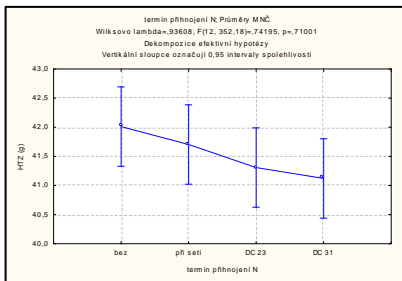
Graf č. 3 Vliv termínu přihnojení dusíkem a předplodiny na obsah dusíkatých látek v zru



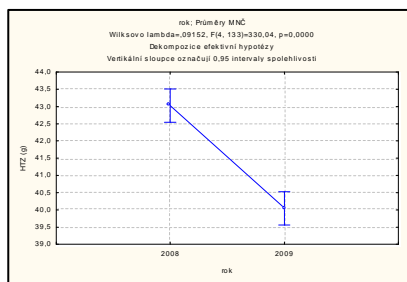
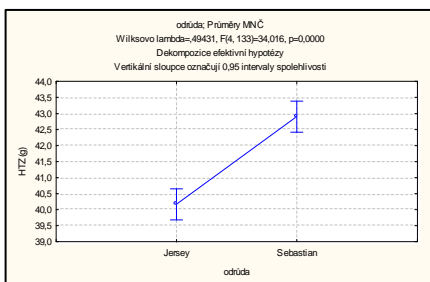
Graf č. 4 Vliv odrůdy a ročníku na obsah dusíkatých látek v zru



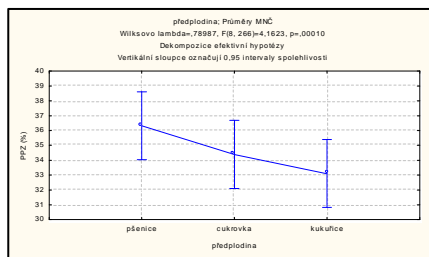
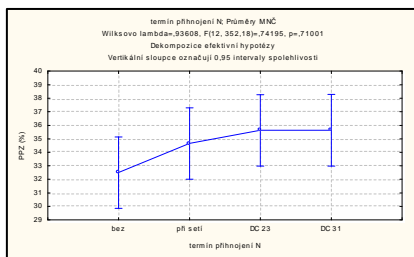
Graf č. 5 Vliv termínu přihnojení dusíkem a předplodiny na hmotnost tisíce zrn



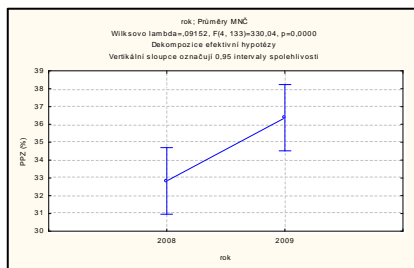
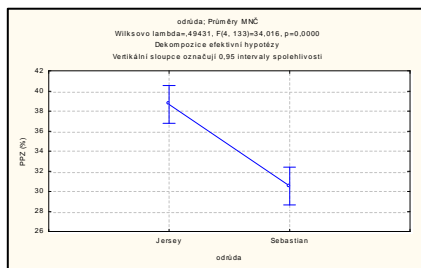
Graf č. 6 Vliv odrůdy a ročníku na hmotnost tisíce zrn



Graf č. 7 Vliv termínu přihnojení dusíkem a předplodiny na přepad zrn nad sítím



Graf č. 8 Vliv odrůdy a ročníku na přepad zrn nad sítem



ZÁVĚR

Z dosažených výsledků lze vyhodnotit následující závěry:

- Termín dusíkatého přihnojení neovlivňuje zásadně výnos ani sladovnickou kvalitu ječmene.
- Výsledky potvrdily vhodnost časné aplikace dávky dusíku, nejlépe při setí.
- Výnos zrna vysoce významně ovlivnil ročník, předplodina a odrůda, kdy vyšší výnos zrna byl v roce 2008, a lepšího výnosu dosáhla odrůda Sebastian.
- Na obsah dusíkatých látek v zrně měl statisticky významný vliv ročník. Vliv odrůdy, předplodiny a termínu dusíkatého přihnojení nebyl průkazný.
- Hmotnost tisíce zrn významně ovlivnil ročník a odrůda, vliv předplodiny a termínu dusíkatého přihnojení se neprojevila. Projevila se pouze vazba hmotnosti tisíce zrna a výnosu.
- Přepad zrna nad sítem byl ovlivněn odrůdou a ročníkem, vliv termínu dusíkatého přihnojení a předplodiny se neprojevil.

LITERATURA

BENADA J. a kol. (2001): Metodika pěstování jarních obilnin. Zemědělský výzkumný ústav Kroměříž, 143 s.

CHLOUPEK O., DOSTÁL V. (2006): Sladová kvalita a tolerance linií ječmene ke stresu ovlivněná velikostí kořenového systému. In: Sborník příspěvků konference „Mendelnet 2006“, MZLU v Brně, 25 s.

ČERNÝ L. a kol. (2007): Jarní sladovnický ječmen – pěstitelský rádce. Katedra rostlinné výroby, FAPPZ, ČZU v Praze, 39 s.

GLAUDER M. (2006): Výživa sladovnického ječmene na půdě s nedostatkem hořčíku. Diplomová práce, MZLU Brno, 61 s.

RICHTER R., RYANT P., HŘIVNA L. (2005): Inovace pěstitelských technologií ječmen zaměřené na dosažení sladovnické kvality produkce. Závěrečná zpráva projektu ZVÚ Kroměříž, 66 s.

TIMMER R. D., WANDER J. G. N., DUIJNHOWER I. D. C., (1991): Effect of the quantity and splitting of the nitrogen fertilizer application on yield and brewing quality of spring barley. Verslag – Proefstation. pp 128 197

EFFECT OF WATER DEFICIENCY ON YIELD AND FOOD QUALITY OF WINTER WHEAT

Šipláková T., Hrstková P.

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

E-mail: xsiplako@node.mendelu.cz

ABSTRACT

This work summarises the results of varietal experiment with winter wheat from 2007/2008 and 2008/2009 growing seasons. The field trials were established at the University Agriculture Enterprise of the Mendel University based in Žabčice.

A group of 28 varieties was grown on two sites, different in terms of soil type and moisture, where the first site was characterised by relatively favourable conditions for growth and development of wheat, while for the second experimental site particularly the lack of available water was a limiting factor.

The selected varieties were evaluated for the yield per hectare. Laboratory analysis determined quality parameters of wheat for bread-making, the measured parameters were as follows: volume weight of grain, sedimentation index according to Zeleny, grain protein content in dry matter and Hagberg falling number.

On the site with high level of ground water, statistically significant differences were found in yields per variety. The average yield achieved $9.46 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ in the 2008 harvest year, and $9.44 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ in 2009. On dry site, the average yield of $3.01 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ and $1.83 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ was achieved in 2008 and 2009 year, respectively.

The quality parameters were compared with the Czech Standard designed for bread wheat. Varieties meeting all CSN 461100-2 (2001) requirements together in both experimental years and locations were as follows: *Akteur*, *Arida*, *Ludwig*, *IS Karpatia*, *Sultan*, *Bona Dea*, *Cubus*, *Alacris*, *Bosorka*, *Eurofit*, *Axis*, *Balada* and *Bakfis*.

Key words: Wheat, grain yield, varieties, weather, drought

Acknowledgments: This study was supported by the Grant Agency of Czech Ministry of Agriculture, project QH 91192.

ÚVOD

Pšenice ozimá je v České republice nejvýznamnější pěstovanou plodinou, v letošním roce byla pěstována přibližně na 33 % orné půdy. I když je výnosový potenciál moderních odrůd přes 10 t.ha⁻¹, vlivem abiotických a biotických stresů jsou skutečné výnosy výrazně nižší, např. letos je dle ČSÚ průměrný výnos v ČR odhadován na úrovni 4,72 t.ha⁻¹ (ČSÚ, 2010). Na lehčích půdách v srážkově deficitních oblastech může výnos vlivem ročníku klesnout až na 2 t.ha⁻¹.

Výjimečné postavení pšenice v České republice je dáno především jejím zastoupením ve struktuře obilnin i plodin pěstovaných na orné půdě, kde je obdobně jako v celosvětovém měřítku na prvním místě. Současný stav jejího pěstování i situace ve využití zrna u nás tomu neodpovídá. Vedle stagnujících výnosů a jakosti zrna dochází ke značnému meziročnímu kolísání pěstitelských ploch a tím i celkového množství produkce, což bylo podnětem k výzkumu a ke stanovení těchto cílů:

- Porovnat výnosové úrovně a ukazatele potravinářské kvality.
- Zjistit, jak jednotlivé odrůdy svým dosaženým hektarovým výnosem reagují na pěstování na vláhově odlišných stanovištích.
- Vyhodnotit vliv podmínek nedostatku vláhy na potravinářskou jakost pomocí jakostních ukazatelů pro pšenici určenou k pekárenskému zpracování.

Převážná část pšenice se pěstuje s cílem dosáhnout potravinářské kvality a tím i vyšší realizační ceny. Z tohoto důvodu u nás na osevních plochách dominují odrůdy jakostní skupiny A a E, i přesto, že více jak polovina produkce se použije ke krmení (Zimolka, 2005).

MATERIÁL A METODIKA

Pokusy byly zakládány na pozemcích Školního zemědělského podniku Mendelovy univerzity v Žabčicích. Území se nachází v kukuřičné výrobní oblasti, pro kterou je typické vnitrozemské klima, suchost klimatu zvyšují větry, které způsobují velký výpar půdní vláhy.

Práce hodnotí 28 odrůd pšenice ozimé s potravinářskou jakostí E, A nebo B (Tab. 4; 5). Z tohoto sortimentu je 17 odrůd registrováno v České republice a 11 pochází ze Společného katalogu odrůd druhů zemědělských plodin, tyto odrůdy byly převážně registrovány na Slovensku.

Tab. 1: Základní údaje o pokusu s pšenicí ozimou v roce 2007/2008

Stanoviště	Vlhké stanoviště (Obora)	Suché stanoviště (Koválov)
Předplodina	hrách	mák
Výsevek:	4 MKS	5 MKS
Počet odrůd/počet opakování	28/3	28/4
Velikost parcely	10,5 m ²	10,5 m ²
Termín setí	6. 10. 2007	6. 10. 2007
Hnojení	40 kg N. (26. 2. 2008), 50 kg N (17. 4. 2008)	
Herbicid	Lintur (0,3 l.ha ⁻¹) + Starane (0,6 l.ha ⁻¹) (9.4.2008)	
	Lontrel (0,3 l.ha ⁻¹) (15.5. 2008)	–
Fungicid	Tango (1 l.ha ⁻¹) (15. 5. 2008)	–
	Falcon (0,6 l.ha ⁻¹) (6. 6. 2008)	–
Insekticid	Decis Flow 2.5 (0,3 l.ha ⁻¹) (6.6.2008)	
Termín sklizně	16. 7. 2008	11. 7. 2008

Tab. 2: Základní údaje o pokusu s pšenicí ozimou v roce 2008/2009

Stanoviště	Vlhké stanoviště (Obora)	Suché stanoviště (Ostudy)
Předplodina	hrách	mák
Výsevek	3,5 MKS	4 MKS
Počet odrůd/poč. opakování	28/3	28/4
Termín setí	6. 10. 2008	5. 10. 2008
Hnojení	1. 50 kg N, (18. 3. 2009)	1. 50 kg N, (18. 3. 2009)
	2. 60 kg N, (17. 4. 2009)	2. 40 kg N, (17. 4. 2009)
Herbicid	Lintur (180 g.ha ⁻¹) (8. 4. 2009)	
	Axial +Adigor (0,3+1,35 l.ha ⁻¹) (7. 5. 2009)	–
Fungicid	Amistar Xtra (1 l.ha ⁻¹) (7. 5. 2009)	–
	Artea (0,5 l.ha ⁻¹) (25. 5. 2009)	–
Insekticid	Nurelle D (0,6 l.ha ⁻¹) (9. 4. 2009)	–
	Karate (0,15 l.ha ⁻¹) (25. 5. 2009)	–
Termín sklizně	21. 7. 2009	14. 7. 2009

U sortimentu odrůd byly hodnoceny tyto parametry:

- hektarový výnos,
- obsah NL,
- sedimentační index podle Zelenyho,
- číslo poklesu,
- objemová hmotnost.

Stanovení kvalitativních parametrů bylo prováděno dle těchto norem:

ČSN EN ISO 7971-3 (2003) Obiloviny – Stanovení objemové hmotnosti zvané "hektolitrová váha" – Část 2: Praktická metoda (Norma k přímému použití jako ČSN) (461013).

ČSN ISO 3093 Obiloviny – Stanovení čísla poklesu (46 1018).

ČSN ISO 5529 Pšenice – Stanovení sedimentačního indexu – Zelenyho test (46 1022).

Množství N-látek v sušině bylo stanoveno dle metodiky ICC (International Association for Cereal Science and Technology) standard No. 159 (1995), na přístroji FOSS 6500

Sledované kvalitativní parametry byly vyhodnocovány v rámci jednoho pokusného stanoviště a dvou vegetačních období a porovnávány s normou pro příslušný jakostní ukazatel, který nařizuje ČSN 46 1100-2.

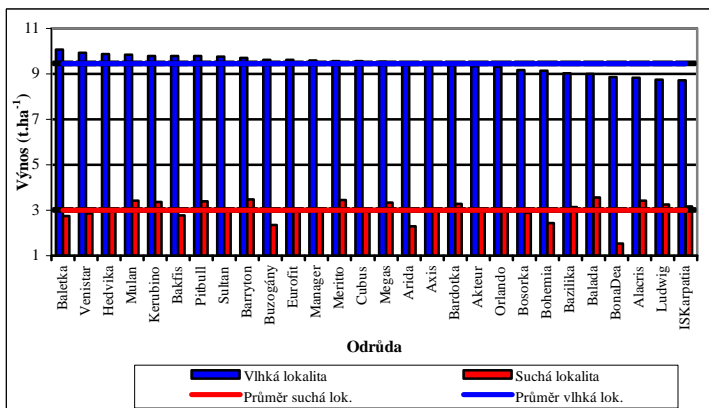
Dosažené výnosy byly vzájemně porovnávány v rámci jednoho vegetačního období a obou pokusných lokalit.

VÝSLEDKY A DISKUZE

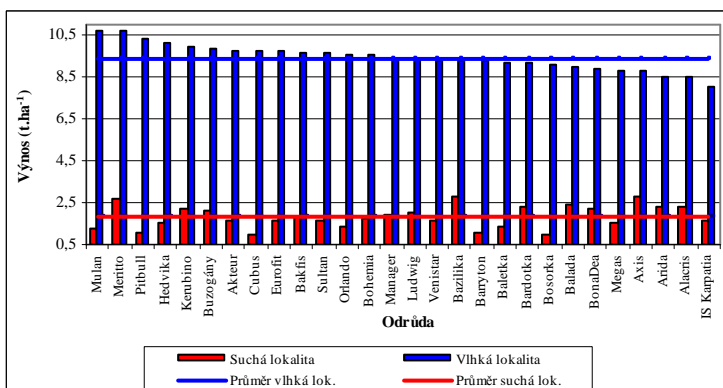
Výsledky dosažených hektarových výnosů, na stanovišti s relativně dostatečnou zásobou půdní vody byly srovnatelné s průměrnými hodnotami, kterých ve svých dvouletých pokusech za období (2008–2009), pěstovaných v ošetřené variantě v podmínkách kukuřičné výrobní oblasti dosáhl ÚKZÚZ. Na pokusném stanovišti s dostatkem vláhy byl dosažen za vegetační období 2008 a 2009 průměrný výnos 9,42 t.ha⁻¹ (Graf 1; 2). V těchto letech dosáhl ve svých pokusech v ošetřené variantě ÚKZÚZ průměrného výnosu 10,77 t.ha⁻¹ (ÚKZÚZ, 2010). Mezi odrůdy, které vykázaly jak v našich, tak v pokusech ÚKZÚZu nadprůměrný výnos patří *Mulan*, *Meritto*, *Cubus* a *Kerubino* (Tab. 3).

Skupina převážně raných odrůd registrovaných na Slovensku zahrnuje odrůdy vyšlechtěné v RAGT Branišovice (Balada, Bardotka, Bazilika, Bosorka, Baletka) a Istropolu Solary (Alacris, Arida, Axis, Venistar, IS Karpatia a Bona Dea). Tyto odrůdy jsou doporučovány pro pěstování v suchých oblastech. Z Grafů 1 a 2 vyplývá, že tyto odrůdy s výjimkou Baletky a Venistar ve sklizňovém roce

2008 vykázaly průměrné až podprůměrné výnosy na vláhově příznivém stanovišti. Nadprůměrný výnos v suchých podmínkách v obou letech pak poskytly odrůdy Balada, Bardotka a Alacris. Po zhodnocení jakostních parametrů pšeničného zrna je patrné, že utváření znaků rozhodujících o kvalitě pšenice je ovlivněno množstvím srážek na pokusném stanovišti. V průběhu obou pokusných let bylo dosahováno na výsušném stanovišti vyšších hodnot jakostních parametrů, než u pšeníc, které byly vypěstovány na vláhově příznivém stanovišti. U jednotlivých odrůd pěstovaných v suchých podmínkách byl zpozorován výrazný nárůst obsahu NL a hodnot sedimentačního indexu podle Zeleného (Tab. 4). U jednotlivých odrůd byl zpozorován vztah mezi dosaženým výnosem a potravinářskou jakostí. Odrůdy elitní (*Akteur*, *Bosorka*, *Bona Dea*, *Alacris*, *Ludwig* a *IS Karpátia*) v pokusech vykazovaly nižší výnosy, než odrůdy kvalitní a chlebové, což v svých výsledcích potvrzují také ÚKZÚZ.



Graf 1 – Porovnání výnosu ve sklizňovém roce 2008 na vlhké a suché lokalitě ($t \cdot ha^{-1}$)



Graf 2 – Výnos ve sklizňovém roce 2009 na vlhké a suché lokalitě ($t \cdot ha^{-1}$)

ZÁVĚR

- Na stanovišti s nedostatkem vláhy bylo ve sklizňovém roce 2008 dosaženo průměrného hektarového výnosu 3,01 t.ha⁻¹ a v roce 2009 pouze 1,83 t.ha⁻¹. Rozdíl mezi nejvýnosnější a nejméně výnosnou odrůdou na této pokusné lokalitě byl 2,03 t.ha⁻¹ v roce 2008, a 1,9 t.ha⁻¹ v roce 2009.
- Na stanovišti s optimálními vláhovými podmínkami byl dosažený výnos v průměru 9,46 t.ha⁻¹ v roce 2008 a 9,44 t.ha⁻¹ v roce 2009. Mezi odrůdou s nejvyšším a nejnižším výnosem byl v roce 2008 rozdíl 1,35 t.ha⁻¹ a v roce 2009 rozdíl tvořil 2,6 t.ha⁻¹.
- Lze předpokládat, že rozdíly ve výnosech byly způsobeny zejména odlišnými vláhovými podmínkami, půdní úrodností, a schopností jednotlivých odrůd vyrovnat se s částečným vláhovým deficitem.
- Byly identifikovány odrůdy adaptabilní, které byly schopné v obou sklizňových letech poskytnout nadprůměrný výnos jak na jílovité, ale také písčité půdě (*Kerubino a Meritto*).
- Skupina raných slovenských odrůd by se částečně mohla uplatnit při pěstování v suchých podmínkách, ale není vhodné je zařazovat k pěstování na vysoce produkčních plochách, pro které nemají dostatečný výnosový potenciál.
- Odrůdy pěstované v suchých podmínkách vykazovaly výrazně vyšší hodnoty v obsahu NL a sedimentačního indexu podle Zelenyho, než odrůdy, které byly pěstovány na vláhově příznivém stanovišti.
- Dosažené průměrné hodnoty všech hodnocených parametrů splnily požadavky ČSN 461100-2 (2001) pro pšenici určenou k pekárenskému zpracování.
- Mezi odrůdy, které splnily požadavky normy v obou sklizňových letech a stanovištích patří: *Akteur, Arida, Ludwig, IS Karpatia, Sultan, Bona Dea, Cubus, Alacris, Bosorka, Eurofit, Axis, Balada a Bakfis*.

LITERATURA

- ČSÚ, 2010: *Osevní plochy zemědělských plodin*. Databáze on line [cit.2010-10-09]. Dostupné na: [http://www.czso.cz/csu/csu.nsf/i/tab_3_osevni_plochy_zemedelskych_plodin/\\$File/c-2103-10.xls/](http://www.czso.cz/csu/csu.nsf/i/tab_3_osevni_plochy_zemedelskych_plodin/$File/c-2103-10.xls/)
- ČSÚ, 2010: *Odhady sklizní – červenec 2010*. Databáze on line [cit.2010-10-09]. Dostupné na: <http://www.czso.cz/csu/csu.nsf/informace/cskl081110.doc/>
- ČSN 46 1100-2, 2001: Obiloviny potravinářské – Část 2: Pšenice potravinářská.
- ČSN ISO 3093, 1993: Obiloviny – Stanovení čísla poklesu.
- ČSN ISO 5529, 2000: Pšenice – Stanovení sedimentačního indexu – Zelenyho test.

ÚKZÚZ- Národní odrůdový úřad, 2009: *Seznam doporučených odrůd – Přehled odrůd – obilniny*, Brno, ISBN 978–80–7401–016–3.

JUREČKA D., ŘÍHA K., MOKRÝ J., 2002: *Metodika ÚKZÚZ Zkoušky užité hodnoty odrůd (VCU)*, ÚKZÚZ, Brno.

Tab. 3: Přehled výnosů ve sklizňovém roce 2008 a 2009

Odrůda	Sklizňový rok 2008		Sklizňový rok 2009	
	Suchá lok.	Vlhká lok.	Suchá lok.	Vlhká lok.
	Výnos v %			
Ludwig	108	93	108	99
Meritto	115	101	147	113
Cubus	100	101	52	103
Hedvika	99	104	85	107
Akteur	99	99	92	104
Eurofit	100	102	90	103
Kerubino	112	104	122	105
Barryton	116	103	60	98
Manager	102	101	107	100
Pitbull	113	103	61	109
Bohemia	81	97	93	102
Mulan	114	104	69	114
Baletka	91	107	75	98
Bakfis	92	103	100	102
Orlando	101	98	76	102
Sultan	99	103	89	102
Megas	111	101	85	94
Balada	118	95	132	96
Bardotka	109	100	125	97
Bazilika	104	96	151	98
Bosorka	96	97	51	97
Alacris	113	93	125	90
Arida	76	101	128	91
Axis	99	101	154	94
BonaDea	51	94	119	94
Buzogány	78	102	116	105
IS Karpatia	106	92	90	85
Venistar	95	105	92	98
Průměrný výnos (t/ha)	3,01	9,46	1,83	9,44
Směr. od.	0,44	0,37	0,52	0,61

Tab. 4: Hodnoty jakostních ukazatelů na suché lokalitě ve sklizňových letech 2008 a 2009

Pek. Jak.	Odrůda	Sklizňový rok 2008				Sklizňový rok 2009			
		NL (%)	Sed (ml)	Č. pokl. (s)	OH (kg.hl ⁻¹)	NL (%)	Sed (ml)	Č. pokl. (s)	OH (kg.hl ⁻¹)
E	Ludwig	18,4	68	410	76,6	17,1	72	278	80,3
B	Meritto	17,5	60	451	76,1	14,9	62	262	79,7
A	Cubus	17,8	70	441	76,3	18,5	67	306	79,0
B	Hedvika	16,9	57	456	75,1	15,7	61	329	78,9
E	Akteur	19,2	73	443	77,0	18,2	75	419	83,1
A	Eurofit	17,1	68	489	79,5	16,5	73	328	81,3
A	Kerubino	18,1	73	387	74,4	17,2	73	389	79,2
A	Barryton	17,4	70	414	76,7	16,7	74	237	79,1
A	Manager	18,1	65	451	74,3	15,4	67	292	79,8
B	Pitbull	17,2	51	450	75,1	17,1	59	400	79,0
A	Bohemia	19,0	68	445	73,3	18,2	71	360	78,8
A	Mulan	17,0	63	405	77,3	18,1	65	248	78,7
B	Baletka	16,9	53	401	78,0	16,9	71	298	78,6
A	Bakfis	17,7	61	354	77,4	15,0	68	277	79,6
B	Orlando	17,3	56	380	74,8	16,3	52	284	81,2
A	Sultan	17,8	63	447	76,4	17,5	67	271	80,2
B	Megas	15,8	61	510	78,5	15,8	66	300	80,8
A	Balada	16,2	56	407	76,8	14,6	67	288	79,6
E	Bardotka	17,3	71	493	76,7	15,6	73	375	79,9
A	Bazilika	16,9	68	437	76,6	14,2	70	378	80,8
E	Bosorka	17,7	64	374	76,3	16,8	72	389	79,0
E	Alacris	18,0	71	370	77,1	16,0	72	321	78,3
A	Arida	17,6	72	320	78,1	15,9	69	266	78,7
A	Axis	17,0	72	407	78,2	15,6	74	357	81,2
E	BonaDea	18,3	69	406	76,8	15,2	73	345	78,2
B	Buzogány	17,1	58	487	74,0	14,9	64	403	76,2
E	IS Karpatia	17,7	67	375	77,8	16,7	74	256	79,4
B	Venistar	16,4	66	345	79,3	15,6	60	284	79,3
	Průměr	17,5	64,8	419,8	76,6	16,3	68,3	319,3	79,6
	Směr. od.	0,75	6,22	46,28	1,52	1,14	5,49	52,33	1,27

Tab.5: Hodnoty jakostních ukazatelů na vlhké lokalitě ve sklizňových letech 2008 a 2009

Pek. Jak.	Odrůda	Sklizňový rok 2008				Sklizňový rok 2009			
		NL (%)	Sed (ml)	Č. pokl. (s)	OH (kg.hl ⁻¹)	NL (%)	Sed (ml)	Č. pokl. (s)	OH (kg.hl ⁻¹)
E	Ludwig	12,9	63	429	80,9	12,3	48	393	78,2
B	Meritto	11,7	52	407	80,7	11,1	34	268	78,4
A	Cubus	12,2	56	428	78,7	12,2	47	395	77,0
B	Hedvika	11,5	37	405	78,0	11,6	35	387	79,5
E	Akteur	13,1	64	403	81,9	13,2	63	372	79,2
A	Eurofit	11,7	60	453	81,8	12,9	59	374	79,9
A	Kerubino	11,7	53	392	79,6	11,9	42	343	78,2
A	Barryton	11,2	54	404	80,4	12,4	57	326	77,3
A	Manager	11,5	49	416	79,9	11,6	42	336	78,5
B	Pitbull	12,0	40	415	78,2	11,5	33	372	77,1
A	Bohemia	13,3	65	406	78,3	13,4	66	380	76,3
A	Mulan	11,4	50	390	79,6	11,3	43	322	76,3
B	Baletka	11,3	40	385	79,4	11,4	36	323	79,5
A	Bakfís	11,6	48	356	80,4	12,0	37	343	79,8
B	Orlando	11,2	34	361	80,1	11,3	32	308	75,1
A	Sultan	12,4	48	373	80,7	12,4	37	334	78,3
B	Megas	10,8	36	396	80,7	11,2	37	367	79,6
A	Balada	11,6	32	422	79,8	12,3	38	367	79,8
E	Bardotka	11,3	53	427	80,0	11,4	50	397	79,8
A	Bazilika	11,5	46	419	79,3	11,0	44	354	80,5
E	Bosorka	12,1	45	365	79,9	12,2	39	341	78,7
E	Alacris	12,1	51	394	79,4	12,7	43	324	78,4
A	Arida	13,1	44	363	80,1	12,8	38	295	80,8
A	Axis	11,7	59	379	81,4	12,4	57	323	80,9
E	BonaDea	12,2	50	364	79,9	12,3	45	326	79,6
B	Buzogány	11,8	41	395	75,3	11,6	34	367	76,2
E	IS Karpatia	12,5	52	401	80,0	12,5	51	358	79,1
B	Venistar	11,0	27	341	79,2	11,7	26	313	81,0
	Průměr	11,9	48,2	396,0	79,8	12,0	43,3	346,7	78,7
	Směr. od.	0,64	9,63	25,81	1,29	0,63	9,81	31,69	1,53

RESISTANCE OF POLLEN BEETLE (*MELIGETHES AENEUS*) IN DIFFERENT LOCALITIES TO PYRETHROIDS OF SOUTHERN MORAVIA

Tóth P., Hrudová E.

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

E-mail: Drumi@atlas.cz, eva.hrudova@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this experiment was take resistance (heritable change in populations) of pollen beetle (*Meligethes aeneus*) to active substances of pyrethroids lambda-cyhalothrin and etofenprox. The method 11 IRAC was used. The beetles were collected on 11 localities: Telnice, Žatčany, Mělník, Blučina, Žabčice, Blažovice, Hodějice, Nesovice, Letonice, Vnorovy, Popovice; 500 beetles per locality. The beetles were exposed of active substances about concentration 0% (only solvent-acetone without active substance), 4%, 20%, 100% (registered dose), 500% for a period of 1 hour, 5 hours, 24 hours. The beetles were divided into 3 categories: live, tremorous (unable to coordinated movement) and dead. The results were evaluated by Analysis of variance and Tukey test (significance level 0.05). The significant differences among localities were found.

Key words: pyrethroids, resistance, *Meligethes*, pollen beetle, population

Acknowledgments: The work is granted by project Ministry of Agriculture NAZV QH 81218.

ÚVOD

Řepka olejka představuje nejvýznamnější olejninu pěstovanou v České republice (dle údajů Českého statistického úřadu pěstovaná v roce 2008 na 365 924 ha) (www.czso.cz). K nejdůležitějším škůdcům poškozujícím řepku na jaře patří blýskáček řepkový (*Meligethes aeneus*). Při pomalém vývoji řepky společně s vynecháním ochranných opatření může způsobit svým žírem na poupatech až 75 % ztráty na výnosu. V České republice se úspěšná ochrana proti tomuto škůdci opírá o používání chemických přípravků s třinácti typy registrovaných účinných látek, přičemž deset účinných látek patří do skupiny pyretroidů. Obecně jsou pyretroidy, syntetické chemické sloučeniny podobné přírodním pyretrinům, pro své výhody používány již přes šedesát let. Podle principů správné zemědělské praxe by měly být používané přípravky s účinnými látkami pravidelně měněny. Dlouhodobé používání stejných účinných látek vede ke vzniku rezistence, která je dědičná. Výsledkem je schopnost dané populace přežívat takové dávky insekticidu, které hubily většinu jedinců téhož druhu (www.irac-online.org). V pokusu byla testována rezistence populací k účinným látkám lambda-cyhalothrin a etofenprox, které se ve světě používají od devadesátých let dvacátého století (Tomlin, 2000).

MATERIÁL A METODIKA

V pokusech byli použiti dospělci blýskáčka řepkového nasbíraní na 11 lokalitách. Jednalo se o lokality Telnice, Žatčany, Měnin, Blučina, Žabčice, Blažovice, Hodějice, Nesovice, Letonice, Vnorovy a Popovice. Brouci byli sbíráni ručně, průměrně bylo nasbíráno 500 brouků z každé lokality. Účinné látky lambda-cyhalothrin a etofenprox byly užity v koncentracích 0 % (pouze rozpouštědlo aceton bez účinné látky), 4 %, 20 %, 100 % (odpovídá sto procentnímu množství registrované účinné látky na hektar v České republice - dávka 7,5 g účinné látky na hektar), 500 % (odpovídá pětinašobku účinné látky) (Stará, 2009).

Postup hodnocení rezistence vycházel z metodického pokynu č. 11 (adult vial test) organizace IRAC. Vždy 10 jedinců ve třech opakováních z každé lokality bylo vystaveno testovaným účinným látkám při 0%, 4%, 20%, 100% a 500% koncentraci. Po 1 hodině, 5 a 24 hodinách bylo provedeno hodnocení účinnosti testovaných látek, kde byli brouci na základě svých životních projevů zařazováni do skupin živí, v křeči, mrtví (Seidenglanz, 2009). Po uplynutí doby hodnocení byly počty brouků podrobeny statistickému testování metodou analýzy variance s následným Tukeyovým testem na hladině významnosti 0,05 programem STATISTICA verze 8.0.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Po statistickém vyhodnocení získaných hodnot analýzou variance a následně Tukeyovým testem bylo zjištěno:

Po 1 hodině po aplikaci 4 % dávky účinné látky lambda-cyhalothrin existuje statisticky průkazný rozdíl mezi lokalitou Vnorovy a lokalitami Popovice, Letonice, Nesovice, Blažovice, Hodějice.

Po 1 hodině po aplikaci 20 % dávky účinné látky lambda-cyhalothrin existuje statisticky průkazný rozdíl mezi lokalitami Telnice, Žatčany, Měnin, Blučina, Nesovice, Letonice, Vnorovy, Popovice a lokalitami Žabčice, Blažovice, Hodějice.

Po 1 hodině po aplikaci 100 % dávky účinné látky lambda-cyhalothrin existuje statisticky průkazný rozdíl mezi lokalitou Vnorovy a lokalitami Popovice, Letonice, Nesovice, Hodějice, Blažovice.

Po 1 hodině po aplikaci 500 % dávky účinné látky lambda-cyhalothrin existuje statisticky průkazný rozdíl mezi lokalitami Vnorovy, Blučina a lokalitou Letonice.

Tab. 1 Vyhodnocení Tukeyova testu na vybraných lokalitách po 1 hodině- účinná látka lambda-cyhalothrin

Lokalita	po 4% dávce účinné látky lambda-cyhalothrin		po 20% dávce účinné látky lambda-cyhalothrin		po 100% dávce účinné látky lambda-cyhalothrin		po 500% dávce účinné látky lambda-cyhalothrin	
	63,33	abcdefghij	100	f	63,33	bcdefghij	20	abcde
Žatčany	66,67	cdefghij	100	f	66,67	cdefghij	23,33	abcdef
Měnin	46,67	abcdefghij	100	f	46,67	abcdefghij	26,67	abcdef
Blučina	66,67	cdefghij	100	f	66,67	cdefghij	6,67	abc
Žabčice	50	abcdefghij	70	bcdef	50	abcdefghij	23,33	abcdef
Blažovice	83,33	hij	70	bcdef	83,33	hij	30	abcdef
Hodějice	76,67	fghij	66,67	bcdef	76,67	fghij	53,33	abcdefg
Nesovice	100	j	100	f	100	j	16,67	abcde
Letonice	86,67	hij	93,33	ef	86,67	hij	80	fg
Vnorovy	3,33	ab	93,33	ef	3,33	ab	6,67	abc
Popovice	83,33	hij	100	f	83,33	hij	33,33	abcdefg

MENDELNET 2010

Po 5 hodinách po aplikaci 4 % dávky účinné látky lambda-cyhalothrin existuje statisticky průkazný rozdíl mezi lokalitou Vnorovy a lokalitami Popovice, Letonice, Nesovice, Hodějice, Telnice.

Po 5 hodinách po aplikaci 20 % dávky účinné látky lambda-cyhalothrin existuje statisticky průkazný rozdíl mezi lokalitou Vnorovy a Popovice.

Po 5 hodinách po aplikaci 100 % dávky účinné látky lambda-cyhalothrin existuje statisticky průkazný rozdíl mezi lokalitami Popovice, Vnorovy, Žabčice, Blučina, Měnin, Žatčany, Telnice a lokalitou Nesovice.

Po 5 hodinách po aplikaci 500 % dávky účinné látky lambda-cyhalothrin existuje statisticky průkazný rozdíl mezi lokalitami Vnorovy, Nesovice, Hodějice, Blažovice, Žabčice, Blučina, Žatčany, Telnice a lokalitami Popovice, Letonice, Měnin.

Tab. 2 Vyhodnocení Tukeyova testu na vybraných lokalitách po 5 hodinách- účinná látka lambda-cyhalothrin

Lokalita	po 4% dávce účinné látky lambda-cyhalothrin		po 20% dávce účinné látky lambda-cyhalothrin		po 100% dávce účinné látky lambda-cyhalothrin		po 500% dávce účinné látky lambda-cyhalothrin	
Telnice	100	h	53,33	abcdefghij	0	a	0	a
Žatčany	76,67	efgh	83,33	efghij	13,33	a	0	a
Měnin	60	abcdefgh	43,33	abcdefghij	0	a	16,67	ab
Blučina	60	abcdefgh	50	abcdefghij	3,33	a	0	a
Žabčice	66,67	bcdefgh	56,67	abcdefghij	0	a	0	a
Blažovice	66,67	bcdefgh	53,33	abcdefghij	30	abc	0	a
Hodějice	80	fgh	46,67	abcdefghij	16,67	ab	0	a
Nesovice	90	fgh	83,33	efghij	66,67	cd	0	a
Letonice	96,67	gh	76,67	defghij	60	bcd	20	ab
Vnorovy	16,67	ab	36,67	abcdefghi	0	a	0	a
Popovice	100	h	90	ghij	6,67	a	10	ab

Po 24 hodinách po aplikaci 4 % dávky účinné látky lambda-cyhalothrin existuje statisticky průkazný rozdíl mezi lokalitou Vnorovy a lokalitami Letonice, Nesovice, Telnice.

MENDELNET 2010

Po 24 hodinách po aplikaci 20 % dávky účinné látky lambda-cyhalothrin existuje statisticky průkazný rozdíl mezi lokalitou Blažovice a lokalitami Letonice, Nesovice.

Po 24 hodinách po aplikaci 100 % dávky účinné látky lambda-cyhalothrin existuje statisticky průkazný rozdíl mezi lokalitami Popovice, Vnorovy, Nesovice, Hodějnice, Blažovice, Žabčice, Blučina, Měnin, Žatčany, Telnice a lokalitou Letonice.

Po 24 hodinách po aplikaci 500 % dávky účinné látky lambda-cyhalothrin neexistují statisticky průkazné rozdíly mezi lokalitami.

Tab. 3 Vyhodnocení Tukeyova testu na vybraných lokalitách po 24 hodinách- účinná látka lambda-cyhalothrin

Lokalita	po 4% dávce účinné látky lambda-cyhalothrin		po 20% dávce účinné látky lambda-cyhalothrin		po 100% dávce účinné látky lambda-cyhalothrin	
Telnice	90	ef	33,33	abcdef	0	a
Žatčany	50	abcdef	36,67	abcdef	0	a
Měnin	33,33	abcdef	23,33	abcdef	0	a
Blučina	30	abcde	33,33	abcdef	0	a
Žabčice	66,67	abcdef	40	abcdef	0	a
Blažovice	43,33	abcdef	0	a	0	a
Hodějnice	53,33	abcdef	36,67	abcdef	0	a
Nesovice	86,67	def	73,33	f	0	a
Letonice	90	ef	70	ef	10	ab
Vnorovy	6,67	a	13,33	abcde	0	a
Popovice	70	bcdef	36,67	abcdef	0	a

Po 1 hodině po aplikaci 4 % dávky účinné látky etofenprox existuje statisticky průkazný rozdíl mezi lokalitami Telnice, Žabčice a lokalitami Žatčany, Měnin, Blučina, Nesovice, Vnorovy, Popovice.

Po 1 hodině po aplikaci 20 % dávky účinné látky etofenprox existuje statisticky průkazný rozdíl mezi lokalitami Letonice, Hodějnice, Žabčice a lokalitami Popovice, Vnorovy, Nesovice, Blučina, Měnin.

Po 1 hodině po aplikaci 100 % dávky účinné látky etofenprox existuje statisticky průkazný rozdíl mezi lokalitou Telnice, Žatčany, Žabčice, Hodějice a lokalitami Popovice, Nesovice.

Po 1 hodině po aplikaci 500 % dávky účinné látky etofenprox existuje statisticky průkazný rozdíl mezi lokalitami Vnorovy, Nesovice, Hodějice, Blažovice, Žabčice, Měnin, Žatčany, Telnice a lokalitami Letonice, Blučina, Popovice.

Tab. 4 Vyhodnocení Tukeyova testu na vybraných lokalitách po 1 hodině- účinná látka etofenprox

Lokalita	po 4% dávce účinné látky etofenprox		po 20% dávce účinné látky etofenprox		po 100% dávce účinné látky etofenprox		po 500% dávce účinné látky etofenprox	
Telnice	66,67	ab	66,67	ab	0	a	0	a
Žatčany	100	b	66,67	ab	30	abcd	0	a
Měnin	100	b	100	b	73,33	abcd	0	a
Blučina	100	b	100	b	56,67	abcd	23,33	ab
Žabčice	80	ab	3,33	a	33,33	abcd	0	a
Blažovice	96,67	ab	66,67	ab	60	abcd	0	a
Hodějice	90	ab	50	ab	23,33	abcd	0	a
Nesovice	100	b	100	b	100	d	3,33	a
Letonice	86,67	ab	53,33	ab	60	abcd	50	ab
Vnorovy	100	b	86,67	b	73,33	abcd	0	a
Popovice	100	b	100	b	93,33	bcd	13,33	ab

Po 5 hodinách po aplikaci 4 % dávky účinné látky etofenprox existuje statisticky průkazný rozdíl mezi lokalitou Žabčice a lokalitami Popovice, Vnorovy, Nesovice, Blažovice, Měnin, Žatčany.

Po 5 hodinách po aplikaci 20 % dávky účinné látky etofenprox existuje statisticky průkazný rozdíl mezi lokalitami Žabčice, Letonice a lokalitami Popovice, Nesovice.

Po 5 hodinách po aplikaci 100 % dávky účinné látky etofenprox existuje statisticky průkazný rozdíl mezi lokalitami Telnice, Blučina, Hodějice a lokalitami Popovice, Nesovice, Blažovice.

Po 5 hodinách po aplikaci 500 % dávky účinné látky etofenprox neexistuje statisticky průkazný rozdíl mezi lokalitami.

Tab. 5 Vyhodnocení Tukeyova testu na vybraných lokalitách po 5 hodinách- účinná látka etofenprox

Lokalita	po 4% dávce účinné látky etofenprox		po 20% dávce účinné látky etofenprox		po 100% dávce účinné látky etofenprox		po 500% dávce účinné látky etofenprox	
Telnice	66,67	abcd	43,33	abc	0	a	0	a
Žatčany	100	d	73,33	abc	20	abcd	0	a
Měnin	93,33	bcd	36,67	abc	26,67	abcd	0	a
Blučina	70	abcd	60	abc	3,33	ab	0	a
Žabčice	46,67	a	0	a	23,33	abcd	0	a
Blažovice	93,33	bcd	36,67	abc	36,67	abcde	0	a
Hodějice	76,67	abcd	43,33	abc	3,33	ab	0	a
Nesovice	100	d	93,33	bc	63,33	bcde	0	a
Letonice	63,33	abcd	16,67	ab	20	abcd	26,67	a
Vnorovy	100	d	63,33	abc	20	abcd	0	a
Popovice	100	d	100	c	53,33	abcde	6,67	a

Po 24 hodinách po aplikaci 4 % dávky účinné látky etofenprox existuje statisticky průkazný rozdíl mezi lokalitami Letonice, Žabčice a lokalitami Popovice, Nesovice, Blažovice, Blučina, Žatčany.

Po 24 hodinách po aplikaci 20 % dávky účinné látky etofenprox existuje statisticky průkazný rozdíl mezi lokalitami Žabčice, Letonice a lokalitou Popovice.

Po 24 hodinách po aplikaci 100 % dávky účinné látky etofenprox existuje statisticky průkazný rozdíl mezi lokalitami Telnice, Žatčany, Měnin, Blučina, Žabčice, Blažovice, Hodějice, Nesovice, Letonice, Vnorovy a lokalitou Popovice.

Po 24 hodinách po aplikaci 500 % dávky účinné látky etofenprox existuje statisticky průkazný rozdíl mezi lokalitami Telnice, Žatčany, Měnin, Blučina, Žabčice, Blažovice, Hodějice, Nesovice, Vnorovy, Popovice a lokalitou Letonice.

Tab. 6 Vyhodnocení Tukeyova testu na vybraných lokalitách po 24 hodinách- účinná látka etofenprox

Lokalita	po 4% dávce účinné látky etofenprox		po 20% dávce účinné látky etofenprox		po 100% dávce účinné látky etofenprox		po 500% dávce účinné látky etofenprox	
	průměr	řada	průměr	řada	průměr	řada	průměr	řada
Telnice	66,67	abcde	43,33	abc	0	a	0	a
Žatčany	100	e	66,67	abc	0	a	0	a
Měnin	70	abcde	46,67	abc	6,67	a	0	a
Blučina	100	e	20	abc	0	a	0	a
Žabčice	26,67	abc	0	a	0	a	0	a
Blažovice	93,33	cde	26,67	abc	3,33	a	0	a
Hodějnice	63,33	abcde	33,33	abc	0	a	0	a
Nesovice	96,67	de	60	abc	0	a	0	a
Letonice	20	ab	0	a	10	a	10	ab
Vnorovy	66,67	abcde	20	abc	0	a	0	a
Popovice	100	e	86,67	bc	20	ab	0	a

Rychlost účinku je u obou účinných látek na pozorovaných lokalitách téměř stejná. Účinek se plně projevuje již po 5 hodinách od aplikace při použití 100 % a 500 % dávky. Po 5 hodinách při aplikaci 100% a 500% účinné látky lambda-cyhalothrin existují pouze u lokalit Nesovice, Letonice, Blažovice, Letonice, Měnin a ostatními lokalitami rozdíly v účinnosti. Po 24 hodinách existuje rozdíl pouze po 100 % dávce přípravku mezi lokalitou Letonice a ostatními lokalitami. Po 24 hodinách a 500 % dávce rozdíly mezi lokalitami neexistují. Totéž se opakuje i u účinné látky etofenprox. Po 5 hodinách po aplikaci 100 % účinné látky existují rozdíly mezi lokalitami Telnice, Blučina, Hodějnice a ostatními lokalitami. Po 5 hodinách a 500% dávce účinné látky etofenprox rozdíly neexistují. Po 24 hodinách po aplikaci 100 % a 500 % dávky účinné látky etofenprox existují rozdíly pouze mezi lokalitami Popovice, Telnice a ostatními lokalitami. Lokality, kde byly zjištěny odchylky v účinnosti na populaci blýskáčků se u testovaných látek po aplikaci 100 a 500 % dávky účinné látky po 5 a 24 hodinách se neshodují. Rozdíly u více lokalit byly zaznamenány spíše při menší dávce přípravků a kratší době působení.

ZÁVĚR

Přes skutečnosti zjištěné při analýze mortality brouků při 100% dávce vypovídají o tom, že na vybraných lokalitách Jižní Moravy není prokázána rezistence blýskáčka řepkového vůči účinným látkám lambda-cyhalothrinu a etofenproxu, které obsahují přípravky používané v ochraně rostlin. Není tedy možné říci, že farmáři na některé z lokalit jsou znevýhodněni při ochraně rostlin. Pro vyvození závěrů, zda dochází ke změnám v rezistenci populací na stejných lokalitách v čase, je nutné srovnat tyto lokality v rámci několika let.

Obr. 1 Dospělci blýskáčka řepkového na květu hořčice



LITERATURA

<http://www.czso.cz/> [2010] Soupis ploch osevů

<http://www.irac-online.org/> [2010] IRAC Mode of Action Classification

Seidenglanz M. et al. (2009): Posuny v citlivosti blýskáček na pyrethroidy v ČR – rozdíly mezi regiony. Sborník Hluk 19. - 20. 11. 2009, 26: 71-80

Stará et al. (2009): Metodika hodnocení rezistence blýskáčka řepkového k insekticidům. Metodika pro praxi, 1: 1-16

Tomlin C. (2000): A World Compendium: The Pesticide Manual, 12: 226-227, 371-372

NITROGEN NUTRITION OF OILSEED RAPE

Varga P., Ducsay L.

Department of Agrochemistry and Plant Nutrition, Faculty of Agrobiolgy and Food Sources, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr.A.Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

E-mail: petryk22@centrum.sk, pvarga@afnet.uniag.sk

ABSTRACT

Small size nutrition experiment was based in year 2008 at the research site breeding station Vigľaš – Pstruša. In experiment we used hybrid oilseed rape Baldur. The experiment was aimed at optimalization the nitrogen nutrition of oilseed rape. In experiment were the eight variants of fertilization with size 10 m² experimental plots in four replications. The first variant was unfertilizer in the of other variants were applied at different levels of nitrogen fertilizer at different growth stages of vegetation in spring oilseed rape. Nitrogen dose were determined on the basis of analysis of soil before nitrogen fertilization. In the experiment were used LAD nitrogen fertilizers containing nitrogen 27% and DAM 390 (39% N). In this experiment we investigated the effect of soil and foliar applied nitrogen fertilizer to increase yield rapeseed and we studied the impact of nitrogen fertilization on nutrient uptake of the main product (seeds) oilseed rape. The lowest yield of rapeseed, we found the unfertilised control variant first. We found here seed yield 2.04 t ha⁻¹. Highest yield was observed for variant 8 and it 2.69 t ha⁻¹, which is the value compared with the unfertilized variant highly statistically significantly higher by 31.9%. On this variant was applied to the highest level of nitrogen fertilization 160 kg ha⁻¹ in divided doses during the regeneration of fertilization in the spring. Nitrogen fertilization had a significant impact on nutrient uptake oilseed rape seed. The highest average uptake nitrogen by rapeseed, we found the unfertilised control variant 1 and it 65.71 kg ha⁻¹N. The lowest uptake nitrogen was observed in variant 6, and it 40.78 kg ha⁻¹ N.

Key words: nitrogen fertilization, oilseed rape, variant, seed yield, uptake nitrogen

Acknowledgments: The work was supported by grant VEGA No. 1/0435/08, which was solution to the Department of Agrochemistry and Plant Nutrition.

ÚVOD

Dávky dusíka pre repku olejku majú zásadný význam pre zabezpečenie dostatočne vysokých úrod. Ako všetky druhy Brassicae, aj repka olejka má vysokú potrebu dusíka (asi 200 – 300 kg.ha⁻¹ N) závisle od druhu, poddruhu a úrody. Úspech v dosiahnutí vysokých úrod semena, spočíva v stanovení optimálneho množstva dusíkatého hnojiva a času jeho aplikácie (Orlovius, Kirkby, 2003). Prvoradým predpokladom efektívneho využitia dusíka z aplikovaných N – hnojív je adekvátnosť úrovne výživy repky všetkými ďalšími hlavnými a stopovými živinami (Matula, 2009). Ozimná repka je plodinou, ktorá sa vyznačuje obrovskou dynamikou príjmu živín hneď od začiatku jarnej vegetácie. Preto je nutné zavčas reagovať (Hřivna, Richter, 2006). Rozhodujúcim pre úrodu sú jarne dávky N. U súčasných pestovaných odrôd sa najlepšie osvedčuje systém delených dávok (Baranyk, Fábry, 2007). Jarňá aplikácia dusíka sa vykonáva čo najskôr ako to umožnia pôdne a poveternostné podmienky. Celková dávka dusíka 120 – 150 kg.ha⁻¹ sa delí na 3 časti. Prvá dávka – regeneračná sa stanovuje na základe výsledkov anorganických rozborov pôdy a rastlín vykonaných na jeseň (Borecký, Stiffel, 1995). Aplikuje sa dávka dusíka v množstve 40 – 50 kgN.ha⁻¹ (Šrojtová, 2002). Druhá dávka sa stanovuje podľa anorganického rozboru rastlín uskutočneného 14 – 21 dní po aplikácii prvej dávky. Vhodnými hnojivami sú liadok amónno-vápenatý, močovina, prípadne tekutý DAM 390. Tretie prihnojenie vykonané v čase kvitnutia priaznivo ovplyvňuje úrodu, najmä poškodených a slabšie rastúcich porastov. (Borecký, Stiffel, 1995). Dávka dusíka, na ktorej sa zhodujú mnohí autori (Baranyk, Fábry, 2007, Fecenko, Ložek, 2000, Vašák et al., 2000), by sa mala pohybovať na úrovni 30 až 40 kg.ha⁻¹ a dávku je potrebné voliť podľa stavu porastu. Z hnojenia dusíkom vyplýva, že je dôležité dodať dusík rastlinám ozimnej repky olejnej v správnej vegetačnej fáze a stanovenej dávke, ale najdôležitejšie je, aby sme ho vôbec aplikovali. V príspevku je kvantifikovaný vplyv pôdne a foliárne aplikovaného hnojiva s dusíkom pri hnojení kapusty repkovej pravej počas vegetácie v pestovateľskom roku 2008-09 z aspektu výšky dosiahnutej úrody semena repky.

MATERIÁL A METODIKA

V pestovateľskom roku 2008-09 bol založený maloparcelový poľný pokus na lokalite VŠS Vígláš – Pstruša. Pokus bol zameraný na optimalizáciu dusíkatej výživy kapusty repkovej pravej hybridu Baldur, ktorý je súčasťou grantového projektu VEGA 1/0435/08. Predplodinou pre repku olejku bol ovos siaty. Lokalita na ktorej bol založený pokus sa nachádza v teplom, mierne vlhkom podnebí s chladnou zimou s priemernou ročnou teplotou vo vegetačnom období (IV-IX) 14 °C a priemernými ročnými zrážkami 666 mm. Výrobný typ je na VŠS Vígláš - Pstruša zemiakovo pšeničný (III-C2) s nadmorskou výškou 375 m n.m. Pôdna reakcia je slabo kyslá, v hĺbke 0,10-0,20 m je pH 5,57. Agrochemická charakteristiku pôdy pokusného stanovišťa pred

MENDELNET 2010

založením pokusu s kapustou repkovou pravou do hĺbky 0,3 m v pokusnom roku je uvedená v tabuľke 1. V pokuse sa použila blokovaná metóda s veľkosťou pokusných parciel 10 m² v štyroch opakovaníach na štyroch variantoch hnojenia. Variant 1 bol nehnojený kontrolný variant. Variant 2 bol dohnojený dusíkom na úroveň 100 kg.ha⁻¹. Varianty 3 a 4 sme hnojili na úroveň 120 kg N.ha⁻¹. Na variante 4 sme aplikovali dusík pri regeneračnom hnojení v delenej dávke. Varianty 5 a 6 sme dohnojovali na úroveň 140 kg N.ha⁻¹, na šiestom variante bola dávka dusíka pri regeneračnom hnojení aplikovaná delene. Najvyššia dávka dusíka bola aplikovaná na variantoch 7 a 8, a to 160 kg N.ha⁻¹. Pri variante 8 sme aplikovali dusík pri regeneračnom hnojení v delenej dávke. V pokuse boli použité dusíkaté hnojivá liadok amónny s dolomitom (LAD 27% N) a dusičnan amónny s močovinou DAM 390 (39 % N). Dusíkaté hnojivo je na variantoch aplikované pri regeneračnom, produkčnom a kvalitatívnom hnojení v jednotlivých rastových fázach kapusty repkovej pravej (tab.2). Výsledky sú štatisticky spracované pomocou LSD testu v programe STATHGRAPHIC.

Tab. 1 Agrochemická charakteristika pôdy pred založením pokusu s kapustou repkovou pravou do hĺbky 0,3 m v pokusnom roku 2008-09

Druh rozboru pôdy	Obsah živín v mg.kg ⁻¹ pôdy
	2008-09
Nan - anorganický dusík = N-NH ₄ ⁺ a N-NO ₃ ⁻	10,0
N-NH ₄ ⁺ (kolorimetricky, Nesslerove činidlo)	4,0
N-NO ₃ ⁻ (kolorimetricky, kyselina fenol 2,4-disulfónová)	6,0
P – prístupný (Mehlich III – kolorimetricky)	96,3
K – prístupný (Mehlich III – plameňová fotometria)	190,0
Mg – prístupný (Mehlich III – AAS) (275,0
Ca – prístupný (Mehlich III – plameňová fotometria)	1450,0
% humusu	2,68
Obsah S v mg.kg ⁻¹	5,0
pH/KCl (0,2 mol.dm ⁻³ KCl)	6,72

Tab. 2 Varianty hnojenia kapusty repkovej pravej hybrid Baldur, Viglaš 2008-09.

Varianty Pokusu	Úroveň hnojenia				Celková dávka N v kg.ha ⁻¹
	regeneračné hnojenie		Produkčné hnojenie	Kvalitatívne hnojenie	
	1 a, dávka	1 b, dávka			
	BBCH (19-20)	BBCH(21-22)	BBCH(29-30)	BBCH(59-60)	
	N (kg.ha ⁻¹)	N (kg.ha ⁻¹)	N (kg.ha ⁻¹)	N (kg.ha ⁻¹)	
	0	0	0	0	0
2	73	0	60	30	163
3	93	0	60	30	183
4	46,5	46,5	60	30	183
5	113	0	60	30	203
6	56,5	56,5	60	30	203
7	133	0	60	30	223
8	66,5	66,5	60	30	223

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Úrody semena kapusty repkovej pravej boli významne ovplyvnené hnojením (tab.3). Najnižšiu dosiahnutú priemernú úrodu semena repky v pestovateľskom roku 2008-09 sme zistili na nehnojenom kontrolnom variante 1. Na variante 2 bola úroda semena repky $2,16 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$, čo predstavuje v relatívnom percentuálnom vyjadrení štatisticky nepreukazné zvýšenie úrody oproti nehnojenej kontrole o 5,9 %. Varianty 3 a 4 boli hnojené celkovou dávkou dusíka na úroveň $120 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$, s tým rozdielom, že na variante 4 bol dusík aplikovaný pri regeneračnom hnojení na jar v delených dávkach. Dosiahnutá úroda na variante 3 bola $2,39 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ čo je úroda oproti nehnojenej kontrole štatisticky preukazne vyššia. Na variante 4 hnojenom delenou dávkou dusíka pri regeneračnom hnojení sme zistili úrodu $2,43 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$, ktorá predstavuje štatisticky preukazné zvýšenie úrody v relatívnom vyjadrení o 19,1 %. Na variante 5 sme zistili úrodu $2,29 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ a na variante 6 úrodu $2,37 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$, čo predstavuje úrodu v porovnaní s nehnojenou kontrolou štatisticky preukazne vyššiu. Obidva varianty boli hnojené na úroveň $140 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$, pričom na variante 6 sme aplikovali počas regeneračného hnojenia delenú dávku dusíka. Pri najvyššej úrovni hnojenia $160 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1} \text{ N}$ na variante 7 sme zistili úrodu $2,35 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$. V relatívnom percentuálnom vyjadrení oproti nehnojenej kontrole je to úroda štatisticky nepreukazne vyššia o 15,2 %. Variant 8 pri ktorom sme aplikovali delenú dávku dusíka na jar pri regeneračnom hnojení, dosiahol najvyššiu priemernú úrodu a to $2,69 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$. V relatívnom percentuálnom vyjadrení je to úroda v porovnaní s nehnojenou kontrolou vysoko štatisticky preukazne vyššia o 31,9 %.

Hnojenie dusíkom má významný vplyv aj na odber živín semenom kapusty repkovej pravej (tab. 4). Najvyšší priemerný odber dusíka semenom repky sme zistili na nehnojenom kontrolnom variante 1 a to $65,71 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1} \text{ N}$. Najnižší odber dusíka sme zistili na variante 6, a to $40,78 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1} \text{ N}$. Odbery ostatných živín semenom repky sú uvedené v tabuľke 4.

Tab. 3 Vplyv N hnojenia na úrodu semena repky olejky hybrid Baldur v pestovateľskom roku 2008-09

Variant	Úroda($\text{t}\cdot\text{ha}^{-1}$)	
	2008-09	Relatívne %
1	2,04	100,0
2	2,16	105,9
3	2,39	117,2
4	2,43	119,1
5	2,29	112,3
6	2,37	116,2
7	2,35	115,2
8	2,69	131,9
LSD varianty	$D_{0,05}$	0,32 ⁺
	$D_{0,01}$	0,44 ⁺⁺

Tab.4 Vplyv N hnojenia na odber živín semenom repky, hybrid Baldur, (Víglaš, 2008 – 09)

variant	Odber živín semenom repky v kg.ha ⁻¹ 2008-09					
	N	P	K	Ca	Mg	S
1	65,71	11,94	17,70	8,78	7,70	7,35
2	61,79	12,73	19,00	9,11	7,89	7,37
3	65,37	13,82	19,26	9,28	8,44	6,93
4	54,06	13,95	18,90	9,91	9,00	7,87
5	58,8	11,49	17,71	8,72	8,05	7,00
6	40,78	11,84	17,76	9,06	8,22	8,02
7	39,67	12,40	17,88	9,23	7,39	5,77
8	50,42	14,23	19,01	8,99	9,55	6,94
variant	Relatívne %					
	N	P	K	Ca	Mg	S
1	100	100	100	100	100	100
2	94,04	106,66	107,34	103,77	102,50	100,27
3	99,49	115,75	108,79	105,76	109,68	94,22
4	82,27	116,84	106,78	112,93	116,96	107,01
5	89,50	96,23	100,06	99,37	104,61	95,31
6	62,06	99,16	100,34	103,25	106,82	109,05
7	60,38	103,85	101,02	105,19	95,98	78,50
8	76,73	119,23	107,40	102,51	124,12	94,42

ZÁVER

V príspevku sme hodnotili výsledky účinnosti dusíkatého hnojiva, aplikovaného pri produkčnom, regeneračnom a kvalitatívnom hnojení ozimnej repky počas jarnej vegetácie. Poľné pokusy sa realizovali na VŠŠ Víglaš-Pstruša v pestovateľskom roku 2008-09. Zo získaných výsledkov konštatujeme, že ozimná repka pozitívne reagovala na hnojenie dusíkom. Výška dosiahnutej úrody na jednotlivých variantoch bola významne ovplyvnená dusíkatým hnojením, či už dávkou hnojiva, alebo aplikáciou jednotlivých dávok hnojiva z hľadiska fenologických rastových fáz kapusty repkovej pravej pri jednotlivých úrovniach hnojenia počas vegetácie. Najvyššiu úrodu sme zistili na variante kde sme aplikovali najvyššiu celkovú dávku dusíka počas jarnej vegetácie repky. Tento variant sme hnojili na úroveň 160 kg.ha⁻¹ a pri regeneračnom hnojení sme dávku dusíka aplikovali delene. Preto sa aj tento spôsob aplikácie dusíkatých hnojív javí byť najideálnejším riešením

z hlediska zabezpečení dostatočného množství živin na jar po prezimovaní kapusty repkovej pravej a dosiahnutia čo najvyššie možných úrod semena repky.

LITERATURA

Barák P., Fábry A. (2007): Řepka, pěstování, využití, ekonomika. Profi press s.r.o, Praha. 2007. 208 s. ISBN 978-80-86726

Borecký V., Stiffel R. (1995): Olejiny. Nitra: ÚVTIP, 1995. 129 s.

Fecenko J., LOŽEK O. (2000): Výživa a hnojení poľných plodín. Nitra: SPU v Nitre a Duslo, a. s. , Šaľa, 2000. 452 s. ISBN 80-7137-777-5

Hřivna L., Richter R. (2006): Hnojení ozimné řepky v předjarním a jarním období. Úroda 1/2006, s 22 – 25.

Lancashire P.D., Bleiholder H., Van den boom T., Langeluddeke P., Stauss R., Weber E., Witzemberger A. (1991): A uniform decimal code for growth stages of crops and weeds. Ann.Appl. Biol. 119, 561–601.

Matula J. (2009): Význam základného hnojenia a diagnostika výživného stavu pôdy pri výžive repky olejky. Naše pole. 2009, č.2. 2009. s. 22.

Orlovius K., Kirkby E.A. (2003): Fertilizing for High Yield and Quality. Switzerland: IPI Bulletin No. 16, 2003. 125 s.

Šrojtová G. (2002): Pestovanie ozimnej repky olejnej na východoslovenskej nížine. Michalovce: OVÚA Michalovce, 2002. 72 s. ISBN 80-968620-9-X.

Vašák J et al. (2000): Řepka. Agrospoj, Praha. 2000. 321 s.

ASSESSMENT OF WEED SPECTRUM IN ORNAMENTAL NURSERY-GARDENS

Zahraj P., Winkler J.

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

E-mail: xzahraj@node.mendelu.cz

ABSTRACT

This work is focused on assessment of weed spectrum in crops grown in ornamental nursery-garden. The assessment was carried in garden company in Albrechtice u Českého Těšína in 2008. The weeds were counted on 1 m² in planting of *Thuja occidentalis* 'Smaragd'. It was observed planting in pots and free soil (field). The most frequent weeds in pots planting were: *Salix caprea*, *Poa annua*, *Sagina procumbens* and *Stellaria media*. The most frequent weeds in free soil planting were: *Poa annua*, *Teraxacum officinale*, *Plantago major*, *Epilobium hirsutum* and *Sonchus asper*.

Key words: weeds, *Thuja occidentalis*, free soil, planting, pot

Acknowledgments: The results in paper are output of project of Internal Grant Agency, AF MENDELU, No. TP 11/2010 "Modification of crop management practices in areas threatened by drought". 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

„Plevely se obecně rozumí všechny rostliny, které proti úmyslu zemědělcovu rostou na kultivované půdě“. Do pojmu „plevelné rostliny“ lze zahrnout divoce rostoucí druhy, které nebyly cílevědomě pozměněny, event. vytvořeny činností člověka, tj. „vlastní plevele“ či jednodušeji „plevele“. Dále lze do tohoto pojmu zahrnout druhy kulturní (kultivary těchto druhů), které byly cílevědomě pozměněny, event. vytvořeny člověkem, a které jsou běžně pěstovány. Tyto rostliny (plodiny), které rostou v nevhodnou dobu na nevhodném místě, nazýváme „zapelevelující rostliny“ (Dvořák, Smutný, 2003).

Plevelem se tedy může stát kterýkoliv rostlinný druh, který se z různých příčin na stanovišti přemnoží a je třeba jeho výskyt regulovat. Plevelem (zapelevelující rostlinou) jsou na orných půdách stále častěji i samostatné plodiny: obilniny, ozimá řepka, slunečnice, ale i plevelná řepa (Mikulka, 1999).

Školkařská produkce je součástí základní zemědělské prvovýroby. Její produkty slouží k okrasným účelům a v současné době především k naplnění revitalizačních programů, např. revitalizace obytných zón, budování systému ekologické stability apod. Dostatek výpěstků v odpovědné skladbě a kvalitě je základem pro budování všech typů zeleně. V současné školkařské produkce ČR zahrnuje přibližně 3000 taxonů dřevin a 2500 taxonů peren a skalniček. Rozvoj kontejnerové produkce podpořil odbyt po celou dobu vegetační sezóny, avšak stále převažuje jarní a podzimní poptávka v poměru 60% ku 30%. Po roce 1989 došlo k rozvoji produkce, avšak v letech 1990-1993 v důsledku restrukturalizace majetkoprávních vztahů došlo k snížení poptávky až o 60%. Po roce 1993 se produkce postupně zvyšovala. Rozhodujícími producenty byly původní větší provozy, avšak nezanedbatelnou součástí trhu tvořily i nově vznikající školky rodinného charakteru. Dochází ke snížení zaškolovaných ploch a k nárůstu ploch pro produkci dřevin v kontejnerech. V roce 2005 se okrasné dřeviny ve volné půdě pěstovaly na výměře 772 ha a 183 ha činila kontejnerová produkce. Domácí produkce v roce 2005 dosáhla hodnoty 607 mil. V roce 2007 objem exportu dosáhl 95,5 mil. Kč a hodnota importu do ČR byla 429 mil. Kč (Ministerstvo zemědělství ČR, 2007).

S rozvojem druhového spektra pěstovaných okrasných rostlin vznikly podniky specializující se na užší sortiment rostlin. Tyto podniky postupem času přizpůsobují produkci aktuálním požadavkům zákazníka. Jde jak o druhové složení nabízených rostlin, tak o jejich kvalitu, stáří a další.

Trendem dnešních realizací zeleně je celoroční výsadba dřevin. Pro celoroční výsadby se používají krytokoenné sazenice, zejména sadba v nádobách, která v současné době má velký význam. Nádobám z objemem nad 2 litry se říká kontejnery. Prioritami kontejnerového způsobu pěstování

jsou: celoroční možnost expedice a výsadby, snadná manipulace z rostlinami, zmenšení pěstitelské plochy, mechanizovaná produkce a také umožňuje samoobslužný prodej rostlin. Největší význam má při pěstování jehličnanů, stálezelených keřů a cennějších dřevin. Musíme však věnovat zvýšenou pozornost pravidelné závlaze, aby půda v kontejnerech nebyla často příliš suchá. Proto, pro udržení vláh, stavíme nádoby na záhony pokryté černou fólií, na které je vrstva písku, obláčku, nebo hrubých dřevěných pilin. Pěstování trvá obvykle 2 roky. Při delším pěstování je nutné rostliny přesadit do větších nádob. Rostliny po výsadbě díky neporušenému kořenovému balu se lépe ujímají, neoslabují v růstu a lépe se adaptují v nových podmínkách (Vilkus, 1997).

MATERIÁL A METODIKA

Podnik „Zahradnické služby Daniel Křížánek“, ve kterém bylo provedeno vyhodnocení zaplevelení, se nachází v Albrechticích u Českého Těšína a zabývá se údržbou veřejné zeleně, realizací zahrad a veřejné zeleně, dopěstováním letniček pro městské výsadby, záhonovým pěstováním vybraných okrasných dřevin a také zemními pracemi. Podnik byl založen v roce 2000. Plocha pro pěstování okrasných keřů ve volné půdě má rozlohu 2 ha, dále podnik disponuje také 500 m² foliovníků a paňišť pro dopěstování letniček. Pěstební plocha podniku je v mírném severovýchodním svahu. Plocha je chráněna před větry od východu smrkovým lesem, od jihu pahorkatinou.

Obec Albrechtice leží asi 8 km jižně od města Karviné na severním okraji těšínské pahorkatiny, v malebném údolí, kterým protéká řeka Stonávka s jejím pravobřežním přítokem Chotěbuzkou. Průměrná nadmořská výška území se pohybuje mezi 260-280 m n. m. Průměrná roční teplota dosahuje 8,2 °C a roční úhrn srážek činí 702 mm. Z geologického hlediska se zde vyskytují tmavé vápnité jílovce, pískovce, podřadné slepence, které patří do mezozoických sedimentů Karpat. Toto území je řazeno do bramborářské výrobní oblasti, kde převládají středně těžké a středně hluboké půdy. Vyskytují se zde hnědozemě illimerizované oglejené a illimerizované půdy oglejené, které jsou autohydromorfním typem, u nichž snížená vodorozpustnost iluviálního horizontu způsobuje periodickou stagnaci zasakujících povrchových vod v profilu, což se projevuje silnějším procesem oglejení. Informace o půdním typu a druzích plevelů byly čerpány z výsledků Komplexního průzkumu půd. Údaje obsažené v Tab. 1 a Tab. 2 jsou zjištěny z dat Českého hydrometeorologického ústavu.

Tab. 1 Dlouhodobé průměry teplot a srážek za jednotlivé měsíce v Mošnově

měsíc	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	roční
teplota (°C)	-2,4	-0,7	3,2	8,2	13,2	16,4	17,8	17,2	13,6	8,9	3,7	-0,4	8,2
srážky (mm)	26,7	30,2	34	52,4	91,2	104,4	91,1	91,8	58,8	42,3	44,6	34,3	701,8

Tab. 2 Teploty a srážky za jednotlivé měsíce pro rok 2008 v Mošnově

měsíc	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	roční
teplota (°C)	1,9	2,9	4	9	13,9	18,3	18,6	18,5	13,5	10,1	6,2	1,7	9,9
srážky (mm)	28,9	11,5	30,3	43	81,7	77,1	158,5	102,9	71,7	23,8	13,8	43,1	686,3

Druhové složení plevelů jsem zjišťoval v kultuře *Thuja occidentalis* 'Smaragd'. Vyhodnocení četnosti a zastoupení jednotlivých druhů plevelů bylo provedeno pomocí početní metody. Jednotlivá sledování byla vyhodnocována na ploše 1 m², kde byli spočítáni jedinci všech zastoupených druhů plevelů. Toto vyhodnocení bylo provedeno v osmi opakováních v různých částech výsadby ve volné půdě. Dále byla také vyhodnocena hmková kultura sazenic *Thuja occidentalis* 'Smaragd', které jsou následně určeny k pěstování ve volné půdě. Sazenice jsou pěstovány v hranatých 9 cm hmkách, proto mezi hrnky nejsou mezery a plocha substrátu je téměř souvislá. Stejně jako u výsadby ve volné půdě bylo i tady vyhodnocení na ploše 1 m² opakováno v osmi pozorováních. Termín pozorování byl 2.7.2008. České a latinské názvy druhů plevelů byly použity podle Kubáta (Kubát, 2002) a podle Deyla a Hísky (Deyl, Hísek, 2001).

Ke statistickému zpracování počtu plevelů ve výsadbách bylo použito počítačového programu STATISTICA.Cz, byla aplikována analýza rozptylu a následně metody minimální průkazné difference (LSD).

Výsledky druhového složení zaplevelení byly vyhodnoceny pomocí mnohorozměrné analýzy ekologických dat. Výběr optimální analýzy se řídil délkou gradientu (*Lengths of Gradient*), zjištěného segmentovou analýzou DCA (*Detrended Correspondence Analysis*). Dále byly použity redundanční analýza (*Redundancy Analysis*, RDA), která je založena na modelu lineární odpovědi (*Linear Response*), nebo kanonická korespondenční analýza (*Canonical Correspondence Analysis*, CCA). Při testování průkaznosti pomocí Monte-Carlo testem bylo propočítáno 499 permutací. Data byla zpracována pomocí počítačového programu Canoco 4.0. (Ter Braak, 1998).

VÝSLEDKY A DISKUZE

V Tab. 1 je uvedeno početní zastoupení jednotlivých druhů plevelů v kontejnerové výsadbě *Thuja occidentalis* 'Smaragd' v osmi pozorováních.

Tab. 1 Počet plevelů nalezených v kontejnerové výsadbě *Thuja occidentalis* 'Smaragd'

Druhy plevelů	Opakování (ks.m ⁻²)								Suma
	1	2	3	4	5	6	7	8	
jetel plazivý	1	0	0	2	1	0	2	1	7
ježatka kuří noha	1	1	0	0	2	1	0	0	5
lípa srdčitá	1	0	1	1	0	0	0	1	3
lipnice roční	11	13	25	9	5	9	11	7	90
merlík bílý	0	1	0	0	0	1	0	1	3
pryskyřník plazivý	0	0	2	0	1	0	3	0	6
ptačinec žabinec	5	1	2	3	1	2	0	2	16
řebříček obecný	1	0	2	0	0	1	3	1	8
svízec přitula	0	0	1	0	1	0	0	2	4
turanka kanadská	0	0	1	0	1	0	0	1	3
úrazník položený	3	2	6	4	5	0	3	4	27
vrba jíva	15	28	24	13	18	22	36	27	183
vrbovka chlupatá	0	0	0	1	0	1	0	0	2

Tab. 2 uvádí zastoupení druhů plevelů ve výsadbě *Thuja occidentalis* 'Smaragd' ve volné půdě v jednotlivých pozorováních.

Tab. 2 Počet plevelů nalezených v *Thuja occidentalis* 'Smaragd' výsadba volná půda

Druhy plevelů	Opakování (ks.m ⁻²)								Suma
	1	2	3	4	5	6	7	8	
heřmankovec nevonný	1	0	0	2	0	1	0	0	4
hořčice polní	0	0	1	0	2	0	0	0	3
jetel plazivý	1	0	0	3	0	0	2	1	7
jitrocel větší	5	3	0	0	4	3	8	0	23
kokoška pastuší tobolka	3	1	0	3	2	4	0	0	13
lípnice roční	23	100	100	36	100	28	100	100	587
merlík bílý	0	0	1	0	2	0	0	1	4
mléč drsný	3	1	0	3	4	2	2	1	16
pampeliška lékařská	15	18	10	28	11	5	8	4	99
pěťour malokvětý	0	0	0	1	0	2	0	0	3
prýšec kolovratec	0	0	1	0	0	2	0	0	3
rozrazil rezekvítek	3	1	0	0	5	3	0	1	13
starček obecný	3	1	0	2	5	0	0	2	13
vrbovka chlupatá	1	3	2	0	0	3	5	2	16

V Tab. 3 jsou uvedeny výsledky analýzy rozptylu počtu jedinců plevelů. V Tab. 4 jsou uvedeny výsledky testování LSD počtu plevelů z rozdílných typů výsadeb. Rozdíly v počtu plevelů nebyly statisticky neprůkazné.

Tab. 3 Výsledky analýzy rozptylu počtu plevelů

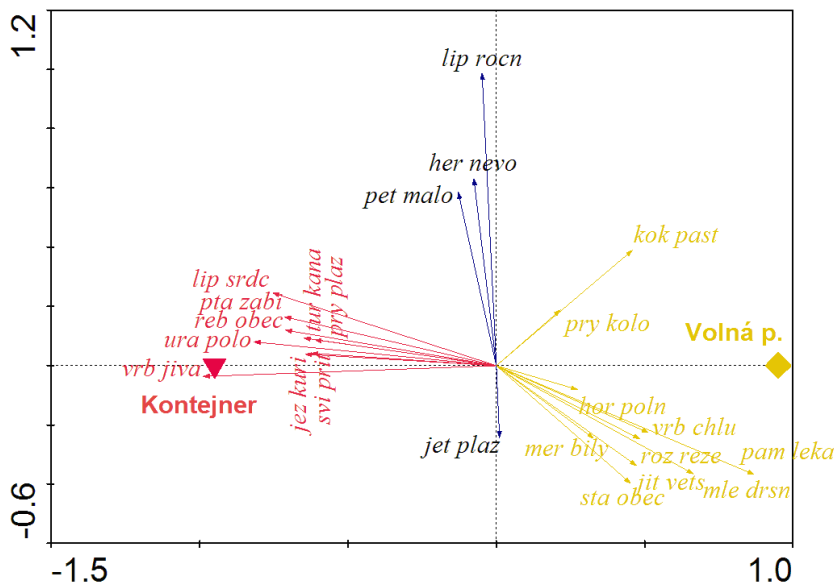
	Součet čtverců	Stupně volnosti	Průměrný čtverec	F	p
Abs. člen	27060,25	1	27060,25	76,85232	0,000000
Výsadb	210,25	1	210,25	0,59712	0,452529
Chyba	4929,50	14	352,11		

Tab. 4 Výsledky testování LSD počtu plevelů

Rok	Průměrný počet jedinců plevelů (ks/m ²)	Statistická průkaznost ($\alpha = 0,05$)
Volná výsadb	37,50	a
Kontejnerová výsadb	44,75	a

Vysvětlivky: stejná písmena (a, a) znamenají statistickou neprůkaznost.

Analýza DCA stanovila délku gradientu na 3,342 pro data z míst pozorování, proto byla zvolena pro další zpracování dat redundanční analýza (RDA). Prostorové uspořádání vztahu jednotlivých plevelných druhů a variant výsadby je vyjádřeno ordinačním diagramem. U analýzy RDA jsou druhy vyjádřeny pomocí vektorů (šipek), u kterých je důležitá délka a směr. Varianty výsadby jsou vyjádřeny pomocí bodů. Délka a směr vektorů jsou důležité pro určení vztahu jednotlivých druhů plevelů a variant faktorů. Pokud vektor směřuje k bodu určité varianty faktoru, je výskyt tohoto druhu především na této variantě. Čím je vektor delší, tím je vyšší výskyt nebo pokryvnost. Výsledky analýzy RDA jsou signifikantní na hladině významnosti $\alpha = 0,002$ pro všechny kanonické osy. Na základě analýzy RDA byl vytvořen ordinační diagram Obr. 1, který je grafickým vyjádřením vybraných druhů plevelů. Barevně jsou druhy odlišeny podle jejich výskytu na jednotlivých variantách výsadeb. Červeně jsou vyznačeny plevelné druhy s častějším a vyšším výskytem v kontejnerových výsadbách. Jsou to: vrba jíva, úrazník položený, řebříček obecný, ptačinec žabinec, lípa srdčitá, ježatka kuří noha, svízel přítula, turanka kanadská, pryskyřník plazivý. Žlutě jsou vyznačeny plevelné druhy vyskytující se více ve volné výsadbě. Jsou to: kokoška pastuší tobolka, pryšec kolovratec, hořčice polní, vrbovka chlupatá, pampeliška obecná, jitrocel větší, mléč drsný, starček obecný, rozrazil rezevkítek, merlík bílý. Modře jsou označeny druhy, které byly více ovlivněny jiným faktorem než typem výsadby. Jsou to: lipnice roční, heřmánkovec nevonný, pěťour malokvětý, jetel plazivý.



Obr. 1 Ordinační diagram vyjadřující vztah nalezených druhů plevelů a typů výsadby

Vysvětlivky k ordinačnímu diagramu: Vliv dvou různých způsobů pěstování kultury *Thuja occidentalis* 'Smaragd' na výskyt plevelů. **Kontejnem** – kontejnerová výsadba. **Volná půda** – výsadba ve volné půdě. **Zkratky vybraných druhů:** *her nevo* (heřmánkovec nevonný), *hor poln* (hořčice polní), *jet plaz* (jetel plazivý), *jez kuri* (ježatka kuří noha), *jit vets* (jitrocel větší), *kok past* (kokoška pastuší tobolka), *lip srdc* (lípa srdčitá), *lip rocn* (lipnice roční), *mer bily* (merlík bílý), *mle drsn* (mléč drsný), *pam leka* (pampeliška lékařská), *pet malo* (pěťour malokvětý), *pry plaz* (pryskyřník plazivý), *pry kolo* (pryšec kolovratec), *pta zabi* (ptačinec žabinec), *reb obec* (řebříček obecný), *roz reze* (rozrazil rezekvítek), *sta obec* (starček obecný), *svi prit* (svízel přítula), *tur kana* (turanka kanadská), *ura polo* (úrazník položený), *vrb jiva* (vrba jiva), *vrb chl* (vrbovka chlupatá).

Vyhodnocení výskytu plevelů bylo prováděno ve výsadbě *Thuja occidentalis* 'Smaragd' při dvou různých způsobech pěstování. Je zřejmé, že výskyt jednotlivých druhů plevelů ve výsadbě pěstované ve venkovních podmínkách je podmíněn obsahem diaspor v půdní zásobě, výskytem jednotlivých druhů v okolním prostředí a také ekologickými podmínkami, které jsou rozhodujícím kritériem určujícím intenzitu jejich reprodukce. Vyhodnocována byla výsadba pěstovaná ve volné půdě a v kontejnerech. U výsadby pěstované ve volné půdě bylo zjištěno celkem 14 druhů

plevelných rostlin. V nejvyšším počtu byla zastoupena lipnice roční, která byla poměrně častá v druhém způsobu výsadby. Dle ordinačního diagramu je však výskyt tohoto druhu ovlivněn jiným faktorem než typem výsadby. Lze předpokládat, že příčinou značného výskytu této trávy je skutečnost, že je přítomna v trávnicích na okrajových částech pozemku podél plotů. Seč prováděná dva až třikrát ročně umožňuje dozrávání generativních orgánů tohoto druhu, který je následně rozšiřován do okolí vodou či větrem. Obilky mají velmi krátkou dormanci, nejlépe vzházejí z povrchu půdy, a proto lipnice roční vytváří až tři generace do roka.

Pampeliška lékařská je na pozemek rozšiřována anemochorně pomocí nažek z okolních luk anebo také vegetativně pomocí plečkování. Zvýšený výskyt jitrocele většího může být podle Hrona a Kohouta (1988) ovlivněn dávkou hnoje aplikovanou před výsadbou rostlin, ve kterém jsou obsažena semena tohoto druhu. Roste hojně na všech půdách v různých nadmořských výškách. Vyhovují mu vlhčí stanoviště, k čemu patrně přispívají i závlahy, které se ve sledovaném podniku provádějí.

Podle Obr. 1 je možné říci, že mezi druhy, které se více vyskytovaly ve výsadbě na volné půdě, patří pampeliška lékařská, mléč drsný, kokoška pastuší tobolka, starček obecný, jitrocel větší, rozrazil rezekvítek, vrbovka chlupatá, merlík bílý, pryšec kolovratec a hořčice polní. Vzhledem k tomu, že v této výsadbě je regulace plevelů prováděna přednostně totálními herbicidy a omezeně zde dochází k promísení hlubších vrstev půdy při mechanické kultivaci, vyskytují se zde především druhy šířící se větrem (pampeliška lékařská, mléč drsný, starček obecný, vrbovka chlupatá) nebo druhy s krátkou vegetační dobou (kokoška pastuší tobolka, lipnice roční), případně druhy plevelů přítomné v organických hnojivech (merlík bílý, pryšec kolovratec, hořčice polní).

Dále bylo vyhodnocení prováděno u výsadby pěstované v kontejnerech, kde bylo zjištěno 13 plevelných druhů. Nejvíce jsou zastoupeny druhy vrba jíva, lipnice roční, úrazník položený a ptačinec žabinec. Substrát, ve kterém jsou rostliny pěstovány, je míchán přímo v podniku a následně ošetřen vodní párou pro vyloučení půdních patogenů a likvidaci semen plevelů. Proto můžeme předpokládat, že většina plevelů je zde z náletu.

Vrba jíva a lípa srdčitá zde patří k velice úporným plevelům. Oba druhy jsou rozšiřovány pomocí semen z okolního lesa. Můžeme říci, že hrany kontejneru napomáhají uchycení semen unášených větrem lépe, než je tomu u výsadby ve volné půdě. Navíc tyto druhy je třeba odstraňovat v raném stádiu růstu, neboť rychle tvoří mohutný kořenový systém, který při pozdním ošetření značně poškozují kořenový bal pěstovaných rostlin. Z ordinačního diagramu (Obr 1) je patrné, že mezi druhy, pro které je z hlediska jejich početního zastoupení kontejnerová výsadba příznivější, patří: vrba jíva, úrazník položený, lípa srdčitá, ptačinec žabinec, ježatka kuří noha, turanka kanadská, svízel přítula, pryskyřník plazivý a řebříček obecný. Jsou to především druhy pocházející z náletu z okolních ploch (vrba jíva, lípa srdčitá, turanka kanadská) a druhy, u kterých můžeme předpokládat, že se do substrátu v kontejnerech dostaly až po ošetření vodní párou (ptačinec žabinec, ježatka kuří noha, svízel přítula, pryskyřník plazivý a řebříček obecný). V diagramu jsou patrné i vektory druhů, které jsou kolmé k oběma variantám výsadby. Z toho lze usuzovat, že tyto

MENDELNET 2010

plevelné rostliny jsou více ovlivňovány jinými faktory než způsobem pěstování. Patří zde lipnice roční, heřmánkovec nevonný, pěťour malokvětý a jetel plazivý.

Plevelné druhy vyskytující se ve výsadbě můžeme dle jejich škodlivosti pro *Thuja occidentalis* 'Smaragd' rozdělit do tří skupin. Mezi vysoce škodlivé plevelné druhy se dají zařadit lípa srdčitá, vrba jíva, merlík bílý, mléč drsný, vrbovka chlupatá, hořčice polní, turanka kanadská, pěťour malokvětý a svízel přítula. Tyto druhy se vyznačují vyšším vzrůstem a jsou velmi konkurenčně schopné, proto je nutná včasná regulace, aby nedocházelo k poléhání rostlin a tím k poškození výsadby. Navíc svízel přítula je schopný popínat se po statnějších rostlinách, což může snížit kvalitu rostlin i u vyšší výsadby.

Mezi středně škodlivé plevelné druhy patří heřmánkovec nevonný, ježatka kuří noha, kokoška pastuší tobolka, pampeliška lékařská, pryskyřník plazivý, pryšec kolovratec, ptačinec žabinec a starček obecný. Tyto druhy nedosahují již takové velikosti, avšak jsou snadno šířitelné, a proto musíme zamezit produkci jejich diaspor. Navíc jetel plazivý, ptačinec žabinec, pryskyřník plazivý a řebříček obecný jsou schopny vytvářet souvislý, rychle rostoucí kobercový pokryv, který je mechanicky těžce odstranitelný a může poškozovat zvláště mladé výsadby.

K neškodlivým druhům plevelů patří jitrocel větší, lipnice roční, rozrazil rezekvítek a úrazník položený. Tyto druhy jsou velmi nízké a i ve vyšším počtu mají jen omezenou škodlivost.

ZÁVĚR

Ve školkařské výsadbě *Thuja occidentalis* 'Smaragd' bylo sledováno zastoupení a četnost jednotlivých plevelných druhů. Pro možnost srovnání bylo vyhodnocení provedeno u dvou různých způsobů pěstování této kultury, a to ve volné půdě a v kontejnerech. Ve výsadbě ve volné půdě se vyskytovaly plevelné rostliny heřmánkovec nevonný, hořčice polní, jetel plazivý, jitrocel větší, kokoška pastuší tobolka, lipnice roční, merlík bílý, mléč drsný, pampeliška lékařská, pěťour malokvětý, pryšec kolovratec, rozrazil rezekvítek, starček obecný, vrbovka chlupatá. U kontejnerového způsobu pěstování se vyskytovaly plevelné rostliny jetel plazivý, ježatka kuří noha, lípa srdčitá, lipnice roční, merlík bílý, pryskyřník plazivý, ptačinec žabinec, řebříček obecný, svízel přítula, úrazník položený, vrba jíva, vrbovka chlupatá, turanka kanadská.

Početnost zastoupení jednotlivých druhů plevelů vzhledem k jejich míře škodlivosti nepředstavovala výrazné riziko poškození kulturní rostliny. Zvýšenou pozornost je třeba věnovat regulaci plevelů po výsadbě sazenic kulturních rostlin, neboť plevelný pokryv může oslabit větvení v přízemních částech rostlin a tím dojde k nevratnému snížení kvality produkce. Škodlivost plevelů je však dostatečně včas eliminována aplikací plevelohubných zásahů v raných stádiích jejich růstu. V jarních měsících převažuje chemická ochrana totálními herbicidy, v letních měsících, s nástupem vyšších teplot, je velmi účinné mechanické plečkování. U výsadby pěstované v kontejnerech největší riziko poškození by mohly představovat dřevité druhy plevelů, lípa srdčitá a vrba jíva, neboť jejich kořenová soustava vrůstá do kořenové soustavy kulturní rostliny a jsou tak obtížně odstranitelné.

LITERATURA

DEYL M., HÍSEK K. (2001): *Naše květiny*. 3.vyd.upr., Academia, Praha, 690 s. ISBN 80-200-0940-X

DVOŘÁK J., SMUTNÝ V. (2003): *Herbologie: integrovaná ochrana proti polním plevelům*. 1.vyd. Brno, Skriptum MZLU Brno, 186 s. ISBN 80-7157-732-4.

HRON F., KOHOUT V. (1988): *Plevelé polí a zahrad.*, Výstavnictví zemědělství a výživy, České Budějovice, 343 s.

KUBÁT, K. (ed.), (2002): *Klíč ke květeně České republiky*. Academia, Praha, 927 s. ISBN 80-200-0836-5.

MIKULKA J. (1999): *Plevelné rostliny polí, luk a zahrad*, 1.vyd., Farmář, Praha, 160s. ISBN 80-902413-2-8

Ministerstvo zemědělství České republiky, (2007): *Situační a výhledová zpráva okrasné rostliny*, Praha, ISBN 987-80-7084-610-0, ISSN 1211-7692

TER BRAAK, C., J., F. (1998): CANOCO – A FORTRAN program for canonical community ordination by [partial] [detrended] [canonical] correspondence analysis (version 4.0.). Report LWA-88-02 *Agricultural Mathematics Group*. Wageningen.

VILKUS, E.(1997): *Rozmnožování ovocných a okrasných dřevin, Základy školkařství.*, 1.vyd., Květ, Praha, ISBN 80-85362-32-5

EFFECT OF PARITY AND LACTATION STAGE ON MILK FLOW CHARACTERISTICS OF HOLSTEIN DAIRY COWS

Antalík P., Strapák P.

Department of Animal Husbandry, Faculty of Agrobiological and Food Resources, Slovak University of Agriculture in Nitra, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

E-mail: peter.antalik@seznam.cz

ABSTRACT

This research is focused on the evaluation of milk flow traits of Holstein dairy cows, using mobile measuring device called Lactocorder. All measurements were carried out on a farm in Jasova. We evaluated a total amount of 120 Holstein dairy cows. The Main group of Holstein dairy cows was divided according to parity and lactation stage respectively, into the experimental groups in order to carry out a comparison of traits and parameters of milkability, obtained by Lactocorder within these groups. The average total milk yield was 12.01 ± 3.38 kg per milking with an average milk flow rate of 2.53 ± 0.69 kg.min⁻¹ and maximum milk flow rate of 3.93 ± 1.27 kg.min⁻¹. In the second part of our study we divided the whole group of Holstein dairy cows (120) into 3 smaller units according to the order of lactation (parity). The highest average total milk yield was reached by the dairy cows in the second lactation (12.40 ± 4.03 kg per milking). The dairy cows in the second lactation reached also the highest average and maximum milk flow rates (2.64 ± 0.69 kg.min⁻¹ and 4.07 ± 1.25 kg.min⁻¹ respectively). The lowest average total milk yield was detected in the group of dairy cows in the first lactation, as we expected (11.63 ± 2.01 kg). The lowest values of average and maximum milk flow rates were measured in the group of dairy cows in the third and greater lactations (2.40 ± 0.64 and 3.85 ± 1.24 kg.min⁻¹). In the case of dividing the dairy cows according to lactation stage, the highest total milk yield was detected in the group of dairy cows "up to 100 days in milk" (14.15 ± 3.44 kg). The relation between days in milk and total milk yield was confirmed by Pearson correlation analyses ($r = -0.56^{+++}$). The highest average and maximal milk flow rates were measured also in the group of dairy cows "up to 100 days in milk" (2.73 ± 0.85 and 4.06 ± 1.42 kg.min⁻¹ respectively).

Key words: average milk flow rate, Holstein cattle, lactocorder, parity, lactation stage...

Acknowledgments: Supported by the Grant Agency VEGA foundation of the Ministry of Education of Slovak Republic (Project No. 1/0695/09).

ÚVOD

Dojitelnosť je popisovaná ako individuálna vlastnosť kravy, ktorá charakterizuje funkčnú vlastnosť vemena, schopnosť spúšťať mlieko. Dojitelnosť je ovplyvnená anatomickou a histologickou stavbou vemena, priemerom ceckového kanálika, pevnosťou ceckového zvierača, výškou vnútrovemeného tlaku, intenzitou spúšťacieho reflexu a technikou dojenia. Je tiež ovplyvnená dedičným založením, intenzitou neurohumorálneho reflexu, komplexom tvorby, zhromažďovania a uvoľňovania mlieka, vekom dojnice, výškou dojivosti, plemenom, ako aj mnohými inými faktormi (Tančín et al., 2005).

Dojitelnosť, podobne ako priebehy pôrodov, zdravie či plodnosť patrí do skupiny tzv. nepriamych úžitkových vlastností, ktoré sa dávajú do súvislosti so znižovaním vstupných ekonomických nákladov (Gade et al., 2006). Pre každého chovateľa má veľký význam, aby jeho kravy produkovali čo najviac mlieka, a potrebovali pre to čo najmenej času. Rýchlejšie spúšťanie mlieka, a tým aj vydojenie mlieka kráv, šetrí čas potrebný pre dojenie a využívanie technologického zariadenia – dojárne (Strápák a Ryba, 2003). Rýchlosti spúšťania mlieka je pripisovaný veľký význam, keďže ťažko dojitelné kravy značne spomaľujú celý proces dojenia (Krogmeier et al., 2006). Dojitelnosť je obvykle meraná ako rýchlosť toku mlieka, zaznamenávaná pomocou prístrojovej techniky alebo subjektívne – pozorovaním. Používanie prietokomerov je na vzostupe a rozširuje sa na medzinárodnú úroveň (Santus a Girholdi, 2005).

V súvislosti s rýchlosťou spúšťania mlieka je však všeobecne známe, že nie je možné prekonávať biologické hranice tejto vlastnosti, čo by sa mohlo negatívne prejavovať na uvoľnení hladkého svalstva ceckového zvierača. Táto skutočnosť by mala za následok otvorenie vstupnej brány pre baktérie a mikroorganizmy do mliečnej žľazy, čo by spôsobilo výskyt zápalov vemena, ale aj straty vzniknuté samovoľným vytekaním mlieka pri zvýšení vnútrovemeného tlaku (Strápák a Ryba, 2003).

MATERIÁL A METÓDY

Všetky naše merania boli realizované v priebehu jedného týždňa v podniku AgroContract mliečna farma a. s. Jasová. Na merania boli použité dva prístroje lactocorder, ktoré sa pred každým dojením zapojili medzi dojace zariadenie a mliekovodné potrubie. Celkovo sme zmerali a zhodnotili 120 holštajnských kráv. V druhej časti práce sme základný súbor holštajnských kráv rozdelili podľa poradia laktácie, resp. podľa počtu dní od otelenia do menších podskupín:

- Rozdelenie podľa poradia laktácie:
 - Kravy na prvých laktáciách (n = 44),
 - Kravy na druhých laktáciách (n = 41),

- Kravy na tretích a vyšších laktáciách (n = 35).
- Rozdelenie podľa počtu dní od otelenia:
 - Kravy do 100 dní od otelenia (n = 25),
 - Kravy od 100 do 200 dní od otelenia (n = 38),
 - Kravy nad 200 dní od otelenia (n = 57).

Kravy boli dojené trikrát denne. Lactocorder pri samotnom meraní berie do úvahy iba tzv. hlavnú fázu dojenia, ktorá začína po prekročení rýchlosti toku mlieka $0,5 \text{ kg}\cdot\text{min}^{-1}$ a končí v momente poklesu rýchlosti toku mlieka pod $0,2 \text{ kg}\cdot\text{min}^{-1}$. V priebehu každého merania lactocorder automaticky odoberá priemernú a pomernú vzorku mlieka. Od každej hodnotenej kravy sme pomocou lactocorderov odobrali vzorku mlieka na zistenie počtu somatických buniek v mlieku. Vzorky boli odoslané na analýzy do laboratórií v Žiline (Plemenárske služby SR). V našej práci sme merali a analyzovali nasledovné ukazovatele:

- celkové množstvo nadojeného mlieka (kg),
- priemerný minútový výdoj počas hlavnej fázy dojenia ($\text{kg}\cdot\text{min}^{-1}$),
- maximálny tok mlieka po dobu 11,2 s. ($\text{kg}\cdot\text{min}^{-1}$),
- bimodalita – prudký pokles toku mlieka krátko po začiatku dojenia (v čase do 96 s.),
- dĺžka trvania hlavnej fázy dojenia (od prekročenia prietoku $0,5 \text{ kg}\cdot\text{min}^{-1}$ do poklesu prietoku mlieka pod $0,2 \text{ kg}\cdot\text{min}^{-1}$) (min),
- dĺžka vzostupnej fázy (od prietoku $0,5 \text{ kg}\cdot\text{min}^{-1}$ po dosiahnutie stabilnej fázy toku mlieka (min),
- dĺžka vyrovnanej (plató) fázy (čas vyrovnaného toku mlieka) (min),
- dĺžka fázy poklesu (čas poklesu prietoku mlieka) (min),
- množstvo mlieka získaného za prvú minútu dojenia (kg),
- počet somatických buniek vo vzorke mlieka, ktorá bola získaná od každej kravy pomocou prístroja lactocorder v priebehu našich meraní ($\text{bunky}\cdot\text{ml}^{-1}$).

Súčasťou našej práce bol aj výpočet Pearsonových korelačných koeficientov, medzi všetkými meranými ukazovateľmi. Výsledky našich meraní boli spracované v programovom balíku LactoPro 5.2.0 (Biomektechnik Swiss). Pri analýzach dát boli použité programy Microsoft Excell a SAS 9.1.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tejto práci sme hodnotili charakteristiky toku mlieka 120 holštajnských kráv. S využitím prístrojov lactocorder sme merali a analyzovali 11 ukazovateľov súvisiacich s rýchlosťou spúšťania mlieka a samotným dojením. Hodnotené kravy dosiahli priemernú produkciu mlieka na nádoj $12,01 \pm 3,38$ kg pri priemernom minútovom výdoji $2,53 \pm 0,69$ kg.min⁻¹ a pri priemernom maximálnom toku mlieka $3,93 \pm 1,27$ kg.min⁻¹. Strapák et al. (2009) zaznamenali pri hodnotení dojiteľnosti holštajnských kráv priemernú produkciu mlieka na nádoj 15,63 kg pri priemernom minútovom výdoji 2,84 kg.min⁻¹ a pri priemernom maximálnom toku mlieka 4,49 kg.min⁻¹. V porovnaní s našimi výsledkami, bol priemerný minútový výdoj v práci Strapáka et al. (2009) o 0,31 kg.min⁻¹ vyšší. Holštajnské kravy hodnotené Strapákom et al. (2009) dosiahli aj vyššiu priemernú produkciu mlieka (o 3,62 kg), čo indikuje skutočnosť, že priemerný minútový výdoj, ako najvýznamnejší ukazovateľ dojiteľnosti má vzťah k celkovej produkcii mlieka, čo potvrdil aj nami vypočítaný Pearsonov koeficient korelácie ($r = 0,47^{+++}$).

Z hľadiska hodnotenia vplyvu poradia laktácie na ukazovatele dojiteľnosti sme najvyšší priemerný minútový výdoj, ako aj najvyššiu priemernú produkciu mlieka zaznamenali v skupine kráv na druhých laktáciách ($2,64 \pm 0,69$ kg.min⁻¹ pri priemernej produkcii mlieka na nádoj $12,40 \pm 4,03$ kg). Dodenhoff et al. (1999) pri hodnotení vplyvu poradia laktácie na parametre dojiteľnosti u holštajnských kráv zaznamenali najvyšší priemerný minútový výdoj ako aj najvyššiu priemernú produkciu mlieka v skupine kráv na tretích laktáciách ($2,19 \pm 0,67$ kg.min⁻¹ pri priemernej produkcii $12,84 \pm 4,46$ kg).

V skupine kráv na druhých laktáciách sme však zaznamenali aj najvyššie percento bimodálnych kriviek toku mlieka (viac ako 56 %). Najnižšie percento bimodality dosiahli kravy na prvých laktáciách (40,91 %). Dodenhoff et al. (1999) zaznamenali vo svojej práci najvyššie percento bimodálnych kriviek toku mlieka taktiež u holštajnských kráv na druhých laktáciách (24 %) a najnižšie percento u kráv na prvých laktáciách (21 %). Percentuálne podiely bimodálnych kriviek toku mlieka v našej práci sú však v porovnaní s výsledkami Dodenhoffa et al. (1999) viac ako dvojnásobné, čo naznačuje nedostatky v bezprostrednej príprave vemena našich kráv na dojenie. V rámci výpočtov Pearsonových korelačných koeficientov sme podľa očakávania zistili štatisticky preukazný vplyv bimodality na dĺžku vzostupnej fázy toku mlieka ($r = 0,76^{+++}$) a vplyv bimodality na množstvo mlieka získaného počas prvej minúty dojenia ($r = -0,28^{+++}$). Rozdiel medzi optimálnou krivkou toku mlieka a krivkou s výskytom bimodality je znázornený v prílohách na obrázkoch 1 a 2.

Tabuľka 1 Ukazovatele dojiteľnosti holštajnských kráv rozdelených podľa poradia laktácie.

Ukazovateľ	Poradie laktácie		
	1.	2.	3. a vyššie
Počet kráv (n)	44	41	35
Množstvo mlieka (kg)	11,63 ± 2,01	12,40 ± 4,03	12,02 ± 3,89
Priemerný minútový výdoj (kg.min ⁻¹)	2,54 ± 0,72	2,64 ± 0,69	2,40 ± 0,64
Maximálny tok mlieka (kg.min ⁻¹)	3,88 ± 1,34	4,07 ± 1,25	3,85 ± 1,24
Bimodalita (%)	40,91	56,10	45,71
Hlavná fáza dojenia (min.)	4,82 ± 1,61	4,63 ± 1,35	5,03 ± 1,61
Vzostupná fáza dojenia (min.)	0,92 ± 0,49	1,01 ± 0,44	1,02 ± 0,48
Vyrovnaná (plató) fáza (min.)	1,98 ± 1,34	1,68 ± 1,21	1,86 ± 1,84
Fáza poklesu (min.)	1,92 ± 1,12	1,94 ± 0,60	2,15 ± 0,93
Množstvo mlieka za prvú minútu dojenia (kg)	2,16 ± 1,00	2,43 ± 1,07	2,39 ± 1,05
PSB (bunky.ml ⁻¹)	196 000 ± 745 000	70 000 ± 109 000	212 000 ± 321 000

Z hľadiska hodnotenia vplyvu počtu dní od otelenia na ukazovatele dojiteľnosti sme najvyšší priemerný minútový výdoj ($2,73 \pm 0,85 \text{ kg.min}^{-1}$), ako aj najvyšší priemerný maximálny tok mlieka ($4,06 \pm 1,42 \text{ kg.min}^{-1}$) zaznamenali v skupine kráv „do 100 dní od otelenia“. Najvyššiu priemernú produkciu mlieka na nádoj ($14,15 \pm 3,44 \text{ kg}$) sme namerali opäť v skupine kráv „do 100 dní od otelenia“. Najnižšiu priemernú produkciu mlieka ($10,14 \pm 2,70 \text{ kg}$), najnižší priemerný aj maximálny tok mlieka ($2,35 \pm 0,63 \text{ kg.min}^{-1}$ resp. $3,84 \pm 1,26 \text{ kg.min}^{-1}$) dosiahli kravy v skupine „nad 200 dní od otelenia“. Sandrucci et al. (2007) vo svojej práci hodnotili dojiteľnosť holštajnsko-frízskych kráv, pričom v rámci sledovania vplyvu počtu dní od otelenia na ukazovatele dojiteľnosti rozdelili základný súbor kráv na 2 skupiny (kravy do 150 dní od otelenia a kravy nad 150 dní od otelenia). Vyššiu priemernú produkciu mlieka (16,00 kg), ako aj vyšší priemerný minútový výdoj ($2,48 \text{ kg.min}^{-1}$) dosiahli kravy v skupine „do 150 dní od otelenia“ (Sandrucci et al., 2007). V rámci výpočtu Pearsonových korelačných koeficientov sme zistili štatisticky preukazný vplyv počtu dní od otelenia na celkovú produkciu mlieka ($r = -0,56^{+++}$), na dĺžku hlavnej fázy dojenia a ($r = -0,38^{+++}$) a dĺžku vyrovnanej (plató) fázy ($r = -0,35^{+++}$).

Tabuľka 2 Ukazovatele dojiteľnosti holštajnských kráv rozdelených podľa počtu dní od otelenia.

Ukazovateľ	Počet dní od otelenia		
	do 100	100 - 200	nad 200
Počet kráv (n)	25	38	57
Množstvo mlieka (kg)	14,15 ± 3,44	13,39 ± 2,71	10,14 ± 2,70
Priemerný minútový výdoj (kg.min ⁻¹)	2,73 ± 0,85	2,66 ± 0,60	2,35 ± 0,63
Maximálny tok mlieka (kg.min ⁻¹)	4,06 ± 1,42	3,99 ± 1,22	3,84 ± 1,26
Bimodalita (%)	44,00	34,21	57,89
Hlavná fáza dojenia (min.)	5,43 ± 1,65	5,13 ± 1,40	4,34 ± 1,42
Vzostupná fáza dojenia (min.)	0,97 ± 0,49	0,90 ± 0,31	1,04 ± 0,54
Vyrovnaná (plató) fáza (min.)	2,36 ± 1,45	2,20 ± 1,33	1,38 ± 1,42
Fáza poklesu (min.)	2,11 ± 0,76	2,03 ± 0,97	1,92 ± 0,95
Množstvo mlieka za prvú minútu dojenia (kg)	2,46 ± 1,19	2,63 ± 0,93	2,05 ± 0,98
PSB (bunky.ml ⁻¹)	119 000 ± 269 000	145 000 ± 259 000	183 000 ± 655 000

ZÁVER

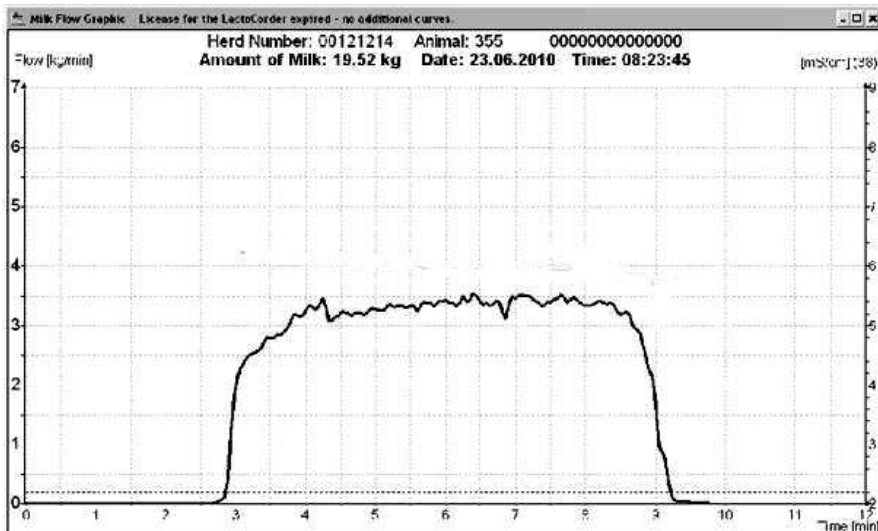
Pri rozdelení kráv podľa poradia laktácie sme zaznamenali najvyššie hodnoty priemerného aj maximálneho toku mlieka v skupine kráv na druhých laktáciách. Kravy na druhých laktáciách však zaznamenali aj najvyššie percento bimodálnych kriviek toku mlieka. V rámci rozdelenia kráv podľa počtu dní od otelenia sme namerali najvyššie hodnoty priemerného i maximálneho toku mlieka v skupine kráv „do 100 dní od otelenia“. Najvyššie percento bimodality sme zaznamenali v skupine kráv „nad 200 dní od otelenia“.

LITERATÚRA

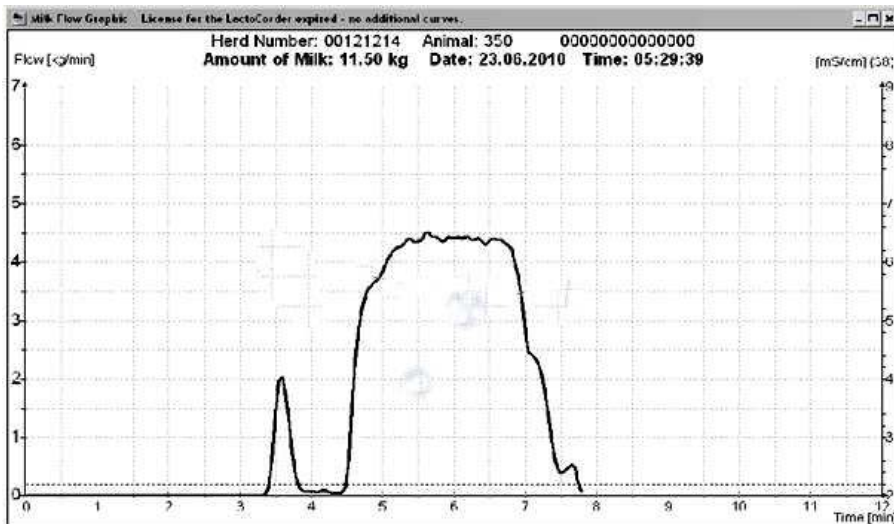
- Dodenhoff J., Sprengel D., Duda J., Dempfle L. (1999): Potential use of parameters of the milk flow curve for genetic evaluation of milkability. *Interbull Bulletin*, 23: 131–141.
- Gade S., Stamer E., Junge W., Kalm E. (2006): Estimates of genetic parameters for milkability from automatic milking. *Livest. Sci.*, 135-146.
- Krogmeier D., Luntz B., Goetz K. (2006): Investigations on the economical value of type traits on the basis of auction sales of first lactation Brown Swiss and Simmental cows. *Züchtungskunde*, 78: 464-478.
- Sandrucci A., Tamburini A., Bava L., Zucali M. (2007): Factors affecting milk flow traits in dairy cows : results of a field study. *J. Dairy Science*, 90 (3): 1159 – 1167.
- Santus E., Ghiroldi S., (2005): Milkability Genetic Evaluation in Brown Swiss: An International approach. *Interbull Bulletin*, 33: 25 – 27, In: *Proceeding of the Interbull meeting*, Uppsala, Sweden, June 2 – 4, 2005.
- Strapák P., RYBA Š. (2003): Dojitelnost' – významná nepriama úžitková vlastnosť v šľachtení hovädzieho dobytku. *Slovenský chov*, 8 (12): 38-40.
- Strapák P., Súkeníková Z., Antalík P. (2009): Milkability in Holstein cows. *Journal of Central European Agriculture*, 10: 207–210.
- Tančin V., Ipema A. H., Hogewerf P. H. (2005): Maximálna a priemerný tok mlieka a relatívny výdoj za 3 minúty u Holštajnských dojníc v priebehu laktácie. In: *Vedecké práce Výskumného ústavu živočíšnej výroby v Nitre. Journal of Animal Science*, 38: 191 – 199.

PRÍLOHY

Obrázok 1 Optimálna krivka toku mlieka (bez bimodality)



Obrázok 2 Bimodálna krivka toku mlieka



DIGESTIBILITY NUTRIMENTS FEEDING RATIIONS OF DAIRY COWS WITH REFERENCE TO FORM ZINC

Balabánová M., Hošková Š., Zeman L.

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

E-mail: marie.balabanova@mendelu.cz

ABSTRACT

The work objective was compared inorganic zinc form (ZnO) feeding in diety of high pregnant cows and consequently dairy cows with cows, who were to be fed chelate form of zinc in feeding diety by the help of assesment coefficient digestibility feeding rations.

We observed 19 cows of Holstein breed for our observation on the agricultural farm Žabčice of Mendel University in Brno. Our high-pregnant cows were divided to 2 groups. All 19 cows were fed the same roughage in their feeding ration. The roughage contained f.e. maize silage, sugar beet pulp, grass hay or barley straw. But 9 cows – control cows were fed with zinc supplement of inorganic form (oxide zinc) in their concentrate mixtures and 10 cows – experimental cows were fed with organic form of zinc (zinc chelate). We took faeces in 3 periods – 14th behind calving, 30th day after calving and 60th day after calving. Specimens were analysed to amount crude protein, lipid, crude fiber, non nitrogen extracted matter and ash. Feeding rations of control and experimental group were analysed to these nutrients too. Digestible nutrient was calculated by comparison values single nutrients – accepted and outcast, with indicator method. The monitoring cows stayed in the same drove as they were after our experiment and so we reduced influence of stress factors such as conditions of humidity, temperature, or place for their movement.

Digestibility nutrients of experimental group (crude protein, lipid, crude fiber, non nitrogen extracted matter, ash) were higher than values of control group. Average values crude protein of experimental group were higher by 12.27%; 3.72% and 4.29% than in control group during monitored period. Average values lipid of experimental group were higher by 5.03%; 1.93% and 5.17% than in control group. Average values crude fiber of experimental group were higher by 17.09%; 7.78 % and 22.90% than in control group. Average values non nitrogen extracted matter of experimental group were higher by 13.80 %; 22.85% and 4.60% than in control group and average values ash of experimental group were higher by 1.53%; 23.79% and 6.10% than in control group during 14th days before calving, 30th days after calving and 60th days after calving. There wasn't any statistically conclusive differences between average values.

Key words: cows, zinc, copper, digestibility nutrients

Acknowledgments: Financial support from grant TP 8/2010 is greatly acknowledged.

ÚVOD

Základem každého živočišného organismu na této planetě je voda, tuk, proteiny a minerální látky (MURRAY, 1998). Pokud chceme předkládat zvířeti vše, co potřebuje nejen k zachování života, ale např. i k produkci mléka, vlny či masa, musíme také vědět, kolik čeho potřebuje. Nemělo by docházet k tomu, že v dietě nebude dostatečné množství základních živin, které jsou tak důležité pro zdraví zvířete a to dusíkatých látek, tuků, vlákniny, BNLV a popele.

Dusíkaté látky (NL) patří ke stavebním živinám, ale část z nich může být využita v organismu i jako energetický zdroj. Dusíkaté látky jsou ve výživě zvířat nezastupitelné – existence organismu je podmíněna jejich přítomností a zdroji jejich využitelných forem, ať již ve formě bílkovin složených z aminokyselin, nebo v podobě nebílkovinných dusíkatých látek, ke kterým např. patří aminy, alkaloidy či nukleové kyseliny (ZEMAN, 2006). Nedostatek dusíkatých látek v krmivu způsobuje značné problémy nejen s růstem, ale i s celkovým vývojem organismu.

Sacharidy a lipidy mají mnoho strukturálních a metabolických funkcí, ale především jsou základními dodavateli velkého množství energie obsažené v potravě. Při pozitivní bilanci je významný díl energie získaný z potravy uložen buď jako glykogen nebo jako tuk. Glukosa se upřednostňuje pro ty tkáně, které potřebují neustálý zdroj energie (např. mozek). Regulace přívodu tohoto paliva a způsob, jakým je sladěna s jinými zdroji živin, jsou významnými faktory mnoha metabolických pochodů a souvisejí i s mnoha metabolickými chorobami. Pokud dojde ke hladovění zvířete, začne docházet k čerpání glykogenu. Při dlouhodobém hladovění dochází ke glukoneogenezi – nežádoucímu získávání energie rozkladem proteinů (MAYES, 1998).

Sacharidy se z krmivářského pohledu na základě chemického složení krmiv dají rozdělit na vlákninu a bezdusíkaté látky výtažkové (BNLV). BNLV jsou tvořeny monosacharidy až polysacharidy (převážně škrobem a cukry). Vláknina není přesně chemicky definovaná látka, je to směs látek sestávajících se z celulózy, hemicelulóz a nestavitelných látek, zejména ligninu, kutinu, křemičitanů atd. Podle vzájemného poměru hemicelulóz a celulózy k ligninu se mění stravitelnost vlákniny. Na jedné straně zvyšující se obsah vlákniny omezuje stravitelnost krmné dávky, ale na druhé straně má i pozitivní vliv na organismus – zabezpečuje mechanické nasycení zvířete, nebo také podporuje peristaltiku střev a motoriku bачору (ZEMAN, 2006).

Obsah popele v dietě je důležitý hlavně proto, že má vypovídající schopnost o tom, jak jsou v krmné dávce zastoupeny minerální látky, z makroprvků např. vápník, fosfor, draslík, sodík či síra a ze stopových prvků např. zinek, měď, železo nebo selen.

Avšak ne všechny živiny přijaté v krmivu jsou organismem využity a o tom, z kolika procent jsou živiny stráveny, vypovídá koeficient bilanční stravitelnosti (KS). Je to procentické vyjádření strávené živiny z celkového jejího příjmu po odečtení vyloučeného množství sledované živiny výkaly.

Cílem našeho sledování bylo zjistit, do jaké míry ovlivní forma zkrmovaného zinku v krmné dávce stravitelnost vybraných živin.

MATERIÁL A METODIKA

Do sledování byly zařazeny krávy holštýnského plemene chované ve Školním zemědělském podniku v Žabčicích. Sledovaných 19 krav bylo rozděleno na 2 skupiny – 1. skupina byla označena „KONTROLA“ a bylo do ní zahrnuto 9 krav, kterým byla zkrmována anorganická forma zinku (ZnO). V druhé skupině označené „POKUS“ bylo 10 krav, kterým byl zinek v minerálním premixu dotován ve formě organické (chelát zinku). Základem krmné dávky byla kukuřičná siláž, silážované cukrovarské řízky, vojtěšková siláž ze zavadlé píce, luční seno a SEŠ. Oběma skupinám byla stejná krmná dávka, která se lišila právě ve formě dodávaného zinku v minerálním premixu.

Námi vybrané krávy byly monitorovány v období 14ti dnů před jejich otelením a následně 60 dnů po otelení. Během této doby byly u každé ze sledovaných krav provedeny 3 odběry výkalů (2 týdny před otelením, 30. den po otelení a 60. den po otelení). Současně byly odebrány i jejich krmné dávky. Ze vzorků výkalů i diet byly v laboratořích Ústavu výživy zvířat a pícninářství Mendelovy univerzity v Brně stanoveny hodnoty dusíkatých látek (NL), tuku, vlákniny, popele a vypočteny bezdusíkaté látky výtažkové (BNLV). K vypočtení jednotlivých koeficientů stravitelnosti (KS) byla použita indikátorová metoda, kdy jsme jako indikátor využili přirozeně se vyskytující popel nerozpustný v 4M HCl.

V rámci zachování co největšího klidu a maximálního zabránění působení stresorů jsme sledované kusy ponechali v jejich původním stádě. Jelikož se všechny pozorované dojnice pohybovaly ve stejném boxu, měly stejné mikroklimatické podmínky - vlhkostní, teplotní, prostorové i proudění vzduchu ve stáji.

Ke statistickému vyhodnocení získaných dat byl použit Tukeyův test.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Při sledování jsme pozorovali, že ve skupině, ve které docházelo ke zkrmování zinku v organické formě, dochází u krav k nižšímu rozptylu ve stanovených hodnotách koeficientů stravitelnosti. U všech živin byly zaznamenány vyrovnanější hodnoty u pokusné skupiny, až na stravitelnou vlákninu při 2. odběru pokusné skupiny a stravitelnost popele u posledního odběru pokusné skupiny.

MENDELNET 2010

U pokusné skupiny se projevil ve všech případech nárůst oproti hodnotám stravitelnosti živin kontrolní skupiny během stejného odběru. Vyšší stravitelnost živin krav, kterým byl zkrmován chelát zinku v minerálním premixu, se však neprojevil statisticky průkazně ($p < 0,05$).

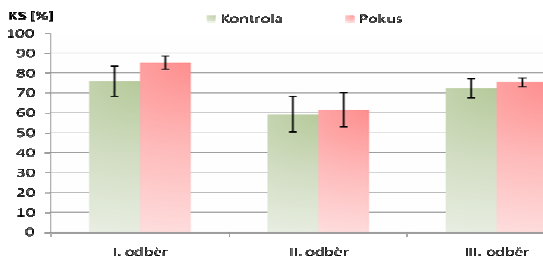
CASPER a MERTENS (2008) a WHEELER (1982) uvádějí nižší koeficienty stravitelnosti dusíkatých látek, než které jsme pozorovali my. Jednotlivé koeficienty stravitelnosti živin i s jejich směrodatnými odchylkami jsou uvedeny v Tab. 1.

I když u pokusné skupiny došlo ke zvýšení stravitelnosti tuku krmné dávky, přesto nedosahuje 95 %, kterou uvádí NRC (1978) a její maximální hodnotou je $85,7 \pm 3,27$ %.

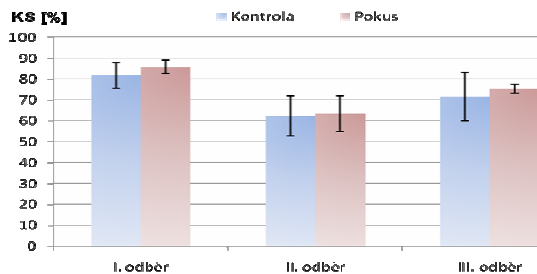
Tab. 1 Koeficienty stravitelnosti a jejich směrodatné odchylky u dusíkatých látek, tuku, vlákniny, bezdusíkatých látek výtěžkových a popel

Skupina	Odběr	NL	Tuk	Vláknina	BNLV	Popel
		KS [%]				
Kontrola	I.	75,8 ± 7,46	81,6 ± 6,17	58,5 ± 15,47	73,2 ± 9,81	39,3 ± 18,61
	II.	59,2 ± 9,01	62,2 ± 9,61	45,0 ± 14,48	58,2 ± 21,11	28,9 ± 11,76
	III.	72,2 ± 4,86	71,6 ± 11,64	55,9 ± 10,48	76,1 ± 6,89	42,8 ± 8,35
Pokus	I.	85,1 ± 3,21	85,7 ± 3,27	68,5 ± 6,82	83,3 ± 4,11	39,7 ± 7,84
	II.	61,4 ± 8,56	63,4 ± 8,56	48,5 ± 14,61	71,5 ± 6,76	36,0 ± 8,20
	III.	75,3 ± 2,14	75,3 ± 2,14	68,7 ± 8,20	79,6 ± 4,36	45,1 ± 11,57

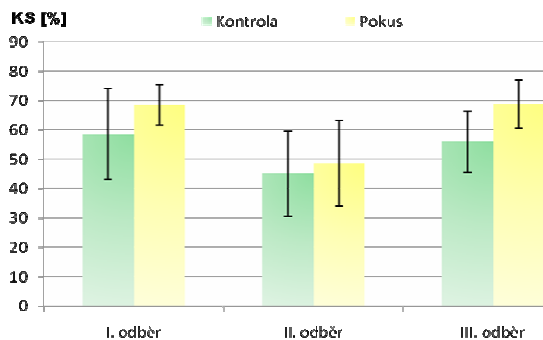
Koeficienty stravitelnosti živin u obou skupin vykazují stejnou tendenci, kdy v době prvního odběru (2 týdny před otelením) jsou živiny více využívány organismem, než v době druhého odběru (30. den po otelení), kdy je pokles oproti předešlým hodnotám místy i o 20 % nižší. Tento pokles je však již během posledního odběru (60. den po otelení) vykompenzován mnohdy i na vyšší hodnoty, než kterých bylo dosaženo v době stání krav na sucho.



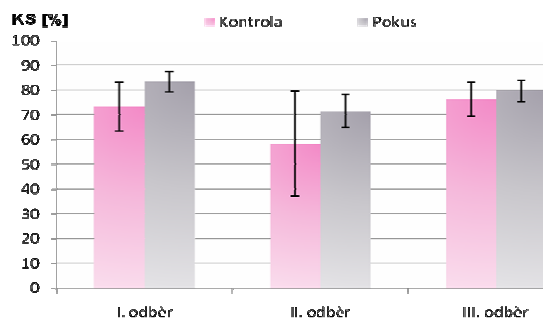
Graf 1 Koeficienty stravitelnosti KS [%] dusíkatých látek ve třech sledovaných obdobích u kontrolní a pokusné skupiny



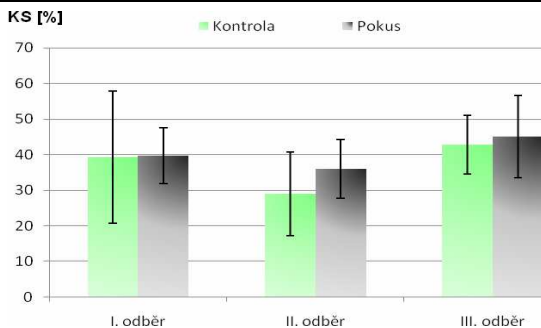
Graf 2 Koeficienty stravitelnosti KS [%] tuku ve třech sledovaných obdobích u kontrolní a pokusné skupiny



Graf 3 Koeficienty stravitelnosti KS [%] vlákniny ve třech sledovaných obdobích u kontrolní a pokusné skupiny



Graf 4 Koeficienty stravitelnosti KS [%] bezdusíkatých látek výživoých (BNLV) ve třech sledovaných obdobích u kontrolní a pokusné skupiny



Graf 5 Koeficienty stravitelnosti KS [%] popele ve třech sledovaných obdobích u kontrolní a pokusné skupiny

Z grafu 1 lze vyčíst, že u koeficientů stravitelnosti NL jsou statisticky prokazatelné rozdíly ($p < 0,05$) mezi druhým odběrem kontrolní skupiny nejen vůči předešlému i následnému měření této skupiny, a také pokusné skupiny v době před porodem a 60. den po porodu. mezi pokusnou skupinou v době před porodem a 60. den po otelení. Stejně tak se projevuje statisticky prokazatelně ($p < 0,05$) nižší průměrná hodnota stravitelnosti NL u pokusné skupiny měřené 30. den po porodu vzhledem k jejím hodnotám před otelením a 60. den po otelení.

Koeficienty stravitelnosti tuku (Graf 2) u kontrolní skupiny v době druhého odběru byl statisticky prokazatelně nižší ($p < 0,05$) než v období před porodem u kontrolní i pokusné skupiny a než u pokusné skupiny v posledním odběru. Nižší je také stravitelnost tuku u pokusné skupiny 30. den po porodu než je tomu u kontrolní skupiny před otelením. Pokusná skupina měla koeficient stravitelnosti tuku 30. den po otelení statisticky prokazatelně nižší ($p < 0,05$) než v předešlém a následném sledování.

U obsahu strávené vlákniny (Graf 3) je pozorovatelná pouze statisticky prokazatelná ($p < 0,05$) odlišnost mezi první a třetí hodnotou pokusné skupiny, které jsou vyšší než koeficient stravitelnosti u kontrolní skupiny odebrané 30. den po porodu.

Statisticky průkazný rozdíl ($p < 0,05$) je i u BNLV v rámci prvního a druhého odběru pokusné skupiny. Krávy před porodem mají vyšší stravitelnost bezdusíkatých látek výtazkových než v následném období po porodu.

ZÁVĚR

Na základě získaných výsledků lze konstatovat, že zkrmování krmné dávky s organickou formou zinku vedlo ke zvýšení stravitelnosti zinku sledovaných pokusných zvířat oproti zvířatům, která byla krmena dietou s anorganickou formou zinku v období před porodem a v následujících 30 dnech po porodu a vedlo ke snížení rozptylu hodnot u sledovaných krav v většiny sledování.

Ve všech sledovaných obdobích kontrolní skupiny byly koeficienty stravitelnosti nižší než u pokusné skupiny ve stejném období života dojnice. Vyšší stravitelnost je u NL ve prospěch pokusné skupiny o 12,3 %, 3,7 % a 4,3 % v jednotlivých námi sledovaných obdobích, u stravitelnosti tuku je to o 5 %, 1,9 % a 5,2 %, u vlákniny byla stravitelnost vyšší dokonce o 17,1 %, 7,8 % a 22,9%, u BNLV o 13,8 %, 22,9 % a 4,6 % a u popele o 1,5 %, 23,8 % a 6,1 %.

Koeficienty stravitelnosti živin u obou skupin vykazují stejnou po porodu klesající tendenci (30. den po otelení) oproti předešlému sledování (2 týdny před otelením) a následný nárůst stravitelnosti (60. den po otelení).

Vyšší stravitelnost živin v době maximální velikosti plodu v děloze matky by mohla mít vysvětlení takové, že ač kráva není schopna přijmout velké množství krmné dávky, přesto ji v co možná největší míře využije.

Z fyziologického hlediska by efekt poklesu stravitelnosti, který jsme pozorovali 30. den po porodu, bylo možné vysvětlit tím, že se právě kráva nachází v pro ni nejtěžším období z pohledu vyšších nároků na organismus dojnice spojenými s proděláním porodu a následným nástupem laktace, který u dojnic holštýnského plemene bývá mnohdy velmi rapidní.

Stravitelnost 2. měsíc po otelení je již vyšší než v předešlém sledování. Může to být tím, že po otelení se umožní bachoru opětovné rozšíření a zvětší se tak plocha sliznice bachoru, která je potřeba k lepšímu vstřebávání živin, neboť plod už přestal utlačovat bachor v dutině břišní a dojnice se již stihla přizpůsobit požadavkům laktace.

Z výsledků vyplývá, že zařazení organické formy zinku do krmné dávky vede k vyrovnanější stravitelnosti mezi sledovanými kravami a ke zmírnění skoku ve stravitelnosti, který se dostaví vždy po porodu.

LITERATURA

CASPER, D. P.; MERTENS, D. R. Depression in nutrient digestibility by lactating dairy cows when dry matter intake is expressed as a multiple of maintenance. *J. Dairy Sci.* 2008, 91, 1, s. 618. Dostupný také z WWW: <adsa.asas.org>

MAYES, Peter A. Harperova biochemie. 1. Jinočany : H&H, 1998. Vzájemná souvislost metabolismu a zajištění tkáňového paliva, s. 292-299. ISBN 80-85787-38-5.

MENDELNET 2010

MURRAY, Robert K. Harperova biochemie. 1. Jinočany : H&H, 1998. Biomolekuly a biochemické metody, s. 6-15. ISBN 80-85787-38-5.

NRC 1978, Nutrient requirements of dairy cattle. 5th revised edition. Washington D. C. : National Academy of Science, 1978. Fat, s. 27.

WHEELER, W. E. Effect of Limestone Buffers on Digestibility of Complete Diets and on Performance by Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*. 1982, 65, 1, s. 163. Dostupný také z WWW: <www.sciencedirect.com>.

ZEMAN, L. et al. Výživa a krmění hospodářských zvířat. 1. vyd. Praha : Profi Press, 2006. 360 s. ISBN 80-86726-17-7

COMPARISON OF FOUR DILUENTS FOR CRYCONSERVATION OF BULL SEMEN AND THEIR EFFECT ON SPERM SURVIVAL

Beran J., Stádník L., Ducháček J., Louda F.

Department of Animal Husbandry, Faculty of Agrobiological Sciences, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Suchbátka 165 21, Praha Suchbátka, Czech Republic

E-mail: beranj@af.czu.cz

ABSTRACT

The addition of components of animal origin (egg yolk, milk) to most commercial diluents used to freeze bull semen represents a potential risk of contamination of the doses with bacteria or mycoplasma. For this reason these components are substituted by soya lecithin. In this work we compared four extenders: two without egg yolk (AndroMed®, Bioxcell®) and two egg yolk based diluents (Triladyl®, Optidyl®). We used 80 samples of ejaculate, collected from 4 bulls of the same age, frequency of collecting and reared on one Artificial Insemination Centre (A. I. Centre). Semen with demand quality were used for producing A. I. doses by standard methodology of A.I. Centre. We monitored sperm activity of these A. I. doses after thawing by a heat test (38°C, 120 minutes). The results were evaluated by the SAS GLM procedure. Higher activity of sperm after thawing (48.4-51.6%, $P < 0.05-0.001$) was detected in extenders with egg yolk than in extenders without egg yolk (41.5-47.4%). Sperm activity declined unevenly to (25.5%-31.4%) in egg yolk extenders compared to ones without egg yolk (18.9-23.3%) after 120 minutes of the survival test. Significant differences in sperm survival among individual sires were determined. We can recommend the use of diluents based on egg yolk.

Key words: bull semen, cryopreservation, sperm survival, diluent, egg yolk, bacterial contamination.

Acknowledgments: Funded by MSMT 6046070901 and QI91A061.

INTRODUCTION

Extenders with egg yolk are routinely used for the cryopreservation of bull semen. The main benefit of egg yolk is that it adheres to sperm cell membranes during the freeze-thaw process and resists it against cold shock (AMIRAT et al., 2004; MUINO et al., 2007).

In recent years, however, there has been a trend against the use of egg yolk or milk in cryoprotective media because of the risks associated with the use of animal products and the presence of steroid hormones, which may reduce the fertilizing capacity of spermatozoa. Furthermore, egg yolk and milk introduce a risk of bacterial or mycoplasmatic infections. Such contamination is a possible source of endotoxins capable of damaging the fertilizing capacity of spermatozoa. To solving this problem, a sterilized diluent for bull semen has recently been marketed. These commercial extenders are based on glycerol and contains soja lecithin as a replacement for egg yolk or egg yolk+milk and thus has no products of animal origin. (BOUSSEAU et al., 1998; THUN et al., 2002).

The aim of this paper was to compare and assess the impact of different types of bull semen diluents on the sperm survival.

MATERIALS AND METHODS

Four bulls of the same age, frequency of collecting and reared on one A.I. centre were chosen as donors of semen. Twenty ejaculates were obtained from each bull using an artificial vagina. The semen samples were assessed immediately after collecting by experts of A. I. centre by their standard methodology. Only semen with demanded quality (minimum progressive motility 70% and sperm concentration $0.7 \times 10^6/\text{mm}^3$) was used for following processing on samples.

Semen was then divided into four equal fractions; the first one was diluted with AndroMed® (Minitübe, Tiefenbach, Germany), an extender containing soybean lecithin extract. The second one was Bioxcell® (IMV, L'Aigle, France), an extender which is not contain any product of animal origin. The third fraction was diluted with Triladyl® (Minitübe, Tiefenbach, Germany), containing 20% (w/v) of fresh egg yolk. The fourth aliquot was diluted with Optidyl® (IMV, L'Aigle, France), an extender which contains ionized egg yolk. There were produced insemination doses from that diluted aliquots and stored in liquid nitrogen.

We evaluated in vitro parameters after thawing with two pooled straws from each diluted sample of semen. Thus, considering that we had four bulls, 20 samples of ejaculate from each bull divided into four aliquots and diluted with different extender, we analyzed 160 straws per bull and extender, 640 straws altogether.

MENDELNET 2010

We assessed sperm motility subjectively using phase contrast microscopy set at a magnification of x200 (LP 3000, Arsenal®). Straws were thawed in water bath at a temperature of $39 \pm 1^\circ\text{C}$ for 45sec. and input to the preheated sterile tubes with the physiological solution. The motility values were detected in the beginning of the test and then after 30, 60, 90 and 120 minutes of the test duration in a Thermo-block FALC at a temperature of $38 \pm 1^\circ\text{C}$.

The dataset was analyzed by statistical program SAS STAT 8.0 – GLM (SAS, 2001).

RESULTS AND DISCUSSION

Results of heat test of sperm survival in separate extenders are shown on the table 1.

Tab 1. Results of heat test of sperm survival in separate extenders

Time [min.]	Andromed		Bioxcell		Triladyl		Optidyl		P
	$\mu+\alpha$	SE	$\mu+\alpha$	SE	$\mu+\alpha$	SE	$\mu+\alpha$	SE	
0	47,4	2,1	41,5	2,1	48,4	2,1	51,6	2,1	B – T *; B – O **
30	44,1	2	38,5	2	44,9	2	48,1	2	B – O ***
60	37,2	2	33,4	2	38,7	2	43	2	A – O *; B – O ***
90	30,3	1,9	26,5	1,9	32,6	1,9	36,3	1,9	A – O, B – T*; B – O***
120	23,3	1,9	18,9	1,9	25,5	1,9	31,4	1,9	B – T*; A – O**; B – O***

$P \leq 0,05$ * – 95 %; $P \leq 0,01$ ** – 99 %; $P \leq 0,001$ *** – 99,9 %

Higher activity of sperm after thawing (48.4-51.6%, $P < 0.05-0.001$) was detected in extenders with egg yolk than in extenders without egg yolk (41.5-47.4%). Sperm activity declined unevenly during the survival test. Sperm activity was significantly higher ($P < 0.05-0.001$) in egg yolk extenders (25.5-31.4%) compared to ones without egg yolk (18.9-23.3%) after 120 minutes of the survival test.

Significant differences in sperm survival among individual sires were determined. That is shown on the figures 1 - 4.

Fig. 1. Sperm survival of bull 1

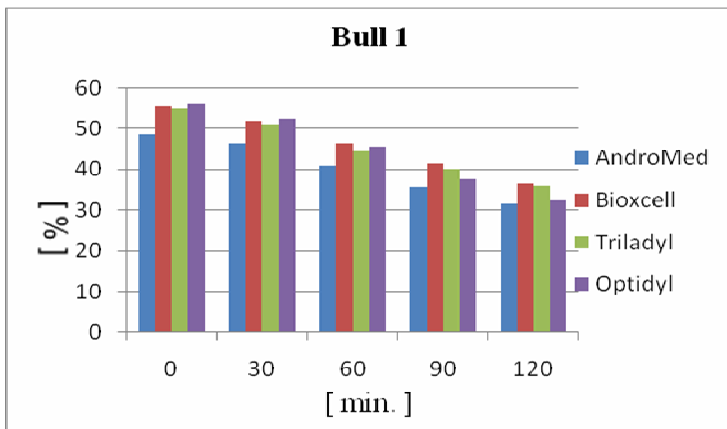


Fig. 2. Sperm survival of bull 2

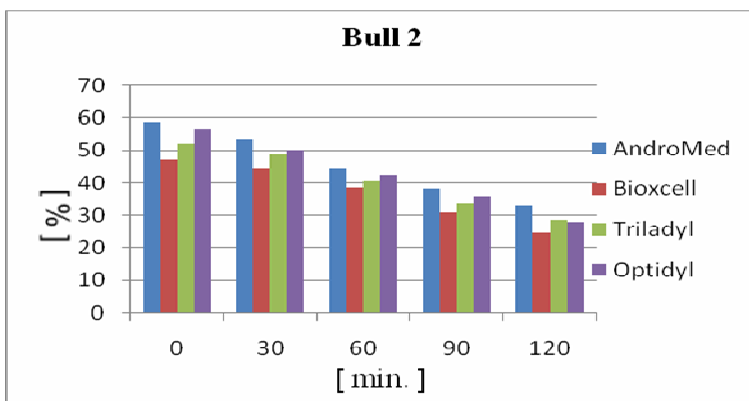


Fig. 3. Sperm survival of bull 3

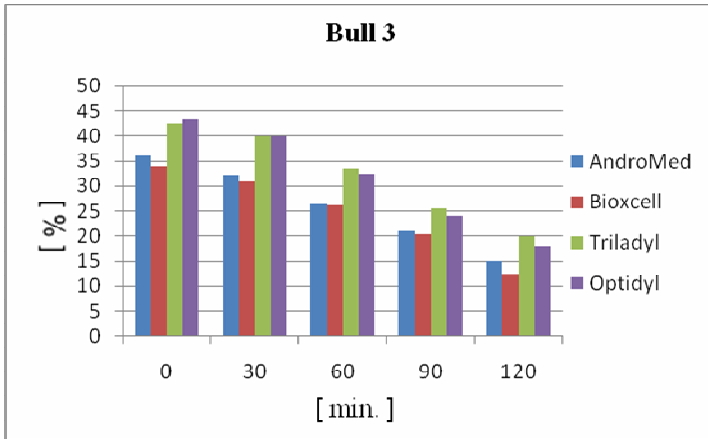
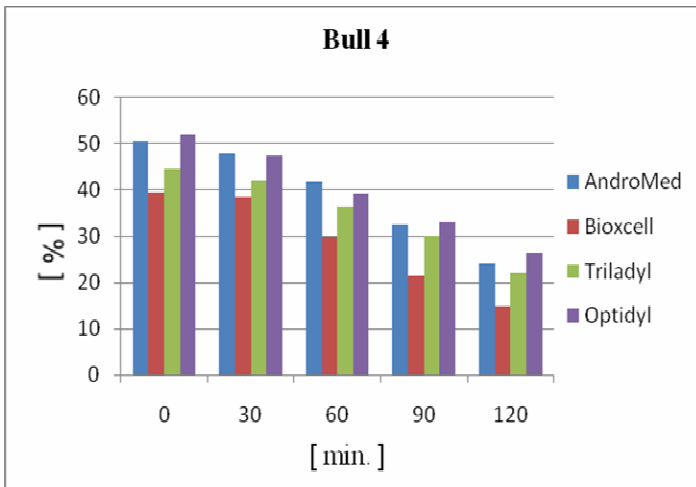


Fig. 4. Sperm survival of bull 4



MENDELNET 2010

Conclusions of MUINO et al. (2007), that egg yolk extenders have better cryoprotective effects and have reached better results than extenders without egg yolk, were confirmed. Conversely, the findings of JANNET et al. (2005), that AndroMed® is the best suited for long-term preservation of bull semen, did not confirm.

We can ask why the yolk extenders are still popular. The answer is LDL ("low-density lipoprotein"), component of egg yolk. The cryoprotective effect of LDL were found first by PACE and GRAHAM (1974). This results were confirmed by further works, such as AMIRAT et al., (2004). That facts were also cornfirm by our monitoring.

CONCLUSION

The quality of insemination doses have a major impact on the success pregnancy of cows, which are currently deteriorate. Farmers and agricultural scientists are looking for all ways to improve it. One possible way is improve the quality of insemination doses, which are distributed to farmers.

Our results indicate that the influence of used extender on selected indicators of quality of bull's insemination doses is considerable. To selection a suitable diluent is necessary give attention.

Cvurrently, the use of extenders based on egg yolk declines due to the risk of bacterial contamination. However, egg yolk still shows as the best cryoprotectivum for long-term preservation of bull semen. Based on our results, we can recomend the use of diluents based on egg yolk.

REFERENCES

- AMIRAT, L. – TAINTURIER, D. – JEANNEAU, L. – THORIN, C. – GÉRARD, O. – COURTENS, J. L. – ANTON, M. (2004). Bull semen in vitro fertility after cryopreservation using egg yolk LDL: a comparison with Optidyl®, a commercial egg yolk extender. *Theriogenology*, 61 (2004): 895 – 907.
- BOUSSEAU, S. – BRILLARD, J. P. – MARQUANT, B. – GUÉRIN, B. – CAMUS, A. – LECHAT, M. (1998). Comparison of bacteriological qualities of various egg yolk sources and the in vitro and in vivo fertilizing potential of bovine semen frozen in egg yolk or lecitin based diluents. *Theriogenology*, 50 (1998): 699 – 706.
- JANETT, F. – KEO, S. – BOLLWEIN, H. – HÄSSIG, M. – THUN, R. (2005). Comparison of AnfroMed®, Bioxcell® and Triladyl® extender for cryopreservation of bull semen. *Schweiz Arch. Tierheilk*, 147, 62.
- MUINO, R. – FERNANDEZ, M. – PENA, A. I. (2007). Post-thaw survival and longevity of bull spermatozoa frozen with an egg yolk-based or two egg yolk-free extenders after an equilibration period of 18 h. *Reprod. in Dom. Anim.*, 42 (3), JUN 2007: 305 – 311.
- PACE, M. M. – GRAHAM, E. F. (1974). Components in egg yolk which protect bovine spermatozoa during freezing. *Journal of Anim, Sci.*, 39 (1974): 1144 – 1149. In: AMIRAT et al.,

MENDELNET 2010

(2004). Bull semen in vitro fertility after cryopreservation using egg yolk LDL: a comparison with Optidyl®, a commercial egg yolk extender. *Theriogenology*, 61 (2004): 895 – 907.

THUN, R. – HURTADO, M. – JANETT, F. (2002). Comparison of Biociphos-Plus® and TRIS-egg yolk extender for cryopreservation of bull semen. *Theriogenology*, 57 (2002): 1087 – 1094.

IMPROVING OF AN *IN VITRO* METHOD TO ESTIMATE DEGRADATION RATE OF SMALL PARTICLES OF STARCH

Čermáková J.^{1,2}, Doležal P.¹, Kudrna V.²

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

²Institute of Animal Science, Přátelství 815, 104 00 Praha Uhřetěves, Czech Republic

E-mail: jana.cermakova@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this experiment was to improve the washing process during *in vitro* estimation of degradation rate of starch particles. The knowledge of degradation rate of starch particles in the rumen is needed to enhance micro-bacterial protein synthesis and energy supply for dairy cows. The washout of very small particles of starch (M-fraction) in the rumen prevents determination of its degradation rate *in situ*. However, it is possible to measure *in vitro* degradation rate of both a non-washable, potentially degradable fraction (D) and the M fraction.

Centrifugation appeared to be a faster, easier and more reliable method to collect the M fraction of various cereal grains compared to filtration. Medium test bags of 50 cm by 33.3 cm were found to be the most effective for collection of M and D fractions in maize, peas and barley. Results obtained with *in vitro* incubation with amyloglucosidase did not present satisfactory starch degradation curves. Further research will be conducted to improve this technique, or to replace it with an alternative method, such as *in vitro* incubation in rumen fluid.

Key words: starch, degradation, rumen, *in vitro*

Acknowledgments: This study was supported by the Institutional research plan MSM 6215648905 - Biological and technological aspects of sustainability of controlled ecosystems and their adaptability to climate change.

INTRODUCTION

Dairy cows receive most of the energy and protein from microbial fermentation and synthesis in the rumen. With increasing milk production of dairy cows starch has become an important component of dairy diets. Like the other carbohydrates, starch is in the rumen fermented by bacteria to volatile fatty acids with a relatively high proportion of propionic acid. However, part of the starch may escape from rumen fermentation and it is digested and absorbed as glucose in the small intestine with higher efficiency. Particularly for the cows in the early lactation, the diet may contain a higher content of slower degradable starch that prevents acidosis and increases the energy supply to the cow. The information about the extent and site of starch digestion is also important in order to balance energy and nitrogen supply for rumen bacteria to achieve optimal micro-bacterial protein synthesis.

The site and extent of starch degradation in digestive tract is calculated according to degradation rate (kd) and passage rate (kp) of starch fractions (Azarfar et al., 2007; Tamminga et al., 2007). There are three biological methods used to determine degradation rate of feed fractions: *in vivo* (in animals), *in situ* (in place), and *in vitro* (in glass).

A standard technique to estimate degradation rate of feed fractions is an *in situ* incubation of feed samples in small porous nylon bags in the rumen of rumen-fistulated cows. The main feed components such as starch can be sub-divided into following fractions: a washable fraction (W), a non-washable, but potentially degradable fraction (D), and a non-washable, but undegradable fraction (U). The W fraction is the part of feed which is washed away from nylon bags by hand-washing, or by washing in a washing machine. The D fraction and U fraction remain in the bags after washing, however the U fraction is not degradable by rumen microflora (Azarfar et al., 2007; Tamminga et al., 2007). The washable fraction consists of the soluble fraction (S) and of the fraction of small particles (M) which are not soluble in water, but are small enough to be washed away from the nylon bag. This fraction of small particles contains a considerable amount of starch (Reynolds et al., 2002; Tamminga et al., 2007). Although the *in situ* method is the most widely used technique to measure degradation kinetics of feed, it is not possible to determine degradation behaviour of the M fraction *in situ* since this fraction is in the rumen washed away from the nylon bag (Azarfar et al., 2007; Nocek and English, 1986). The rate of degradation and passage rate of this fraction can not be measured and hence these are included in feeding evaluation based on assumptions. It is important to determine degradation rate of the M fraction in order to predict the extent and site of starch degradation more precisely.

MENDELNET 2010

Small particles of the M fraction can be collected in water coming out from the washing machine after washing of test bags with feed samples. The M fractions can be then incubated *in vitro* to estimate degradation rate of small particles of starch, simulating the fermentation that occurs in the rumen (*in vivo*).

The aim of this experiment was to find the most suitable modification of the washing process to save labour and material cost, however by getting correct results. Further step was the *in vitro* incubation with enzymes to estimate degradation rate of washable, but not soluble (M) and non-washable, potentially degradable (D) starch fractions from various cereal grains.

MATERIAL AND METHOD**Experiment 1: Improving of the washing process*****Nylon bags***

Nylon bags (pore size 37) of three different sizes were used and filled with raw material according to Table 1. The big bag was reinforced by a plastic grid to avoid clustering of feed particles. Test bags filled with raw material were washed in the washing machine (Zanker EA 1000, 'wool program', cold water).

Table 1: Different sizes of nylon bags and amount of raw material in mg DM per cm²

Type of the bag	Size (cm)	Amount of raw material per bag (g)	DM (g)	Surface area (cm ²)	DM (mg/cm ²)
Big bag	50 x 100	200	174	10 000	17
Medium bag	50 x 33,3	67	58	3 330	18
Small bag	24 x 8	6	5	384	14

Raw material

Cereal grains (e.g. peas, maize, barley) and a liquid by-product (LRH47-3, content unknown) were used for this trial. Cereal grains were ground to pass a sieve of 3 mm. Dry matter (DM) content was determined after 4 h of drying in the oven at 103 °C.

Methods

Basically two different techniques to collect the M fraction after washing were used as follows:

- Filtration
- Centrifugation

Filtration

Filtration took place in a big bucket with inner diameter about 50 cm through two paper filters (double layer) of size 580 by 580 mm. Filters with filtrate were dried in the oven at 70 °C for 18 h. After drying and weighing the filtrate (M fraction) was collected.

Centrifugation

Water coming out from the washing machine after washing was collected and then centrifuged at 3500 g for 10 minutes. The volume of water used for washing was restricted to 20 L. Approximately 3–5 L of water was used to rinse washing machine after washing and this water was collected as well. After centrifugation the supernatant was pumped away and liquid fraction at the bottom with remaining small particles was centrifuged again in small tubes. Granules at the bottom after centrifugation (M fraction) were collected and dried in the oven at 70 °C until constant weight (about 24 h).

Calculations

The size of (D+U)-fraction was determined as a weight of raw material remaining in test bags after washing and drying. The size of M fraction was determined either as a weight of material remaining on filters, or as a weight of material obtained by centrifugation after drying. The size of W fraction was calculated as $W = 1 - (D + U)$.

Experiment 2: *In vitro* determination of degradation rate of M fraction and D fraction of starch in maize, barley and peas with enzymes**Principle**

The method is based on the *in vitro* incubation of D and M fractions of feed samples with amyloglucosidase hydrolysing starch to glucose. The amount of fermentable starch was measured as the amount of released glucose at time points 30, 60, 120, 180, 240, 300, 360 and 420 minutes. The formed glucose was determined by spectrophotometry with a glucose oxidase reagent. The amount of fermented starch was expressed as the proportion of the total amount of starch determined by enzymatic method.

RESULTS AND DISCUSSION***Effect of the size of nylon bags***

Various amount of raw material was weighed into the test bags of different sizes to achieve recommended DM:surface area ratio about 16 mg/cm² (see Table 1). After the first trial there was no significant difference in the percentage of material that remained in small, medium and big test bags after washing. While using medium size bags (50 x 33,3 cm) a labour time was reduced. The percentage of raw material that remained in test bags after washing is recorded in Tables 2a (peas), 2b and 2c (maize), and 2d (barley). The big bag was excluded after the first trial, because

MENDELNET 2010

preparation of the grid was laborious and also the size of the big bag was not suitable for laboratory equipments (e. g. balance, oven).

Filtration/ Centrifugation

In general, the filtration was the most difficult part of the process. Very fine particles were sticking on filters which depressed their permeability. The speed of filtration differed among used raw materials. In the case of maize the filtration took about 20 h, but filtration of washable fraction of barley took about 4 days and for the pea it was even 7 days. However, the pea was used for the first trial when approximately 400 g of raw material was washed, contrary to next trials when only about 200 g of raw material was washed within one particular trial. If the filtration took several days, the emergence of green and grey spots was observed due to the microbial, or fungal growth on filters. In order to increase speed of filtration the filtration under the vacuum was experienced with peas, but it was also slow procedure, a lot of filters would be needed and problem was how to collect the M fraction from so many small filters. Faster filtration was achieved while churning liquid either by hands, or by electronic mixer. But these improvements had only a pale effect on the speed of filtration. Additional problem was collection of the M fraction from filters after drying, because some particles were joined with a structure of the filter steadily.

Centrifugation was faster and collection of the M fraction was easier compared to filtration. Centrifugation about 23 - 25 L of washable fraction took about 180 min. (9x10 min. of centrifugation + 9x10 minutes for collection of the M fraction).

Table 3 shows percentages of feed fractions after washing procedure with filtration, or with centrifugation to compare its effects on the proportion of feed fractions obtained. In general, higher amount of M fraction was collected by washing process with centrifugation than by washing procedure with filtration. It is possible that some very small particles may pass through filters, but they can be collected by centrifugation. On the other hand, some small particles may be pumped away with supernatant after centrifugation. Since in the case of barley, and especially of peas filtration took several days, the reliability of results may be impacted. Moreover, the quantity and quality of obtained M fraction may be impaired due to the bacterial and fungal growth, which we observed on filters after prolonged filtration. Thus the maize is probably the most favourable raw material for data comparison, because filtration of washable fraction of this cereal did not last as long as filtration of peas and barley. Surprising is a difference in percentages of washable fraction obtained either by washing procedure with filtration, or by washing procedure with centrifugation. The same washing program ('wool program') was used for filtration and centrifugation. However the volume of water used for washing was different. For washing process followed by centrifugation the volume of water was restricted to 20 L in order to reduce time needed for centrifugation of washable fraction. Contrary to the expectation that washing in less water may gained smaller amount of washable fraction, the results showed larger proportion of washable fraction and lower proportion of (D + U)-fraction, especially in the case of maize when the size of washable fraction after centrifugation was almost by 25% greater than with filtration. However, in the case of barley percentages of washable fractions obtained were similar.

MENDELNET 2010

By the washing process with centrifugation it was possible to collect also M and D fractions of liquid by-product.

Table 2: Percentages of raw material remaining in test bags of different dimensions

Table 2a: Peas

Nylon bag number*	(D+U)-fraction (%)	Deviation from the mean (%)
B1	56,1%	-1,57%
184	62,2%	4,47%
932	54,8%	-2,91%
774	58,6%	0,91%
909	59,8%	2,06%
935	58,6%	0,93%
949	57,1%	-0,58%
M1	56,6%	-1,05%
M3	57,1%	-0,58%
M2	56,0%	-1,67%
Mean	57,7%	0,00%

Table 2b: Maize

Nylon bag number*	(D+U)-fraction (%)	Deviation from the mean (%)
M3	91,1%	3,60 %
M2	85,1%	-2,92%
M1	86,3%	-1,71%
949	86,5%	-1,51%
184	86,8%	-1,25%
774	86,4%	-1,59%
932	90,3%	2,80%
Mean	87,5%	0,00%

Table 2c: Maize

Nylon bag number*	(D+U)-fraction (%)	Deviation from the mean (%)
949	85,6%	-0,55%
184	86,7%	0,55%
774	86,3%	0,16%
932	84,9%	-1,16%
M3	86,4%	0,29%
M1	86,6%	0,52%
M2	86,3%	0,18%
Mean	86,1%	0,00%

Table 2d: Barley

Nylon bag number*	(D+U)-fraction (%)	Deviation from the mean (%)
M1	83,5%	-0,20%
M2	84,0%	0,37%
M3	84,6%	0,97%
949	83,5%	-0,12%
774	83,9%	0,19%
184	83,5%	-0,18%
932	82,6%	-1,02%
Mean	83,7%	0,00%

B1 - Big bag; M1, M2, M3 - Medium bags; 184, 932, 774, 909, 935, 949 - Small bags

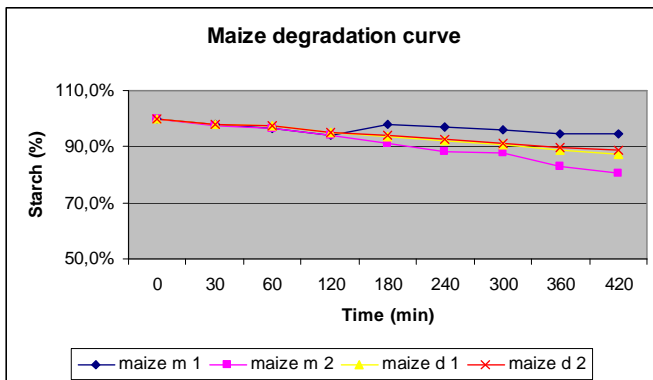
In vitro estimation of degradation rates of M and D fractions of starch in maize, barley and peas with enzymes

Only results of one run of *in vitro* incubation with amyloglucosidase are available for this report. Therefore the data obtained have more illustrative function and it is impossible to compare them. Temporary results show degradation curves of D and M fractions of maize (Figure 1), peas (Figure 2) and barley (Figure 3). Graph shows percentages of starch remaining at each time point (30, 60, 120, 180, 240, 300, 360 and 420 minutes). The degradation curves obtained show very slow degradation of starch fractions. Normally after 360 min of incubation the starch is almost completely degraded to glucose (Tománková a Homolka, 2004). In this trial even after 420 minutes of incubation there is still more than 80% of starch left. Probably a higher concentration of

MENDELNET 2010

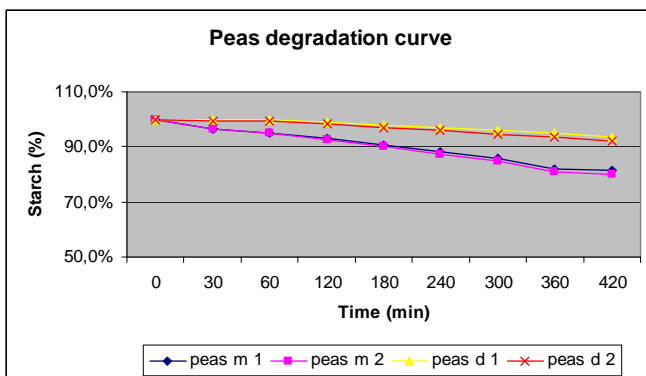
amylglucosidase should be used. There could also be an influence of the heat (70 °C) while drying the samples after the washing procedure. But higher temperatures promote starch gelatinization which in a fact should increase the rate of starch degradation to glucose (Hall, 2001; Holm et al., 1998). Degradation of the D fraction was slower than of the M fraction. One fraction of maize (m 1) showed abnormal degradation curve after 120 min of incubation and therefore only the degradation rate of m 2 fraction of maize should be used for further calculations.

Figure 1: Degradation curve of M and D fractions of maize



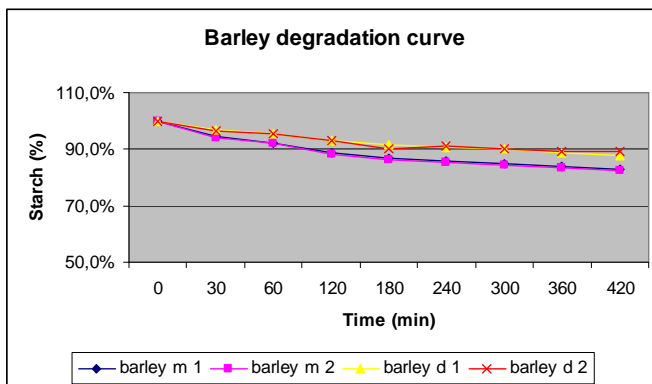
m 1, m 2 = M fractions; d 1, d 2 = D fractions

Figure 2: Degradation curve of M and D fractions of peas



m 1, m 2 = M fractions; d 1, d 2 = D fractions

Figure 3: Degradation curve of M and D fractions of barley



m 1, m 2 = M fractions; d 1, d 2 = D fractions

CONCLUSIONS

It can be concluded that medium test bags of the size 50 x 33.3 cm were suited the best for collection of M and D fractions of various cereal grains.

The partition of fractions gained by washing process with filtration, or with centrifugation is comparable, although there were some differences in percentages of W and M fractions obtained. However, centrifugation appeared to be faster and easier method to collect the M fraction of various cereal grains compared to filtration. In addition, if centrifugation was used, there is no concern about bacterial and fungal growth as it appeared on filters after prolonged filtration. Further examination of washing process should be conducted to confirm reliability of the method and to explain differences between sizes of fractions obtained after washing with filtration, or centrifugation. Also the influence of the volume of water used for washing should be considered in evaluation of washing method.

Results of the *in vitro* incubation with amyloglucosidase did not show satisfactory starch degradation curves. Further research will be conducted to improve this technique, or to replace it with an alternative method, such as *in vitro* incubation in rumen fluid.

REFERENCES

Aar P. J. van der, Veen W. A. G., Veldman A., Verstegen M. W. A., Weurding R. E (2001): In vitro starch digestion correlates well with rate and extent of starch digestion in broiler chickens. *Journal of Nutrition.*, 131: 2336–2342.

Azarfar A. (2007): Fractions of Ruminant Feeds: kinetics of degradation in vitro. Doctoral thesis, Wageningen University, the Netherlands.

Azarfar A., Tamminga S., Boer H. (2007): Effects of washing procedure, particle size and dilution on the distribution between non-washable, insoluble washable and soluble washable fractions in concentrate ingredients. *J. Sci. Food Agric.*, 87: 2390-2398.

Galyean M. L., Wagner D. G., Owens F. N. (1981): Dry Matter and starch disappearance of corn and sorghum as influenced by particle size and processing. *J. Dairy Sci.*, 64: 1804-1812.

Hall M. B. (2001): Factors affecting starch analysis of feeds [online]. [Read 05-10-2010]. <http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/AN/AN10200.pdf>

Holm J., Lundquist I., Bjorck I., Eliasson A. C., Asp N.G. (1998): Degree of starch gelatinization, digestion rate of starch in vitro, and metabolic response in rats. *American Journal of Clinical Nutrition*, 47: 1010-1016.

Kotarski S. F., Waniska R. D., Thum K. K. (1992): Starch hydrolysis by the ruminal microflora. *Journal of Nutrition*, 122: 178-190.

Nocek J. E., English J. E. (1986): In situ degradation kinetics: evaluation of rate determination procedure. *J. Dairy Sci.*, 69: 77-87.

Offner A., Sauvant D. (2004): Prediction of in vitro starch digestion in cattle from in situ data. *Animal Feed Science and Technology*, 111: 41–56.

Offner A., Bachb A., Sauvant D. (2003): Quantitative review of in situ starch degradation in the rumen. *Animal Feed Science and Technology*, 106: 81–93.

H. F. Osman H. F., Theurer B., Hale W. H., Mehen S. M. (1970): Influence of grain processing on in vitro enzymatic starch digestion of barley and sorghum grain. *J. Nutrition*, 100: 1133-1140.

Reynolds C. K., Sutton J. D., Beaver D. E. (2002): Effects of feeding starch to dairy cattle on nutrient availability and production. *Recent developments in ruminant nutrition 4*. Ed. Garnsworthy, P. C, Wiseman. 1st ed. Nottingham: Nottingham University Press, p.163-190.

Siciliano-Jones J. (2002): Using digestibility values in ration formulation [online]. [Read 13-04-2008]. http://www.milkproduction.com/Library/Articles/Using_digestibility_values_in_ration_formulation.htm

MENDELNET 2010

Sveinbjörnsson J. (2006): Substrate levels, carbohydrate degradation rate and their effects on ruminal end-product formation. Doctoral thesis, Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala.

Sveinbjörnsson J., Murphy M., Udénc P. (2007): In vitro evaluation of starch degradation from feeds with or without various heat treatments. *Animal feed science and technology*, 132(3): 171-185.

Tamminga S., Brandsma G. G., Dijkstra J., Duinkerken G. van, Vuuren A. M. van (2007): Protein evaluation for ruminants: the DVE/OEB 2007 system. CVB-Documentation Report nr. 53.

Tománková O., Homolka P. (2004): In vitro ruminal degradability of cereal grain starch. *Czech J. Anim. Sci.* 49(4): 151–155.

Zwieten J. T. van, Vuuren A. M. van, Dijkstra J. (2008): Effect of nylon bag and protozoa on in vitro corn starch disappearance. *J. Dairy Sci.*, 91: 1133 – 1139.

THE EFFECT OF DIETS WITH NUPRO[®] (FUNCTIONAL PROTEIN FROM YEAST) ON INITIAL REARING OF LARVAL TENCH (*TINCA TINCA* L.)

Cileček M., Gulas J., Brabec T., Mareš J.

Department of Fishery and Hydrobiology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: cilecek@seznam.cz

ABSTRACT

The possibility of NuPro[®] use as source of proteins in diets for larvae tench was tested in 24 days feed experiment. The experiment was performed in the experimental recirculation system on Mendel University in Brno. The aim of the experiment was to test experimental diets with different content of NuPro[®] (0% - NuPro 0, 10% - NuPro 10 and 20% - NuPro 20). Feeding mixtures with NuPro were compared with commercially produced starter Perla Larva Proactive 6.0. Nauplii of Artemia (*Artemia salina*) were used as a control diet (positive control). Negative (unfed) control was used in experiment too. Each of treatment had three replications.

Main monitored indices were survival rate (S, %), individual body weight (IBW, mg), total body length (TL, mm) and specific growth rate (SWGR and SLGR, %·d⁻¹).

Good level of survival (93.55 to 93.77%) was achieved in all the variants identified as NuPro. NuPro[®] as alternative source of functional protein didn't display improvement in growth of tench larvae. With commercially starter Perla was achieved better growth parameters (IBW – 20.19 mg, TL – 12.75 mm, SWGR – 16.34%·d⁻¹ and 4.05%·d⁻¹) than with experimental diets. With nauplii of artemia was achieved highest growth rate (IBW – 118.22 mg, TL – 20.62 mm, SWGR – 23.70%·d⁻¹ and 6.07%·d⁻¹).

Key words: tench larvae, NuPro, feeding experiment

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

Lín obecný (*Tinca tinca* L.) je tradiční rybou chovanou v rybnících střední a východní Evropy. Dle statistik FAO (2010) produkce lína v České republice má od roku 1997 klesající trend, v roce 1997 produkce dosáhla 393 tun a v roce 2008 již jen 284 tun. V současnosti je reprodukce lína prováděna převážně umělým výtěrem. Následný tradiční způsob chovu lína v rybnících nepřináší uspokojivé výsledky především v důsledku vysoké mortality raných stádií a pomalého růstu (Steffens, 1995, Jirásek a Mareš, 2005). Jednou z možností zefektivnění produkce lína je odchov raných stádií v kontrolovaných podmínkách, kde vysokého přežití a uspokojivého růstu lze dosáhnout při použití nutričně vyvážené diety s použitím správné strategie krmení (Jirásek a Mareš, 2001). První zkušenosti s odchovem raných stádií lína v kontrolovaných podmínkách získali Wolnickí a Korwin-Kossakowski (1993), Kamler a kol. (1995), Wolnickí a Gorny (1995). Vysokého přežití a nejrychlejšího růstu larev lína v kontrolovaných podmínkách lze dosáhnout s použitím živé potravy (Wolnickí a Korwin-Kossakowski, 1993), vysokého přežití s uspokojivým růstem lze dosáhnout při správné strategii krmení s vybranými komerčně vyráběnými startérovými dietami (Dousek, 2008). Nejvýznamnějším komponentem startérových diet je rybí moučka, ale v současné době, jak z důvodů ekologických tak i ekonomických, je tlak na snížení použití rybí moučky v krmivech. Jedním z perspektivních alternativních zdrojů proteinu za rybí moučku je syntetická kvasničná bílkovina. Náhradou tradičních bílkovinných komponentů kvasnicemi v krmných směsích pro kapra se už zabývala Párová (1979). Další možností je použití kvasinkového extraktu, který je definován jako látka typu peptonu získaná autolýzou nebo plazmolýzou z kvasinek. Kvasinkový extrakt je směs aminokyselin a peptidů, sacharidů a vitamínů rozpustných ve vodě (Tvrdoň a Bálašová, 1995). Využití kvasinkového extraktu u ryb je stále ve stádiu výzkumu, kvasinkový extrakt NuPro[®] americké firmy Alltech byl experimentálně testován jen u vybraných druhů ryb. U lína obecného ještě nebyl testován (Fegan, 2005).

Cílem experimentu bylo zhodnotit možnost využití přípravku NuPro[®] (funkční protein vyrobený z kvasinek zpracovaný patentovým procesem společnosti Alltech) při počátečním odchovu raných stádií lína obecného v kontrolovaných podmínkách.

MATERIÁL A METODIKA

Experiment probíhal na experimentálním recirkulačním zařízení Oddělení rybářství a hydrobiologie MENDELU v Brně. Larvy lína obecného byly získány umělým výtěrem na rybí líhni VÚRH ve Vodňanech, v experimentu byly použity líni táborské linie. Váčekový plůdek byl 4 dny po vykulení převezen na Oddělení rybářství a hydrobiologie a nasazen do 9 litrových průtočných akvárií v hustotě 50 ks/l. Pokus začal pátý den po vykulení larev, kdy průměrná individuální kusová

MENDELNET 2010

hmotnost (IBW \pm SD) byla $0,40 \pm 0,11$ mg a průměrná celková délka (TL \pm SD) byla $4,8 \pm 0,15$ mm.

Experiment probíhal v délce 24 dní (D0 – D24) na recirkulačním systému vybaveným biologickým filtrem. Devítilitrová průtočná akvária byla kontinuálně doplňována filtrovanou, provzdušněnou a ohřátou vodou. Teplota vody se v průběhu experimentu pohybovala v rozmezí 24 – 26,4°C, nasycení vody kyslíkem neklesalo pod 75 % a hodnoty pH se pohybovaly v rozpětí 7,01 – 8,05. Teplota, nasycení kyslíkem a pH vody bylo měřeno třikrát denně.

V experimentu byla ověřována možnost použití experimentálních prestartérů s komerčně vyráběným přípravkem NuPro[®] americké firmy Alltech. Experimentální prestartéry byly vyrobeny na Oddělení rybářství a hydrobiologie, jejich složení je uvedeno v tabulce č. 1. Experimentální diety byly porovnávány s komerčně vyráběným starterem Perla Larva Proactive 6.0 holandské firmy Nutreco. Jako pozitivní kontrola byla použita naupliová stádia artémií (*Artemia salina*). Experiment byl doplněn negativní kontrolou, tedy skupinou nekrmených ryb. Celkem bylo v experimentu sedm krmných variant, krmné diagramy s jednotlivými krmnými variantami jsou uvedeny v tabulce č. 2 a č. 3.

Tabulka č. 1. Složení experimentálních prestartérů „NuPro“ (v % čerstvé hmoty)

Ingredient/Označení	NuPro 0	NuPro 10	NuPro 20
Hovězí játra	35	35	35
Pivovarské kvasnice	25	15	5
NuPro	0	10	20
Vitex	10	10	10
Hydrolyzát rybí moučky	18	18	18
Lecitin	7	7	7
Premix	5	5	5

Krmivo bylo aplikováno ručně ve dvou hodinových intervalech v průběhu světelné části dne, tj. v osmi dávkách. Světelný režim byl nastaven na 16 h světla a 8 h bez osvětlení. Denní krmná dávka byla stanovena u živé potravy na počáteční úrovni 250 % hmotnosti ryb s její postupnou úpravou, u suchých krmiv pak 35 %. Po celou dobu odchovu byl dodržován hmotnostní poměr mezi živou potravou a suchou směsí v poměru 6:1. Počáteční velikost krmných částic směsí byla menší než 0,125 mm. Technika převodu ze živé potravy na suchou směs, či z prestartéru na startér byla

MENDELNET 2010

realizována pomocí metody co-feeding (v průběhu denního krmení byla postupná náhrada živé potravy suchou směsí, respektive náhrada prestartéru startérem).

Ve čtyřdenních intervalech byly z jednotlivých nádrží odebrány vzorky vždy 30 ks ryb pro zjištění aktuální hmotnosti a následně byly ryby fixovány ve 4 % roztoku formaldehydu pro další následné stanovení délko-hmotnostních parametrů. Počty uhynulých ryb byly zjišťovány dvakrát denně, hydrochemické parametry pak třikrát denně. Hlavními sledovanými ukazateli experimentu byly prosté přežití (S, %), individuální hmotnost těla (IBW, mg), celková délka těla (TL, %) a specifická rychlost růstu SWGR a SLGR (%.d⁻¹).

Tabulka č. 2. Krmný diagram experimentu D0 – D11

	D0	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11
1	Artémie											
2	Artémie			NuPro 20			NuPro 20			NuPro 20		
				5/1	4/2	3/3	3/3	2/4	1/5			
3	NuPro 20			NuPro 20								
	5/1	3/3	1/5									
4	NuPro 20			NuPro 20			NuPro 20					
	5/1	4/2	3/3	3/3	2/4	1/5						
5	NuPro10			NuPro10			NuPro 10					
	5/1	4/2	3/3	3/3	2/4	1/5						
6	Nupro 0			Nupro 0			NuPro 0					
	5/1	4/2	3/3	3/3	2/4	1/5						
7	Artémie			Art/Perla			Art/Perla			Perla		
				5/1	4/2	3/3	3/3	2/4	1/5			
8	Negativní kontrola											

Tabulka č. 3. Krmný diagram experimentu D12 – D24

	D12	D13	D14	D15	D16	D17	D18	D19	D20	D21	D22	D23	D24
1	Artémie												
2	NuPro 20				NuPro 20/Perla			Perla					
					5/1	3/3	1/5						
3	Artemie												
4	NuPro 20				NuPro 20/Perla			Perla					
					5/1	3/3	1/5						
5	NuPro 10				NuPro 10/Perla			Perla					
					5/1	3/3	1/5						
6	NuPro 0				NuPro 0/Perla			Perla					
					5/1	3/3	1/5						
7	Perla												

VÝSLEDKY A DISKuze

Výsledky krmných testů jsou hodnoceny dle úrovně přežití, dosažené hmotnosti a velikosti ryb. V kontrolovaných podmínkách z dosud prezentovaných výsledků bylo dosaženo vysokého přežití a vysokého růstu při použití výhradně živé potravy (Wolnicki a Gorny, 1994, Wolnicki a Gorny, 1995, Quirós a Alvariño, 2000).

Hodnoty sledovaného prostého přežití (S) se na konci našeho experimentu v D24 pohybovaly v rozmezí 65,33 – 93,77 %. Vysokého přežití nad 90% bylo dosaženo ve variantě č. 1, kde ryby byly ryby výhradně krmeny živou potravou a ve variantách 4, 5, a 6, kde ryby byly krmeny experimentálními prestartéry označenými NuPro s šestidenním co-feedingem. Nejnižšího přežití (65,33 %) bylo dosaženo ve variantě č. 3, kde ryby byly krmeny prestartérem NuPro 20 jen s třídním co-feedingem. Hodnoty přežití v našem experimentu potvrdily zkušenosti řady autorů, že počáteční odchov lína v kontrolovaných podmínkách je při omezení aplikace živé potravy velmi obtížný (Wolnicki a Korwin-Kossakowski, 1993, Cileček, 2007). Nízkého přežití (79,56 %) bylo dosaženo i ve variantě č. 7 s použitím metody co-feeding živá potrava s komerčně vyráběným startérem Perla, u této varianty se od D18 zvýšila mortalita. Důvod zvýšení mortality nebyl zjištěn. Nekrmená negativní kontrola byla ukončena v devátý den pokusu z důvodů vysoké mortality larev.

Po ukončení experimentu se individuální průměrná kusová hmotnost v jednotlivých variantách pohybovala v rozmezí 9,13 – 118,22 mg. Nejvyšší hodnoty IBW (118,22 bylo dosaženo ve variantě č. 1, kde ryby byly krmeny výhradně živou potravou, tato varianta se vysoce průkazně lišila od ostatních variant. Ve variantách č. 4, 5 a 6 s rozdílným obsahem přípravku NuPro[®], jsme zjistili IBW v rozmezí 9,13 – 9,16 mg, tyto varianty se mezi sebou průkazně nelišily, to znamená, že rozdílný obsah přípravku NuPro[®] v experimentální směsi nemá vliv na růstové parametry larev lína při počátečním odchovu. Ve variantě č. 3, která byla od 13 dne experimentu krmená výhradně živou potravou, byla hodnota IBW na konci experimentu 25,38 mg. U varianty č. 7, kde byla použita komerční směs Perla po šestidenním co-feedingu, jsme dosáhly IBW 20,19 mg. Při srovnání varianty č. 2 (IBW – 18,86) a č. 7 (IBW – 20,19), v kterých měly larvy stejnou dobu dostupnosti živé potravy, jsme zjistily, že vliv experimentálního prestartéru neměl pozitivní vliv na růstové parametry larev lína. Hodnoty celkové délky těla měly podobný trend jako IBW.

Specifická rychlost hmotnostního růstu SWGR za celé sledované období dosáhla hodnot v rozmezí 13,03 – 23,70 %·d⁻¹. Nejvyšší rychlosti růstu bylo dosaženo u var. č. 1, která byla krmena výhradně živou potravou. Vysoké rychlosti růstu bylo dosaženo také u var. č. 3, kde ale tato rychlost byla ovlivněna, že zde ryby byly krmeny od 13 dne výhradně živou potravou a projevil se u nich kompenzační růst. Během kompenzačního růstu v období D12 – D24 dosáhly ryby SWGR hodnot 22,16 %·d⁻¹. U experimentálních prestartéru bylo dosaženo u SWGR hodnot v rozmezí 13,03 – 13,25 %·d⁻¹. U varianty č. 7 s komerční směsí Perla bylo u SWGR dosaženo hodnoty 16,34 %·d⁻¹, u varianty č. 2 se stejnou dobou dostupnosti živé potravy bylo dosaženo u SWGR hodnoty 16,06 %·d⁻¹. Sledované hodnoty specifické rychlosti růstu měly obdobný charakter jako hodnoty specifické rychlosti hmotnostního růstu.

Hodnoty sledovaných ukazatelů jsou shrnuty v tabulce č. 4.

Námi zjištěné údaje se shodují se závěry řady autorů, že zvýšení délky doby dostupnosti živé potravy ovlivňuje růst, ale už neovlivňuje přežití. V našem experimentu použití experimentálních prestartérů na bázi přípravku NuPro[®] pozitivně neovlivnilo růst larev lína, vyššího růstu bylo dosaženo, kde ryby byly krmeny komerčně vyráběnou směsí Perla. Cileček (2007) dosáhl s komerčně vyráběnou směsí Karpico obdobných výsledků při stejné strategii krmení jak u varianty č. 7, v D21 dosáhl průměrné individuální hmotnosti 10,36 mg a celkové délky 10,13 mm s přežitím 99,18 %. Uspokojivých výsledku se směsí Perla dosáhl také Dousek (2008), hodnoty sledovaných parametrů v D21 byly IBW – 19,87 mg, TL – 12,24 mm a S – 90,00 %.

Tabulka č. 4. Tabulka sledovaných parametrů za období D0 – D24 ($M \pm SD$)

Varianta	TL (mm)	IBW (mg)	SWGR (%.d ⁻¹)	SLGR (%.d ⁻¹)	S (%)
1.	20,62 ± 2,12	118,22 ± 39,12	23,70	6,07	93,55
2.	11,89 ± 0,81	18,86 ± 4,72	16,06	3,78	89,11
3.	12,92 ± 0,94	25,38 ± 6,14	17,29	4,13	65,33
4.	10,09 ± 0,70	9,61 ± 2,54	13,25	3,10	93,77
5.	10,12 ± 0,75	9,56 ± 2,74	13,22	3,11	93,77
6.	10,07 ± 0,65	9,13 ± 2,37	13,03	3,09	93,55
7.	12,70 ± 0,78	20,19 ± 5,48	16,34	4,05	79,56

ZÁVĚR

Výsledky získané v našem experimentu byly získané na Oddělení rybářství a hydrobiologie MENDELU v Brně. Cílem experimentu bylo ověřit možnost využití komerčního přípravku NuPro[®] při počátečním odchovu raných stádií lína obecného v kontrolovaných podmínkách. V experimentu byly testovány tři experimentální směsi s označením NuPro 0, NuPro 10 a NuPro 20 a komerční směs Perla Larva Proactive 6.0. Z testovaných experimentálních směsí se žádná výrazně neprojevila ve vyšším růstu larev lína. Ve srovnání s komerční směsí Perla, jsme zjistily, že komerční směs dosáhla vyšších růstových parametrů při stejné strategii krmení, než experimentální směs NuPro 20. Při porovnání směsí NuPro 0, NuPro 10 a NuPro 20 jsme zjistily, že rozdílný obsah komerčního přípravku NuPro[®] nemá žádný vliv na rychlost růstu. Můžeme konstatovat, že experimentální směsi dosáhly v hodnotách růstových parametrů nižších hodnot, než komerční směs Perla.

V současné době není na trhu vhodná startérová směs pro raná stadia lína, která by zajišťovala dostatečný růst s vysokým přežitím, díky této skutečnosti je vhodné doporučit ve výzkumu počátečního odchovu raných stádií lína obecného pokračovat.

LITERATURA

- Cileček M. (2007): Počáteční odchov plůdku lína obecného (*Tinca tinca* L.) v kontrolovaných podmínkách. Diplomová práce MZLU v Brně, 61s.
- Dousek O. (2008): Odchov raných stádií lína obecného (*Tinca tinca* L.) při použití různé strategie výživy. Diplomová práce MZLU v Brně, 108s.
- FAO (2008): Fisheries and Aquaculture Information and Statistics Service. Available via. http://www.fao.org/figis/servlet/SQServlet?file=/usr/local/tomcat/FI/5.5.23/figis/webapps/figis/tem p/hqp_50409.xml&outtype=htm. Accessed 2 October 2010.
- Fegan D. F. (2005): Functional foods for aquaculture: benefits of NuPro[®] and dietary nucleotides in aquaculture feeds. Alltech Inc., Bangkok, Thailand, 419 – 432.
- Jirásek J., Mareš J. (2001): Výživa a krmení raných vývojových stádií kaprovitých ryb II. Bulletin VÚRH Vodňany, 2: 60-75.
- Jirásek J., Mareš J. (2005): Technologické a nutriční aspekty chovu lína obecného C. Bulletin VÚRH Vodňany. 41 (1): 32-43.
- Kamler E., Szlamińska M., Hamáčková J., Kouřil J., Vachta R., Stibranyiová I., Asenjo C. M. (1995): Growth and metabolism during development of tench (*Tinca tinca*) embryos and larvae at 22°C. Pol. Arch. Hydrobiol., 42: 97-108.
- Párová J. (1979): Vzájemné srovnání účinku etanolových a sulfitových kvasnic v krmné směsi pro kapra, část I: Vliv etanolových a sulfitových kvasnic na produkci, vyživenost a složení kapřího těla a mortalitu ryb. Bulletin VÚRH Vodňany, 3: 3-8.
- Quirós M., Alvarinho J. M. R. (2000): Growth and survival of tench larvae fed under different feeding strategies. J. Appl. Ichthyol. 16: 32-35.
- Steffens W. (1995): The tench (*Tinca tinca* L.) a neglected pond fish species. Pol. Arch. Hydrobiol., 42: 161-180.
- Tvrdoň M., Bálašová B. (1990): Kvasná mikrobiológia II. vydanie. Alfa Bratislava, 184s.
- Wolnicki J., Korwin-Kossakowski M. (1993): Survival and growth of larval and juvenile tench, *Tinca tinca* L., fed different diets under controlled conditions. Aquacult. Fish Man., 24: 707-713.
- Wolnicki J., Gorny W. (1994): Effect of duration of daily feeding with a dry feed on the growth rate of tench larvae. Kom. Ryb., 6: 9-10.
- Wolnicki J., Gorny W. (1995): Suitability of two commercial dry diets for intensive rearing of larval tench under controlled conditions. Aquaculture, 129: 256-258.

THE EFFECT OF AGE ON DOG SEMEN QUALITATIVE PARAMETERS

Doležalík R., Vágenknechtová M., Hošek M., Máchal L.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xdoleze8@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of the study was establish suitable age for male dog reproduction. From ten dogs were totally collected thirty ejaculates and was evaluated on: semen volume, sperm motility, concentration and pathomorphology. In first group (V1) were young dogs to 30 month, in second group (V2) were dogs from 36 to 60 month of age.

The effect of dog age on semen volume and sperm concentration was not observed. Significant differences ($P \leq 0.05$) was in sperm motility between group V1 (74.60%) and group V2 (65.00%) and in pathomorphological normal and abnormal sperms too. In both group of pathomorphology changes on sperm tails and degenerative sperms were observed significant differences ($P \leq 0.01$).

The results shows, that older dogs have lower all evaluated qualitative parameters of their ejaculates. For successful dog reproduction is better use younger dogs or their ejaculates.

Key words: dog semen, qualitative parameters, age of dog

Acknowledgments: work was supported by IGA IP 18/2010

ÚVOD

V ČR je chováno asi 3 mil. psů velkého počtu plemen. Jedním ze základních předpokladů úspěšné chovatelské práce je zvládnutí reprodukce psů. Nedílnou součástí reprodukce je produkce kvalitního ejakulátu. Tím je vyvolán zájem o kvalitativní vyšetření psů – samců z hlediska jejich fertility pro významnou frekvenci subfertilních jedinců (VĚŽNÍK et al., 2004). GUNAY et al., (2003) odebírali spermatickou frakci ejakulátu od sedmi německých ovčáků, jednou týdně dva odběry v rozmezí 60 minut po pět týdnů. Mezi prvním a druhým ejakulátem byl průkazný rozdíl v objemu a v koncentraci spermií, nikoliv v aktivitě, počtu živých spermií a morfologických změnách. Obdobně ENGLAND (1999). Zjistil hodnoty jako předešlí autoři, ačkoli byl patrný vliv plemene, kdy NO produkovali větší objem a celkový počet spermií. Dále hodnotil kvalitu ejakulátu psů. Nejistil rozdíly v kvalitě ejakulátů odebraných hodinu po sobě a konstatuje, že lze touto cestou získat až o 70 % více spermií, než pouze z jednoho odběru.

SCHAFER et al., (1997) odebírali ejakulát od bíglů dvakrát týdně šest měsíců. Ve sledovaném období nedošlo ke změně libida ani ke změnám sledovaných parametrů ejakulátu, ale docházelo ke změně objemu spermatické frakce - mírně klesala od ledna do června z 1,2 po 0,5ml.

GAMČÍK et al., (1992) uvádí že minimální pohyblivost spermií v ejakulátu určenému pro další využití nesmí klesnout pod 70 % a počet morfologicky změněných spermií nemá přesáhnout hranici 20 %. VĚŽNÍK et al., (2004) udává jako dostačující pro další využití spermatu v reprodukci 70 % morfologicky zdravých spermií v ejakulátu.

Z těchto důvodů je třeba začlenit do chovatelských programů kontrolu úrovně funkce pohlavních orgánů psa (VĚŽNÍK et al., 2004).

MATERIÁL A METODIKA

Ejakuláty byly získávány od 10 psů osmi plemen (australský ovčák, anglický setr, malinois, německý ovčák, německý krátkosrstý ohař, pudl, špic a tervueren) metodou manuální stimulace.

Psi byli rozděleni podle věku do dvou skupin. V první skupině V1 byli čtyři psi do 30 měsíců věku, ve druhé skupině V2 bylo šest psů od 36 do 60 měsíců věku. Celkem bylo odebráno 30 ejakulátů.

Bezprostředně po odběru byl stanoven objem ejakulátu, jeho barva, aktivita a koncentrace spermií. Objem byl zjištěn pomocí kalibrační nádoby. Aktivita spermií byla zjištěna subjektivní metodou a koncentrace spermií hemocytometrickou metodou.

Dále bylo provedeno morfologické vyšetření z nátěrů ejakulátů. Barvení bylo provedeno metodou dle Farellyho (VĚŽNÍK et al. 2004).

Statistické hodnocení bylo provedeno prostřednictvím analýzy variance. Hodnoceny byly vliv frekvence odběru. Sledované znaky byly vyjádřeny váženým průměrem a směrodatnou odchylkou.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Prvním hodnoceným znakem byl objem spermatu, který byl 8,7 ml. Rozdíl mezi sledovanými skupinami byl pouze 0,2 ml a tedy byl statisticky neprůkazný. GAMČÍK et al. (1992) uvádí jako průměrný objem 7ml, naše sledování potvrzuje tuto hodnotu, novější autoři uvádějí průměrný objem mezi 2 – 4 ml, u námi sledovaných ejakulátů byly zjištěny hodnoty dvojnásobné.

Z odebraných ejakulátů byla stanovená koncentrace spermií, kde průměrná koncentrace byla $143,6 \cdot 10^3 \text{ mm}^{-3}$ neprůkazně vyšší koncentraci měla skupina V2 (starší psi) $151,8 \cdot 10^3 \text{ mm}^{-3}$, skupina V1 naproti tomu měla koncentraci spermií $131,3 \cdot 10^3 \text{ mm}^{-3}$. VEŽNÍK et al. (2004) uvádí jako minimální koncentraci psího spermatu $200 \cdot 10^3 \text{ mm}^{-3}$, tedy námi zjištěná hodnota je podprůměrná, ale při srovnání s jinými autory např. JELÍNEK et al. (2003) nebo GAMČÍK et al. (1992) uvádějí jako dostačující koncentraci $120 \cdot 10^3 \text{ mm}^{-3}$ respektive $50 \cdot 10^3 \text{ mm}^{-3}$ a tedy námi zjištěná průměrná koncentrace spermií je normální.

Dalším sledovaným znakem byla aktivita spermií, zde byla zjištěna průměrná aktivita spermií 68,8 %. Mezi oběma skupinami byl zjištěn průkazný rozdíl, když skupina V1 (mladší psi) měli aktivitu spermií 74,6 % a skupina V2 pouze 65,0 %. VEŽNÍK et al. (2004) uvádí jako přijatelnou aktivitu spermií 70 %, tento požadavek splňovala skupina mladších psů.

Při morfologickém vyšetření bylo zjištěno, že normální morfologii vykazuje průměrně 64,3 % spermií. I zde dopadla lépe skupina mladších psů, kdy tato skupina měla v průměru 70 % normálních spermií. Skupina starších psů měla pouze 60,4 % morfologicky normálních spermií. GAMČÍK et al. (1977) uvádí, že zdravé sperma musí vykazovat max. 20 % morfologicky změněných spermií. Tento požadavek nesplnila ani jedna námi sledovaná skupina, VEŽNÍK et al. (2004) uvádí hranici 70 % morfologicky zdravých spermií – tuto hranici dosahovala skupina mladších psů.

Nejčastější zjištěnou vadou byly vady bičku a to v průměru u 15,5 % spermií. Zde byl vysoce průkazný rozdíl mezi skupinami, kdy mladší skupina tuto vadu vykazovala pouze u 9,9 % spermií, skupina starších psů u 19,3%.

Vysoce průkazný rozdíl mezi sledovanými věkovými skupinami psů byl také nalezen u degenerovaných spermií v ejakulátu. Skupina mladších psů měla v průměru 0,6% degenerovaných spermií v ejakulátu. Skupina starších psů měla 1,5% spermií degenerativně změněných.

Ostatní sledované morfologické znaky, nezralé spermie, vady na spojovací části a vady na akrosomu, nevykazovaly podstatný rozdíl mezi sledovanými skupinami a v průměru činily u obou skupin 10,7% spermií v ejakulátu.

Z provedeného sledování vyplývá, že kvalitnější sperma produkují psi do dvou a půl let, proti psům tři až pětiletým.

Tabulka 1: Vliv frekvence odběru na sledované parametry ejakulátu u psů

Faktor	n	Objem ejakulátu (ml)			Aktivita spermií (%)			Koncentrace spermií (10 ³ ·mm ⁻³)			Morfologicky normální spermie (%)			Morfologicky změněné spermie (%)			
		\bar{X}	±	s _x	\bar{X}	±	s _x	\bar{X}	±	s _x	\bar{X}	±	s _x	\bar{X}	±	s _x	
celkem	30	8,7	±	6,8	68,8	±	19,8	143,6	±	106,0	64,3	±	18,2	35,7	±	18,2	
skupina	V1	12	8,8	±	5,0	74,6 ^a	±	9,4	131,3	±	89,6	70,0 ^a	±	11,8	30,0 ^a	±	11,8
	V2	18	8,5	±	7,8	65,0 ^a	±	23,8	151,8	±	113,9	60,4 ^a	±	20,7	39,6 ^a	±	20,7
Faktor	n	Změny na hlavičce (%)			Změny na bičíku (%)			Degenerované spermie (%)			Ostatní morfologické změny (nezralé spermie, akrozom, spojovací část) (%)						
		\bar{X}	±	s _x	\bar{X}	±	s _x	\bar{X}	±	s _x	\bar{X}	±	s _x				
Celkem	30	8,4	±	8,2	15,5	±	12,0	1,14	±	1,4	10,7	±	10,6				
skupina	V1	12	9,4	±	11,2	9,9 ^A	±	3,6	0,6 ^A	±	0,7	10,2	±	10,4			
	V2	18	7,7	±	5,4	19,3 ^A	±	14,1	1,5 ^A	±	1,6	11,0	±	10,5			

A– mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddělech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly (P≤ 0,01)

a - mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddělech byly prokázány statisticky průkazné rozdíly (P≤ 0,05)

skupina V1 psi do 30 měsíců

skupina V2 psi od 36 do 60 měsíců

ZÁVĚR

Závěrem lze konstatovat, že mladší psi do dvou a půl let mají kvalitnější ejakulát než psi mezi třetím a pátým rokem. Psi do dvou a půl let měli průkazně lepší aktivitu spermií a to 74,6 %. Starší skupina psů měla aktivních pouze 65 % spermií v ejakulátu. Starší psi naproti tomu měli vyšší koncentraci spermií v ejakulátu a to $151 \cdot 10^3 \text{ mm}^{-3}$ a mladší psi měli koncentraci $131,3 \cdot 10^3 \text{ mm}^{-3}$, nejednalo se však o průkazný rozdíl. Při morfologickém vyšetření bylo zjištěno, že mladší psi mají průkazně lepší celkové výsledky, v jejich ejakulátu bylo nalezeno 70 % morfologicky zdravých spermií, naproti tomu u skupiny starších psů bylo zjištěno pouze 60,4 % morfologicky normálních spermií. Což je již hluboko pod doporučovanými hodnotami pro použití ejakulátu v reprodukci.

Z našich výsledků vyplývá, že je vhodnější k reprodukci použít psi do tří let věku, protože potom jejich schopnost produkovat kvalitní ejakulát klesá.

LITERATURA

England, G., C., W. (1999): Semen duality in dogs and the influence of short-interval second ejaculation., *Theriogenology*, 52, 6, 981-986p.

Gamčík, P., Kozumplík, J., et al.(1992): Andrológia a umelá inseminácia hospodárskych zvierat, *Príroda*, 290s, ISBN 80-07-00540-4

Gunay, U., Polat, U., Gunes, N., Soyly, M., K., Kil, F. (2003):The effects of short-interval ejaculation on semen quality and some biochemical parameters in dogs.,*Revue de Medicine Veterinaire*, 154, 7, 459-462p.

Jelínek, P., Koudela, K., et al. (2003): Fyziologie hospodárskych zvierat, MZLU v Brně, 351s, ISBN-80-7157-644-1

Schafer, S.,Holzmann, A., Arbiter, K (1997): The Influence of fregeunt semen collection on the semen duality of beagle-dogs, *Deutsche tierarztliche wochenschrift*, 104, 1, 26-29p.

Věžník, Z., Švecová, D., et al. (2004): Repetitorium spermatologie a andrologie a metodiky spermatoanalýzy, Brno, ISBN 80-86895-01-7

RELATIONSHIP OF CITRIC ACID CONTENT AND BODY CONDITION TO FAT / PROTEIN RATIO IN MILK AS INDICATORS OF NEB

Ducháček J., Beran J., Stádník L., Vacek M., Štolc L.

Department of Animal Husbandry, Faculty of Agrobiological Sciences, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 - Suchbátka, Czech Republic

E-mail: Duchacek@af.czu.cz

ABSTRACT

The aim of this study was evaluation of the fluctuations of citric acid and group of BCS in relationship to ration of fat / protein in milk during the first four months of lactation. For this experiment was selected 27 Holstein cows with different milk yields and lactation order. The ration of fat / protein and citric acid content were monitored. The ration of fat to protein in milk had first decreasing and then slightly increasing trend. The citric acid content in the monitoring period had decreasing character. SAS 9.1. and their method GLM have been used as a basic modeling program and statistical methods. Statistical model for fat / protein ration and citric acid content in milk depending on groups of loss of condition and week of lactation have been tested. Among the effects in the model and the ratio of fat / protein and citric acid content were found either equivocal or low significant relationships. We can conclude that both monitored indicators are affected by week of lactation and intensity of loss of condition.

Key words: ratio of fat / protein in milk, negative energetic balance, citric acid, holstein cows

Acknowledgments: This study was supported by NAZV QH91270 and MSM 6046070901.

ÚVOD

Krávy se po otelení dostávají do záporné energetické bilance (NEB). Tato NEB se projevuje především ve složení mléka a kondici. Jako nejčastější indikátory NEB jsou používány vývoje kondice, poměr tuk/bílkovina a obsah kyseliny citronové v mléce. Obsahem složek v mléce a energetickým metabolismem ve vztahu k mléčné užitkovosti se zabývali Sojková et al. (2010). Obsah kyseliny citronové je značně proměnlivý ukazatel a je laboratorně stanovován buď z krve nebo z mléka. Podle Töpela (1976) jsou citráty v mléce zastoupeny v koncentraci od 0,2% obsahu. Většina citrátů v mléce je podle tohoto autora ve formě volné kyseliny citronové a v buňkách mléčné žlázy se syntetizuje z kyseliny pyrohroznové. Podle práce od Illka a Pechové (1997) může být množství kyseliny citronové v mléce dobrým ukazatelem energetického metabolismu dojníc. V posledních letech bylo publikováno několik prací zaměřených na analýzu kyseliny citronové v mléce. Například Kubešová et al. (2009) analyzovali obsah kyseliny citronové v mléce ve vztahu k reprodukci u dojníc holštýnské (H) a českého strakatého skotu (C). Proto jsme odvodily hypotézu, že existuje vztah mezi indikátory energetické bilance. U krav, které ztratily více kondice v prvním měsíci po otelení, by tedy měla nastat změna poměru tuk/bílkovina a obsahu kyseliny citrmonové v mléce.

MATERIÁL A METODIKA

Na vybrané farmě s chovem holštýnské skotu bylo opakovaně odebráno mléko od 27 kusů krav s různou dojivostí a pořadím laktace. Mléko od jednotlivých krav bylo odebráno v týdenním intervalu od 7. do 119. dne laktace. Od každého kusu byly odebrány dvě standardní vzorkovnice s mlékem. Mléko v první vzorkovnici bylo určeno pro stanovení základních složek mléka. Z obsahu tuku a bílkovin byl vypočítán poměr tuk/bílkovina v mléce. Mléko z druhé vzorkovnice bylo analyzováno na obsah kyseliny citronové. Analýza obsahu kyseliny citronové v mléce byla realizována spektrofotometrickou metodou podle doporučené metodiky (Genčurová, 2008). Vzorek mléka o objemu 3 ml byl převeden do 25 ml odměrné baňky. Následně se přidalo 5 ml roztoku kyseliny trichloroctové a tento roztok se doplnil destilovanou vodou po rysku. Následovalo kvantitativní převedení této směsi do kádinky a zde se nechala 30 minut inkubovat při pokojové teplotě. Vzorek byl následně přefiltrován. Mezitím byla připravena osmibodová koncentrační řada z citrátu trisodného a kyseliny trichloroctové. Koncentrační řada i vzorky mléka se v množství 0,5 ml odpipetovaly do zkumavek. Posléze bylo do těchto vzorků napipetováno 0,65 ml pyridinu a 2,85 ml acetanhydridu. Vzorek byl důkladně promíchán a inkubován ve vodní lázni při teplotě 32°C po dobu 30 min.. Kyselina citronová s pyridinem a acetanhydridem vytváří žlutě zbarvený komplex, jehož intenzita zbarvení byla následně měřena spektrofotometrem Genesys 10VIS při vlnové délce 428 nm. Hodnoty ze spektrofotometru byly následně porovnávány proti koncentrační řadě s již známými obsahy kyseliny citronové. Výsledky byly přepočítány na koncentraci v mmol/l mléka. Celkem bylo analyzováno 414 vzorků, v průměru 15,3 vzorku na dojnici, přičemž

minimální počet vzorků od dojnice činil 6 vzorků a maximální 17 vzorků. Z těchto dat byly vyřazeny údaje s obsahy tuku v mléce nad 7% a obsahy kyseliny citronové v mléce nad 22,5 mmol/l. U hodnocených zvířat byla také během odběru vzorků stanovována tělesná kondice (BCS). Kondice byla hodnocena v měsíčních intervalech podle metodiky pro lineární popis zevnějšíku u holštýnského skotu s odchylkou 0,25 bodu. Pro BCS byly stanoveny rozdíly mezi hodnoceními v průběhu laktace a při otelení. Podle ztráty kondice 28 dní po otelení byly zvířata rozdělena na dvě skupiny: zvířata u kterých poklesla BCS o 0,25 a méně bodů a zvířata u kterých BCS pokleslo o 0,5 bodů a více. V první skupině se ztrátou BCS 0,25 bodu a méně bylo zařazeno 12 zvířat. Ve druhé skupině se ztrátou BCS 0,5 a více bodů bylo zjištěno 15 zvířat. Z obsahu ukazatele poměru tuk/bílkovina, obsahu kyseliny citrónové, týdnů laktace a skupin podle ztráty kondice byla vytvořena databáze. Vyhodnocení probíhalo ve statistickém programu SAS 9.1. pomocí procedury ANOVA (GLM). Bylo testováno několik variant modelů výpočtu. Nejvhodnější variantou byl model s obsahem kyseliny citronové a poměrem tuk/bílkovina jako závislými proměnnými. V tomto modelu byly skupiny ztrát kondice a týdny laktace jako nezávislými proměnné. Vyhodnocení bylo realizováno jak pro skupiny ztrát kondice, tak i pro týdny laktace.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Od 27 krav holštýnského skotu bylo zhodnoceno celkem 414 vzorků. Od vybraných zvířat jsme měli od 6 do 17 vzorků mléka. Základní statistiky sledovaných proměnných: poměr tuk/ bílkovina, kondice a kyseliny citronové jsou uvedeny v tabulce 1. V tomto grafu jsou vyhodnoceny průměry, směrodatné odchylky, rozptyl, rozpětí, standardní chyba, koeficient variability a extrémní sledovaných proměnných.

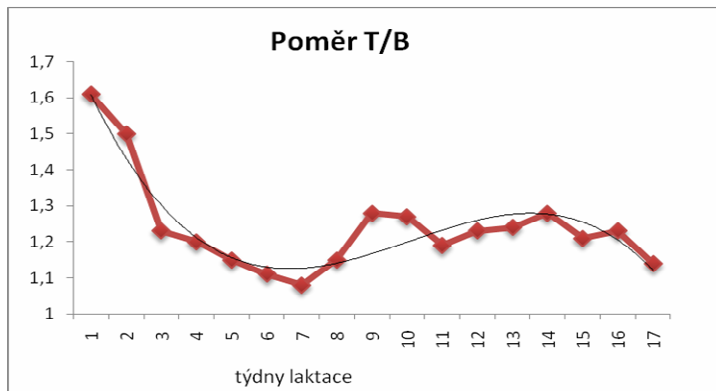
Tab. 1 Základní statistiky sledovaných ukazatelů souboru

Proměnná	N	μ	s	min.	max.	Rozpětí	s^2	stand. chyba	V (%)
KC	396	9,575	3,475	3,719	22,21	18,491	12,074	0,175	36,292
POM	408	1,227	0,376	0,27	4,801	4,801	0,141	0,019	30,652
Kondice	117	2,684	0,381	1,5	3,75	2,25	0,145	0,035	14,18

Vývoj poměru tuk/ bílkovina je uveden v v grafu 1. Tento ukazatel má z počátku klesající charakter přibližně do 7 týdne laktace. Dále docházelo k mírnému zvýšení a ustálení hodnot, což svědčí o určitém vyrovnání energetického stavu dojnic. Proto je tento graf proložen polynomicickou funkcí 3 stupně, kterou lze popsat modelovou rovnicí:

$$y = -0,0009x^3 + 0,0287x^2 + 0,2559x + 1,8369 \quad (R^2 = 0,8678).$$

Graf 1. Vývoj poměru tuk/bílkovina v mléce



Podle Dirksen (1994) a Hagert (1992) poměr tuk/ bílkovina nižší než 1,4 indikuje energetickou nedostatečnost. Poměr tuk/bílkovina má vztah i ke zdravotnímu stavu. Tento vztah zjišťoval ve své práci Geishauser a kol. (1997).

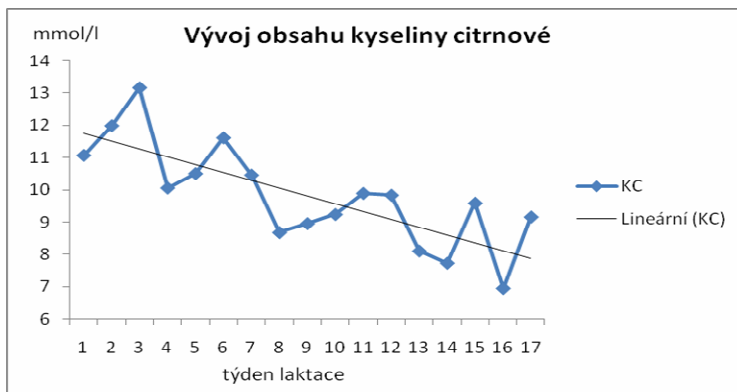
Dalším ukazatelem energetického stavu krav je hodnocení tělesné kondice (BCS). U BCS docházelo v průměru k jejímu poklesu z 3,18 na začátku laktace až na 2,48 ve 12 týdnu laktace. V následujícím období již došlo k ustálení a mírnému nárůstu BCS. K podobným výsledkům v hodnocení BCS došli také Maršálek et al. (2008). Zde byl zjištěn průměrný pokles BCS během prvních šesti měsíců laktace z 3,59 na 2,43 bodů a současně zjistili, že k nejvýznamnějšímu poklesu BCS dochází do třetího měsíce po otelení. V této práci dále zjistili, že v průběhu laktace BCS poklesne v průměru o 1,16 bodu. Také podle Parker (2009) může BCS u krav klesnout až na hodnotu 2,5 bodů, při ztrátě 1,5 kg tukové tkáně za den. K poklesu BCS ale může podle tohoto autora docházet až do 4. měsíce laktace, což se v našem sledování nepotvrdilo. Kvůli rozdílným podmínkám a změnám BCS v průběhu laktace jsme zvířata rozdělili do skupin podle ztráty kondice v prvním měsíci po otelení viz metodika.

Neposledním ukazatelem NEB je také obsah kyseliny citronové. V našem pokusu byl zjišťován obsah kyseliny citronové z mléka. Podle Kubešové et al. (2009) byla nejvyšší koncentrace kyseliny citronové naměřena v prvních pěti týdnech laktace u H. Nejnižší obsah kyseliny citronové byl zaznamenán v 9. týdnu laktace (6,00 mmol/l). Podle Genčurové (2008) se za fyziologické rozpětí obsahu kyseliny citronové považuje 8 až 10 mmol/l (0,149 až 0,187 %). Hodnoty pod vymezeným oborem potom indikují energetický nedostatek metabolismu krav a vyšší hodnoty energetický přebytek. Také Garnsworthy et al. (2006) pozoroval úroveň kyseliny citronové (citrátu) u dojnic v průběhu laktace. V jeho výzkumu se prokázala jako signifikantně vyšší (11,3 mmol/l) koncentrace u krav na začátku laktace než u krav uprostřed laktace (9,7 mmol/l).

Průměrný obsah kyseliny citronové se ve sledovaném období pohyboval od hodnoty 6,95 mmol/l v 16 týdnu do 13,16 mmol/l ve třetím týdnu laktace viz graf 2. Tento graf je proložen lineárním trendem, který je charakterizován následující rovnicí:

$$y = -0,2429x + 12,01 \quad (R^2 = 0,6022).$$

Graf 2 Vývoj obsahu kyseliny citronové v mléce



Standardní odchylka obsahu kyseliny citronové byla poměrně vysoká a dosahovala hodnot 3,47 mmol/l. Výsledné koncentrace v našem výzkumu nejsou v souladu s fyziologickým rozpětím uváděným v práci od Genčurové (2008) ani s rozpětím uvedeným ve studii od Kubešové et al. (2009). V naší práci jsme sice dosáhli vyšších koncentrací, ale v podstatě se shodujeme se studií od Garnsworthyho et al. (2006).

Pro praktické hodnocení NEB existují ještě další ukazatelé (vývoj obsahu mastných kyselin v mléce, obsah močoviny v mléce apod.), ale ty jsme v tomto vyhodnocení nebraly v úvahu. Následně byl sestaven model a byly testovány efekty viz metodika. V první variantě modelu pro odhad nejmenších čtverců (LSM) pro skupiny ztrát kondice (poměr tuk/bílkovina a obsah kyseliny citronové v mléce) viz tabulka 2.

Tab. 2 Odhad parametrů LSM pro poměr T/B a obsah kys. citronové podle skupin ztráty kondice

POM					
skupiny podle ztráty kondice	POM LSMEAN	standardní chyba	H0:LSMEAN=0 Pr > t	t hodnota	Pr > t
1	1,2740764	0,029993	<,0001	1,35	0,1773
2	1,2232649	0,022975	<,0001		
KC					
skupiny podle ztráty kondice	POM LSMEAN	standardní chyba	H0:LSMEAN=0 Pr > t	t hodnota	Pr > t
1	10,005748	0,277136	<,0001	1,62	0,1071
2	9,4501521	0,21179	<,0001		

MENDELNET 2010

Pro ukazatel poměr tuk/bílkovina byla hodnota R-kvadrát 0,093144 (model měl průkaznost $P = 0,0019$). Pro ukazatel obsah kyseliny citronové byla hodnota R-kvadrát 0,139736 ($P < 0,001$). Druhá varianta výpočtu byla model pro odhad LSM pro týdny laktace (poměr tuk/bílkovina a obsah kyseliny citronové v mléce) viz tabulka 3 a 4. Hodnoty R - kvadrátu byly stejné jako v předchozí variantě.

Tab. 3 Odhadnuté parametry LSM pro poměr tuk/bílkovina v mléce podle týdnů laktace

POM			
týdny	POM LSMEAN	Standardní chyba	Pr > t
1	1,620286	0,0951059	<,0001
2	1,516789	0,0892625	<,0001
3	1,240193	0,0748051	<,0001
4	1,203246	0,0705561	<,0001
5	1,161126	0,0705561	<,0001
6	1,118679	0,0705561	<,0001
7	1,08114	0,0718595	<,0001
8	1,158939	0,0718595	<,0001
9	1,289344	0,0764773	<,0001
10	1,27545	0,074723	<,0001
11	1,190158	0,0732455	<,0001
12	1,236959	0,0732455	<,0001
13	1,249018	0,0732455	<,0001
14	1,287174	0,0732455	<,0001
15	1,219917	0,0732455	<,0001
16	1,232791	0,0732455	<,0001
17	1,146191	0,0780519	<,0001

Tab. 4 Odhadnuté parametry LSM pro obsah kyseliny citronové v mléce podle týdnů laktace

KC			
týdny	kc LSMEAN	Standardní chyba	Pr > t
1	10,8404383	1,0508712	<,0001
2	10,8348121	0,8568831	<,0001
3	11,4807138	0,7200939	<,0001
4	12,4863834	0,6606662	<,0001
5	9,5917254	0,6356013	<,0001
6	9,2958380	0,6473312	<,0001
7	11,8988796	0,6598062	<,0001
8	8,7404396	0,6598062	<,0001
9	9,2707411	0,6738692	<,0001
10	8,9096746	0,6731069	<,0001
11	9,6076396	0,6598062	<,0001
12	9,6204663	0,6731069	<,0001
13	8,9993596	0,6598062	<,0001
14	8,3433996	0,6598062	<,0001
15	9,1880796	0,6598062	<,0001
16	8,3351596	0,6598062	<,0001
17	7,9313996	0,6598062	<,0001

ZÁVĚR

V průběhu laktace dochází k vývoji BCS. K největším změnám, tedy poklesům, dochází do konce prvního měsíce laktace. Po tomto období došlo již pouze k malým změnám a postupně se hodnoty ustálily. Podle předpokladu se tedy vyrovnávala NEB a dojnice přestávaly ztrácet zásobní tukovou tkáň. U obsahu kyseliny citronové byly průměrné hodnoty ve sledovaném období v rozmezí 6,95 až 13,16 mmol/l. Následně byly realizovány výpočty pro výše jmenované efekty viz metodika. Pro hodnocení podle týdnů laktace byly výsledkem i tabulky vztahů mezi týdny laktace. Tyto vztahy mezi týdny laktace ovšem byly v drtivé většině neprůkazné a nabývaly hodnot od přibližně - 4,5 do 4,5. Do hodnocení vzájemných vztahů pomocí metody ANOVA bylo zařazeno poměrně málo efektů. Pokud jsme do výpočtu dodaly další efekty, výpočet sice proběhl, zvýšila se nám hodnota R-kvadrátu, ale nebyly dopočítány hodnoty LSM průměrů. Výsledkem je, že existuje vztah mezi poměrem tuk/ bílkovina, obsahem kyseliny citrónové a týdny laktace, skupiny ztráty kondice. Z toho vyplývá, že oba sledované ukazatele jsou ovlivněny týdny laktace i intenzitou ztráty kondice. Bohužel pro případ efektu skupin ztrát kondice je to neprůkazné ovlivnění. Pro týdny laktace je průkaznost $P < 0,01$.

LITERATURA

Dirksen G. (1994): Kontrolle von Stoffwchelparametern bei Milchkühen an Hand von Milchparametern, Proc. XVIII World Buiatrics Congr. (Bologna), 35-45.

Garnsworthy, P.C., Masson, L.L., Lock, A.L., Mottram, T.T. (2006): Variation of milk citrate with stage of lactation and de novo fatty acid synthesis in dairy cows, J. Dairy Sci., 89, 1604 - 1612.

Geňurová V. (2008): Studium vztahů přímých a nepřímých analytických metod pro kontrolu základních složek a vlastností mléka. Disertační práce, ČZU Praha, 126 s.

Geishauer T. D., Leslie K. E., Duffield T. F. B., Edge V. L. (1997): An Evaluation of Protein/Fat Ratio in First DHI Test Milk for Prediction of Subsequent Dispalced Abomasum in Dairy Cows. Can. J. Vet. Res.; 62, 144 - 147.

Hagert C. (1992): Kontinuierliche Kontrolle der Energie- und Eiweißversorgung der Milchküh während der Hochlaktation anhand der Konzentrationen von Azeton, Harnstoff, Eiweiß und Fett in der Milch (Dissertation). München, Universität, Vet. Med Fak, 126 p.

Illek J., Pechová A. (1997): Poruchy metabolismu dojnic a kvalita mléka. Metabolic disorders at cows and milk quality. Farmář, 6, 29-30.

Kubešová M., Fazon T., Melich J., Trávníček J., Maršálek M. (2009): Analysis of milk urea and citrate content during the postpartal period and their impact on reproduction in dairy cows. Původní vědecké sdělení, Výzkum v chovu skotu, Research Institute for Cattle Breeding, Ltd., ročník LI, 1, 185 svazek, ISSN 0139-7265.

Maršálek M., Zedníková J., Pešta V., Kubešová M. (2008): Holstein cattle reproduction in relation on milk Yield and body condition score. University of South Bohemia in České Budějovice, Agricultural faculty, Department of Special Livestock Breeding, J. Central Europe Agriculture, 9, 4, 621- 628.

Parker R.,(publikováno 1989) (poslední vydání 1996): Using Body Condition Scoring in Dairy Herd Management, Ministry of Agriculture, Food & Rural Affairs, Ontario, (on-line)(2009-12-14), dostupné z: <http://www.omafra.gov.on.ca/english/livestock/dairy/facts/94-053.htm#top>, poslední aktualizace 15.12.2008.

Sojková K., Hanuš O., Říha J., Genčurová V., Hulová I., Jedelská R., Kopecký J. (2010): Vliv fyziologie laktace při vyšší a průměrné užitkovosti na složení, vlastnosti a zdravotní ukazatele mléka dojníc holštýnského plemene skotu. Agrovýzkum Raportín, Scientia Agric. Bohem., 41, 21-28.

Töpel A. (1976): Chemie und Physik der Milch. Lizenznummer: 114-210/71/76, Bestellnummer: 5461038, VEB Fachbuchverlag Leipzig.

Ing. Jaromír Ducháček, Ing. Jan Beran, Doc. Ing. Luděk Stádník, Ph.D, Ing. Mojmír Vacek, CSc., prof. Ing. Ladislav Štolc, CSc., Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Kamýcká 129, Praha 6 – Suchbátka, 165 21, e-mail: Duchacek@af.czu.cz, tel. +420 224 383 070.

THE INFLUENCE OF THE GROWING SEASON DURATION OF SORGHUM AND SUDAN GRASS HYBRIDS ON THE CHEMICAL COMPOSITION AND DIGESTIBILITY OF ORGANIC MATTER

Dvořáčková J., Doležal P., Dvořáček J.

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

E-mail: jitka.dvorackova@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this experiment was to evaluate the nutrient composition and organic matter digestibility of three sorghum and Sudan grass hybrids (Nutri Honey, Latte, Bovital) in various stages of vegetation. Samples were taken as the first mowing during 10 weeks in weekly intervals. It means the 70-days vegetation period was monitored. For each of these samples were determined the basic chemical composition: fiber, crude protein, carbohydrates.

The same trends of nutrient content changes were found out during vegetation of selected hybrids comparing with other forages. The content of easily soluble sugars and crude protein decreased with vegetation stage, fiber content had an increasing tendency to the contrary. The optimum stage of harvest is when all hybrids are before earing, and that was between August 16th and August 23rd, at the height of the plants 110-130 cm, where the organic matter digestibility was on average at 66%.

Key words: sorghum, sudan grass, nutrient, carbohydrates, crude protein, fiber

Acknowledgments: The work was written within the framework of Grant SP 2100241 “The influence of the growing season duration of sorghum and Sudan grass hybrids on the chemical composition and digestibility of organic matter”, funded by the Internal grant Agency MENDELU in Brno (IGA).

ÚVOD

V roce 2007 a 2008 se na polích v ČR objevila nová plodina, která byla dříve typická spíše pro jižnější státy. Jedná se o víceeseňný čirok, který má v souvislosti s povětrnostně- klimatickými změnami, ke kterým dochází, i na území naší republiky určité možnosti uplatnění. Rostliny čiroku snášejí totiž poměrně lépe vláhový deficit v průběhu vegetace, na který většina pícein reaguje vždy nepříznivě co do kvantity a kvality výnosu (DOLEŽAL a kol., 2009)

Dle firmy SEEDSERVICE je tato jednoletá tráva známá především svojí odolností proti suchu. Proti travám absorbuje daleko více vody, protože má dvojnásobné množství kořenových vlásečnic na jednotku hlavních kořenů. Povrch listů je o polovinu menší, než je tomu u kukuřice, což snižuje odpařování. Hybridy čiroku cukrového a sudánské trávy jsou proto ideálním řešením při nedostatku krmiva v důsledku sucha.

Tato teplomilná plodina svým obsahem hemicelulózy a poměrně vysokou stravitelností obohacuje krmnou dávku o vysoce stravitelný podíl strukturálních polysacharidů, včetně vodorozpustných cukrů. Obsah dusíkatých látek je sice ve srovnání s víceletými píceinami nižší, ale energetické složky dokáží zvýšit počty mikroorganismů v batoru, což přispívá k zvýšení čistého mikrobiálního dusíku (PŘIKRYL a kol., 2009).

MATERIÁL A METODIKA

Na pokusném stanovišti v Žerůtkách u Lysic byly vyseti tři pokusní kříženci čiroku se sudánskou travou (Bovital, Nutri Honey a Latte). Zahájení odběrů proběhlo 19.7., přičemž vzorky byly odebrány v první seči, po dobu 10-ti týdnů vegetace, vždy v týdenních intervalech, tj. celkem během 70 dní vegetace. Každý vzorek byl odebrán a analyzován ve třech opakováních. U každého bylo stanoveno základní živinové složení a stravitelnost organické hmoty metodou *in vitro*, tedy pomocí Daisy inkubátoru. Hmota pro rozbor byla konzervována sušením teplým vzduchem.

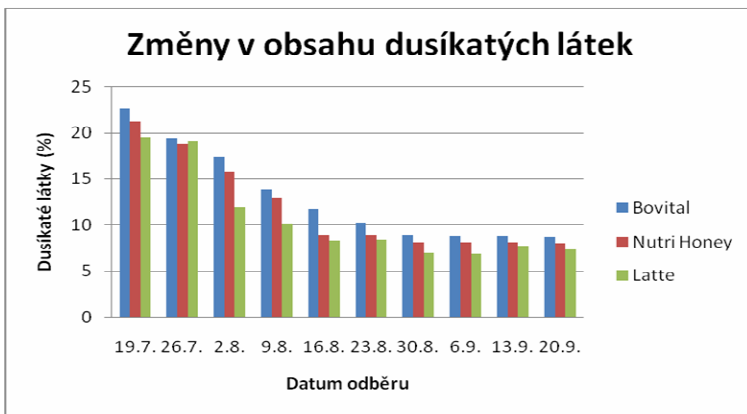
VÝSLEDKY A DISKUZE

V průběhu vegetace můžeme spolu se stárnutím porostu sledovat také úbytek dusíkatých látek v testovaném materiálu. Tento úbytek je nejrazantní v prvních čtyřech týdnech sledování. Konkrétně se jedná o pokles průměrného obsahu dusíkatých látek u Bovitalu z 22,6 % naměřených 19.7. na 13,9 % z 9.8., u Nutri Honey z 21,3 % na 13 % a u Latte z 19,5 % na 10,2 %.

Podobnou tendenci zaznamenal také POŠTULKA (2009). V jehož sledování čiroku byl zaznamenán od 1.7. do 22.7. pokles z 21,42 % dusíkatých látek na 17,83 %.

Nejvyšší obsah dusíkatých látek vykazoval po celou dobu sledování Bovital.

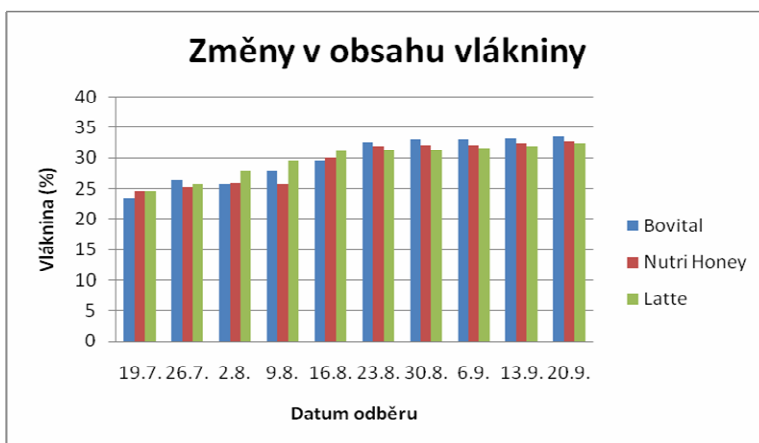
Graf. 1: Změny v obsahu dusíkatých látek



Co se týče vlákniny její nárůst je pozvolný konkrétně z průměrných hodnot naměřených na začátku pokusu 23,4% u Bovitalu, 24,6 % u Nutri Honey a Latte na průměrné hodnoty, které se na konci tj. 20.9. pohybovaly na úrovni 33,6 % u Bovitalu , 32,8 % u Nutri Honey a 32,5 % u Latte.

WHEELER a McKINLAY (1998) dospěli k rovněž k těmto závěrům. Uvádějí, že jak plodina zraje, obsah dusíkatých látek rychle klesá, zatímco obsah vlákniny svoji hladinu zvyšuje, což snižuje energetickou hodnotu krmiva a jeho stravitelnost v bacheru.

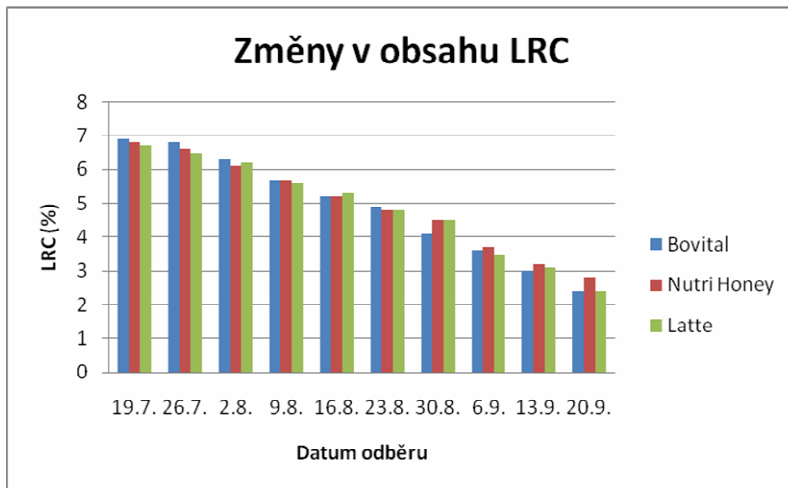
Graf. 2: Změny v obsahu vlákniny



Množství cukrů se vzrůstajícím stářím v porostu klesá. U mladých rostlin při výšce porostu 35 cm byl zaznamenán nejvyšší průměrný obsah lehce rozpustných cukrů 6,9 % u Bovitalu. Na konci odběrů tj. 20.9. při výšce čiroků téměř 3 m u Nutri Honey, konkrétně na úrovni 2,8 %.

POŠTULKA (2009) při svém sledování čiroků zaznamenal stejnou tendenci.

Graf. 3: Změny v obsahu lehce rozpustných cukrů

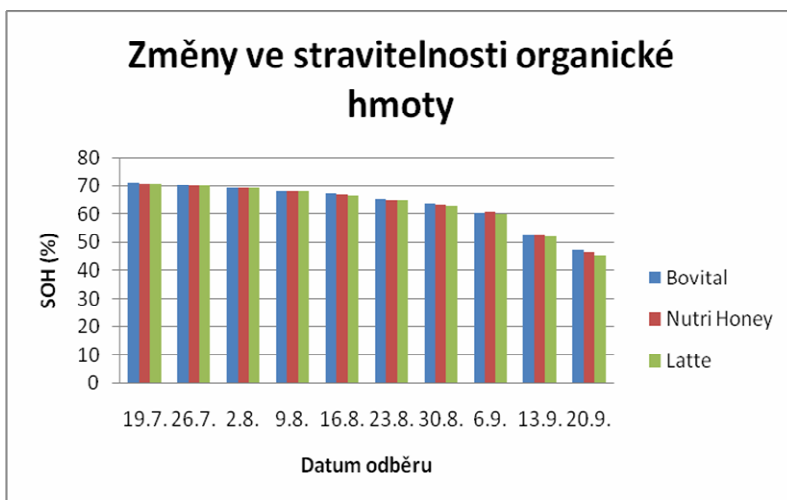


Zároveň se vzrůstajícím obsahem vlákniny a s poklesem obsahu lehce rozpustných cukrů a dusíkatých látek dochází ke snižování stravitelnosti. Konkrétně se jedná o hodnoty pohybující se na začátku odběrů v průměru kolem 71 %, na konci kolem 46 %.

PŘÍKRYL a kol. (2009) dospěli u těchto kříženců k podobným výsledkům. Konkrétně se jednalo o stravitelnost OH na začátku jejich sledování rovněž na úrovni 71 %, na konci (cca po 8-mi týdnech) na úrovni 38,5 %.

Mezi jednotlivými kříženci čiroku se sudánskou trávou nejsou, co se týče stravitelnosti organické hmoty žádné statisticky průkazné rozdíly.

Graf. 4: Změny ve stravitelnosti organické hmoty



ZÁVĚR

Bylo potvrzeno, že kříženci čiroku a sudánské trávy mají v průběhu vegetace stejnou tendenci ve vývoji obsahu jednotlivých živin jako je tomu u ostatních pícein. V optimální fázi sklizně se všichni tři kříženci nacházeli ve stejnou dobu, v tomto pokusu to bylo mezi 16.8. a 23.8., při výšce rostliny 110-130 cm, kdy se stravitelnost pohybovala v průměru na úrovni 66 %.

LITERATURA

DOLEŽAL, P., PŘIKRYL, J., DVOŘÁČEK, J., PODRÁBSKÝ, M., VYSKOČIL, I., *Uplatnění vícesečných čiroků ve výživě a krmení zvířat*, Krmivářství č.2, 2009, s.45-46

POŠTULKA, R., DOLEŽAL, P., DOŘÁČEK, J., PŘIKRYL, J., *Vliv vegetačního stádia vícesečného hybridu čiroku na výživovou hodnotu*, VIII. Kábrtovy dietetické dny, 2009, s. 22-25

PŘIKRYL, J., DOLEŽAL, P., DVOŘÁČEK, J., *Uplatnění vícesečných čiroků ve výživě a krmení zvířat (II. Část)*, Krmivářství č.4, 2009, s.41-42

SEEDSERVICE s.r.o., [online], cit. 2010 -10-11], dostupné z WWW: <http://www.seedservice.cz/editor/filestore/File/NUTRIHONEY.pdf>

WHEELER, Beth, McKINLAY, Joan. Forage Sorghum –Sudan Grass. *Factsheet* [online]. 1998 [cit.2010-10-11], dostupné z WWW: <http://www.omafr.gov.on.ca/english/crops/facts/98-043.htm>

CATEGORIZATION OF CROWDING BEHAVIOUR IN DAIRY COWS DURING SUMMER PERIOD

Erbez M., Falta D., Chládek G.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: miljanerbez@gmail.com

ABSTRACT

Crowding of dairy cows housed in cubicles was not scientifically described or categorized at least in available literature. However, when it is about space allowance and density there are number of researches. The aim of this study was to categorize crowding of dairy cows and to give answer about its duration throughout the year, but also to provide milk production characteristic before and during the crowding period. Cows were housed in cubicles. For the aim of this study we calculated the differences between daily milk yields of June 1, compared to July 1, August 1, September 1 and October 1. Cows were divided by the stage of lactation on 3 groups (first: cows on II, second: cows on III and third: cows on IV lactation + higher lact. up to 7th), with 32.7 ± 10 cows in each. In the beginning of experiment (June 1) 55% of cows were up to 100 days of lactation, 31% from 100 – 200 days and 14% >200 days. The cows were monitored with two outdoor network cameras (VIVOTEK technology, IP7330 and PZ6122) from July 2 (approximately 10 days before crowding started) to October 15 (7 days after crowding stop), total of 106 days. We take the snapshots at 14 p.m., because was found that in this period of the day, the crowding if there it is any is always present. To assess the severity of crowding behavior and its characteristics, we developed a scale based to available space per cow and usage of it. We found that in period from July 2, to October 15, 2009 were 84 days when cows were crowded. First crowding was determined at July 11. After that, crowding was almost permanently present until October 8, with shorter breaks. There was found an evident drop in daily mil production after crowding started. Crowding phenomena strongly affects cow's behaviour in one part of the day during summer period. Crowding of dairy cows could contribute to decreasing of milk production and negatively affect comfort of cows.

Key words: crowding, categorization, dairy cows, milk production, environment

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, internal grant of FA MENDELU (TP 2/2010), IGA Support Scheme (290191) of Mendel University.

INTRODUCTION

Crowding of dairy cows housed in cubicles was not scientifically described or categorized at least in available literature. However, when it is about space allowance and density there are number of researches. Hurnik et al. (1995) defined crowding as “An unusually high spatial density of animals which may cause discomfort to some or all animals in the group, but not serious deprivation or injury“. 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; Rousing and Wemelsfelder 2006). King and Gurnell (2010) found that fly disturbance could affect Przewalski horse behaviour, and that the number of flies is related to temperature, with peaking at 22 °C. As this phenomenon in our research was occurred just in summer period, we suggested that it was involved by flies’ infestation.

The aim of this study was to categorize crowding of dairy cows and to give answer about its duration throughout the year, but also to provide milk production characteristic before and after the crowding started.

MATERIAL AND METHODS

Housing, animals and milk production

Cows in research barn were of Czech Fleckvieh breed. Cows were housed in cubicles. The research barn accommodates about 400 cows, separated in 4 batches. There were 1.05 cubicles / cow and the total area per cow (alleys + cubicles) was approximately 6.01 m². The cows were bedded on solid manure, and in alleys was slatted concrete floor. The cows were milked two times per day in an adjacent milking parlour and had free access to a TMR-ration served twice daily. Milk yield parameters were obtained from milking parlour computer system (Farmtec Technology, Czech Republic). For the aim of this study we calculated the differences between daily milk yields of June 1, compared to July 1, August 1, September 1 and October 1. Cows were divided by the stage of lactation on 3 groups (first: cows on II, second: cows on III and third: cows on IV lactation + higher lact. up to 7th), with 32.7±10 cows in each. In the beginning of experiment (June 1) 55% of cows were up to 100 days of lactation, 31% from 100 – 200 days and 14% >200 days.

Observations

The cows were monitored with two outdoor network cameras (VIVOTEK technology, IP7330 and PZ6122) from July 2 (approximately 10 days before crowding started) to October 15 (7 days after crowding stop), total of 106 days. We take the snapshots at 14 p.m., because was found that in this

MENDELNET 2010

period of the day, the crowding if there it is any is always present. As a consequence of everyday farm duties, problems of power supply or other research projects aims, we make presumption in a several cases, based to average daily temperature, humidity and cow's behaviour in neighboring days (approximately 7% of total observations). Totally were assessed 245 snapshots, from both cameras.

Crowding categorization

To assess the severity of crowding behavior and its characteristics, we developed a scale based to available space per cow and usage of it. Crowding was scored into the following categories according to proportion of space occupied:

- 0** No (85 – 100% of used space)
- 1** Low (70 - 84 % of space)
- 2** Medium (55 – 69 % of space)
- 3** Strong (40 – 54 % of space)
- 4** Extreme (< 40% of space)

To assess crowding, for every day was calculated used space of total available space/cow in research batch, but also used space per cow. Used space in batch is presented in percentages, and space/cow in m².

RESULTS AND DISCUSSION*Crowding categorization*

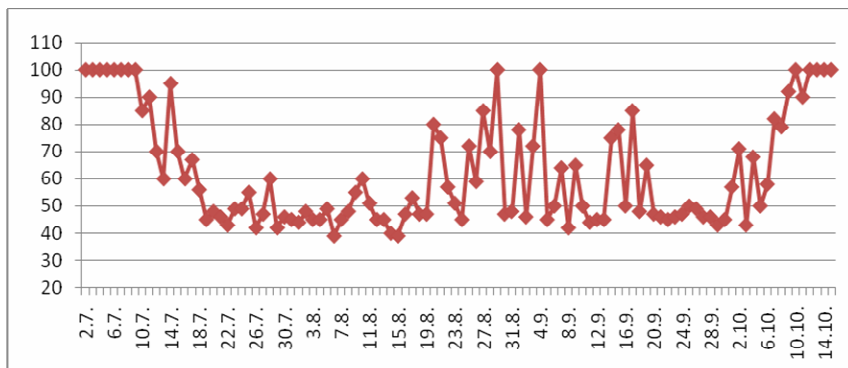
In the table 1, are presented observation results. We found that in period from July 2, to October 15, 2009 were 84 days when cows were crowded (grades 1, 2, 3 and 4; tab. 1). First crowding was determined at July 11. After that, crowding was almost permanently present until October 8, with shorter breaks.

Tab 1., Categorization of crowding behavior at 14:00 during summer peiod

Crowding scale	Used space in %	Days	% of days from 106	Space on cow in m²
0 – no	85 – 100 %	22	20.75	5.1 – 6.01
1 – low	70 – 84%	13	12.26	4.2 – 5.09
2 – medium	55 – 69%	16	15.09	3.3 – 4.19
3 – strong	40 – 54%	53	50.0	2.4 – 3.29
4 - extreme	< 40%	2	1.88	< 2,39

We found that cows were strong and extreme crowded more than 50% of total assessed days, represented by grades. During that period, all cows used 2.4 – 3.29 m², what implies that they shortened self space allowance for about 50%. Those crowding was not induced by man nor the housing and mechanization activities. The extreme crowding was notified at 2 events at August 5 and 15, when average space per cow was lower than 2.39 m². Cows were crowded 5 – 8 hours daily, and usually between 11 a.m. until 19 p.m..

Graph 1. Used space frequency during crowding season



In the graph 1, we can notice that crowding season starts at about July 10, and almost constantly endure to the first third of October. There were slight decreases in crowding intensity by the end of August and in the beginning of September. After October 8, cows started to spread randomly throughout the research batch.

Milk production

There was found an evident drop in daily mil production after crowding started (Tab. 2). The drop in milk production was the highly expressed in younger cows, cows on II second lactation. The highest milk production drop related to June 1, was at September 1 also in cows on II lactation, and it was 31% lower than that one measured in June. If we calculate that to kg of milk, cows on II lactation at September 1 produced less 9.69 kg of milk, cows on III 4.82 kg and cows from group IV+ decreased their production for 6.38 kilos. With declining in crowding intensity, milk production started to increase. The best recovery was in cows on II lactation. Zejdová et al. (2010) found that cows on fourth lactation had higher milk yield then younger groups of cows (on I, II and III lactations), during the summer period. However crowding of cows in one part of barn could limit food access, through the altered social and life conditions in the barn (Erbez at al., 2010), what surely could affect low ranked cows and their milk productivity.

Tab. 2. Milk production differences between period before crowding start and after

Months/ Lactation	VI	VI - VII	VI - VIII	VI - IX	VI - X
II	100%	-9,5	- 17,4	-31,0	-13,3
III	100%	-1,8	-10,8	-16,2	-9,0
IV+	100%	-12,2	-12,9	-20,0	-15,2

These losses shouldn't be related just to crowding behaviour, but also to season and higher environmental temperatures. Kadzere et al. (2002) claims, that the thermal environment is major factor that can negatively affect milk production of dairy cows.

CONSLUSION

Crowding phenomena strongly affects cow's behaviour in one part of the day during summer period. Crowding of dairy cows could contribute to decreasing together with both, low environment conditions and social relations in of milk production and negatively affect comfort of cows. Cows choose to be crowded a few hours a day despite high summer temperatures. This suggests that some other disturbance had worst influence on cows. Our opinion is that this behaviour is involved by flies. Cows when are crowded probably decrease open body surface to flies and their bites. Environment with its parameters affects livestock and this is very complicated and for man almost inconceivable. The man separated animals from nature, so he need to take responsibility for them and ensure that living conditions are adequate their demands and needs (Chladek, 2004). Scale developed in this study could contribute further researches on this phenomenon.

LITERATURA

BOUISSOU, M.F., BOISSY, A., LE NEINDRE, P., VEISSIER, I., (2001). The social behaviour of cattle. In: Keeling, L.J., Gonyou, H.W. (Eds.), *Social Behaviour in Farm Animals*. CAB International, Wallingford, Oxon, UK, pp. 113–145.

ERBEZ, M., FALTA, D., KNUT, E.B., CHLÁDEK, G., (2010) Effect of self – will crowding period on stall position and performance in Czech Flekviech Cattle. *AWETH*, Volume 6; Issue 2; 118 – 123.

HURNIK, J.F., WEBSTER, A.B., SIEGEL, P.B., (1995). *Dictionary of farm animal behaviour*, 2nd ed. Iowa State University Press, Ames, USA,.

CHLÁDEK, G., (2004). Složení mléka, jako levný a účinný prostředek pro hodnocení chovného prostředí dojníc. *Aktuální problémy řízení v chovu skotu*. 56 – 61.

KADZERE C.T., MURPHY M.R. , SILANIKOVE, N. , MALTZ, E. , (2002) Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livest. Prod. Sci.* 77, 59 – 91.

MENDELNET 2010

KING, S.R.B., GURNELL, J., (2010). Effects of fly disturbance on the behaviour of a population of reintroduced Przewalski horses (*Equus ferus przewalskii*) in Mongolia. Appl. Anim. Behav. Sci., 125: 22-29.

ROUSING, T. AND WEMELSFELDER, F., (2006). Qualitative assessment of social behaviour of dairy cows housed in loose housing systems, Appl. Anim. Behav. Sci. 101 40 – 53.

ZEJDOVÁ, P., ERBEZ, M., ČERNÝ, T., POLÁK, O., FALTA, D., CHLÁDEK, G., (2010). Effect of year season and number of lactation on somatic cell account in dairy cows. Animal Physiology 2010. Proceedings of International Conference. Valtice, Czech Republic, 478 – 482.

PORK MEAT ENRICHED WITH ORGANIC SELENIUM AND ITS EFFECT ON TOTAL ANTIOXIDANT STATUS IN HUMANS

Gajdošová L., Bobček B.

Department of Husbandry, Faculty of Agrobiological and Food Resources, Slovak University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

E-mail: ludmila.gajdosova@uniag.sk

ABSTRACT

It is known that organic selenium (Sel Plex) supplemented to pig feed mixture is significant for effective transport of essential element selenium to the food chain. It enables to create important body deposits of selenium in skeletal muscles and also increases selenium transfer in natural metabolic form of selenomethionine into functional food. The intake of feeding mixture with increased organic selenium at the dose of 0.3 mg.kg^{-1} probably increase selenium concentration in MSM (musculus semimembranosus) - experimental selenium group 1.293 mg.kg^{-1} and control group 0.513 mg.kg^{-1} and in MLT (musculus longissimus thoracis) - experimental selenium group 1.364 mg.kg^{-1} and control group 0.506 mg.kg^{-1} . The aim of this study was to evaluate the selenium and total antioxidant status (TAS) in selected group of healthy people. 25 volunteers consumed pork meat enriched with organic selenium three times a week during one month (average age in 9 men was 51.2 years, in 16 women 39.06 years, respectively). Daily selenium intake of $110 \mu\text{g}$ was calculated by Alimenta software, version 4.3 on the basis of nutrition statement. Recommended daily selenium intake of $50 - 200 \mu\text{g}$ was stated by World Health Organization (WHO). During the research time the volunteers consumed pork enriched by $35 \mu\text{g}$ of selenium. At the beginning mean selenium concentration in blood serum was at $75.41 \pm 14.18 \mu\text{g.l}^{-1}$ in men, $75.21 \pm 15.20 \mu\text{g.l}^{-1}$ in women. After two weeks of consuming the mean selenium concentration in blood serum in men increased to $86.69 \pm 11.72 \mu\text{g.l}^{-1}$, in women to $87.93 \pm 16.22 \mu\text{g.l}^{-1}$. At the end of the study mean selenium concentration decreased in men to $85.75 \pm 2.72 \mu\text{g.l}^{-1}$ and in women to $84.07 \pm 15.62 \mu\text{g.l}^{-1}$. In selected group of healthy people the increase in total antioxidant status from 1.68 mmol.l^{-1} to 1.86 mmol.l^{-1} after two weeks of consumption of selenium enriched pork, but decrease in TAS at the end of study were recorded. Improving in selenium status has positive influence on human health and our results could contribute to new trends in production of functional food.

Key words: supplementation of pork, organic selenium, selenium status, total antioxidant status

Acknowledgments: The research was solved with the support of APVV 0399/07 and VEGA 1/4433/07 project.

ÚVOD

V súčasnosti sa venuje zvýšená pozornosť vplyvu výživy na zdravie v súvislosti s príjmom antioxidantov, ako sú vitamíny a esenciálne stopové prvky - zinok, meď a selén, ktoré sú zároveň aj súčasťou antioxidantných enzýmov. Jedným z kľúčových nutričných antioxidantov je stopový prvok selén (Se), ktorého esencionalita bola potvrdená na základe zistenia, že nutričný deficit Se u ľudí spôsobuje kardiomyopatiu, degeneratívnu osteoartróziu a poruchy tyreoidných funkcií. Selén sa radí do skupiny nutričných antioxidantov, pretože je kofaktorom antioxidantného enzýmu glutathionperoxidázy (GPx), ktorý katalyzuje redukciiu organických hydroperoxidov a peroxidu vodíka, čím chráni bunky pred oxidatívnym poškodením. Status esenciálneho mikroprvku selénu u ľudí je primárne určený jeho príjmom potravou. Nízke hladiny selénu v zložkách potravinového reťazca korešpondujú s jeho nízkym hladinami u ľudí. Hladiny selénu v plazme/sére sú v európskych krajinách v rozsahu 63-110 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, pričom selénový status u slovenskej populácie sa pohybuje na dolnej hranici tohto rozsahu (Kadrabová, Maďarič, 1997). Optimálna aktivita tohto antioxidantného enzýmu sa dosahuje pri hladine Se v sére/plazme medzi 90-100 $\mu\text{g}/\text{l}$. Preukázalo sa, že niektoré jednoduché polymorfizmy nukleotidov (SNPs) v selenoproteínových génoch môžu ovplyvniť riziko vzniku rakoviny a tým zvyšovať nároky na príjem selénu do organizmu (Rayman, 2005). Tento stopový prvok je zaradený do celkovej antioxidantnej kapacity organizmu.

Cieľom práce bolo vyhodnotiť suplementáciu kŕmnych zmesí ošípaných organickou formou selénu vo forme kvasinkových preparátov, kde sme sa zamerali na významné depozity selénu v jatočnom tele ošípaných. U vybranej skupiny zdravých ľudí, ktorí konzumovali bravčové mäso obohatené o organický selén sme sa zamerali na vyhodnotenie selénového statusu a celkovej antioxidantnej kapacity.

MATERIÁL A METODIKA

Jatočné hybridné ošípané boli testované v podmienkach experimentálneho centra hospodárskych zvierat pri KŠZ SPU v Nitre. Zastúpenie jednotlivých skupín ošípaných v pokuse bolo nasledovné: kontrolná skupina 16 ks a pokusná skupina 17 ks. V pokusnej skupine boli použité štandardné kŕmne zmesi ošípaných OŠ-3 a OŠ-6 doplnené organickým selénom (SelPlex) v množstve 0,3 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Pri rozrábke boli analyzované jatočné ukazovatele a zároveň odobraté vzorky mäsa zo stehna o hmotnosti 700 g. Časť vzorky bola analyzovaná v ÚFHZ SAV Košice, kde sme stanovili podiel selénu v mäse spektrofotometrickou metódou.

Po analýze selénu v mäse sme bravčové mäso obohatené organickým selénom po tepelnej úprave podávali formou obedného menu dobrovoľníkom (zdraví ľudia bez subjektívnych ťažkostí a bez patologických zmien v základných hematologických a biochemických parametroch). Našej štúdie sa zúčastnilo 25 ľudí v zastúpení 9 mužov s priemerným vekom 51,2 rokov a 16 žien s priemerným

vekom 39,06 rokov. Všetci dobrovoľníci konzumovali mäso obohatené o selén trikrát v týždni počas jedného mesiaca (spolu 450 g/týž.). Na základe vyplneného nutričného protokolu sme pomocou softveru Alimenta verzia 4,3 vyhodnotili denný príjem selénu u mužov aj žien. Počas výskumu bola u sledovanej skupine ľudí odobratá krv v intervale na začiatku, po dvoch týždňoch a po ukončení konzumácie. V krvnom sére bola stanovená koncentrácia selénu spektrofotometrickou metódou v ÚFHZ SAV Košice a v heparinizovanej plazme celkový antioxidačný status diagnostickou súpravou (TAS[®], fy Randox) na biochemickom analyzátore LISA 200 (BIOCODE-HYCEL) na SPU Nitra. Získané výsledky boli štatisticky spracované a vyhodnotené programom Anova, Tukey-testom.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Pri hodnotení koncentrácie selénu v sušine mäsa sme zistili vyššie hodnoty v pokusnej skupine SE v stehne (MSM) 1,293 mg.kg⁻¹ a v kotlete (MLT) 1,364 mg.kg⁻¹ oproti kontrolnej skupine, kde boli nižšie hodnoty na úrovni MSM 0,513 mg.kg⁻¹ a MLT 0,506 mg.kg⁻¹. Tieto rozdiely boli potvrdené aj preukaznosťou hodnotenou Anova a Tukey testom na úrovni významnosti P < 0,001 v experimentálnej skupine s organickým selénom (Tab.1).

Vyššie zastúpenie selénu v mäse pri podávaní vyššieho obsahu organického selénu v kŕmnej dávke potvrdili aj práce Mahana et al. (1999), Lahučkého et al.(2001) a Vernerovej et al. (2008) podľa ktorých prídavok organického selénu v kŕmnej dávke pri výkrme ošípaných zvyšuje obsah selénu v bravčovom mäse.

Tab. 1 Charakteristika koncentrácie selénu v sušine bravčového mäsa MSM a MLT

Ukazovateľ	Kontrolná skupina			Pokusná skupina			
	\bar{X}	S	min-max	\bar{X}	s	min-max	Tukey test
Selén v sušine mäsa MSM (mg.kg⁻¹)	0,513	0,041	0,422-0,545	1,293	0,158	1,113-1,351	+++
Selén v sušine mäsa MLT (mg.kg⁻¹)	0,506	0,036	0,443-0,562	1,364	0,206	1,134-1,463	+++

V druhej etape nášho výskumu sme bravčové mäso obohatené selénom po tepelnej úprave zaradili do jedálneho lístka vybranej skupiny ľudí. Pred začiatkom konzumácie sme stanovili koncentráciu selénu v krvnom sére v priemere 75,41 ± 14,18 μg.l⁻¹ u mužov a 75,21 ± 15,20 μg.l⁻¹ u žien. Po dvoch týždňoch konzumácie sa zvýšila koncentrácia selénu v krvnom sére u mužov v priemere na 86,69 ± 11,72 μg.l⁻¹, u žien na 87,93 ± 16,22 μg.l⁻¹. Po ukončení pokusu mierne klesla koncentrácia selénu u mužov na 85,75 ± 2,72 μg.l⁻¹ a u žien na 84,07 ± 15,62 μg.l⁻¹ (Tab. 2, graf č.1). V sledovanej skupine ľudí sme zistili preukazné zvýšenie koncentrácie selénu v krvnom sére po dvoch týždňoch konzumácie bravčového mäsa obohateného o selén (po 2. odbere) na úrovni významnosti P < 0,01. Rozdiel medzi vstupným odberom a odberom po ukončení konzumácie bol taktiež preukazný na úrovni významnosti P < 0,05.

Klinické a experimentálne štúdie potvrdzujú vzťah selénu k onkologickým a kardiovaskulárnym ochoreniam. Ako kritická hladina Se v krvnom sére sa uvádza $45 \mu\text{g.l}^{-1}$. V našom výskume sme nezaznamenali hodnoty Se v sére nižšie ako uvedená kritická hodnota. Koncentráciu selénu v plazme nižšiu ako $60 \mu\text{g.l}^{-1}$ uvádza Hač (2001), kde v štúdií stanovil 22 % vyšetrených osôb. Hladinu selénu nižšiu ako $60 \mu\text{g.l}^{-1}$ v krvnom sére sme stanovili u 12 % vyšetrených osôb.

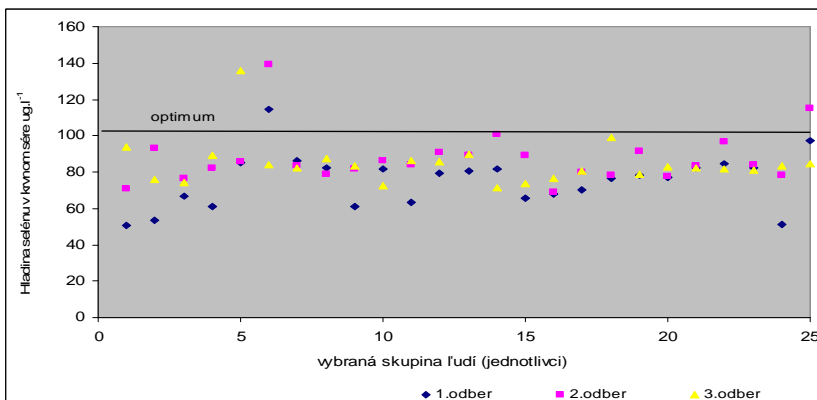
Autori Kadrabová, Maďarič (1997) uvádzajú výsledky klinickej štúdie, ktorá zahŕňala 1056 vyšetrených osôb pochádzajúcich z rôznych regiónov Slovenska, kde sa koncentrácie selénu v plazme pohybovali v rozsahu $45,8-76,9 \mu\text{g.l}^{-1}$. Pri porovnaní výsledkov sme zistili, že pri prvom odbere krvi sa koncentrácia selénu pohybuje v rozsahu $50,42-114,65 \mu\text{g.l}^{-1}$ a pri druhom odbere sa zvýšila koncentrácia v rozsahu $69,05-139,5 \mu\text{g.l}^{-1}$. Na základe dosiahnutých výsledkov môžeme konštatovať, že vyššia koncentrácia selénu v krvnom sére je podmienená príjmom tohto mikroprvku v strave.

Na základe vyplneného nutričného protokolu pred konzumáciou suplementovaného bravčového mäsa sme zistili, že priemerný denný príjem u mužov aj žien bol $110 \mu\text{g}$. Počas konzumácie bravčového mäsa obohateného o selén sa príjem selénu zvýšil o $35 \mu\text{g}$. WHO stanovila odporučený denný príjem selénu v množstve $50-200 \mu\text{g}$.

Tab. 2 Hodnotenie koncentrácie selénu v krvnom sére u ľudí

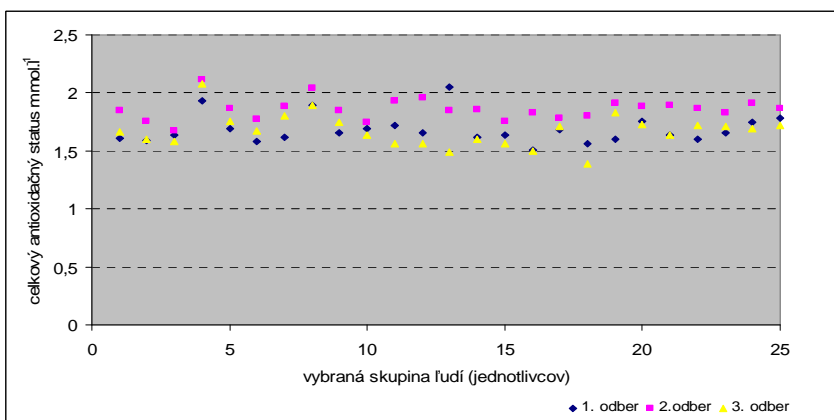
Pohlavie	1. odber $\mu\text{g.l}^{-1}$			2. odber $\mu\text{g.l}^{-1}$			3. odber $\mu\text{g.l}^{-1}$		
	\bar{X}	s	min-max	\bar{X}	s	min-max	\bar{X}	S	min-max
Muži (n=9)	75,41	14,18	51,23-97,15	86,69	11,72	77,70-115,34	85,75	2,72	82,28-89,62
Ženy (n=16)	75,21	15,20	50,42-114,65	87,93	16,22	69,05-139,50	84,07	15,62	71,15-135,57
Spolu (n=25)	75,28	14,54	50,42-114,65	87,48	14,51	69,05-139,50	84,68	12,48	71,15-135,57

Graf 1 Selénový status jednotlivcov u vybranej skupiny ľudí



Stanovenie celkových antioxidantných látok je založené na vzniku radikálu známej koncentrácie, ktorý zneškodňujú antioxidanty v posudzovanej vzorke mierou úmernou ich obsahu (Béderová, 1997). Celkový antioxidantný status sme stanovili v heparinizovanej plazme pri prvom odbere v priemere na úrovni $1,68 \pm 0,12 \text{ mmol.l}^{-1}$, v druhom odbere $1,86 \pm 0,09 \text{ mmol.l}^{-1}$ a v poslednom odbere v priemere $1,67 \pm 0,14 \text{ mmol.l}^{-1}$. Celkový antioxidantný status sa úmerne k selénovému statusu zvýšil počas dvojtyždňovej konzumácie bravčového mäsa obohateného selénom. Po ukončení pokusu u vybranej skupiny ľudí došlo k zníženiu hodnôt na úroveň vstupných meraní (graf č.2).

Graf 2 Celkový antioxidantný status jednotlivcov u vybranej skupiny ľudí



Pri hodnotení celkovej antioxidačnej kapacity sme zistili preukazné zvýšenie po druhom odbere pri významnej preukaznosti $P < 0,001$. Po ukončení výskumu celkový antioxidačný status opäť klesol na pôvodnú hladinu, kde rozdiel medzi vstupným odberom a odberom po ukončení konzumácie bol štatisticky nepreukazný.

ZÁVĚR

Z dosiahnutých výsledkov môžeme konštatovať, že použitie prídavku organického selénu (SEL PLEX) do kŕmnych zmesí pre jatočné hybridné ošípané má význam pre efektívny prenos esenciálneho mikroprvku selénu do jednotlivých zložiek potravinového reťazca. Výsledky poukazujú na hlavné výhody aplikácie organického selénu jatočných ošípaných, akými sú retencia selénu v svaloch a tkanivách jatočného tela. Zaradenie suplementovaného bravčového mäsa do výživy ľudí vedie k zvýšeniu selénového statusu a tým aj k ochrane buniek imunitného systému pred poškodením pri oxidačnom strese.

LITERATURA

- Kadřabová J., Maďarič A. (1997): Úloha selénu vo výžive. *Výživa a zdravie*, 3(42): 50-52.
- Rayman M. P. (2005): Selenium in cancer prevention: a review of the evidence and mechanism of action. *Proceedings of the Nutrition Society*, 64(4): 527-542.
- Ľahučký, R. (2001): Závěrečná správa za etapu č. 00-27-21-03-02. Možnosti zlepšenia technologickej, nutričnej a senzorickej kvality mäsa aplikáciou biologicky účinných látok. *VÚŽV Nitra*. 2001.
- Mahan D. C., Clinet T. R., Richert, B. (1999): Effects of Dietary Levels of Selenium. *Journal of Animal Science*, 77: 2172-2179.
- Vernerová J., Pipek P., Sklenářová M. (2008): Kvalita vepřového masa obohaceného selénem. *Věda a výskum. Maso*, 1: 86-89.
- Besedová A., Kudláčková M., Šimončíč R., Grančičová E., Magálová T., Brtková A. (1997): Celkový antioxidačný stav a antioxidačné vitamíny u vybranej skupiny detí a dospievajúcich. *Hygiena*, 42(2): 92-98.
- Hać E., Krechniak J., Szyszko M. (2001): Selenium in Plasma of Inhabitants of the Gdansk Region. *Polish Journal of Environmental Studies*, 10(4): 275-278.

COMPARISON OF THE INFLUENCE OF ORGANIC AND ANORGANIC FORM OF ZINC AND MANGANESE ON THE QUALITY AND QUANTITY OF THE EJACULATE OF BOARS

Horký P., Jančíková P., Zeman L.

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

E-mail: pavel.horky@mendelu.cz

ABSTRACT

The experiment was based on the comparison of organic and inorganic form of microelements - zinc and manganese, fed to boars. We studied influence of level these elements on reproduction performance (volume of ejaculate and the percentage of pathologic sperms).

On the start of experiment we had a number of 85 boars, which divided into two groups (control and experimental). The whole experiment proceeded 3 months.

At the end of the experiment we found out that in the group with the organic bound microelements. We got a higher average volume of the ejaculate from 225.6 ± 94.30 to 255.66 ± 106.74 ml. At the organic form we determined the result from 224.57 ± 78.90 ml to 236.72 ± 100.58 ml of ejaculate.

At the percentage of pathological sperms we registered the reduction from $8.51\% \pm 6.79$ to $5.53\% \pm 3.54$ with organic microelements; on the contrary inorganic form showed the reduction from $7.47\% \pm 5.48$ to 6.46 ± 5.01 .

Key words: zinc, manganese, volume of the ejaculate sperm, boars

Acknowledgments: The results were obtained with financial support by the research plan TP 8/2010.

ÚVOD

Práce porovnává dvě různé formy minerálních prvků (organickou a anorganickou) pomocí hodnocení reprodukčních ukazatelů u plemenných kanců. Do pokusu byly zařazeny dva prvky (mangan a zinek), které mají přímý vliv na reprodukci.

Podle dostupných literárních zdrojů je organická forma minerálních látek pro organismus dostupnější a lépe využitelná než anorganicky vázané stopové prvky.

Podle ZEMANA (2004) minerální látky ve formě chelátů zlepšují reprodukční schopnost u prasnic, kvalitu špárků, podporují zlepšení imunitního systému a kvalitu semene u kanců.

Pro aplikaci do krmných dávek zvířat jsou vyvíjeny nové produkty krmivářských biotechnologií, zdroje makro a mikroprvků v organicky vázaných formách. Tyto zdroje představují nutriční faktory, které mohou příznivě ovlivnit využití živin (stravitelnost, retenci, bilanci), zlepšit kvalitu a kvantitu produkce. Tím, že je jejich využitelnost pro organismus vyšší než u anorganických solí prvků, je také jejich vylučování z těla nižší, snižuje se riziko zvýšené kontaminace životního prostředí. Minerální látky vázané na organickou transportní složku – cheláty – ovlivňují příznivě stravitelnost živin. Bioplexy zinku a manganu mají vliv na zvýšení plodnosti u samic i samců (ŠIMEK a kol. 2001). Konkrétně zinek se podílí na rozvoji Leidigových buněk, podmiňuje reakci na luteinizační hormon a podporuje produkci testikulárních hormonů (HASKETH, 1982; cit., CLOSE a COLE, 2003).

Cílem našeho pokusu bylo zjistit zda uvedené zdroje mikroelementů budou mít pozitivní vliv na námi sledované reprodukční ukazatele u kanců (objem ejakulátu a procento patologických spermií).

MATERIÁL A METODIKA

Vlastní pokus jsme prováděli na ISK ve Velkém Meziříčí. Do experimentu bylo zařazeno 85 kanců, rozdělených do dvou skupin sestavených tak, aby každá skupina byla vyrovnaná věkově, (rozmezí mezi pokusnými zvířaty od 1 do 3 let) i po plemenné stránce. Do pokusu byli zahrnuti kanci plemen Durok, Bílé ušlechtilé, Landrase, a otcovská plemena SL 38 (Pn x DU), SL 48 (LW x Pn).

Oběma skupinám zvířat byla krmena základní krmná směs (viz. tab.1), která neobsahovala zinek ani mangan v základním premixu. Tyto dva prvky byly dodávány do základní krmné dávky kontrolní skupině v anorganické formě a skupině pokusné ve formě organické. Zinek byl suplementován kontrolní i pokusné skupině do krmné dávky v množství 99,88 mg/kg/KS a mangan 98,80 mg/kg/KS. V základní krmné dávce bylo obsaženo z krmných surovin 26,25 mg zinku na kg/KS a 29,23 mg manganu na kg/KS. Kancům bylo denně krmeno 3,3 kg krmné směsi. Zvířatům

MENDELNET 2010

byl premix aplikován každý den při ranním krmení. Jako nosič v pokusném premixu byla použita krmná mouka a krmný vápenec.

Námi sledované reprodukční parametry (objem ejakulátu a koncentrace spermií) byly hodnoceny přímo v laboratoři na inseminační stanici kanců ve Velkém Meziříčí. Kanci byli odebíráni v průměru jednou týdně s ohledem na jejich zdravotní stav a věk kance. Zdravotní stav byl sledován veterinárním lékařem.

Spermatogeneze trvá u kance kolem 42 dní. Z tohoto důvodu byla délka pokusu stanovena na 3 měsíce. Výsledná data byla vyhodnocena pro každý měsíc zvlášť. Experiment započal začátkem května a byl ukončen koncem července. Získané výsledky byly statisticky vyhodnoceny analýzou variance a souhrmných charakteristik dle SNEDECORA a COCHRANA (1971).

Tab. 1 Složení krmné směsi pro kance

Komponenta	Ječmen setý	Pšenice	Oves semeno	SEŠ	Molcolac	Monodikalciumpfosfát
% zastoupení	32,07	26	20	14	2,5	1,3

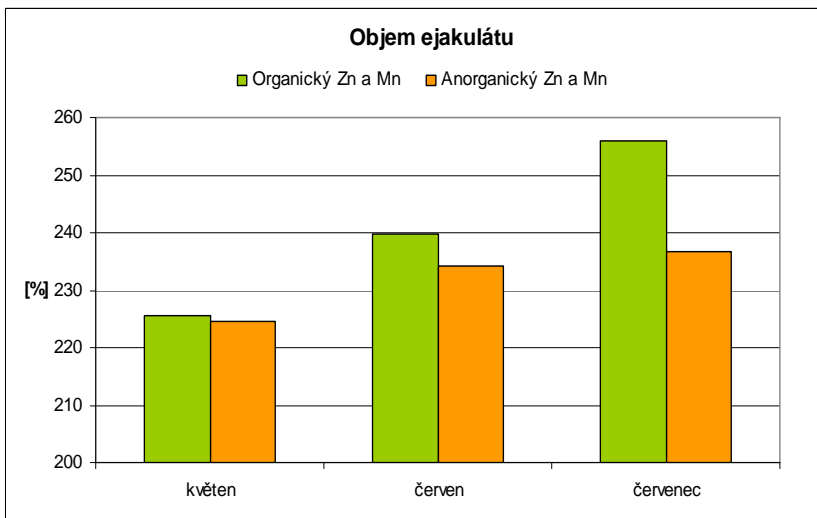
L-Lyzin HCl	Bergafat	Uhlíčan vápenatý	KA 0,5 %	Oxid hořečnatý	Chlorid sodný	Methionin DL
1,5	1,5	1,15	0,5	0,3	0,3	0,02

VÝSLEDKY A DISKUZE

Průměrný objem ejakulátu se první měsíc experimentu pohyboval v množství $224,57 \pm 78,90$ ml u kontrolní skupiny a $225,60 \pm 94,30$ u skupiny pokusné. Ve druhém měsíci pokusu jsme již mohli sledovat první změny v objemu ejakulátu. Došlo ke zvýšení jak u skupiny kontrolní na $234,14 \pm 84,78$ ml tj. zvýšení o 4,09 %, tak i skupiny pokusné skupiny, kde průměrná hodnota dosáhla $239,66 \pm 106,74$ ml tj. zvýšení o 5,86 %. Jak již bylo řečeno dříve krmný zásah se projeví na reprodukčních ukazatelích kanců cca po 42 dnech, proto bylo zvyšování ve druhém měsíci pouze pozvolné. Podobný trend zvyšování objemu ejakulátu pokračoval i v následujícím třetím sledovaném měsíci, kde rozdíl mezi kontrolní a pokusnou skupinou činil v průměru 18,94 ml na jeden odběr. Když se podíváme podrobněji, tak kontrolní skupina, které byly podávány anorganické

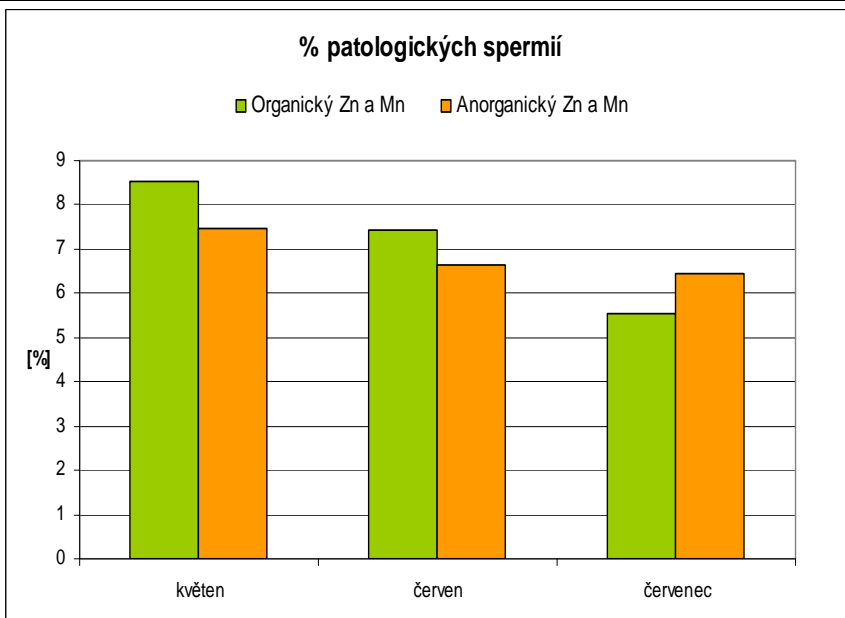
MENDELNET 2010

stopové prvky vykazovala v průměru $236,72 \pm 100,58$ ml tj. zvýšení o 5,4 % od začátku trvání pokusu. U pokusné skupiny s přidavkem organicky vázaného zinku a manganu byl zaznamenán nárůst v průměrné produkci ejakulátu na $255,66 \pm 106,74$ ml tzn. nárůst o 13,3 % od začátku experimentálního období. Z těchto výsledků vidíme, že u skupiny pokusné došlo ke zvýšení o 7,9 % ve srovnání se skupinou kontrolní. Celkový vývoj objemu ejakulátu za sledované období je dobře patrný z grafu č. 1. Jak z uvedeného grafu vyplývá tendence růstu objemu ejakulátu byla patrná, nicméně statisticky neprůkazná ($p > 0,05$).



Graf č. 1

U druhého sledovaného ukazatele procenta patologických spermií vykazovala na počátku pokusu kontrolní skupina hodnoty $7,47 \% \pm 5,48$ a skupina pokusná $8,51 \% \pm 6,79$. Ve druhém měsíci se začala pomalu projevat klesající tendence u obou skupin v porovnání s prvním sledovaným obdobím, u kontrolní skupiny zvířat $6,63 \% \pm 5,62$ a u skupiny pokusné činilo procento patologických spermií $7,44 \pm 7,38$ %. Ve třetím měsíci sledování vykazovala kontrolní skupina téměř stejnou hodnotu jako ve druhém období $6,46 \% \pm 5,01$, zatímco u pokusné skupiny stále pokračovala klesající tendence v procentu patologických spermií na hodnotu $5,53 \% \pm 3,54$. Celkově za celé pokusné období kleslo procento patologických spermií u kontrolní skupiny o 1,01 % a pokusné skupiny o 2,98 %. Vývoj obsahu patologických spermií v ejakulátu je patrný z grafu č. 2. Jak z uvedených čísel vyplývá, tendence v poklesu patologických spermií byla patrná nicméně statisticky neprůkazná ($p > 0,05$).



Graf č. 2

Se statistickou neprůkazností souhlasí i ALTHOUSE a kol. (2000); cit., WILSON a kol., (2004), který ve svých pokusech zvyšoval množství organicky vázaného zinku nad normou stanovenou hranicí a nedosáhl, podobně jako v našem případě, žádného výraznějšího kvantitativního a kvalitativního zvýšení reprodukčních ukazatelů u plemenných kanců. Naopak MANDELÍKOVI a kol., (2006) se ve svých pokusech po jednorázové injekční aplikaci 10 mg Zn/kg ž.hm. u plemenných kanců podařilo ovlivnit některé kvantitativní a kvalitativní reprodukční ukazatele (koncentrace spermií, motilita, % patologických spermií). V našem experimentu se nepodařilo tyto hodnoty potvrdit, jelikož jsme podávali několikanásobně menší dávku než zmiňovaný autor. ALCANTARA a kol. (2004) do jisté míry koreluje s našimi výsledky, uvádí, že při jeho experimentu, který trval 5 měsíců po suplementaci Zn-methionin se trvale zvýšila mimo jiné i koncentrace spermií a objem ejakulátu, avšak na procento patologických spermií neměla organická forma prvku výraznější vliv.

Jak je patrné z těchto výsledků, je třeba v experimentu pokračovat a dobu pozorování prodloužit na delší časový interval. Jelikož časový harmonogram spadl do horkých letních měsíců, zejména červen a červenec, které se vyznačovaly nadprůměrnými teplotami, je možné, že docházelo u zvířat k teplotnímu stresu. Podle OPLETALA a SKŘIVANOVÉ (2010) je pro spermatogenezi velmi důležitá teplota - při zvýšení nad 25 °C je nepochybné, že dojde i k výraznému ovlivnění spermiogramu.

ZÁVĚR

V pokuse který byl prováděn na 85 kancích, byla srovnávána organická a anorganická forma mikroelementů zinku a manganu. Zvířata byla rozdělena do dvou vyrovnaných skupiny u kterých byl sledován objem ejakulátu, který činil u kontrolní skupiny $236,72 \pm 100,58$ ml a u skupiny pokusné $255,66 \pm 106,74$ ml., což znamenalo nárůst 13,3 % u pokusné skupiny zvířat od začátku trvání pokusu. Dalším sledovaným parametrem bylo procento patologických spermií, které činilo $6,46 \pm 5,01$ % u kontrolní skupiny a $5,53 \pm 3,54$ % u skupiny pokusné. Celkově od počátku trvání pokusu se snížilo procento patologických spermií u pokusné skupiny o 2,98 % a u kontrolní o 1,01 %.

Z našich výsledků vyplývá, že po aplikaci organicky vázaného zinku a manganu došlo ke zvýšení objemu ejakulátu a k poklesu procenta patologických spermií, přičemž nejvyšší rozdíly byly patrné ve třetím měsíci sledování. Nicméně výsledky mohou být do jisté míry zkresleny vysokými teplotami, které panovaly právě v posledních dvou měsících trvání pokusu.

LITERATURA

ALCANTARA, A.A., et al. The effect of zinc methionine complex supplementation on boar semen quality. *Philippine Journal of Veterinary Medicine*. 2004, 8, s. 77-84.

CLOSE, W.H.; COLE, D.J.A. *Nutrition of Sows and Boars*. Vyd. 1. Nottingham : Nottingham University Press, 2003. 377 s. ISBN 978-1-897676-530.

MANDELÍK, R., et al. The influence of parenteral administration of zinc on the reproductive performance of boars. *Folia Veterinaria*. 2006, 18, s. 28-32.

OPLETAL, L. ; SKŘIVANOVÁ, V. *Přírodní látky a jejich biologická aktivita : Využití látek pro ovlivnění fyziologických procesů hospodářských zvířat*. Vyd. 1. Praha : Karolinum, 2010. 653 s. ISBN 978-80-246-1801-2.

ŠIMEK, M., et al. *Organické zdroje minerálních látek a zatížení životního prostředí*. Vyd. 1. Praha : ústav zemědělských a potravinářských informací, 2001. 37 s. ISBN 80-7271-092-3.

WILSON, M. E.; ROZEBOOM, K. J.; CRENSHAW, T. D. Boar Nutrition for optimum Sperm Production. *Advances in Pork Production*. 2004, 15, s. 295-306.

ZEMAN, L. *Výživa a krmení prasat*. Vyd. 1. Brno : Ediční středisko MZLU v Brně, 2004. 98 s. ISBN 80-715-558-5.

RELATIONSHIP OF FEED ADDITIVES TO BLOOD FORMATION AND PERFORMANCE OF HORSES

Jančíková P., Horký P., Zeman L.

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

E-mail: xjancik5@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The objective of this experiment was to determine the influence of feed additives on selected haematological and biochemical parameters blood of horses. Seven horses were used for trial conducted in stable Boudky – Velké Němčice. In the initial day as well as after ten days of experiment blood samples from selected horses were taken and then analyzed. At the beginning the number of red blood cells reached the average value $7.46 \pm 0.67 \text{ T.l}^{-1}$. After application of feed additives, there was a statistically significant ($P < 0.05$) increase red blood cell level to $7.89 \pm 0.76 \text{ T.l}^{-1}$. The content of hemoglobin in the control sampling amounted to $11.47 \pm 0.83 \text{ g.dl}^{-1}$, an experimental collection revealed no significant difference and was $12.01 \pm 1.22 \text{ g.dl}^{-1}$. Hematocrit value increased significantly ($P < 0.05$) from $33.19 \pm 3.65 \text{ l.l}^{-1}$ to $35.33 \pm 3.66 \text{ l.l}^{-1}$. In the control collection, we found the average amount of bilirubin to be $11.52 \pm 2.46 \mu\text{mol.l}^{-1}$ and due to feeding additives the bilirubin value rose statistically ($P < 0.01$) to $18.86 \pm 4.18 \mu\text{mol.l}^{-1}$. Diet enriched with those feed additives, together with an appropriate training plan is one of the options to increase blood production and thus performance of horses, as well as quicker recovery after sport exercise.

Key words: horses, red blood cells, hemoglobin, hematocrit, bilirubin, feed additives

Acknowledgments: The work was created within the framework of Grant IP 9 /2010 „The effect of feed additives on the quality of skin derivatives and biochemical a horse’s blood “, funded by the Internal grant agency of Mendel University in Brno (IGA).

ÚVOD

Na dodávce kyslíku v organismu závisí celá energetická přeměna živin. Molekula kyslíku je krví roznašena do tkání červenými krvinkami ve vazbě na hemoglobin. Proto je množství plnohodnotných a zdravých červených krvinek s vysokým obsahem hemoglobinu velmi důležité pro okysličování tkání a aerobní výkon koně. Adekvátní erythropoéza vyžaduje neustálé dodávání nezbytných živin, vitamínů a minerálů (Jain, 1993). Tvorba erytrocytů a hemoglobinu je náročná na příjem a využití železa, mědi, aminokyselin, vitamínu B₁₂ a kyseliny listové (Jelínek, Koudela et al., 2003). Jílek et al. (2008) uvádí též potřebu kobaltu, vitamínu B₆, B₂ a vitamínu C. Cíl naší práce spočíval ve vyhodnocení vlivu krmného aditiva na vybrané hematologické a biochemické ukazatele krve koní.

MATERIÁL A METODIKA

Do pokusu provedeného na Farmě Boudky – Velké Němčice bylo zařazeno 7 koní plemene Český teplokrevník. U žádného z pokusných koní nebyly zjevné příznaky onemocnění. Koni různého věku, stejného pohlaví, obdobné hmotnostní kategorie a středně těžkého pracovního zatížení, byli podrobeni odlišné výživě. Experiment probíhal 10 týdnů. V den zařazení do sledování jsme započali zkrmovat pokusnou směs krmných aditiv v množství 10 g/den (Tab. 1). Odběry krevních vzorků byly provedeny na počátku pokusu, tyto vzorky sloužily jako kontrolní a druhé následovaly po deseti týdnech zkrmování sledovaného aditiva.

Tab. 1 Obsah látek v 1 kg premixu

Složení	Jednotka	Obsah
Síra	g	10
Měď	mg	2000
Zinek	mg	10000
Biotin	mg	6000
Pyridoxin	mg	1500
Riboflavin	mg	2000
Vit. B ₁₂	mg	10
Vit. D	IU*	100000
Methionin	g	200
Glukóza	g	100
BHT	mg	25
BHA	mg	5
Etoxyquin	mg	50

International Unit

Krev byla odebírána z *vena jugularis externa* do plastových vzorkovnic s antikoagulačním roztokem – heparin, EDTA. Vzorky krve byly uskladněny do přepravního boxu a vždy nejpozději do 2 hodin od odběru analyzovány. Hematologická vyšetření byla provedena na přístroji ABC Vet, klinické chemické parametry jsme stanovili na zařízení Reflotron Plus za použití Reflotron reagenčních proužků. Vzorky byly odebrány v souladu s předpisy pro pokusy na zvířatech (zákon č. 91/1996 Sb. a č. 544/2002 Sb.). Získané výsledky byly statisticky vyhodnoceny testem významnosti průměrného rozdílu – párový t-test dle Roda (1966).

VÝSLEDKY A DISKUZE

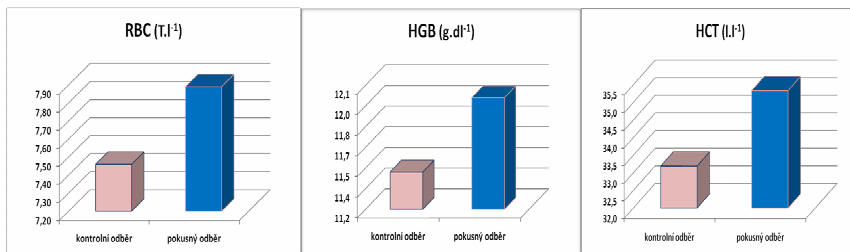
U pokusných koní se v průběhu experimentu neprojeví žádné závažné zdravotní poruchy. Pokus trval 10 týdnů, během nichž jsme koním obohatili jejich základní krmnou dávku, tvořenou přibližně 9 kg sena a 3 kg ovsu, o krmné aditivum v množství 10 g/den (složení uvádí Tab. 1).

Dle Hanáka (1996) erythrocyty představují hlavní masu buněčných elementů krve. Průměrné množství červených krvinek (RBC) na počátku pokusu činilo $7,46 \pm 0,67 \text{ T.l}^{-1}$. Zjištěná hodnota se pohybuje ve fyziologickém rozmezí 6,8 – 12,9 T.l^{-1} udávaném Doubkem et al. (2007), podobnou průměrnou hodnotu na počátku experimentu stanovili i Jaussaud et al. (1994) a to $6,9 \pm 1,2 \text{ T.l}^{-1}$. V publikaci od Stockhame a Scott (2002) je zaznamenána hodnota RBC pro dospělého zdravého koně 8 T.l^{-1} . Jaine (1993) publikoval rozmezí $8,57 \pm 0,98 \text{ T.l}^{-1}$, které experimentálně stanovili Lowseth et al. (1990). Ogoňski a Cieśla (2009) došli k závěru, že po deseti týdenní pracovní sezóně nastal pokles RBC z $10,3 \pm 0,23 \text{ T.l}^{-1}$ na $7,8 \pm 0,07 \text{ T.l}^{-1}$. Aplikací krmného aditiva došlo ke statisticky průkaznému ($P < 0,05$) zvýšení průměrného počtu červených krvinek na úroveň $7,89 \pm 0,76 \text{ T.l}^{-1}$.

Počet erythrocytů je zpravidla v přímém vztahu k hodnotě hematokritu a hemoglobinu (Hanák, 1996). Toto tvrzení jsme potvrdili i v našem sledování (Graf 1). Hemoglobin přenášející O_2 , CO_2 a protony (Murray et al., 2002) dosáhl průměrného množství na počátku pokusu $11,47 \pm 0,83 \text{ g.dl}^{-1}$, pokusný odběr neprokázal signifikantní rozdíl a činil $12,01 \pm 1,22 \text{ g.dl}^{-1}$. Tato hodnota, i přes mírný nárůst, leží pouze na dolní hranici fyziologického rozmezí 12 – 18 g.dl^{-1} , které uvádí Hanák (1996). Altinsaat (2008) experimentálně stanovil průměrné hodnoty pro dospělé hřebce v rozmezí $11,60 \pm 0,22 \text{ g.dl}^{-1}$ a klisny $13,57 \pm 0,5 \text{ g.dl}^{-1}$. Feldman et al. (2000) zaznamenali rozmezí 10,2 – 13,8 g.dl^{-1} . Nazifi a Rategh (2005) zjistili průměrnou hodnotu hemoglobinu pro koně starší 5ti let $11,4 \pm 2 \text{ g.dl}^{-1}$. Lowseth et al. (1990); cit., Jaine (1993) stanovili průměrnou hodnotu pro dospělé koně v rozmezí $14,4 \pm 1,6 \text{ g.dl}^{-1}$.

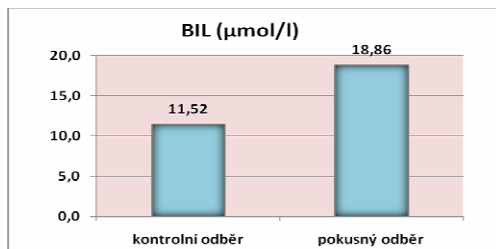
Obsah hemoglobinu (HGB) v krvi má ve většině případů kladnou korelaci s hematokritovou hodnotou (Hanák, 1996). Objem krve zaujímaný červenými krvinkami, tedy hodnota hematokritu (HCT) Sellnow (2001), v kontrolním odběru dosáhl $33,19 \pm 3,65 \text{ l.l}^{-1}$. Tato hodnota odpovídá dolní hranici fyziologického rozmezí 0,30 – 0,42 l.l^{-1} , které publikovali Mihály et al. (2002) i hodnotám 0,32 – 0,53 l.l^{-1} stanovenými Doubkem et al. (2003). Množství hematokritu v pokusném odběru vykazovalo statisticky průkazné ($P < 0,05$) zvýšení na $35,33 \pm 3,66 \text{ l.l}^{-1}$. Jaussaud et al. (1994) publikovali průměrné zastoupení hematokritu u koní, kterým nebyl proveden zásah do krmné dávky $32,5 \pm 6,4 \text{ l.l}^{-1}$. Reece (1998) uvádí hodnotu hematokritu 41 l.l^{-1} .

Graf 1 Znárodnění nárustu počtu erytrocytů, hodnot hemoglobinu a hematokritu po 10ti týdenní aplikaci krmného aditiva



Bilirubin je hlavní organický produkt katabolismu hemu v systémové cirkulaci a jeho produkce, metabolismus i vylučování jsou udržovány v rovnováze (VÍTEK et al., 2003). Na počátku pokusu dosahovalo průměrné množství celkového bilirubinu $11,52 \pm 2,46 \mu\text{mol.l}^{-1}$. Aplikací krmného aditiva jsme docílili signifikantního zvýšení počtu červených krvinek a navýšení množství hemoglobinu, což se adekvátně projevilo i na hladině bilirubinu (Graf 2), která vysoce průkazně ($P < 0,01$) vzrostla na $18,86 \pm 4,18 \mu\text{mol.l}^{-1}$. Referenční hodnoty stanovené Doubkem et al., (2007) leží v rozmezí 7 – 35 $\mu\text{mol.l}^{-1}$. Jiran (1994) udává rozpětí pro teplokrevné koně 5 – 31 $\mu\text{mol.l}^{-1}$. Frappe (2010) publikoval zvýšení koncentrace bilirubinu nad 34 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ jako ukazatel ikteru. Nami zjištěné hodnoty se pohybovaly v uvedených fyziologických rozmezích.

Graf 2 Zvýšení koncentrace celkového bilirubinu



ZÁVĚR

Cíl naší práce spočíval ve vyhodnocení vlivu krmného aditiva na vybrané hematologické a biochemické ukazatele krve koní. Počet červených krvinek na počátku bilance dosahoval průměrné hodnoty $7,46 \pm 0,67 \text{T.l}^{-1}$. Aplikací krmného aditiva došlo ke statisticky průkaznému ($P < 0,05$) zvýšení počtu erytrocytů na úroveň $7,89 \pm 0,76 \text{T.l}^{-1}$. Obsah hemoglobinu v kontrolním odběru dosahoval $11,47 \pm 0,83 \text{g.dl}^{-1}$, pokusný odběr neprokázal signifikantní rozdíl a činil $12,01 \pm 1,22 \text{g.dl}^{-1}$. Hodnota hematokritu statisticky průkazně ($P < 0,05$) vzrostla z $33,19 \pm 3,65 \text{l.l}^{-1}$ na $35,33 \pm 3,66 \text{l.l}^{-1}$. V kontrolním odběru bylo stanoveno průměrné množství bilirubinu $11,52 \pm 2,46 \mu\text{mol.l}^{-1}$, které se po zkrmování premixu vysoce průkazně ($P < 0,01$) navýšilo na

18,86 ± 4,18 μmol.l⁻¹. Dieta obohacená o uvedené krmné aditiva, společně s přiměřeným tréninkovým plánem je jednou z možností vedoucí ke zvýšení krvinek a tím související výkonnosti koně a k rychlejší regeneraci organismu po sportovním výkonu.

LITERATURA

ALTINSAAT, C. The Effects of Age and Gender on Blood Parameters in Arabian Horses. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* [online]. 2008, 14, 2, [cit. 2010-10-06]. Dostupný z WWW: http://vetdergi.kafkas.edu.tr/extdocs/2008_2/173_178.pdf.

DOUBEK, J., et al. *Interpretace zkladních biochemických a hematologických nálezů u zvířat*. Brno : Noviko a.s., 2007. 77 s. ISBN 80-86542-16-5

DOUBEK, J, et al. *Veterinární hematologie*. 1. Brno : Noviko a.s., 2003. 464 s. ISBN 80-86542-02-5.

FELDMAN, B. F; ZINKL, J. G; JAIN, N. C. *Schalm's veterinary hematology* [online]. 5. USA : Blackwell Publishing, 2000 [cit. 2010-09-27]. Dostupné z WWW: http://books.google.com/books?id=HKCDyJH41IcC&printsec=frontcover&hl=cs&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false.

FRAPE, D. *Equine Nutrition and Feeding* [online]. 4. UK : John Wiley and Sons, 2010 [cit. 2010-10-07]. Dostupné z WWW: http://books.google.cz/books?id=qTtgmCp5izQC&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false.

JAIN, N. C. *Essentials of veterinary hematology* [online]. 1. USA : Wiley-Blackwell, 1993 [cit. 2010-09-27]. Dostupné z WWW: http://books.google.com/books?id=5jlcDIG-AUMC&printsec=frontcover&hl=cs&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false.

JAUSSAUD, P, et al. Kinetics and haematological effects of erythropoietin in horses.. *Veterinary research* [online]. 1994, 25, 6, [cit. 2010-10-06]. Dostupný z WWW: http://www.vetres-archive.org/file/Vet.Res._0928-4249_1994_25_6_ART0006.pdf.

JELÍNEK, P., KOUDELA, K., et al. *Fyziologie hospodářských zvířat*. 1. vyd. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2003. 414 s. ISBN 80-7157-644-1.

JÍLEK, F., et al. *Biologické základy chovu HZ*. 3. vyd. Praha : Zemědělská universita v Praze, 2008. 236 s. ISBN 978-80-213-1563-1.

JIRAN, E. *Směrné hodnoty důležitých laboratorních vyšetření pro domácí zvířata*. 1. Jílové u Prahy : VETPRES - vydavatelství a.s. Biopharm, 1994. 127 s.

MIHÁLY, M, et al. *Hematologický a biochemický profil koní* [online]. Slovensko : Ultramed s.r.o., 2002 [cit. 2010-09-26]. Dostupné z WWW: http://getwell.sk/files/documents/hematologicky_a_biologicky_profil_koni.pdf.

MURRAY, K, et al. *Harperova biochemie*. 4. Jinočany : Nakladatelství H+H, 2002. 872 s. ISBN 80-7319-013-3.

NAZIFI, S; RATEGH, S. Haemoglobin types and blood concentrations of haemoglobin, copper, ceruloplasmin and iron in adult Caspian miniature horses. *Revue Med. Vet.* [online]. 2005, 156, 1, [cit. 2010-10-06]. Dostupný z WWW: http://www.revmedvet.com/2005/RMV156_50_52.pdf.

OGOŃSKI, T; CIEŚLA, A. Total antioxidants and antioxidant system microelements in the blood plasma of recreation saddle-horses after a ten-week-long working season. *Medycyna Wet* [online]. 2009, 65, 6, [cit. 2010-10-08]. Dostupný z WWW: <http://medycynawet.edu.pl/pdf2009/062009/200906394398.pdf>.

REECE, W. O. *Fyziologie domácích zvířat*. 1. vyd. Praha : Grada Publishing, 1998. 456 s.

SELLNOW, L. It's in the Blood . *The horse.com* [online]. 2001, [cit. 2010-10-08]. Dostupný z WWW: <http://www.thehorse.com/ViewArticle.aspx?ID=868>.

STOCKHAM, S. L; SCOTT, M. A. *Fundamentals of veterinary clinical pathology* [online]. 1. USA : Wiley-Blackwell, 2002 [cit. 2010-09-27]. Dostupné z WWW: http://books.google.com/books?id=xkZdRU93PGUC&printsec=frontcover&vq=count+of+erythrocytes+of+horse&hl=cs&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false.

OPTIMIZATION OF PHOSPHORUS RETENTION FROM THE FEED BY BROILER CHICKENS ORGANISM USING PHYTASE

Kliment M., Angelovičová M.

Department of Food Hygiene and Safety, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

E-mail: mkmartinkliment@gmail.com

ABSTRACT

Efficiency of microbial phytase in phosphorus utilization was investigated in fattening type of broiler chickens Cobb 500 fed soyabean-maize based feed mixtures from day 1 to 42. Broiler chickens were fed the following feed mixtures: control group (4.5 g per kg P), experimental group 1 (2.3 g per kg) and experimental group 2 (2.3 g per kg P + microbial phytase 0.1%). Each feed mixture were fed *ad libitum* to chickes in boxes in commercial poultry farm. To reflect the utilization rate of phytate phosphorus, were excrements of broiler chickens in the end of experiment collected. These samples were subsequently. For comparison of results took into account the phosphorus content in feed mixtures and in excreta. In addition we concluded that phytase addition to the feed mixtures helped to better utilization of phytate phosphorus from feed mixtures.

Key words: microbial phytase, phosphorus, broiler chickens, feed mixtures, excreta

Acknowledgments: This work was supported by Scientific Grac Agency under the contract No. VEGA 1/0509/08

INTRODUCTION

Broiler diets have been mainly made from plant-based feed ingredients that, in addition to serving as dietary sources of starch (energy), protein, and fat, also contribute substantially to the total dietary phosphore content. However, over 60% of the total phosphore from conventional ingredients such as corn, wheat, and soybean meal (**Plumstead et al., 2008**). The application of poultry waste with increased P to land can become an environmental concern if P is leached from the soil. This environmental problem is posing a great to intensive poultry fading on a global basis. The low biological availability of phytate P (PP) from most feedstuffs for poultry means that meeting the nutritional requirement of P will depend upon feeding feed phosphatases with higher availability or feeding a combination of a commercial feed phytase plus feed phosphatases (Managi et al., 2009). Environmental pollution due to excretion of certain unutilized mineral compounds like phytate phosphorus (PP) from large-scale poultry farming compelled the nutritionists to redefine the optimum levels of P and Ca for chicken (Rama Rao et al., 2006). There are numerous studies demonstrating the favourable effect of phytase on the phytate-P availability. In other words, phytase releases phosphorus from the phytate, making it available for monogastric animals thereby reducing environmental P-excretion. The use of microbial phytase in the monogastric feed is an attractive option to supply more digestible phosphorus to livestock and to overcome the shortage in mineral phosphates without imposing an additional risk to the environment and the food chain (as an effective and sustainable approach) (Huyghebaert et al., 2009).

MATERIAL AND METHODS

We realized an experiment at a commercial farm, where housing conditions were maintained for the fattening of broiler chickens. We used self model experimental technology of feeding and water feed. We used in the experiment the final fattening type of broiler chickens Cobb 500 and feed mixtures starter, grower and finisher with a higher proportion maize. The experiment consisted of three groups: control group and two experimental groups. Feed mixtures of one experimental group were enriched with microbial phytase derived from *Schizosaccharomyces pombe*. Other groups, control and experimental had different content of phosphorus.

Table 1 Scheme of the experiment

	Type of chickens	Phase of fattening	Group	P content in feed mixtures (g per kg)	Phytase
Experiment	<i>Cobb 500</i>	Starter	Control	4.5	-
		Grower	Exp. 1	2.3	-
		Finisher	Exp. 2	2.3	0.1%

Exp. 1 – experimental 1, Exp. 2 – experimental 2

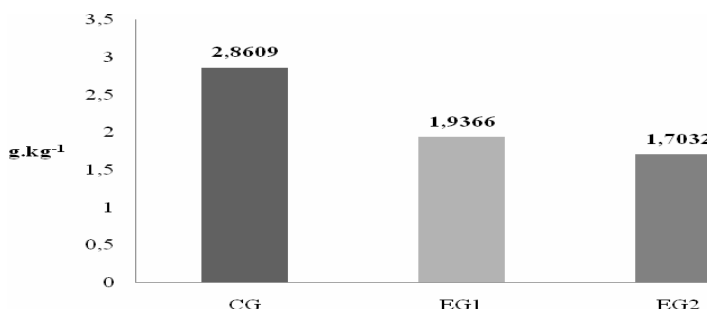
Every group in the experiment was different in composition of the feed mixtures. In control group were used traditional feed mixtures with P content 4.5 g per kg. Feed mixtures used in experimental groups were differed with the content of active substance. Both feed mixtures has P content 2.3 g per kg, but the second experimental group was supplemented with 0.1 % of microbial phytase.

Excreta samples were randomly collected from each followed group in the end of fattening. The excreta collections were pooled and dried for nutrient analysis. Phosphorus was analysed spectrophotometrically by method AAS on equipment VARIAN 240 FS. Results were calculated on phosphorus content of the original matter.

RESULTS AND DISCUSSION

During the fattening period broiler chickens fed diets with different composition. Picture 1 shows content of phosphorus of excreted broiler chicken manure.

Figure 1 Phosphorus content in broiler chickens excreta (g per kg)



CG – control group, EG1 – experimental group 1, EG2 - experimental group 2

We conclude that the phosphorus content in the excluded excrements is lower in comparison with the phosphorus content in feed mixtures (table 1). However, we noted differences across experimental groups. Enzyme phytase was used in this experiment in order to reduce the rate of excretion of phosphorus by the body of chickens. The phosphorus content of excluded excrements is shown in figure 1. The lowest value (1.7032 g per kg) was reported in the second experimental

group, compared to the first experimental group (1.9366 g per kg). In the control group was recorded the highest content of phosphorus (2.8609 g per kg) in excreta, which may result in higher phosphorus content in feed mixtures compared with experimental groups. In addition we concluded, that phytase addition to the feed mixtures helped to better utilization of phytate phosphorus from feed mixtures. Based on the main effect of phytase with respect to % excreta retention of total phosphorus, it can be concluded that the diets with higher content of phosphorus would cause a decrease in % total phosphorus retention from the excreta compared to the diets with lower content of phosphorus (Managi et al., 2009). Sohail and Roland (1999) found that in broilers aged 4 – 6 weeks, the addition of 300 units of phytase per kg of maize-soyabean meal-based feed, allowed to reduce the non-phytate phosphorus content from 4.25 to 3.25 g per kg, without negative influence on chicken performance and health. Rao et al. (1999) justified reduction from 4.5 to 3.0 g nonphytate P per kg in maize-soyabean meal-based diets fed to growing broilers from day 3 to 30, when feeds were supplemented with phytase.

CONCLUSION

Decreasing phosphorus content in feed mixtures reduced phosphorus excretion in broiler chickens excreta. Phytase supplementation also affected phosphorus retention in body of chickens. Clearly, supplemental phytases improve dietary phytate-phosphorus utilization by food-producing animals, and reduce environmental pollution of phosphorus from animal waste in areas of intensive animal production.

REFERENCES

- Huyghebaert G., Bleukx W., Ruyseveldt F., Delezie E., Kwanyuen P., Brake J. (2008): Interaction of Calcium and Phytate in Broiler Diets. 1. Effects on Apparent Prececal Digestibility and Retention of Phosphorus. *Poultry Science*, 40: 449-459.
- Managi M. K., Sands J. S., Coon C. N. (2009): Effect of adding phytase to Broiler Diets Containing Low and High Phytate Phosphorus: 1. Performance, Phytate P Hydrolysis, Tibia Ash, Litter Phosphorus and Ca and P Digestion and Retention. *International Journal of Poultry Science*, 8 (10): 919-929.
- Plumstead P. W., Leytem A. B., Maguire R. O., Spears J. W., Selle P. H., Ravindran V. (2007): Microbial phytase in poultry nutrition. *Animal Feed Science and Technology*, 15: 1-41.
- Rama Rao S. V., Ramasubba V., Ravindran V. (1999): Non-phytate phosphorus requirements of commercial broilers and White Leghorn layers. *Animal Feed Science Technology*, 80: 1-10.
- Rama Rao S. V., Raju M. V. L. N., Reddy, M. R., Pavani P. (2006): Interaction between dietary calcium and non- phytate phosphorus levels on growth bone mineralization and mineral excretion in commercial broilers. *Animal Feed Science and Technology*, 131: 133-148.
- Sohail S. S., Roland D. A. (1999): Influence of supplemental phytase on performance of broilers four to 6 weeks of age. *Poultry Science*, 78: 550-555.

USE OF HORSES IN THE MOUNTED POLICE

Králová B., Jiskrová I., Sobotková E.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno,
Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: Bara.Kralova@seznam.cz

ABSTRACT

The objective of this work is to describe specific problems in the service areas of the police of the Czech Republic which are related to the service hippology, it means the police service with service horses in the mounted police. For my dissertation I have worked with statistical data for the period from 1991, that is since the beginning of the "modern" mounted police until the year 2010.

The methodology for the training of young service horses in the Police of the Czech Republic is the basic standard for the training of newly bought service horses. The objective of the training is to reach such a degree of preparedness of the service horse as to make possible its use in the service after its allocation to the department of service hippology.

If we evaluate all the data from the different divisions of the mounted police of the Czech Republic, we arrive at the conclusion that a total of 105 horses were put in service in the years 1991-2010. During this period a total of 71 horses were mustered out. At the present time 34 horses are in service at the Police of the Czech Republic. Explained in numbers: 67.61% of horses was mustered out during the years 1991-2010. The most important aspect of the service of the mounted police is in the area of prevention.

Key words: horse, use, training, mounted police

ÚVOD

Výcvik policistů a služebních koní je základním kamenem následného výkonu služby, který vychází ze zákona ČNR č.283/1991 Sb., o Policii České republiky. Za výcvik policistů a služebních koní v Policii ČR je odpovědný odborný útvar Policejního prezidia ČR – odbor služební kynologie a hipologie Praha, který stanoví požadavky a standardy výcviku policistů a služebních koní. Ke kontrole kvality výcviku policistů a služebních koní jsou organizovány speciální kurzy, které jsou zakončeny absolvováním závěrečné zkoušky a získáním „osvědčení o způsobilosti k výkonu služby na služebním koni“ pro policisty a zadáním kategorie „kůň hlídkový“ nebo „kůň pro speciální úkoly“ pro služební koně.

MATERIÁL A METODIKA

Ve své práci jsem zpracovala přehled stavů koní ze všech Oddělení služební hipologie u Policie ČR - v Praze, Brně i Zlíně. Použila jsem údaje, které jsem získala z jednotlivých výše uvedených oddělení za celou dobu jejich působení a Odboru služební kynologie a hipologie Policejního prezidia.

Pracovala jsem s údaji za období od roku 1991 do roku 2010. Procenticky vyjadřuji počty koní u jednotlivých důvodů vyřazení a zastoupení pohlaví.

Zejména zpracovávám:

- důvody vyřazení služebních koní u Policie ČR
- celkové počty služebních koní u Policie ČR
- početní zastoupení klisen a valachů
- problematika služebních zákroků

VÝSLEDKY A DISKUZE

Důvody, pro které jsou služební koně vyřazováni, jsem rozdělila a procenticky vyjádřila následujícím způsobem :

Onemocnění pohybového aparátu - Z tohoto důvodu bylo vyřazeno 30 koní - 42,25 %

Onemocnění dýchacího aparátu – COPD - Z tohoto důvodu bylo vyřazeno 5 koní - 7,04 %

Celková opotřebenost organismu – věk - Z tohoto důvodu bylo vyřazeno 11 koní -15,49 %

Jiné důvody - Z tohoto důvodu bylo vyřazeno 21 koní - 29,57 %

Vady charakteru - Z tohoto důvodu byli vyřazeni 4 koně - 5,53 %.

= 14,28 %

U Policie ČR bylo v letech 1991 – 2010 zařazeno 105 koní. Celkem se za tuto dobu vyřadilo 71 koní. V současné době slouží u Policie ČR 34 koní. Procenticky vyjádřeno: 67,61 % vyřazených během let 1991 – 2010.

Jízdní policie je jednou z mála forem spojení policejní represe, prevence a reprezentace celé PČR. Služební zákroky proti osobám jsou myšleny jako represivní akty policistů Jízdní policie, vedené proti narušitelům veřejného pořádku při jeho ohrožení nebo narušení. Jedná se tedy o kontakt, kdy je narušitel veřejného pořádku nucen strpět nebo vykonat zákonem uloženou povinnost - např. zanechat protiprávního jednání, opustit prostor, atd. Služební koně lze s úspěchem použít takřka ve všech běžných zákrocích a situacích, s výjimkou zákroků proti extrémně nebezpečnému pachateli (řeší speciální zásahové útvary) a zákrokům v souvislosti s motorovými vozidly (násilné zastavení...). Služební zákroky proti zvířeti, které ohrožuje život nebo zdraví osob se v praxi omezuje nejčastěji na řešení situací s volně pobíhajícími psy.

ZÁVĚR

Prioritní by tedy měly být výběry a tipování mladých koní ve věku 3 – 5 let, správně odchovaných a socializovaných. Důsledné veterinární prohlídky včetně RTG hrudních i pánevních končetin, posouzení patologických změn na kostech a chrupavkách. V neposlední řadě rovněž ohybové zkoušky a pohybový aparát vyšetřit jako celek jak v pohybu na ruce, tak i pod sedlem. Po celou dobu manipulace s koněm by měly být důkladně pozorovány jeho reakce a chování, které už v této fázi mnohé prozradí a naznačí o jeho budoucím možném uplatnění u Policie ČR.

LITERATURA

Králová B., (2010): Využití koní u jízdní policie, Brno, Fakulta agronomická, Mendelova univerzita v Brně, Diplomová práce 66s.

Závazné pokyny – Ministerstvo vnitra ČR

1. Závazný pokyn policejního prezidenta č. 80/17. června 2009 – Činnost služební kynologie a hipologie
2. Pokyn ředitele ŘSPP PP ČR č. 10/ 1. července 2009 – Postup policistů na úseku služební hipologie

MODEL OF NUTRIENT BALANCE IN GROWING PIGS IN RELATION TO „CARBON FOOTPRINT“

Krobot R., Zeman L.

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

E-mail: ric.krobot@centrum.cz

ABSTRACT

In this thesis, the goal was to create a model of pig farm and its load of carbon dioxide in carbon dioxide equivalent, and propose measures to reduce emissions. A model example of farm BOTPAL Inc.. We calculated so-called carbon footprint through carbon dioxide equivalent. The calculations we used values obtained from both the EU material, and specific data from the farm and attempts to institute balance 222 - Grassland. We found that the farm produce for the year 2083 including pigs and ancillary facilities will produce 3562.7 tons of carbon dioxide equivalents. CO_{2eq} production of feed was 3460 t of nitrogen emissions caused by undigested feed - faeces urine was 3227.9 tons CO_{2eq} and methane was 52 t CO_{2eq}. The extra traffic - piglet heating, hot water, fuel, light, eliminates the manure was 102.47 tons CO_{2ekv}. From this it is clear that the reduction CO_{2eq} is the only way to reduce emissions from feces and urine. To practice means to feed this perception that we should pay more attention to the digestibility of the diet to reduce emissions from manure. Increasing the digestibility of 10% would reduce emissions by 553.4 tons of emissions CO_{2eq} feces and urine. Ancillary activities such sites does not share in the production of carbon footprint and a reduction of 10% or 20 will bring the overall perspective of any substantial change. Production of a pig weighing 105 kg and 173 days of fattening period led to the formation of 66 kg of CO₂ equivalent.

The most effective way to reduce the carbon footprint for a specific breeding and production is to use higher quality, more digestible feed.

Key words: pigs, slurry, carbon footprint, carbon dioxide equivalent, greenhouse gas, emissions of gas

ÚVOD

Česká republika je členem Evropské unie a jako taková se podílí na produkci vepřového masa. Nejvýznamnějšími producenty EU jsou v dnešní době Dánsko, Německo, Španělsko a Polsko. Česká republika v žebříčku produkce zaujímá 12. místo. Ve spotřebě vepřového masa je Česká republika na 10. místě, s průměrnou spotřebou 41,7 kg na osobu za rok.

Globální oteplování je nevyvratitelný fakt. Je to velmi závažný problém klimatických změn. Tento problém vznikl asi před 200 lety, kdy začala průmyslová revoluce. Od té doby se podle shromážděných naměřených teplot po celém světě se potvrdilo globální oteplení asi 0,6°C. Vyšší teploty s sebou v budoucnosti jistě přinesou mnoho obtíží, nebezpečí klimatických změn však leží jinde. Zvýšení teplot totiž ovlivňuje celou řadu dalších jevů a vyvolává spoustu jiných velkých problémů. Na prvním místě stojí jednoznačně přírodní katastrofy, které budou s největší pravděpodobností doprovázet oteplení ve všech částech světa.

Emise amoniaku (sloučenin N) a methanu úzce souvisí s produkcí skleníkových plynů. Tato problematika souvisí, ať přímo nebo nepřímo, se zemědělskou činností. Většina vyspělých států Evropské unie se této problematice (P, N) věnuje více jak 20 let a pokud se týká C tak této problematice se věnoval výzkum v České republice již před 50 léty. Do módy však tato problematika přišla pod názvem „Uhlíková stopa“ (Carbon footprint) až po roce 2000 a v současné době je jí v zemích našich západních sousedů věnována pozornost celých výzkumných pracovišť speciálně zřízených k tomuto účelu. Také příslušné výbory a podvýbory Evropské unie (EFSA, SCAN, aj.) se této problematice věnují. Dá se očekávat, že v nejbližších 3-4 letech se bude intenzivně pracovat na legislativě a asi od roku 2014 bude každý zemědělec, každá farma muset prokazovat jak jejich hospodářství účelně pracuje s pojmy emise a uhlíková stopa (ZEMAN, 2009).

MATERIÁL A METODIKA

Výpočet uhlíkové stopy jsme prováděli podle postupů popsaných v práci FLACHOWSKY (2009) a data uváděná v jejich práci nám současně sloužila jako kontrola.

Podle práce FLACHOWSKÉHO (2009), BAT (2008) a IPPC (2006) jsme sestavili model farmy o počtu 100ks prasnic, které produkovaly v roce 2,2 vrhu s počtem 10,5 ks odstavených selat na jednu prasnici ve 28 dnech. Po propočítání nám vyšel počet selat produkovaných za rok na 2310 ks selat. U těchto selat jsme stanovili 7 % úhyn a tedy do výkrmu pokračovalo 2148 ks prasat, úhyn pro výkrm jsme stanovili na 3% a po konečném propočítání jsme došli k výsledku 2084 ks prasat v jatečné váze za jeden rok. Do modelu byl zahrnut 1 kanec.

Tab. 1: Obrat stáda prasat v modelovém chovu

Kategorie	Obrat stáda pro 100 prasnic				
	Počet (ks)	Počet vrhů selat za rok	Počet odstavených selat/prasnice (ks)	Hmotnost vrhu při odstavu (kg)	Úmrtnost (%)
Prasnice	100	2,2	10,5	6,5	5
Kanec	1				
Celkem	2310	ks/rok			7
Uhyn selat	161,7	ks/rok			
Výkrm	2148,3	ks/rok			3
úhyn výkrm	64	ks/rok			
Jatky	2084	ks/rok			

Tab. 2: Výpočet délky výkrmu od narození po porážkovou hmotnost

	Délka výkrmu (dny)	Průměrný denní přírůstek (kg)	Hmotnost na konci odchovu (kg)	Věk selat při odstavu (dny)	Věk prasat na konci výkrmu (dny)
Výkrmovaný kus	145	0,74	107	28	173

Pro výkrm jsme stanovili průměrný denní přírůstek na 0,74 kg a porážkovou hmotnost na 107 kg. Díky těmto údajům jsme došli k délce výkrmu a to 145 dnů. Pro vypočítání celkové délky od narození až po porážkovou hmotnost jsme k délce výkrmu připočetli dobu po odstav a došli k výsledku 173 dní celkové doby výkrmu. V době od narození po odstav jsme použili hodnoty množství krmiv 0,644 kg (ZEMAN, 2006) a v době výkrmu jsme stanovili denní příjem krmiva na 2,3 kg krmné směsi a den.

Pro prasnice jsme stanovili délku mezidobí pro 2,2 vrhu na 166 dní. Během této doby jim byla podávána kompletní krmná směs pro prasnice březí v délce 131 dní a dávce 3,2 kg na den. Zbýlých 35 dní byla podávána kompletní krmná směs pro prasnice kojící v dávce 4,2 kg.

Pro kance jsme stanovili pevnou dávku 2,5 kg krmné směsi po celý rok tedy 365 dní.

Tab. 3: Výpočet množství krmiv za rok

	Krmivo	Dávka na den (kg)	Počet dní	Celkem (kg)
Prasnice	KPK	4,2	35	147,0
	KPB	3,2	131	418,9
Celkem cyklus			166	565,9
Celkem za rok				1245,0
Selata				
Selata		0,023	28	0,644
Výkrm		2,3	145	332,6
Celkem za výkrm				333,2
Kanec		2,5	365	912,5

Z údajů o délce odchovu a dalších pomocných čísel jsme zjistili průměrné hodnoty spotřeby krmiv u kategorií prasat. A mohli jsme tak zjistit spotřebu krmiv v podniku za celý rok a to na 819,8 t krmiva což odpovídá 2,2 t krmiva na den.

Tab. 4: Produkce z celkové spotřeby krmiv

Produkce z 1 kg směsi (kg/CO ₂)	Spotřeba krmení za rok (t)	Spotřeba krmení za den (t)
0,22	819,8	2,2
celkem produkce	180,35	0,49

Množství spotřebovaného krmiva nám umožnilo stanovit první emisi oxidu uhličitého a to považujeme-li že 1 kg jádrného krmiva představuje emisi 0,22 kg CO₂, tak na celý objem krmiv spotřebovaného v podniku vychází produkce 180 t CO₂ z příjmu krmiv.

Tab. 5a: Výpočet množství CO_{2ekv} z obsahu N-látek

Příjem za rok (t)	KS (%)	Stravitelnost (%)	KS	Produkce sušiny výkalů za rok (t)	Sušina výkalů (%)	Produkce mokřých výkalů za rok (t)	Produkce moči za den (kg)	Produkce moči a voda za rok (t)
819,8		0,82		147,6	0,25	590,2	7	5582,3

Tab. 5b: Výpočet množství CO_{2ekv} z obsahu N-látek

Kejda (t)	Obsah NL v moči za rok (t)	Obsah NL ve výkalech za rok (t)	Emise N do ovzduší za rok (t)	Přepočet na CO_{2ekv} (t)
6172,5	23,1	30,7	10,8	3227,9

Pro výpočet emisí dusíku (N) jsme vycházeli z obsahu 15% NL ve směsi krmiva, což udávalo z celkového množství přijatých krmiv 123 t N-látek. Z tohoto objemu N-látek je stráveno 75% a zbylých 25% vyloučeno exkrementy. Došli jsme tedy k výsledku 92,2 t stravitelných N-látek a 30,7 t vyloučených exkrementy. Vyloučení N-látek močí. Ze strávených N-látek je vylučováno celých 25% N-látek, což nás vede k výsledku 23,1 t N-látek za rok z produkce moči. Z celkového množství N-látek je do ovzduší emitováno 20% emisí, zbylých 80 % se emituje do půdy. Do ovzduší z kejdy uniká 10,8 t dusíkatých plynů. Tuto hodnotu můžeme přepočítat na ekvivalentní oxid uhličitý pomocí koeficientu 300 (FLACHOWSKI, 2009) a vyjde nám hodnota 3227,9 tun ekvivalentního oxidu uhličitého na rok v našem modelovém chovu.

Tab. 6: Výpočet množství CO_{2ekv} z obsahu metanu

Příjem KS za rok (t)	Sušina krmiva	Přijatá sušina krmiva (t)	Produkcce metanu v g/kg sušiny přijatého krmiva	Produkcce metanu (t)	Přepočet na CO_{2ekv} (t)
819,8	0,92	754,2	3	2,26	52,0

Výpočet emisí metanu je počítán podle průměrné produkce 3 g z kg sušiny přijatého krmiva (STEINFELD et al., 2006). Sušina krmiva byla stanovena na 92% z tohoto údaje jsme vypočetli příjem sušiny krmiva na 754,2 t z původní hmoty krmiva. Z příjmu sušiny krmiva lze vypočítat produkci metanu z krmiva a to na 2,26 t CH_4 za rok přepočteného na 52 t CO_2 ekvivalentního.

V rámci podniku jsme si určili i ostatní zdroje které mohou emitovat skleníkové plyny do ovzduší a to spotřebu elektřiny, pohonných hmot, energii na vytápění porodny a ohřev vody.

Tab. 7: Produkce CO₂ z odklidu hnoje

Odklid hnoje	Četnost	v čase	Spotřeba energie		Spotřeba energie		Produkce CO ₂ Jednotka	Emise	měsíc
Odvoz kontajnerů	9	krát do měsíce	1	l nafty	9	l nafta	2,7 kg/l	24,3	CO ₂
Bobek	1	krát do měsíce	20	l nafty	20	l nafta	2,7 kg/l	54	CO ₂
Oběžné shrnovače	60	hodin/měs	80	kWh	4800	kWh	0,528 kg/kWh	2534,4	CO ₂
Vynašecí dopravník	60	hodin/měs	30	kWh	1800	kWh	0,528 kg/kWh	950,4	CO ₂
Čerpadlo močůvky	10	hodin/měs	80	kWh	800	kWh	0,528 kg/kWh	422,4	CO ₂
Celkem								3985,5	CO₂/měs

V tabulce je zobrazena náročnost energií na odklid exkrementů z modelové farmy. Kejdové hospodářství modelové farmy je nejvíc zatíženo na elektrickou energii oběžných shrnovačů a to 2,5 t CO₂. Je to dáno hlavně výkonem elektromotorů potřebných pro správný chod shrnovače a také časovým nasazením shrnovače v práci.

Tab. 8: Produkce CO₂ z ostatních zdrojů emisí

Ostatní zařízení	Četnost	v čase	Spotřeba energie	Spotřeba energie	Produkce CO ₂	Emise	měsíc			
AVIA	560	km/měs	17	l/100km	95,2	1 nafta	2,7	kg/l	257,0	CO ₂
PICK-UP	600	km/měs	8	l/100km	48	1 benzin	2,3	kg/l	110,4	CO ₂
Míchačí vůz – služby	12	hod/měs	20	l/hodina	240	1 nafty	2,7	kg/l	648	CO ₂
Elektřina										CO ₂
- svítidla	450	hod/měs	5,88	kWh	2646	kWh	0,528	kg/kWh	1397,1	CO ₂
- boiler	120	hod/měs	2	kWh	240	kWh	0,528	kg/kWh	126,7	CO ₂
- lednice	720	hod/měs	0,09	kWh	64,8	kWh	0,528	kg/kWh	34,2	CO ₂
Topení	720	hod/měs	22	kg/uhlí	660	kg/uhlí	3	kg/kg uhlí	1980	CO ₂
celkem									4553,4	kg/měsíc

V tabulce je zobrazena náročnost ostatních energií, které se mohou vyskytovat na farmě. Mezi hlavních znečišťovatele oxidem uhličitým patří emise ze spalování černého uhlí a dále emise ze spotřeby elektrické energie na osvětlení prostor. Ty jsou dány hlavně vysokým počtem světelných zařízení ve všech prostorách. Pro model bylo počítáno s počtem 60 ks zářivek o příkonu 58 W (ANONYM, 2010) a 30 ks žárovek o příkonu 80 W (ANONYM, 2010) z vlastních zásob.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Výsledky emisí ekvivalentního oxidu uhličitého jsme využili k výpočtu celkového zatížení farmy za jeden rok, emisí na 1 ks prasete za rok a zatížení na 1 ks prasete a den.

Tab. 9: Produkce CO_{2ekv} z živočišné výroby

Druh emise	Koeficient přepočtu na CO _{2ekv}	Produkce emise v t/rok	Přepočtené emise za jeden rok CO _{2ekv} (t)	Emise na celý chov a jeden den (t)	přepočet na 1 průměrný ks za rok (t)	množství CO _{2ekv} na ks/den (kg)
CO ₂	1	180,35	180,4	0,49	0,08	0,23
N	300	10,8	3227,9	8,84	1,48	4,05
CH ₄	23	2,26	52,0	0,14	0,02	0,07
Celkem v chovu	CO _{2ekv}		3460,3	9,48	1,58	4,34

MENDELNET 2010

V tabulce je zobrazena celková produkce emisí ekvivalentního oxidu uhličitého z živočišné výroby. Po přepočtení produkce koeficienty pro stanovení ekvivalentního oxidu uhličitého vycházely jako nejvyšší hodnoty amoniaku a to 3227,9 t CO_{2ekv}. Tato emise představuje 93% ekvivalentního oxidu uhličitého z celkových emisí.

Tab. 10: Produkce CO_{2ekv} z ostatních zdrojů emisí

	Emise za den (kg)	Emise za měsíc (kg)	Emise za 1 rok (t)	Přepočet na CO _{2ekv} (t)
Odklid hnoje	132,9	3985,5	47,8	
Ostatní zařízení	151,8	4553,5	54,6	
Celkem	284,6	8539,0	102,4	102,47

V tabulce je zobrazena celková produkce emisí ekvivalentního oxidu uhličitého ze spotřeby energie. Tyto emise jsou oproti emisím z živočišné produkce takřka zanedbatelné. Výsledek produkce emisí ze spotřeby paliv vyšly na 102,47 t CO_{2ekv}.

Tab. 11: Celková produkce CO_{2ekv} na farmu

	Emise za 1 rok (t)	Emise na celý chov a jeden den (t)	Emise na 1 ks a rok (t)	Emise na 1 ks a den (kg)
Živočišná produkce	3460,3			
Použití paliv	102,47			
Emise celkem	3562,7	9,76	1,631	4,47

V této poslední tabulce jsou shrnuty všechny emise CO_{2ekv} vyprodukovaných na modelové farmě. Celkově farma vyprodukovala 3562,7 t CO_{2ekv}. Na jeden ks vyšla produkce 1 631 kg CO_{2ekv} za rok a emise na 1 ks jsou 4,47 kg CO_{2ekv}.

ZÁVĚR

Na modelovém příkladě farmy jsme propočítali tzv. uhlíkovou stopu přes ekvivalentní oxid uhličitý. K výpočtům jsme použili jak hodnoty získané z materiálu EU, tak konkrétní údaje z farmy a bilančních pokusů ústavu 222 – výživy zvířat a pícninářství. Zjistili jsme že farma vyprodukuje za rok 2083 ks prasat a včetně pomocných provozů vyprodukuje 3562,7 t oxidu uhličitého ekvivalentu. Produkce CO_{2ekv} z krmiv byla 3460 t, z emisí dusíku způsobeném nestráveným krmivem – výkaly moč byla 3227,9 t CO_{2ekv} a z metanu byla 52 t CO_{2ekv}. Z pomocných provozů – ohřev selat, teplé vody, PHM, osvětlení, odklid hnoje byla 102,47 t CO_{2ekv}. Z uvedeného je zřejmé, že pro snížení CO_{2ekv} je jedinou cestou omezení emisí z výkalů a moče. Pro krmivářskou praxi znamená tento poznatek to, že bychom měli věnovat větší pozornost stravitelnosti krmné dávky abychom snížili množství emisí z výkalů. Zvýšení stravitelnosti o 10% by vedlo ke snížení emisí o 553,4 t CO_{2ekv} z emisí výkalů a moči. Činnost pomocných provozů nepřináší takový podíl do produkce

uhlíkové stopy a její snížení o 10 nebo 20% nepřinese v celkovém pohledu žádnou podstatnou změnu.

Produkce jednoho prasete o váze 105 kg a době výkrmu 173 dní vedla k tvorbě 66 kg ekvivalentu CO₂.

Nejefektivnější cesta ke snížení uhlíkové stopy pro konkrétní chov a produkci je použití kvalitnějších, lépe stravitelných krmiv.

LITERATURA

BLONK, Hans; PONSIOEN, Tommie. *Towards a tool for assessing carbon footprints of animal feed*. Netherlands : Blonk Milieu Advies B.V., 2009. 72 s.

FLACHOWSKY, G.: *Carbon Footprints of Animals - Present Stage of Knowledge and Open Questions to Calculate Footprints for Food of Animal Origin*. In.: Delacon Performing Nature Symposium 2009, Crete Island, Greece, November 4.-6. 2009, p-138-144

IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories : Agriculture, Forestry and Other Land Use [online]. Geneva : C/O World Meteorological Organization, 2010 [cit. 2010-04-11]. Dostupné z WWW: <<http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/2006gl/vol4.html>>.

Kategorie, emisní faktory a plány zavedení zásad správné zemědělské praxe u zemědělských zdrojů. Praha, 2006. 7 s.

KROBOT, Richard. *Bilance živin u prasat*. Brno, 2008. 57 s. Bakalářská práce. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita.

ZELENKA, Jiří, et al. *Výživa a krmení hospodářských zvířat I. část: (návodů do cvičení z výživy)*. Brno: Ediční středisko VŠZ, 1987. 184 s. ISBN 55-946-87

ZEMAN, Ladislav, et al. *Jak splnit požadavky systému "Cross-compilace" v oblasti výživy a krmení zvířat*. Brno : Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2007. 75 s. ISBN 978-80-7375-124-1.

ZEMAN, Ladislav, et al. *Výživa a krmení hospodářských zvířat*. Praha : Profi Press, 2006. 360 s. ISBN 80-86726-17-7.

ZEMAN, Ladislav; TVRZNIČEK, Pavel. *Stopové prvky ve výživě*. Praha, 2005. 52 s

UTILIZATION OF ORGANIC AND INORGANIC FORMS OF SELENIUM IN RATS

Lohnisky A., Mares P., Krobot R., Zeman L.

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

E-mail: adam.lohnisky@centrum.cz

ABSTRACT

Selenium is a biogenic element microelement contained in all cellular compartments of animals. As the basic functions of selenium along with vitamin E is given the protection of cells and tissues against oxidative damage by free oxygen radicals. The amount of selenium in animal feed is dependent on the content of selenium in soils. The Czech Republic belongs among countries with low selenium content and, therefore, this mineral must be added to the feed. Lack of selenium may be added in inorganic form or as organic selenomethionine, which is obtained from selenium-enriched yeast. Utilization of selenium from different chemical forms and storing them in the body is the ongoing goal of our experiment.

Key words: selenium, rats, inorganic and organic forms, utilization

Acknowledgments: This work was supported by grant IGA TP 8/2010

ÚVOD

Selen je biogenní mikroelement obsažený ve všech celulárních prostorech živočichů. Pro celou řadu biochemických pochodů v organismu je nezbytný a nemůže být zastoupen jinými prvky. Jako základní funkce selenu společně s vitamínem E je uváděna ochrana buněk a tkání před oxidativním poškozením volnými kyslíkovými radikály. Jedná se vysoce reaktivní látky vznikající při metabolických procesech, zvláště pak při různých patologických stavech. Jejich toxicita je založena na reakci s dvojnými vazbami nenasycených mastných kyselin a její přeměně na vazbu peroxidickou. V organismu živočichů se nachází selen v mnoha sloučeninách – selenoproteinech, které mají enzymatickou aktivitu (JELÍNEK et al., 2003). Hlavní fyziologická funkce selenu je zajištěna pomocí izoenzymu glutathionperoxidázy (GSH-Px), která zabezpečuje odstraňování nadbytku peroxidu vodíku z cytoplazmy buněk. Jedním z dalších významných selenoproteinů je iodothyronin deiodináza regulující přeměnu tyroxinu na aktivní formu hormonu štítné žlázy trijodotyronin (LARSEN, BERRY, 1995). Přeměna hormonů štítné žlázy je důležitá zejména z hlediska dosažení optimálních růstových schopností zvířat. Nedostatek selenu společně s hypovitaminózou E je spojován s celou řadou onemocnění a produkčních poruch. Mezi nejčastěji diskutovaná postižení patří nutriční myopatie, poruchy reprodukce způsobené sníženou aktivitou spermií, erytrocytární hemolýza, nekróza jater, degenerace renálních tubulů, snížení imunitní kapacity organismu. Příčinou nedostatku selenu u zvířat je dlouhodobý příjem krmiva, které bylo vypěstováno v selen deficitních oblastech (obsah selenu menší jak 0,1 ppm) (PAVLATA, PECHOVÁ, ILLEK, 2002). Obsah selenu v půdě se celosvětově pohybuje ve velkém rozmezí. Na základě znalosti půdních koncentrací selenu je možné předpokládat výskyt karence v dané oblasti. V České republice jsou považovány za nejvíce deficitní oblasti západních, severních, severovýchodních Čech a severní Moravy (PAVLATA et al., 2002). V Evropě se pak jedná o území Skandinávie, severní Anglie, Skotska, jižní Francie a Balkánu (OLDFIELD, 2000). Nebezpečím však nemusí být nutně jen nedostatek selenu, rizikem se stává i nadbytek tohoto mikroprvku. Vznik intoxikace v našich podmínkách je zapříčiněn předávkováním selenem z preventivních, či terapeutických příčin. Za bezpečné množství selenu pro potkany je považována dávka 0,15 mg/kg krmiva (NRC – National Research Council). Překročení doporučeného množství selenu v krmivu vede nejčastěji k intoxikaci s chronickým průběhem. Při množství selenu v krmivu 5 – 8 mg/kg byla u prasat pozorována anorexie, alopecie, anemie, degenerativní změny jater a ledvin. K subakutním otravám dochází při příjmu krmiva s obsahem selenu 9,7 – 27 mg/kg. Klinické příznaky se projevují ataxií zadních končetin až úplnou paralýzou. Fyziologické i toxické dávky selenu jsou metabolizovány stejnými metabolickými drahami. U prasat se jedná o tzv. redukční metabolickou dráhu, která začíná neenzymatickou oxidací čtyř molů glutathionu na

každý mol redukovaného seleničitanu. Vzniká tak superoxid, peroxid vodíku a kyslíkové radikály. Za negativní účinky selenu je z kyslíkových radikálů považován selenidový aniont (SVOBODOVÁ et al., 2008). K uhrazení dostatečné hladiny selenu v krmné dávce je možné využít dvou chemických forem. Anorganicky vázaný selen se používá nejčastěji ve formě seleničitanu sodného (Na_2SeO_3). Organicky vázaný selen se nejčastěji používá ve formě selenem obohacených kvasnic, které obsahují mikroprvek ve formě selenomethioninu. Anorganické sloučeniny selenu jsou nejvíce vylučovány močí, zatímco organická forma výkaly (HITCHCOCK et al., 1978). MAHAN, PARRET (1996) ve své práci zjistili vyšší využitelnost u organické formy (75,7 %), než u selenu vázaného v anorganické formě (49,9 %). Vyšší biologická dostupnost organicky vázaného selenu byla potvrzena výsledky pokusu, kdy autoři zjistili 3x vyšší hladiny v mléce a kolostru (FAJT et al., 2009). Dostatečná suplementace zvířat selenem není důležitá jen z hlediska udržení dobrého zdravotního stavu a užitkovosti zvířat, ale může prostřednictvím vyššího obsahu v produktech zvířat zvýšit příjem lidskou populací.

MATERIÁL A METODIKA

Biologický materiál

Experiment probíhá v pokusném zařízení Ústavu výživy zvířat a pícninářství AF MENDELU v Brně (v souladu se Zákonem na ochranu zvířat proti týrání č. 246/1992 Sb.). Pokusným materiálem je 80 rostoucích samců laboratorního potkana outbredního kmene *Wistar albino* kvality SPF (Biotest s.r.o.). Zvířata jsou rozdělena do 5 pokusných skupin po 16 samcích, tak aby maximální hmotnostní rozdíly mezi pokusnými skupinami byly menší 5 gramů (KACEROVSKY, 1990). Potkanům jsou zkrmovány směsi s odlišnými formami selenu (seleničitan sodný Na_2SeO_3 a selenomethionin zastoupený v komerčním výrobku Sel-Plex od společnosti Alltech) na hladinách 0%, 50% (0,075 mg), 1000% (1,5 mg) normy NRC viz. schéma pokusných krmných směsí.

Postup experimentu

Zvířatům ustájených v plastových klecích jsou předkládány vlhčené krmné směsi a zdravotně nezávadná voda ad libitum. Každý den zeznaménáváme skupinový čistý příjem krmiv. Hmotnostní parametry zvířat jsou zjišťovány v pravidelných třídenních intervalech a současně jsou odebírány vzorky výkalů pro analýzu (NL, vláknina, BNLV, tuk). Dvě zvířata z každé pokusné skupiny budou poslední týden experimentu podrobena bilančnímu testování (7 dní). Výběr zvířat pro individuální ustájení v bilačních jednotkách proběhne na základě živé hmotnosti, tak aby byla dodržena doporučení, které uvádí KACEROVSKY (1990). Každodenní sledování čistého příjmu krmiv a vody, množství vyloučených výkalů a moči poslouží pro určení stravitelnosti základních živin (NL, BNLV, tuku, vlákniny), retence selenu a čistého příjmu vitamínu E.

Odběr biologických vzorků

MENDELNET 2010

První den experimentálního období a následně každý třetí den jsou odebírány vzorky od jedinců s nejnižší a nejvyšší vahou ve skupině (2 zvířata z experimentální skupiny). Pro analýzu jsou použity vzorky plné krve a tkáně (stehenní sval, játra, ledviny, mozek). Před odběrem krve kardiální punkcí je zvířatům aplikována intraperitoneálně dávka Fraxiparine (0,001 ml/100 g) ředěného 500x sterilním fyziologickým roztokem. Poté jsou zvířata uvedena diethyletherem do celkové inhalační anestezie. Krevní vzorek je odebírán do heparinem potažených zkumavek (Dispolab), které jsou do analýzy uchovávány v termoboxech s ledem.

Ze vzorku 15 um je plně automatizovaným přístrojem (ABC Vet) stanoven krevní obraz v následujícím rozsahu: počet erytrocytů, leukocytů, trombocytů, hemoglobin, hematokrit. Pro potřeby biochemického vyšetření odebíráme 1,0 ml plné krve. Ze vzorku je šetrnou centrifugací (800g/10min.) separována krevní plazma, ze které analyzujeme počet celkových bílkovin, obsah albuminu, aktivitu glutathionreduktasy, plazmatické glutathionperoxidázy, glutathiontransferázy, tokoferoly, antioxidační aktivitu, superoxididismutázu, bilirubin, kyselinu močovou, glukózu, AST, ALT.

Analyza krmiva

Ze sestavených krmných směsí byly odebrány dílčí vzorky a provedeny rozborů na obsah živin: NL, Vlákniiny, Tuku, BNLV, Sušiny, Popela, Se (AAS) a vitamínu E (HPLC).

Spektrofotometrická měření jsou prováděna na automatickém chemickém analyzátoru BS-200 (Co. Mindray, China). Reakční roztoky a vzorky jsou umístěny na chlazeném disku (4 °C) a automaticky pipetovány do plastických kyvet s optickou dráhou 0,5 cm. Směs je následně promíchána. Inkubace probíhá v kyvetovém prostoru temperovaném na 37 °C. Promývání dávkovacích jehel destilovanou vodou je prováděno mezi jednotlivými pipetováními. Přístroj je řízen softwarem BS-200 (Co. Mindray, China).

Tabulka 1: Schéma pokusných krmných směsí

	1 Kontrola 0%	2 Seleničitan 50% anorganický 0,075 mg Se	3 Sel-Plex 50% organický 0,075 mg Se	4 Seleničitan 1000% anorganický 1,5 mg	5 Sel-Plex 1000% organický 1,5 mg
<i>Pšenice</i>	60,54	60,54	60,54	60,54	60,54
<i>Sojový extrahovaný šrot 47%</i>	12	12	12	12	12
<i>Slunečnicový olej</i>	2	2	2	2	2
<i>Lysin 78%</i>	0,46	0,46	0,46	0,46	0,46
<i>Premix PO MAR 01</i>	5	5	5	5	5
<i>Škrob kukuřičný</i>	20	19	19	0	0
<i>Seleničitan zředěný nosič škrob</i>	0	1	0	20	0
<i>Sel-Plex zředěný nosič škrob</i>	0	0	1	0	20

ZÁVĚR

Předmětem zájmu našeho experimentu je porovnání využitelnosti selenu vázaného v organické a anorganické formě. Využitelnost bude porovnávána na základě obsahu selenu v analyzovaných tkáních, aktivity selenoproteinů (plazmatické glutathionperoxidázy, glutathionreduktázy, glutathiontransferázy), antioxidační aktivity, přímého stanovení selenu v plazmě, množství přijatého krmiva, konverze a výše přírůstku. Výsledky pokusu mohou sloužit chovatelům hospodářských zvířat jako vodítko při výběru formy selenu do krmných dávek. Zjištěné výsledky bychom rádi publikovali v časopise Czech Journal of Animal Science.

LITERATURA

FAJT, Z., et al. Selen a jeho význam pro zdravotní stav prasat. Veterinářství. 2009, 59, s. 221-224.

HITCHCOCK, J.P., et al. Effects of arsenic acid and vitamin upon utilization of natural supplemental selenium by swine. Journal Animal Science. 1978, 46, s. 425.

JELÍNEK, P., et al. Fyziologie hospodářských zvířat. Vydání 1. Brno : MZLU v Brně, 2003. s. 414 ISBN 80-7157-644-1.

KACEROVSKÝ, O., et al. Zkoušení a posuzování krmiv. Praha : Státní zemědělské nakladatelství, 1990, s. 216.

LARSEN P. R., BERRY M. J. Nutritional and hormonal regulation of thyroid hormone deiodinase. Ann. Rev. Nutr. 1995, 15, s. 323-352.

MAHAN, D.C.; PARRET, N.A. Evaluating the efficacy of selenium -enriched yeast and sodium selenite of tissue selenium retention and serum glutathione peroxidase activity in grower and finishing swine. Journal Animal Science. 1996, 74, s. 2967-2974.

OLDFIELD, J.E. . Kde všude ve světě se selen vyskytuje. Feedings times. 2000, 5, s. 8-9.

PAVLATA, L.; PECHOVÁ, A.; ILLEK, J. Praktická doporučení pro diagnostiku karence selenu u skotu v České republice. Veterinářství. 2002, 52, s. 170-173.

PAVLATA, L., et al. Selenium status in cattle in the Czech republic. Acta veterinaria. 2002, 71, s. 3-8.

SVOBODOVÁ, Z., et al. Veterinární toxikologie v klinické praxi. Praha : ProfiPress, 2008. s. 253 s

STUDY OF RELATIONS BETWEEN TOTAL MIXED RATION COMPOSITION AND OCCURRENCE FREQUENCY OF LAME COWS

Paroulek J., Doležal P.

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

E-mail: paroulek.j@seznam.cz

ABSTRACT

The aim of this paper was to evaluate the effect of the total mixed ration (TMR) on claw diseases by dairy cows. For this purpose control TMR samples from two enterprises in southern Moravia were taken, followed by their analysis and evaluation.

The analysis was focused on the evaluation of average fermentation indicators, chemical structure, TMR nutrition value and macro – and microelement concentration. The results of the analysis were compared with the recommended values and the potential effect of the assessed TMR on the lameness occurrence by dairy cows was determined.

A total starch excess (226.4 g and 257.8 g in 1 kg dry mass) was detected due to the TMR analysis. This excess can be a cause of a higher volatile fatty acids production, which can evocate acidosis of rumen contents, followed by laminitis. By one of the analysed enterprises a high acidity of TMR water extract (1210 mg KOH/100 g) was detected.

Marked differences in macro - and microelement supply of TMR in comparison with daily need were recorded as well. These deficits or excesses in mineral nutrition could be likewise an influential factor for the lameness occurrence in a herd.

Key words: dairy cow, lameness, claw, nutrition and feeding, prevention, total mixed ration

ÚVOD

Při zařazování nekvalitních krmiv, či při špatně sestavené nebo nevybilancované krmné dávce dochází u dojnic k celé řadě poruch. Ať se jedná o pokles dojivosti, zhoršení mléčných složek, reprodukční poruchy, alimentární poruchy, ale také kulhání. Kráva, která nemůže chodit, nežere, obtížně se dojí, špatně zabřezává a ve většině případech je vyřazena z chovu. Proto je třeba velkou pozornost věnovat také zdravotnímu stavu paszehtů. Sebelepší dojnice, která má z jakýchkoliv důvodů omezenou pohyblivost, je pro další chov ztracena. Z chovatelského hlediska musíme problém vždy řešit komplexně, tedy odstraňovat příčinu a ne pouze následek. Velkou péčí je nutné věnovat také preventivním opatřením v chovu.

Tato práce je zaměřena na studium vztahů mezi složením krmné dávky a četností výskytu kulhajících krav. Pozornost byla zaměřena na zhodnocení fermentačních ukazatelů, posouzení chemického složení a výživné hodnoty, obsahu makroprvků a mikroprvků ve směsné krmné dávce a jejich potencionální vliv na výskyt kulhání u dojnic.

MATERIÁL A METODIKA

Pro studium vlivu krmení na výskyt kulhání krav ve stádě byla věnována zvláštní pozornost složení směsných krmných dávek (TMR). Směsné krmné dávky byly odebírány a hodnoceny u stáda dojnic, které se nacházely ve fázi rozdoje až vrcholu laktace, tzn. do zhruba 100 dní laktace. U dojnic v této fázi mezidobí dochází k největšímu výskytu kulhání.

Vzorky krmiv byly odebrány a analyzovány podle vyhlášky č. 415/2009 Sb., o stanovení požadavků na odběr vzorků a způsobu zveřejnění metod laboratorního zkoušení produktů ke krmení. Vlastní odběr TMR byl proveden 16.11.2009 při odpoledním krmení ihned po založení krmiva, a to z více míst krmného stolu. Tyto dílčí vzorky byly promíchány a byl vytvořen konečný vzorek. Konečné vzorky o průměrné hmotnosti 4 kg, byly neprodyšně uzavřeny do igelitového sáčku, označeny štítkem s popisem druhu krmiva, data a místa odběru a požadavky na analýzu, konkrétně požadavek na analýzu ve vztahu ke kulhání dojnic. Konečné vzorky byly ještě téhož dne zaslány k analýze do laboratoře S.O.S. Skalice nad Svitavou, s.r.o.

Výsledky analýzy TMR byly porovnány s krmnými normami, které podniky používají, dále s *Požadavky na množství základních živin a strukturu krmných dávek dojnic* od SOMMERA a PETRIKOVIČE (2003). Posléze byl určen potencionální vliv konkrétních TMR na kulhání dojnic ve stádě a podle zootechnické dokumentace byl proveden kontrolní výpočet kulhajících dojnic, krmných analyzovanou směsnou krmnou dávkou za období 1.9.2009 – 31.12. 2009.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Směsná krmná dávka (TMR) - ZOD Poruba

V podniku ZOD Poruba dosáhla hodnocená směsná krmná dávka dobrých výsledků. Z hlediska fermentačních ukazatelů je problémem vyšší obsah kyseliny octové oproti kyselině mléčné (2,29 oproti 2,15 % v sušině). Toto mohlo být způsobeno heterofermentativním kvašením siláži za vzniku většího množství kyseliny octové. Zvýšený obsah této kyseliny v TMR může způsobit pokles příjmu sušiny. Podle DVOŘÁČKA (2003), by dojnice neměla v krmné dávce přijmout více než 1 g kyseliny mléčné na 1 kg živé hmotnosti. Průměrná živá hmotnost skupiny pozorovaných dojnic v ZOD Poruba byla okolo 600 kg, a tudíž z tohoto hlediska je příjem kyseliny mléčné z TMR v normě. Suma všech kyselin ve sledované TMR byla na úrovni 4,53 % v 1 kg sušiny. Tzn. že, dojnice denně přijmou 1088 g všech kyselin. DVOŘÁČEK (2003) uvádí jako maximální denní příjem všech kyselin hodnotu 2 g na 1 kg živé hmotnosti. Dalším problémem byl vyšší obsah etanolu (0,29 % ze sušiny krmné dávky).

Z hlediska chemického složení a výživné hodnoty je v TMR vyšší obsah škrobu (226,4 g/kg) a málo celkového cukru (42,0 g/kg). Také poměr mezi těmito dvěma ukazateli je širší než doporučené rozmezí. Jako ideální poměr mezi množstvím cukru a škrobu v TMR uvádí DVOŘÁČEK (2003) poměr 1 : 3 – 4. V tomto případě je poměr 1 : 5,39. Dále je zde mírný deficit strukturní vlákniny (7,67 %) oproti doporučenému minimálnímu rozmezí (8 – 10 %). Z hlediska zastoupení TMR makroprvky a mikroprvky zde byl nižší obsah vápníku a mědi a vyšší obsah draslíku a železa.

Ve sledovaném podniku ZOD Poruba bylo za uvedené období 1.9.2009 – 31.12.2009 zaznamenáno celkem 73 případů ošetření kulhání u dojnic krmených analyzovanou TMR. Podle vyjádření a konstatování zootechniků bylo těchto případů daleko více, ale z důvodu nedostatku finančních prostředků se ošetřují pouze dojnice s výraznými projevy kulhání. Je velmi obtížné až nereálné blíže určit jaké hlavní to byly příčiny. Co se týče hodnocené směsné krmné dávky, tak zde byl největší problém zejména u vyšší koncentrace škrobu, která může podmiňovat vznik acidózy a následné laminitidy. Dalším důvodem je především nevhodná technologie ustájení, kdy zde byla přebudována vazná stáj na volnou se všemi negativními dopady. Technický problém spočívá také ve způsobu vyhrnování chlévské mrvy, která se z důvodu velké fyzické a časové náročnosti provádí pouze jedenkrát denně. Většinu dne tedy krávy stojí ve zcela pro paznehty nevhodném prostředí, což má rovněž velmi negativní vliv na zdraví paznehtů. Další významný faktor preventivního charakteru, mající vysoký vliv na snížení výskytu kulhání, je problematika koupele paznehtů. V tomto zemědělském podniku se koupele paznehtů krav neprovádějí, resp. nejsou k dispozici ani brodicí vany s dezinfekčním roztokem. Podle mého názoru, by zavedení brodicích van při východu z dojírny po předchozím očištění paznehtů vodou mohla významně snížit jinak vysoký výskyt infekčních onemocnění ve stádě. Počty dojnic, které kulhají z důvodu onemocnění vlastního paznehtu, nebo z důvodu infekce je těžké určit, jelikož některé dojnice přecházejí v krátké době z jednoho onemocnění do druhého.

V podniku 1. Hradecká zemědělská a.s. byla zkoumaná směsná krmná dávka, z hlediska možného výskytu kulhání, problematická. Důvodem byla především vysoká hladina KVV a to na úrovni 1210 mg KOH/100 g. Tato hodnota bude zřejmě tak vysoká z důvodu zkrmování kukuřičné siláže s hodnotou KVV na úrovni 2040 mg KOH/100 g. Podle DOLEŽALA et al. (2006) má být KVV u TMR v sušině pod 800 mg KOH/100 g. K této siláži je vhodné doplňovat vhodný pufr, například 408 g bikarbonátu sodného na 100 kg kukuřičné siláže, abychom alespoň částečně kyselost otupili. Dále byl zaznamenán vyšší obsah kyseliny mléčné v TMR. Celkové množství kyseliny mléčné je v sušině TMR 3,57 %. Má-li dojnice přijmout denně 20,57 kg sušiny této krmné dávky, přijme také 734,35 g kyseliny mléčné denně. Dojnice, sledované skupiny v 1. Hradecké zemědělské a.s., vážily průměrně 650 kg. Z toho tedy vyplývá, že dojnice přijmou denně o 84,35 g kyseliny mléčné více, než je doporučená hranice. ŠLOSÁRKOVÁ a FLEISCHER (2001) ale upozorňují na problém velkého množství kyseliny mléčné v krmné dávce. Pomalejší vstřebávání této silné kyseliny a současně hromadění dalších kyselin v bacheru navozují další pokles pH bacherového obsahu. Důsledkem je odlišné trávení bílkovin se vznikem histaminu a masivní odumírání žádoucí bacherové mikroflóry, přičemž vznikají endotoxiny. Histamin a endotoxiny způsobují poruchy v krvení škáry paznehtů tj. schvácení paznehtu – laminitidu.

Z hlediska chemického složení a výživné hodnoty je zde opět problémem vyšší dávka škrobu (257,8 g/kg sušiny) a nízký obsah celkového cukru (35,1 g/kg sušiny). Poměr mezi cukrem a škrobem v TMR je velmi široký, a to na úrovni 1 : 7,34. Toto může mít vliv na zvýšenou produkci TMK, vznik acidózy bacherového obsahu a následně i laminitidy. Z minerálních látek je v normě pouze draslík. Deficity byly zaznamenány u vápníku, fosforu, sodíku hořčičku, mědi a selenu. Ostatní hodnocené prvky byly buď v nadbytku, nebo nebyl deficit tak výrazný.

V akciové společnosti 1. Hradecká zemědělská a.s. bylo za sledované období, tj. 1.9.2009 – 31.12.2009, v sekci krmené analyzovanou směsnou krmnou dávkou, zjištěno celkem 53 případů kulhání, které musely být ošetřeny. Celkem 40 případů bylo ošetřeno zejména z důvodu výskytu vředu, či tzv. dvojitého chodidla. Dle řady autorů vznikají tyto nemoci jako součást či následky laminitidy. U ostatních případů sledované skupiny se jednalo převážně o infekční onemocnění kůže paznehtu. Infekční onemocnění kůže paznehtu převažovaly u skupin v pozdější fázi laktace. Důvodem může být restrikce krmení jadrnými krmivými v tomto období a tím omezení vzniku nadbytku TMK v bacheru, které mají na vznik laminitidy vliv.

ZÁVĚR

Směsná krmná dávka (TMR) - ZOD Poruba

Dle rozboru směsné krmné dávky v ZOD Poruba nebude kulhání ve stádě způsobeno primárně výživou. Jelikož dojnice trpí převážně infekčními chorobami paznehtů a z teletníků zde přicházejí se zdravými paznehty, bude problém ve špatné technologii ustájení a zoohygieně. Nevyhovující ustájení, které je předěláno z ustájení vazného, neumožňuje vyklížení chlévské mrvy vícekrát jak

jednou denně. To má za následek dlouhodobou maceraci paznehtů dojnic v chlévské mrvě a rozvoj infekčních onemocnění. Také absence brodicí vany na koupele paznehtů a nedostatek finančních prostředků na častější ošetřování postižených kusů má za následek vysoké procento kulhajících krav ve stádě.

Směsná krmná dávka (TMR) - 1. Hradecká zemědělská a.s.

Výživa dojnic směsnou krmnou dávkou, jenž se používá v akciové společnosti, může mít vliv na vznik onemocnění paznehtů z hlediska výživy. Je to zejména způsobeno vysokou hodnotou KVV, vysokou dávkou škrobu, mírným deficitem strukturální vlákniny a deficitem v zásobenosti minerálními látkami. Z hlediska prevence je akciová společnost na dobré úrovni. Pravidelný odklíz chlévské mrvy na hnojiště, koupele paznehtů a ošetřování paznehtů dává předpoklad nízkému výskytu infekčních onemocnění paznehtů ve stádě.

LITERATURA

DOLEŽAL, Petr, et al. *Konzervace, skladování a úpravy objemných krmiv*. [s.l.] : [s.n.], 2006. 247 s. ISBN 80-7157-993-9.

DVOŘÁČEK, Jan. *Některé vlivy nevybilancovaných krmných dávek na zdravotní stav dojnic*. Krmivářství. 2003, roč.7, č.1, s. 21-22. ISSN 1212-9992.

SOMMER, A., PETRIKOVIČ, P.: *K problému výživy vysokoprodukčních dojnic*. Agromagazín. 2003, č. 11, s. 32-35.

ZEMAN, Ladislav, et al. *Výživa a krmení hospodářských zvířat*. 1. vydání. Praha: Profi Press, s.r.o., 2006. 360 s. ISBN 80-86726-17-7.

INFLUENCE OF SEX AND AGE ON THE PERFORMANCE OF HORSE IN WESTERN DISCIPLINES

Petlachová T., Jiskrová I., Píšová M., Sobotková E.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: terka.petlachova@centrum.cz

ABSTRACT

The goal was to evaluate the performance of different breeds of horses in national and international western competitions held in the Czech Republic. Data from the years 2004-2008 for this work were collected by the database Western Riding Club Czech Republic.

The reference feature was the placing of individual horses in selected disciplines. Statistical processing GLM method was found to be highly significant effect on the order of the breed, discipline, location, and owner. Significant effect on the performance of the horse shows age. As a statistically insignificant factors are shown of the year and sex.

Scheffe multiple comparison as there were no highly significant or significant differences between the various factors. However, in some cases also taken into consideration the results of subsequent multiple comparisons by Tukey - B showed the highest performance ten year old horses (67.25) - the factor age at start of year was the group of the five year olds (15%) were the largest group.

Key words: western riding, horses, performance, age, sex

Acknowledgments: The research has been supported by financial support IGA TP 2/2010.

ÚVOD

Westernový styl ježdění si v České republice získává stále více příznivců a počty westernových koní i jezdců se v posledních letech neustále zvyšují.

O westernovém ježdění v České republice se první zmínky datují do roku 1981. 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). Charakteristika a pravidla pro westernové soutěže pořádané pod WRC ČR jsou vyjmuta z neaktuálnějších pravidel westernového ježdění pro rok 2007, vydaných WRC ČR. V letošním roce se plánuje vydání nových, upravených pravidel WRC ČR.

MATERIÁL A METODIKA

Podkladem pro vytvoření databáze byly údaje získané z výsledků westernových soutěží typu A (národní a mezinárodní soutěže) v České republice ve sledovaném období 2004 – 2008. Databáze byla sestavena z dat zveřejněných na internetových stránkách WRC ČR v členské sekci. Chybějící data byla doplněna pomocí dotazníků adresovaných přímo majitelům koní.

Za sledované období 2004 - 2008 byly shromážděny údaje o koních startujících ve westernových soutěžích typu A v ČR. Jednalo se o 19 plemen koní se 1496 starty, ve 25 disciplínách, rozdělených do 14ti věkových kategorií a podle pohlaví.

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: první místo = 100 bodů, druhé místo = 80 bodů, třetí místo = 60 bodů, čtvrté místo = 40 bodů, páté místo = 20 bodů, šesté místo = jeden bod.

Data byla statisticky zpracována lineárním modelem GLM ve statistickém programu UNISTAT 5.1 s pevnými efekty podle modelové rovnice:

$$Y_{ijklmno} = \mu + r_i + s_j + t_k + u_l + v_m + w_n + z_o + \epsilon_{ijklmno}, \text{ kde:}$$

$Y_{ijklmno}$ - sledovaný efekt

μ - celkový průměr souboru

r_i - pevný efekt i -tého plemene ($i = 1, 2, \dots, 11$)

s_j - pevný efekt j -té disciplíny ($j = 1, 2, \dots, 25$)

t_k - pevný efekt k -tého místa konání ($k = 1, 2, \dots, 7$)

u_l - pevný efekt l -tého roku konání ($l = 1, 2, \dots, 5$)

w_m - pevný efekt m-tého pohlaví ($m = 1, 2, 3$)

w_n - pevný efekt n-tého věku v roce konání soutěže ($n = 1, 2, \dots, 14$)

z_o - pevný efekt o-tého majitele ($o = 1, 2, \dots, 149$)

$e_{ijklmno}$ - náhodný efekt

VÝSLEDKY A DISKUZE

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. 1 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

Vliv věku koně v roce konání soutěže

S využitím výsledků následného mnohonásobného porovnávání dle Tukeye – B, se vyskytly některé významně odlišné páry v hodnocení vlivu věku koně v roce startu na výkonnost.

Tab. 2 Statisticky průkazné páry hodnocení výkonnosti podle věku koní v roce startu

Skupina	Počet startů	Průměr	Dvouletí a tříletí	Osmiletí	Pětiletí	Čtyřletí	Desetiletí
Desetiletí	106	67,25	*	*	*	*	
Čtyřletí	186	52,83					*
Pětiletí	227	52,48					*
Osmiletí	143	49,81					*
Dvouletí a tříletí	67	49,43					*

Desetiletí koně dosáhli nejlepší výkonnosti ve sledovaných disciplínách (67,25) a jsou statisticky průkazně výkonnější než koně dvouletí a tříletí, dále čtyřletí, pětiletí a osmiletí. Domníváme se, že tento výsledek je ovlivněn získanými zkušenostmi koní i jezdců a jejich efektivním využitím v soutěžích, které prokazuje psychickou a fyzickou vyzrálou koní.

Nejmladší kategorie dvouletých a tříletých dosahuje nižších průměrných hodnot (49,43). Tento výsledek je ovlivněn tím, že dvouletí a tříletí koně se zpravidla zúčastňují nižších typů závodů nebo nelicencovaných závodů pro začínající koně a jezdce.

Celkově nejvíce koní startovalo ve věku pěti let (15%) a nejméně koní šestnáctiletých a starších (1,3%). Domnívám se, že důvodem nejpochybnějších startů pětiletých koní je fakt, že v disciplíně reining vypsané pro třídu junior mohou statovat až koně starší pěti let.

Vliv pohlaví

Efekt pohlaví neprokázal svůj vliv na výkonnost koní. Důvodem je zřejmě vyrovnaná kvalita jednotlivých zástupců.

Nejnižšího průměru, stejně jako četnosti, dosáhli hřebci. Předpokládáme, že jedním z důvodů je, že ve westernovém sportu není kladen takový důraz na sportovní kariéru hřebců, ale především na jejich využití v plemenitbě.

Nejvyšších průměrných hodnot dosahovali valaši. Ti oproti klisnám a hřebcům podávají sice jen průměrné výkony, ale bez větších výkyvů – vyrovnané.

U klisen a hřebců může výkonnost značně kolísat v závislosti na jejich sexuálních potřebách.

Nejpochybněji jsou na soutěžích WRC v ČR zastoupeny klisny (46%), valaši ve 36% a nejméně se na kolbištích objevovali hřebci (18%).

Tab. 3 Početní zastoupení a průměrné hodnoty podle pohlaví

Skupina	Počet startů	Průměr
Valaši	540	57,61
Klisny	686	55,77
Hřebci	270	52,28

ZÁVĚR

Westernové ježdění má v současné době nejvíce příznivců jako sport. Velké množství disciplín umožňuje si vybrat tu nejvhodnější pro sebe i svého koně. Díky tomu bylo možné sledovat několik rozličných efektů, které mohly ovlivnit výkonnost koní.

Zhodnocení výkonnosti koní ve westernových soutěžích v ČR za pětileté období prokázalo, že:

- nejlepší výkonnost prokázali koně desetiletí (67,25), nejpočetnější skupinou byli koně pětiletí (15%)
- nejvyšší prokázanou výkonnost měli koně v majetku pana Málka (80,62), nejvíce startujících koní (67) bylo v majetku paní Ing. Šálkové.
- nejvyšší průměrnou hodnotu (71,11) vykazují zástupci plemene hucul a nejpočetnější skupinou je QH (38%)
- nejvíce koní startovalo v disciplíně Otevřená Trail All Ages (7%) a disciplínou s nejvyšší průměrnou hodnotou 78,95 je Mládež Pole Bending
- Rožnov pod Radhoštěm byl místem konání s největším počtem soutěžících (67%), nejvyššího průměru 70,24 dosáhly Kostelany

Základem úspěchu ve westernovém sportu je především výběr vhodného koně pro každou disciplínu - ať již z hlediska genetických předpokladů nebo biologických, fyziologických a psychických vlastností. Ve westernovém sportu stejně jako v anglickém totiž platí „Není kůň jako kůň“.

EVALUATION OF BASIC BODY MEASURE TO MOVEMENT OF THE WELSH PONIES AND COBS

Pířová M., Jiskrová I.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: marketa.pisova@centrum.cz

ABSTRACT

At our thesis we were engaged in evaluation of basic body measure, height the withers of breed Welsh pony and cob. Our aim was evaluation movement in walk and trot. We evaluated the length of walk and trot, frequency in trot on 30 m long distance. The results we evaluated by effects: sex, section of breed, domicile of origin. We used 53 welsh ponies and cobs, 37 welsh mountain ponies, 8 welsh ponies, 4 welsh cobs and 4 section welsh part-bred. The dates were provide by the measurement by laser measure and special pedometer during March 2010 to August 2010. The results were shown, the detected significantly results ($P \leq 0.05$) especially at angle of scapula. The angle of scapula is very important for conformation and movement.

Key words: the welsh pony and cob, measurement, movement, frequency in walk and trot

ÚVOD

Velšský pony je jedno z neznámějších 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 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.

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 a mechanikou pohybu. Mechanika pohybu není důležitým faktorem jen pro výstavy, ke kterým se plemeno využívá nejvíce, ale také pro využití ve sportu.

METODIKA A MATERIÁLY

Pro práci byla zpracována data, která byla naměřena v období březen 2010 až srpen 2010 v České republice, Nizozemí a Velké Británii. Data obsahovala kohoutkovou výšku hůlkovou, počet kroků v klusu a čas dosažený na 30 m dlouhé dráze, délku kroku v kroku a klusu.

Do databáze bylo zařazeno 53 koní velšských plemen pony a kob, z toho 37 sekce A (velšský horský pony), 8 sekce B (velšský pony), 4 sekce D (velšský kob) a 4 sekce WPBR (podílový velšský pony). V databázi bylo

Srovnávací základna zahrnovala tyto efekty:

- sekce plemene
- příslušnost k pohlaví
- zemi odkud kůň pochází
- úhel lopatky.

Třídění do skupin dle sekce:

sekce A – 1

sekce B – 2

sekce D – 4

sekce WPBR – 5

Třídění do skupin dle pohlaví:

1 – hřebec

2 – klisna

3 - valach

Třídění do skupin dle země původu:

C – Česká republika

NL – Nizozemí

GB – Velká Británie

Byly vymezen základní tělesný rozměr kohoutková výška hůlková, délka kroku v kroku a klusu a byla zhodnocena frekvence v kroku a klusu.

Jednotlivá data byla zpracována v programu Statsoft STATISTICA verze 9.

U databáze byl zjišťován vztah mezi délkou kroku v kroku a klusu a kohoutkovou výškou, příslušnost k pohlaví, zemi původu a sekci plemene. 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 ($i = 1, 2, 3$)

b_j = efekt kohoutkové výšky ($j = 1, 2, \dots, 19$)

c_k = efekt sekce plemene ($k = 1, 2, \dots, 5$)

e_{ijkl} = reziduální efekt

VÝSLEDKY

Srovnání frekvence v klusu

Tab. č. 1 – Průměrná frekvence v klusu u jednotlivých sekcí

sekke	Průměrná frekvence/min.	Sx	Průměrná frekvence/s
1	83,83	31,68	1,4
2	72,87	16,68	1,21
4	88	20	1,47
5	64,58	12,08	1,08

sekke 1 – velšský horský pony

sekke 2 – velšský pony

sekke 4 – velšský kob

sekke 5 – podílový velšský pony

Při posuzování mechaniky pohybu se hodnotí vlastnosti kvantitativní (délka kroku, frekvence) (DUŠEK, 1974). Z dat, která jsme vyhodnotili jsme zjistili, že největší frekvenci v klusu jsme naměřili u velšského horského ponyho. Velšský horský pony patří k nejmenší sekci z hlediska kohoutkové výšky hůlkové. Lze proto i předpokládat, že tito pony mají větší frekvenci kroku v klusu. DUŠEK (1981) provedl výzkum u starokladrubských běloušů a vraníků a hodnotil zde také frekvenci jednotlivých chodů. U klusu došel k různým výsledkům 0,71 u vraníka a 0,97 u bělouše. Všechny sekce velšského ponyho a koba mají tak vyšší průměrnou frekvenci, nejvíce u velšského horského ponyho a velšského koba. Nejvíce se k Duškovým hodnotám blíží podílový velšský pony, tedy jezdecký typ ponyho. Naopak, velšský kob, který se typem mechaniky pohybu přibližuje ke starokladubskému běloušovi, především pak vysokou „karpální“ akcí se liší ve frekvenci téměř o 0,5 kr./s.

Domníváme se, že to je dáno tím, že námi měření jedinci měli velmi prostorný krok v klusu oproti koním, které měřil Dušek ve svém výzkumu.

Srovnání prostornosti kroku v kroku a klusu jednotlivých sekcí

Tab. č. 2 – Srovnání prostornosti v kroku a klusu jednotlivých sekcí

	krok sekce A	klus sekce A	krok sekce B	klus sekce B	krok sekce D	klus sekce D	krok sekce WPBR	klus sekce WPBR
median	58	75,5	73,5	93	81	119	45,25	54,5
min	45	54	70	90	60	108	43	52
max	87	126	82	119	102	130	47,5	57
průměr	60,42	80	75,13	96,13	81	119	45,25	54,5

Při srovnání jednotlivých sekcí z hlediska prostornosti v kroku a klusu jsme zjistili, že délka kroku v chodech krok a klus je úměrná tomu jaké je omezení kohoutkové výšky jednotlivých sekcí. Přesto maximum, které bylo naměřeno u velšského horského ponyho (126 cm) v klusu ukazuje, že i nejmenší sekce (kohoutková výška hůlková do 122cm) má velmi prostorný krok a přibližuje se i sekci velšského koba s kohoutkovou výškou hůlkovou nad 137 cm, zde bylo naměřena maximální hodnota 130 cm v klusu.

DUŠEK (1977) uvádí skutečnost, že kladubský bělouš má prostornější chod, který však není typickým znakem pro toto plemeno. Lze tak potvrdit, že chody tohoto plemene se ve stádě starokladubských běloušů se stává ploššími, zatímco typický chod, charakterizovaný vysokou akcí bez výraznější prostornosti zůstává zafixován ve stádě u starokladubských vraníků. Stejně tak to je u velšského koba, kdy díky vyšší karpální akci se dostáváme k průměrným hodnotám 81 cm v kroku a 119 cm v klusu, což z hlediska rozdílné kohoutkové výšky hůlkové není velký rozdíl oproti velšskému horskému ponymu 60,42 cm v kroku a 80 cm v klusu.

Srovnání prostornosti kroku a klusu metodou GLM

Při srovnání prostornosti kroku a klusu dle zvolených efektů pohlaví, úhel lopatky, příslušnost k jednotlivé sekci a zemi původu jsme zjistili průkaznost ($P \leq 0,01$) u efektů úhel lopatky a příslušnost k jednotlivé sekci. Zjištěná průkaznost tedy ukazuje, že úhel lopatky ovlivňuje prostornost jednotlivých chodů. Stejně tak jako u jednotlivých sekcí jsme prokázali statisticky průkazný vliv. I tento vliv je dán rozdílnou kohoutkovou výškou a tak rozdílnými naměřenými hodnotami u jednotlivých sekcí.

ZÁVĚR

V naší práci jsme zhodnotili základní tělesnou míru, kterou je kohoutková výška hůlková plemene velšský pony a cob. Naším cílem bylo vyhodnotit mechaniku pohybu v kroku a klusu. Zhodnotili jsme délku kroku v kroku a klusu, frekvenci v klusu na 30 metrů dlouhé dráze a výsledky zhodnotili na základě několika efektů: pohlaví, sekce plemene, země původu. Do databáze bylo zařazeno 53 velšských pony a kob z toho 37 sekce A, 8 sekce B, 4 sekce D a 4 sekce WPBR. Data jsme naměřili pomocí laserové míry a speciálního pedometru v období březen 2010 až srpen 2010.

Z dat, která jsme vyhodnotili jsme zjistili, že největší frekvenci v klusu jsme naměřili u velšského horského ponyho. Velšský horský pony patří k nejmenší sekci z hlediska kohoutkové výšky hůlkové. Lze proto i předpokládat, že tito pony mají větší frekvenci kroku v klusu. DUŠEK (1981) provedl výzkum u starokladubských běloušů a vranfků a hodnotil zde také frekvenci jednotlivých chodů. U klusu došel k různým výsledkům 0,71 u vranfka a 0,97 u bělouše. Všechny sekce velšského ponyho a koba mají tak vyšší průměrnou frekvenci, nejvíce u velšského horského ponyho a velšského koba. Nejvíce se k Duškovým hodnotám blíží podřilový velšský pony, tedy jezdecký typ ponyho. Naopak, velšský kob, který se typem mechaniky pohybu přibližuje ke starokladubskému běloušovi, především pak vysokou „karpální“ akcí se liší ve frekvenci téměř o 0,5 kr./s.

Domníváme se, že to je dáno tím, že námi měření jedinci měli velmi prostorný krok v klusu oproti koním, které měřil Dušek ve svém výzkumu.

Při srovnání prostornosti kroku a klusu dle zvolených efektů pohlaví, úhel lopatky, příslušnost k jednotlivé sekci a zemi původu jsme zjistili průkaznost ($P \leq 0,01$) u efektů úhel lopatky a příslušnost k jednotlivé sekci. Zjištěná průkaznost tedy ukazuje, že úhel lopatky ovlivňuje protornost jednotlivých chodů. Stejně tak jako u jednotlivých sekcí jsme prokázali statisticky průkazný vliv. I tento vliv je dán rozdílnou kohoutkovou výškou a tak rozdílnými naměřenými hodnotami u jednotlivých sekcí.

LITERATURA

Dušek, J. :Mechanika pohybu kladubských koní, Buletin č. 35, Výzkumná stanice pro chov koní, Slatiňany 1981 s.103 – 112

Dušek, J. :Standardy pro hodnocení mechaniky pohybu koní čs.plemen, Buletin č. 29. Výzkumná stanice pro chov koní, Slatiňany 1977 s.2 – 10

DUŠEK, J. A KOL. : Chov koní, n. Brázda, Praha, 1vyd., 1999, s. 352, ISBN 80-209-0282-1

DAVIES, W. : The welsh Ponies and Cobs, J.A. Allen, London, 1997, s. 3 -25, ISBN 0-85131-361-2

DYNAMIC OF CHANGES IN DAILY MILK YIELD AND BASIC MILK COMPOSITION IN EWES DEPENDING ON PARITY AND LITTER SIZE

Pokorná M., Kuchtlík J.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: michaela.pokorna@mendelu.cz

ABSTRACT

Dynamic of changes in daily milk yield (DMY) and basic milk composition (contents of total solids, fat, protein and lactose) in 90 ewes (n=90) depending on parity (first to fifth lactation) and litter size (singles and twins) was carried out on organic farm in Valašská Bystřice in 2009 on the basis of laboratory analysis of milk samples. Milk records and samplings were carried out five times during the whole lactation. The milk analyses were carried out by standard methods. The parity had a highly significant effect on DMY and basic milk composition. The litter size had a highly significant effect on DMY and contents of total solids and fat. On the other hand the litter size had no significant effect on contents of protein and lactose.

Key words: sheep milk, parity, litter size, daily milk yield, milk composition

Acknowledgments: The research has been supported by MZe QH91271 and IGA TP 2/2010.

ÚVOD

Chov ovcí v České republice zažívá příznivé období. Zatímco po roce 1989 došlo k radikálnímu úbytku chovaných ovcí, od roku 2000 dochází opět k postupnému navyšování jejich stavů. Spolu s růstem počtu chovaných ovcí probíhají také změny v zaměření jejich chovu. Spolu s rostoucí agroturistikou a oblibou výrobků z ovčího masa a mléka rostou také počty masných i dojných plemen ovcí. Zatímco v roce 1990 se u nás chovalo pouze 0,1 % plodných a dojných plemen, v roce 2009 je to již 10 % (Hřeben, 2010). Mezi dojná plemena s nejlepší mléčnou užitkovostí patří v ČR zejména východofříská ovce a ovce plemene lacaune. Nejen plemeno však ovlivňuje mléčnou užitkovost, mezi další významné faktory patří fáze a pořadí laktace, výživa, četnost vrhu či podmínky prostředí. Cílem naší studie se stalo zhodnocení dynamiky změn dojivosti a základního složení ovčího mléka v závislosti na pořadí laktace a četnosti vrhu.

MATERIÁL A METODIKA

Zhodnocení dynamiky změn dojivosti a složení ovčího mléka probíhalo na ekologické farmě ve Valašské Bystřici v průběhu roku 2009. Do studie bylo zahrnuto 90 ovcí ($n=90$), různopodílných kříženek plemen lacaune (L) a východofříská ovce (VF). Konkrétně se jednalo o kříženky L50VF50, L75VF25 a L87,5VF12,5. Jelikož však všechny kříženky nebyly zastoupeny ve všech skupinách, nehodnotil se vliv konkrétních kříženců na sledované ukazatele. Z pohledu pořadí laktace se v tomto roce nacházelo 25 bahnic na první laktaci, 17 bahnic na druhé, 15 bahnic na třetí, 25 bahnic na čtvrté a 12 bahnic na páté laktaci. Z pohledu četnosti vrhu porodilo 49 bahnic jedináčky a 41 bahnic dvojčata. Porody bahnic probíhaly na přelomu měsíců únor a březen v ovčíně. Odstav jehňat a počátek dojení proběhl dne 1.5.2009. Denní krmná dávka ovcí během sledování se skládala z pastvy na trvalé pastvině (*ad libitum*), organického ovsa (50g/ks/den) a minerálního lizu (MIKRO Mg SUPER, *ad libitum*). Vlastní sledování probíhalo v měsících květen až září 2009, kdy byla pětkrát, s rozestupem přibližně jednoho měsíce, u všech ovcí zjištěna denní dojivost a odebrány vzorky mléka pro následné analýzy. Vzorky mléka byly ihned po odebrání zchlazeny na ± 5 °C a v termoboxu převezeny do laboratoře na Ústavu technologie potravin MENDELU. V rámci analýz byly pomocí standardních metod stanoveny obsahy sušiny (S), tuku (T), bílkovin (B) a laktózy (L). Získané výsledky byly statisticky zpracovány pomocí programu Statistica 8.0.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Zhodnocení dynamiky změn dojivosti a základního složení ovčího mléka v závislosti na pořadí laktace a četnosti vrhu je uvedeno v tabulce 1. Z této tabulky především vyplývá, že pořadí laktace mělo statisticky vysoce průkazný ($P \leq 0,01$) vliv na dojivost a obsahy všech sledovaných složek ovčího mléka, stejně jako ve sledování, jež realizovali Novotná a kol. (2009). Průměrná denní dojivost (PDD) bahnic na první a druhé laktaci byla na přibližně stejné úrovni (0,79-0,82 l/den),

mezi druhou a třetí laktací došlo ke zvýšení PDD na 0,92 l/den, poté došlo ještě k jejímu mírnému zvýšení na 0,99 l/den na čtvrté laktaci a na přibližně této úrovni se PDD udržela i na páté laktaci. Také ve studiích Puglieseho a kol. (2000) a Benciniho a Puliny (1997) bylo zjištěno zvyšování PDD ovcí do čtvrté laktace. Ve studii Christodoulou a kol. (1997) dosáhly bahnice vrcholu PDD až na páté laktaci. Oproti tomu ve studii Nuddy a kol. (2003) dosáhly bahnice nejvyšší PDD již na druhé laktaci a poté docházelo k postupnému snižování s každou následnou laktací. Nejnižší průměrný obsah sušiny (S) za celou laktaci byl zjištěn u ovcí na první laktaci, a to 18,73 %. Mezi první a druhou laktací došlo ke zvýšení (o 0,55 %) průměrného obsahu S a na přibližně stejné úrovni se udržel až do čtvrté laktace. Také mezi čtvrtou a pátou laktací došlo k výraznému zvýšení (o 0,71 %) průměrného obsahu S, a to na 19,96 %. Oproti tomu Novotná a kol. (2009) v jejich studii pozorovala zvýšení průměrného obsahu S pouze mezi první a druhou laktací, poté došlo k jeho snížení. Průměrný obsah tuku za celou laktaci byl také nejnižší na první laktaci (7,28 %) a nejvyšší na páté laktaci (8,12 %), přičemž na druhé až čtvrté laktaci se jeho obsah pohyboval na přibližně stejné úrovni. Ve studiích Puglieseho a kol. (2000), Seviho a kol. (2000) a Nuddy a kol. (2003) však docházelo k pravidelnému zvyšování obsahu tuku s každou vyšší laktací. Také průměrný obsah bílkovin (B) byl nejnižší u ovcí na první laktaci, a to 5,74 %. Mezi první a druhou laktací došlo ke zvýšení průměrného obsahu B a na této úrovni se udržel až do čtvrté laktace, když mezi čtvrtou a pátou laktací došlo opět k navýšení průměrného obsahu B na 6,13 %. Pugliese a kol. (2000), Sevi a kol. (2000), Nudda a kol. (2003) a Thomas a kol. (2004) v jejich studiích zaznamenali zvyšování obsahu B s každou vyšší laktací. Průměrné obsahy laktózy za celou laktaci byly poměrně vyrovnané a výrazně se nelišily v závislosti na pořadí laktace, stejně jako ve studiích Puglieseho a kol. (2000) a Nuddy a kol. (2003).

Z výsledků našeho sledování dále vyplývá, že četnost vrhu měla statisticky vysoce průkazný ($P \leq 0,01$) vliv na dojivost a obsahy sušiny a tuku. Oproti tomu tento faktor neměl statisticky průkazný vliv na obsahy bílkovin a laktózy. Průměrná denní dojivost za celou laktaci byla vyšší u bahnic s dvojčaty. Také Bencini a Pulina (1997), Gonzalo a kol. (1994), Hassan (1995), Fuertes a kol. (1998), Oravcová a kol. (2006) a Christodoulou a kol. (1997) uvádějí, že velikost vrhu významně ovlivňuje denní dojivost ovcí a bahnice se dvěma jehňaty nadojí více mléka než bahnice s jedním jehnětem. Průměrný obsah sušiny za celou laktaci byl vyšší u bahnic s dvojčaty, narozdíl od studií Hassana (1995) a Fuertese a kol. (1998), ve kterých byl průměrný obsah sušiny u ovcí s dvojčaty nižší. Také průměrný obsah tuku za celou laktaci byl vyšší u ovcí s dvojčaty. Avšak Gonzalo a kol. (1994), Hassan (1995) a Fuertes a kol. (1998) uvádějí nižší průměrný obsah tuku u ovcí s dvojčaty. Průměrný obsah bílkovin za celou laktaci byl neprůkazně vyšší u bahnic s dvojčaty, stejně jako uvádějí Fuertes a kol. (1998), nicméně Gonzalo a kol. (1994) uvádějí opačný trend. Průměrný obsah laktózy za celou laktaci byl v podstatě totožný u ovcí s jedináčky a dvojčaty. Fuertes a kol. (1998) nicméně v jejich studii zjistili nižší průměrný obsah laktózy u ovcí s dvojčaty.

Tab. 1 L.S.M. a S.E.M. dojivosti, obsahu sušiny, tuku, bílkovin a laktózy v závislosti na pořadí laktace a četnosti vrhu

	n	Dojivost (l/den)			Sušina (%)			Tuk (%)			Bílkoviny (%)			Laktóza (%)		
		L.S.M.	S.E.M.	Sign.	L.S.M.	S.E.M.	Sign.	L.S.M.	S.E.M.	Sign.	L.S.M.	S.E.M.	Sign.	L.S.M.	S.E.M.	Sign.
Pořadí laktace				**			**			**			**			**
První (A)	21	0,82	0,260	DE	18,73	1,662	E	7,28	1,400	dE	5,74	0,643	E	4,82	0,282	B
Druhá (B)	17	0,79	0,073	cDE	19,28	1,483		7,79	1,319		5,88	0,569	E	4,71	0,225	ACDe
Třetí (C)	15	0,92	0,279	B	19,15	1,310	e	7,54	1,177		5,80	0,497	E	4,92	0,229	B
Čtvrtá (D)	25	0,99	0,285	AB	19,25	1,499	e	7,75	1,194	a	5,77	0,499	E	4,88	0,199	B
Pátá (E)	12	0,97	0,257	AB	19,96	1,508	Acd	8,12	1,305	A	6,13	0,621	ABCD	4,81	0,249	b
Četnost vrhu				**			**			**						
Jedináčci (A)	49	0,85	0,254	B	19,00	1,534	B	7,48	1,333	B	5,79	0,571		4,83	0,257	
Dvojčata (B)	41	0,95	0,306	A	19,46	1,528	A	7,88	1,235	A	5,89	0,582		4,83	0,233	

a, b, c, d, e = mezi hodnotami ve sloupcích s různými písmeny byly zjištěny statisticky průkazné ($P \leq 0,05$) rozdíly. A, B, C, D, E = mezi hodnotami ve sloupcích s různými písmeny byly zjištěny statisticky vysoce průkazné ($P \leq 0,01$) rozdíly; ** $P \leq 0,01$; * $P \leq 0,05$.

ZÁVĚR

Z výsledků naší studie především vyplývá, že pořadí laktace mělo statisticky vysoce průkazný ($P \leq 0,01$) vliv na dojivost a základní složení ovčího mléka. Denní dojivost pozvolna rostla až do čtvrté laktace. Průměrné obsahy sušiny, tuku a bílkovin za celou laktaci byly nejnižší u ovcí na první laktaci a nejvyšší u ovcí na páté laktaci. Průměrný obsah laktózy za celou laktaci se neměnil v závislosti na pořadí laktace. Četnost vrhu měla statisticky vysoce průkazný vliv na dojivost a obsahy sušiny a tuku. Denní dojivost, stejně jako průměrné obsahy sušiny, tuku a bílkovin za celou laktaci byly vyšší u ovcí s dvojčaty. Průměrný obsah laktózy za celou laktaci se neměnil v závislosti na četnosti vrhu.

LITERATURA

- Bencini, R., Pulina, G. (1997): The Quality of Sheep Milk: a review. *Wool Technology and Sheep Breeding*. Vol. 45, issue 3: 182-200.
- Fuertes, J.A., Gonzalo, C., Carriedo, J.A., San Primitivo, F. (1998): Parameters of Test Day Milk Yield and Milk Components for Dairy Ewes. *J. of Dairy Sci.* Vol. 81, No. 5: 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. *J. of Dairy Sci.*: 1537-1542.
- 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. *In Small Ruminant Research* 18: 165-172.
- Hřeben, F. (2010): Ročenka chovu ovcí a koz v České republice za rok 2009. 9-10.
- Christodoulou, B., Ploumi, K., Giouzelyannis, A., Vainas, E., Katanos, I. (1997): Performance Analysis of the Florina (Pelagonia) Sheep for Milk Production. *Živočišná výroba*: 241-246.
- Novotná, L., Kuchtík, J., Šustová, K., Zapletal, D., Filipčík, R. (2009): Effects of lactation Stage and parity on Milk Yield, Composition and Properties of Organic Sheep Milk. *Journal of Applied Animal Research*: 71-76.
- Nudda, A., Feligini, M., Battaccone, G., Macciotta, N.P.P., Pulina G. (2003): Effects of lactation Stage, Parity, β -lactoglobulin Genotype and Milk SCC on Whey Protein Composition in Sarda Dairy Ewes. *Italian Journal of Animal Science*. Vol. 2: 29-39.
- Oravcová, M., Margetín, M., Peškovičová, D., Daňo, J., Milerski, M., Hetényi, L., Polák, P. (2006): Factors Affecting Milk Yield and Ewe's Lactation curves Estimated with Test-Day Models. *Czech J. of Animal Sci.*: 483-490.
- Pugliese, C., Acciaioli, A., Rapaccini, S., Parisi, G., Franci, O. (2000): Evolution of Chemical Composition, Somatic Cell Count and Renneting Properties of the Milk of Massese Ewes. *Small Ruminant Res.*: 71-80.

MENDELNET 2010

Sevi, A., Taibi, L., Albenzio, M., Muscio, A., Annichiarico, G. (2000). Effect of Parity on Milk Yield, Composition, Somatic Cell Count, Renneting Parameters and Bacteria Counts of Comisana Ewes. *Small Ruminant Res.*:99-107.

Thomas, D.L., Berger, Y.M., Gottfredson, R.G., Taylor, T.A., 2004: Comparison of East Friesian and Lacaune Breeds for Dairy Sheep Production in North America. In: *Proceedings of the 10th Great Lakes Dairy Sheep Symposium*. Hudson, Wisconsin, USA: The Dairy Sheep Association of North America, 115-123.

THE INFLUENCE OF HYBRID, LOCALITY AND SILAGE PREPARATION ON THE NEUTRAL DETERGENT FIBER DIGESTIBILITY OF MAIZE SILAGE

Poštulka R., Doležal P.

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

E-mail: roman.postulka@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the influence of used silage preparations, localities and hybrids on values of the neutral detergent fiber (NDF) digestibility. The part of this study was to review the influence of maize silage starch and its quality on the NDF digestibility value. In the experiment was given the fresh matter of three hybrids from 2 different localities. At ensiling was the chopped forage treated by biological and chemical preparation. It was made the parallel control silage (i. e. without silage preparation).

The high significant differences ($p < 0.01$) in the NDF contents were detected at the level of different localities. The NDF digestibility was high significantly ($p < 0.01$) different between the localities (Senice – $49.29 \pm 1.49\%$; Záblatí – $59.61 \pm 1.8\%$). The used hybrid neither the silage preparation did not influence significantly the NDF digestibility values. It ensued further from the results the high correlation ($r = 0.92$) between the content of starch and NDF digestibility. When the content of starch increases, the NDF digestibility decreases.

Key words: Maize silage, starch, NDF, digestibility, hybrid

Acknowledgments: This work was supported by the project IG290081 “The influence of hybrid, silage preparation and locality on the rumen degradability of starch in maize silage” and Research plan No. MSM6215648905

ÚVOD

Výživa skotu se v současné době zakládá na objemných konzervovaných krmivech, která jsou ve většině případů zkrmována celoročně. Z výše uvedené skutečnosti vyplývá, že výroba kvalitních objemných krmiv a siláží zejména představuje stěžejní část rentability výroby mléka. Kvalita těchto siláží se posuzuje na základě hodnocení výživné hodnoty a kvality fermentačního procesu. V poslední době se však přihlíží i k dalším parametrům, jako degradovatelnost škrobu či stravitelnost vlákniny, NDV. Vlákna je velmi důležitá pro optimální činnosti trávicí soustavy přežvýkavců, má však také plnicí efekt. O množství přijaté sušiny zvířetem rozhoduje v největší míře zastoupení NDV – neutrálně detergentní vlákniny v krmné dávce. Podle KOUKOLOVÉ a HOMOLKY (2008) je hlavní funkcí NDV také poskytování energie pro mikrobiální syntézu a zajišťování správné činnosti bachtora a tím i zdravotní stav zvířat. Důležitým předpokladem vysoké produkce mléka je podle ILLKA (2003) právě vytvoření optimálních podmínek pro bachtorovou fermentaci, protože ta rozhoduje v návaznosti na krmnou dávku o konverzi živin a tvorbě prekurzorů mléka.

Pro správnou funkci bachtora není důležité jen celkové množství vlákniny, ale i její samotná stravitelnost. Vlákna je složena z nestravitelných frakcí a více potenciálně stravitelných frakcí, přičemž každá tato frakce je degradována různou rychlostí. Rozsah trávení vlákniny je dán velikostí nestravitelné frakce a výsledkem degradace spolu s pasáží tráveniny z bachtora. Nutriční hodnota píče u přežvýkavců závisí na poměru buněčného obsahu a buněčných stěn a na schopnosti mikroorganismů tyto buněčné stěny degradovat a fermentovat dostupné sacharidy (KOUKOLOVÁ, HOMOLKA, 2008). V závislosti na vegetačním stádiu zralosti a druhu pícniny se na celkové sušině rostlinné hmoty podílejí buněčné stěny z 25 – 80 %. Různé chemické složení těchto buněčných stěn je dáno variabilním podílem jejich hlavních složek. Mezi tyto hlavní složky patří celulóza, hemicelulóza, pektin (stravitelnost 30 – 60 %) a lignin (zcela nestravitelný). Z toho vyplývá, že míra degradace buněčných stěn velice významně ovlivňuje efektivitu živočišné produkce prostřednictvím maximalizace výnosu energie z krmiv. Uvádí se, že zvýšení stravitelnosti NDV o 1 % zvyšuje příjem sušiny zvířaty o 0,18 kg a dojivost o 0,26 l FCM.

MATERIÁL A METODIKA

Pokus probíhal na 2 různých stanovištích, na kterých byly pěstovány 3 hybridy silážních kukuřic s číslem FAO (230, 260, 280). Sklizeň kukuřic byla stanovena na základě sumy efektivních teplot. Porost kukuřice byl požezán na délku řezanky 0,8 – 1,5 cm. Při modelovém silážování byla hmota každého hybridu a stanoviště buďto bez ošetření (kontrola), nebo byla hmota ošetřena bakteriálním inokulantem (15g/t hmoty), nebo chemickým aditivem (2l/t hmoty) na bázi organických kyselin

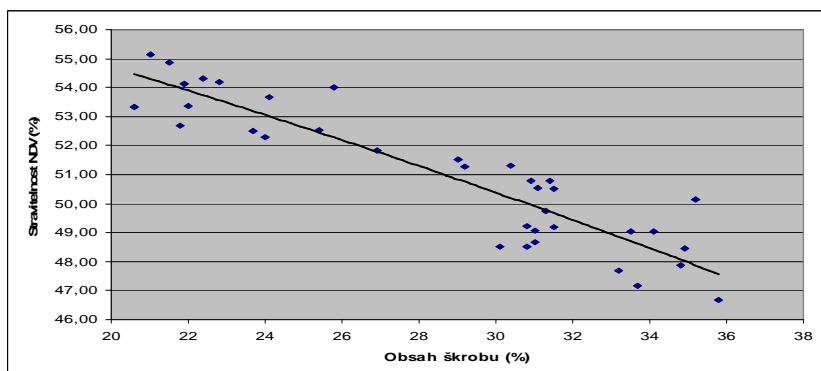
a soli. Po 80 dnech fermentace byly odebrány vzorky jednotlivých siláží a analyzovány na obsah sušiny, chemické složení a fermentační proces. Dále byly vzorky kukuřičných siláží podrobeny analýze na degradovatelnost škrobu a stravitelnost neutrálně detergentní vlákniny. Při stanovení degradovatelnosti škrobu a stravitelnosti NDV bylo použito metody „*in sacco*“. Inkubace vzorků v bachoru kanylovaného volka probíhala po dobu 16 hodin. Statistické vyhodnocení dat bylo za pomoci programu *Statistica CZ*.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Stravitelnost NDV je podle ANDRAE et al.,(2001) ovlivněna jak hybridem, vegetačním stádiem při sklizni, tak i samotným procesem silážování. Na rozdílnou míru degradace NDV mezi hybridy poukazuje i CHAMPION (2010) a uvádí následující hodnoty stravitelnosti NDV: Hybrid I – 59,4 %; hybrid II – 51,4 %; hybrid III – 50,1 %; IV – 46,9 %; V - 46,7 %; VI – 46,6 %. V našem pokusu však rozdíly mezi hodnotami stravitelnosti NDV mezi jednotlivými hybridy nebyly průkazné (I – 52,99 ± 2,16 % ; II – 54,68 ± 2,28 %; III – 55,68 ± 2,26 %) a to ani na úrovni jednotlivých stanovišť (Senice na Hané: I – 48,44 ± 1,19 %; II – 49,84 ± 1,04 %; III – 49,58 ± 1,77 %; Záblatí: I – 51,41 ± 1,87 %; II – 53,31 ± 1,82 %; III – 53,14 ± 1,87 %). Prokázán nebyl ani vliv použitého silážního aditiva (kontrolní siláž – 54,85 ± 2,1 %; inokulovaná – 55,73 ± 2,45 %; chemicky ošetřená – 52,77 ± 2,49 %). Ke stejnému závěru došli ve svých pokusech i GREGORINI, SODER a WAGHORN (2010), když konstatují, že stravitelnost nebyla statisticky průkazně ovlivněna silážním aditivem. WEINBERG et al.,(2007) však uvádějí pozitivní vliv inokulace siláže kmeny bakterií mléčného kvašení na stravitelnost NDV.

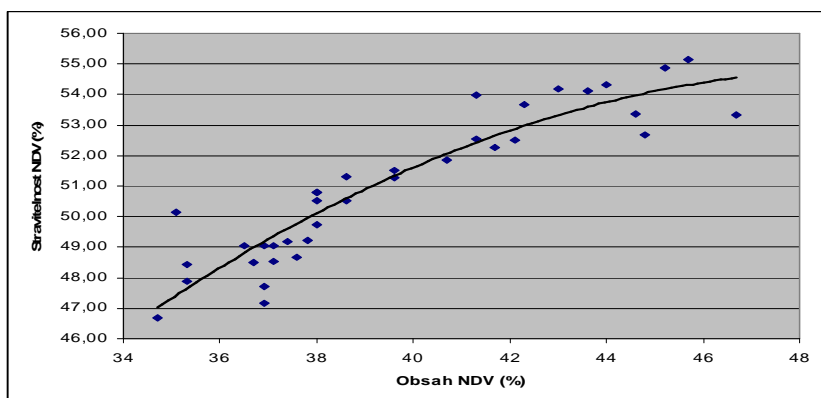
Rozdíly ve stravitelnosti NDV však byly statisticky vysoce průkazné ($p < 0,01$) mezi stanovišti (Senice - 49,29 ± 1,49 %; Záblatí - 59,61 ± 1,8 %). Kukuřičné siláže se mezi stanovišti statisticky průkazně ($p < 0,05$) lišily v obsahu NDV (Senice – 42,03 ± 1,61 %; Záblatí – 37,22 ± 2,84 %). Statisticky průkazný ($p < 0,05$) byl i rozdíl v obsahu škrobu kukuřičných siláží z různých stanovišť (Senice 32,08 ± 2,51 %; Záblatí – 25,08 ± 3,77 %). Statisticky průkazné rozdíly v obsahu škrobu a obsahu NDV jednotlivých hybridů v rámci stanoviště nebyly prokázány, statisticky průkazný rozdíl ($p < 0,05$) v obsahu škrobu byl však zjištěn na stanovišti Senice na Hané mezi I. a II. hybridem (34,2 ± 1,39 % vs. 30,66 ± 0,79 %). Z výše uvedených výsledků tedy vyplývá negativní závislost stravitelnosti NDV na obsahu škrobu a pozitivní závislost mezi stravitelností NDV a obsahem NDV. KOUKOLOVÁ et al., (2010) však uvádějí negativní závislost mezi obsahem NDV a stravitelností organické hmoty ($r = -0,78$). Dále uvádějí, že zvyšující se obsah NDV redukuje lineárně stravitelnost samotné NDV. Tuto závislost však prezentují na vzorcích pastevních porostů. KENDALL et al., (2009) došli na základě výsledků jejich experimentu k závěru, že příjem sušiny i celkové množství přijaté NDV neovlivňuje stravitelnost NDV. Inhibiční efekt škrobu na stravitelnost NDV potvrzují ve svých pokusech i WIENBERG et al.,(2007).

Graf 1: Vliv obsahu škrobu na stravitelnost NDV



$$r=0,91; y = -0,4521x + 63,881$$

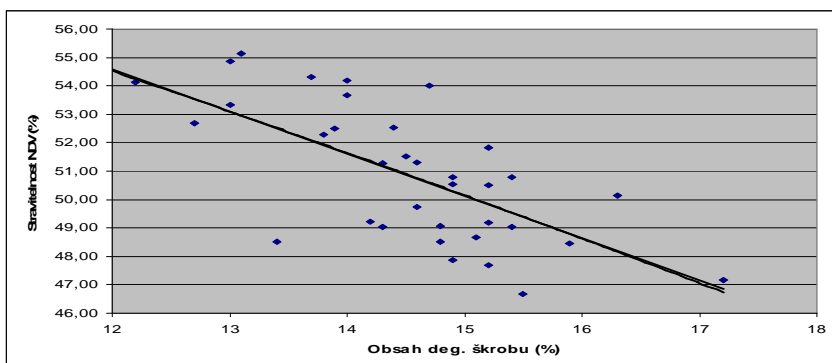
Graf 2: Vliv obsahu NDV na stravitelnosti NDV



$$r = 0,93; y = -0,0356x^2 + 3,5293x - 32,533$$

Z grafu I je patrné, že vyšší obsah škrobu negativně ovlivnil stravitelnost NDV, což mohlo být vyvoláno změnou bacherové fermentace. Z grafu III vyplývá, že množství v bacheru stráveného škrobu (tj. degradovatelného) má na stravitelnost NDV poměrně silný vliv ($r=0,69$), menší však, než absolutní obsah škrobu.

Graf 3: Vliv v bacheru degradovaného škrobu na stravitelnost NDV



$$y = -1,4878x + 72,457$$

Tab. 1: Obsah NDV, škrobu a DŠ (degradovatelného škrobu) různých variant siláží.

Stanoviště	Hybrid	Sil.aditiv.	NDV (%)	Škrob (%)	DŠ (%)	NDV-strav.
Senice	1	1	36,5	34,1	15,4	49,04
	1	2	37,4	31,5	15,2	49,2
	1	3	36,9	33,7	17,2	47,15
	2	1	38	31,1	14,9	50,53
	2	2	36,7	30,1	13,4	48,5
	2	3	39,6	29,2	14,3	51,26
	3	1	36,9	33,2	15,2	47,7
	3	2	37,1	31	14,8	49,06
	3	3	41,3	25,4	14,4	52,54
	1	1	35,1	35,2	16,3	50,14
	1	2	35,3	34,9	15,9	48,44
	1	3	34,7	35,8	15,5	46,69
	2	1	38	31,3	14,6	49,74
	2	2	37,1	30,8	14,8	48,52
	2	3	38,6	31,5	15,2	50,52
	3	1	36,9	33,5	14,3	49,05
	3	2	35,3	34,8	14,9	47,88
	3	3	38,6	30,4	14,6	51,3

Záblatí	1	1	41,3	25,8	14,7	54
	1	2	42,1	23,7	13,9	52,49
	1	3	37,6	31	15,1	48,67
	2	1	38	31,4	15,4	50,79
	2	2	43	22,8	14	54,19
	2	3	38	30,9	14,9	50,79
	3	1	39,6	29	14,5	51,52
	3	2	44	22,4	13,7	54,32
	3	3	42,3	24,1	14	53,66
	1	1	41,7	24	13,8	52,28
	1	2	40,7	26,9	15,2	51,84
	1	3	37,8	30,8	14,2	49,21
	2	1	45,2	21,5	13	54,87
	2	2	43,6	21,9	12,2	54,13
	2	3	45,7	21	13,1	55,14
	3	1	46,7	20,6	13	53,32
	3	2	44,8	21,8	12,7	52,68
	3	3	44,6	22	11,9	53,36

Pozn. Sil.aditivum: 1- kontrola; 2- bakteriální inokulant; 3- chemický konzervant

ZÁVĚR

Cílem pokusu bylo zhodnotit vlivy ovlivňující hodnoty stravitelnosti neutrálně detergentní vlákniny. Navzdory výsledkům několika vědeckých prací, kde byl potvrzen vliv hybridu na stravitelnost NDV, nebyl v našem pokusu vliv hybridu na stravitelnost NDV nalezen. V současné době však probíhá šlechtění nových odrůd a hybridů, které se vyznačují právě vyšší stravitelností NDV. Taktéž nebyl potvrzen vliv použitého silážního aditiva na stravitelnost NDV. Z výsledků pokusu však vyplynul vliv chemického složení siláže na stravitelnost NDV a to ve smyslu obsahu škrobu a obsahu samotné NDV.

LITERATURA

ANDRAE, J.G., et al. Effect of hybrid, maturity, and mechanical processing of corn silage on intake and digestibility by beef cattle. *Journal of animal Science* [online]. 2001, 79, 9, [cit. 2010-10-07]. Dostupný z WWW: <www.scopus.com>. ISSN 00218812.

CHAMPION, M. Limagrain, a research leader in maize silage. In *14th International Symposium Forage conservation*. 1. Brno : Mendel university Brno, 2010. s. 18-21. ISBN 978-80-7375-386-3.

GREGORINI, P; SODAN, K.J.; WAGHORN, G. Effects of timing of corn silage supplementation on digestion, fermentation pattern, and nutrient flow during continuous culture fermentation of

a short and intensive orchardgrass meal. *Journal of Dairy Science* [online]. 2010, 93, 8, [cit. 2010-10-08]. Dostupný z WWW: <www.scopus.com>. ISSN 00220302.

ILLEK, Josef Aktuální výživářské aspekty dojnic směřované ke kvalitě mléka. In *šlechtitelské a technologické aspekty chovu dojených krav a kvality mléka*. 1. Rapotín : Grafotyp Šumperk, 2003. s. 36-40. ISBN 80-903142-1-x.

KENDALL, C, et al. Intake and milk production of cows fed diets that differed in dietary neutral detergent fiber and neutral detergent fiber digestibility. *Journal of Dairy Science* [online]. 2009, 92, 1, [cit. 2010-10-08]. Dostupný z WWW: <www.scopus.com>. ISSN 00220302.

KOUKOLOVÁ, V; HOMOLKA, Petr Význam hodnocení vlákniny ve výživě dojnic. In *Výživa dojnic*. 1. Rapotín : Kartotisk, s.r.o. Šumperk, 2008. s. 25-30. ISBN 978-80-87144-02-2.

KOUKOLOVÁ, V, et al Hodnocení stravitelnosti neutrálně detergentní vlákniny ve výživě skotu. In *Lazarové dni výživy a veterinárnej dietetiky IX.*. 1. Košice : Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, 2010. s. 95-98. ISBN 978-80-8077-194-2.

WEINBERG, Z.G., et al. Effect of lactic acid bacteria inoculants on in vitro digestibility of wheat and corn silages. *Journal of Dairy Science* [online]. 2007, 90, 10, [cit. 2010-10-08]. Dostupný z WWW: <www.scopus.com>. ISSN 00220302.

ECONOMICALLY EFFECTIVE ALTERNATIVES TO SOYBEAN MEAL IN BROILER NUTRITION

Rada V., Lichovníková M.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: vojtechrada@gmail.com, lichovmartina@gmail.com

ABSTRACT

The experiment examined the effect of the different adjustments of soybeans in the diet on efficiency of broilers Ross 308. 154 broilers was divided into 4 groups: control group (K), representing only soybean in the form of soybean meal (SBM) and soybean oil, group A, which was a mixture of 15% of SBM and soybean oil replaced by an extruded soybean, group B, which was a mixture of 10% of SBM and soybean oil replaced by an extruded soybean and group C, fed a mixture which was 10% with SBM and soybean oil replaced not extruded soybean. The experimental mixtures were fed from 10th days of age. In the 35th days of age were not found statistically significant differences in body weight between groups of chickens. The highest live weight was observed in group K. The best conversions were detected in the control group with soybean in the form of the SBM and the worst in the group C, which was fed not extruded soybean. The experimental intervention did not ensure positive impact on the economy of fattening.

Key words: broiler, soybean meal, soybean, extrusion, conversion, growth

Úvod

Postavení dusíkatých látek (NL) ve výživě drůbeže je významné jak z pohledu výživářského tak z ekonomického. Drůbež potřebuje NL v množství, které zabezpečuje dostatek esenciálních aminokyselin a také dostatek aminokyselin poloescenciálních a neescenciálních nebo látek potřebných pro jejich tvorbu (Zelenka a Zeman, 2006). Úhrada NL ve směsích pro rostoucí drůbež se často řeší v podobě produktů ze sóje luštinaté. I když se jedná o živinově a energeticky bohaté suroviny, tak jejich zužitkování je do značné míry limitováno formou jejich úprav. Důvodem je obsah antinutriční látky inhibitoru trypsinu, který omezuje využitelnost NL a částečně se eliminuje především teplou úpravou. Inhibitor trypsinu je po chemické stránce protein a řadí se do skupiny inhibitorů proteáz. (Zeman, 2006). Nejpoužívanější formy sojových produktů v ČR jsou sojový extrahovaný šrot (SEŠ) a sojové extrudované boby. Jako třetí použitelná forma sóje jsou tepelně neošetřené sojové boby.

Cílem pokusu bylo zjistit vliv náhrady SEŠ a sojového oleje (dále jen SO) extrudovanými a neextrudovanými boby na intenzitu růstu, konverzi krmiva a ekonomiku výkrmu u rostoucích brojlerových kuřat, za předpokladu stejného obsahu ME_N a NL ve směsích.

MATERIÁL A METODIKA

Do pokusu bylo zařezeno 154 ks brojlerových slepiček hybrida Ross 308, které byly ustájeny v dvoupodlažní klecové technologii podle zásad uváděných v technologickém návodu pro daného hybrida. Do 10. dne byla všechna kuřata krmena stejnou krmnou směsí BR1. Desátý den byly slepičky rozděleny do 4 skupin tak, aby ve skupinách byla stejná průměrná hmotnost. Pokusné období bylo od 10. do 35. dne věku, kdy kuřata přijímala pokusné krmné směsi BR2 (20,5 % NL; 12,7 MJ ME/kg). Všechny směsi obsahovaly stejné množství pšenice, kukuřice a minerálně-vitaminových doplňků a lišily se v zastoupení SEŠ, SO a sojových bobů (viz tabulka 1). Kontrolní skupina (K) obsahovala SEŠ a SO, ve skupině A, bylo 15 % SEŠ a SO nahrazeno extrudovanými sojovými boby, ve skupině B, bylo 10 % SEŠ a SO nahrazeno extrudovanými sojovými boby a ve skupině C bylo 10 % SEŠ a SO nahrazeno neextrudovanými sojovými boby. Poměr nahrazovaného SEŠ a SO vycházel z předpokladu, že sojové boby obsahují 18 % oleje. Obsah živin byl stanoven tak, aby všechny směsi obsahovaly stejný obsah energie a NL. Krmný režim byl *ad libitum* při automatickém systému napájení. Kuřata byla vážena 10., 17., 24., 31. a 35. den věku. Byly vyhodnoceny základní parametry užitkovosti (intenzita růstu a konverze krmiva), kdy pro statistické vyhodnocení dat byla použita jednofaktorová analýza variance (ANOVA) s následným testováním průkaznosti rozdílu Scheffého testem.

Tabulka 1. Složení krmných směsí (%)

Komponent	K	A	B	C
Pšenice	39,08	39,08	39,08	39,08
Kukuřice	25,00	25,00	25,00	25,00
Sojový extrahovaný šrot	27,30	15,00	19,10	19,10
Extrudované sojové boby	0,00	15,00	10,00	0,00
Neextrudované sojové boby	0,00	0,00	0,00	10,00
Sojový olej	4,50	1,80	2,70	2,70
Min.-vit. komplex	4,12	4,12	4,12	4,12

VÝSLEDKY A DISKUZE

Výsledky průměrných hodnot hmotností kuřat v jednotlivých obdobích výkrmu jsou uvedeny v tabulce 2. Průměrná hmotnost kuřat na začátku pokusu (10. den věku) byla bez průkazného rozdílu. V prvních dvou týdnech pokusného období (v 17. a 24. dnu) statisticky průkazně ($P < 0,05$) rostla lépe kuřata kontrolní skupiny oproti skupinám B a C. Ve 31. dnu věku byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl v růstu u skupiny K ($1666,7 \pm 28,5$ g) oproti skupině B ($1541,7 \pm 33,4$ g). Na konci pokusného sledování nebyl zjištěn průkazný rozdíl mezi skupinami. K podobným výsledkům dospěli i Hamilton a McNiven (2000), kteří uvádí, že mezi skupinami kuřat krmných směsí obsahující soju ve formě SEŠ a kuřaty krmných směsí obsahující extrudovanou sóju byly statisticky průkazné rozdíly v růstu zjištěny na počátku růstu, ale na konci růstu průkazné rozdíly zjištěny nebyly.

Tabulka 2. Průměrné hmotnosti kuřat v jednotlivých obdobích výkrmu

Skupina	průměrná hmotnost 10. den (g)	průměrná hmotnost 17. den (g)	průměrná hmotnost 24. den (g)	průměrná hmotnost 31. den (g)	průměrná hmotnost 35. den (g)
K	282,9 ^a ± 3,9	652,7 ^a ± 9,6	1114,3 ^a ± 19,6	1666,7 ^a ± 28,5	1993,5 ^a ± 45,3
A	285,0 ^a ± 4,3	626,6 ^{ab} ± 6,9	1056,3 ^{ab} ± 14,9	1605,9 ^{ab} ± 24,6	1929,9 ^a ± 36,0
B	279,1 ^a ± 4,2	607,8 ^b ± 12,1	1041,9 ^b ± 18,8	1541,7 ^b ± 33,4	1886,1 ^a ± 35,5
C	279,4 ^a ± 4,3	604,4 ^b ± 7,7	1017,8 ^b ± 16,6	1575,3 ^{ab} ± 28,2	1903,5 ^a ± 29,1

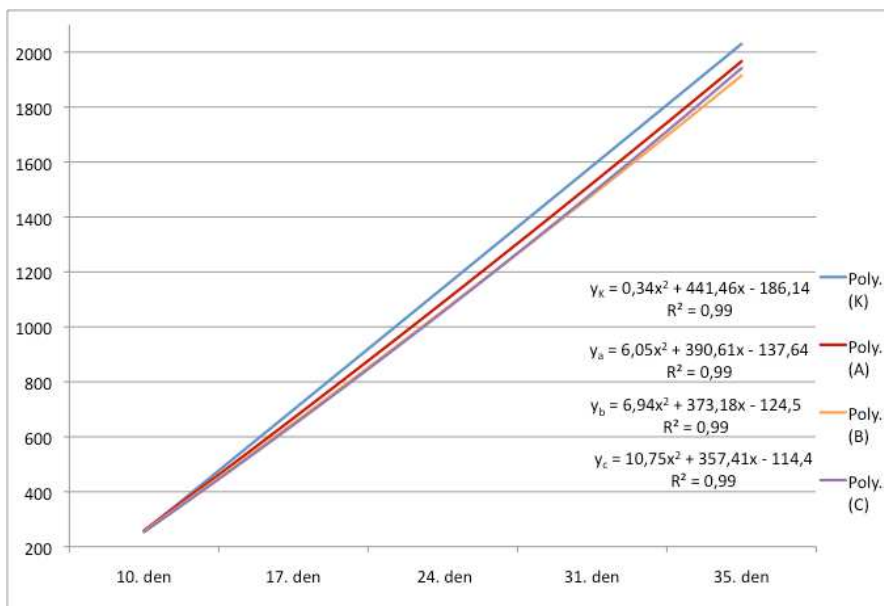
Pozn.: rozdílné horní indexy (a, b) vyznačují statisticky průkazné rozdíly ($P < 0,05$)

Nejvyšší průměrné konečné hmotnosti 1993,5 g bylo dosaženo u kontrolní skupiny a nejnižší 1886,1 g u skupiny B, kde bylo 10 % SEŠ a sojového oleje nahrazeno 10 % extrudovaných bobů. Rozdíl v průměrech těchto skupin 107,4 g však nebyl statisticky průkazný. Stejně výsledky uvádí Sakomura, et al. (1998) kteří nezaznamenali v pokusu brojlerů krmných směsí, které se lišily

formou sóje (SEŠ a extrudovaná sója) průkazný rozdíl v růstu kuřat během výrkmu a příjem krmiva a konverze se taktěž významně nelišily.

V grafu č. 1 jsou znázorněné růstové křivky jednotlivých skupin kuřat během období pokusu (od 10. do 35. dne života). Jsou interpretovány ve druhém stupni polynomu.

Graf 1. Růstové křivky jednotlivých skupin kuřat



Průměrné hodnoty konverze krmiva jednotlivých skupin jsou znázorněny v tabulce 3. Mezi jednotlivými skupinami nebyl sledován statisticky průkazný rozdíl. Nejlepší konverze dosáhla kontrolní skupina ($1,55 \pm 0,03$ kg/kg) a nejhorší konverze skupina C ($1,64 \pm 0,01$ kg/kg). Leeson a Atteh (1996) ve svých výsledcích uvádějí, že teplota extruze nemá statisticky průkazný vliv na intenzitu růstu, konverzi krmiva a konečnou hmotnost kuřat.

Tabulka 3. Konverze krmiva u kuřat v pokusu

Skupina	K	A	B	C
Konverze (kg/kg)	$1,55 \pm 0,03$	$1,58 \pm 0,05$	$1,59 \pm 0,01$	$1,64 \pm 0,01$

Tabulka č. 4 znázorňuje jednak konverzi v procentech, rozdíly v cenách krmných směsí taktěž v procentech a následně přepočítaný náklad spotřeby krmné směsí na kilogram živé hmotnosti kuřete vždy tak, že 100 % je hodnota kontroly. Variabilní položka při výpočtu ceny krmných směsí byla pouze cena za jednotlivé formy sóje.

Tabulka 4. Ekonomické zhodnocení experimentu

Skupina	K	A	B	C
Konverze (%)	100,0	101,9	102,9	105,8
Cena krmné směsi (%)	100,0	99,1	99,4	98,4
Náklady na krmivo živé hmotnosti (%)	100,0	101,1	102,0	104,1

Dle tabulky č. 4 můžeme vidět vzrůstající tendenci konverze kmiva oproti kontrole a zároveň klesající tendenci v ceně krmné směsi. Celkově, při výpočtu nákladu krmiva na kilogram živé hmotnosti kuřete, bylo zjištěno, že náklady na krmivo jsou vyšší u skupiny A o 1,1 %, u skupiny B o 2 % a u skupiny C o 4,1 % oproti kontroly.

ZÁVĚR

Při náhradě 10 a 15 % SEŠ a sojového oleje extrudovanými a neextrudovanými sojovými boby nebyl zjištěn statisticky průkazný vliv na živou hmotnost a konverzi krmiva do 35. dne věku brojlerových kuřat Ross 308. Avšak nejnižší konverze krmiva a nejlepší intenzita růstu byla zjištěna u kuřat v kontrolní skupině, tj. u kuřat krmených směsí obsahující sojové boby ve formě sojového extrahovaného šrotu a sojového oleje. Pokusný zásah neměl pozitivní vliv na ekonomiku výkrmu.

LITERATURA

HAMILTON, R.M.G. et MCNIVEN, M.A. (2000): *Replacement of soybean meal with roasted full-fat soybeans from high-protein or conventional cultivars in diets for broiler chickens*, Canadian Journal of Animal Science, Published: SEP 2000, Issue 3, Pages 483-488.

LEESON, S. et ATTEH, J.O. (1996): *Response of broiler chicks to dietary full-fat soybeans extruded at different temperatures prior to or after grinding*, Animal Feed Science and Technology, Published: FEB 1996, Issue 3, Pages 239-245.

SAKOMURA, N.K., DA SILVA, R., LAURENTZ, A.C., MALHEIROS, E.B., NAKAJI, L.S.O. (1998): *Evaluation of whole toasted and extruded soybean on the performance of broilers*, Revista Brasileira de Zootecnia-Brazilian Journal of Animal Science, Published: MAY-JUN 1998, Issue 3, Pages 584-594.

ZELENKA, J. et ZEMAN, L. (2006): *Výživa a krmění drůbeže*, Brno: Agrospoj, 117 str. ISBN ZCZT2006.

ZEMAN, L. et al. (2006): *Výživa a krmění hospodářských zvířat*, Praha: Profi Press, ISBN 80-86726-17-7.

ENZYMES IN LAYING HENS NUTRITION AND THEIR INFLUENCE ON THE PERFORMANCE, ENERGY AND MINERAL COMPOSITION OF EGGS OF LAYERS FED DIET WITH HIGHER CONTENT OF NON-STARCH POLYSACCHARIDES

Ruzsíková E., Horniaková E., Gálik B.

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

E-mail: edina.ruzsikova@uniag.sk

ABSTRACT

The research objective was to determine the effect of enriched layers diets containing rye (15%), barley (20%) and wheat (26%) with a commercially prepared enzymes mixture (xylanase, β -glucanase) on ISA Brown laying hens performance, egg energy and mineral content. ISA Brown laying hens at 22 weeks of age were randomly assigned to 2 groups (C – control, E – experimental) of 90 birds each. Birds were fed diets of 18; 16% crude protein and 11.1; 11.8 MJ.kg⁻¹ metabolizable energy with or without 0.08 g.kg⁻¹ enzyme supplement until 46 weeks of age. Layers on supplemented diet exhibited a significantly increase (0.08 kg) in their body weight at the end of the experiment ($P < 0.001$). Inclusion of enzymes significantly improved egg production. The addition of xylanase and glucanase to the diets reduced the total lipid and cholesterol contents in egg yolk. Yolk energy was not significantly affected with the addition of enzymes. Yolk iron and zinc levels were significantly decreased in the experimental group in compared to control. The opposite tendency in content of iron ($P < 0.001$) and copper were observed in the egg white in experimental group.

Key words: xylanase, glucanase, layers, egg, mineral elements, energy

Acknowledgments: This study has been supported by the Scientific Grant Agency of the Ministry of the Education (n. 1/0610/08) and by the Excellence Center for Agrobiodiversity Conservation and Benefit (26220120015) project implemented under the Operational Programme Research and Development financed by European Fund for Regional Development

ÚVOD

Obilniny predstavujú vysoký ekonomický a nutričný potenciál vo výžive monogastrických zvierat. Ich hlavnou živinovou zložkou je škrob, ktorý tvorí 60-70 % hmotnosti zrna (Annison, 1990). Zrno obilnín okrem škrobu obsahuje aj značné množstvo vodorozpustných neškrobnatých polysacharidov, ktoré sú obsiahnuté v stenách buniek endospermu. V jačmeni a ovsí sú zastúpené hlavne betaglukány, v pšenici a raži arabinoxylany (Henry, 1985). Monogastrické zvieratá neprodukujú enzým na trávenie neškrobnatých polysacharidov. Tieto zložky zrna obilnín sú charakterizované ako antinutričné látky (Bedford, 1993). Ich antinutričný vplyv je sprostredkovaný množstvom mechanizmov, vrátane zvyšovania viskozity tráviacej sústavy (Choct a Annison, 1992; Smits a Annison, 1996; Smits et al., 1997), viazaním žľčových solí, čím sa redukuje rozpustnosť a absorpcia tukov (Ebihara a Schneeman, 1989), zvyšovaním fermentácie v tenkom čreve a poklesom stráviteľnosti živín (Bedford, 1993; Choct et al., 1996; Roberts a Choct, 2006). Mnohé štúdiá dokazujú testovanie účinku enzýmov vo výžive brojlerových kurčiat, avšak relatívne málo publikácií vzniklo z pokusov na nosniciach (Jamroz et al., 2001; Malhouthi et al., 2002; Ciftci et al., 2003). Niektorí autori uvádzajú, že zaradenie glukonázy a xylanázy do výživy nosníc zvyšuje produkciu vajec (Mathlouthi et al., 2002) a nemá vplyv na kvalitu škrupín (Ciftci et al., 2003), podľa iných vôbec neovplyvňuje produkciu vajec (Halle, 2003). Štúdiá zaoberajúce sa vplyvom spomínaných enzýmov neobsahujú žiadne informácie o ich vplyvu na minerálne zloženie a energetickú hodnotu vajec. Cieľom práce bolo preskúmať vplyv multienzymového doplnku výživy na úžitkovosť, minerálne zloženie a energetickú hodnotu konzumných vajec pochádzajúcich od nosníc, ktoré boli kŕmené zmesou na báze cereálií (pšenica, raž, jačmeň) s vyšším obsahom neškrobnatých polysacharidov.

MATERIÁL A METODIKA

Pokus bol realizovaný ako dvojskupinový (C – kontrolná, E – pokusná skupina) porovnávací znáškový test v šiestich opakovaniach na Biologicko-testačnej stanici ÚKSÚP vo Víglaši. Aktívnu zložku testovaného prípravku tvorili enzýmy endo-1,4- β -xylanáza (7820 TXU.g⁻¹) a endo-1,4- β -glukanáza (2940 TGU.g⁻¹) produkované kmeňom mikroskopických húb *Aspergillus niger* (5600 TXU.g⁻¹). Výživový doplnok použitý v pokuse je určený do kŕmnych zmesí pre nosnice s vysokým obsahom xylánov a betaglukánov. Schéma pokusu je uvedená v Tab. 1. Do pokusu boli zaradené sliepocky ISA Brown vo veku 22 týždňov. Do znáškových klieťok boli náhodne rozdelené po 5 kusov, pričom ich celkový počet v jednej skupine bol 90 kusov. Mikroklimatické podmienky boli sledované cez deň aj v noci, pričom teplota sa pohybovala v rozpätí 16-27 °C.

Tab. 1 Schéma pokusu

Obdobie	Kontrolná skupina	Pokusná skupina
1. fáza znášky (1)	D1	D1 s 0,08 g.kg ⁻¹ ED
2. fáza znášky (2)	D2	D2 s 0,08 g.kg ⁻¹ ED

(1) 22.-28. týždeň veku, (2) 29.-46. týždeň veku, ED – enzymatický doplnok

Príjem krmiva a vody nebol obmedzený. Diéty sliepok pozostávali z cereálií (pšenica, raž, jačmeň) s vyšším obsahom vodorozpusťných neškrobnatých polysacharidov s prídavkom alebo bez prídavku enzymatického doplnku (Tab. 2).

Tab. 2 Zloženie a výživná hodnota krmných zmesí

Komponenty (g.kg ⁻¹)	D1	D2
Pšenica	263	268
Raž	150	150
Jačmeň	200	250
Sójový extrahovaný šrot	220	180
Sójový olej	25	5
Živočišny tuk hydínový	20	45
Monokalciumfosfát	17	12
Uhlíčitán vápenatý	91,4	76,5
Chlorid sodný	3	3
Hydrogenuhlíčitán sodný	1	1
DL-metionín (50 %)	1,6	1,5
Premix vitamínový ¹	4	4
Premix minerálny ²	1	1
Premix cholín chloridu (50 %)	2	2
Premix karoténový ³	1	1
Enzymatický doplnok ⁴	0,08	0,08
Výživná hodnota krmných zmesí	D1	D2
Sušina (g.kg ⁻¹)	896	891
Dusíkaté látky (g.kg ⁻¹)	178,4	157,7
ME _N (MJ.kg ⁻¹)	11,1	11,8
Tuk (g.kg ⁻¹)	67	75
Minerálne látky (g.kg ⁻¹)	133	110
Vláknina (g.kg ⁻¹)	23	24
Bezdušikaté látky výťažkové (g.kg ⁻¹)	494,6	524,3
Ca (g.kg ⁻¹)	38	32
P (g.kg ⁻¹)	8,8	6,1
Na (g.kg ⁻¹)	1,7	1,5

(1) (2) obsahuje v 1 kg zmesi: vitamín A 12 000 IU; vitamín D3 2 400 IU; vitamín E 20 mg; vitamín K3 1 mg; vitamín B1 2 mg; vitamín B2 6 mg; vitamín B6 4 mg; vitamín B12 20 µg; biotín 40 µg; kyselina listová 0,8 mg; kyselina nikotínová 30 mg; kyselina pantoténová 8 mg; cholín chlorid 1000 mg; Fe 88 mg; Zn 44 mg; Cu 6 mg; Mn 44 mg; I 0,44 mg; Co 0,1 mg; Se 0,13 mg; (3) obsahuje v 1 kg zmesi: 4,4-Dioxo-β-karotén 30 mg; β-apo-8'-etylexer kyseliny karoténovej 40 mg; (4) endo-1,4-β-xylánáza (7 820 TXU.g⁻¹) a endo-1,4-β-glukanáza (2 940 TGU.g⁻¹)

Počas experimentu v jednotlivých fázach znášky sme odoberali vajcia (n=108) a sledovali vplyv prípravku na obsah živín v nich. Zisťovali sme priemernú živú hmotnosť sliepok pri zahájení a ukončení jednotlivých fáz. Sledovali sme účinok enzýmov na počet, hmotnosť a zloženie vajec. Vzorky vaječných žĺtkov a bielkov boli analyzované na obsah sušiny, dusíkatých látok, tuku a minerálnych látok. Organický rozbor bol vykonaný na základe platnej metodiky (Výnos MP SR č. 2145/2004-100). Koncentráciu Ca, Cu, Zn, Fe a Mg sme zisťovali atómovým absorbným spektrofotometrom GBC Avanta podľa ISO 6868:2000. Obsah P sme stanovili spektrofotometricky podľa ISO 699:1998. Draslík a sodík bol meraný s použitím plameňového fotometra PFP7 (ISO 7485:2000). Obsah cholesterolu v žĺtkoch sme zisťovali spektrofotometricky (Sedlák et al., 2007). Vaječné žĺtky pre ich uchovanie na ďalšie analýzy boli zlyofilizované. V lyofilizovaných vzorkách sme stanovili energetickú hodnotu vaječných žĺtkov pomocou kalorimetra LECO AC500. Výsledky experimentu boli matematicko-štatisticky vyhodnotené počítačovým štatistickým programom *STATGRAPHICS Centurion XV.II* metódou ANOVA (jednofaktorová analýza rozptylu) na hladine významnosti $P < 0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V 1. fáze znášky priemerná živá hmotnosť sliepok prídavkom enzýmov nebola ovplyvnená. Priemerná znáška na 1 nosnicu vyjadrená v ks vajec bola v skupine E 42,98 a v kontrolnej skupine 41,77 kusov. Rozdiel medzi skupinami bol štatisticky preukazný ($P < 0,05$). Priemerná znáška na nosnicu vyjadrená v kg vaječnej hmoty prídávaním enzýmov bola signifikantne pozitívne ovplyvnená ($P < 0,01$). Zvyšovanie úžitkovosti nosníc v pokusnej skupine (o 0,09 kg) bolo spôsobené vplyvom enzýmov na stráviteľnosť a využiteľnosť živín, čo bolo zabezpečené znížením viskozity čriev. Nezistili sme štatisticky preukazný rozdiel medzi skupinami pri porovnávaní hodnôt priemernej hmotnosti vajec (E: 58,54 g, C: 58,04 g). Roberts a Choct (2006) vo svojich pokusoch na nosniciach ktorým pridávali xylanázu a β -glukanázu do zmesí s vyšším obsahom neškrobnatých polysacharidov zistili, že testované enzýmy zvyšujú hmotnosť vajec ($P > 0,05$). Ukazovatele priemerná živá hmotnosť, priemerná znáška na 1 nosnicu a hmotnosť vajec sú uvedené v Tab. 3. Po vyhodnotení výsledkov z 2. fázy znášky sme zistili v skupine E o 0,08 kg vyššiu priemernú živú hmotnosť sliepok v porovnaní s kontrolou ($P < 0,001$). Naše výsledky korešponujú s výsledkami Mathlouthiho et al. (2003), ktorí po pridávaní rovnakých enzýmov do zmesi nosníc zaznamenali na konci pokusu nárast telesnej hmotnosti o 0,086 kg v porovnaní s kontrolou, v ktorej zvieratá stratili 0,106 kg zo živej hmotnosti. Priemerná znáška na 1 nosnicu (7,69 kg) a priemerná hmotnosť vajec (64,61 g) bola aplikáciou enzýmov pozitívne ovplyvnená aj v tejto fáze znášky ($P > 0,05$).

Tab.3 Priemerné hodnoty živej hmotosti nosníc, znášky na jednu nosnicu a hmotosti vajec v 1. a 2. fáze znáškového obdobia

Ukazovateľ	Jednotka	1. fáza znášky			2. fáza znášky		
		C	E	P	C	E	P
		x±s	x±s		x±s	x±s	
Priem. živá hmot. pri zahájení znášky	kg	1,86±0,03	1,87±0,01		1,86±0,03	1,87±0,01	
Priem. živá hmot. pri ukončení znášky	kg	1,86±0,03	1,87±0,01		2,21±0,02	2,29±0,02	+++
Priem. znáška na 1 nosnicu	kus	41,77±0,50	42,98±0,94	+	119,31±1,23	119,11±1,73	
Priem. znáška na 1 nosnicu	kg	2,42±0,03	2,51±0,06	++	7,63±0,07	7,69±0,10	
Priem. hmotnosť vajca	g	58,04±0,33	58,54±1,07		64,13±0,21	64,61±0,75	

C – kontrola; E – pokusná skupina; x – priemer; s – smerodajná odchýlka; P – štatistická preukaznosť na hladine významnosti $\alpha=0,05$; + P<0,05; ++ P<0,01; +++ P<0,001

V jednotlivých fázach znášky sme sledovali zloženie vaječných žĺtkov. Výsledky analýz a štatistické vyhodnotenie jednotlivých ukazovateľov sú uvedené v tabuľke 4.

V 1. fáze znášky obsah dusíkatých látok v žĺtkoch bol v skupine E signifikantne vyšší o 0,62 % v porovnaní s kontrolou (P<0,01). V obsahu tuku a cholesterolu sme zaznamenali mierny pokles v pokusnej skupine (P>0,05) oproti kontrole. Hladina cholesterolu vo vaječnom žĺtku v skupine E bola nižšia v priemere o 1,01 mg.g⁻¹ žĺtkovej hmoty. Koncentrácia železa v pokusnej skupine sa signifikantne znížila o 26,74 mg.kg⁻¹ v porovnaní s kontrolou.

V 2. fáze znášky sme zistili v skupine E pokles hladiny zinku o 14,04 mg.kg⁻¹ (P<0,05) oproti kontrole. V obsahu železa (C: 158,2 mg.kg⁻¹, E: 138,52 mg.kg⁻¹) v pokusnej skupine sme zaznamenali štatisticky preukazný pokles (P<0,01). Energetická hodnota žĺtkov nebola aplikáciou enzýmov významne ovplyvnená.

Tab. 4 Zloženie a energetická hodnota vaječných žĺtkov

Ukazovateľ	Jednotka	1. fáza znášky			2. fáza znášky		
		C	E	P	C	E	P
		x±s	x±s		x±s	x±s	
Sušina	%	50±0,26	49,73±0,63		49,31±0,39	49,44±0,60	
N-látky	%	30,72±0,31	31,34±0,30	++	31,68±0,55	31,22±0,39	
Tuk	%	60,22±0,43	59,72±0,59		60,26±0,88	59,70±0,66	
Minerálne látky	%	3,58±0,12	3,71±0,19		3,60±0,20	3,66±0,11	
Cholesterol	mg.g ⁻¹	15,24±0,58	14,23±1,07		13,86±0,68	13,62±1,18	
Ca	g.kg ⁻¹	1,20±0,15	1,09±0,05		0,99±0,04	0,97±0,06	
P	g.kg ⁻¹	8,82±0,28	9,09±0,71		9,28±0,21	8,94±0,45	
Mg	mg.kg ⁻¹	255,83±16,02	253,00±20,46		278,17±13,49	250,33±30,78	
Na	g.kg ⁻¹	1,49±0,19	1,29±0,15		1,43±0,06	1,41±0,22	
K	g.kg ⁻¹	2,73±0,23	2,52±0,19		2,77±0,23	2,75±0,23	

Fe	mg.kg ⁻¹	202,69±21,40	175,95±12,79	+	158,2±13,32	138,52±5,93	++
Zn	mg.kg ⁻¹	114,67±2,73	115,93±11,68		109,35±5,77	95,31±9,87	+
Cu	mg.kg ⁻¹	9,69±1,68	9,57±1,58		5,10±0,57	4,77±0,32	
Energetická hodnota	MJ.kg ⁻¹	31,51±0,39	31,33±0,80		31,88±0,58	32,08±0,29	

C – kontrola; E – pokusná skupina; x – priemer; s – smerodajná odchýlka; P – štatistická preukaznosť na hladine významnosti $\alpha < 0,05$; + P<0,05; ++ P<0,01

Súčasťou stanovených cieľov pokusu bolo aj zisťovanie zloženia vaječného bielka. Priemerné hodnoty jednotlivých ukazovateľov a ich štatistické vyhodnotenie sú vyjadrené v tabuľke 5. Obsah sušiny, dusíkatých a celkových minerálnych látok vo vaječnom bielku nebol štatisticky preukazne ovplyvnený prídavkom enzýmov. V 1. fáze znášky v skupine E sme zaznamenali signifikantné zvýšenie obsahu železa o 68,99 mg.kg⁻¹ (P<0,001). Koncentrácia medi v pokusnej skupine bola 8,40 mg.kg⁻¹ a v kontrolnej 5,79 mg.kg⁻¹. Rozdiel medzi skupinami (2,61 mg.kg⁻¹) bol štatisticky preukazný (P<0,05).

Tab. 5 Zloženie vaječných bielkov

Ukazovateľ	Jednotka	1. fáza znášky			2. fáza znášky		
		C	E	P	C	E	P
		x±s	x±s		x±s	x±s	
Sušina	%	13,23±0,24	13,36±0,25		12,19±0,19	12,29±0,24	
N-látky	%	87,77±2,65	86,09±1,51		85,69±0,53	85,54±1,24	
Minerálne látky	%	5,42±0,48	6,04±0,53		5,98±0,49	6,25±0,56	
Ca	mg.kg ⁻¹	67,75±9,27	72,1±19,76		38,43±6,89	56,53±9,57	++
P	mg.kg ⁻¹	991,17±247,65	1090,67±297,19		1277±616,74	1163,17±293,72	
Mg	mg.kg ⁻¹	839,17±64,73	847,33±128,54		904,83±140,51	995,83±90,81	
Na	g.kg ⁻¹	11,88±1,33	11,53±1,61		12,73±3,19	13,65±17,76	
K	g.kg ⁻¹	4,55±1,76	5,81±2,37		7,68±3,86	9,67±1,09	
Fe	mg.kg ⁻¹	28,53±13,73	117,52±44,78	+++	76,32±25,78	190,33±35,06	+++
Zn	mg.kg ⁻¹	3,30±3,48	2,05±1,12		6,74±3,26	9,29±3,47	
Cu	mg.kg ⁻¹	5,79±1,01	8,40±1,98	+	3,66±0,31	5,49±1,09	++

C – kontrola; E – pokusná skupina; x – priemer; s – smerodajná odchýlka; P – štatistická preukaznosť na hladine významnosti P<0,05; + P<0,05; ++ P<0,01; +++ P<0,001

V 2. fáze znášky sa prejavil pozitívny účinok prípravku na obsah vápnika. Koncentrácia Ca dosiahla v pokusnej skupine 56,53 mg.kg⁻¹, čím presiahla jeho obsah v kontrole o 18,1 mg.kg⁻¹ (P<0,01). Hladina železa bola v skupine E o 114,01 mg.kg⁻¹ vyššia v porovnaní s kontrolou (P<0,001). V koncentrácii medi (C: 3,66 mg.kg⁻¹, E: 5,49 mg.kg⁻¹) sme tiež zistili signifikantné rozdiely medzi skupinami (P<0,01).

ZÁVĚR

Záverom môžeme skonštatovať, že sa potvrdil pozitívny vplyv aplikácie skúšaného enzymatického doplnku na úžitkovosť nosníc. Z hľadiska zdravej výživy má obrovský význam účinok prípravku znižovať obsah tuku a cholesterolu vo vaječnom žĺtku, pričom sa to výrazne neprejaví na energetickej hodnote produktu. Aplikované enzýmy vyvolali zmeny v ukladaní minerálnych látok vo vaječnom žĺtku a bielku. V pokusnej skupine sme zaznamenali signifikantné znižovanie obsahu železa a zinku v žĺtku. V bielku obsah železa a medi bol signifikantne vyšší. Na základe dosiahnutých výsledkov aplikácia xylanázy a β -glukanázy do kŕmnej zmesi, ktorej základ tvorili pšenica, raž a jačmeň zvýšil úžitkovosť nosníc ISA Brown a pozitívne ovplyvnil zloženie produktov v porovnaní s kontrolou (bez aditíva). Pre získanie presnejších údajov o účinkoch prípravku na nutričnú a energetickú hodnotu vajec sú potrebné ďalšie experimenty s väčším súborom sledovaných zvierat.

LITERATÚRA

ANNISON, G. (1990): Polysaccharide composition of Australian wheats and the digestibility of their starches in broiler chickens. *Aust. J. Exp. Agric.*, 30:183-186.

BEDFORD, M. R. (1993): Mode of Action of Feed Enzymes. *Journal of Applied Animal Research.*, 2: 85-92.

CIFTCI, I.- YENICE, E. – ELEROGLU, H. (2003): Use of triticale alone and in combination with wheat or maize: effects of diet type and enzyme supplementation on hen performance, egg quality, organ weights, intestinal viscosity and digestive system characteristics. *Animal Feed Science and Technology*, 105:149-161.

EBIHARA, K. – SCHNEEMAN, B. O. (1989): Interaction of bile acids, phospholipids, cholesterol and tryglyceride with dietary fibers in the small intestine of rats. *Journal of Nutrition*, 119:1100-1106.

HALLE, I. (2003): Effect of enzymes hydrolyzing non-starch polysaccharides (NSP) as feed additives in wheat-based laying hen diets. *Arch. Geflügel.*, 67:242-248.

HENRY, R. J. (1985): A comparison of the non-starch carbohydrates in cereal grains. *Journal of the Science of Food and Agriculture.*, 36:1243-1253.

CHOCT, M. – ANNISON, G. (1992): Anti-nutritive effect of wheat pentosans in broiler chicken: roles of viscosity and gut microflora. *British Poultry Science*, 33:821-834.

CHOCT, M. et al. (1996): Increased small intestinal fermentation is partly responsible for the anti-nutritive activity of non-starch polysaccharides in chickens. *British Poultry Science*, 37:609-621.

JAMROZ, D. et al. (2001): Use of wheat, barley or triticale in feed for laying hens supplemented with carbohydrases derived from *Trichoderma longibrachiatum*. *Journal of Applied Animal Research*, 19:107-116.

MATHLOUTHI, N. – MOHAMED, M. A – LARBIER, M. (2003): Effect of enzyme preparation containing xylanase and β -glucanase on performance of laying hens fed wheat/barley- or maize/soybean meal-based diets. *British Poultry Science*, 44(1):60-66.

MATHLOUTHI, N. et al. (2002): Performance of laying hens fed wheat, wheat-barley or wheat-barley-wheat bran based diets supplemented with xylanase. *Canadian Journal of Animal Science*, 82:193-199.

ROBERTS, J. R. – CHOCT, M. (2006): Effects of commercial enzyme preparations on egg and eggshell quality in laying hens. *British Poultry Science*, 47(4):501-510.

SEDLÁK, J. et al. (2007): *Lipidy. Praktikum z biochemie*, 2. vydanie, s. 64-65.

SMITS, C. H. M. – ANNISON, G. (1996): Non-starch polysaccharides in broiler nutrition-towards a physiologically valid approach to their determination. *World's Poultry Science Journal*, 52:203-221.

SMITS, C. H. M. et al. (1997): Dietary carboxymethylcellulose with high instead of low viscosity reduces macronutrient digestion in broiler chickens. *Journal of Nutrition*, 127:483-487.

GROWTH OF STERLET *ACIPENSER RUTHENUS* EMBRYOS AND LARVAE UNDER CONTROLLED CONDITIONS

Rybníkář J.², Mareš J.², Prokeš M.¹

¹Department of Fish Ecology, Institute of Vertebrate Biology, Academy of Sciences of the Czech Republic, v.v.i., Květná 8, 603 65 Brno, Czech Republic

²Department of Zoology, Fisheries, Hydrobiology and Apiculture, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xrybnika@node.mendelu.cz, prokes@brno.cas.cz, mares@mendelu.cz

ABSTRACT

Growth rate of sterlet embryos and larvae (2008-2009) were studied under experimental conditions of the Czech Republic. The embryos hatched when reaching a mean total length (TL) of 9.0 mm. The exogenous feeding and the larval period of ontogeny started at DAH 9 (day after hatching) reaching TL of 15-17 mm. Towards the end of larval period (DAH 39-43, TL 50-58 mm) the embryonic fin fold disappeared and the formation of fin apparatus practically completed. During the larval and early juvenile development daily increments of TL and weight (w) ranged 0.33 – 4.23 mm.d⁻¹ and 0.0018 - 1.6400 g.d⁻¹. The specific growth rate (SGR) decreased successively from 17.67 to 0.36%.d⁻¹). In addition, the daily feeding ratio, body weight condition and length-weight relationship are presented.

Key words: specific growth rate, length-weight relationship, factor of weight condition

Acknowledgments: This study was supported by NAZV QH 71305

ÚVOD

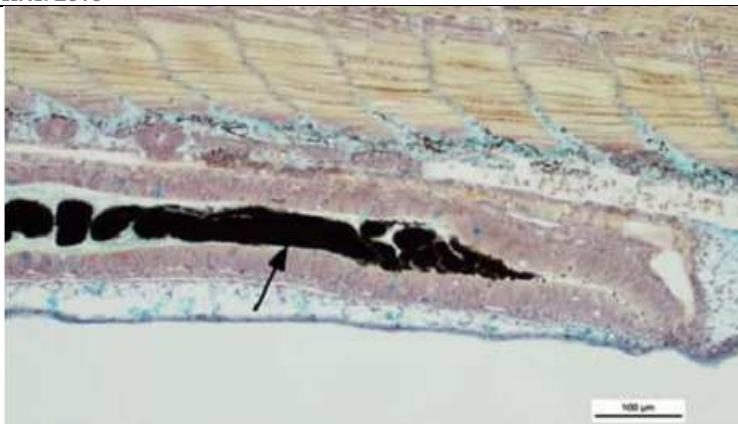
Výskum jeseterov umelo chovaných v ČR je realizovaný obzvlášť od roku 1994 na Oddelení rybářství a hydrobiologie Ústavu zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství Agronomické fakulty Mendelovy univerzity v Brně, na Ústavu biologie obratlovců AV ČR, v.v.i., v Brně, na Výzkumném ústavu rybářském a hydrobiologickém Fakulty rybářství a ochrany vod Jihočeské univerzity ve Vodňanech a na Veterinární a farmaceutické univerzitě v Brně. V příspěvku sú predkladané sumarizované výsledky o raste lariev a embryí jesetera malého v experimentálnych kontrolovaných podmienkach z rokov 2008 a 2009 v ČR. Cieľom bolo rozšíriť znalosti o raste a potravných potrebách v súvislosti s vývojom.

MATERIÁL A METODIKA

Materiál pre pokusné účely sa odchovával v roku 2008 a 2009, v oboch rokoch ranné štádiá. Pre odchov roku 2008 boli jesetery vyliahnutý 9.5.2008 na liahni Rybárstva Pohořelice a.s. pri teplote vody 18°C. Ryby staré 5 dní sa umiestnili do umelohmotného žľabu na Ústave zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství Agronomické fakulty v Brně. Žľab mal vlastnú filtráciu. Ostatky potravy boli odstraňované odsávaním. Každý deň bola meraná teplota vody a percentuálne nasýtenie vody kyslíkom spolu s hodnotami pH. Kyslík udržiaval membránový oksyličovač. Teplota sa pohybovala od 17°C v deň nasadenia a do konca pokusu sa zvyšovala bez výkyvov na 19°C. Obsah kyslíku sa pohyboval od 63% do 91% počas celého sledovania. Minimálne hodnoty pH boli 7,5 a maximálne 8,4 bez vysokého kolísania. Na druhý deň 15.5.2008 sa začalo s predkľadaním krmiva. Aplikovali sa naupliá žiabronôžky soľnej s postupným prechodom na krmivo Perla. Od 2.6.2008 sa skladalo celkové kŕmenie z 25% z hmotností obsádky. Živou potravou sa prestalo kŕmiť 5.6.2008. Roku 2009 prebiehalo sledovanie na liahni Rybárstva Pohořelice a.s., ryby sa začali liahnúť 20.4.2009 pri teplote vody 14,5°C. Ryby boli presunuté na prietochné žľaby a zostali na liahni v Pohořeliciach odkiaľ sa odoberali vzorky. Hladinu oksyličenia udržiaval prívod čistého kyslíku. S odoberaním vzoriek sa začalo 6.5.2009 a s jedenástimi odbermi sa skončilo 28.6.2009. Najskôr sa larvy kŕmili triedeným zooplanktónom ad libitum, následne bola suchá diéta predkľadaná pomocou pásového samokŕmítka 24 hodín. Ku skúmaniu lariev, boli tieto usmrtené vo vode presýtenej oxidom uhličitým a fixované v polyetylenových fľašiach v roztoku 4% formaldehydu. Po uplynutí doby 3 mesiacov, po prebehnutí hmotnostnej stabilizácie vzoriek, boli u všetkých fixovaných rýb, rok 2008 aj 2009 zistené dĺžkové a hmotnostné parametre. Pri jednotlivých kontrolných meraniach a váženíach boli vždy zisťované tieto hodnoty: celková dĺžka tela (TL v mm) a hmotnosť tela (w v g). Pri veľkej časti meraní bola zisťovaná aj dĺžka tela (SL v mm) pre určenie vzťahu medzi TL a SL. Meranie prebiehalo podľa metódy Holčíka (1989).

VÝSLEDKY A DISKUSIE

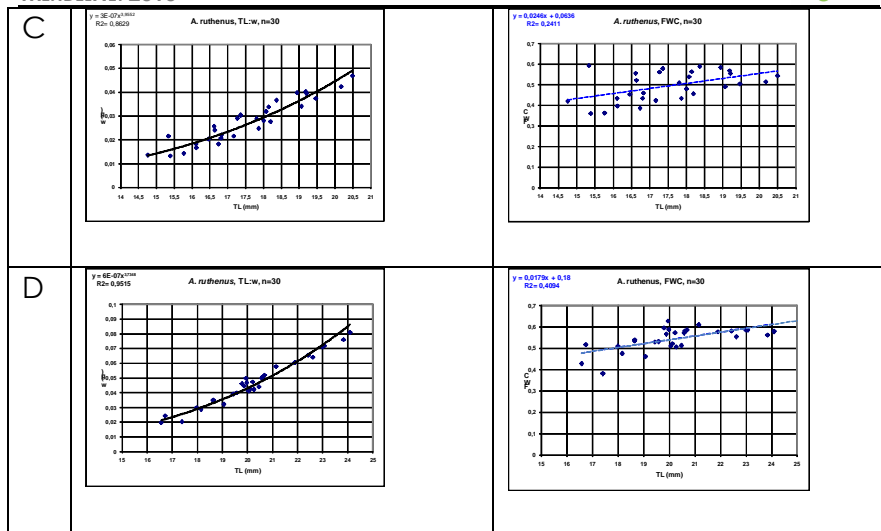
Pri sledovaní vývoja sme na základe zmien pozorovaných u jednotlivých odberov a v porovnaní s Krupka et al. (2000) dospeli k výsledkom, ktoré prispeli k podrobnejšiemu poznaniu. Vyliahnuté embryá dosahovali dĺžku (TL) 8,0 – 9,8 mm a priemernú hmotnosť 0,0100 g. Embryá sa vyznačovali veľkým oválnym žltkovým váčkom. Na prednej časti a na bokoch žltkového váčku sa sformoval embryonálny respiračný orgán. Pozorovateľné bolo aj rytmicky pulzujúce srdce. Telo lemoval široký nepárový plutvový lem. Druhý deň po vyliahnutí (2 DAH) sa podľa Wegner et al. (2009) začína tvoriť tzv. melanínová zátka v zadnej časti špirálneho čreva Obr. 1. V našom pozorovaní sa melanínová zátka začala formovať 5. DAH kedy celková dĺžka embryí bola 13,1 – 15,3 mm s hmotnosťou 0,0122 – 0,0185g Tab. 2. Hodnota Fultonovho koeficientu hmotnostnej kondície sa znižovala s veľkosťou jedincov Tab. 1, čo je normálne, lebo ryby ešte stále nevstrebali žltkový vak, čiže na hmotnostný a dĺžkový rast využívali vlastné zdroje živín ktorých metabolický odpad a spotreba energie znižovala ich špecifickú hmotnosť, ale nie ich špecifickú dĺžku. U embryí ešte prebiehala žltková výživa. Evakuácia melanínovej zátky a tým otvorenie anusu prebehlo 9. DAH. Dochádza k prvému príjmu exogénnej potravy. 10. DAH bola celková dĺžka lariev 14,9 – 18,6 mm o hmotnosti 0,0150 – 0,0327 Tab. 2. V čreve bola prítomná vonkajšia potrava, bol zahájený exogénny príjem potravy a začiatok larválnej periódy. Začal sa diferencovať nepárový plutvový lem a žltkový váčok bol resorbovaný. Hmotnostná kondícia prestala klesať Tab. 1. Larvy sú veľmi závislé na prítomnosti dostupnej potravy. Wegner et al. (2009) zmiešanú (endogénno-exogénnu) potravu zamietajú, najskôr dôjde k ukončeniu endogénnej výživy a následne 9. DAH po evakuácii melanínovej zátky k zahájeniu exogénnej výživy. Gisbert a Ruban (2003) zmiešanú potravu u jesetera sibírskeho pozorovali. 13. DAH bola dĺžka lariev 14,8 – 20,5 mm a hmotnosť 0,0131 – 0,0468g. Faktor hmotnostnej kondície sa výrazne zvyšoval s dĺžkou lariev Tab. 1. V tomto období bolo pozorované vysúvanie úst umiestnených na spodine hlavy pri príjme potravy a pozorované formovanie základov plutiev. Črevo bolo výrazne naplnené potravou. Následné dáta od 16. DAH po 37. DAH sú uvedené v Tab. 2. Ukončenie larválnej periódy bolo lokalizované medzi 39. – 43. DAH. U lariev sme pozorovali úplné vymiznutie všetkých zvyškov nepárového plutvového lemu. Od vyliahnutia po ukončenie larválnej periódy sa dĺžka 9mm zväčšila priemerne 6 krát na 54 mm a hmotnosť 0,0100 g približne 100 krát na hmotnosť 0,98g. Rovnica dĺžko-hmotnostného vzťahu pre larválnu periódu sledovanú v roku 2008 a 2009 je uvedená na Obr. 2. Hodnoty TL, w, FWC, SGR a regresných koeficientov vzťahu TL:w sú uvedené v Tab.2 a 3. Názorne je priebeh špecifickej rýchlosti rastu znázornený grafom Obr. 3. Podľa Gisberta et. al. (2000) je intenzita rastu ovplyvnená veľkosťou tohto druhu, ktorý je z jeseterov chovaných v ČR najmenší. V porovnaní s ostatnými druhmi intenzita rastu jesetera malého je podobná ako u jesetera hviezdnatého (Klívar 1996), nižšia než u jesetera sibírskeho (Prokeš et. al. 1996) a jesetera ruského (Prokeš et. al. 1997). Výrazne nižšiu intenzitu rastu vykazoval oproti vyze veľkej (Hohausová et. al. 1996). Fultonov koeficient hmotnostnej kondície bol však u jesetera malého vyšší než u jesetera hviezdnatého a jesetera sibírskeho.



Obr. 1 Pozdĺžny rez na zadnej časti špirály čreva. Šiesty deň po vyliahnutí, vývoj melanínovej zátky (šípka) (Wegner et al. 2009).

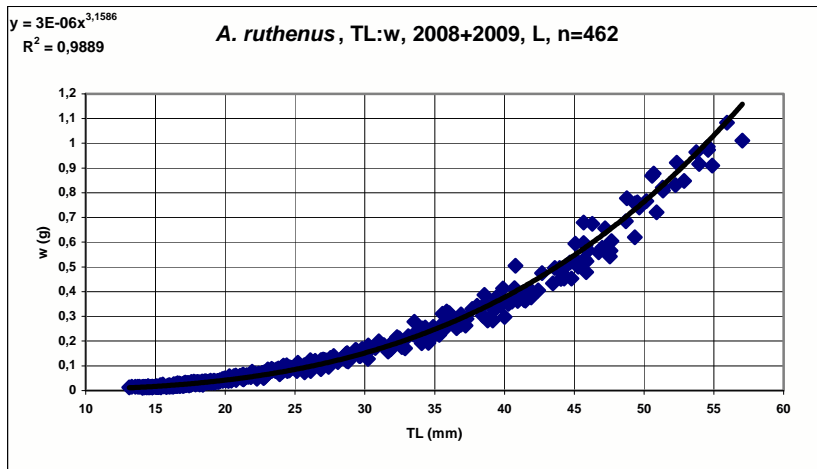
Tab. 1 I - Dĺžko-hmotnostný vzťah, II – kondícia vo vzťahu k dĺžke tela 2008 A – 5 (DAH), B 10 (DAH), C 13 (DAH), D- 16 (DAH)

	I.	II.
A	<p>$y = 0.0071x - 0.0077$ $R^2 = 0.0134$</p> <p>A. ruthenus, TL:w, n=30</p>	<p>$y = -0.0095x + 1.8766$ $R^2 = 0.9827$</p> <p>A. ruthenus, FWC, n=30</p>
B	<p>$y = 2E-06x^2 + 0.0001x - 0.0048$ $R^2 = 0.548$</p> <p>A. ruthenus, TL:w, n=32</p>	<p>$y = 0.0085x + 0.5472$ $R^2 = 0.0088$</p> <p>A. ruthenus, FWC, n=32</p>



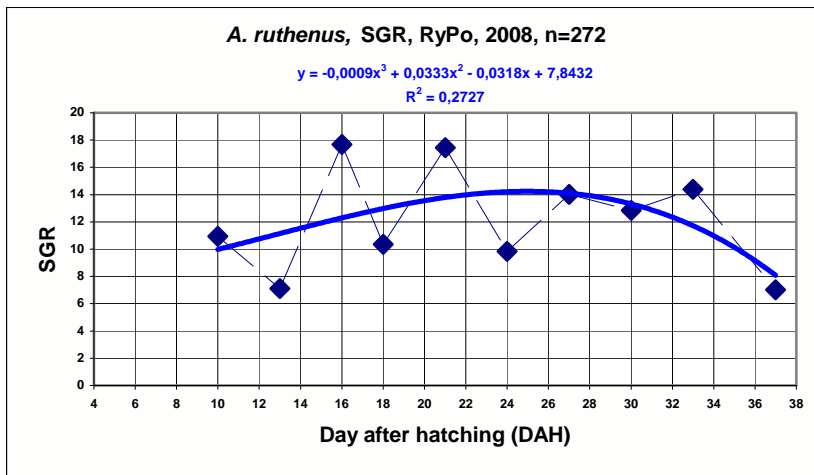
Tab.2 Celková dĺžka (TL v mm), hmotnosť (w v g) a Fultonovv koeficient hmotnostnej kondície (FWC) u embryí a lariev jesetera malého (*Acipenser ruthenus*) zistené v roku 2008..

DAH	n	TL(mm)			w(g)			FWC		
		min.-max.	prům.	SD	min.-max.	prům.	SD	min.-max.	prům.	SD
5	30	13.1-15.3	14.4	0.5531	0.0122-0.0185	0.0144	0.0013	0.4007-0.6390	0.4886	0.0699
10	32	14.9-18.6	16.5	0.8278	0.0150-0.0327	0.0223	0.0051	0.3699-0.6517	0.4879	0.0751
13	30	14.8-20.5	17.5	1.4457	0.0131-0.0468	0.0276	0.0092	0.3594-0.5928	0.4945	0.0724
16	30	16.6-24.1	20.2	1.9418	0.0195-0.0810	0.0469	0.0162	0.3815-0.6272	0.5426	0.0544
18	30	16.7-28.8	21.4	2.9382	0.0235-0.1437	0.0577	0.0303	0.4563-0.6346	0.5444	0.0539
21	20	20.8-35.3	25.4	3.9629	0.0423-0.2452	0.0974	0.0514	0.4329-0.6817	0.5437	0.0672
24	17	24.1-38.4	28.9	3.6282	0.0770-0.3031	0.1308	0.0583	0.4421-0.5984	0.5146	0.0440
27	20	22.8-40.3	32.1	5.0369	0.0554-0.3502	0.1991	0.0918	0.4341-0.6320	0.5505	0.0612
30	22	24.0-47.6	37.2	6.0848	0.0751-0.5662	0.2927	0.1313	0.4510-0.5938	0.5249	0.0387
33	20	35.0-49.3	43.7	3.5137	0.2284-0.6202	0.4508	0.1025	0.4962-0.5706	0.5299	0.0203
37	21	26.2-63.7	45.3	8.1131	0.0953-1.2625	0.5968	0.2930	0.4884-0.7139	0.5926	0.0510



Tab. 3. Špecifická rýchlosť rastu (SGR %w.d⁻¹) a koeficienty dĺžko-hmotnostného vzťahu u voľných embryí a lariev jesetera malého (*Acipenser ruthenus*) zistené v roku 2008. Vysvetlivky: DAH = vek v dňoch po vyliahnutí; a, b = regresné koeficienty, R² = determinálny koeficient.

Dat.	DAH	TL(mm)	w(g)	SGR	w=aTL ^b			n
					a	b	R ²	
14.5.2008	5	14.4	0.0144		0.0071	0,2637	0,0134	30
19.5.2008	10	16.5	0.0223	10.9340	2.00E-06	3,3024	0,5480	32
22.5.2008	13	17.5	0.0276	7.1076	3.00E-07	3,9552	0,8629	30
25.5.2008	16	20.2	0.0469	17.6734	6.00E-07	3,7348	0,9515	30
27.5.2008	18	21.4	0.0577	10.3620	1.00E-06	3,5437	0,9997	30
30.5.2008	21	25.4	0.0974	17.4523	2.00E-06	3,3082	0,9497	20
2.6.2008	24	28.9	0.1308	9.8281	3.00E-06	3,1581	0,9553	17
5.6.2008	27	32.1	0.1991	14.0050	2.00E-06	3,3604	0,9706	20
8.6.2008	30	37.2	0.2927	12.8447	4.00E-06	3,0623	0,9819	22
11.6.2008	33	43.7	0.4508	14.3959	5.00E-06	3,0067	0,97776	20
15.6.2008	37	45.3	0.5968	7.0140	6.00E-06	3,0054	0,9769	21



ZÁVER

Rast bol skúmaný v experimentálnych a farmových podmienkach prostredia na Mendelovej univerzite v Brně a v liahni rýb Velký Dvůr v Rybníkářství Pohořelice, a.s. Embryá sa liahli s priemernou celkovou dĺžkou (TL- total length) 9,0 mm. K začatiu exogénnej výživy došlo v 9. dni po vyliahnutí (9 DAH – day after hatching) pri TL 15-17 mm. K ukončeniu larválnej periódy vývoja došlo v období od 39. do 43. dňa vývoja po vyliahnutí (39-43 DAH) pri TL 50-58 mm. V tomto období bol takmer ukončený vývoj plutvového systému. Iba spodný lalok chvostovej plutvy nebol ešte vyvinutý a taktiež nebol dokončený vývoj plynového mechúra. Je veľmi dôležité aby v období prechodu na exogénnu potravu alebo krátko pred týmto obdobím, bola podávaná potrava v dostatočnom množstve a dostatočnej kvalite. Intenzita rastu zodpovedala veľkosti tohto druhu v rámci skupiny jeseterov u nás aktuálne umelo chovaných. Bola menšia než u veslonosa amerického (*Polyodon spathula*), vyzy veľkej (*Huso huso*), jesetera ruského (*A. gueldenstedtii*) a jesetera sibírskeho (*A. baerii*), ale väčšia než u jesetera hviezdnatého (*A. stellatus*). Sledovanie embryí a lariev jesetera malého umožnilo poznanie a rozšírenie znalostí o vývojevej a rastovej biológii v umelom chove, realizovanom prvotne a dlhodobo na Rybníkářství Pohořelice, a.s.

LITERATÚRA

- Gisbert E. & Ruban G.I. 2003: Ontogenetic behavior of Siberian sturgeon, *Acipenser baerii*: A synthesis between laboratory tests and field data. *Environmental Biology of Fishes* 67: 311–319, 2003.
- Gisbert E., Williot P. & Castelló-Orvay F. 2000: Influence of egg size on growth and survival of early life stages of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) under small scale hatchery conditions. *Aquaculture* 183: 83-94.

Hohausová E., Klívar D. & Prokeš M. 1996: Růst larev a juvenilních jedinců 0+ vyzy velké (Huso huso) v akvakulturních podmínkách České republiky. In: Sb. 2. Česká ichtyologická konference, VÚRH JU Vodňany 1996, pp. 151-155.

Holčík J. (ed.) 1989: The freshwater fishes of Europe. General introduction to fishes. Acipenseriformes. Vol. 1, Part II, AULA – Verlag Wiesbaden, 469 pp.

Klívar D., 1996: Růst plůdku jesetera hvězdnatého (*Acipenser stellatus*) v akvakulturním chovu. In: Sb. 2. Česká ichtyologická konference. VÚRH JU Vodňany 1996, pp. 156-161.

Krupka I., Masár J. & Turanský R. 2000: Raný vývoj jesetera malého (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758) [Early ontogeny of sterlet (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758)]. Pol'nohospodárstvo [Agriculture], 46(5): 387-399.

Prokeš M., Baruš V. & Peňáz M. 1996: Growth of larvae and juveniles 0+ of Siberian sturgeons (*Acipenser baeri*) in aquaculture and experimental conditions of the Czech Republic. Folia Zool., 45(3): 259-270.

Prokeš M., Baruš V. & Peňáz M. 1997b: Growth of 0+ juveniles Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedti*) in experimental basin conditions (Czech Republic). Folia Zool., 46(4): 337-351.

Wegner A., Ostaszewska T. & Rozěk W. 2009: The ontogenetic development of the digestive tract and accessory glands of sterlet (*Acipenser ruthenus* L.) larvae during endogenous feeding. Rev Fish Biol Fisheries (2009) 19: 431-444.

THE EFFECT OF FREQUENCY OF SEMEN COLLECTION ON DOG SEMEN QUALITATIVE PARAMETERS

Vágenknechtová M., Máchal L., Hošek M., Filipčík R.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: marie.vagenknechtova@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this study was to determine suitable frequency of dog semen collection. In study was evaluated this semen parameters: semen volume, sperm motility, sperm concentration and pathomorfology of sperms. From ten dogs in two groups was collected thirty ejaculates. First group (F123) was collected each from three days, second group (F135) three time too, but with frequency 1st, 3rd and 5th day. The results shows, that ejaculates of group F123 are in all parameters worst than F135. The ejaculate volume was about 1.1 ml lower, concentration and motility of sperm was lower too. Group F123 pathomorfology was about 10.6% lower than is minimum for male semen suitable for succesful reproduction. As suitable frequency for dog semen collection we can recommend frequency of collection three times - 1st, 3rd and 5th day.

Key words: dog semen, qualitative parameters, collection frequency

Acknowledgments: Work was supported by IGA TP 2/2010

ÚVOD

V ČR je chováno asi 3 mil. psů velkého počtu plemen. Jedním ze základních předpokladů úspěšné chovatelské práce je zvládnutí reprodukce psů. Nedílnou součástí reprodukce je produkce kvalitního ejakulátu. Tím je vyvolán zájem o kvalitativní vyšetření psů – sameců z hlediska jejich fertility pro významnou frekvenci subfertálních jedinců (VĚŽNÍK et al., 2004). GUNAY et al., (2003) odebírali spermatickou frakci ejakulátu od sedmi německých ovčáků, jednou týdně dva odběry v rozmezí 60 minut po pět týdnů. Mezi prvním a druhým ejakulátem byl průkazný rozdíl v objemu a v koncentraci spermií, nikoliv v aktivitě, počtu živých spermií a morfologických změnách. Obdobně ENGLAND (1999) zjistil hodnoty jako předešlí autoři, ačkoli byl patrný vliv plemene, kdy NO produkovali větší objem a celkový počet spermií. Dále hodnotil kvalitu ejakulátu psů. Nejistil rozdíly v kvalitě ejakulátů odebraných hodinu po sobě a konstatuje, že lze touto cestou získat až o 70 % více spermií, než pouze z jednoho odběru.

SCHAFER et al., (1997) odebírali ejakulát od bíglů dvakrát týdně šest měsíců. Ve sledovaném období nedošlo ke změně libida ani ke změnám sledovaných parametrů ejakulátu, ale docházelo ke změně objemu sperm. frakce - mírně klesala od ledna do června z 1,2 po 0,5ml.

GAMČÍK et al., (1992) uvádí že minimální pohyblivost spermií v ejakulátu určenému pro další využití nesmí klesnout pod 70 % a počet morfologicky změněných spermií nemá přesáhnout hranici 20 %. VĚŽNÍK et al., (2004) udává jako dostačující pro další využití spermatu v reprodukci 70 % morfologicky zdravých spermií v ejakulátu.

Z těchto důvodů je třeba začlenit do chovatelských programů kontrolu úrovně funkce pohlavních orgánů psa (VĚŽNÍK et al., 2004).

MATERIÁL A METODIKA

Ejakuláty byly získávány metodou manuální stimulace od 10 psů 8 plemen (australský ovčák, anglický setr, malinois, německý ovčák, německý krátkosrstý ohař, pudl, špic a tervueren).

Psi byli rozděleni do dvou skupin po pěti psech. První skupina F123 byla odebírána, jednou denně tři po sobě jdoucí dny, druhá skupina F135 byla odebírána 1., 3. a 5. den. Celkem takto bylo získáno 30 ejakulátů.

Bezprostředně po odběru byl stanoven objem ejakulátu, jeho barva, aktivita a koncentrace spermií. Objem byl zjištěn pomocí kalibrační nádoby. Aktivita spermií byla zjištěna subjektivní metodou a koncentrace spermií hemocytometrickou metodou.

Dále bylo provedeno morfologické vyšetření z nátěrů ejakulátů. Barvení bylo provedeno metodou dle Farellyho (VĚŽNÍK et al. 2004).

Statistické hodnocení bylo provedeno prostřednictvím analýzy variance. Hodnocen byl vliv frekvence odběru. Sledované znaky byly vyjádřeny váženým průměrem a směrodatnou odchylkou.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Prvním sledovaným znakem byl objem ejakulátu. U skupiny F123 byl průměrný objem 8,1 ml a u skupiny F135 byl průměrný objem 9,2 ml. Nejednalo se však o statisticky průkazný rozdíl. JELÍNEK et al. (2003) uvádí průměrnou hodnotu objemu ejakulátu u psů 6 ml, VEŽNÍK et al. (2004) zjistili objem ejakulátu pouze 2 ml. Námi zjištěné hodnoty u obou sledovaných skupin však byly větší.

U aktivity spermií činil rozdíl mezi sledovanými skupinami 7,7 %. První skupina psů F123 měla průměrnou aktivitu spermií 65 % a spermie z ejakulátů od druhé skupiny psů F135 byli aktivní z 72,7 %. Rozdíl mezi skupinami byl však statisticky neprůkazný. VEŽNÍK et al. (2004) uvádí normu pro aktivitu spermií, která je vyšší než 70 %. Tomuto požadavku odpovídá průměrné sperma druhé skupiny, první skupina tento požadavek neplní, aktivita u jejich spermatu je nižší.

Dalším sledovaným znakem byla koncentrace spermií, kdy u obou sledovaných skupin byla zjištěna velmi podobná koncentrace spermií. U skupiny F123 byla průměrná koncentrace spermií pouze o $0,8 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ nižší než u skupiny F135, kde koncentrace spermií byla $144 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$. Obě tyto hodnoty jsou ale pod požadovaným limitem, který uvádí VEŽNÍK et al. (2004). Ten pro normální sperma uvádí minimální koncentraci spermií $200 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$. Naproti tomu JELÍNEK et al. (2003) uvádí hodnotu $120 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ a tedy hodnota obou skupin se jeví jako vyhovující pro další využití v reprodukci. Možná příčina tohoto jevu je v objemu získaného ejakulátu, kdy VEŽNÍK et al. (2004) uvádí objem ejakulátu u psů pouze 2 ml. Námi zjištěný průměrný objem ejakulátu a objem, který uvádí JELÍNEK et al. (2003) je tři až pětkrát větší.

Morfologické vyšetření ukázalo, že v ejakulátu se nachází průměrně 64,3 % normálních spermií, přičemž s vysokou průkazností ($P \leq 0,01$) byl výsledek lepší u druhé skupiny F135, kde bylo 69,2% normálních spermií. U skupiny F123 bylo zjištěno pouze 59,4 % normálních spermií. GAMČÍK et al., (1992) uvádí jako přípustný počet morfologicky změněných spermií pouze 20 %. U námi prověřovaných ejakulátů je počet zjištěných morfologicky změněných spermií značně vyšší a tedy pro další využití v reprodukci nevhovující. VEŽNÍK et al. (2004) uvádí 70 % normálních spermií jako min. požadavek pro použitelné sperma, tohoto požadavku nedosáhla ani jedna námi sledovaná skupina. I když ejakuláty u skupiny F135 obsahují o 0,8% více morfologicky změněných spermií a tedy lze toto sperma podmíněně dále využívat.

Při podrobnějším rozboru bylo zjištěno, že vadu na bičících měli spermie v 15,5 %. Skupiny se od sebe však významně nelišily (skupina F123 měla 16,6 % patologických bičků a skupina F135 14,5 %). Vady na hlavičce byly nalezeny průměrně u 8,4 % spermií, zde byl však vysoce průkazný rozdíl ($P \leq 0,01$) mezi skupinami. Skupina F123 měla průměrně poškození u 10,8 % hlaviček a skupina F135 pouze u 5,9 % hlaviček. Další vysoce průkazný rozdíl ($P \leq 0,01$) byl nalezen u poškození spojovacích částí, kdy skupina F123 měla poškozené spojovací část v 4,8 % případech a skupina F135 v 1,7 %. U ostatních sledovaných morfologických vad (vada akrosomu,

MENDELNET 2010

nezralé a degenerované spermie) nebyly mezi skupinami významné rozdíly a celkový výskyt těchto vad byl průměrně 8,5 %.

Z našeho sledování vyplívá, že jako lepší frekvence objemu ejakulátu se jeví frekvence odběru 1., 3. a 5 den.

Tabulka 1: Vliv frekvence odběru na sledované parametry ejakulátu u psů

Faktor		n	Objem ejakulátu (ml)	Aktivita spermií (%)	Koncentrace spermií ($10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$)	Morfologicky normální spermie (%)	Morfologicky změněné spermie (%)
			$\bar{X} \pm s_x$	$\bar{X} \pm s_x$	$\bar{X} \pm s_x$	$\bar{X} \pm s_x$	$\bar{X} \pm s_x$
celkem		30	8,7 \pm 6,8	68,8 \pm 19,8	143,6 \pm 106,0	64,3 \pm 18,2	35,7 \pm 18,2
skupina	F123	15	8,1 \pm 5,0	65,0 \pm 19,3	143,2 \pm 81,3	59,4 ^A \pm 22,6	40,6 ^A \pm 22,6
	F135	15	9,2 \pm 8,3	72,7 \pm 19,9	144,0 \pm 126,9	69,2 ^A \pm 10,7	30,8 ^A \pm 10,7
Faktor		n	Změny na hlavičce (%)	Změny na bičíku (%)	Změny na spojovací části (%)	Ostatní morfologické změny (nezralé spermie, akrozom, degenerované) (%)	
			$\bar{X} \pm s_x$	$\bar{X} \pm s_x$	$\bar{X} \pm s_x$	$\bar{X} \pm s_x$	
Celkem		30	8,4 \pm 8,2	15,5 \pm 12,0	3,3 \pm 3,6	8,5 \pm 8,1	
skupina	F123	15	10,8 ^A \pm 10,4	16,6 \pm 13,4	4,8 ^A \pm 4,3	8,4 \pm 7,2	
	F135	15	5,9 ^A \pm 3,9	14,5 \pm 10,5	1,7 ^A \pm 1,9	8,7 \pm 8,6	

A – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ($P \leq 0,01$)

skupina F123 byla odebírána 1., 2. a 3. den

skupina F135 byla odebírána 1., 3. a 5. den

ZÁVĚR

Závěrem lze konstatovat, že při odběru každý den byly výsledky ve všech kvalitativních a kvantitativních ukazatelích ejakulátu horší než u skupiny odebírané s jednodenní přestávkou mezi odběry. Objem ejakulátu byl o 1,1 ml nižší. Sperma bylo nepatrně řidší a aktivita spermií byla o 7,7% nižší. Skupina psů F123 od které byl ejakulát odebírán každý den, měla vysoce průkazně ($P \leq 0,01$) horší výsledek morfologického vyšetření, kdy u této skupiny bylo pouze 59,4 % normálních spermií což je o 10,6% pod minimální hranici doporučenou pro použití pleménka v reprodukci.

Při opakovaném odběru spermatu od psů lze doporučit odběr s jednodenní přestávkou mezi odběry, tento postup lze doporučit i při použití pleménka v přirozené plemenitbě.

LITERATURA

England, G., C., W. (1999): Semen duality in dogs and the influence of short-interval second ejaculation., *Theriogenology*, 52, 6, 981-986p.

Gamčík, P., Kozumplík, J., et al.(1992): *Andrológia a umelá inseminácia hospodárskych zvierat*, Príroda, 290s, ISBN 80-07-00540-4

Gunay, U., Polat, U., Gunes, N., Soyulu, M., K., Kil, F. (2003):The effects of short-interval ejaculation on semen quality and some biochemical parameters in dogs.,*Revue de Medicine Veterinaire*, 154, 7, 459-462p.

Jelínek, P., Koudela, K., et al. (2003): *Fyziologie hospodárskych zvierat*, MZLU v Brně, 351s, ISBN-80-7157-644-1

Schafer, S.,Holzmann, A., Arbiter, K (1997): The Influence of fregeunt semen collection on the semen duality of beagle-dogs, *Deutsche tierarztliche wochenschrift*, 104, 1, 26-29p.

Věžník, Z., Švecová, D., et al. (2004): *Repetitorium spermatologie a andrologie a metodiky spermatoanalýzy*, Brno, ISBN 80-86895-01-7

INFLUENCE OF YEAR AND NUMBER OF LACTATION ON MILK PRODUCTIVITY OF COWS CZECH FLECKVIEH BREED

Večeřa M., Falta D.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xvecera0@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The objective of this study was to estimate influence of year and number of lactation on milk productivity of cattle, with consideration to inner and outer factors and their incidence to milk production. The study was carried out in 2008 and 2009. Basic parameters of this study were milk production, and its contents: protein and fat. Research was conducted at commercial dairy farm ZD Vrbátky near Prostějov. Data about milk production were gained from milk recording authorities. Monitoring passed in free stable K – 320, where are housed dairy cows of Czech Fleckvieh Cattle. The classification of cows was chosen for lucidity by actually lactation into four parts.

Results shows that the highest average milk production reached dairy cows at the third lactation in both monitored years and it was 18.96 kg milk/cow. The second year was better than the first and the difference between them was 0.43 kg milk/cow. The fat reached the highest average content in dairy cows at first lactation in both monitored years, it was 4.37% fat. The results of fat was better in first year and the difference was 0.28%. The protein reached the highest average content in dairy cows on the second lactation in both monitored years and it was 3.49% proteins. The proteins reaches the highest values in the first year and the difference between the first and second year was 0.05%.

Key words: milk production, fat, protein, lactation, dairy cows

ÚVOD

Český strakatý skot (dříve červenostrakatý) vznikl ve 30. letech minulého století. Vznikl křížením českých červinek s okrajovými skupinami jiných plemen (FRELICH et al., 2001). V poslední době bylo zušlechťováno pro zvýšení mléčné užitkovosti některými mléčnými plemeny, např. ayshire a holstein (BOUŠKA et al., 2006). Požadován je skot kombinovaného produkčního zaměření se zvýrazněnými znaky mléčnosti (SAMBRAUS, 2006).

Hlavním úkolem dojného skotu je produkce mléka, které hraje důležitou a nezastupitelnou roli v lidské výživě pro svou vysokou nutriční hodnotu. I když v posledních letech zažívá chov dojeného skotu „krizi“ díky nízké výkupní ceně mléka, stále je snaha o udržení produkce, alespoň částečné. Chov skotu hraje také nezastupitelnou roli v udržování krajiny – mimoprodukční funkci. Navíc skot vytváří vedlejší produkty, jako například hnůj a kejda, což jsou velmi kvalitní a ceněná hnojiva používající se v rostlinné výrobě, mající příznivý vliv na půdní úrodnost.

Cílem této práce bylo sledovat a objasnit vliv roku sledování a pořadí laktace na mléčnou užitkovost krav českého strakatého plemene skotu na farmě v ZD Vrbátky. Předmětem sledování byla produkce mléka a v něm obsažený tuk a bílkoviny s důrazem na stádium a pořadí laktace.

MATERIÁL A METODIKA

V této práci byla analyzována průměrná dojivost (kg), obsah tuku (%) a bílkovin (%) u krav na všech laktacích (nejvyšší 4. laktace). K tomu bylo použito dat z kontroly užitkovosti prováděné na této farmě v pravidelných měsíčních intervalech.

K analýze byly vybrány všechny samičí jedinci českého strakatého plemene skotu z již zmiňovaných laktací (1., 2., 3. a 4.). Sledovacím obdobím byly dva roky, přičemž **1. rok** v rozsahu od března 2008 do února 2009 a **2. rok** od března 2009 do února 2010. Byly sledovány rozdíly mezi dvěma sledovanými roky v produkci mléka, obsahu tuku a obsahu bílkovin.

Měření se uskutečnilo ve volné stáji K-320, kde jsou krávy rozděleny do jednotlivých sekcí po čtyřiceti kusech podle užitkovosti. Všechny krávy byly krmeny po celou dobu stejnou krmnou dávkou.

Zjištěné hodnoty byly roztrženy, uspořádány a vyhodnoceny pomocí statisticko-matematických metod v programu MS Excel.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Mléčná užitkovost

V prvním roce sledování byl zjištěn celkový průměrný nádoj od všech krav (na 1. - 4. laktaci) 18,39 kg mléka. Nejmenší průměrný denní nádoj byl zjištěn v lednu 2009 a činil 15,86 kg mléka, největší denní nádoj byl pak zjištěn v měsíci únoru 2009 a to 19,44 kg mléka. Ve druhém roce sledování dosáhl celkový průměr 18,82 kg mléka. Nejmenší nádoj byl zjištěn v měsíci únoru 2010 a činil 16,31 kg mléka. Největší denní nádoj byl pak zjištěn v měsíci dubnu 2009 a to 21,07 kg mléka. Rozdíl mezi oběma roky činil 0,43 kg mléka (viz tab. č. 1).

Při bližším zkoumání bylo zjištěno, že největší průměrný nádoj měli dojnice na 3. laktaci a to v prvním roce 19,51 kg mléka a ve druhém roce 20,17 kg mléka. Oproti tomu nejmenší nádoj v obou letech měli krávy na první laktaci a to v prvním roce 17,31 kg mléka v roce druhém 17,17 kg mléka. Což potvrzuje hypotézu, že dojnice na první laktaci produkuje méně mléka než dojnice na vyšších laktacích. Což potvrzují i CHLÁDEK a PYROCHTA (2004), kteří uvádí, že první laktace má nižší užitkovost než ostatní. Zvyšování dojivosti v jednotlivých laktacích je dána jednak zvyšováním živé hmotnosti plemence, ale zejména pokračujícím vývinem vemene (ŠTOLC et al., 1999). To také potvrzuje VEJČÍK et al. (2001) že v důsledku tohoto dospívání se zvyšuje množství mléka za laktaci. Po dosažení dospělosti se opět dojivost snižuje.

ŠTOLC et al. (1999) uvádí, že se mléčná užitkovost zvyšuje postupně od první do páté laktace. Dále uvádí, že rozhodujícím vnějším faktorem je výživa a napájení krav. Negativní vliv na užitkovost má nejen kvalita a kvantita krmiva, ale i náhlé změny v krmné dávce. Dalším faktorem působícím na užitkovost je množství a kvalita krmiva. Jak udává FREHLICH et al. (2001), nároky na výživu dojnice se mění i v průběhu laktace. Největší jsou v první třetině laktace, kdy je denní produkce nejvyšší a je ohroženo její udržení na úkor tělesných rezerv.

Jak uvádí TATARČÍKOVÁ (2008) bylo zjištěno, že změny v dojivosti nastávající zejména v období vysokých letních teplot závisí na stádiu laktace, ve kterém se dojnice nachází. Krávy ve vrcholové části laktace začínají trpět teplotním stresem daleko dříve, než ty ve střední a koncové fázi laktačního období.

Obsah tuku v mléce

Průměrný obsah tuku v mléce u všech dojnic za první rok činil 4,17 %. Nejmenší hodnota v obsahu tuku byla zjištěna v měsíci červenci 2008 a to 3,85 %, naopak nejvyšší hodnota byla zjištěna v měsíci prosinci 2008 a činila 4,66 % tuku v mléce. Ve druhém roce sledování byl zjištěn průměrný obsah 3,89 % tuku v mléce. Přičemž nejnižší průměrný obsah byl zjištěn v měsíci prosinci 2010 a to 3,21 % tuku, nejvyšší pak v měsíci únoru 2010 a činil 4,23 % tuku v 1 litru mléka. Vyšší obsah tuku v mléce byl tedy zjištěn v prvním roce sledování. Rozdíl mezi oběma roky činil 0,28 % tuku na jeden litr mléka (viz tab. č. 1).

Nejvyšší obsah tuku v obou letech měly dojnice na první laktaci a to v průměru 4,18 %. Což potvrzují i CHLÁDEK a PYROCHTA (2004), kteří uvádějí, že vliv pořadí laktace na obsah tuku je zřejmý.

Vlivy, které působí na změnu v obsahu tuku v mléce, se zabývali také tito autoři.

V České republice je nejnižší tučnost mléka podle FREHLICHA et al. (2001) dosahována v měsících červen až srpen (4,1 %), v měsících listopadu a prosinci se tučnost mléka pohybuje na úrovni 4,4 %.

TOUFAR a DOLEJŠ (1996) uvádějí, že obsah tuku v nadojeném mléce bývá za vyšší stájové teploty nižší.

K podobnému závěru došel také DOLEJŠ et al. (1996), který tvrdí, že největším problémem ve výrobě mléka jsou vysoké teploty, které negativně ovlivňují jak užitkovost, tak i kvalitu mléka. Ovlivněno je i chemické složení mléka (obsah tuku a bílkovin). Se stoupající teplotou se snižuje i obsah výše uvedených látek v mléce.

Dalším důvodem značného kolísání obsahu tuku, jak uvádí LOUDA et al. (1994) může být vliv plemene a výživy. Tak zvaný syndrom snížení tučnosti mléka nastává někdy při špatné výživě dojnic, kdy tučnost mléka klesá pod 3 %, jednou z hlavních příčin tohoto prudkého poklesu je nedostatek vlákniny v krmné dávce dojnic.

Obsah bílkovin v mléce

Z pozorování se zjistilo, že celkový průměrný obsah bílkovin v mléce za první rok byl 3,47 %, přičemž nejmenší byl zjištěn v měsíci květnu 2008 a to 3,28 %, nejvyšší pak v měsíci listopadu 2008 a činil 3,65 %. Ve druhém roce sledování byl zjištěn celkový průměrný obsah bílkovin 3,42 %. Nejmenší průměr byl zjištěn v měsíci květnu 2008 a to 3,28 %, nejvyšší pak v měsíci lednu 2010 a to 3,63 %. Vyšší obsah bílkovin v jednom litru mléka byl tedy zjištěn v prvním roce sledování a rozdíl mezi roky činil 0,05 % (viz tab. č. 1).

Nejvyšší obsah bílkovin v mléce v obou sledovaných letech měly dojnice na druhé laktaci a to v průměru 3,51 %. Největší obsah bílkovin byl zjištěn v měsících prosinec a leden. Což potvrzuje i GAJDŮŠEK (1993), který vyzpozoval v měsících prosinec, leden a únor nejvyšší podíl čistých bílkovin v mléce. Také FREHLICH et al. (2001) udává, že nejnižší obsah bílkovin byl zjištěn na začátku léta 3,20 až 3,30 %, nejvyšší v měsíci listopadu 3,40 až 3,48 %. Dále uvádí, že v jarním období dochází ke změně zastoupení bílkovin a klesá procentický podíl kaseinu z celkových bílkovin.

Tab. 1 Porovnání zjištěných hodnot mléčné užitkovosti, obsahu tuku a bílkovin v mléce za dva sledované roky, s přihlédnutím na pořadí laktace

pořadí laktace	Mléčná užitkovost (kg)		Obsah tuku v 1 l mléka (%)		Obsah bílkovin v 1 l mléka (%)	
	1. rok	2. rok	1. rok	2. rok	1. rok	2. rok
I.	17,31	17,17	4,32	4,04	3,50	3,45
II.	19,30	18,77	4,15	3,94	3,52	3,49
III.	19,51	20,17	4,11	3,79	3,40	3,43
IV.	17,43	19,15	4,08	3,79	3,45	3,31
průměr	18,39	18,82	4,17	3,89	3,47	3,42
Rozdíl¹	0,43		0,28		0,05	

¹ rozdíl mezi prvním a druhým rokem sledování

ZÁVĚR

Na základě dvouletého pozorování mléčné užitkovosti a obsahu mléčných složek (období 3/2008 - 2/2009 a 3/2009 - 2/2010) v zemědělském družstvu Vrbátky u Prostějova jsme dospěli k takovému závěru. U mléčné užitkovosti bylo dosaženo lepšího výsledku ve druhém roce sledování a to 18,82 kg mléka, což je o 0,43 kg mléka více než v prvním roce sledování. Nejlepší mléčnou užitkovost dosáhly dojnice na 3. laktaci a to v průměru za oba sledované roky 19,84 kg mléka. Oproti tomu nejmenší užitkovosti bylo dosaženo u dojnic na 1. laktaci v průměru za obě sledovaná období 17,24 kg mléka.

Co se týče obsahu mléčných složek, tak u tuku bylo dosaženo většího obsahu v roce prvním a to 4,17 % tuku v mléce, což je o 0,28 % více než v roce druhém. Nejvyšší obsah tuku v mléce byl zjištěn v průměru za oba dva roky u krav na první laktaci a to 4,18 %. U bílkovin bylo vysledováno nejvyššího obsahu v prvním roce sledování a činil 3,47 %, což je o 0,05 % více než v roce druhém. Nejvyššího obsahu bílkovin v mléce v obou sledovaných letech bylo dosaženo u dojnic na druhé laktaci a to v průměru 3,51 %.

LITERATURA

1. BOUŠKA, J. et al.: Chov dojeného skotu. Praha, Profi press, s. r. o., 2006. 186 s., ISBN 80-86726-16-9
2. DOLEJŠ, J. et al.: Na chemické složení mléka působí teplota chovného prostředí. *Náš chov*. 1996, č. 7, s. 20
3. FRELICH, J. et al.: Chov skotu. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 2001. 211 s. ISBN 80-7040-512-0

4. GAJDŮŠEK, S.: Sezónní změny dusíkatých látek a vlastností kravského mléka. *Živočišná výroba*. 1993, č. 8, s. 745 - 762
5. CHLÁDEK, G., PYROCHTA, V.: Vliv pořadí laktace na mléčnou užitkovost dojnic. <http://old.af.mendelu.cz/mendelnet2004/obsahy/zoo/pyrochta.pdf>
6. LOUDA, F., et al.: Základy chovu mléčných plemen skotu. Praha: Institut výchovy a vzdělávání ministerstva zemědělství ČR, 1994, 36 s.
7. ŠTOLC, L. et al.: Chov hospodářských zvířat. Nakladatelství ISV, 1999, 152 s. ISBN: 80-213-0478-2
8. TATARČÍKOVÁ, L.: Bioklimatické faktory v chovech. *Farmář*. 2008, č. 4, s. 46 – 47.
9. TOUFAR, O., DOLEJŠ, J.: Vliv nízkých a vysokých stájových teplot na užitkovost dojnic. *Černostrakaté noviny*. 1996, č. 3, s. 24-25
10. VEJČÍK, A. et al.: Chov hospodářských zvířat. České Budějovice, 2001, 178 s. ISBN 80-7040-514-7

DOG BEHAVIOR ON WALKS

Viziová P., Řezáč P., Branda M.

Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, Faculty of Agronomy,
Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: petra.viziova@centrum.cz

ABSTRACT

The aim of the study was to describe how often dogs interact with other dogs on walks with their owners. We focused on leash and also off leash dogs. In the study, the behavior of dogs ($n = 2184$) being walked in public open spaces was observed. This study showed that children and older people walked with a smaller dog more often than adults, and man preferred to be owner of big dogs. Older women tended to have their dog on a leash. Sniffing was influenced by use of a leash, gender and dog size ($p < 0.01$). There was no influence on sniffing by dog age. With high level of dog ownership in many countries and little scientific research in this area, further exploration of dog-dog and dog-human interactions is necessary.

Key words: dog, behavior, sniffing, leash

ÚVOD

Ačkoliv je chození ven se psem do veřejných městských parků pro mnoho lidí zcela běžná záležitost, je zajímavé, jak málo prací je tomuto tématu ve vědecké literatuře věnováno. Přitom je zdokumentováno, že se v posledních letech zvyšuje počet parků, kde mohou být psi na volno, na základě poptávky majitelů psů (Lee a kol., 2009). Nejčastěji nalezneme práce ohledně nebezpečí přenosu nález (Westgarth a kol., 2010), pozitivního vlivu chození se psem na zdraví člověka (Oka a Shibata, 2009; Cutt a kol., 2007; Cutt a kol., 2008, Brown a Rhodes., 2006) nebo sledování chování ferálních psů v příměstských oblastech (Burdwan, 2002; Pal, 2005; Daniels, 1983). Pouze minimum prací bylo zaměřeno na téma chování psů v parcích (Bradshaw a Lea, 1992; Westgarth a kol., 2010). Část těchto prací byla zaměřena na pozorování hry mezi psy (Ward a kol., 2008; Horowitz, 2008; Bradshaw a Lea, 2007; Bauer a Smuts, 2006).

Během procházek se psy, dochází k vzájemnému setkávání dvojic majitelů a psů. Cílem práce bylo zmapování těchto dvojic včetně hledání hlubších souvislostí mezi majiteli a jejich psy. Současně se práce zaměřila na očichávání psů a na faktory, které je ovlivňují.

MATERIÁL A METODIKA

Pro lepší definování prováděných sledování byla uskutečněna úvodní studie v parku Brno-Lužánky. Během ní byla všechna úspěšná setkání psů zároveň nahrávána na video pro pozdější vyhodnocení z důvodu kontroly prováděných pozorování chování psů. Vlastní pozorování byla prováděna v městských parcích v Praze (Stromovka, Hostivařský lesopark) a v Brně (Lužánky). Sledování chování psů bylo prováděno v době, kdy majitelé nejčastěji chodili se svými psy na procházku, jak bylo zjištěno v úvodní studii, a to při ranním venčení mezi 6:30 a 8:30 hod. a odpoledním venčení mezi 16:00 a 19:00 hod. a to každý den, kdy byla dobrá viditelnost v období od října 2008 do prosince 2009. Do pozorování byly zahrnuty jen ty dvojice, jejichž psi se setkali.

V rámci úvodní studie byl proveden kontrolní test správnosti pozorování pomocí srovnání 20 zápisů provedených během pozorování chování dvojic psů v parku s 20 zápisy pořízenými z videozáznamů chování těchto dvojic psů. Získané výsledky se shodovaly v 95,2 %. Tento test byl rovněž zopakován na konci pokusu s 96,6% shodou. Pozorující stál ve vzdálenosti 5 až 20 metrů od pozorované dvojice a do setkání nijak nezasahoval. Zápisy z větší vzdálenosti byly již na základě úvodní studie vyloučeny vzhledem k nedostatečné viditelnosti pozorovaných objektů. Bylo provedeno na 2198 zápisů. O majitelích bylo poznamenáno jejich pohlaví, věková kategorie, a zda jejich pes byl na vodítku či na volno. O psech byla zaznamenána jejich věková kategorie, velikost a pohlaví, a zda došlo k očichávání. Nebyla-li některá kategorie zaznamenaná byla zachycena jako neznámá N. Pro zařazení psa mezi velikosti malý, střední, velký byla rozhodující plemenná příslušnost a u kříženců odhadovaná velikost a to tak, že psi velikosti středního pudla (standard 35-45cm kohoutkové výšky), kam patří i např. kokršpaněl byli označeni za středně velká plemena,

psi větší např. labradorský retrívr, německý ovčák, boxer, německá doga za velká plemena; psi velikosti jezevčíka, boloňského psíka, trpasličího pudla, čivavy za malá plemena. Za děti byli považováni jedinci do 15 let věku, staří lidé nad 65 let. Štěňata dle vnějších morfologických znaků (poměr hlavy a těla), staří psi dle změny barvy ochlupení. Žádná dvojice psů nebyla v tentýž den pozorována vícekrát.

Data přepsaná do MS Excel byla následně sjednocena pomocí makra v jazyce VBA. Četnosti byly poté zjištěny pomocí statistického software SPSS. Vliv faktorů na očichávání mezi dvojicemi psů na veřejných prostranstvích byl analyzován za použití chí-kvadrát testu.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Z 2198 sledovaných psů bylo 46,3 % fen, 51,3 % psů a u 2,4 % nebylo zjištěno pohlaví. Z psů účastnících se setkání bylo na vodítku vedeno 47,9 % psů a na volno 52,1 %. Poměr štěňat a starých psů byl vzácně vyrovnaný, 16,2 % štěňat a 15,1 % starých psů, zbytek tvořili dospělí psi; 0,4 % se nepodařilo zařadit do skupiny dle stáří. Podle velikosti bylo 31,6 % psů malých; 29 % velkých a zbytek patřil mezi střední plemena. Poměr pohlaví majitelů psů byl následující, 43,6 % mužů a 56,4 %. Celkově bylo 11,2 % dětí a 16,3 % starých lidí, zbytek tvořili dospělí lidé. Podobné procento dětí se psy na vodítku 9 % pozorovali Westgarth a kol. (2010), nicméně jejich vzorek byl pouze z 286 psů. Velikost psa ve vztahu k věku a pohlaví majitele je zachycena v tab. 1. Z výsledků vyplývá, že děti a starší osoby spíše vedly malé psy než velké. Lze se domnívat, že vztah mezi věkem majitele a velikostí psa pravděpodobně souvisí s fyzickou silou majitelů, která je u dětí a starších osob menší. Zatímco většina psů vedených ženami byli středně velcí psi, u dospělých mužů převažovali psi velkých plemen.

Tab. 1. Celkové počty a procenta psů různé velikosti vedených majiteli různého věku a pohlaví

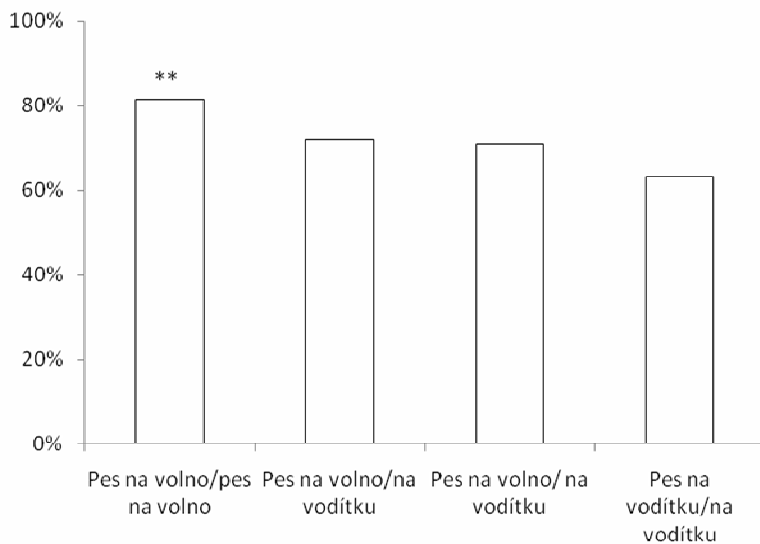
Věk majitele			Velikost			Celkem
			Malý	Střední	Velký	
Dítě	Pohlaví Muž		88 (55 %)	53 (33,1 %)	19 (11,9 %)	160 (100 %]
	Pohlaví Žena		37 (43 %)	34 (39,5 %)	15 (17,4 %)	86 (100 %)
	Celkem		125 (50,8 %)	87 (35,4 %)	34 (13,8 %)	246 (100 %)
Dospělý	Pohlaví Muž		150 (23,2 %)	242 (37,4 %)	255 (39,4 %)	647 (100 %)
	Pohlaví Žena		264 (27,9 %)	388 (41 %)	294 (31,1 %)	946 (100 %)
	Celkem		414 (26 %)	630 (39,5 %)	549 (34,5 %]	1593 (100 %)
Starý	Pohlaví Muž		71 (46,4 %)	54 (35,3 %)	28 (18,3 %)	153 (100 %)
	Pohlaví Žena		85 (41,3 %)	95 (46,1 %)	26 (12,6 %)	206 (100 %)
	Celkem		156 (43,5 %)	149 (41,5 %)	54 (15 %)	359 (100 %)

Vztah mezi vedením psa na volno nebo na vodítku a věkem a pohlavím majitele je zachycen v tabulce 2. Zatímco psi na volno se mohli sami rozhodnout, zda s jiným psem naváží či nenaváží kontakt, nadpoloviční většina psů ve všech věkových kategoriích majitelů byla vedena na vodítku a setkání s druhým psem mohlo být ovlivněno majiteli psa. Nejmenší ochota pustit psa na volno se projevila u starších osob a to především u žen, kde pouhých 38,3 % bylo ochotno vést psa na volno. V porovnání s výše uvedenými výsledky byli psi v parcích ve Velké Británii mnohem častěji vedeni na volno (73 %) a méně často na vodítku (pouze 11 %) nebo na volno i na vodítku v rámci jedné procházky (16 %) (Westgarth a kol., 2010). Častější používání vodítka v našich podmínkách lze vysvětlit tak, že naše pozorování byla prováděna v parcích ve středu hustě obydlených měst, kde se vyskytují nejen majitelé se psy, ale i děti, matky s kočárky a navíc všemi uvedenými parky prochází během dne značné množství chodců.

Tab. 2. Celkové počty a procenta psů vedených na volno a na vodítku majitelů různého věku a pohlaví

Věk majitele			Způsob vedení		Celkem
			Na vodítku	Na volno	
Dítě	Pohlaví majitele	Muž	93 (58,1 %)	67 (41,9 %)	160 (100,0 %)
		Žena	45 (52,3 %)	41 (47,7 %)	86 (100,0 %)
	Celkem		138 (56,1 %)	108 (43,9 %)	246 (100,0 %)
Dospělý	Pohlaví majitele	Muž	293 (45,7 %)	348 (54,3 %)	641 (100,0 %)
		Žena	407 (43,3 %)	532 (56,7 %)	939 (100,0 %)
	Celkem		700 (44,3 %)	880 (55,7 %)	1580 (100,0 %)
Důchodce	Pohlaví majitele	Muž	82 (53,6 %)	71 (46,4 %)	153 (100,0 %)
		Žena	127 (62,0 %)	78 (38,0 %)	205 (100,0 %)
	Celkem		209 (58,4 %)	149 (41,6 %)	358 (100,0 %)

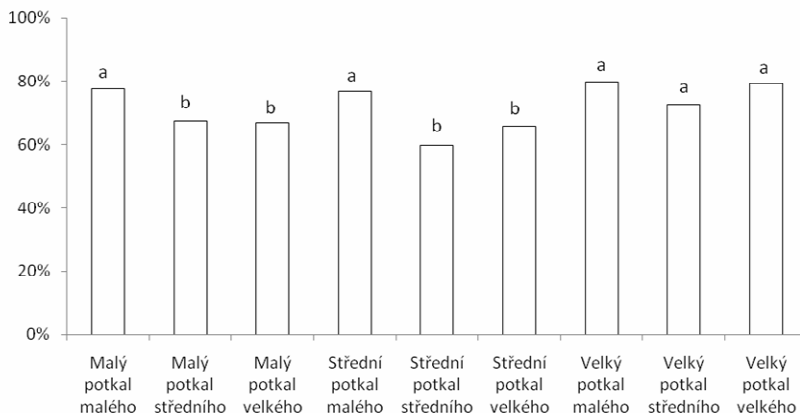
V další části jsme se zaměřili na faktory ovlivňující očichávání psů. Na očichávání psů na veřejných prostranstvích měl průkazný vliv způsob vedení, pohlaví a velikost psa (obr. 1-3). Mnohem častěji se očichávali psi na volno oproti psům na vodítku. Rovněž častěji očichávali psi feny než psy a než se očichávali jedinci stejného pohlaví. Podobně častěji očichávali větší psi jedince menších plemen než naopak. Na druhé straně, na očichávání neměl vliv věk psa (obr. 4). Vysoká frekvence vzájemného očichávání u dvojic psů na veřejných prostranstvích signalizuje, že má klíčovou roli v komunikaci mezi psy. Lee a kol. (1992) uvádí, že po fázi přiblížení psů k sobě, se většina interakcí sestává z čichové inspekce, především hlavy a anální oblasti. Čich jako klíčový smysl psů uvádí řada autorů (Galibert, 2009, Gazit a Terkel., 2003, Mekosh–Rosenbaum a kol., 1994). To, že se psi na vodítku méně často očichávali v porovnání se psy na volno mohlo být zapříčiněno tím, že někteří chovatelé brání svému psovi v kontaktu s dalšími psy. Dosažené výsledky také naznačují, že pachová komunikace hraje pravděpodobně velice důležitou roli v pohlavním chování psů. Vliv velikosti psa na očichávání naznačuje, že možná ve vzájemném očichávání hrají důležitou roli vztahy dominance a submisivity mezi dvojicemi psů.



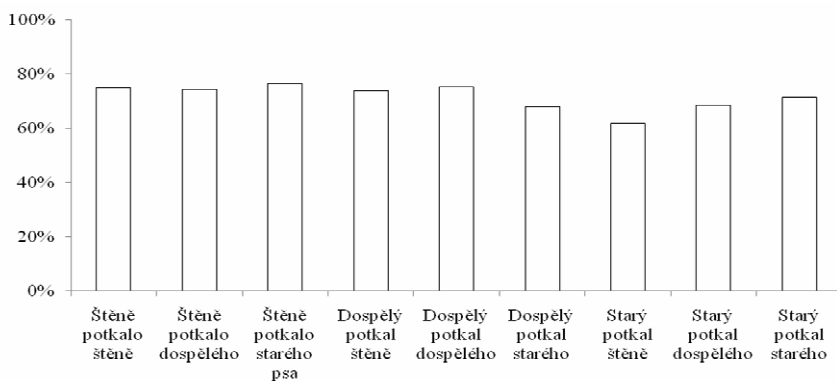
Obr. 1. Vliv způsobu vedení na frekvenci očíhávání mezi psy na procházkách (** $P < 0,01$)



Obr. 2. Vliv pohlaví psa na frekvenci vzájemného očíhávání na procházkách (** $P < 0,01$)



Obr. 3. Vliv velikosti psa na frekvenci vzájemného očichávání na procházkách (mezi sloupci označenými různými písmeny a, b byl průkazný rozdíl $P < 0,01$).



Obr. 4. Vliv věku psa na frekvenci vzájemného očichávání na procházkách

ZÁVĚR

Dosud se vlivu faktorů na frekvenci jednotlivých chování při vzájemných interakcích psů na veřejných prostranstvích nevěnovala žádná studie. Z dosažených výsledků vyplývá průkazný vliv způsobu vedení, pohlaví a velikosti psa na frekvenci očichávání dvojic psů při vzájemných

setkáních na procházkách s majiteli. Ze vzrůstajícího počtu majitelů psů a následkem toho nárůstu počtu setkání psů na veřejných prostranstvích vyplývá potřeba zaměřit výzkum i na vzájemné interakce mezi psy na procházkách a na faktory, které je ovlivňují.

LITERATURA

- Bauer E. B., Smuts B.B.(2007): Cooperation and competition during dyadic play in domestic dogs, *Canis familiaris*. *Animal Behaviour*, (73):489 – 499.
- Bradshaw J. W. S., Lea A. M.(2007): Cooperation and competition during dyadic play in domestic dogs, *Canis familiaris*. *Animal Behaviour*, (73): 489-499.
- Bradshaw J. W. S., Lea A. M. (1992): Dyadic interactions between domestic dogs. *5*(4): 245-253.
- Brown S. G., Rhodes R. E. (2006): Relationships Among Dog Ownership and Leisure-Time Walking in Western Canadian Adults. *American Journal of Preventive Medicine*. 30(2):131-136.
- Burdwan W. B.(2002): Urine marking by free-ranging dogs (*Canis familiaris*) in relation to sex, season, place and posture.
- Cutt H., Giles-Corti B., Knuiaman M. (2008): Encouraging physical activity through dog walking: Why don't some owners walk with their dog?. *Preventive Medicine*. 46 (2): 120-126.
- Cutt H. a kol. (2007): Dog ownership, health and physical activity: A critical review of the literature . *Health & Place*. Part Special Issue: Environmental Justice, Population Health, Critical Theory and GIS. 13(1) : 261-272.
- Daniels T. J. (1983): The social organization of free-ranging urban dogs. I. Non-estrous social behavior .*Applied Animal Ethology*. 10(4): 341-363.
- Galibert F. (2009): Genomics of olfaction in dogs. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research*. 4(6): 254-254.
- Gazit I., Terkel J. (2003). Domination of olfaction over vision in explosives detection by dogs. *Applied Animal Behaviour Science*. (82)1: 65-73.
- Horowitz A. (2009):Attention to attention in domestic dog dyadic play. *Animal Cognition*. : Springer Berlin / Heidelberg, (12): 107-118.
- Lee H.-S., Shepley M. a Huang Ch.-S. (2009): Evaluation of off-leash dog parks in Texas and Florida: A study of use patterns, user satisfaction, and perception. *Landscape and Urban Planning*. 92(3-4) : 314-324.
- Mekosh-Rosenbaum V. a kol. (1994): Age-dependent responses to chemosensory cues mediating kin recognition in dogs (*Canis familiaris*). *Physiology & Behavior*. 55(3): 495-499.
- Oka K., Shibata A. (2009): Dog ownership and health-related physical activity among Japanese adults. *J. Phys. Act. Health*, (6): 412-418.
- Pal S. K. (2005): Parental care in free-ranging dogs, *Canis familiaris*. *Applied Animal Behaviour Science*. 90(1): 31-47.

Ward C., Bauer E. B. a Smuts B. B. (2008): Partner preferences and asymmetries in social play among domestic dog, *Canis lupus familiaris*, littermates. *Animal Behaviour*. 76(4):1187-1199.

Westgarth C. a kol. (2010): Dog behaviour on walks and the effect of use of the leash. *Applied Animal Behaviour Science*. 125(1-2): 38-46.

SUMMER TEMPERATURES OF COW BARN MICROCLIMATE AND THEIR EFFECT ON MILK PRODUCTION OF DAIRY COWS

Zejdová P., Walterová L., Falta D., Chládek G.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: PetraZejdova@seznam.cz

ABSTRACT

The study was carried out at the University farm in Žabčice (49° 0'4'' N and 16° 36' E, 179 m above sea level) with the aim to assess the effect of cow barn air temperature (minimum, maximum, average) on milk productivity. Study was carried during the period from 1st July 2007 to 31st July 2007. The observed cows were of Holstein breed. There were housed research 45 of dairy cows, in the research pen – they were on different lactation phase (30th days and more) and different number of lactation (from 1st to 8th). Temperature was measured in the course of month – constantly in 15 minutes intervals. There were six data loggers HOB0 used, which were placed in living space of animals. One data logger was placed outside the barn, for measuring of outside air temperature. Milk yield was monitored daily (two times – in the morning and in the evening). Average values for daily milk yield were calculated every day from all cows. For statistical analysis of the acquired data, it was used programme UNISTAT version 5.1.

We found a negative correlation between air temperatures in the barn (maximum, minimum and average) and daily milk yield. The highest correlation was found in minimal air temperature ($r = -0.4424$), lower in average air temperature ($r = -0.3907$), and the lowest in maximal air temperature ($r = -0.3251$). By contrast, height of difference between maximal and minimal air temperature had very low influence on daily milk yield ($r = 0.0479$). This result suggests that the negative influence of air temperature on milk production is bigger in the days with high valuation of minimal air temperatures, rather than in days when the maximal values of the air temperature are on the highest level.

Key words: cow, milk yield, air temperature, microclimate, heat stress

Acknowledgments: This research was supported by grant project AF MENDELU, TP 2/2010 and with support of research programme No. MSM6215648905 “Biological and technological aspects of sustainability of controlled ecosystems and their adaptability to climate“ chase from Ministry of education, youth and sports of Czech Republic.

ÚVOD

Mléčnou užitkovost dojnic ovlivňuje celá řada vnitřních a vnějších faktorů. Mezi významné vnější faktory patří bezesporu stájové mikroklima, neboť má výrazný vliv na životní pohodu (welfare) ustájených zvířat. Pouze dojnice, která má ideální podmínky welfare a není ničím dalším stresována, může (v rámci svých fyziologických možností) podat maximální užitkovost. Proto je nutné se problematikou stájového mikroklimatu intenzivně zabývat a věnovat jí odpovídající pozornost.

Důležitými prvky, které zpravidla nejvíce ovlivňují stájové mikroklima, jsou teplota a vlhkost vzduchu. Jejich charakteristická sezónní a denní dynamika je však ve stáji potlačena vlivem produkce tepla a vodní páry ustájenými zvířaty a ventilací vzduchu - přirozenou i umělou (Doležal et al., 2004).

Podle Webstera (1999) má skot pozoruhodně širokou „termoneutrální zónu“, kterou Doležal et al. (2004) popisuje jako určité rozpětí teplot, kdy je při konstantních hodnotách ostatních fyzikálních prvků tepelný stav organismu optimální a zvíře má jen nepatrný výdej energie na udržení fyziologických funkcí a má pocit tepelné pohody (komfortu). Autor dále uvádí, že rozsah této zóny je ovlivněn i celkovou úrovní metabolismu a užitkovostí - vyšší užitkovost znamená i širší termoneutrální zónu.

Při ochlazování skot spoléhá na kombinaci pocení a termoregulačního dýchání (Webster, 1999). Podle Gerholda (2007) má kráva nejlepší možnost předat hodně tepla pomocí povrchu kůže, pokud je chladná a suché okolní ovzduší. S tím souhlasí i Doležal et al. (2003), který uvádí, že čím vyšší je relativní vlhkost vzduchu, tím je náchylnost dojnic k teplotnímu stresu větší. Dle Gerholda (2007) trpí dojnice s vysokou užitkovostí stresem z horka již při teplotě od 24 °C a přes 65 % vzdušné vlhkosti. Tepelný stres může u vysokoprodukčních dojnic negativně ovlivnit kvalitu mléka i navzdory použití ventilačního systému (Hanuš et al., 2008).

Tento experiment byl zaměřen na průměrné i extrémní hodnoty teploty stájového ovzduší a to v nejteplejším měsíci daného roku (červenec 2007), kdy byly dojnice nejčastěji vystaveny vysokým teplotám. Cílem práce pak bylo zhodnocení vlivu těchto teplot na mléčnou užitkovost dojnic.

MATERIÁL A METODIKA

V experimentu byl hodnocen průběh teplot stájového ovzduší (minimální, maximální, průměrné) ve vztahu k mléčné užitkovosti. Sledování probíhalo od 1.7.2007 do 31.7.2007 na Školním zemědělském podniku v Žabčicích (49° 0'4'' s. š. a 16° 36' v.d., 179 m. n. m.). Měsíc červenec

2007 byl vybrán z toho důvodu, že v tomto období byly v daném roce naměřeny nejvyšší teploty vzduchu jak ve stáji, tak venku – mimo stájový objekt.

Pozorovaným objektem byla stáj pro dojnice, která je řešena jako volné ustájení se stlanými boxovými loži. Stáj je podélně rozdělena krmným stolem na poloviny, přičemž každá polovina je dále rozdělena na dvě stejné velké sekce (tj. celkem 4 sekce ve stáji). Každá sekce je vybavena 77 komfortními boxovými loži, umístěnými ve třech řadách a dvěmi hladinovými napáječkami. Jako stelivový materiál je používána sláma. K nastýlání lehacích boxů, k vyhřmování výkalů i k zakládání a přihřmování krmiva se využívá mechanizace (UNC přihřmovače). Dojnice opouští stáj pouze za účelem dojení, které probíhá dvakrát denně (ráno a večer) v přílehlé dojrně. Stájový objekt je obdélníkového tvaru - dlouhé stěny jsou vybaveny roletami, které se zatahují jen v případě extrémně nepříznivého počasí, tzn. po většinu dní v roce jsou dlouhé stěny zcela otevřené. Stejně tak vrata v čelních stěnách, která slouží pro vjezd mechanizace. Objekt je kryt sedlovou střechou vybavenou průhlednými panely a hřebenovou větrací šterbinou.

Pro účely tohoto pokusu byla sledována jedna sekce stáje s dojnicemi Holštýnského plemene. 45 dojnic bylo v různé fázi (od 30. dne výše) i na odlišném pořadí (1.- 8.) laktace. Průměrná denní užitkovost na jednu dojnici byla 33,2 l mléka.

Hodnoceným klimatickým prvkem byly teplota stájového vzduchu. Její měření probíhalo nepřetržitě v průběhu celého měsíce v 15 minutových intervalech pomocí šesti čidel HOBO. Čidla byla rozmístěna ve stáji v životní zóně zvířat (tj. rovnoměrně v kohoutkové výšce dojnic) – z důvodu eliminace vlivu jednoho místa. Pro kontrolu bylo umístěno ještě jedno čidlo venku – cca 50 m od stáje – kvůli sledování průběhu venkovní teploty vzduchu.

Záznamy o teplotě vzduchu byly každý den vyhodnoceny a to následujícím způsobem: Jako maximální denní teplota ovzduší byla považována nejvyšší zaznamenaná teplota vzduchu (kterýmkoliv stájovým čidlem během 24 hodin), jako minimální denní teplota ovzduší byla vyhodnocena nejnižší zaznamenaná teplota vzduchu (kterýmkoliv stájovým čidlem během 24 hodin). Pro každé stájové čidlo byla spočítána denní průměrná hodnota a z takto získaných šesti hodnot byla následně spočítána jedna průměrná denní teplota pro konkrétní den.

Kromě teploty stájového ovzduší se sledovala i mléčná užitkovost dojnic. Množství nadojeného mléka bylo zaznamenáváno při každém dojení (tj. 2 x denně). Data od všech krav byla denně zprůměrována. Aby byl eliminován vliv nově zařazených či naopak vyřazených krav, byly do sledování průměrné užitkovosti stáda zařazeny pouze údaje od dojnic, které laktovaly v daném měsíci nepřetržitě (tj. od prvního do posledního dne v měsíci).

Zjištěné údaje o teplotě vzduchu i mléčné užitkovosti byly statisticky zpracovány v programu UNISTAT verze 5.1.

VÝSLEDKY A DISKUZE

V tabulkách 1. a 2. jsou uvedeny výsledky statistického vyhodnocení dat. Hodnoty teploty stájového ovzduší v pokusné stáji a průměrná mléčná užitkovost ustájených krav jsou zobrazeny v Grafu 1.

Z grafu je patrné, že nejvyšší maximální teploty stájového vzduchu panovaly v období od 14.7.2007 do 28.7.2007. V těchto dnech kolísaly maximální teploty ovzduší mezi 29,5 °C až 39,67 °C. Přitom podle Jelínka et al. (2003) je horní hranice termoneutrální zóny dojníc 24 °C. Je tedy více než pravděpodobné, že dojnice byly v tomto období vystaveny tepelnému stresu a dalo by se předpokládat snížení mléčné užitkovosti. To potvrdil i náš experiment (negativní korelace mezi teplotou stájového ovzduší a mléčnou užitkovostí dojníc).

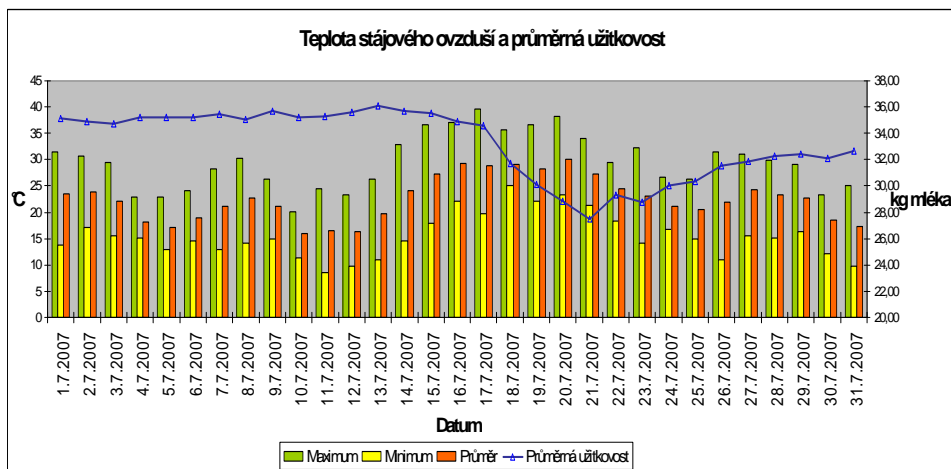
Hodnoty korelačních koeficientů mezi produkcí mléka, průměrnými, maximálními, minimálními hodnotami teploty stájového ovzduší a mezi rozdílem maximální a minimální teploty vzduchu jsou uvedeny v tab. 1. Z hodnot uvedených v této tabulce je zřejmá negativní korelace mezi minimální teplotou vzduchu a produkcí mléka ($r = -0,4424$). Výsledky také naznačují, že kolísání teploty vzduchu (tj. rozdíl mezi maximální a minimální denní teplotou ovzduší) nemá na mléčnou užitkovost prokazatelný vliv.

Tabulka 1. Hodnoty korelačních koeficientů mezi jednotlivými sledovanými parametry

	Maximální teploty	Minimální teploty	Průměrné teploty	Rozdíl MAX a MIN teplot	Kg mléka
Maximální teploty	1,0000	0,7632	0,9654	0,5955	-0,3251
Minimální teploty	0,7632	1,0000	0,8862	-0,0646	-0,4424
Průměrné teploty	0,96554	0,8862	1,0000	0,3890	-0,3907
Rozdíl MAX a MIN teplot	0,5955	-0,0646	0,3890	1,0000	0,0479
kg mléka	-0,3251	-0,4424	-0,3907	0,0479	1,0000

	AVG	STD	MIN	MAX
MAX	29,55	5,15	20,19	39,67
MIN	15,55	4,14	8,63	25,17
Průměr	22,53	4,18	15,83	30,14
Rozdíl MAX-MIN	14,00	3,33	7,63	20,53
kg mléka	33,19	2,57	27,52	36,05

Graf 1. Hodnoty teploty stájového ovzduší (minimální, maximální, průměrné) a mléčná užitkovost



Díky kontrolnímu čidlu, umístěnému vně stáje, bylo zjištěno, že podobně, jako v případě průměrů (Walterová et al., 2009), i extrémní hodnoty teploty vzduchu ve stáji jsou ovlivněny průběhem venkovního klimatu (tj. se vzrůstajícími hodnotami teploty vzduchu venku, docházelo k jejich zvyšování i ve stáji a naopak).

Drevjany et al. (2004) tvrdí, že by v letních měsících měla být dobře větraná stáj studenější, než venkovní prostředí. Jak již bylo konstatováno výše, naměřené průměrné denní teploty vzduchu ve stáji byly vždy vyšší než venkovní teploty. Jde o logický důsledek toho, že tato stáje nemá vlastní aktivní chladič systém, takže i při velmi intenzivním větrání nemůže vnitřní teplota vzduchu poklesnout pod teplotu vnějšího ovzduší. Novák et al. (2002) navíc uvádí, že zdrojem tepla ve stáji

jsou především samotná zvířata, která produkují určité množství volného tepla a vyhřívají tak stájový prostor.

Ačkoliv experiment ukázal, že na mléčnou užitkovost působily více negativně dny, kdy byly nejvyšší hodnoty minimálních teplot vzduchu – nikoliv maximálních - nemusí to znamenat, že dojnice nejsou v letním období stresovány vysokými teplotami prostředí. Tento výsledek spíše naznačuje, že letní období má celkově stimulační účinek na metabolismus skotu, což se následně projevuje vyšší mléčnou užitkovostí, přestože dojnice mohou být určitou dobu (i několik dní) v teplotním stresu. Sama výše produkce mléka tedy nemusí být nejvhodnějším kritériem toho, zda dojnice jsou či nejsou v tepelném stresu.

ZÁVĚR

Mezi měřeními teplotami stájového ovzduší (maximální, minimální, průměrná) a denní produkcí mléka byla ve všech případech zjištěna negativní korelace, která byla nejsilnější u minimální teploty vzduchu ($r = -0,4424$), poněkud méně výrazná u průměrné teploty vzduchu ($r = -0,3907$) a nejnižší u maximální teploty vzduchu ($r = -0,3251$). Na rozdíl mezi maximální a minimální teplotou stájového ovzduší měla, logicky, vyšší vliv hodnota maximální teploty vzduchu.

Výše rozdílu mezi maximální a minimální teplotou měla na mléčnou užitkovost dojnic pouze velmi malý vliv ($r = 0,0479$). Je zajímavé, že dojnice produkovaly méně mléka ve dnech, kdy byla vysoká hodnota minimální teploty stájového ovzduší, nikoliv ve dnech, kdy byly nejvyšší maximální teploty stájového vzduchu. Z toho lze usuzovat, že daleko více negativní efekt na welfare a produkci mléka mají dny, kdy je teplota celých 24 hodin poměrně vysoká (s malými rozdíly mezi maximálními a minimálními hodnotami) a dojnice tak nemají možnost se ochladit. Naopak ve dnech, kdy dosahovaly maximální teploty stájového vzduchu extrémních hodnot, ovšem teplota ovzduší více kolísala, nebyl tak vysoký negativní vliv na mléčnou užitkovost.

Experiment naznačuje, že při sledování stájového mikroklimatu je nutné věnovat pozornost nejen průměrným hodnotám klimatických prvků, ale také jejich extrémním hladinám. Velká teplotní minima i maxima mohou negativně ovlivnit welfare dojnic, přestože působí pouze kratší dobu a nemohou tak výrazněji zasáhnout do průměrných stájových hodnot. Stájové mikroklima, které se při hodnocení na základě průměrných měsíčních hodnot teploty vzduchu jeví jako vyhovující, ještě nemusí znamenat, že dojnice během konkrétních dnů, kdy hodnoty mikroklimatu dosahují extrému, netrpí teplotním stresem.

Práce byla vytvořena s podporou interního grantového projektu AF MENDELU, TP 2/2010 a s podporou výzkumného záměru č. MSM6215648905 “Biologické a technologické aspekty udržitelnosti řízených ekosystémů a jejich adaptace na změnu klimatu” uděleného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

LITERATURA

- Doležal, O.; Bílek, M.; Dolejš, J. (2004): Zásady welfare a nové standardy EU v chovu skotu. Praha. © Výzkumný ústav živočišné výroby Praha-Uhřetěves, 70 s., ISBN 80-86454-51-7
- Doležal, O.; Dolejš, J.; Knížková, I.; Kunc, P.; Bílek, M.; Černá, D. (2003): Komfortní ustájení vysokoprodukčních dojnic. Praha. Výzkumný ústav živočišné výroby Praha-Uhřetěves, ISBN 80-86454-28-2.
- Drevjany, L.; Kozel, V.; Padrůněk, S. (2004): Holštýnský svět. Unipress, Turnov, 1. vyd., 344 s.
- Gerhold, K. H. (2007): Čím chladněji, tím lépe. Moderní výživa zvířat, 8/2007, s. 14 – 16.
- Hanuš, O.; Vyletělová, M.; Genčurová, V.; Jedelská, R.; Kopecký, J.; Nezval, O. (2008): Hot stress of holstein dairy cows as substantial factor of milk composition. In *Scientia Agriculturae Bohemica*, 39, 2008 (4), s. 310 – 317.
- Jelínek, P.; Koudela, K. a kol. (2003): Fyziologie hospodářských zvířat. 1. vydání, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 414 s., ISBN 80-7157-644-1.
- Novák, P.; Kubíček, K.; Zabloudil, F. (2002): Mikroklima, tepelná bilance a větrání stájí pro hospodářská zvířata. *Náš chov* (7/2002), s. 4 -6, ISSN 0027-8068
- Walterová, L.; Šarovská, L.; Falta, D.; Chládek, G. (2009): Vztah mezi vybranými klimatickými prvky uvnitř a vně stáje dojnic v průběhu roku. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis* (4) 2009, s. 125 – 132.
- Webster, J. (1999): Welfare: životní pohoda zvířat aneb střídavé kázání o ráji. Blackwell Science Ltd., 264 s., ISBN 80-238-4086-X.

EFFECT OF ADDITIVES ON THE QUALITY OF FERMENTATION AND AEROBIC STABILITY OF CORN SILAGE

Žváčková P., Doležal P.

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

E-mail: xzvackov@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of these contributions was to study the factors which influence the aerobic stability of corn silages and to determine the effect of silage additives on the resistance against aerobic changes.

A close attention has also been paid to the method for evaluation aerobic stability by measuring temperature in laboratory conditions.

An untreated controlled silage has been used as a comparative factor for the influence of silage additives.

Based on chemical and microbial examination, it may be stated that the application of additives in laboratory conditions improved the quality of fermentation of corn silages and also led to a better stability of the silage after opening (previous aeration).

Key words: fermentation, aerobic stability, silage, corn

ÚVOD

Zemědělství v České republice prodělává v posledních letech velké změny. Soustavně dochází k úbytku orné půdy i snižování stavu hospodářských zvířat v důsledku nepříznivých ekonomických podmínek. Ve snaze zefektivnit zemědělskou výrobu je kladen velký důraz na výběr kvalitních a vysoce užitkových zvířat.

Vysoký genetický potenciál produkce mléka s sebou přináší mnoho nároků, nejen na chovatelské podmínky a prostředí, ale především na kvalitu výživy.

Vzhledem k tomu, že většina podniků z technologického a ekonomického hlediska přešla na celoroční zkrmování konzervovaných objemných krmiv, především siláží, rozhoduje kvalita těchto produktů nejvíce o výsledku hospodaření, včetně ekonomiky chovu.

Kromě dodržování základních technologických požadavků jsou důležitým faktorem úspěšné konzervace (primární fermentace) silážní aditiva. V poslední době se stala nezbytnou součástí výroby nejen bílkovinných, ale také sacharidových pícnin. Jsou tak pro zemědělce určitým předpokladem pro kvalitní siláže. Některé inokulanty jsou svým složením zaměřené i na posílení sekundární stability siláží.

Pro dosažení vysoké kvality siláže je zapotřebí zachovat co největší množství živin z původní píce. Také nesmíme opomenout zachování příznivých dietetických vlastností, chutnost a také odolnost vůči sekundární fermentaci. Všechny tyto faktory ovlivňují celkový příjem sušiny, zdravotní stav, užitkovost a promítají se tak i do celkové ekonomiky podniku.

Ukazuje se, že bude nezbytné věnovat pozornost nejen v oblasti šlechtitelské práce z pohledu výživné hodnoty a silážovatelnosti nových odrůd pícnin, ale také novým technologiím sklizně, konzervace a skladování krmiv.

Velká pozornost musí být rovněž věnována strategii používání aditiv nejen k posílení pozitivní fermentace, ale i zlepšení aerobní stability siláží, na což je zaměřen pokus v této práci.

MATERIÁL

V experimentu bylo použito dvou typů silážních aditiv a tří hybridů silážní kukuřice. Silážní inokulant „Microsil“ (biologické silážní aditivum, obsahující vysokou koncentraci vybraných bakterií mléčného kvašení (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus buchneri*, *Enterococcus faecium* a *Pediococcus spp.*). Tyto bakterie urychlují primární kvasný proces a zlepšují skladovací stabilitu siláží. Konzervačně je využíván při silážování sacharidových objemných krmiv, nebo pro zavadlé polobílkovinné a bílkovinné píce s obsahem sušiny nad 36 %).

MENDELNET 2010

V 1 gramu obsahuje 30 miliard (CFU : $30 \times 10^9/1$ g) živých mléčných bakterií inkorporovaných na suchém inertním nosiči, v tomto případě jde o sacharózu a sušenou syrovátku, který umožňuje rovnoměrné rozptýlení mléčných bakterií v silážované rostlinné hmotě. Ke konzervaci 100 tun silážní hmoty je zapotřebí průměrně 1 kg tohoto inokulantu, který se před vlastním použitím rozpustí v ekvivalentním množství vody na aplikační roztok.

Chemický konzervační přípravek „Kemisile“ určený pro konzervaci bílkovinných píceň s nízkým obsahem sušiny se skládá ze směsi organických kyselin a solí organických kyselin (obsahuje kyselinu mravenčí 43 %, kyselinu propionovou 10 %, mravenčan amonný 30 % a kyselinu benzoovou 2 %). Je účinný proti kvasinkám, redukuje aerobní degradaci a zajišťuje vysokou stabilitu silážované hmoty. Dávka doporučená výrobcem je 3-6 l na tunu silážovaného rostlinného materiálu v závislosti na obsahu sušiny. U kukuřičných siláží o sušině 25-28 % je dávka tohoto aditiva do 4 l.

Obě zmiňovaná silážní aditiva jsou dodávána na trh ve vodorozpustné formě, chemický přípravek jako tekutý koncentrát, biologický v práškové formě.

Modelový pokus probíhal v laboratorních podmínkách na 3 hybridních silážní kukuřice - hybrid Amadeo (FAO 230), hybrid Touran (FAO 260) a hybrid Menuet (FAO 270). Použité hybridy kukuřice nebyly ošetřeny proti zavýječi kukuřičnému. Byl zjišťován vliv silážních aditiv na ukazatele kvality fermentace.

Po odběru hotových siláží a následné aeraci byla u modelových siláží měřena teplota, prováděl se mikrobiologický rozbor a následně se posuzovala aerobní stabilita během prvního týdne po odebrání vzorků.

V pokusných silážích byl porovnáván především vliv konzervantu, v menší míře i vliv hybridu na kvalitu kvasného procesu a následnou aerobní stabilitu.

METODIKA

Drť z celých rostlin kukuřice byly homogenně ošetřeny aditivem v dávkách doporučených výrobcem a zasilážovány do pokusných nádob o objemu 50 l, intenzivně udusány (měrná hmotnost 800 kg/m^3) a řádně anaerobně uzavřeny víkem. Modelové siláže byly připraveny ve třech opakováních. Kukuřice byla vypěstována v zemědělském podniku Starojicko a.s., okres Nový Jičín, na stanovišti Starojická Lhota. Sklizeň byla provedena sklízecí řezačkou Claas Jaguar, dne 3.9.2007.

Pokusné inokulované siláže byly spolu s neošetřenými kontrolními variantami uskladněny v místnosti při teplotě 20 ± 5 °C po dobu 8 měsíců.

Odběry vzorků siláží a vlastní analýzy proběhly dle vyhlášky č. 124/2001Sb., ve znění následných změn a úprav, která stanovuje požadavky na odběr vzorků a principy metod laboratorního zkoušení krmiv.

POUŽITÉ LABORAORNÍ METODY

Obsah sušiny byl stanoven po vysušení vzorku o konstantní hmotnosti při teplotě $103 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, dle normy ČSN 46 7092-42. Kvalitativní ukazatele byly zjišťovány z homogenátu, který vznikl přefiltrováním výluhu 50 g vzorku a 450 ml destilované vody po 24 hod.

Celková kyselost vodného výluhu (KVV) se stanovila titrací filtrátu 0,1 N NaOH o známém faktoru až do pH 8,5. Pro výpočet KVV dle následujícího vzorce byla použita spotřeba NaOH (a1)

$$\text{.KVV (mg KOH/ 100g)} = a1 \cdot 56,2 \cdot f \text{ NaOH}$$

Hodnota pH byla stanovena potenciometricky.

Obsah amoniaku se stanovoval mikrodifúzí dle Conwaye, podle metody AOAC.

Diagnostikou z vodného výluhu na plynovém chromatografu za podmínek analýzy podle Hartmana (1980), byl stanoven obsah kyseliny mléčné a těkavých mastných kyselin.

Obsah alkoholu byl proveden plynovou chromatografií popsanou Hartmanem (1974).

Stanovení množství živin bylo provedeno v laboratoři S.O.S. Skalice nad Svitavou, s. r. o., dle platné vyhlášky Ministerstva zemědělství ČR č.222/1996 Sb a konkretizované v publikaci ÚKZÚZ Brno: Postupy laboratorního zkoušení krmiv, doplňkových látek a premixů I. Z roku 2000.

Aerobní stabilita byla posuzována na základě mikrobiologických rozborů, které byly prováděny z každodenního odběru vzorku vystavených působení vzduchu (laboratorní teplota 19-20 °C) a doplněna měřením teplotních změn v daných vzorcích. Teplota byla měřena a zaznamenávána každou hodinu v průběhu 5 dní. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny.

Při vyhodnocování získaných dat byl použit PC program Statistica 8.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Dostatečné množství kyseliny mléčné je nejdůležitějším předpokladem pro kvalitu konzervace. Ukazatele fermentačního procesu modelových siláží jsou uvedeny v tabulkách číslo 1 a 2.

Tab. 1: Ukazatele kvality kvašeného procesu.

Varianta	Konzervant	Hybrid	Sálemg		pH		KVV/mgKOH		Nys.mléčná g/kg suš.		Nys.ocetová g/kg suš.		Nys.Propionová g/kg suš.		Sigma kys.		TM-TM	
			Průměr	Sn. Odch.	Průměr	Sn. Odch.	Průměr	Sn. Odch.	Průměr	Sn. Odch.	Průměr	Sn. Odch.	Průměr	Sn. Odch.	Průměr	Sn. Odch.	Průměr	Sn. Odch.
1	1	1	32,067	1,207	3,905	0,010	1415,500	100,494	5,126	0,891	1,359	0,075	0,000	0,000	6,485	0,969	3,753	0,428
2	1	2	28,300	7,692	3,935	0,031	1394,667	212,535	6,850	2,600	1,652	0,692	0,000	0,000	8,502	3,293	4,200	0,164
3	1	3	33,477	1,680	3,925	0,024	1354,000	90,052	5,265	0,546	1,208	0,085	0,000	0,000	6,473	0,613	4,358	0,305
4	2	1	31,937	1,495	3,895	0,031	1440,000	110,732	5,677	0,385	1,279	0,021	0,000	0,000	6,955	0,375	4,443	0,340
5	2	2	33,325	1,405	3,912	0,015	1463,500	169,981	5,523	0,767	1,375	0,299	0,000	0,000	6,889	1,064	4,069	0,302
6	2	3	33,030	1,240	3,942	0,028	1488,333	66,353	5,539	0,436	1,452	0,140	0,000	0,000	6,991	0,574	3,819	0,090
7	3	1	31,212	1,765	3,955	0,010	1198,667	111,161	4,983	0,447	0,791	0,132	0,000	0,000	5,774	0,574	6,363	0,514
8	3	2	32,085	1,077	3,932	0,008	1284,667	42,169	5,125	0,377	0,726	0,134	0,000	0,000	5,851	0,491	7,189	0,918
9	3	3	32,030	1,624	3,945	0,010	1187,167	91,550	4,850	0,147	0,793	0,087	0,000	0,000	5,643	0,229	6,168	0,547
Vš skupiny			31,940	3,060	3,927	0,027	1358,500	152,092	5,438	1,088	1,182	0,401	0,000	0,000	6,619	1,434	4,929	1,292

Tab. 2: Ukazatele kvasného procesu, zohledněn vliv konzervantu.

Konzervant	Sůlna g		pH		KVV v mg KOH		Kyslečná g/kg suš.		Kys.octová g/kg suš.		Kys.Popionová g/kg suš.		Suma kys.		TM:TKM		Etanol g/kg suš.	
	Prům.	Směr.odch.	Prům.	Směr.odch.	Prům.	Směr.odch.	Prům.	Směr.odch.	Prům.	Směr.odch.	Prům.	Směr.odch.	Prům.	Směr.odch.	Prům.	Směr.odch.	Prům.	Směr.odch.
1	31,281	4,870	3,922	0,026	1388,056	132,979	5,747	1,720	1,406	0,426	0,000	0,000	7,153	2,130	4,103	0,399	1,477	0,517
2	32,764	1,438	3,916	0,031	1463,944	117,528	5,580	0,527	1,369	0,194	0,000	0,000	6,948	0,687	4,110	0,364	1,544	0,237
3	31,775	1,484	3,944	0,013	1223,500	92,879	4,986	0,347	0,770	0,117	0,000	0,000	5,756	0,437	6,574	0,788	3,426	0,225
Vš.skup.	31,940	3,060	3,927	0,027	1358,500	152,092	5,438	1,088	1,182	0,401	0,000	0,000	6,619	1,434	4,929	1,292	2,149	0,975

V modelovém pokusu u kukuřičných siláží byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl ($p < 0,05$) vlivem konzervantu u všech ukazatelů a vysoce průkazný rozdíl ($p < 0,01$) především u KVV, kyseliny octové, sumy kyselin, TM:TKM, etanolu a čpavku.

U hodnoty pH byl průkazný pouze rozdíl mezi chemickým konzervantem a neošetřenou kontrolou. Kontrolní siláž vykazovala hodnotu $3,922 \pm 0,026$; zatímco u chemicky ošetřené varianty došlo ke zvýšení pH na $3,944 \pm 0,013$. U biologického preparátu došlo k mírnému snížení hodnoty na $3,916 \pm 0,031$, avšak tento rozdíl nebyl průkazný. Hybrid Amadeo ($3,955 \pm 0,010$) a Menuet ($3,945 \pm 0,010$ pH) vykazovaly vysoce průkazný rozdíl u hodnoty pH s použitím přípravku „Kemisile 2000 plus“. S „Microsil extra plus“ pouze průkazný rozdíl. U hybridu Touran byl vysoce průkazný rozdíl při použití inokulantu, hodnota pH klesla na $3,912 \pm 0,015$ z $3,935 \pm 0,031$. Průkazný se také ukázal vliv hybridu. Hodnota pH u hybridu Amadeus klesla z $3,926$ na $3,918$ a naopak u hybridu Menuet jsme zaznamenali nárůst pH na $3,937$ (tab. 5). Uvedená zjištění jsou v souladu s konstatováním jiných autorů.

Tab. 5: Statistický průkazný rozdíl vlivu hybridu na kvalitu kvasného procesu.

Hybrid	pH		Etanol g/kg suš.	
1	3,918	a	2,220	a
2	3,926	ab	2,260	ab
3	3,937	b	1,967	b

Na množství kyseliny mléčné nebyl vliv konzervantu statisticky prokázán. Průkazný byl zjištěn pouze rozdíl konzervantu a hybridu, kdy došlo k navýšení obsahu kyseliny mléčné na $6,850 \pm 2,6$ g/kg suš. u neošetřeného hybridu Touran a snížení na $4,850 \pm 0,147$ g/kg suš. v případě chemicky konzervovaného hybridu Menuet. V Porovnání s průměrnou hodnotou $5,438 \pm 1,088$. Ve všech ostatních variantách nebylo možné rozdíly prokázat.

Vliv samotného konzervantu na obsah kyseliny octové byl vysoce průkazný ($p < 0,01$) u chemického aditiva snížením hodnoty na $0,770 \pm 0,117$ oproti neošetřené variantě ($1,406 \pm 0,426$) a biologickému inokulantu $1,369 \pm 0,194$ (tab. 4). Z uvedeného je zřejmé, že chemický prostředek významně redukoval tvorbu kyseliny octové oproti ostatním variantám.

Tab. 4: Statistický průkazný rozdíl vlivu konzervantu na kvalitu kvasného procesu.

Konzervant	pH		KVV v mg KOH		Kys.octová g/kg suš.	Suma kys.	TM:TKM	Etanol g/kg suš.		Čpavek g/kg suš.				
1	3,922	a	1388,056	Aa	1,406	Aa	7,153	B	4,103	Aa	1,477	Aa	0,105	Ab
2	3,916	a	1463,944	Aa	1,369	Aa	6,948	AB	4,110	Aa	1,544	Aa	0,086	Ab
3	3,944	b	1223,5	Bb	0,770	Bb	5,756	A	6,574	Bb	3,426	Bb	0,110	Ba

Při vzájemném porovnání silážních aditiv „Microsil extra plus“ a „Kemisile 2000 plus“ byl vysoce průkazný ($p < 0,01$) rozdíl u obou přípravků (tab. 3). V případě chemického aditiva poklesla v siláži

suma hodnot na $5,756 \pm 0,437$ g/kg suš., zatímco u siláže s biologickým inokulantom byla koncentrace fermentačních kyselin vyšší ($6,948 \pm 0,87$ g/kg suš.).

Tab. 3. Statistický průkazný rozdíl vlivu konzervantu a hybridu na kvalitu kvasného procesu.

Varianta	Konzervant	Hybrid	pH	R/V v mg KOH	Kys.mléčná g/kg suš.	Kys.octová g/kg suš.	Suma kys.	KM/TKM	Etanol g/kg suš.	Čísleček g/kg suš.								
1	1	1	3,305	Acid	1416	AB	1416	ac	1,359	ABa	6,485	ABab	3,753	Aa	1,549	Aa	0,078	Aa
2	1	2	3,335	ABCabc	1335	AB	1335	abc	1,652	Ba	6,532	Bb	4,200	Aa	1,675	Aa	0,134	Bb
3	1	3	3,325	ABCabcd	1354	AB	1354	abc	1,208	ABCabc	6,473	ABab	4,359	Aa	1,208	Aa	0,105	ABab
4	2	1	3,895	Cd	1440	AB	1440	a	1,279	ABCac	6,955	ABab	4,443	Aa	1,719	Aa	0,078	Aa
5	2	2	3,912	ABCabcd	1464	B	1464	a	1,375	ABa	6,899	ABab	4,069	Aa	1,482	Aa	0,105	ABab
6	2	3	3,942	ABabc	1488	B	1488	a	1,452	Ba	6,991	ABab	3,819	Aa	1,431	Aa	0,076	Aa
7	3	1	3,955	Bc	1199	A	1199	bc	0,791	ACbc	5,774	ABa	6,963	Bbc	3,393	Bb	0,112	ABab
8	3	2	3,932	ABCabcd	1295	AB	1295	abc	0,726	Cb	6,851	ABa	7,189	Bc	3,624	Bb	0,109	ABab
9	3	3	3,945	ABbc	1187	A	1187	b	0,793	ACbc	5,643	Aa	6,168	Bb	3,261	Bb	0,110	ABab

Kyselost vodného výluhu byla prokazatelná pouze u „Kemisile 2000 plus“ a to výsoce. Pokles byl na $1223,5 \pm 92,879$ mg KOH z $1388,056 \pm 132,979$ mg KOH. Ve vzájemném porovnání byl výsoce průkazný nárůst při použití biologického inokulantu a chemického aditiva u hybridů Touran ($1463,5 \pm 169,991$ mg KOH z $1284,667 \pm 42,169$) a Menuet ($1488,333 \pm 66,353$ mg KOH z $1187,167 \pm 91,550$).

Porovnáním poměru kvasných kyselin (KM/TKM) byl výsoce průkazný rozdíl mezi použitými aditivy, a to rozšířením u chemického prostředku z $4,103 \pm 0,399$ (u neošetřené kontrolní varianty) na $6,574 \pm 0,788$. Také u siláže s biologickým aditivem došlo k mírnému zvýšení, avšak nebylo statisticky průkazné. Míčková (2004) uvádí, že inokulanty podobného druhu zvyšují poměr kyseliny mléčné.

Obsah vzniklého etanolu byl výsoce průkazný. Zvýšil se z $1,477 \pm 0,517$ g/kg suš. u neošetřené kontroly na $3,426 \pm 0,225$ g/kg suš. u chemicky ošetřené siláže. Ukazuje se, že proti alkoholovému kvašení v kukuřičných silážích s větším preventivním efektem je aplikace biologického aditiva. Podobná zjištění publikovali Driehuis a Wikselaar (1999).

ZÁVĚR

V této diplomové práci byl hodnocen vliv silážních aditiv „Microsil extra plus“ a „Kemisile 2000 plus“ na kvalitu fermentačního procesu, následnou aerobní stabilitu kukuřičné siláže. Posouzen byl i vliv na kvalitu kvasného procesu. Správný průběh fermentačního procesu byl ovlivněn i volbou hybridu a sklizní při optimální sušině. Posouzením výsledků lze potvrdit pozitivní vliv biologického silážního inokulantu „Microsil extra plus“, obsahujícího homofermentativní i heterofermentativní kmeny bakterií mléčného kvašení, na usměrnění fermentačního procesu, kdy došlo ke zlepšení fermentačního procesu. Avšak v otázce aerobní stability nutno konstatovat lepší výsledky u siláží ošetřených chemickým aditivem „Kemisile 2000 plus“, které prokazatelně vykazuje vyšší obsah kyseliny octové, jenž má lepší inhibiční růstu kvasinek i plísní. Lepší aerobní stabilita byla prokázána u chemicky ošetřených siláží, nejen nižším počtem negativních aerobních mikroorganismů, ale i pomalejším záhřevem siláží vystavených působení vzduchu. Zároveň došlo k potvrzení souvislosti – že kvalitnější primární fermentace, nemusí souviset s lepší aerobní stabilitou. Lze říci, že biologický inokulant napomáhá ke zkvalitnění fermentačního procesu a zlepšuje výživovou hodnotu siláží, oproti chemickému aditivu. V podmínkách tohoto pokusu však nedokázal prodloužit dobu aerobní stability jako chemický prostředek.

LITERATURA

DOLEŽAL, P.; DVOŘÁČEK, J.: *Aerobní stabilita siláží z krmivářského pohledu*. Krmivářství č. 1, 2000, s. 26-28.

DRIEHUIS, F., VAN WIKSELAAR, P.G.: *The preventiv of alcoholic fermentation in high dry another grass silge*. In The XIIth International Silage Conference, Uppsala, 1999, s. 133-134.

JAKOBE, P. et al.: *Konzervace krmiv*. 1. vyd. Praha: SZN, 1987, 262 s.

JAMBOR, V.: *Sekundární fermentace konzervovaných krmiv*. Krmivářství č. 1, 2001, s. 30-31.

MÍČKOVÁ, M.: *Studium účinku aditiva Bonsilage na kvalitu fermentačního procesu a aerobní stabilitu siláží*. Diplomová práce MZLU v Brně, 2004

PETŘÍK, M. et al.: *Krmivová základna*. Institut výchovy a vzdělávání MZVŽ v Praze. 1984, s. 322.

POŠTULKA, R.: *Studium faktorů ovlivňujících kvalitu siláží v podmínkách zemědělského podniku Otice, a.s.*. Diplomová práce MZLU v Brně, 2007.

SCHMIDT, W.; WETTERAU, H. et al.: *Výroba siláže*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1974, 516 s.

URIARTE, M.E., BOLSEN, K.K., BRENT, B.E.: *Aerobic deterioration of silage: A review*. In 10th International symposium "Forage conservation". Brno, 2001, s. 23 - 31.

IMPACT OF THE PROBIO ORIGINAL™ (EM-FARMING™) ON THE COMPOSTING PROCESS OF THE BIODEGRADABLE WASTE

Hlisnikovský L., Kotovicová J.

Department of Applied and Landscape Ecology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: lukas.hlisnikovsky@mendelu.cz

ABSTRACT

Main issue of the experiment is to observe the impact of the ProBio Original™ (hereinafter „product“) on the composting process of the biodegradable waste in the garden composters and to define a technical, environmental and economical procedure of using this material on purpose to prevent dumping of the biological garbage on the landfills.

This text characterizes the first stage of the longtime experiment. Freshly cut grass was used as a composted material in five composters, each with the 290 dm³ cubic capacity. Each composter was labeled and fully filled with the grass. Two composters are used as a reference. Three composters enriched with the product contain each a different product concentration. Chemical analysis of the input material was also purchased. The temperature in all composters is measured during the whole experiment.

Although the experiment is still in progress, there is some evidence so far that the product affects the temperature scale in the composters. Maximum temperatures in the composters enriched with the product achieve higher levels compared to the reference composters. Higher temperature indicates more intense microbial activity and faster process of the mineralization phase of the composting. Significant mass losses in the enriched composters were also detected.

Chemical analysis of each composted segment will be established in the end of the experiment and the output will be compared with the initial data. There is a suggestion for the following research on the heterogenous material composting. Although there is a lot of investigation needed, it appears that the product may be a usefull tool for reutilization of biological material.

Key words: composting, bioactive product, prevent dumping

1. CÍL PRÁCE

Směrnice č. 1999/31/ES o skládkách odpadů ukládá snížení množství biologicky rozložitelných komunálních odpadů ukládaných na skládky tak, aby podíl této složky činil v roce 2010 (2013, 2020) nejvíce 75 % (50 %, 35 %) hmotnostních z celkového množství BRKO vzniklého v roce 1995. I když se Ministerstvo životního prostředí, ve spolupráci s jinými resorty, snaží v ČR aplikovat různá právní opatření (požadavek směrnice je součástí Plánu odpadového hospodářství ČR), hrozí České republice, z důvodu neplnění této směrnice, sankce ze strany Evropské Komise.

Tento článek seznamuje čtenáře s první etapou dlouhodobého výzkumu vlivu přípravku ProBio Original™ (dále jen „přípravek“) na průběh kompostovacího procesu biologicky rozložitelných odpadů v zahradních kompostérech a následného vyhodnocení ekonomického, technického a environmentálního hlediska používání přípravku, se záměrem předcházet ukládání biologicky rozložitelných odpadů na skládky komunálních odpadů.

Cílem první etapy výzkumu je zjistit účinek přípravku na trávu kompostovanou v zahradních kompostérech.

2. ÚVOD

Technologie kompostování biologicky rozložitelných odpadů je stará přibližně 5 500 – 6 000 let. Archeologické výzkumy potvrdily existenci jednoduchých kompostovacích zařízení v městech Sumerské civilizace (přibližně 4 000 – 3 500 let př. n. l.). Jednalo se o jámy, uvnitř vyložené kameny, ve kterých se biologicky rozložitelný odpad od občanů města uchovával a později i aplikoval na zemědělsky využívané plochy.

S rozvojem civilizace a s rostoucím poznáním se zdokonalovaly i postupy kompostování a využití finálních produktů. Důležitým obdobím v oblasti výzkumu kompostování byl středověk, kdy řád templářských rytířů důkladně zkoumal proces kompostování a následné využití biologicky rozložitelných odpadů a jejich aplikaci na zemědělské pozemky.

Největšího rozvoje však lidstvo dosáhlo ve 20. stol. Zkušenosti a postupy generací předchozích a novodobé poznatky z oblasti chemie, mikrobiologie a jiných věd, nám umožňují vyvíjet nové kompostovací technologie a podpůrné přípravky, díky kterým můžeme zvýšit efektivitu kompostování, odstranit či omezit nežádoucí aspekty a dopady těchto technologií na životní a pracovní prostředí a snížit náklady na provozování kompostovacích zařízení.^(1,2)

Jednou z možností jak omezit nežádoucí vlivy, vyskytující se při kompostování, mezi něž patří např. zápach, a kladně ovlivnit kvalitu kompostovacího procesu a finálního produktu, je aplikace biologicky aktivních přípravků.

V současné době je na trhu k dispozici široká škála přípravků, které slouží k pozitivnímu ovlivnění kompostovacího procesu. Složení těchto přípravků má vždy stejný základ – obsahují bakterie, řasy, kvasnice, houby, popř. jejich směsi. Každý přípravek se liší skladbou bakteriálních kmenů, kvasnic, hub a jejich koncentrací. Přesné kvantitativní a kvalitativní složení bývá předmětem obchodního tajemství.

2.1 TECHNOLOGIE „EM“ A JEJÍ POUŽITÍ

Technologie EM (effective microorganisms) byla vynalezena Prof. Dr. Teruo Higou, který působil na agronomické fakultě university Ryukus v japonském městě Okinawa. Hlavní myšlenkou při jeho výzkumu bylo omezení závislosti zemědělských producentů na chemickém průmyslu, který zemědělcům neustále zvyšuje náklady na jejich činnost a může negativně ovlivnit kvalitu životního prostředí. Z těchto důvodů se Prof. Dr. Teruo Higa rozhodl zkoumat možnosti produkce a využití přípravků, založených čistě na základě mikrobiálních, které nabídnou levnější a šetrnější alternativu k výrobkům chemického průmyslu.

V průběhu 60. let 20. stol. Bylo provedeno mnoho výzkumů, zaměřených na využití bakterií v různých oblastech lidské činnosti – zemědělství, průmysl atd. Veškeré výzkumy však byly zaměřeny vždy na použití jednoho bakteriálního kmene pro zkoumanou aktivitu.

Prof. Dr. Teruo Higa se zaměřil na výzkum sloučení několika bakteriálních kmenů, které spolu dokáží koexistovat a spolupracovat.

V průběhu několikaletého výzkumu objevil Prof. Higa správnou kombinaci mikroorganismů, kterou dnes známe pod jménem EM, což je zkratkou slov „efektivní mikroorganismy“. Na japonském trhu se objevila poprvé v roce 1982 a od té doby se začala šířit na trhy Asie. V roce 1992 byl ve městě Tucson, v americkém státě Arizona, otevřen závod pro kultivaci bakteriálních kmenů a technologie EM se tak zpřístupnila trhu USA a Kanady. V dnešní době jsou výrobky této technologie prodávány ve více než 100 zemích světa a kultivační zařízení jsou v přibližně 54 zemích celosvětově.

Použití technologie EM dnes přesahuje okruh zemědělského odvětví, k čemuž byla původně vynalezena. Technologii EM je možné použít pro snížení zápašnosti některých průmyslových provozů, nevýjímaje odpadové hospodářství. Další využití pro technologie EM nalezneme v oblasti výživy hospodářských zvířat, čištění odpadních vod, v zahradnictví a ve zdravotnictví.

3. MATERIÁL

V experimentu byl použit přípravek ProBio ORIGINALTM (EM-FarmingTM).

Pro účely experimentu byla vybrána čerstvě posečená tráva, pocházející z veřejných ploch města Brna, kterou nám poskytla Centrální kompostárna Brno a.s. Tento materiál byl vybrán z důvodu své jednoznačné definovatelnosti.

4. METODIKA

Pro provedení experimentu bylo zakoupeno pět zahradních kompostérů od společnosti AL-KO Kober spol. s r.o., každý o jmenovitém objemu 290 dm³.

Experiment je situován v areálu Mendelovy univerzity v Brně. Jednotlivé kompostéry byly označeny číslem od jedné do pěti a naplněny přivezeným materiálem na svůj plný objem.

Dva kompostéry (číslo 2 a 5) slouží jako referenční, tedy bez aplikace přípravku. Kompostér č. 2, nebyl v průběhu kompostovacího procesu překopáván.

Tři kompostéry (1, 3, 4) byly po vsádce obohaceny o přípravek ProBio Original™. Cílem tohoto experimentu je rovněž zjistit účinek přípravku na kompostovací proces v závislosti na jeho koncentraci. Každý kompostér byl proto obohacen rozdílným množstvím přípravku. Kompostér číslo jedna byl obohacen množstvím přípravku odpovídající koncentraci 1 l.m⁻³, kompostér číslo tři přípravkem o koncentraci 10 l.m⁻³ a kompostér číslo 4 přípravkem s koncentrací 20 l.m⁻³.

Všechny kompostéry, včetně referenčních, byly doplněny 20 l inokulátu, průmyslovým kompostem pocházejícím z Centrální kompostárny Brno a.s. Tento inokulát byl umístěn na dno kompostéru z důvodu akcelerace kompostovacího procesu.

Při vsádce byl odebrán vzorek pro analýzu vstupní suroviny. Analýza byla provedena společností LABTECH s.r.o.. V rámci analýzy byly stanovovány tyto parametry:

- a) množství sušiny,
- b) obsah spalitelných látek,
- c) celkový obsah dusíku,
- d) poměr dusíku k uhlíku,

a následně koncentrace těchto prvků: Ca, Mg, K, P, Ca, Cu⁽³⁾, Pb⁽³⁾, Zn⁽³⁾, Hg⁽³⁾.

Koncentrace ostatních rizikových prvků nebyly stanovovány, neboť neexistuje důvodná příčina jejich zvýšené koncentrace v zeleni veřejných prostranství města Brna.

V průběhu kompostování je pravidelně měřena teplota v kompostérech i teplota okolí digitálním dotykovým teploměrem. Teplota je měřena jednou týdně, ve dvou případech byla teplota měřena dvakrát v týdnu.

Po ukončení kompostovacího procesu bude následně provedena chemická analýza všech výstupů a proběhne jejich porovnání.

5. VÝSLEDKY A DISKUZE

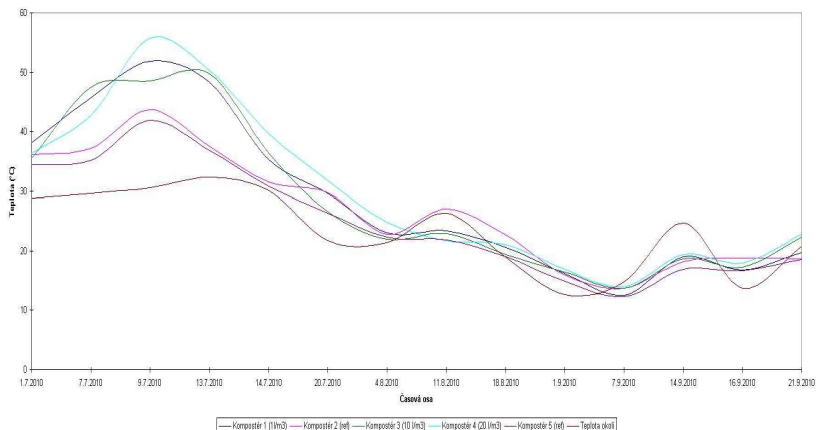
V době zpracování tohoto textu se na experimentu stále pracuje. Z tohoto důvodu je možné zmínit pouze zaznamenané teploty (Tab. č. 1) a teplotní průběh v jednotlivých kompostérech (Obr. č. 1). Úbytek objemu kompostovaného materiálu znázorňuje Tab. č. 2.

	Komp. č. 1 (°C)	Komp. č. 2 (°C)	Komp. č. 3 (°C)	Komp. č. 4 (°C)	Komp. č. 5 (°C)
01.07.2010	38,2	36,1	35,6	36,4	34,5
07.07.2010	45,7	37,2	45,7	42,8	35,2
09.07.2010	51,9	43,7	48,6	55,8	41,9
13.07.2010	48,3	37,6	49,7	50,3	36,8
14.07.2010	35,3	31,5	36,4	39,7	30,8
20.07.2010	29,6	29,8	26,6	31,8	26,3
04.08.2010	23	22,8	22	24,8	22,3
11.08.2010	23,4	27	22,9	21,7	21,9
18.08.2010	20,5	22,7	19,4	21	19
01.09.2010	16,2	15,9	16,4	16,9	14,9
07.09.2010	12,5	13,7	13,7	13,9	12,3
14.09.2010	19	18,2	18,7	19,4	16,9
16.09.2010	16,8	18,8	17,3	17,9	16,6
21.09.2010	19,7	18,7	22,3	22,8	18,6

Tab. č. 1: Teploty zaznamenané v průběhu experimentu.

Průběh teplot zobrazuje Obr. č. 1. Největší změny teploty byly zaznamenané v prvních dvou týdnech experimentu, v tzv. fázi mineralizační. Zatímco nárůst teploty v referenčních kompostérech byl nízký, v kompostérech obohacených přípravkem bylo dosaženo mnohem vyšších teplot.

Průběh teplot

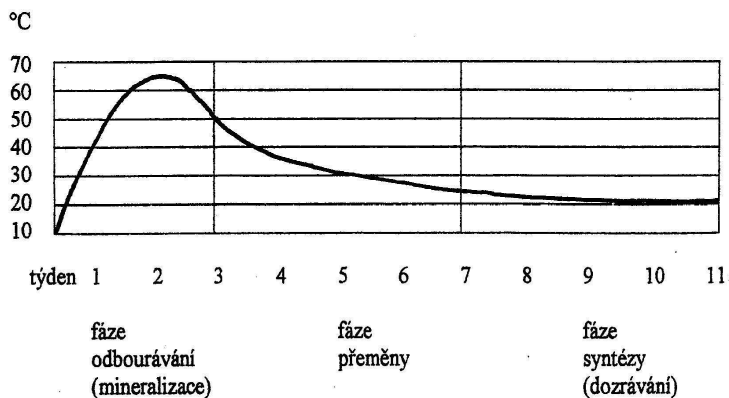


Obr. č. 1: Průběh teplot v experimentálních kompostérech

V prvním týdnu došlo u referenčních kompostérů č. 2 a 5 k nárůstu teploty o 1,1°C a 0,7°C. V kompostérech obohacených přípravkem byl zaznamenán nárůst teploty o 7,5°C v kompostéru č. 1, 11,9°C v kompostéru č. 3 a o 6,6°C v kompostéru č. 4. V tomto týdnu bylo rovněž provedeno druhé měření, při kterém byly zaznamenány nejvyšší naměřené teploty, vyjímaje kompostér č. 4. V referenčních kompostérech č. 2 a 5 byla naměřeny teploty 43,7°C a 41,9°C. Kompostéry obohacené přípravkem dosáhly teplot 51,9°C v kompostéru č. 1, 48,6°C v kompostéru č. 3 a 55,8°C v kompostéru č. 4. V kompostéru č. 3 byla naměřena maximální teplota, 49,7°C, a to ve třetím týdnu experimentu.

Průměrná teplota vzduchu byla v průběhu prvních dvou týdnů experimentu 30,3°C.

Teplotní křivka zaznamenaná v experimentálních kompostérech přibližně odpovídá schématu teplotního průběhu kompostovacího procesu uváděném ve skriptech Speciální mechanizace – mechanizační prostředky pro kompostování (Obr. č. 2)



Obr. č. 2 Vývoj teploty v kompostované hmotě⁽³⁾

Po dosažení teplotního maxima začaly teploty v kompostérech klesat. Klesající tendence byla přerušena až 14.09.2010, kdy byla oproti předchozím týdnům zaznamenána zvýšená teplota okolí. Na navýšení teploty v kompostérech mohla mít vliv i překopávka uskutečněná 07.09.2010.

Z naměřených údajů vyplývá, že přípravek ProBio Original™ má přímý účinek na průběh kompostovacího procesu. U kompostérů, obohacených roztokem přípravku, byly zaznamenány v průběhu počáteční fáze kompostování vyšší teploty, než u kompostérů referenčních. Teplota v kompostéru nám slouží jako ukazatel aktivity mikroorganismů v něm obsažených. Vyšší teplota znamená vyšší aktivitu a tím i efektivnější mineralizaci kompostovaného materiálu.

Vedle teploty v kompostérech je sledován i úbytek objemu kompostovaného materiálu. Předpokladem je, že zvýšená mikrobiální aktivita povede k rychlejšímu úbytku objemu kompostované hmoty. Tato hypotéza byla v experimentálním měření potvrzena.

Zaznamenané úbytky kompostované hmoty oproti původnímu objemu uvádí Tab. č. 2.

Úbytek objemu v kompostéru [%]	
Kompostér č. 1	65,71
Kompostér č. 2	34,29
Kompostér č. 3	82,86
Kompostér č. 4	75,71
Kompostér č. 5	60

Tab. č. 2: Procentuální úbytek objemu kompostované hmoty.

6. ZAVĚR

Experiment je stále ve fázi průběhu. Jedná se o první část dlouhodobého experimentu, z tohoto důvodu není možné vytvářet konečné podrobné závěry a doporučení. Z dosavadních měření je patrná větší teplotní škála v kompostérech (Obr. č. 1), i úbytek kompostované hmoty (Tab. č. 2), což je zapříčiněno vyšší mikrobiální aktivitou a urychlením procesu dekompozice kompostovaného materiálu v kompostérech obohacených přípravkem ProBio Original™.

Další fází experimentu bude provedení chemického rozboru výstupů a zjištění kvalitativního ovlivnění kompostované hmoty bioaktivním přípravkem. Následně bude experiment pokračovat v rozšíření experimentu o jiné, heterogenní směsi, které se mohou vyskytovat v kompostérech občanů a ve vyhodnocení ekonomického a environmentálního hlediska používání bioaktivního přípravku ProBio Original™ v domácím kompostování.

7. LITERATURA

1. L.F.DIAZ, M. de BERTOLDI: Compost science and technology. Elsevier Publishing Group, 2007, 382 stran, ISBN-13: 9780080439600
2. Leslie Cooperband: The Art and Science of Composting [online], www.cias.wisc.edu, 2002, dostupné z: <http://www.cias.wisc.edu/wp-content/uploads/2008/07/artofcompost.pdf>
3. PAVEL ZEMÁNEK: Speciální mechanizace-mechanizační prostředky pro kompostování. 1. vydání, ČR, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2001, 114 stran, ISBN: 80-7157-561-5
4. Nařízení vlády č. 197/2003 Sb., o Plánu odpadového hospodářství České republiky [online], dostupné z: <http://www.mzp.cz/c1256e7000424ac6.nsf/Categories?OpenView&Start=1&Count=30&Expand=3.1#3.1>
5. Hodnotící zpráva o plánu odpadového hospodářství za rok 2008 [online], www.mzp.cz, 2009, dostupné z: http://www.mzp.cz/cz/plneni_narizeni_vlady
6. Firemní materiály firmy BIO WORLD Sp. Z o.o., poskytnuté českým zástupcem.
7. 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) [online], dostupné z: <http://www.mzp.cz/c1256e7000424ac6.nsf/Categories?OpenView&Start=1&Count=30&Expand=3.2#3.2>
8. ČSN 46 5735 (465735) Průmyslové komposty, Vydavatelství norem, Praha, 1991, 32 stran, EAN kód: 8590963290393.

RESEARCH OF SUSTAINABLE FOREST MANAGEMENT IN MEDITERRANEAN AREA

Jakešová L.¹, Valls P.², Vallés M.², Galiana F.²

¹Department of Applied and Landscape Ecology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

²Department Rural and Agrifood Engineering, Polytechnic University of Valencia, Camino de Vera, s/n. 46022 – Valencia, Spain

E-mail: lenka.jakesova@uake.cz; pabvaldo@upvnet.upv.es; convalpl@agf.upv.es; fgaliana@agf.upv.es

ABSTRACT

Sustainable Forest Management (SFM) has become an increasingly discussed topic in forestry. It looks at aspects, apart from productive ones, like quality of life of the population, local economic development, and biodiversity. The concept first appeared at the Rio Conference in 1992 with a first attempt to define SFM principles. Then, forest certification systems led the application of SFM (forest certification is the voluntary process to label forest products coming from SFM). But SFM should be implemented in every management unit, promoted by governments through forest legislation and instruments. The objective of this research is to check the current promotion of SFM from governments. The revision of laws and instruments is made in Spain. It is also intended to define ways so that current forest management becomes more sustainable.

Key words: sustainable forest management, mediterranean forest

Acknowledgments: This research project was generously supported by Polytechnic University of Valencia. Authors would like to thank Francisco Galiana Galán and María Vallés for providing the necessary information and helpful comments and suggestions.

INTRODUCTION

In last decades, concerns around natural ecosystems ability to cope with the growing demands of the society led to a new concept of development. In this context, sustainable development was first talked about in Brundtland Report (1987), which is defined as development that *meets the needs of present generations without compromising the ability of the future generations to meet their own needs*. The report was central for the development of the Earth Summit (1992), where it was made a first attempt to define sustainable forest management (SFM).

SFM implies a widening of traditional forest management objectives: maintenance of the forest cover, profitability and best use of different products and services. SFM considers other aspects such as the local population, soil conservation, water resources and biodiversity (CIM, 2002).

The research aims to get an assessment of the introduction of SFM in current forest planning and to see ways to improve the situation. The revision is made in Spain. To meet the aim, the work has the following objectives: to get the requirements of SFM in order to define the concept and establish where it is intended to go; to check how forest planning instruments and rules fit into SFM requirements; to define proposals to achieve a more sustainable forest planning.

Most of the Spanish forests respond to a Mediterranean species association pattern due to Mediterranean climatic conditions. Mediterranean forest ecosystems have special characteristics that make them differ in their composition and management from other types of forests. The productivity of Mediterranean forests is generally low and properties are generally small, so that profitability of forests is normally low. But they provide multiple goods and services (especially noteworthy is the importance of non-market values) including being exceptional rich in terms of biodiversity. All these goods and services are crucial for the socio-economic development of rural areas as well as for the welfare of the urban populations of the Mediterranean region. (EUROPEAN FOREST INSTITUTE, 2009)

METHODOLOGY

The research starts with a review of the standards of forest certification systems established in Spain (PEFC¹, FSC²), and the rules and instruments that regulate the development of forest activity. Through these certification systems the Spanish forest management is being regulated.

¹ Pan-European Forest Certification (PEFC): It is a framework for the mutual recognition of credible national or regional sustainable forest management schemes. Program participants are granted the use of a common ecolabel.

² Forest Stewardship Council (FSC): According to the FSC, its mission is to support environmentally appropriate, socially beneficial, and economically viable management of the world's forests.

MENDELNET 2010

A set of hypotheses about the main requirements of SFM and the main difficulties and chances of the Spanish forest management to achieve sustainability are derived from the revision. A SWOT Analysis is completed to assess sustainability of forest management. From the analysis are derived proposals for improvement.

Consultation with experts through questionnaires is developed in order to check these hypotheses and answer the key questions. The questionnaire is structured in five questions: SFM requirements, forest management difficulties to achieve sustainability, forest management chances for sustainability, real consideration of the requirements in forest management, and proposals for improvement. In each question, experts have to assess sustainability of a set of elements related to the topic of the question. The experts are selected from: universities, central and regional governments, forest management enterprises, research institutes and forest certification systems.

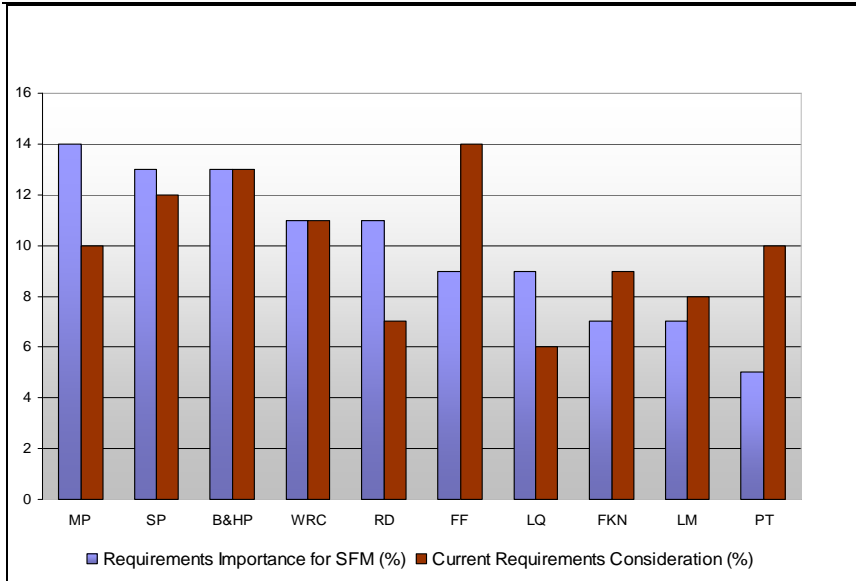
Data is analysed according to a multicriteria decision method that gives a weight to each of the elements considered by comparison (GÓMEZ OREA, 2002).

RESULTS

The most important requirements of SFM is *management planning (graph)*. *Planning is the key of the management*, according to the experts' answers, *by means of planning all of the other requirements are considered*. Secondly, it is important to consider *natural resources protection*, and in the third place *rural development*. The less important requirements of SFM are *landscape management* and *pest treatments* (see Fig. 1).

The requirement of SFM that is currently most introduced in forest planning are *forest fires prevention and extinction measures*, followed by *biodiversity and habitat protection* and *soil protection*. The requirements that are introduced less often are: *landscape management*, *rural development* and *quality of life improvement* (see Fig. 1).

Apart from the requirements proposed, experts consider that SFM has to take care of the adaptation of forest ecosystems and their management to climate change. It should also promote educational and cultural aspects of forests such as traditional uses or human landscapes. Concerning *rural development*, it is a policy covered by several sectors (not just forestry) which have to act together. Besides, rural development must be sustainable and based on the local resources.



MP: Management Planning; **SP:** Soil Protection; **B&HP:** Biodiversity&Habitats Protection; **WRC:** Water Resources Conservation; **RD:** Rural Development; **FF:** Forest Fires; **LQ:** Life Quality Improvement; **FKN:** Forest Knowledge Improvement; **LM:** Landscape Management; **PT:** Pests Treatments

Fig. 1. SFM Requirements and their current consideration

The difficulties of the Spanish forest planning system to achieve sustainability are mainly the lack of economic compensation for the positive externalities, the small size of forest private property and low general productivity of Mediterranean forests. Referring to the difficulty *lack of guidelines of SFM*, some experts suggested that the problem is not the existing information but the available resources. Other difficulties considered by the experts are: lack of social awareness; the economic context: market characteristics, low added value of products; and the amount of legislation which is not always well connected.

On the other hand, the chances of the Spanish system to develop SFM are the basic criteria for the development of conventional forestry management plans: maintenance of the forest cover, profitability and best use of different products and functions. It also helps the existing guidelines for forestry management plans towards the prevention of forest fires and forest pests, and towards the conservation of landscape and biodiversity. For the development of sustainable forest management also help the forest strategies and plans coming from Europe and the Spanish Central government, and all the rules for the protection of the natural resources in general.

Except application of EIA process, all the proposals are considered to be relevant. Concerning government paper reinforcement, it is central to consider that much intervention could happen

against willingness to manage. Many experts suggest economic incentives as means to encourage forest management and for the externalities. There should be developed marketing strategies which focus on all forest goods and new markets (bioenergy). More research to renew management is important. Finally, a forest policy that is steady and flexible has to be developed.

SFM has to consider firstly the natural resources conservation. Secondly, it is important that forest management contributes to rural development. Multifunctional use of forests is also an important aspect to be promoted by forest management in order to be sustainable.

DISCUSSION

The results demonstrate that SFM has to consider not just the production of forests and the maintenance of the cover, but all of the other natural resources that are in the forests. It has also to encourage the social and economic aspects of the forest and the area around. It has to be taken into account that rural development is not a matter that only concerns forestry so that interaction among different land planning sectors is required. Rural development has to be based on the local resources in order to be sustainable, construction or golf also promotes development, but it is not sustainable because it does not increase the value of the local characteristics.

CONCLUSION

Sustainable forest management is an opportunity for the Mediterranean forest. The article shows that Mediterranean forest has many good properties but also suffers from certain deficiencies. To make forest management more sustainable it is necessary to make it profitable and be preserved over time.

Sustainable forest management should be an objective to achieve in every forest and encourage by forest laws. Mainly forest certification systems established in Spain (PEFC; FSC) and another rules and instruments that regulate the development of forest activity should encourage sustainability. The focus has been on assessing the level of sustainability of forest management in Spain.

Mediterranean forest ecosystem presents natural resources and land use forms with high biodiversity and good condition requiring economic, social and environmental support. Requirement for careful handling of natural resources are essential prerequisites for truly sustainability. These goods and externalities they provide, such as, soil protection, water conservation and ecosystem protection are one of the most important requirements of SFM. That is why the current forest management has been more concerned about *natural resources protection*. The document also alleges that Mediterranean forest is by their natural conditions destined to frequent fires and much attention is currently being paid to *fire prevention*. Sustainable management of forest ecosystems should prevent dangerous wildfires which are in that area a main problem. Each year in the Mediterranean basin, more than 50,000 fires burn between 600,000 and 800,000 ha (ORNAT, L. AND CORREAS E., 2003). However on the other side, the current forest management are not paying as much attention as it should to *management planning* and *rural developments* which are an important component of SFM.

MENDELNET 2010

That's probably because the Mediterranean area has to first resolve different kind of problems. A main problem of adaptation of the Spanish forest has its roots in their low productivity and in the generally small size of the forest private properties. The low productivity has caused a lack of management, so that most of the Spanish forest area does not have a forestry management plan. Lack of the legislation invokes negatives responses, such as demanding of economic compensation for the positive externalities or not very good work legislation which causes low value added products. Forest management requires long-term objectives, improve monitoring and assessment of forests and economic support to be sustainable. (TOLOSANA ET AL, 2004).

The trend in sustainable forest management appears to be a clearly positive opportunity for the Mediterranean forests. If the forest management improves then the management planning would become more sustainable and conclude environmental and rural requirements. Respondents consider that is necessary to focus on multifunctional use of forests to improve forest profitability. This is a new concept of sustainable development. Forest management should contribute to improve social and economic local conditions through creation of job opportunities, public participation processes, and so on.

In conclusion, forest management requires constant funding, and steady and flexible policies to build a new forest management models. Significant chances for SFM in the Mediterranean will come if forest planning chances change through the implementation of new strategies which focus in all forest goods and policies together with new guidelines. It is also suggested that the existence of the forest certification systems, are a chance for SFM since they define and promote it. Long-term studies are needed to establish the basis for the future development of an information system associated to the situation of the forest planning and the forest itself.



PHOTO: MEDITERRANEAN FOREST ECOSYSTEM

REFERENCES

EUROPEAN FOREST INSTITUTE, 2009. *A Mediterranean Forest Research Agenda – MFRA*. European Forest Institute, Mediterranean Regional Office (EFIMED), Barcelona (Spain).

CIM, 2002. *Manual de buenas prácticas forestales: la gestión sostenible de los bosques*. Colegio de Ingenieros de Montes (CIM), Ministerio de Medio Ambiente, Madrid.

CIM, 2006. Los sistemas de certificación forestal ¿Reflejo y garantía de progreso? *Revista del Colegio de Ingenieros de Montes*, 83: 9–11.

FAO, 1997. *Situation des foreÅts du monde*. Words and Publications, Oxford, UK, 200 pp.

FSC, 2009. *Antecedentes e historia del FSC*. Documentos de presentación de FSC-España

GÓMEZ OREA, 2002. *Evaluación de Impacto Ambiental*. Madrid (Spain).

ORNAT, L. AND CORREAS E., 2003. *Assessment and Opportunities of Mediterranean Networks and action plans for the Management of Protected Area*, UICN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.

TOLOSANA ESTEBAN, E.; AMBROSIO TORRIJOS, Y. Y VIGNOTE PEÑA, S., 2004a. Aspectos económicos de la certificación forestal, particularidades del sector (Parte I). *Revista del Colegio de Ingenieros de Montes*, nº 77: 33–35.

World Commission on Environment and Development-The Brundtland Commission, 1987. *Our Common Future*. Oxford University Press, Oxford. 400 pp.

OIL MINING IN SOUTHERN MORAVIA-CASE STUDY OF DAMBOŘICE

Lipovská Z., Kniezková T.

Department of Applied and Landscape Ecology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: zdenka.lipovska@mendelu.cz

ABSTRACT

Our objective was to describe oil mining in Southern Moravia and especially its influence on municipalities. The survey focused on the municipality of Dambořice which is the biggest site of oil mining in the Czech Republic. The methods of regional geography and terrain research were used from a methodological point of view. The photographic documentation was taken. The most important information was obtained through the mayor of Dambořice. Although the most visible effects of mining are negative environmental impacts, positive site of mining must be also remembered. Extraction means considerable development of surrounding municipalities because they obtain crucial financial support to their budget from mining companies,

Key words: oil mining, impact on municipalities, South Moravia

Acknowledgments: This paper was written as a part of project "Current Status and Trends of South Moravian Countryside" under the grant project from the Internal Grant Agency of the Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno TP6/2010 number. It follows an earlier project of the New Prosperity for Rural Regions (Research Support Scheme OSI / HESP), which were processed in the Southern region case studies Vranov / Kunstat Jemnice and Moravia. Projects are tackled in parallel "Development interests of the Czech borderlands" of the National Research Programme II of the Ministry of Education, Youth and Sports No. 2D06001 or project "Development of European rural regions in the era of globalization" 7 Framework Programme of the European Union.

ÚVOD

Ropa a zemní plyn patří dnes mezi stěžejní nerostné suroviny, které hýbou světovou ekonomikou. Ačkoliv tuzemská těžba ropy zajišťuje jen 2% její spotřeby, představuje pro Českou republiku velké bohatství a významný obchodovatelný materiál. Naprostá většina ropy se u nás těží díky svému geologickému podloží na jižní Moravě. Velmi omezené množství můžeme nalézt také na severní Moravě.

Historie těžby ropy na jižní Moravě sahá do počátku 20. století. V současné době se na našem území těží kolem 350 tisíc tun velmi kvalitní ropy, která je bez příměsi síry. Ložiska jsou vázána na moravskou část Vídeňské pánve a Středomoravské Karpaty. Nejvyšší podíl na produkci ropy mají dlouhodobě ložiska Dambořice, Uhřice a Žarošice (Smolová, Szczyrba, Jurek, 2007).

Díky novým objevům ložisek jsou v posledních letech schvalovány i nové dobývací prostory. Do konce roku 2009 bylo v rámci Jihomoravského kraje schváleno celkem 69 dobývacích prostorů ropy a zemního plynu o celkové ploše 78,9 km². Z toho jen v letech 2005 - 2009 jich bylo schváleno celkem 16 (celková plocha 8,9 km²) (dle údajů Státní báňské správy).

Největší a nejvýznamnější firmou v naší republice, která hledá nové ložiska ropy a zemního plynu, jsou Moravské naftové doly. Kromě hledání nových ložisek se zabývají jejich těžbou a podzemním skladováním zemního plynu.

Vlivy těžby, transportu, rafinace a spotřeby ropy jsou významné a rozsáhlé. Ropa je dnes, ať už se týče environmentálních vlivů na ekosystémy, kulturních vlivů na obyvatelstvo, zdravotních vlivů na pracovníky, globálních klimatických vlivů či válečných konfliktů, pravděpodobně nejkontroverznější a nejlivnější komoditou (O'Rourke, Connolly, 2003). V České republice není situace drastická, i přesto těžba ropy bezpochyby ovlivňuje nejen kvalitu životního prostředí, ale i okolní obce. Cílem této práce je vymezit a popsat tyto environmentální a socioekonomické vlivy.



Obr. č. 1 Těžba ropy v České republice (Zdroj: www.enviweb.cz)

MATERIÁL A METODIKA

Pro tuto práci byly použity metody regionální geografie. Došlo k prostudování příslušných literárních zdrojů a provedení terénního průzkumu katastrálního území Dambořice. Zde byla pořízena fotodokumentace. Studium archivní pramenů poskytlo řadu poznatků z oblasti historie těžby na jižní Moravě. Nejdůležitější informace byly získány prostřednictvím rozhovoru se starostou obce Dambořice. Situace těžby ropy a zemního plynu na jižní Moravě byla popsána na příkladu případové studie obce Dambořice.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Historie těžby ropy na jižní Moravě

První průzkumy zjišťující výskyt ropy v rámci dnešní České republiky byly prováděny na východní a severovýchodní Moravě koncem 19. století. Místa s výskytem studánek, kde samovolně vyvěrala ropa, byla známa například v okolí Halenkova, Malenovic, Nového Jičína, Frenštátu, Bojkovic a na dalších místech výběžků karpatského oblouku. Mezi nejvýznamnější naftové prospektory (průzkumníky, hledače nerostů) patřil Julius May, který od roku 1899 prováděl v Bohuslavicích nad Vlárrou a několika dalších místech na Uherskobrodsku průzkumné vrty. Množství ropy v těchto vrtech však nestačilo pro těžbu. Nová vlna naftových průzkumů zasáhla jižní Moravu po objevu ropy v Gbelích r. 1913 (první objev ropy na území vídeňské pánve) (Čižmář, 2004).

V roce 1916 zahájila průzkum vídeňská firma OPTEG. První hlubinný vrt na Moravě byl založen v Ratiškovcích v r. 1917. V témže roce vznikla Moravská těžařská společnost se sídlem ve Vídni. Ta začala těžit v roce 1919 při řece Moravě u hospodářského dvora Nesyt na jihozápadním okraji Hodonína (těžební pole Karel). Moravská těžařská společnost byla v roce 1921 přejmenována

na Naftové doly Nesyt, v roce 1922 získala povolení těžít v naftovém poli Augusta a o rok později koupila i kutiska v katastru obce Ratíškovice (Čižmář, 2004). Moravská naftová společnost vlastnila také mnoho dalších lokalit u Hodonína, Lužic, Těšic a Ratíškovic (Bednařkova 1984 in Sekanina, 2009). V roce 1925 MTS fúzovala s firmou Apollo. Celkem mělo Apollo v pronájmu stovky kutisek včetně lokalit u Ratíškovic, Kroměříže, Bzence a Vranovic (Čižmář, 2004). Za války spadala společnost Apollo pod německý koncern I. G. Faben (Bednařkova, 1984 in Sekanina, 2009). Němci za války věnovali průzkumu nafty velkou pozornost. Nová ložiska ropy a zemního plynu byla objevena na Novém poli u Hodonína, u Velkých Bílovic, u Lužic, Břeclavi, Podivína nebo Moravského Žižkova (Čižmář, 2004).

Po válce byla prostřednictvím Benešových dekretů většina německých naftařských společností znárodněna a od r. 1945 vznikl nový státní podnik Československé naftové doly s ředitelstvím v Hodoníně. V 50. letech pokračovaly objevy naftových a plynových ložisek (Čižmář, 2004). Vrtní práce se prováděly u Hodonína, Kostic, Lanžota, Lednice, Lužic, Ratíškovic, Vacenovic, Velkých Bílovic a od r. 1952 se těžilo v té době nejvýznamnějším ložisku u Poddvorova (Bednařkova 1984 in Sekanina, 2009).

Vrchol naftového průmyslu na jižní Moravě znamenal rok 1958, kdy zde fungovalo 45 vrtných souprav. V roce 1959 začalo být těženo největší československé ložisko nafty v Hruškách a tamtéž bylo v roce 1963 otevřeno největší ložisko plynu, které se po částečném vytěžení v roce 1972 stalo vůbec prvním podzemním zásobníkem plynu na území Československa (Čižmář, 2004).

Vznikem československé federace v roce 1968 se Československé naftové doly rozdělily na nově vzniklý národní podnik Moravské naftové doly Hodonín a národní podnik Slovenské naftové závody – Nafta Gbely (Holbein et al. 1984 in Sekanina 2009, Čižmář, 2004).

V roce 1971 byla zahájena těžba v Kobyli a v roce 1972 se začalo těžít kolem Ždánic a bylo zde objeveno 4 km dlouhé a 2 km široké ložisko. V roce 1977 byl zahájen provoz těžby plynu v Dolních Dunajovicích (Čižmář, 2004). Další ložiska objevená v 70. letech se nacházela kolem obcí Kožušice, Němčičky, Dolní Dunajovice (plyn, později zásobník plynu), Nikolčice, Uhřice. V 80. letech bylo objeveno přes deset ropných a plynových ložisek – Ivaň, Ježov, Kobeřice, Nový Přerov, Nové Mlýny, Pohofelice, Uhřice, Ždánice, Mistřín, Sedlec, Poddvorov (Đurica et al. 1991 in Sekanina, 2009). Téměř třetinu proudkce ropy představovala v polovině 80. let lokalita Týnec (Čižmář, 2004).

V roce 1986 bylo objeveno ropné ložisko Dambořice, které se velikostí geologických zásob ropy řadí mezi největší dosud objevená ložiska ropy v České republice. Ložisko je situováno na severovýchodním okraji Nesvačilského příkopu (Bittner, 2005).

Společnosti zabývající se těžbou ropy na jižní Moravě

Klíčovým těžařem ropy v České republice jsou Moravské naftové doly, a.s. Hodonín (dále MND, a.s.). Tato společnost vznikla v roce 1992 transformací ze státního podniku Moravské naftové doly Hodonín, s.p. V současné době jsou hlavními akcionáři společnosti SPP Bohemia, a.s. (51,84 %)

a EUROPGAS, a.s. (48,18 %) (Smolová, 2008). V roce 2003 tento podnik překonal těžební rekord v množství ropy vytěžené na území České i Československé republiky, když vytěžil 358 703 m³ ropy, což je navýšení vzhledem k předchozím rokům o několik desítek procent. Společnost MND, a.s. má v plánu během pěti let svou současnou roční těžbu 340 tisíc m³ ropy zdesetinásobit (Smolová, Szczyrba, Jurek, 2007).

Společnost MND, a.s. se v posledních letech zaměřuje především na odtěžování stávajících ložisek ropy a vyhledávání nových nalezišť s využitím nejmodernějších technologií. Podílí se také na těžbě zemního plynu, provozuje podzemní zásobníky plynu, podílí se na likvidaci starých ekologických zátěží a prostřednictvím své dceřiné společnosti MND Exploration & Production, Lt. (sídlo v Londýně) výrazně expanduje na zahraniční trhy (Smolová, 2008). Dceřiné společnosti úspěšně realizují společně s dalšími firmami těžbu zemního plynu v Pákistánu a společnost má aktivity také v Jemenu, Německu, Rumunsku, na Ukrajině nebo v Rusku (Smolová, Szczyrba, Jurek 2007).

Na těžbě ropy se také podílí Česká naftařská společnost s.r.o. Hodonín, která vznikla v roce 1996, jako česko-švýcarský podnik. Společnost vlastní pouze dva vrty na Břeclavsku, z nichž jeden je průzkumný a z druhého těží od roku 2003 (40 m³ ropy denně). V roce 2006 byl společností schválen nový dobývací prostor na ropu a zemní plyn Charvátská Nová Ves, v městské části Břeclavi, na levém břehu vodního toku Včelínek. Lokalita leží na okraji Lednicko-valtického areálu zapsaného na seznam UNESCO a na okraji ochranného pásma 2. stupně jímacího území Kančí obora, které slouží k zásobování Břeclavska pitnou vodou (Smolová, Szczyrba, Jurek 2007, Smolová, 2008).

Od roku 2004 těží ropu i společnost UNIGEO, a.s. (ročně okolo 1,5 tis. tun ropy), která mimo jiné spravuje průzkumná území pro vyhledávání a průzkum ropy a zemního plynu o celkové rozloze 820 km².

Další rozšiřování těžby na jižní Moravě často naráží na střety s ochranou přírody (např. v lokalitě Kančí obora na Břeclavsku) (Smolová, Szczyrba, Jurek 2007, Smolová, 2008).

Negativní environmentální vlivy těžby ropy

Těžba ropy a zemního plynu pomocí hlubinných vrtů má negativní vliv na všechny složky krajiny. Při výstavbě těžebních vrtů a přepravě ropy dochází ke znečištění ovzduší emisemi (CO₂, SO₂, prach). Také může dojít k úniku z plynové pumpy a separátorů. Emise z těžby jsou odhadovány na 0,05%. Ztráty při přepravě plynu plynovody se odhadují na 0,02%. Dále je těžba zdrojem hluku. Jedná se o hluk z vrtné soupravy (při vrtání vrtů), dopravy ropy a provozu kogeneračních jednotek. Hodnota okamžité krátkodobé akustické hladiny hluku všech agregátů na soupravě se činí asi 80 dB, v 50 m vzdálenosti klesá na 65 dB. Měřením hluku 5 m od kogenerační jednotky byla zjištěna akustická hladina hluku ve výši 77,1 dB. Vliv hluku z provozu na samotném vrtu je závislý na konfiguraci terénu a na ostatním hluku. Vodní zdroje mohou být ovlivněny při vrtání vrtů ztrátou výplachu do hominového prostředí a průsakem znečištěné vody z vrtného pracoviště. Povrchové vody i okolní půdy mohou být znečištěny ropou, pokud není plošina vyspádována a odizolována fólií a splachové vody nejsou zachyceny v jímkách, ale dostávají se do okolí.

Znečišťující může být i materiál použitý na podsyp plošin, který má často negativní vyluhové vlastnosti. Kvůli zvýšené frekvenci dopravy a práci na lokalitách vrtů (hluk, plynné a prašné emise) může docházet k narušení migrace živočichů během dne. Celkově však nemá těžba obvykle významné a nevratné následky na faunu a flóru ani ÚSES. Těžební činností ropy a plynu jsou zmenšovány zásoby nerostných surovin, které ale nemají na geologický systém prakticky žádný vliv. Na povrchu se neprojeví pokles pružné energie horského masivu v hloubce (Valčíek, 1998).

Jako důsledek dlouhodobé těžby ropy zbyly na Hodonínsku i na Břeclavsku staré ekologické zátěže v podobě nedostatečně zlikvidovaných sond a reliktvů po průzkumu a těžbě probíhající v letech 1925-1965. Celkem 462 kusů ropoplynových sond a s nimi souvisejících, kontaminovaných oblastí se nachází v katastrálních územích obcí Hodonín, Lužice, Tvrdonice, Kostice, Moravská Nová Ves a Týnec. Tyto ekologické zátěže se nachází i v oblasti NATURA 2000, biosférické rezervaci Dolní Morava a v oblasti s výskytem několika maloplošných chráněných území. Hrozí zde reálné riziko kontaminace povrchových i podzemních zdrojů pitné vody, a tím ohrožení horninového prostředí a přírodních ekosystémů. Nejzranitelnější je chráněná oblast přirozené akumulace vod „Kvartér řeky Moravy“, která se rozkládá na pravém břehu řeky Moravy až po hraniční tok (řeku Dyji) a zásoba pitné vody pro obyvatele okresů Hodonín a Břeclav (Palivový kombinát Ústí, s.p., 2009).

Od roku 1998, zejména po povodních v roce 1997, byly zahájeny práce směřující k postupné sanaci těchto objektů. Na likvidaci starých ropných zátěží se podílí Moravské naftové doly, a.s., Palivový kombinát Ústí, a v biosférické rezervaci Dolní Morava je likvidace spolufinancována z Operačního programu Infrastruktura (je jedním z 5 operačních programů České republiky, který podporuje projekty z resortu dopravy a životního prostředí, které mohou být spolufinancovány ze strukturálních fondů Evropské unie, a to konkrétně z Evropského fondu pro regionální rozvoj).

V případě těžby ropy a zemního plynu se objevují rozpory mezi zástupci obecní samosprávy, krajské samosprávy a samotných občanů diferencovaně podle regionů. Zatímco v případě těžby v obcích Ždánického lesa (např. Dambořice, Uhřice, Žarošice) si obyvatelé na těžbu ropy nestěžují a využívají bohatých příjmů plynoucích do rozpočtu obce, na Břeclavsku vznikají časté spory. Příkladem je spor v Břeclavi, kdy na jedné straně místní zastupitelstvo těžbu povolilo, i přes to, že těžba v lokalitě Kančí obora se střetává s vodohospodářskými zájmy regionu, na straně druhé Jihomoravský kraj stejně jako ochránci přírody poslal na MŽP ČR zamítavé stanovisko (Smolová, Szczyrba, Jurek, 2007).

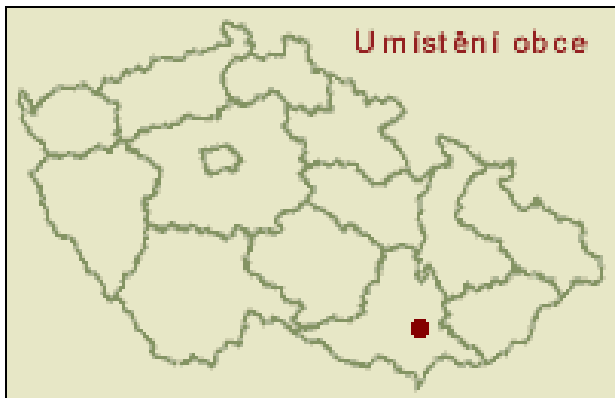
Případová studie Dambořice

Obec Dambořice

Obec Dambořice se nachází na jižní Moravě, v severozápadní části okresu Hodonín, ve vzdálenosti 36 km jihovýchodně od Brna. Obec má 1 338 obyvatel (k 1.1. 2009, ČSÚ). Patří ke starobylým osadám, první písemná zmínka o obci pochází z roku 1141. Dambořice jsou známé svým bohatým kulturním vyžitím (Martinské hody, Soutěžní festival folklórních souborů), vinnými sklepy, historickou židovskou obcí a v poslední době především těžbou ropy (tato oblast bývá často s trochou nadsázky nazývána moravský Dallas či malý Kuvajt).

MENDELNET 2010

Ropné ložisko Dambořice bylo objeveno v roce 1986 a velikostí geologických zásob ropy se řadí mezi největší dosud objevená ložiska ropy v České republice (Bittner, 2005). Ropa se zde těží od roku 1993.



Obr. č. 2 Lokalizace obce Dambořice (Zdroj: města.obce.cz)

Fotodokumentace obce Dambořice (Zdroj: Z. Lipovská)

Obr. č. 3 Pohled na obec



Obr. č. 4 Nové bytové jednotky



Obr. č. 5 Plošina s těžebními pumpami



Obr. č. 6 Rekonstruovaná návés



Obr. č. 1 Kozlík – Dambořice



Obr. č. 2 Zásobníky ropy Dambořice

Vliv těžby ropy na obec Dambořice

Ze socioekonomických vlivů převažují v obci Dambořice ty pozitivní. Negativa byla vnímána především při počátcích těžby, kdy nákladní vozy převážely přes obec tuny materiálů potřebných k přípravě těžebních polí. To se odrazilo na stavu místních komunikací a dokonce popraskalo zdivo některých domů. Těžařská firma Moravské naftové doly, a.s. však nechala většinu cest opravit a finančně se vyrovnala s majiteli poškozených domů.

Těžba je v obci vnímána pozitivně samozřejmě díky finančním prostředkům plynoucím do obecního rozpočtu. Obec získává jednak úhradu z dobývacího prostoru ve vymezení na povrchu v rozmezí 100 Kč až 1 000 Kč na hektar, odstupňovanou s přihlédnutím ke stupni ochrany životního prostředí dotčeného území, charakteru činnosti prováděné v dobývacím prostoru a jejímu dopadu na životní prostředí, kterou stanoví vláda nařízením. Dále získává 75% z roční úhrady z vydobytých nerostů (zbytek jde do státního rozpočtu ČR). Přičemž roční úhrada činí u ropy 5 %

z tržní ceny vydobytých nerostů. Rozhodující je průměrná tržní cena v roce, ve kterém byly nerosty vydobuty (Zákon č. 44/1988 Sb., o ochraně a využití nerostného bohatství).

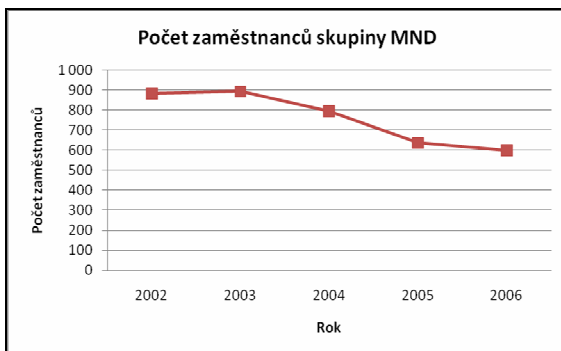
Tab. 1 Podíl příjmů z těžby ropy na celkových příjmech obce Dambořice (Zdroj: obec Dambořice)

Rok	Příjmy z těžby ropy	Celkové příjmy	Podíl příjmů z těžby ropy
2003	32 751 000	56 551 000	57,9 %
2004	35 000 000	57 254 000	61,1 %
2005	37 000 000	53 524 000	69,1 %
2006	44 269 000	77 872 000	56,8 %
2007	64 000 000	118 555 000	54,0 %
2008*	-	-	-
2009	55 000 000	115 662 500	47,6 %
2010	37 900 000	95 296 600	39,8 %

* Údaje za rok 2008 nejsou k dispozici.

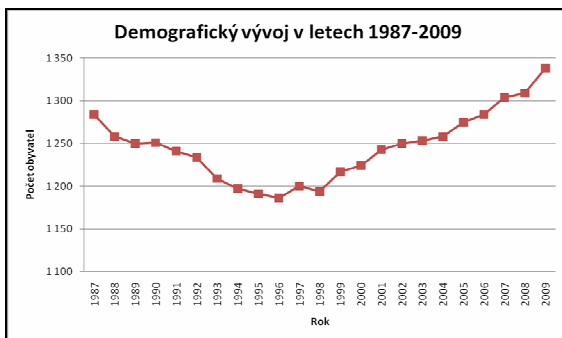
S přítokem peněz souvisí rozvoj obce. Dambořice mají dvakrát vyšší rozpočet než okolní obce podobné velikosti, kde se ropa netěží. To se výrazně odráží na vzhledu obce. Vidíme zde opravené chodníky i místní komunikace. Došlo ke kompletní rekonstrukci centra obce, obou místních škol, hasičské zbrojnice, oba kostelů. Nově byly postaveny tři bytové domy, multifunkční dům (s byty a prostorami k podnikání), kanalizace, čistírna odpadních vod, dětská hřiště a víceúčelové hřiště.

Dalším pozitivním faktorem těžby je tvorba pracovních míst. Přesný počet obyvatel Dambořic zaměstnaných v Moravských naftových dolech není k dispozici. Dle místního starosty, pana Josefa Kratochvíla, se dá odhadovat na 20 lidí, což představuje jen přibližně 2% obyvatel v produktivním věku. Vliv těžbařské společnosti na zaměstnanost obce tedy není příliš významný, navíc je celkový trend počtu zaměstnanců této společnosti klesající (viz graf č. 1).



Graf č. 1 Počet zaměstnanců skupiny MND (Zdroj: Výroční zprávy skupiny Moravské naftové doly, údaje za další roky společnost neposkytlá)

Pokud sledujeme vývoj počtu obyvatel Dambořic za poslední dvě dekády, je patrný přelom v polovině 90. let, kdy se úbytek obyvatel zastavil, a začalo docházet k přírůstku (viz graf č. 2). Tato skutečnost má s velkou pravděpodobností souvislost právě s těžbou ropy a rozvojem obce. Podle vyjádření starosty obce je i v současnosti velký zájem o stavební pozemky v katastru Dambořic. Za loňský rok bylo evidováno celkem 70 žádostí a obec má skoupenou dostatečně velkou plochu, aby mohlo být všem těmto žádostem vyhověno.



Graf č. 2 Demografický vývoj obce Dambořice v letech 1987-2009 (Zdroj: ČSÚ Praha)

ZÁVĚR

Bylo potvrzeno, že těžba ropy na Moravě, která byla zahájena již na konci 19. století, má velký potenciál. Ropa má vysokou kvalitu, která je srovnatelná se světem, protože obsahuje jen malé množství příměsí síry. Ročně se u nás vytěží mezi 300 - 400 tis. m³, což pokryje pouze nepatrnou část naší spotřeby a proto budeme i nadále nuceni ropu dovážet ze zahraničí. Ropa těžená v ČR se nevyužívá v energetice, ale v chemickém průmyslu, při výrobě léčiv, apod. V České republice se ropa nachází ve dvou oblastech: v karpatské předhlubni a vídeňské pánvi. Nejvýznamnější dobývací prostory se nacházejí v Dambořicích, Uhrčicích a Žarošicích. Některá již vytěžená ložiska byla přestavěna na podzemní zásobníky plynu (Dolní Dunajovice, Dolní Bojanovice, Uhřice, Janovice, Štramberk a Tvrdonice).

Nejvýznamnější českou těžební společností jsou Moravské naftové doly, a.s. Hodonín., která se snaží expandovat také do zahraničí. Jejich cílem jsou oblasti Blízkého východu, severu Afriky, zemí bývalého Sovětského Svazu a také Evropa. Vynakládají značné investice do průzkumu a vyhledávání nových ložisek. Nyní těží komerčně zemní plyn v Pákistánu a mají podíly na průzkumných licencích v Pákistánu, Jemenu, Ruské federaci, Německu a Rumunsku. V ČR těží z 21 ložisek a průzkumné práce provádí na dalších 3 ložiscích.

Těžba ropy má celou řadu negativních i pozitivních dopadů na oblasti, nacházející se v okolí dobývacích prostorů. Pozitivně se odráží na rozvoji okolních obcí, negativně na životním prostředí.

LITERATURA

Bittner R. (2005): DTM Dambořice. 44. ročník symposia *Hornická Příbram ve vědě a technice: Sekce S Podzemní stavitelství, průzkum a těžba ropy a zemního plynu* [online]. Příbram : Hornická Příbram, 12. října 2005 [cit. 2010-07-29]. Dostupné z WWW: <<http://slon.diamo.cz/hpvt/>>.

Čižmář Z. (2004): *90 let tradice: Moravské naftové doly*. Hodonín : Moravské naftové doly, a.s. 54 s.

O'Rourke D., Connolly S. (2003): Just Oil? The Distribution of Environmental and Social Impacts of Oil Production and Consumption. *Annual Review of Environment and Resources*

Annu. Rev. Environ. Resourc. 28:587-617. Vol. 28: 587-617.

Palivový kombinát Ústí, s.p. (2009): *Současnost - lokalita Hodonín* [online]. Ústí nad Labem : Palivový kombinát Ústí, s.p. [cit. 2010-09-18]. Dostupné z WWW: <<http://www.pku.cz/pku/site.php?location=3&type=mnd&page=1>>.

Sekanina Z. (2009): *Historie a současnost těžby ropy na jižní Moravě*. Olomouc. 65 s. Bakalářská práce. Univerzita Palackého v Olomouci.

Smolová I. (2008): *Těžba nerostných surovin na území ČR a její geografické aspekty*. Olomouc : Univerzita Palackého v Olomouci. 195 s. ISBN 978-80-244-2125-4.

Smolová I., Szczyrba Z., Jurek M. (2007): *Současné trendy ve vývoji těžby nerostných surovin v ČR. Geografická revue.* 3, 1, s. 130-148.

Valíček S. (1998) *Vliv těžby ropy a plynu na životní prostředí. Zpravodaj EIA* [online]. 1998, 2, [cit. 2010-08-03]. Dostupný z WWW: <<http://www.mzp.cz/osv/edice.nsf/doc/B18C18B302379CCCC1256FC000407A70>>.

Zákon č. 44/1988 Sb., o ochraně a využití nerostného bohatství, (horní zákon), ve znění zákona ČNR č. 541/1991 Sb., zákona č. 10/1993 Sb., zákona č. 168/1993 Sb., zákona č. 132/2000 Sb., zákona č. 258/2000 Sb., zákona č. 366/2000 Sb., zákona č. 315/2001 Sb., zákona č. 61/2002 Sb., zákona č. 320/2002 Sb., zákona č. 150/2003 Sb., zákona č. 3/2005 Sb., zákona č. 386/2005 Sb., zákona č. 186/2006 Sb., zákona č. 313/2006 Sb., zákona č. 296/2007 Sb., zákona č. 157/2009 Sb., zákona č. 227/2009 Sb. (účinnost od 1.7.2010) a zákona č. 281/2009 Sb. (účinnost od 1.1.2011).

RESEARCH INTO THE USE OF BIODEGRADABLE WASTE

Mrkvica M.

Department of Applied and Landscape Ecology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xmrkvica@node.mendelu.cz, michal.mrkvica@sita.cz

ABSTRACT

A topic of biodegradable wastes is becoming very discussed in this time. The reason is changes in legislation EU, which indicates direction of the end of biological waste storage to a dump in last years. At waste treatment there are more possibilities of utilisation of biodegradable wastes. Decision depends on many factors. The most important are financial possibilities of a waste author and a type of biodegradable waste. After the most suitable technology determination it is necessary to apply the right process and keep to the terms. Correctly biodegradable waste utilize can be found in effective combination of two or more different technologies.

Key words: biodegradable waste, waste, composting, biogas, biogas plant, biomass combustion

ÚVOD

ZÁKLADNÍ POJMY TÝKAJÍCÍ SE BIOLOGICKY ROZLOŽITELNÝCH ODPADŮ

Téma biologicky rozložitelných odpadů se stává v poslední době značně diskutovatelným. Je to zejména díky nově vydané legislativě EU která v posledních letech udává směr konce ukládání odpadů biologického charakteru na skládku.

Biologicky rozložitelný odpad (BRO)

Biologicky rozložitelné odpady se označují zkratkou „BRO“ a §33a zákona o odpadech BRO definuje jako jakýkoli odpad, který podléhá aerobnímu nebo anaerobnímu rozkladu.

Biologicky rozložitelný komunální odpad (BRKO)

Biologicky rozložitelný odpad, který je obsažen v komunálním odpadu. Mezi tyto odpady patří separovaný odpad z domácností a zahrad, dále odpady z veřejné zeleně, z tržišť a odpady z kuchyní a stravoven. (1)

Kompostování

Aerobní proces, při němž se činností mikro a makro organismů za přístupu vzduchu přeměňuje využitelný bioodpad na stabilizovaný výstup – kompost.

Anaerobní digesce

Řízený a kontrolovatelný mikrobiální mezofilní nebo termofilní rozklad organických látek bez přístupu vzduchu v zařízení bioplynové stanice za vzniku bioplynu, digestátu nebo rekultivačního digestátu.

Vytříděný kuchyňský odpad z kuchyní, jídelen a stravoven

Odpad pouze rostlinného charakteru (například zbytky zeleniny a ovoce), který nepřišel do kontaktu se surovinami živočišného původu (například se syrovým masem, syrovými produkty rybolovu, syrovými vejci nebo syrovým mlékem). (2)

MATERIÁL A METODIKA

MOŽNOSTI ZPRACOVÁNÍ BIOLOGICKY ROZLOŽITELNÝCH ODPADŮ

Při zpracování bioodpadu se nabízí několik možností více či méně efektivního využití. Rozhodnutí závisí na mnoha faktorech. Nejdůležitější jsou finanční možnosti původce odpadu a druh bioodpadu. Správné využití bioodpadu se může mnohdy nacházet v efektivní kombinaci dvou nebo více různých technologií.

1) Energetické využití spalováním

Tato možnost v sobě skrývá zcela jistě mnoho výhod. Vytápění objektů biomasou zažívá v poslední době silný rozvoj. Při použití moderních kotlů se spalováním dřevoplynu lze tuto technologii

považovat za ekologickou, při využití pelettek lze dokonce hovořit o plně automatickém provozu. V neposlední řadě je to jedna z nejlépejších možností vytápění. Přes tyto nesporné výhody je technologie spalování biomasy ovlivněna mnoha negativními faktory. Je to především výběr vhodného typu biomasy. Omezuje se na materiály s vysokým obsahem sušiny a nízkým obsahem škodlivin (například síry). Přímé spalování je vhodné u materiálů s obsahem sušiny od 70 do 100 %. Spalováním však vznikají jednak skleníkové plyny (CO_2 , NO_x), jednak popel, jenž vyžaduje další likvidaci. (3)

Z hlediska energetického využití jde v podmínkách České republiky většinou o dřevo (či jeho odpad), slámu a jiné zemědělské zbytky a exkrementy užitkových zvířat, či o energeticky využitelný komunální odpad nebo plynné produkty odpadající při provozu čistíren odpadních vod.

V zásadě existují dva typy základních procesů:

- suché procesy
- mokré procesy

Nejčastěji přicházejí v úvahu přímé spalovací procesy vlastní primární biomasy (např. spalování dřeva), nebo spalování produktů mokrych nebo suchých procesů (bioplyn, dřevoplyn). Může se jednat o širokou škálu konkrétních zařízení, jako jsou např.:

- kotle na přímé spalování biomasy (v jakékoliv formě) na výrobu teplé nebo horké vody
- kotle na výrobu páry v eventuelní kombinaci s parní turbínou
- zplyňovací zařízení v kombinaci s kotlem nebo kogenerační jednotkou (spalovací motor nebo turbína)
- kogenerační jednotka (spalovací motor nebo turbína) na využití bioplynu
- a podobně, vč. různých kombinací.(3)

2) Kompostování

Kompostování je technologií nabízející zpracování odpadní biomasy nejjednodušší a nejlevnější cestou. K jejím hlavním nevýhodám patří absence jakéhokoliv přímého energetického zhodnocení.

Základy kompostování

Hlavní podmínky pro urychlení celého procesu lze shrnout do následujících bodů:

- volba správného surovinového složení zakládky kompostu
 - výběr vstupních surovin,
 - příprava surovin do zakládek kompostu,

- sledováním procesních podmínek
 - měření fyzikálně-chemických vlastností (teplota, vlhkost, stupeň provzdušnění apod.)
- využívání zařízení zajišťujících vhodné procesní podmínky
 - provzdušňování a promíchávání kompostu – překopávání,
 - úprava vlhkosti kompostu,
 - přikrývání kompostu kompostovací plachtou (mikroklima v hromadě).

Při dodržování uvedených podmínek lze předpokládat, že se doba zrání kompostu při živelném průběhu (neřízeného procesu), která je 3 – 6 měsíců a o jejíž délce rozhoduje zejména surovinová skladba, homogenita surovin v hromadě a např. i roční období, výrazně urychlí. Kompostovací proces (řízený), kdy je každý zásah přesně načasován a má své opodstatnění, proběhne za dobu 6 - 8 týdnů.

Surovinová skladba zakládky kompostu

Jedním ze základních předpokladů pro správný průběh kompostování je vhodný výběr surovin do zakládky kompostu. Optimální surovinovou skladbu ovlivňuje celá řada faktorů, přičemž největší význam má správný poměr uhlíku a dusíku (poměr C:N) a počáteční vlhkost.

Poměr C:N u čerstvě založeného kompostu by se měl pohybovat v rozmezí (20 - 40) : 1 v lepším případě (30 - 35) : 1. Spolu s hodnotou poměru C:N je třeba zaručit počáteční vlhkost v rozmezí 50 - 60 %.

Příprava vstupních surovin

Aby bylo možné kompost založit podle receptury optimální surovinové skladby, musí být zpracovávány suroviny, které budou splňovat alespoň základní požadavky pro kompostování. Proto musí být věnována pozornost přípravě zakládaných surovin, případně i jejich vhodnému uskladnění před samotným založením do kompostovaných hromad.

Příprava zahrnuje procesy, které vedou k dosažení optimální velikosti částic, rovnováhy živin a obsahu vlhkosti vstupních surovin v rozmezí 50 až 60 % pro podporu mikrobiální aktivity.

Zejména dřevní biomasa, zakládaná do kompostovaných hromad, vyžaduje pro snadnější promíchání a homogenizaci kompostovaných surovin rozmělnění či rozdrčení (jemnou desintegraci).

Sledování procesních podmínek

Zabezpečení optimálních podmínek pro existenci a činnost mikroorganismů je základní podmínkou pro správný průběh kompostovacího procesu a dosažení požadované kvality výsledného produktu.

Optimální podmínky pro mikroorganismy lze zajistit monitorováním určitých fyzikálních, chemických a mikrobiologických vlastností zpracovávaných surovin a řízením celého procesu.

Aerobní mikroorganismy potřebují pro svoji činnost kromě živin i dostatek vlhkosti a vzdušného kyslíku. Zakládka kompostu proto musí splňovat předpoklady pro možnost výměny plynů mezi kompostovanými surovinami a okolím. Musí být porézní a kyprá, nesmí být ani příliš suchá, ani příliš převlhčená. Na vlhkost zakládky má vliv i složení a struktura kompostovaných surovin, zejména jejich pórovitost. (4)

Vliv teploty: Po založení kompostu dochází v krátkém čase k vzestupu teplot uvnitř zakládky, což signalizuje vhodné podmínky pro rozvoj mikroorganismů. Rozklad materiálu se rozděluje do tří fází:

1. Fáze rozkladu
2. Fáze přeměny
3. Fáze výstavby (syntézy)

ad 1) Fáze rozkladu

Tato fáze trvá asi tři až čtyři týdny, teplota stoupá podle výchozího materiálu na 50 až 70 °C. Je to činnost milionů bakterií a hub, které rozkládají lehce rozložitelné sloučeniny, jako jsou např. cukry, bílkoviny a škrob. Konečným produktem jsou malé "stavební kameny" - např. dušičnany, oxid uhličitý, čpavek, aminokyseliny a polysacharidy. Živiny, které jsou vázány v organické hmotě, se tak uvolňují a zčásti přecházejí až do původní minerální formy. Tento proces se proto nazývá také jako "mineralizace".

ad 2) Fáze přeměny

Trvá od čtvrtého až do osmého respektive desátého týdne. Teplota začíná opět klesat, mineralizované živiny jsou jako základní kameny zabudovány do "humusového komplexu". Kompost získává stejnoměrně hnědou barvu, drobtovitou strukturu.

ad 3) Fáze syntézy (zralosti)

Když je kompost ponechán ještě déle, získává stále více zemitou strukturu. "Živý humus" se přeměňuje na "trvalý humus", hnojařský účinek je slabší (živiny jsou pevněji vázány), účinnost humusu se však zvyšuje.

Většina mikroorganismů v organickém materiálu je mezofilních (optimální teplota jejich rozvoje je 20-30 °C). Avšak až při vyšších teplotách začíná převažovat skupina termofilních aerobních mikroorganismů, které jsou pro správný průběh kompostování nezbytné. Optimální výše této teploty se pohybuje v rozmezí 45-65 °C.

Tato teplota zaručuje likvidaci klíčivosti semen plevelů, patogenních mikroorganismů apod.

Poměr C:N

Tento důležitý parametr určuje pravděpodobnou rychlost rozkladu organických zbytků. Optimální hodnota tohoto poměru se pohybuje (20-30):1 u zralého kompostu (vysoká stabilita).

Při poměru menším než 15:1, bude rozklad rychlý, ale dusík se může ztrácet jako amoniak, protože množství dusíku převažuje metabolickou potřebu mikroorganismů. Hmoty s poměrem C:N nad 50:1 se rozkládají pomalu, prodlužuje se zrání kompostu. Pro čerstvě založený kompost složený z převážné části ze zbytkové biomasy je vhodný poměr C:N= (30-35):1. Vzhledem k tomu, že u travní biomasy se C:N pohybuje kolem hodnoty 20:1 je třeba materiálovou skladbu doplnit komponenty se širokým poměrem C:N (piliny, sláma).

Vlhkost a provzdušňování

S obsahem organické biomasy v kompostu zpravidla stoupá i pórovitost, a tím i požadavek na vyšší vlhkost. V průběhu zrání se snižuje pórovitost a klesá požadavek na vlhkost. Avšak vzhledem k tomu, že se v průběhu kompostování část vody odpařuje, je v některých případech nutno upravovat vlhkost v průběhu zrání přidáváním dalších tekutin.

Hodnota pH

Optimální hodnota pH u čerstvého kompostu se pohybuje v rozmezí 6-8, protože většina mikroorganismů vykazuje nejpříznivější rozvoj a aktivitu právě v tomto rozmezí. (5)

Základní typy kompostování

Domácí kompostování

Nejjednodušší a nejlevnější zpracování bioodpadu. Odpad se zpracuje přímo u zdroje, není nutná žádná další manipulace. Zpracovatel pro svoji potřebu získává kvalitní hnojivo – kompost. Pro sběr kuchyňského odpadu a odpadu z údržby domácí okrasné zeleně je vhodný uzavřený kompostér. V uzavřeném kompostéru je kompost chráněn a lze dosáhnout kvalitní hygienizace. Musí se však hlídat, aby byl materiál v kompostéru dostatečně vlhký a provzdušněný.

Komunitní kompostování

Uplatňuje se tam, kde je určitá komunita občanů, kteří nemají možnost domácího kompostování. Při vhodně zvolené poloze kompostoviště se jedná o jednoduchý a levný způsob zpracování bioodpadu. Větší kumulace odpadu může usnadnit, urychlit a zkvalitnit kompostovací proces.

Komunální kompostování

Zpracování bioodpadu řeší obec. Způsob zpracování je dán místními podmínkami, které mají rovněž vliv na systém sběru a svoz bioodpadů. Vznikají náklady spojené s manipulací a se zpracováním bioodpadu. Tyto náklady se většinou pokryjí úsporou, která vzniká odděleným zpracováním bioodpadu. Odpadají totiž vysoké poplatky za skládkování nebo spalování. Vzniká kompost, který se využívá například pro obnovu a údržbu veřejné zeleně.

Při vermikompostování se využívá schopnosti žízála přeměňovat rostlinné zbytky na velmi kvalitní organické hnojivo - vermikompost. Tento způsob kompostování ocení lidé, kteří nemají vlastní zahradu, na které by mohli kompostovat. Vermikompostér lze umístit na balkon, na terasu, do garáže nebo do předsíně. Při dodržování správných zásad vermikompostování obsah kompostéru nezapachá. (1)

Nejdůležitější přínosy kompostování jsou:

- efektivní využití odpadní biomasy,
- zabezpečení koloběhu uhlíku v přírodě,
- upevnění vazby dusíku,
- proces obnovy a zlepšení půdní úrodnosti,
- komerční využití odpadů,
- hygienizace prostředí

V dnešní době nelze omezovat kompostování na technologii používanou výhradně v zemědělství. Tato technologie splňuje veškeré předpoklady pro její využití také v odpadovém hospodářství. (3)

3) Anaerobní fermentace

Tato technologie nabízí jedinečnou možnost výroby bioplynu a kvalitního hnojiva zároveň. Pro zpracování bioplynu se nabízí mnoho možností, jako nejvýhodnější se ale ukazuje spalování v kogenerační jednotce (současná výroba tepla a elektrické energie). Technologie anaerobní fermentace ale naráží na několik problémů. Je technicky velmi náročná a tudíž ekonomicky nejistá (od reaktorů, dopravních zařízení až po zařízení na čištění bioplynu). Vhodné materiály jsou odpady z živočišné výroby, organické komunální odpady, organické odpady z potravinářské výroby a další s obsahem sušiny od 3 do 30 %. Vhodnou kombinací materiálů lze tyto meze rozšířit od 0 do 50 % sušiny.

Základy anaerobní fermentace

Anaerobní fermentace organických materiálů- metanizace - je souborem na sebe navazujících procesů, při nichž směsná kultura mikroorganismů postupně rozkládá biologicky rozložitelnou organickou hmotu bez přístupu vzduchu. Na tomto rozkladu se podílí několik základních skupin anaerobních mikroorganismů, kde produkt jedné skupiny se stává substrátem skupiny druhé a proto výpadek jedné ze skupin má za následek narušení celého systému. Konečnými produkty jsou vzniklá biomasa, plyny (CH_4 , CO_2 , H_2 , N_2 , H_2S) a nerozložitelný zbytek organické hmoty, který je z hlediska hygienického a senzorického stabilizován.

Proces je rozdělen na 4 fáze (stadia rozkladu):

hydrolyza- přítomné anaerobní bakterie, ještě nikoli metanové bakterie, přeměňují makromolekulami rozpuštěné i nerozpuštěné organické látky (bílkoviny, polysacharidy, tuk, celulózu) pomocí extracelulárních hydrolytických enzymů, produkovaných fermentačními bakteriemi, na nízkomolekulární látky (monosacharidy, aminokyseliny, mastné kyseliny, voda) rozpustné ve vodě.

acidogeneze- v této "kyselé" fázi jsou rozkládány produkty hydrolyzy na jednodušší organické látky (kyseliny, alkoholy, CO₂, H₂). Fermentací těchto látek se tvoří řada konečných redukováných produktů, které jsou závislé na charakteru původního substrátu a podmínkách prostředí. Při nízkém parciálním tlaku vodíku jsou produkovány kyselina octová, CO₂ a H₂ při vyšším jsou tvořeny vyšší organické kyseliny, kys.mléčná, ethanol apod.

acetogeneze- probíhá oxidace produktů acidogeneze na CO₂, H₂ a kyselinu octovou, která je také tvořena acetogenní respirací CO₂, H₂ homoacetogenními mikroorganismy. Účast těchto mikroorganismů produkujících vodík je nezbytná, poněvadž rozkládají kyselinu propionovou a ostatní organické kyseliny vyšší než octovou, alkoholy a některé aromatické sloučeniny. Jsou zde zastoupeny i minoritní skupiny organismů (sulfátoreduktanty, nitrátoreduktanty) produkující vedle kyseliny octové a vodíku také sulfan a dusík.

metanogeneze- je poslední fází procesu obsahující metanogenní organismy, které rozkládají některé jednodušší látky (metanol, kyselina mravenčí, metylamin, CO₂, H₂, CO) a kyselinu octovou. Jsou nejdůležitější trofickou skupinou, mají specifické požadavky na substrát i životní podmínky a vedle acetogenů zpracovávajících kyselinu propionovou se často stávají limitujícím faktorem celého procesu. Podle specifiky substrátu je lze rozdělit na pouze hydrogenotrofní nebo pouze acetotrofní,

Působením Acetotrofních metanogenních bakterií vzniká více než 2/3 CH₄ v bioplynu. Rozkládají kyselinu octovou na směs metanu a CO₂. Jsou schopny udržovat pH fermentačního média, protože odstraňují kyselinu octovou a produkují CO₂. Ve srovnání s druhou skupinou pomaleji rostou (generační doba několik dní).

Hydrogenotrofní metanogenní bakterie produkují metan z CO₂ a H₂. Rostou poměrně rychle, jejich generační doba je cca 6 hodin. V anaerobním procesu působí jako samoregulator. Odstraňují z procesu vodík, jehož koncentrace by měla být při dobré činnosti organismů minimální. Vodíkem jsou nejvíce ovlivňovány acetogenní bakterie rozkládající kyselinu propionovou a máselnou. Pro tyto organismy je přítomnost hydrogenotrofních organismů životně důležitá.(6)

Faktory limitující anaerobní procesy a jejich technologický význam

Anaerobní rozklad organických látek je ovlivňován řadou faktorů, které buď ovlivňují prostředí mikroorganismů, nebo hrají roli při návrhu reaktoru.

Vliv teploty:

Ovlivňuje rychlost anaerobního rozkladu. V zásadě platí: čím vyšší je teplota, tím vzrůstá rychlost všech probíhajících procesů. Tvorba metanu probíhá v širokém rozmezí teplot (od 5°C do 95°C).

V praxi však většina anaerobních reaktorů pracuje v oblastech mezofilních teplot tj. při 30-40°C, a v menší míře v oblastech termofilních teplot tj. 45-60°C. Obecně můžeme říci, že čím je teplota vyšší, tím jsou bakterie citlivější na teplotní výkyvy, zejména jsou-li výkyvy krátkodobé a teplota klesne. Zatímco v mezofilní oblasti bakterie výkyvy teplot 2-3°C ještě zvládnou, tak v termofilní oblasti by výkyvy neměly být větší než 1°C. Při přechodu na jinou teplotu je nutná dlouhodobá adaptace biomasy.

Vliv pH:

Hodnota pH je závažný limitující faktor procesu, který je důležitý pro růst metanogenních bakterií. Většinou je nutné udržovat hodnotu pH v neutrální oblasti mezi 6,5 - 7,5, pod pH 6 a nad pH 8 je činnost mikroorganismů silně inhibována. U kejdy a hnoje tento stav nastává většinou samovolně ve 2. fázi procesu vlivem tvorby amoniaku. Nejčastější příčinou výkyvu pH je pokles vlivem přetížení reaktoru, kdy je produkce kyselin rychlejšími mikroorganismy vyšší než jejich spotřeba a dochází k jejich akumulaci v systému. Proto je nutné řídit zatížení podle množství a složení mastných kyselin v médiu, aby nedošlo ke zhroucení procesu nebo udržovat dostatečnou neutralizační kapacitu přidáním alkalizačních činidel.

Přítomnost nutrietů:

Pro zpracování a provoz reaktorů je nutný správný poměr N a P k organickým látkám. Potřebný poměr živin se udává jako CHSK: N: P v rozmezí od 300 : 6,7 : 1 až 500 : 6,7 : 1. Vedle dusíku a fosforu je žádoucí přítomnost řady mikronutrientů - Na, K, Ca, Fe, S, Mg, Se, W. Poslední výzkumy ukazují, že některé stopové prvky (Ni, Co, Mo) zvyšují metanogenní aktivitu.

Přítomnost toxických a inhibujících látek:

Za toxické nebo inhibující považujeme látky, které nepříznivě ovlivňují biologický proces. Nejčastěji se setkáváme s inhibičními účinky amoniaku a nižších mastných kyselin, jejichž tvorba je závislá na pH procesu.(7)

4) Další možnosti

Další možnosti zpracování odpadní biomasy jsou

- zplyňování,
- pyrolýza,
- alkoholové kvašení.

Veškeré tyto technologie jsou velmi náročné na technické zázemí. Vznikají specifické produkty s jednoúčelovým využitím. Tyto technologie jsou vhodné pouze pro určité technicko-ekonomické podmínky, zejména při produkci velkého množství stále stejného materiálu (například v potravinářství).(3)

LITERATURA

- (1) www.ekodomov.cz
- (2) Metodický návod o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady podle stávajících právních předpisů
- (3) <http://www.waste.cz/waste.php?clanek=09-04/uvod09-04.htm> (Ing. Jan Štykar)
- (4) <http://www.vuzt.cz/doc/clanky/zivotniprostredi/VUZT14Kompost.pdf?menuid=150>, Petr Plíva Ing., CSc., Mária Kollárová Ing. Ph.D.
- (5) KÁRA, Jaroslav, PASTOREK, Zdeněk, JELÍNEK, Antonín: Kompostování zbytkové biomasy. Biom.cz [online]. 2002-01-31 [cit. 2009-10-26]. Dostupné z WWW: <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/kompostovani-zbytkove-biomasy>>. ISSN: 1801-2655.
- (6) STRAKA F. a kol. autorů: Bioplyn, GAS s.r.o., Říčany 2003, ISBN 80-7328-029-9
- (7) energie z biomasy III, seminář Brno 2004, Ing. Michal Žídek

SEASONAL VARIABILITY OF WINDBREAK EFFECTIVITY AND THEIR OPTICAL POROSITY

Mužíková B., Jareš V.

Institute of Applied and Landscape Ecology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: bronislava.muzikova@uake.cz

ABSTRACT

The aim of this study was to prove seasonal changes in effectivity and optical porosity of chosen windbreak in erosion endangered localities in south Moravia. The measurement took place on three localities from spring to autumn 2010; this paper presents results from one locality. We measured wind speed in front of windbreak and behind windbreak (formed by hardwood species) in certain distances in spring (slight foliage), summer (full foliage) and at the beginning of autumn (falling leaves). The effectivity of windbreak in the distance 50 m from windbreak varied between 52% in April and 72% in May. In the distance 100 m from windbreak the effectivity varied between 49% (April) and 69% (May). Optical porosity was evaluated on digital photos. The pictures chart the permeability changes observed during the period. Changes of permeability were evaluated at different heights of windbreaks. The highest values of porosity were observed in spring, lowest in summer. Optical porosity values in autumn show an increasing trend. Our evaluation method can discover places in windbreaks, that are interrupted or in which are the gaps throughout the year. The results can be used for planning of windbreak permeability and for management of windbreaks.

Key words: wind erosion, optical porosity, windbreak effectivity

Acknowledgments: This article could be written thanks to support from internal grant of Mendel University in Brno No. IP 15/2010 „Optical porosity utilization for validation of method of evaluation and categorisation of shelterbelts“.

ÚVOD

Větrná eroze představuje v České republice poměrně velké nebezpečí, a to zejména pro nejúrodnější oblasti, kde je zemědělská půda náchylnější díky přítomnosti velkých pozemků i nevhodným osevním postupům. Vyskytuje se buď jako eroze saltací, kdy vítr přenáší půdní částice na kratší vzdálenosti skoky nebo válením po povrchu, nebo ve formě prашných bouří, kdy vítr částice transportuje i desítky kilometrů, kde poté dochází k jejich sedimentaci. Eroze větrná u nás představuje plošně menší riziko než eroze vodní, nikoli však zanedbatelné. Na Moravě je větrnou erozí ohroženo asi 40 % a v Čechách 23 % zemědělské půdy (Pasák, 1984).

Intenzitu větrné eroze ovlivňují klimatické faktory (směr a rychlost proudění vzduchu, atmosférické srážky, teplota a vlhkost vzduchu, výskyt záporných teplot), půdní a geologické faktory (geologická skladba území, velikost a tvar půdních částic, vlhkost půdy, půdní struktura, mechanická stabilita půdy), vegetační faktory (vegetační kryt, posklizňové zbytky), geomorfologické faktory (tvar a rozmístění svahů, výskyt rovin a závětrných lokalit) a také antropogenní faktory (délka a orientace pozemků, způsob hospodaření, závlahy). Stanovení potenciální ohroženosti území větrnou erozí je složitější než u eroze vodní. Ačkoli existuje několik algoritmů výpočtů, zpravidla vycházejí jen z dílčích činitelů podléhajících se na vzniku větrné eroze.

Větrná eroze působí škody rozrušováním půdního povrchu mechanickou silou větru, odnášením rozrušovaných půdních částic větrem a ukládáním těchto částic na jiném místě. Tento proces způsobuje škody jak v zemědělství odnosem ornice, hnojiv, osiv a poškozováním zemědělských plodin tak i např. zanášením komunikací a vodních recipientů. Má také negativní dopady na lidské zdraví (poléťavý prach).

Rozvoji větrné eroze napomáhají rozsáhlé půdní celky, nedostatek krajinné zeleně a pěstování plodin nedostatečně kryjících půdu. Vyskytuje se hlavně v sušších a teplejších klimatických oblastech s lehkými půdami.

V oblasti jižní Moravy se vyskytují škody větrnou erozí každoročně s malým účinkem. Výrazné škody se opakují po čtyřech až šesti letech (Pasák, 1984). Z hlediska ohroženosti půd větrnou erozí je nejvýznamnější jarní a podzimní období (vyskytují se erozně nebezpečné větry, větrolamy mají nízký ochranný účinek a půda je často bez ochranného vegetačního pokryvu). Jako jarní období je označováno období od března do května, jako podzimní období od září do listopadu.

K nejúčinnějším opatřením proti větrné erozi patří ochranné lesní pásy – větrolamy. Jejich protierozními účinky, a to hlavně redukcí rychlosti větru, se v podmínkách ČR zabývala např. Dufková (2007). Větrolamy ovlivňují také mikroklima a evapotranspiraci v jejich okolí (Cleugh, 2002). Jsou důležitým biotopem rostlin a živočichů v intenzivní zemědělské krajině.

Měření rychlosti větru u větrolamů resp. účinku větrolamu na snížení rychlosti větru na závětrné straně ve světě není příliš často prováděno přímo v terénu. Mnoho výzkumů je prováděno pomocí modelů (Vigiak et al, 2003). Experimenty ve větrných tunelech prováděli např. Raine a Stevenson (1977), Torita a Satou, (2007), Guan, Zhang a kol. (2003), Cleugh (2003), Pasák (1970) za účelem popisu aerodynamiky větrolamů a poznání vlivu větrolamu na proudění větru. Další autoři jako např. Dufková, Rožnovský a kol. (2006), Dufková a Podhrázká (2006), Tippl, Bohuslávek a kol. (2007) prováděli přímá měření větru anemometry v terénu. Práce těchto autorů sloužila většinou k popisu změny proudění větru ovlivněného porézní vegetační překážkou tj. větrolamem. Získání výsledků z měření však také vyústilo v další problém a to sice ve způsobu kvantifikace porozity větrolamu. Větrolam (ve smyslu pásu vegetace) je totiž co do jeho porozity velmi heterogenní, těžko popsatelnou strukturou.

Skutečná (aerodynamická) porozita větrolamu, je Litschmannem a Rožnovským (2005), Guanem, Zhangem a kol. (2003) definována jako poměr mezi průměrnou rychlostí větru naměřenou na návětrné straně větrolamu a průměrnou rychlostí na volném prostranství. Litschmann a kol. (2007), Vigiak a kol. (2003) vysvětlují, že aerodynamická porozita udává poměr mezi množstvím vzduchu, který prochází skrz větrolam a množstvím, které je rozptýleno nad větrolamem. Cleugh (2003) vymezuje dvě použitelné metody k určení porozity větrolamu jakožto strukturálního faktoru, který nejvíce snížení rychlosti větru. Jedná se o metody optické a metody stanovení porozity nepřímo z poměru rychlostí větru závětrné a návětrné strany (nutné měření rychlostí anemometry v terénu). Námí předkládaná metoda spadá do kategorie optických.

Optická porozita je vymezena (Burke, 1998) jako podíl pozadí, viditelného z kolmého směru na větrolam. Optickou porozitu stanovenou na základě fotografií využil pro hodnocení větrolamů Kenney (1987). Pomocí digitalizace a převodu snímku na siluetu (bílé a černé body) zjišťoval poměrné zastoupení těchto bodů, které vyústilo v procentuální vyjádření porozity větrolamu. Principiálně tuto techniku po něm využili i další autoři jako Litschmann a Rožnovský (2005), Loeffler a kol. (1992). K hodnocení optické porozity analýzou je třeba využít software vhodný pro úpravu digitální fotografie jako je např. *Paint Shop Pro 9.0*, *ImageTool 3.0.*, *Photoshop*, *Gimp 2.6.10* (liší se u různých autorů). Výsledky počítačového zpracování umožňují zhodnotit dynamiku porozity větrolamu v různém časovém období, odhalit nežádoucí přerušení, zpřesnit doposud odhadované hodnoty porozity a mohou být podkladem pro management rekonstrukce větrolamů v krajině. Nevýhodou metody je především redukce skutečného 3-D prostoru na 2-D prostor zachycený na vyhodnocované fotografii (Loeffler a kol., 1992). Přesnost stanovení také ovlivňuje vlastní příprava fotografie, kde často dochází k úpravě tónových hodnot snímku (např. změnou jasu), které jsou patrné z jeho histogramu, a volené hodnoty prahu (Tůma, 2007) při převodu na binární obraz. Na určitou subjektivitu při stanovení a nutnost pečlivé práce při zpracovávání zahrnující porovnání původního a výsledného obrazu upozorňují Litschmann a Rožnovský (2005).

Přesto podle Vigiak a kol. (2003) je metoda stanovení optické porozity tak, jak ji chápe Kenney (1987), proveditelná a rychlá terénní metoda vedoucí k stanovení porozity větrolamů. Zhu a kol. (2003) ji považuje za alternativu stanovení porozity větrolamu, která může u úzkých větrolamů dosahovat vysoké přesnosti.

MATERIÁL A METODIKA

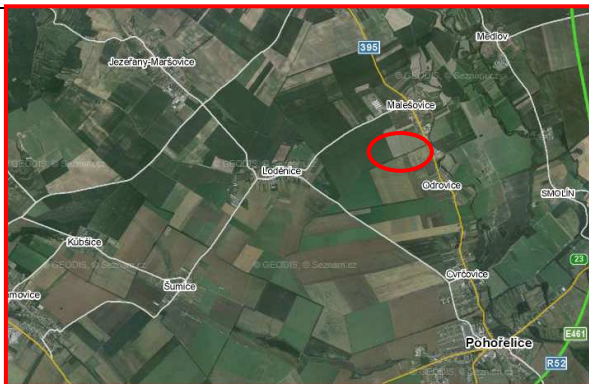
Výzkum vlivu větrolamů na rychlost větru byl prováděn u tří různě širokých větrolamů v jižní části okresu Brno-venkov, v oblasti ohrožené větrnou erozí. Na sledovaných větrolamech byla v průběhu roku 2010 realizována měření horizontálního profilu větru a vyhodnocování optické porozity větrolamu. Pro účely hodnocení optické porozity, byly v různých časových termínech pořízeny digitální fotografie. Termín fotografování byl shodný s termínem měření.

Měření byla situována převážně do období, kdy je orná půda ohrožena větrnou erozí nejvíce, tj. mimo hlavní vegetační období polních plodin a také do období, kdy se mění olistění dřevin (jaro a podzim). Vzhledem k tomu, že všechny sledované větrolamy jsou tvořeny opadavými dřevinami, bylo také s ohledem na protierozní funkci prováděno fenologické pozorování dřevin v daných větrolamech a vyhodnocování změn optické porozity. Nebyl posuzován zdravotní stav dřevin. Cílem bylo měřit účinnost větrolamu, tedy zda dochází ke snižování rychlosti větru na závětrné straně a toto procentuálně vyjádřit.

Pro tento příspěvek byla vyhodnocena měření od větrolamu Malešovice (poloha větrolamu viz. obr.1) za období duben – září 2010. Na počátku jara nemohlo být měření prováděno vzhledem k přetrvávajícím nepříznivým klimatickým podmínkám, zejména silným deštům.

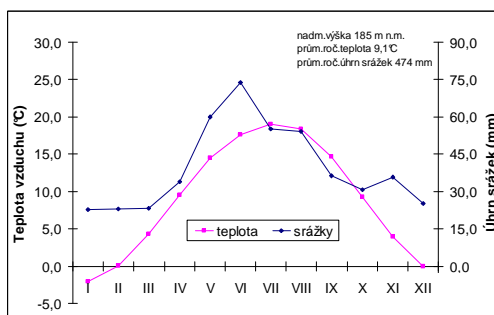
Popis zájmového území

Zájmové území se nachází severně od obce Pohořelice v jižní části okresu Brno-venkov. Toto území lze dle Quittova členění klimatických oblastí (1971) zařadit do teplé klimatické oblasti T4, což je oblast s velmi dlouhým vegetačním obdobím (hlavní veg.obd. 170-180 dní). Léto je velmi dlouhé, velmi teplé a suché, přechodné období s teplým jarem a podzimem je velmi krátké, zima je krátká, mírně teplá a velmi suchá. Letních dní je 60-70, mrazových dní 100-110, průměrná teplota v červenci je 19-20 °C a v lednu -2 až -3°C. Dnů se sněhovou pokrývkou je zde průměrně 40-50. Srážkové úhrny za vegetačním obdobím se pohybují mezi 300 a 350 mm a v zimním období v rozmezí 200-300 mm.



Obr.1 Poloha vybraného větrolamu (zdroj:www.mapy.cz)

Klimadiagram na Obr.2 představuje grafické znázornění průběhu průměrných měsíčních teplot vzduchu a průměrných měsíčních srážkových úhrnů (Sobššek, 1993) za normálové období 1961 – 1990 na stanici Pohořelice, na nejbližší dostupné klimatologické stanici sítě ČHMÚ. Období, kdy se křivka průběhu srážek dostává pod teplotní křivku se označuje jako období sucha. Z klimadiagramu vyplývá, že stanice Pohořelice bývá ohrožována suchem v období od července do září.



Obr.2 Klimadiagram stanice Pohořelice pro období 1961-1990 (zdroj: ČHMÚ)

Popis větrolamu

Větrolam u Malešovic má JZ-SV orientaci, je tedy zbudován za účelem snížit rychlost především SZ a JV větrů, které jsou v území převažující, je dvouřadý, široký 12 m a vysoký asi 14 m. Je vzdálen asi 500 m od okraje obce, tedy poslední obytné zástavby.

Hlavními dřevinami jsou jasan ztepilý (*Fraxinus excelsior*), lípa srdčitá (*Tilia cordata*), lípa velkolistá (*Tilia platyphyllos*), dub letní (*Quercus robur*), javor jasanolistý (*Acer negundo*), jilm habrolistý (*Ulmus minor*). Přítomny jsou také již uschlé stromy nebo stromy nějak poškozené. Keřové patro není příliš vyvinuto, zastoupeny jsou zde druhy bez černý (*Sambucus nigra*), ptačí zob obecný (*Ligustrum vulgare*), svída krvavá, trnka obecná (*Prunus spinosa*), čičišník obecný (*Caragana arborescens*).

Měření rychlosti větru

Vliv daného větrolamu na horizontální profil větru byl zjišťován ve vzdálenostech 150 m na návětrné straně (tj.100% rychlost) a 50, 100, 150 m na závětrné straně ve výšce 50 cm nad volným povrchem či porostem. Měření rychlosti větru probíhalo přenosnými anemometry typu W1 a W2. Měření okamžitých hodnot rychlosti větru probíhalo automaticky v pětivteřinovém měřicím kroku se záznamem do paměti dataloggeru (ústředna HOBO).

Vzdálenosti byly zvoleny a metodika upravena na základě poznatků z ambulantních měření na těžkých půdách (Dufková, 2007) a měření ČHMÚ, pobočky Brno (Středa a kol., 2007) v letech 2005-2009, jejichž měření horizontálního profilu probíhá ve výšce 2 m nad povrchem. Toto bylo změněno na výšku 0,5 m nad povrchem s cílem zjistit efekt větrolamu přímo na přízemní rychlost větru. Ve stejné výšce měřili také např. Park a kol.(2008)

Stanovení optické porozity

Pro pořízení digitálních fotografií byl použit fotoaparát CANON PowerShot SX 200 IS. Snímky byly pořizovány ve vzdálenosti 40 m od větrolamu. Mezní body námi zvoleného charakteristického 30 m dlouhého úseku, byly označeny signální barvou a dočasně během focení geodetickými výtyčkami. K vyhodnocení optické porozity byl využit program GIMP 2.6, ve kterém se prováděly základní úpravy kvality fotografie spolu s jejím převedením na černobílou a poté na binární (siluetu). Významným krokem provedeným v tomto programu, je zjištění poměru bílých a černých bodů v určitém výřezu fotografie, které vede k procentuálnímu vyjádření optické porozity. Její hodnoty byly zpracovány v programu ArcGIS 9.3 jako atributy vytvořené geodatabáze. Tyto atributy byly vyjádřeny barevnou škálou v rozmezí 10 % optické porozity. Následné vyhodnocení v programu MS Excel přineslo poznatky o průměrné hodnotě optické porozity konkrétní výškové úrovně a oka sítě se stranou 2 m (horizontální výškový pás).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Rychlost větru

Měřeními byl prokázán výrazný vliv větrolamu na rychlost větru na závětrné straně. Vliv větrolamu na proudění vzduchu se projevoval i v době, kdy jeho hlavní dřeviny nebyly ještě olistěné. Křivky zachycující naměřené rychlosti větru v daných vzdálenostech jsou zobrazeny na Obr.3 - 5.

Při prvním měření 9.4.2010 (Obr.3) byl větrolam neolistěný, některé dřeviny (*Tilia*, *Sambucus*) rašily, *Acer negundo* kvetl. Při měření 30.4.2010 rašil dominující *Fraxinus exc.*, částečné olistěné byly již druhy *Tilia cord.*, *T. platyphyllos*, *Acer neg.*, *Prunus spinosa*, *Caragana arb.*, *Ulmus min.*, rašil *Quercus robur*. 14.5.2010 již byly všechny dřeviny olistěné, *Fraxinus* však ještě ne plně olistěný, stejně jako některé keře. Při posledním měření 26.5.2010 (Obr.4) byly všechny dřeviny plně olistěné.

Výsledky měření vlivu větrolamu na přízemní rychlost větru jsou uvedeny v Tab.1. Dne 9.4.2010, kdy byly dřeviny větrolamu ještě neolistěné, byla účinnost větrolamu nejnižší, ve vzdálenosti 50 m od větrolamu (na závětrné straně) dosahovala jen 51,7 %, tedy rychlost naměřená na návětrné straně (100 %) zde byla průměrně o 51,7 % nižší (tj. 48,3 % původní rychlosti). Ve vzdálenosti 100 m od větrolamu byla účinnost větrolamu 50 % a ve vzdálenosti 150 m pouhých 40 %. Průměrná rychlost větru při tomto měření byla 4,84 m·s⁻¹ na návětrné straně, což byla nejvyšší rychlost ze

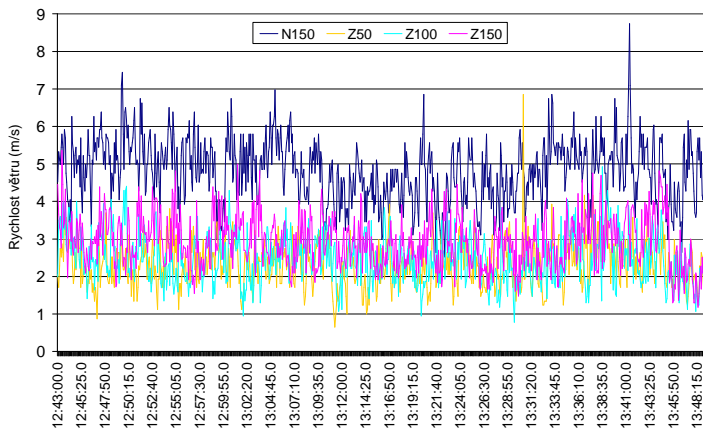
všech vyhodnocovaných měření.

Dne 30.4.2010 byla účinnost větrolamu ve vzdálenosti 50 m od větrolamu již téměř 55 %, ve vzdálenosti 100 m 50,6 % a 150 m od větrolamu 45,4 %. S přibývajícím olistěním dřevin se účinnost větrolamu zvyšovala. 14.5.2010 byla účinnost větrolamu ve vzdálenosti 50 m od větrolamu již téměř 66,8 %, ve vzdálenosti 100 m 54 % a 150 m od větrolamu 40,5 %.

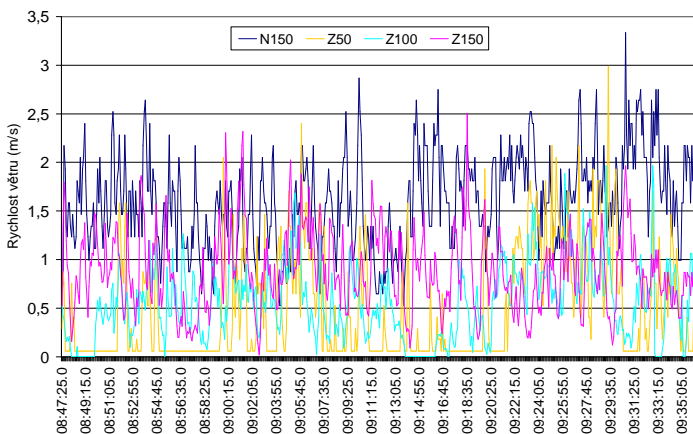
Měření 26.5.2010 ukazuje nejvyšší účinnost větrolamu ze všech uskutečněných měření. Ve vzdálenosti 50 m od větrolamu již téměř 72 %, ve vzdálenosti 100 m 69,2 % a 150 m od větrolamu 53,7 %. Průměrná rychlost větru na návětrné straně však byla pouze 1,5 m·s⁻¹.

Dne 29.9.2010 již opadávaly keře i některé stromy. Velmi opadaný byl *Juglans nigra* a poměrně výrazně také *Acer negundo*. Žloutnutí listů bylo patrné u *Tilia cordata*, *Ulmus minor*, *Caragana arb.*, *Acer pseudoplatanus*. Stále zelené a neopadané byly stromy dubů (*Quercus robur*). Účinnost větrolamu ve vzdálenosti 50 m na závětrné straně byla 36 %, ve vzdálenosti 100 m 43 %, ve vzdálenosti 150 m 73 %. Ve vzdálenosti 50 m byla tedy účinnost nižší než při květnových měření, ve vzdálenosti 100 m to byla druhá nejvyšší účinnost. Už se tedy projevoval podzimní opad listů.

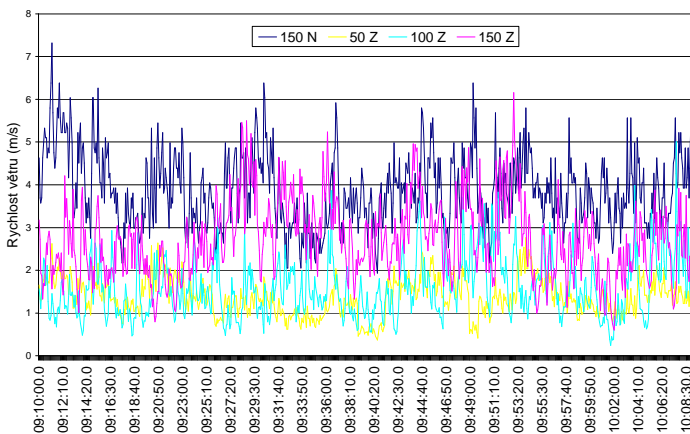
Měření, která prováděl Středa a kol.(2008), přinesla výsledky efektu větrolamů na rychlost větru ve výšce 2 m nad povrchem půdy. Rychlost ve vzdálenosti 50 m na závětrné straně byla průměrně redukována o 17 % při dubnovém měření a při říjnovém měření o 34 %. Rozdíl ve výsledcích si vysvětlujeme skutečností, že se liší výšky měření. Ve výšce 0,5 m se více projevuje vliv drsnosti povrchu a vliv keřového i bylinného patra, přestože keře olistěly ve stejné době jako stromy.



Obr.3 Rychlost větru v jednotlivých vzdálenostech od větrolamu dne 9.4.2010



Obr.4 Rychlost větru v jednotlivých vzdálenostech od větrolamu dne 26.5.2010



Obr.5 Rychlost větru v jednotlivých vzdálenostech od větrolamu dne 29.9.2010

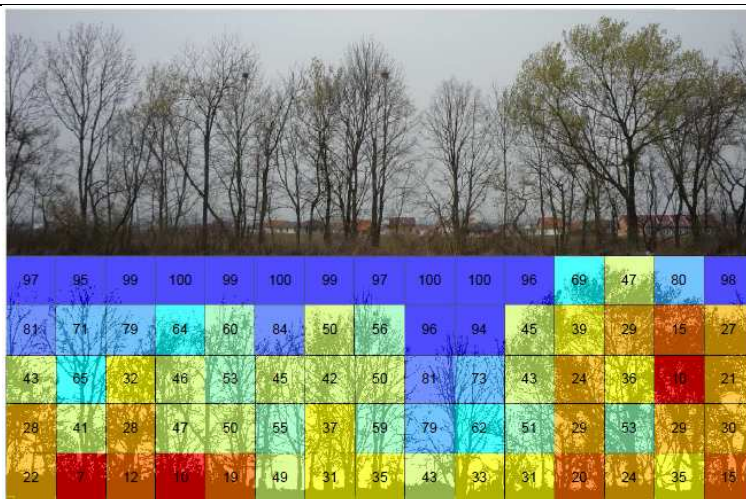
Tab.1 Vliv větrolamu na rychlost větru na závětrné straně (vzhledem k rychlosti na návětrné straně)

	N150	Z50	Z100	Z150	datum
Průměrná rychlost (m/s)	4,84	2,34	2,46	2,91	9.4.2010
%	100,00	48,31	50,90	60,07	
Průměrná rychlost (m/s)	1,64	0,74	0,81	0,89	30.4.2010
%	100,00	45,33	49,44	54,57	
Průměrná rychlost (m/s)	2,13	0,71	0,98	1,27	14.5.2010
%	100,00	33,21	46,03	59,49	
Průměrná rychlost (m/s)	1,50	0,42	0,46	0,69	26.5.2010
%	100,00	28,05	30,81	46,25	
Průměrná rychlost (m/s)	3,88	1,38	1,59	2,70	29.9.2010
%	100,00	35,59	42,85	73,21	

Pozn.: N150 je rychlost větru 150 m od větrolamu na návětrné straně, Z50 je rychlost větru na závětrné straně 50 m od větrolamu atp.).

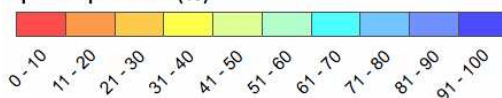
Optická porozita

Pro lokalitu Malešovice byly pořízeny fotografie v termínech 9. duben, 30. duben, 14. květen, 26. květen, 20. srpen, 29. září 2010, pro tento příspěvek byly použity 4 vybrané a vyhodnocené termíny (fotografie). Tyto termíny pokrývají jarní, letní a z části podzimní období. Na základě změn v olistění dřevin, které je průvodním jevem jednotlivých fenologických fází, je patrné, že více fotografií je nutné pořizovat v průběhu období největších změn (jaro a podzim). Zpracováním fotografií metodicky popsaným v předchozí části, jsme zjistili, graficky i tabelárně znázornili průběh změn průměrné optické porozity každého horizontálního výškového pásu. Vizualizace výsledků na obr. 6-10 je koncipována tak, že v horní části výsledných obrázků je umístěna původní fotografie vztahující se k danému termínu, ve spodní vyhodnocená silueta s transparentním přerývem vrstvy, znázorňující hodnoty optické porozity jednotlivých segmentů (ok sítě) barvou a číslem. Hodnoty optické porozity zjištěné v jarních termínech (9.4.2010) jsou ve všech výškových úrovních nejvyšší. Jsou zpracovány v pěti výškových pásích, vyšší úrovně byly ořezány, protože do nich nezasáhly přírůsty větví vrcholů korun.



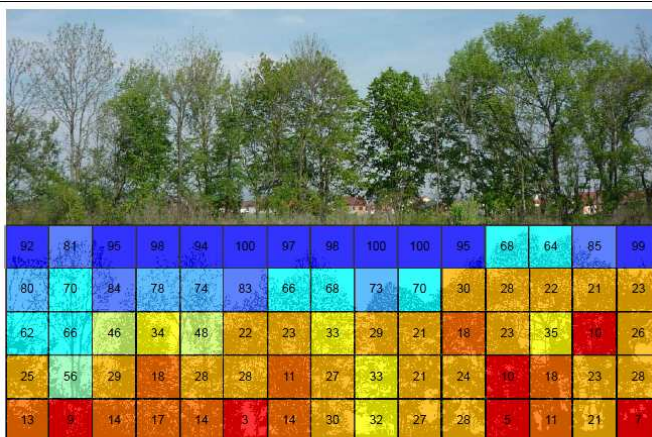
Legenda

Optická porozita (%)



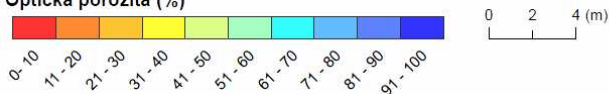
Obr.6 Optická porozita vybraného větrolamu (Malešovice) dne 9. 4. 2010

Všechny další zpracované fotografie vymezují šest výškových úrovní. Porozita nad hodnocenou výškou dosahuje 100 % (není přítomna biomasa stromů). Letní termín (26. 5. – časné léto) má naopak hodnoty optické porozity nejnižší v důsledku nejvyššího množství biomasy zachycené na fotografii. V podzimním zářijovém termínu (29. 9. 2010) začíná porozita gradovat. Z grafu (Obr.9) je patrný zásadní rozdíl mezi hustou bází větrolamu (důsledek přítomnosti keřového patra), která má neprodouvací charakter, a naopak prodouvací částí při vrcholech korun.

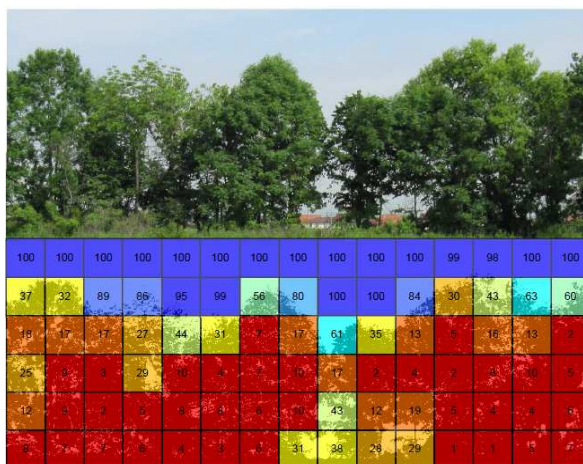


Legenda

Optická porozita (%)

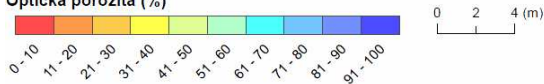


Obr. 7 Optická porozita vybraného větrolamu (Malešovice) dne 30. 4. 2010



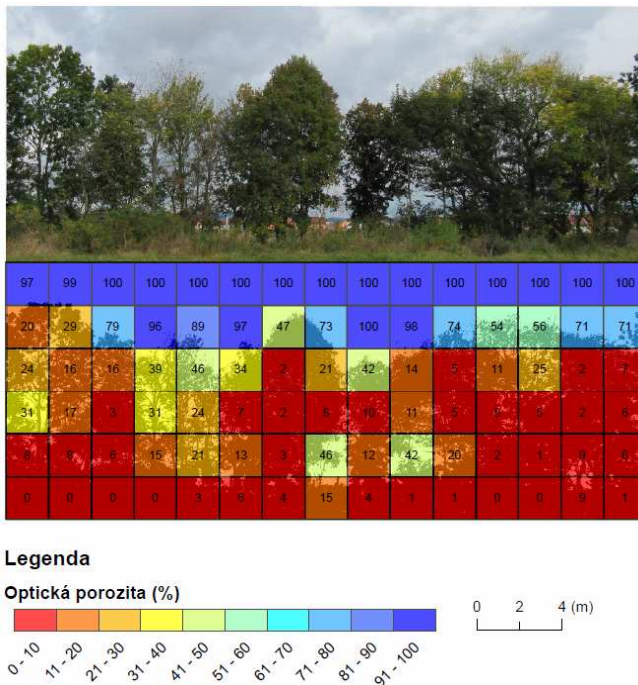
Legenda

Optická porozita (%)



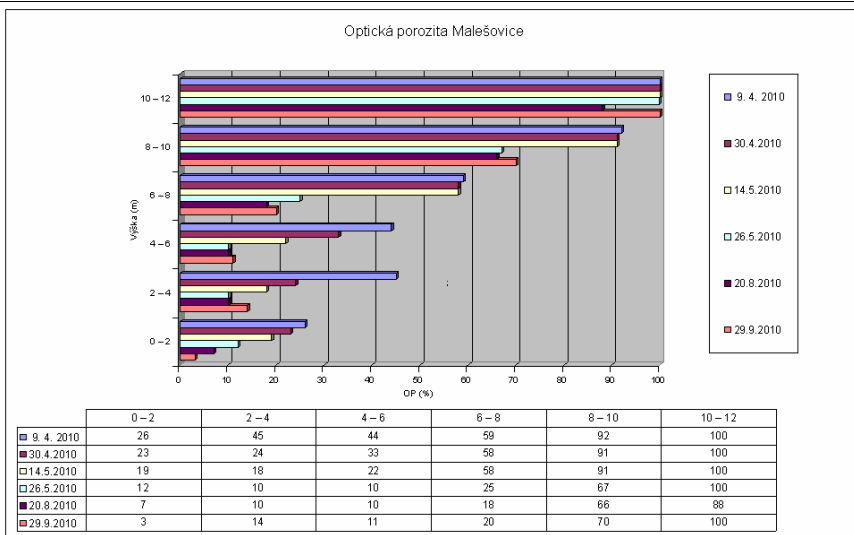
Obr. 8 Optická porozita vybraného větrolamu (Malešovice) dne 26. 5. 2010

Zjištěné výsledky také pomáhají odhalit přerušená místa z větrolamu v jeho střední části. Některá přerušení jsou sice již patrná na první pohled od jarních termínů, ale až další analýzy skutečně potvrzují, že přerušení přetrvávají během roku. To je případ přerušené části větrolamu ve střední části fotografie. Některá přerušení, která jsou při bázích stromů patrná v jarních měsících se v průběhu roku ukázala být zaplášťena předrůstavými větvemi a keřovým patrem. Tento poznatek by jen na jaře nebyl zcela patrný (pravá a levá spodní polovina fotografie). Poznatky o přerušení jsou důležitá pro aerodynamiku větrolamu, neboť v nich dochází ke vzniku tryskového efektu.



Obr. 9 Optická porozita vybraného větrolamu (Malešovice) dne 29. 9. 2010.

Graf na Obr.10 znázorňuje změny v optické porozitě v jednotlivých termínech a výškových úrovních větrolamu a pokrývá veškeré doposud analyzované termíny. Do výšky 6 m nad terénem porozita v žádném termínu nepřesáhla 50 %, pokud byly dřeviny olistěné, nedosáhla 30 %. Největší rozdíl v porozitě v souvislosti s olistěním byl zaznamenán ve výšce 6-8 m (sezónní rozdíl asi 40 %).



Obr. 10 Optická porozita větrolamu Malešovice – dynamika optické porozity v jednotlivých výškových úrovních a termínech

ZÁVĚR

Měřením byl prokázán výrazný vliv větrolamu na rychlost větru na závětrné straně a tedy významná funkce větrolamů v rovinaté krajině jižní Moravy vystavované účinkům erozní síly větru. Vliv větrolamu na proudění vzduchu se projevoval i v době mimovegetační, kdy jeho hlavní dřeviny nebyly ještě olistěné. S měnicím se olistěním dřevin tvořících větrolam se měnila i účinnost daného větrolamu. Již na začátku vegetačního období, kdy dřeviny raší, se účinnost větrolamu pohybovala od 40 do 52 % ve vzdálenosti 150 m resp. 50 m na závětrné straně od větrolamu. S přibývajícím olistěním dřevin se účinnost větrolamu zvyšovala. Měření dne 26.5.2010, kdy byly již všechny dřeviny olistěné, ukazuje nejvyšší účinnost větrolamu ze všech uskutečněných měření. Ve vzdálenosti 50 m od větrolamu bylo zjištěno již téměř 72% snížení rychlosti větru, ve vzdálenosti 100 m 69,2 % a 150 m od větrolamu 53,7 %. Dne 29.9.2010 již opadávaly keře i některé stromy. Účinnost větrolamu ve vzdálenosti 50 m na závětrné straně byla 36 %, ve vzdálenosti 100 m 43 %, ve vzdálenosti 150 m 73 %. Ve vzdálenosti 50 m byla tedy účinnost nižší než při květnových měření, ve vzdálenosti 100 m to byla druhá nejvyšší účinnost. Už se tedy projevoval podzimní opad listů.

Účinek větrolamu je tedy patrný ještě ve vzdálenosti 150 m od větrolamu, nejvyšší a velmi výrazná je však účinnost ve vzdálenosti 50 m a 100 m od větrolamu. Ačkoli se jednalo o větrolam, který není příliš široký a některé dřeviny nejsou v dobrém stavu, jeho efekt snižování rychlosti větru je výrazný.

Optická porozita je proveditelnou, rámcově časově nenáročnou, metodou k hodnocení porozity větrolamů. Její nevýhodou je redukce reálného 3-D prostoru obsahujícího póry různého tvaru a velikosti do 2-D prostoru znázorněného na fotografii. Při pečlivé práci však poskytuje lepší konkrétní výsledky, než je prostý odhad porozity. Ačkoli optická porozita není ekvivalentem skutečné porozitě, je považována za alternativu stanovení porozity větrolamu, která může u úzkých větrolamů dosahovat vysoké přesnosti. Způsob námi pojetého vyhodnocení optické porozity je přesnější než metoda sítě teček a méně náročná než metody planimetrování siluety binární fotografie. Pro využití metody se nabízí možnost dosazení do výpočetních vztahů stanovujících profil proudění v okolí větrolamu za různých rychlostí větru. Dále je metoda vhodná k hodnocení uniformity průběhu čelní porozity větrolamu a detekci přerušených míst ve větrolamu. Touto metodou vyhodnocené fotografie mohou být podkladem k rekonstrukci dotčených větrolamů.

Do budoucna je plánováno pokračovat v měření rychlostí větru na návětrné i závětrné straně větrolamů, případně zhuštění horizontálního profilu umístěním dalších anemometrů. Velmi důležité bude zimní a předjarní období, které dosud nebylo vyhodnoceno a které je z hlediska nebezpečí větrné eroze nejproblematičtější.

LITERATURA

BURKE S., 1998: Windbreaks. Inkata Press, Port Melbourne, 128 s.

CLEUGH H., 2003: Trees for shelter. A guide to using windbreaks on Australian farms. RIRDC pub. no. 02/059, JVAP or RIRDC, Australy, 70 s.

CLEUGH, H. A., 2002: Field measurements of windbreak effects on airflow, turbulent exchanges and microclimates. Australian-Journal-of-Experimental-Agriculture. 42(6): 665-677

DUFKOVÁ J., & PODHRÁZSKÁ J., 2006: Hodnocení současného stavu větrolamů, s. 180 – 196, In: Krajinné inženýrství 2006. Sborník příspěvků z mezinárodní vědecké konference, Praha: ČSKI, UKI

DUFKOVÁ J., ROŽNOVSKÝ J., STŘEDA, T., 2006: Vliv větrolamů na proudění vzduchu. In: Bioklimatológia a voda v krajine. Sborník příspěvků z mezinárodní vědecké konference. Strečno: Slovenská bioklimatologická spoločnosť pri SAV, Česká bioklimatologická společnost, 2006, s. CD--Rom. ISBN 80-89186-12-2.

DUFKOVÁ, J., 2007: Vliv větrolamů na větrnou erozi. In Bioklimatologické riziká a degradácia prírodného prostredia. Poľana nad Detvou: Slovenská bioklimatologická spoločnosť pri SAV, Česká bioklimatologická společnost, CD--Rom. ISBN 978-80-228-1760-8.

GUAN D., ZHANG Y., ZHU T., 2003: A wind-tunnel study of windbreak drag. Agricultural and Forest Meteorology, 118 (1-2), 75–84

KENNEY W. A., 1987: A method for estimating windbreak porosity using digitized photographic silhouettes. Agricultural and Forest Meteorology, 39 (2–3), 91–94.

- LITSCHMANN T. & ROŽNOVSKÝ J., 2005: Optická hustota (porosita) větrolamu a její vliv na charakter proudění, In: Litschmann T. & Rožnovský J. (eds): Bioklimatologie současnosti a budoucnosti, Křtiny 12.-14.9 2005. Česká bioklimatologická společnost v nakladatelství Českého hydrometeorologického ústavu, 91 s. + 1 CD-ROM
- LITSCHMANN T., ROŽNOVSKÝ J., PODHRÁZSKÁ, J., 2007: Využití optické porozity ke klasifikaci větrolamů, In: STŘELCOVÁ, K., ŠVARENINA, J., BLAŽENEC, M. (eds): Bioclimatology and natural hazards. International Scientific Conference, 14–20. September, Poľana nad Detvou, Slovakia, XX s.
- LOEFFLER A. E., GORDON, A. M., GILLESPIE, T. J., 1992: Optical porosity and wind speed reduction by coniferous windbreaks in Southern Ontario. *Agroforestry System*, 17 (2), 119–133.
- PARK K.-H., DING G.-D., WANG W.-W., WANG X.-Y., CHUN K.-W., 2008: Windbreak effect on wind speed reduction and sandbreak of artificial forest belt of Caragana korshinskii Kom in Yanchi county, Ningxia province, China. *Journal of Korean Forestry Society*. 97(1). MAR 2008. 95-101.
- PASÁK V. a kol., 1984: Ochrana půdy před erozí. Praha. Státní zemědělské nakladatelství.
- PASÁK V., 1970: Větrná eroze půdy. Wind erosion on soil. VÚM: Zbraslav n. Vlt. 186 s.
- RAINE J. K. & STEVENSON D. C., 1977: Wind protection by model fences in a simulated atmospheric boundary layer. *Journal of Industrial Aerodynamics*, 2 (2), 159–180
- STŘEDA, T., ROŽNOVSKÝ, J., POKLADNÍKOVÁ, H., 2007: Vliv různých typů lesních pásů na proudění vzduchu. In ROŽNOVSKÝ, J. -- LITSCHMANN, T. -- VYSKOT, I. Klima lesa. Sborník referátů z mezinárodní vědecké konference, Křtiny 11. - 12. 4. 2007. Praha: Česká bioklimatologická společnost, s. 32. ISBN 978-80-86690-40-7.
- TIPPL M., BOHUSLÁVEK J., KAČER M., 2007: Měření účinnosti větrolamů. Výstup etapy 05 Zmírnění nepříznivých vlivů působení eroze. Výzkumný záměr MZe 0002704901 Zmírnění nepříznivých přírodních a antropogenních vlivů na půdu a vodu. VÚMOP, Praha, 27 s.
- TORITA H., SATOU H., 2007: Relationship between shelterbelt structure and mean wind reduction. *Agricultural and Forest Meteorology*, 145 (3–4), 186–194
- TŮMA T., 2007: Počítačová grafika a design. Průvodce začínajícího grafika. Computer Press: Brno, 156 s.
- VIGIAK O., STERK G., WARREN A., HAGEN L. J. , 2003: Spatial modeling of wind speed around windbreaks. *Catena* 52 (3–4), 273–288.
- ZHU, J. J., MATSUZAKI T., GONDAA Y., 2003: Optical stratification porosity as a measure of vertical canopy structure in a Japanese coastal forest. *Forest Ecology and Management*, 173 (1-3), 89-104.

RURAL SOUTH MORAVIAN RAVINE-CASE STUDIES MICROREGION MODRÉ HORY

Náplavová M.

Department of Applied and Landscape Ecology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: miloslava.naplavova@mendelu.cz

ABSTRACT

This article aim is to outline actual country state of South-moravian ravines on micro - region Modré Hory example. Study of country South-moravian ravines was elaborate as part of project „Current Status and Trends of the South Moravian Countryside“, financed by integral grant agency of Mendel university in Brno (FA). Microregion Modré Hory has a great potential for development of provincial tourist traffic, which is possible to practise almost in any rural areas. It's going about so - called „soft“ shape tourist traffic, which emphasize first of all ecological and social access and so makes it possible to safe sustain rural landscapes. Rural tourist tradic provils creation of new working stations in rural territory. micro-region area manage with big amount of historical and cultural relics. With regard to micro-region location, monuments didn't belou primary to tourists main interest, but mainly activities connected with vineculture and cycling tourism. Vineculture has longtime tradition there. To the future is possible to count with development of vinecultural tourism in territory. Forms of „soft “ tourism, such as for example agricultural tourism and horse riding should be supported there.

Key words: country, microregion, ruraltouristtraffic

Acknowledgments: This paper was written as a part of project Current Status and Trends of the South Moravian Countryside sponsored by Integral Grant Agency of Mendel University in Brno number TP6/2010. It follws an earlier project New Prosperity for Rural Regions (Research Support Scheme OSI/HESP), which were processed in the South Moravian Region case studies Vranov nad Dyjí / Jemnice and Kunštát na Moravě.

ÚVOD

Venkov a zemědělství ještě nedávno spolu velmi úzce souvisely. Dnes je venkovský prostor chápán z širších hledisek. Venkov je hospodářským územím, rekreačním územím, bydlištěm, místem, kde se odehrává společenský a kulturní život a v neposlední řadě i přírodním prostorem. V posledních letech roste zájem lidí o různé formy turismu ve venkovském prostoru. Venkovský prostor je pro rekreanty atraktivní z hlediska blízkosti přírodního prostředí, bohatého kulturního a sportovního využití. Právě na venkově zůstává nedostatečně využito mnoho kapitálu ve formě původní regionální kultury a relativně nezhodnocené přírody. Jde o značný potenciál cestovního ruchu, jehož využívání by mohlo být zdrojem růstu životní úrovně venkovských obyvatel a současně zabezpečovat udržitelnost venkovské krajiny (1).

Za uplynulých deset let prošel venkov mnoha změnami. Jeho transformace však ještě zdaleka není ukončena. Venkov bude muset i nadále hledat nové možnosti svého sociálněekonomického poslání. Díky příznivému životnímu prostředí i tradičnímu životnímu stylu by se mohl stát vyhledávaným místem pro rekreaci a specifický cestovní ruch agroturistiku (2).

Venkovský prostor lze zjednodušeně vymezit jako souhrn katastrálních ploch sídel, která jsou označena jako vesnice, což je ovšem pouze část venkovského prostoru. Tento prostor je tvořen i volnou krajinou, tedy souhrnem ploch zemědělské půdy, lesů, vodních ploch, polních cest a místních komunikací (3).

Prostory města a venkova se liší nejen charakterem osídlení a architekturou, ale i převládajícím způsobem obživy, stylem života, kulturou atd. Liší se i převládající charakter sociálních sítí a organizace společností. Venkov bývá považován za prostředí méně anonymní, s vyšší sociální kontrolou, ale také s vyšší sociální soudržností a sociální oporou (4).

Perlín ve své práci Venkov, typologie venkovského prostoru nadefinoval oblast venkova jako „kontinuálně vymezený prostor, který zahrnuje jak krajinu, tak i venkovská sídla“. Pojem venkov tedy integruje jak nezastavěné území, tak i zastavěné území malých sídel (vesnic), (5).

Venkovský cestovní ruch (též rurální cestovní ruch; angl. rural tourism) představuje souborné označení pro druh CR s vícedenním pobytem s rekreačními aktivitami na venkově (procházky, pěší turistika, projížďky na kole nebo na koni, pozorování a péče o domácí zvířata, konzumace podomácku vyrobených potravin atd.) a s ubytováním v soukromí nebo v menších hromadných ubytovacích zařízeních. Venkovská turistika přitom není zaměřena pouze na přírodu a venkovské

prostředí, ale využívá veškerý společenský, kulturní, ekonomický i materiální potenciál venkova (6).

Venkovský cestovní ruch je považován za produkt udržitelného cestovního ruchu neboli šetrné formy cestovního ruchu. Tento druh cestovního ruchu splňuje harmonický ekonomický, sociální a ekologický rozvoj, a to při uspokojování požadavků současné generace s ohledem na zachování zdrojů i pro generace budoucí (3).

Jedná se především o snahu žít v souladu s přírodou (poznání, ochrana) prostřednictvím rekreačních aktivit v dané oblasti. Dalším specifikem venkovského cestovního ruchu je odklon od hektického městského života k poklidnému venkovskému, především zemědělskému, způsobu života (7), (8).

Dalšími pozitivními dopady rozvoje turistiky ve venkovských oblastech jsou příliv kapitálu, rozvoj malého a středního podnikání, tvorba příjmů zemědělského hospodářství, zhodnocení nemovitostí, zvýšení životní a kulturní úrovně, zlepšení rozvoje společenského života a neopomenutelně rozvoj území a péče o krajinu (9).

Rozvoj venkovského cestovního ruchu souvisí s rozvojem venkova, budováním pěších tras a cyklotras, farem s alternativním zemědělstvím, budováním místních muzeí, skanzenů, obnovením tradičních řemesel, budováním a obnovou menších ubytovacích zařízení a stravovacích zařízení atd. Venkovská turistika má mnoho podob, rozvíjí se například jako agroturistika, ekoturistika, ekoagroturistika, dobrodružný cestovní ruch, kulturní cestovní ruch (10).

MATERIÁL A METODIKA

Byla prostudována odborná literatura s tematikou venkova a venkovského cestovního ruchu. Základem je metodologie regionální geografie, analyzující dané území jako prostor interakce přírodních a společenských jevů a procesů. Kvalitativní data byla získána z internetových stránek Českého statistického úřadu – data ze sčítání lidu, domů a bytů, bilanci obyvatelstva, městské a obecní statistiky atd. a Portálu Regionálních Informačních Servisů (RIS) - Regionální informační servis Jihomoravského kraje. Řada kvalitativních a kvantitativních dat čerpá z internetových stránek obcí a mikroregionu. Následoval terénní průzkum území a byla pořízena fotodokumentace. V další fázi proběhnou rozhovory s hlavními aktéry v mikroregionu.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Jihomoravské úvaly se nacházejí v Jihomoravském kraji na území okresů Břeclav, Hodonín a Znojmo. Na území těchto okresů převažují vysoce produktivní půdy. Zemědělství zde má bohatou tradici. Typické pro tuto oblast je ovocnářství, vinařství, zelinářství a obilnářství. Tato tradice se uchovává do dneška (11). Krajinu Jihomoravských úvalů (Dolnomoravského a Dyjsko-

svrateckého) na rozdíl od jiných oblastí více formovala již od pravěku lidská činnost. Úvaly zaujímají široké, rovinaté území na dolních částech vodních toků s malým výškovým převýšením (150 až 344 m n. m.), (12). Oblast náleží do povodí řeky Moravy. Západní hranice je odvodňována místními toky ústícími do řeky Dyje. Podle Quitt, E. (1971, 1984) náleží úvaly v klimatické oblasti teplé a mírně teplé (T2, T4 a MT11, MT10). Dyjsko – svratecký a Dolnomoravský úval patří k nejteplejším částem JMK, kde průměrná roční teplota překračuje 9 °C (až 9,6 °C). Lesnatost krajiny je malá, jen kolem 10 % (13). Dolnomoravský úval celek Jihomoravské pánve. Plocha úvalu činí 957,76 km². Střední výška je 183, 2 m. Má rovinný a pahorkatinný charakter. V úvalu plošně převládají pole a v nivách lesy (14). Celou oblastí protéká od severu k jihu řeka Morava. Dolnomoravský úval patří mezi nejteplejší oblasti u nás (15). Dyjsko – svratecký úval celek v jz. části Západních Vněkarpatských sníženin. Plocha úvalu činí 1453, 43 km². Střední výška je 210 m. Úval má rovinný charakter, který se rozkládá kolem řeky Dyje a středního a dolního toku Svratky (14). Nejdůležitějšími vodními toky jsou řeky Dyje, Svratka, Jihlava a jejich četné přítoky (15). V úvalu plošně převládají pole (14).

Obr. Krajina Jihomoravských úvalů

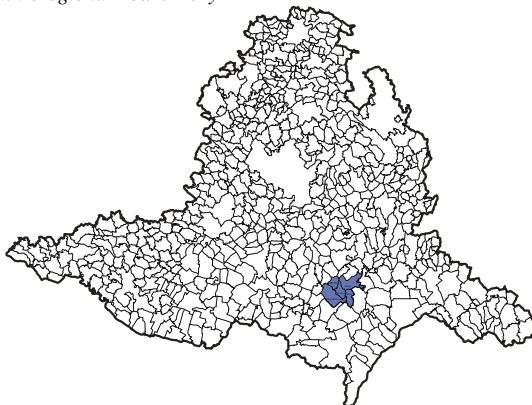


Zdroj: M. Náplavová, 2010

Mikroregion MODRÉ HORY

Dobrovolný svazek obcí Velké Pavlovice, Němčičky, Bořetice, Kobylí a Vrbice vznikl v roce 2008. Název mikroregionu vznikl proto, že nadpoloviční plochu vinic v k.ú. zaujímají odrůdy s modrými hrozny. Cílem založení tohoto svazku je spojit zájmy obcí v oblasti cestovního ruchu, vinařství a péče o krajinu. Dalším cílem je upoutání zájmu turistů na tento mikroregion, který nabízí historické, vinařské, kulturní a sportovní zázemí. Projekt podporuje Vinařský fond ČR (16). Mikroregion leží v okrese Břeclav a spadá pod ORP Hustopeče.

Obr. Lokalizace mikroregionu Modré Hory



Zdroj: M. Náplavová, 2010

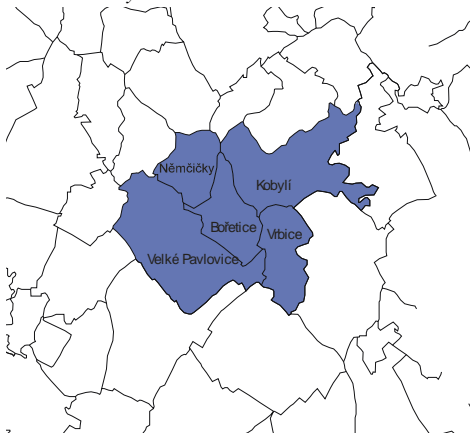
Obce mikroregionu Modré Hory

Obce mikroregionu leží ve vinařské oblasti Morava a Velkopavlovické vinařské podoblasti. Jsou zde koncentrováni jedni z největších výrobců vín na Moravě. Velkopavlovická podoblast se celá nachází na území Jihomoravského kraje a je součástí regionu NUTS II Jihovýchod. Velkopavlovická podoblast leží podél dálnice Brno – Břeclav. Patří do turistického regionu Jižní Morava a turistické oblasti Pálava a Lednicko – Valtický areál (17). Vzhledem k reliéfu a vhodným klimatickým podmínkám zaujímá zemědělská půda většinu katastrálního území. Přírodní podmínky umožnily intenzivní zemědělské využívání oblasti již po staletí.

Z hlediska cestovního ruchu je mikroregion pro turisty velmi atraktivní. Nachází se zde řada památek a vyhlídkových míst. Krajina má předpoklady zejména pro realizaci pěší turistiky a cykloturistiky. Zajímavostí této oblasti jsou vinařské cyklistické stezky, tzv. vinařská turistika, která láká do kraje návštěvníky po celý rok. Ve Velkých Pavlovicích a Bořeticích nalezneme turistické informační centrum. Mikroregion má dobrou dopravní dostupnost, silniční a železniční infrastrukturu. Územím prochází dálnice D2 a silnice II. a III. třídy.

Mezi nejvýznamnější kulturní a společenské akce obcí patří krojované hody, zájmové vinobraní, dny otevřených sklepů, výstavy vín a zarážení hory atd. Tyto akce prezentují především místní bohaté folklórní tradice, dávné zvyky a rituály. Většina společenských akcí nerozlučně je spojena právě s vínem. V území je řada objektů drobných a lidových staveb, velké množství křížů a božích muk.

Obr. Obce mikroregionu Modré Hory



Zdroj: M. Náplavová, 2010

Velké Pavlovice

První písemná zmínka o městu pochází z roku 1252. V r. 1891 byly Velké Pavlovice povýšeny na městys a od roku 1967 se staly městem. Soustředěná zástavba vinných sklepů vznikla na severovýchodním okraji sídla u železnice. Rekreační a sportovní aktivity obyvatel jsou soustředěny podél vodního toku Trkmanky ve směru sever jih.

Ve městě se nachází následující objekty zapsané v Ústředním seznamu nemovitých kulturních památek České republiky (zdroj: webový portál NPÚ): Kaple sv. Urbana, kostel Nanebevzetí Panny Marie, socha sv. Jana z Nepomuku, sousoší Piety, novorenesanční hřbitov, socha sv. Floriána, radnice města, sýpka, bývalý barokní zámek, zámecký rybník a dále technické a lidové památky jako jsou historické sklepy, lisovny a lisy a další. Nad obcí se nachází rozhledna Slunečná (18).

Obr. Vinné sklepy Velké Pavlovice



Zdroj: M. Náplavová, 2010

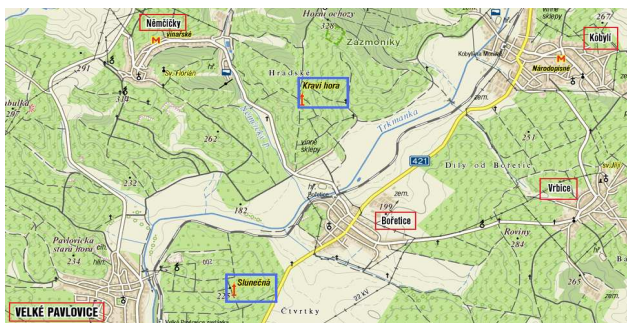
Obr. Rozhledna Slunečná u Velkých Pavlovic*Zdroj: M. Náplavová, 2010**Obr. U rozhledny Slunečná**Zdroj: M. Náplavová, 2010***Bořetice**

Obec leží v údolí vodního toku Trkmanky. První písemná zmínka o Bořeticích pochází z roku 1222, kdy je ve vsi Poratiz jmenován dědičný rychtář Wido – Vít. V obci se koná pout' na svátek sv. Anny (v obci je kostel sv. Anny). Udržují se a jsou znovu obnovovány tradice, jako jsou zábavy u cimbálu a setkávání pod Kraví horou. Vinařskou dominantou obce Bořetice je malebná vesnička vinných sklípků pod Kraví horou, která se nachází zhruba půl kilometru severozápadně od samotné obce. Čítá něco kolem 260 sklepů. V roce 2000 si zdejší vinaři založili recesistickou „Svobodnou spolkovou republiku Kraví hora“.

Obr. Znak Svobodné spolkové republiky Kraví Hora - Bořetice

Recesistická vinařská republika má přilákat turisty za vínem do obce Bořetice, ale i do okolních k. ú. Spolkovou republikou je proto, že areál sklepů má tři části: Zahraníčí (sklepy jsou postaveny 2 metry za hranici katastrálního území Bořetice), Hliníky a Kraví hora, která je největší. Svobodná spolková republika Kraví hora vznikla z vůle vinařů jako svobodná, nezávislá instituce založená na účtě k lidským právům na zásadách občanské společnosti. Vznikla, aby pomohla zviditelnit a podpořit výrobky místních vinařů. Republika vydala pasy, poštovní známky a propagační materiály. Platidlem republiky je jeden Kravíhorec, který má v přepočtu cenu jednoho eura a je krytý vínem pokladu republiky (19).

Obr. Lokalizace Kraví hory



Zdroj: www.mapy.cz, vlastní úprava

Nad bořetickou Kraví horou byla v červnu 2006 zpřístupněna nová dřevěná rozhledna. Bořetice vždy nebyvaly pouze a výhradně centrem vinařství, ale i rybníkářskou velmocí, jež zajišťovala místním občanům, v dobách před výrazným rozvojem zemědělství a vinařství, hlavní zdroj obživy. Občané Bořetic se rozhodli na rybníkářskou tradici, po dlouhých letech zapomnění znovu navázat. Proto si můžete všimnout cestou do Kraví hory nově vznikajících vodních ploch, jež budou v krátké době sloužit jak rybolovu, tak rekreaci (20).

Obr. Hotel Kraví Hora



Zdroj: M. Náplavová, 2010

Obr. Vinné sklepy Kraví Hora



Zdroj: M. Náplavová, 2010

Obr. Celnice Svobodné spolkové republiky Kraví hora



Zdroj: M. Náplavová, 2010

Kobylí

První písemná zmínka o Kobylí je datována z roku 1252 v darovací listině pána Bočka z Obřan pro cisterciácký klášter ve Žďáru, potvrzené tehdejším markrabětem Přemyslem Otakarem II. Významnou a dominantní památkou obce je kostel sv. Jiří s věží. Gotický presbytář kostela pochází z 15. století. Zajímavostí jsou dřevěné vyřezávané kříže, se kterými se setkáte v polích, lese i v obci. V obci se nacházejí i historické sklepy, z nichž některé patří k památkově chráněným objektům. V ulici Baráky najdete Křížákův sklep, v ulici Augusty Šebestové pak Svobodův sklep. Architektonicky původní je Pekaříkův sklep v kútku. Sportovní areál "Za mlýnem" v dolní části obce je dějištěm různých sportovních klání. V roce 1997 bylo založeno Muzeum obce Kobylí, v jehož sbírkách jsou historicky cenné předměty vypovídající o životě kobylyských občanů v minulosti. Kobylí je čtvrtou největší obcí Velkopavlovické vinařské oblasti se 168 ha registrovaných vinic a 500 vinaři. Obec získala titul Vesnice roku 2006 Jihomoravského kraje (21).

Obr. Vinné sklepy – Kobylí



Zdroj: M. Náplavová, 2010

Obr. Muzeum Kobylí



Zdroj: M. Náplavová, 2010

Obr. Turistická informační tabule Kobylí*Zdroj: M. Náplavová, 2010***Němčičky**

Název obce ukazuje na původ v souvislosti s německou kolonizací. První doložení majitelé vsi byli páni z Klobouk a Boleradic. V obci se nachází kostel Navštívení Panny Marie z roku 1678. Od 19. st. se v místním katastru rozšiřuje pěstování ovocných stromů. Tím se obec výrazně lišila od vsí okolních. Obec získala titul Vesnice roku 2005 Jihomoravského kraje. V katastru obce se nacházejí tři kapličky: sv. Antonína, sv. Floriána a Božího srdce. V posledních letech jsou Němčičky známé především sportovním areálem, v něm pak vyhledávaným koupalištěm a lyžařským svahem s vlekem a umělou trávou. K přírodním zajímavostem obce patří chráněná území Nosperk a Růžený (Velký Kuntínov je v těsném sousedství), ve kterých se nalézá mnoho ohrožených druhů rostlin, a dále jsou tu chráněné stromy jeřábu oskeruše (22)

Obr. Lyžařský svah - Němčičky*Zdroj: M. Náplavová, 2010*

Obr. Bobová dráha - Němčičky



Zdroj: M. Náplavová, 2010

Obr. Koupaliště – Němčičky



Zdroj: M. Náplavová, 2010

Vrbice

Vznikla za německé kolonizace kolem roku 1220 a první zmínka o ní je z roku 1222 v listině olomouckého biskupa Roberta. Už z dalekého a širokého okolí je vidět kostel svatého Jiljí. Byl vystavěn bratrstvem sv. Jiljí v letech 1913 - 1920 v pseudorománském slohu. V dolní části obce je k vidění kaple sv. Anny a náves zdobí socha sv. Aloise, která stojí v parčíku pod základní školou. Jednou z nejzajímavějších věcí na Vrbici jsou vinné sklepy, které stojí až v sedmi patrech nad sebou. Jedná se o kamenné sklepy s goticky lomenými oblouky na vstupu (23).

Obr. Sklepní kolonie – Vrbice



Zdroj: M. Náplavová, 2010

Obr. Turistická informační cedule – Vrbice



Zdroj: M. Náplavová, 2010

Obr. Vinné sklepy – Vrbice



Zdroj: M. Náplavová, 2010

Obr. Muzeum – Vrbice



Zdroj: M. Náplavová, 2010

Vinařské stezky v mikroregionu

Moravské vinařské stezky

Jsou dlouhodobým projektem rozvoje vinařství a turistiky na jižní Moravě a jsou přímo řízeny programem Zelené stezky Greenways. Za čtyři roky se do projektu zapojilo 220 vinařských obcí, bylo vyznačeno 1090 km cyklistických tras.

Moravské vinařské stezky využívá řada obcí a malých podnikatelů jako nástroj rozvoje šetrné turistiky a podpory malého podnikání. Ekonomický přínos je přímo svázán s úctou ke krajině, zachováním lidových tradic a obnovou kulturního dědictví spojeného s vinařstvím. Mikroregionem prochází Velkopavlovická vinařská stezka (24).

Naučné vinařské stezky

Stezka krajem André (8 km) – cyklostezka vede z Hustopečů přes Starovičky, Velké Pavlovice a Bořetice na Vrbice.

Obecní vinařská stezka obce Němčičky (8km) – začíná i končí přímo v obci a seznamuje návštěvníky jak z historií vinařství, tak se současným stavem výsadby vinné révy v obci.

Naučná vinařská stezka Modré hory (13 km) - trasa vede vinařskými obcemi Bořetice, Kobylí, Němčičky, Velké Pavlovice a Vrbice. Stezku je možné projet na kole, nebo projít pěšky. Symbolický okruh Modré hory vás provede vinařskou krajinou s nádhernými výhledy do okolí, s mnoha sakrálními památkami a turistickými zajímavostmi. Téměř celá trasa vede po asfaltových, nebo jinak upravených cestách.

Kravihorská turistická stezka (12,5 km) - stezka je určena především k pěší turistice, je však velmi dobře sjízdna i na kole. Vede od hotelu Kraví Hora v Bořeticích, dále pokračuje na rozhlednu, PR Zázmoníky, obce Němčičky a končí v Kraví Horě (25).

Obr. Značení vinařských stezek



Zdroj: M. Náplavová, 2010

Počet ubytovacích zařízení v mikroregionu mírně stoupá s rostoucím zájmem turistů o tuto oblast. V roce 2007 bylo v mikroregionu 36 hromadných ubytovacích zařízení a v roce 2010 to bylo již 46. K nejznámějším patří hotel Kraví hora.

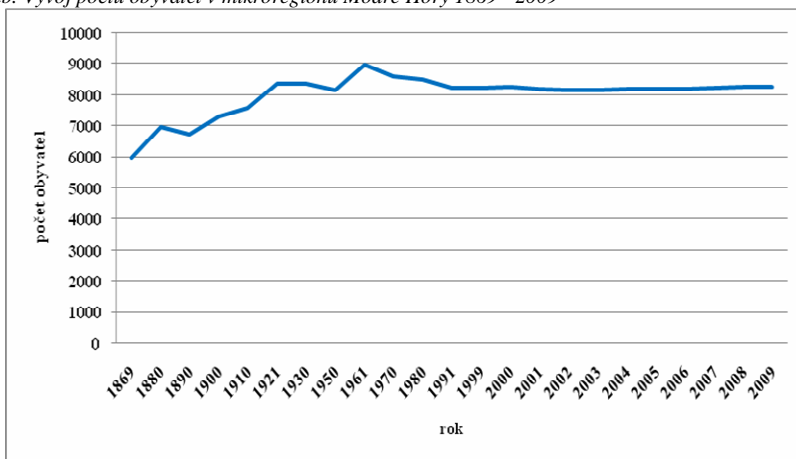
Tab. Hromadná ubytovací zařízení v mikroregionu Modré Hory

Obce mikroregionu Modré Hory	Hromadná ubytovací zařízení r. 2010					
	kategorie					
	penziony	turistické ubytovny	hotely	apartmány	jiné (v soukromí)	celkem
Velké Pavlovice	8	3	0	6	11	26
Němčičky	2	2	0	0	2	6
Bořetice	3	1	2	1	0	7
Kobylí	2	2	0	1	0	5
Vrbice	3	0	0	0	0	2
						46

Zdroj: data www.risy.cz, stránky obcí

Na území mikroregionu žilo v roce 2009 přibližně 8250 obyvatel. Nejvíce obyvatel bydlelo na území v roce 1961, bylo to 8967. Od roku 1991 se počet obyvatel v území skoro neměnil. Malý nárůst byl zaznamenán od roku 2006 až do roku 2009. Tento vzrůstající trend lze do určité míry přikládat zvýšenému zájmu lidí a investorů o tuto oblast. Výhodou mikroregionu je i dobrá dostupnost do Brna po dálnici D2.

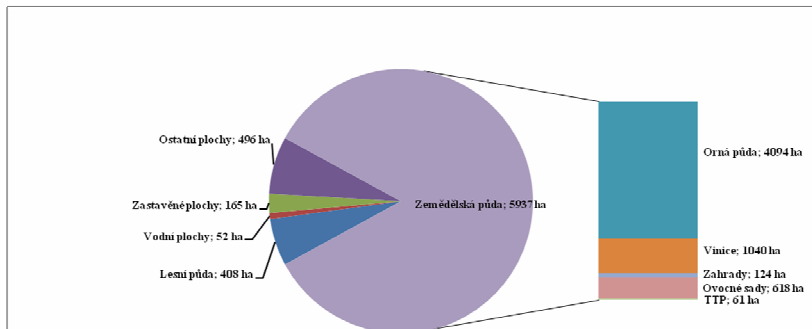
Tab. Vývoj počtu obyvatel v mikroregionu Modré Hory 1869 - 2009



Zdroj: data ČSÚ, výpočet vlastní

Struktura využití země vypovídá o způsobu využívání krajiny lidskou společností. Stejně jako v celé ČR, tak i v mikroregionu převládá zemědělské využití krajiny. Typické pro dané území jsou vinice, které zde zaujímaly 1040 ha (v r. 2009). Zastavěné plochy a ostatní plochy nedosahují vzhledem k venkovskému charakteru celé oblasti vysokých hodnot.

Tab. Využití země mikroregionu Modré Hory, r. 2009



Zdroj: data RIS

ZÁVĚR

Do budoucna je možné počítat s rozvojem právě vinařské turistiky, pro kterou má dané území geografické předpoklady. Atraktivní pro turisty jsou také muzea, která zobrazují historii dané oblasti. Mikroregion disponuje množstvím sportovních zařízení a možnostmi pro sportovní využití. Nejvyhledávanější je Sportovní areál Němčičky, který jako jediný v širším území má lyžařský svah, který je vybaven umělým travním povrchem, čímž umožňuje prodloužení lyžařské sezóny. Díky mnohým přírodním reáliím a kulturním zajímavostem je oblast vhodná i pro pěší turistiku. Terén území je vhodný také pro vybudování sítě koňských stezek. V mikroregionu se nachází mnoho vyhlídkových míst např. rozhledna Slunečná a Kraví Hora. Celá oblast disponuje dobrým turistickým značením a vzrůstajícím počtem informačních bodů. V území vede hustá síť kvalitních cyklostezek a cyklotras. Základní turistická infrastruktura (ubytovací, stravovací), je dle poskytnutých informací dostačující. Existuje zde řada hromadných ubytovacích zařízení, které poskytují i stravování. Vedle těchto ubytovacích kapacit existuje i množství lůžek v soukromí (převážně ve vinných sklepech). V obcích jsou i pohostinství, které poskytují občerstvení. Studie bude v další fázi doplněna o sociologický výzkum (prostřednictvím rozhovorů) s hlavními aktéry v mikroregionu.

LITERATURA

- Šimková, E.: Možnosti hipoturistiky v rozvoji venkova. In: *Hradecké ekonomické dny 2006: Podnikání a rozvoj regionu*. Sborník příspěvků. Hradec Králové: Gaudeamus, 2006, ISBN 80-7041-895-8.

- (2) Foret, M., Foretová, V.: Jak rozvíjet místní cestovní ruch. Praha: Grada Publishing, spol. s r. o., Praha 2001, ISBN 802470207X.
- (3) Holešinská, A.: Venkovský cestovní ruch v ČR. Masarykova univerzita ekonomicko-správní fakulta katedra regionální ekonomie a správy. In *IX. Mezinárodní kolokvium o regionálních vědách*. Brno: ESF MU, 2006. ISBN 8021041552, s. 251-255. Lednice. – článek ve sborníku
- (4) Definice venkova, 2010. Oficiální stránky World Wide Web [online].[cit. 1. 10. 2010]. Dostupné na WWW: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Venkov>>.
- (5) Perlín, R.: Venkov, typologie venkovského prostoru. Univerzita Karlova přírodovědecká fakulta katedra sociální geografie a regionálního rozvoje. Praha 2000, ISBN80-238-4932-8.
- (6) Galvasová, I., Binek, J., Holeček, J., Chabičovská, K., Szczyrba, Z., a kol. GaREP, spol. s r.o.: Průmysl cestovního ruchu. Společnost pro regionální ekonomické poradenství, Praha 2008, Vydalo Ministerstvo pro místní rozvoj ČR, ISBN 978-80-87147-06-1.
- (7) Hesková, M. a kol.: Cestovní ruch. Praha: Fortuna, 2006, ISBN: 80-7168-948-3.
- (8) Holeček, M., Mariot, P., Střída, M.: Zeměpis cestovního ruchu. Praha: Nakladatelství české geografické společnosti, s. r.o., 2005, ISBN 808603464X.
- (9) Stříbrná, M.: Venkovská turistika a agroturistika. Praha: Profi Press, s. r. o., 2005, ISBN 8086726142.
- (10) Pásková, M., Zelenka, J.: Výkladový slovník cestovního ruchu. Praha: Ministerstvo pro místní rozvoj ČR, 2002, ÚUR.
- (11) Oficiální stránky Český statistický úřad [online].[cit. 25. 9. 2010]. Dostupné na WWW: <<http://www.czso.cz/>> a Oficiální stránky Český statistický úřad Jihomoravský kraj [online].[cit. 25. 9. 2010]. Dostupné na WWW: <<http://www.brno.czso.cz/>>.
- (12) Oficiální stránky Mezi stromy [online].[cit. 2. 10. 2010]. Dostupné na WWW: <<http://www.mezistromy.cz/>>.
- (13) Mackovčín, P. a kol.: Brněnsko, Chráněná území ČR, Svazek IX.: Agentura ochrany přírody a krajiny ČR a EkoCentrum Brno, Praha, 2009, ISBN 978-80-86064-66-6 (AOPK ČR.Praha), ISBN 978-80-86305-02-8 (EkoCentrum Brno).
- (14) Demek, J., Mackovčín, P., a kol.: Hory a nížiny, Zeměpisný lexikon ČR. Brno 2006, AOPK ČR, ISBN 80-86064-99-9.
- (15) Oficiální stránky Regiony [online].[cit. 27. 9. 2010]. Dostupné na WWW: <<http://regiony.ic.cz/>>.
- (16) Oficiální stránky Modré Hory [online].[cit. 11. 9. 2010]. Dostupné na WWW: <<http://www.modrehory.cz/>>.

- (17) Oficiální stránky Česká centrála cestovního ruchu – CzechTourism [online]. [cit. 16. 9. 2010]. Dostupné na WWW: < <http://www.czechtourism.cz/>>.
- (18) Oficiální stránky města Velké Pavlovice [online]. [cit. 18. 9. 2010]. Dostupné na WWW: < <http://www.velke-pavlovice.cz/>>.
- (19) Oficiální stránky Svobodná spolková republika Kraví hora [online]. [cit. 19. 9. 2010]. Dostupné na WWW: < <http://www.republikakravihora.cz/>>.
- (20) Oficiální stránky obce Bořetice [online]. [cit. 18. 9. 2010]. Dostupné na WWW: < <http://www.boretice.cz/>>.
- (21) Oficiální stránky obce Kobyli [online]. [cit. 17. 9. 2010]. Dostupné na WWW: < <http://www.kobyli.cz/>>.
- (22) Oficiální stránky obce Němčičky [online]. [cit. 16. 9. 2010]. Dostupné na WWW: < <http://www.nemcicky.cz/>>.
- (23) Oficiální stránky obce Vrbice [online]. [cit. 20. 9. 2010]. Dostupné na WWW: < <http://www.obecvrvice.cz/>>.
- (24) Kolektiv autorů: Venkovský cestovní ruch, jeho specifika a podmínky pro rozvoj. Katedra cestovního ruchu, VŠE Praha, Praha 2007, Vydalo: Ministerstvo pro místní rozvoj ČR, ISBN 80-245-1159-2.
- (25) Galvasová, I., Chabičovská, K., Binek, J., Skubaničová, L., Holeček, J.: Strategie rozvoje mikroregionu Hustopečsko. Brno 2007. Dostupné na WWW: < <http://www.hornibojanovice.cz/hbsunny/2ud/pdf/strategierozvoje07.pdf/>>.

SOUTH MORAVIAN SMALL TOWNS AS DRIVING FORCE OF RURAL DEVELOPMENT: CASE STUDY TIŠNOV

Novotná K.

Department of Applied and Landscape Ecology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: kristyna.novotna@mendelu.cz

ABSTRACT

This paper aims to analyze the small south Moravian town Tišnov. The research was based on the available literature, statistical data, information from relevant authorities and the field investigation. Generally speaking, Tišnov offers its residents a convenient location near Brno and high quality environment. This town also offers its residents a wide range of amenities, standard technical equipment, quite a good job opportunities. For visitors may be attractive natural values around so the city may become the starting point for hiking and biking. To its surroundings Tišnov is significant in terms of providing city services, job opportunities, social contacts as well as a transfer point for trips to Brno. The manufacturing sector is not very developed but it is counterpoised by peaceful living. Tišnov has gradually become, mainly due to the nearby Brno, a satellite town with quality environment for living. Therefore, its further development should take more in this direction.

Key words: small town, Tišnov, rural development

Acknowledgments: This paper was written as a part of project "Current Status and Trends of South Moravian Countryside " under the grant project from the Internal Grant Agency of the Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno TP6/2010 number. It follows an earlier project of the New Prosperity for Rural Regions (Research Support Scheme OSI / HESP), which were processed in the Southern region case studies Vranov / Kunstat Jemnice and Moravia. Projects are tackled in parallel "Development interests of the Czech borderlands" of the National Research Programme II of the Ministry of Education, Youth and Sports No. 2D06001 or project "Development of European rural regions in the era of globalization" 7 Framework Programme of the European Union.

ÚVOD

Malá města jsou se svým významným podílem obyvatelstva a lokalizace nemalé části průmyslu důležitou součástí sídelní struktury středoevropského prostoru. Tato města mohou navíc představovat alternativu mezi kvalitou městského života a života na venkově. Nejen pro své obyvatele, ale také pro obyvatele zázemí hrají malá města nezastupitelnou roli. Venkovu totiž zajišťují základní městské služby, pracovní příležitosti, služby státní správy, sociální a zdravotnické služby, prostor pro sociální kontakty, sportovní a kulturní vyžití, zprostředkovávají lepší dopravní spojení do větších center.

Tento příspěvek je zaměřen na Jihomoravské malé město Tišnov a na jeho potenciál rozvoje. Město Tišnov leží na řece Svatce asi 23 km severozápadně od Brna na pomezí Českomoravské a Brněnské vrchoviny. Městu dominuje vrch Květnice a Klucanina a rozprostírá se v průměrné nadmořské výšce 256 m. Tišnovem prochází silnice II. Třídy č. 385 spojující město s Brnem a krajem Vysočina a železniční trať Brno – Havlíčkův Brod. Zároveň je město regionálním uzlem silnic II. Třídy a od hlavní železniční trati se zde odděluje regionální železniční trať č. 251 Tišnov – Bystřice pod Pernštejnem – Žďár nad Sázavou. Tišnov se skládá z pěti místních částí – Tišnov, Hajánky, Hájek, Jamné a Pejškov, kde místní části Hájek a Hajánky mají společný katastr. Hustota obyvatel na území Tišnova se pohybuje kolem 501 osob na km².

MATERIÁL A METODIKA

Přírodní charakteristiky byly zpracovány zejména z dostupné literatury. Analýza struktury obyvatelstva a bydlení vychází ze zpracování statistických dat. Jedná se zejména údaje ze sčítání lidí, domů a bytů 2001 za obce, případně sídelní jednotky. Na základě dlouhodobé retrospektivy srovnání počtů obyvatel dle sčítání lidu je analyzována dynamika obyvatelstva. Krátkodobá retrospektiva vychází z údajů bilancí obyvatelstva. Data trhu práce vychází z údajů příslušných úřadů. Výroba byla analyzována z veřejně přístupných materiálů (např. Registru ekonomických subjektů ČSÚ), informací příslušných úřadů a na základě terénního šetření. Podobně bylo postupováno i v případě dopravy, technické a občanské vybavenosti a rekreace.

VÝSLEDKY

Přírodní podmínky

Tišnov se nachází na pomezí Brněnské a Českomoravské vrchoviny, ve středu Boskovické brázdy v Tišnovské kotlině. Výraznými krajinnými dominantami jsou vrchy Květnice (470 m n.m.) a Klucanina (415 m n.m.). Město leží převážně na levém břehu Svatky, na pravém nalezneme pouze rozptýlenou zástavbu. Okolí města je také obklopeno členitým terénem s výrazným hlubokým údolím Svatky (DEMEK, 2006).

V katastru Tišnova nalezneme velmi různou půdní mozaiku. V území převládají hnědozemě modální a fluvizemě modální, dále se objevují černozemě černické i fluvické, kambizemě modální, renziny modální (vrcholová a JZ část Květnice) a pseudogleje modální. Půdní typy v katastru Tišnova patří téměř z poloviny k úrodným půdám (hnědozemě, fluvizemě) a velmi úrodným půdám (černozemě), zejména zalesněné části katastru pokrývají středně až méně úrodné půdy až málo úrodné půdy (kambizemě, renziny a pseudogleje).

Tišnov leží v klimatické oblasti mírně teplé s normálně dlouhým, mírně teplým a mírně suchým létem. Jaro i podzim jsou krátké a mírné. Zima je normálně dlouhá, mírně teplá, suchá až mírně suchá s krátkým trváním sněhové pokrývky (QUITT, 1970). Průměrná teplota je v Tišnově 8,1°C. Ročně spadne na město 579 mm, což je o 33mm méně než je srážkový normál pro danou nadmořskou výšku v ČR. Převládajícími větry v území jsou větry severozápadní, dále pak jihovýchodní.

Město Tišnov leží u řeky Svatky (průměrný průtok 7,43 m³.s⁻¹). Průtok v řece Svatce v Tišnově je ovlivňován vodní nádrží Vír, která leží 37 km nad Tišnovem. Voda ve Svatce je z hlediska kvality zařazena do 3. třídy jakosti vody, tj. voda znečištěná. Pokud budeme brát v úvahu pouze vodní toky s povodím větším než 5 km² jsou v území kromě řeky Svatky významné tyto toky: Loučka (průměrný průtok 2,13 m³.s⁻¹), Besének (průměrný průtok 0,17 m³.s⁻¹), Lomnička (průměrný průtok 0,03 m³.s⁻¹), Závistka (průměrný průtok 0,03 m³.s⁻¹), Lubě (průměrný průtok 0,17 m³.s⁻¹), Pejškovský potok (průměrný průtok 0,03 m³.s⁻¹).

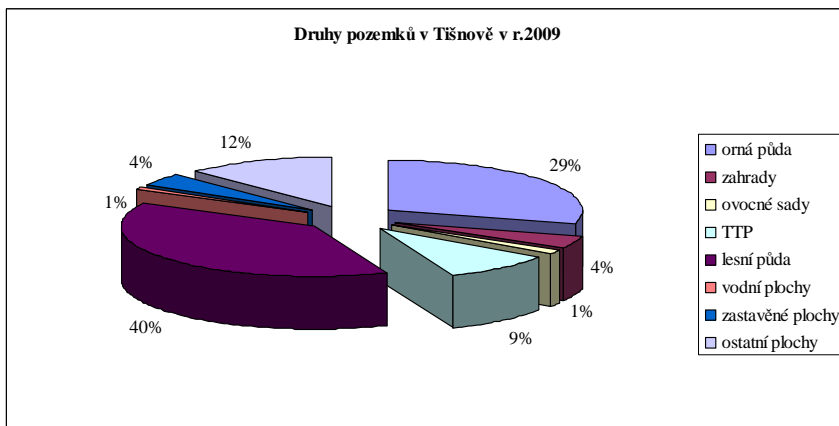
Vzhledem ke specifické geografické poloze města, členitostí jeho reliéfu a rozmanitým geologickým podložím je Tišnov charakteristický vysokou biodiverzitou. V území lze nalézt až 20 druhů zvláště chráněných rostlin (např. dub pýřitý, okrotice bílá a červená, bramborák nachový, plamének přímý, atd.) a řadu druhů zařazených do Černého a červeného seznamu cévnatých rostlin ČR (PROCHÁZKA, 2001) (např. jeřáb břek, brslen bradavičatý, černýš polní, zapalice žluťouchovitá atd.). Z hlediska zoologického je Tišnov významný především výskytem teplomilné entomofauny (LAUTERER, 2000) až 11 druhů netopýrů.

Podle fyto geografického členění spadá převážná část vlastního města do Panonského termofytika (fyto geografický okres Znojensko-brněnská pahorkatina, ostatní území do Českomoravského mezofytika (fyto geografického okresu [68] Moravské podhůří vysočiny). Culek a kol. (1996) řadí území na pomezí [1.24] Brněnského a [1.51] Sýkošského bioregionu. Katastry Tišnova patří do čtyř vegetačních stupňů – 2. bukodubového a 3. dubobukového, extrazonálně se vyskytuje 1. dubový a 4. bukový stupeň. Bez zásahu člověka by převážná část území byla pokryta různými lesními společenstvy.

Vlastní katastr má lesnatost 27,6 %, avšak ostatní katastry mají lesnatost výrazně větší (Jamné 42%, Háje s Hajánky 45% a Pejškov dokonce 65%). Celková lesnatost zájmového území se tak pohybuje kolem 38,9%. Původní listnaté lesy byly z větší části přeměněny na smrkové a borové monokultury, avšak v území se zachoval poměrně vysoký podíl listnatých porostů. Trvalé travní porosty na katastru Tišnova prakticky chybějí. Většinou byly v 60. letech rozorány (včetně nivních

luk kolem Svatky). Ostatní katastry mají podíl luk a pastvin v porovnání s katastrem Tišnova i s celorepublikovým vyšší. Část z nich je však v současnosti neobhospodařována a dochází zde k sekundární sukcesi. Rozptýlená zeleň je v katastru Tišnova zastoupena především liniiovými břehovými porosty podél toku Svatky. V katastrech integrovaných sídel jsou četné remízky, meze i zatravněné sady.

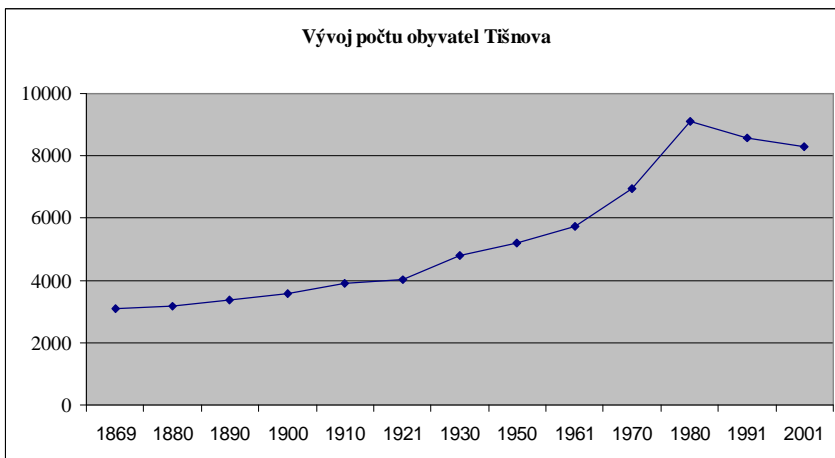
Graf 1 Druhy pozemků v Tišnově v r.2009



Z chráněných území zde nalezneme přírodní památku Květnice, která byla vyhlášena v r. 1950 a rozkládá se na rozloze 127,37 ha. Severně od Tišnova se rozkládá přírodní park Svratecká hornatina.

Obyvatelstvo a trh práce

K 31.12.2009 žilo v Tišnově 8 575 obyvatel. Z toho 4 060 mužů což představuje 47,3% populace. Z hlediska dlouhodobého vývoje počtu obyvatel města lze říci, že až do 50. let rostl počet obyvatel pouze mírně. V 50. a 70. letech 20. století byl nárůst počtu obyvatel skokový. Vrcholu dosáhl počet obyvatel v r. 1980. Od té doby až do r.2005 postupně klesal. V současnosti počet obyvatel postupně narůstá a to zejména z důvodu začlenění města do suburbanizačního pásu kolem Brna. Průměrný věk obyvatelstva je 39 let, mužů 39let, žen 41 let.



Trh práce v Tišnově je propojen s brněnským trhem práce. V současnosti je největším zaměstnavatelem v tišnovském regionu Hartmann-Rico ve Veverské Bitýšce a Siemens Electric Machines s.r.o. v Drásově, ČSAD Tišnov, spol. s r.o., Steinhauer s.r.o., TRIGA TRADE, s.r.o. Tišnov nebo MEZ a.s. v Nedvědicích. Míra nezaměstnanosti se v roce 2009 pohybovala kolem 9,48% (muži 9,58%, ženy 9,37%). V roce 2009 bylo v Tišnově evidováno 394 uchazečů o práci.

Bydlení

Při posledním sčítání lidu v roce 2001 bylo ve městě 3 146 trvale obydlených bytů v 1 059 trvale obydlených domech. Z toho bylo 981 domů rodinných. V Tišnově nalezneme většinu bytů v bytových domech. Na jeden dům v roce 2001 připadalo necelých 9,5 bytu. Strukturu trvale obydlených domů a bytů lze vidět v tab. Většina bytů v rodinných domech byla postavena do r. 1919, převážná část bytů v bytových domech v období 1947 až 1970.

Tab 1 Struktura trvale obydlených domů a bytů

Typ domu	Trvale obydlené domy		Trvale obydlené byty	
	počet	[%]	počet	[%]
Rodinné domy	833	78,7	1020	32,5
Bytové domy	208	19,6	1965	62,4
Ostatní budovy	18	1,7	160	5,1
Celkem	1 059	100,0	3 146	100,0

Výroba

V Tišnově je obhospodařováno celkem 752 ha zemědělské půdy. Z toho je 498 ha půda orná. Lze zde nalézt různé typy zemědělsky využívaných ploch, od intenzivně obhospodařovaných po podhorský typ zemědělství. Samotný Tišnov spadá do obilnářské výrobní oblasti, stejně tak i Jamné. Pejškovo spadá do bramborářské výrobní oblasti a Hájek-Hajánky do pšicinnářské. V katastrech Jamného a Hájku-Hajánek jsou registrovány méně příznivé oblasti (LFA), kategorie ostatní. Podle výsledku sčítání lidu, domů a bytů v r. 2001 pracovalo v zemědělství, lesnictví a rybnářství v Tišnově 1,83% ekonomicky aktivních obyvatel. Na území Tišnova hospodaří především společnost Agria Drásov s.r.o. Majoritním vlastníkem lesů na území města jsou Lesy ČR, s.p. Celkový počet subjektů zabývajících se zemědělstvím je ve městě 40.

Dle výsledků cenzu z r. 2001 pracovalo v průmyslu v Tišnově 31,92% ekonomicky aktivního obyvatelstva. Průmyslové aktivity se v Tišnově soustřeďují zejména do pásu táhnoucího se kolem železniční trati. Celý tišovský mikroregion lze považovat za spíše průmyslový a dříve patřil spíše k oblastem s nižší mírou nezaměstnanosti. V současnosti však nenajdeme v Tišnově žádný podnik, který by bylo možno podle počtu zaměstnanců zařadit mezi velké podniky. Mezi střední podniky lze zařadit potravinářskou firmu Stainhauser, s.r.o. (součástí podniku jsou jatky, masná výroba a prodejny masa, atd.). Dalšími významnějšími podniky jsou Kvřezáč, s.r.o. (výroba lan), Morfico, s.r.o. (výroba nekovových minerálních výrobků), Koral, s.r.o. (výroba plastových a pryžových výrobků), Mouka Tišnov, s.r.o. (výroba uzlových sítí), Guard-Murdoch, s.r.o. (výroba bezpečnostních zámků), Systra, s.r.o. (zpracování dřeva), Jicom, s.r.o. (výroba elektrických zařízení), TENST, s.r.o. (betonárna a stavitelství), TRIGA TRADE, s.r.o. (prodej nátěrových hmot a laků).

Doprava

Tišnov leží na železniční trati Brno – Havlíčkův Brod. Město je regionálním uzlem silnic II. třídy. Vzdálenost Tišnova od Brna je 23 km. Na silnici II. třídy navazuje poměrně hustá síť komunikací III. třídy. Silnice I. třídy je vzdálena 13 km. Dopravní obslužnost města Tišnova veřejnou dopravou je velmi dobrá. Veřejná doprava je součástí integrovaného dopravního systému Jihomoravského kraje.

Technická vybavenost

Vodovodní a kanalizační síť spravuje Svazek vodovodů a kanalizací Tišovsko, s.r.o. Kvalita pitné vody je v Tišnově velká. Čistírna odpadních vod se nachází na katastru obce Březnice a je společná s Předklášteřím. Tišnov byl plynofikován v 70. letech minulého století. Z tohoto důvodu je většina domácností vytápěna tímto zdrojem. Přidružená sídla plynofikována nejsou. Ve městě jsou položeny kabely pro kabelovou televizi. Území je pokryto sítěmi všech mobilních operátorů. Je zajištěn pravidelný svoz domovního odpadu a ve městě je k dispozici sběrný dvůr.

Občanská vybavenost

MENDELNET 2010

V Tišnově nalezneme dvě mateřské školy, reálně však 4. (jednu v zástavbě rodinných domů, jednu v centru města a dvě sídlištní). Kapacita těchto škol je 329 míst. Základní vzdělání zabezpečují dvě úplné základní školy s kapacitou 1370 míst. Ze středního školství zde nalezneme Gymnázium (kapacita 500 studentů) a Střední odborné učiliště (kapacita 500 studentů) s domovem mládeže (kapacita 60 míst). Kromě výše zmíněných zde nalezneme i základní uměleckou školu a dům dětí, mládeže.

Nabídka zdravotnických služeb odpovídá regionálnímu významu Tišnova. Ve městě sídlí nemocnice, která má formu příspěvkové organizace. V současné době jsou součástí nemocnice dvě lůžková oddělení - interní a následné rehabilitace (léčebna dlouhodobě nemocných) a také interní, kardiologická, diabetologická, chirurgická, neurologická, RFM a gastroenterologická ambulance, rehabilitace a lékařská služba první pomoci. Ve městě dále ordinuje 6 praktických lékařů pro dospělé a tři pro děti a dorost, sedm stomatologů, 2 gynekologové a 10 specialistů (někteří sídlí v Poliklinice Tišnov). Obyvatelům jsou k dispozici i tři lékárny.

Domy s pečovatelskou službou jsou v Tišnově dva - jeden na Králově ulici na okraji Tišnova (je v něm k dispozici 145 bytových jednotek), druhý na ulici K Čimperku (60 bytových jednotek). Oba domy spravuje příspěvková organizace Centrum sociálních služeb Tišnov, které nabízí i pečovatelskou službu seniorům žijícím ve městě. Na Purkyňově ulici sídlí dětský domov.

Z hlediska sportu je významným objektem sokolovna a k ní přiléhající areál Sdružení sportovních klubů. Ke sportovním účelům lze využívat i školní tělocvičny. U gymnázia jsou vybudovány dva volně přístupné tenisové kurty. V městské části Ostrovec nalezneme travnaté fotbalové hřiště a 4 antukové kurty tenisového klubu. V části Na krétě je umístěno koupaliště. V blízkosti se nachází též kemp a ubytovna. Dětská a sportovní hřiště jsou též na sídlištních. Na východě města je k dispozici střelnice, na jihu kynologický areál. V zámezi města (areál Klínek v Předkláštří) je i lyžařský vlek s umělým osvětlením a sněhovými děly.

Většinu kulturních akcí ve městě organizuje Městské kulturní středisko. Středisko spravuje i Kino Svatka a Galerii Jamborův dům. U příležitosti oslav patrona města sv. Václava jsou pořádány hody. Na kulturním životě města se významně podílí i členové Sokola, který je zřejmě i nejvýznamnějším spolkem ve městě. Dalším je Sdružení sportovních klubů Tišnov, fotbalový AFK Tišnov, Autoklub Tišnov, Atletický klub Tišnov, atd. Významná je i ZO Českého zahrádkářského svazu, ZO českého svazu včelařů, ZO Českého svazu chovatelů, MO Českého rybářského svazu a dále Kynologický klub a SDH Tišnov. Mládeži se věnuje Junák, Hnutí Brontosaurus, Brďo, Klub Pathfinder a OS Odyssey. Městská knihovna má oddělení jak pro děti tak i pro dospělé. Nejen turisté získají informace o městě v InfoCentru Tišnov. Tišnov je sídlem římskokatolického děkanátu. Ve městě je zastoupena i Československá církev husitská a Adventisté sedmého dne.

V Tišnově nalezneme více než 200 zařízení maloobchodu a služeb, které pokrývají prakticky veškerý sortiment. K dispozici jsou jak běžné prodejny potravin, tak večerky. Bohatě jsou zastoupeny prodejny textilu. Dále zde nalezneme např. prodejny bílé techniky, domácích potřeb,

železářství, knihkupectví, květinářství i pohřební službu. Ve městě jsou i advokátní a architektonická kancelář, cestovní kancelář, veterinární ordinace, atd. Svě zastoupení má ve městě 5 peněžních ústavů a 6 pojišťoven.

Z hlediska turistiky nemá Tišnov mnoho co nabídnout. Město postrádá výraznější kulturně historické objekty (snad jen kostel sv. Václava, barokní domy pocházející většinou ze 17. stol stojící podél hlavní silnice procházející Tišnovem, Mariánský sloup, několik secesních vil na Riegrově ulici a funkcionalistická budova městské spořitelny z r. 1933). Významou kulturní památkou je však blízký klášter Porta coeli v Předklášteří z 13. století. Z přírodních hodnot může návštěvníky Tišnova lákat přírodní park Svratecká pahorkatina či přírodní památka Květnice, NS Květnice a NS Kolem Tišnova. Na vrcholu Klucanina byla v roce 2003 otevřena rozhledna poskytující výborný výhled na město.

ZÁVĚR

Město Tišnov je střediskem poměrně rozsáhlého území, má celkem kvalitní technickou a rozsáhlou občanskou vybavenost, poměrně slušnou nabídku pracovních míst i sportovního a kulturního využití. Město využívá i výhodné polohy v blízkosti Brna a kvalitního životního prostředí. Stává se tak atraktivním místem pro bydlení. Postupně se tak stává z hlediska funkce satelitním malým městem. Tato města jsou charakteristická blízkostí většího urbánního centra (v tomto případě Brna) a postupně vzrůstající populací (v Tišnově od r. 2005). Velká část obyvatel takových měst je zaměstnána v urbánním centru. Takováto města mohou ze své vhodné polohy těžit, avšak jsou ohrožena ztrátou své identity. (LAMPÍČ, 2007) Kromě potenciálu Tišnova jako příjemného města pro bydlení, lze uvažovat o jeho potenciálu v cestovním ruchu. Tišnov je zasazen v přírodně poměrně hodnotném prostředí, v blízkosti se nachází velké turistické lákadlo v podobě kláštera Porta coeli. Z tohoto důvodu by se Tišnov mohl stát vhodným výchozím turistickým bodem. Průmysl nemá v současné době pro město výraznější význam.

LITERATURA

CULEK, M. a kol. (1996): *Biogeografické členění ČR*. Enigma Praha

ČESKÝ STATISTICKÝ ÚŘAD

DEMEK, J., MACKOVIŠKIN, P. (ed.) (2006): *Hory a nížiny : Zeměpisný lexikon ČR*. 2. Brno : AOPK ČR, 582 s. ISBN 80-86064-99-9.

LAMPÍČ, B. ŠPES, M. (ed.) (2007): *Sustainable development of small towns*. Ljubljana : Oddelek za geografio, Filozofská fakulteta, Univerza v Ljubljani, 168 s. ISBN 978-961-237-212 -5.

LAUTERER, P. (2000): *Nejvýznamnější druhy hmyzu vrchu květniceu* Tišnova. Brno, 8 s.

PROCHÁZKA, F. (ed.) (2001): *Černý a červený seznam cévnatých rostlin ČR*. Příroda, sv. 18, AOPK ČR Praha, 146 s.

QUITT, E. (1970): *Mapa klimatických oblastí ČSSR*. Kartografie, Praha.

EVALUATION OF THE ANTROPOGENETIC CHANGES IN LANDSCAPE ON EXAMPLE OF DIAKOVCE CADASTRAL TERRITORY

Pákozdiová M., Trnka P.

Department of Applied and Landscape Ecology, Faculty of Agronomy, Mendel University, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: 1Mery1@seznam.cz

ABSTRACT

This paper was derived from the diploma thesis of the same name. The objective of the thesis was to identify and to point at more or less visible changes in landscape under the pressure of human activities in Diakovce cadastral territory. This paper shows an attempt of historical analysis of Diakovce landscape structure changes with use of data available and its comparison with the recent state of studied area landscape. The analysis of the historical maps and other materials shows the changes in land use and landscape of the studied area through more than 200 years. Except that, a terrain landscape exploration was realized.

To the one of the most important results belong the digitalized versions of land use maps from the past, which were created with the aid of historical map legend signs analysis of historical military maps. Except this output, the results of the terrain landscape exploration such as geobiocenological characteristics of the studied area, the presence of protected plant species, the own photographs were presented as well. A set of measures needed to improve or at least conserve the current landscape state of the studied area were proposed.

Since agriculture has played an important role in history and development of the whole region, this has reflected in the current condition of the landscape. The landscape has been destroyed for a very long time since the first village settlements. The human impact is extremely huge in this area.

We should learn from the past and avoid mistakes of our ancestors and take the future of the face of the landscape of a place where we live and want our offspring to live into the consideration in terms of how is our village and its landscape going to be used - it is our task now what our village will look like and how it will be!

Key words: antropogenetic changes, landscape structure, landscape, human impact

ÚVOD

„Rozdielny prístup ku krajine sa začína v hlavách i v srdci.“ (M. Huba, 2008)

Prírodná krajina už v podstate v strednej Európe neexistuje, bola premenená ľudskou činnosťou. Preto v našich podmienkach hovoríme o krajine kultúrnej. Pre vývoj kultúrnej krajiny sú podstatné socioekonomické podmienky, ktoré rozhodujú o spôsobe a intenzite antropického tlaku na využívanie krajiny a ovplyvňujú tak krajinnú štruktúru. Preto sa skutočný a cieľový stav kultúrnej krajiny stále mení v závislosti na požiadavkách na ňu kladených.

Obec Diakovce leží na Podunajskej nížine a jej nižšej časti Podunajskej roviny, asi 3 km na juhozápad od okresného mesta Šaľa. Patrí medzi najstaršie na Slovensku (1. zmienka o obci pochádza z roku 1002). Priaznivé klimatické podmienky, nízka nadmorská výška a úrodná pôda špecifikujú poľnohospodársky charakter tohto územia, ktorý zmenil okolitú krajinu a krajinu samotnej obce na nepoznanie oproti minulým dobám.

Kedysi hojné lúky a pasienky nahradili rozsiahle lány polí. Lesné plochy nikdy netvorili dominantu územia okresu. Chov oviec zanikol až v 2. polovici 19. storočia (1890) kvôli lacnejším dovozom vlny z Austrálie a tak bol nahradený chovom hovädzieho dobytky a ošípaných. Zamokrené územia boli vysušené v rámci projektu odvodnenia Salibskej mokrade, ktorá sa nachádzala na veľkej časti územia obce. Starý Váh (Holt Vág) je dnes už len vyschnuté (zazemnené) rameno rieky Váh, ktorý formoval toto územie od nepamäti. Celé katastrálne územie obce je pretkané sieťou odvodňovacích a zavlažovacích kanálov. Zmizla však iná sieť, sieť poľných ciest, čím sa krajina stala nepriechodnou. Vinohradníctvo a včelárstvo s dlhou tradíciou sa z obce vytrácajú.

Intenzívnou poľnohospodárskou činnosťou boli vytlačené pôvodné lužné lesy a pretvorená krajina s prevahou bioty typickej pre poľia (škrečok poľný, rôzne burinové spoločenstvá rastlín).

V minulosti na celom území obce prirodzene prevládali pôdy lužných lesov a stepí a dnes na území intravilánu dominujú antropogénne navážky, ktorých súčasný výskyt bol v minulosti podmienený snahou o navýšenie dotknutého územia z dôvodu zvýšenej hladiny podzemnej vody a zamokrenia priľahlých pozemkov.

Zastavané územie obce je klasifikované stredným stupňom ekologickej stability, krajina mimo zastavané územie je klasifikovaná veľmi nízkym stupňom ekologickej stability. Hodnotí sa podľa miery kvality vegetácie a jej zastúpenia v katastrálnom území.

Pre obec Diakovce je teda typický vysoký stupeň antropogenizácie krajiny, ktorý sa prejavuje najmä rýchlym odnosom pôdnych častíc a intenzívnou eolickou eróziou.

MATERIÁL A METODIKA

Práca vychádzala z dostupných zozbieraných a nájdených informácií a zdrojov, či už literárnych alebo internetových. Na základe terénnych prieskumov, štúdia dostupných zdrojov a vyhotovenej fotodokumentácie bol zhodnotený súčasný stav krajinného prostredia k. ú. obce Diakovce. Na základe historických písomných materiálov a máp (mapy 1. a 2. vojenského mapovania) bol zhodnotený stav minulý krajinných zložiek prostredia obce. Z analýzy mapových značiek legend spomínaných historických máp boli vytvorené digitalizované mapy využitia územia v danej dobe (1769 – 1772 – 1. vojenské mapovanie, 1822 – 1839 – 2. vojenské mapovanie).

S využitím poznatkov hemerobie, krajinnej ekológie, geobiocenológie a iných odborne zameraných vied skúmajúcich krajinný priestor bola zhodnotená ekologická stabilita územia a miera antropogénneho vplyvu na skúmané územie. V rámci hodnotenia zmien v krajine pôsobením ľudskej činnosti bol uskutočnený výpočet KES. Osobným terénnym prieskumom boli analyzované vybrané časti sledovaného katastrálneho územia obce Diakovce na základe floristického zloženia a bol pozorovaný výskyt niekoľkých ohrozených a zákonom chránených druhov rastlín.

V práci boli analyzované a zhodnotené zmeny krajinnej štruktúry v časovom období presahujúcom dve storočia. Ak chceme totiž pochopiť, čím je krajina dnes, musíme pochopiť jej minulosť.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Cieľom práce bolo v prvom rade identifikovať a poukázať na viac alebo menej viditeľné zmeny krajiny pod tlakom ľudských aktivít. Šlo o pokus o historickú analýzu zmien krajinnej štruktúry záujmového územia, obce Diakovce a jej porovnanie so súčasným stavom krajinného prostredia.

Vlastným terénnym prieskumom bol zaznamenaný výskyt týchto druhov chránených rastlín: 1. plamienok celistvolistý (plamének celokrajný - *Clematis integrifolia*) – na Slovensku je zákonom chránený ako zraniteľný druh (VU). V ČR je v súčasnosti hodnotený ako vyhynutý druh (A1), zákon ho stále chráni v kategórii kriticky ohrozených druhov, 2. Potočník širokolistý (sevlák širokolistý – *Sium latifolium*) – v ČR silne ohrozený druh, 3. šášina prímorská (kamyšník prímorský – *Bolboschoenus maritimus*) - patrí v ČR podľa súdobých poznatkov k druhom kriticky ohrozeným (C1), ale vďaka taxonomickej problematike a nevyjasnenosti výskytu nebol do Červeného zoznamu cievnatých rastlín ČR zahrnutý, na Slovensku patrí medzi druhy ohrozené (EN), 4. štiavec močiarny (šťovík bahenný - *Rumex palustris*) – v ČR patrí medzi C1 - kriticky ohrozené druhy, na Slovensku zraniteľný druh (VU).



1.



2.



3.



4.

Na skúmanom území obce Diakovce vyšiel z výpočtu KES: 0,0378, čo znamená, že ide o krajinu devastovanú! V práci boli navrhnuté potrebné opatrenia zabraňujúce ďalším antropologickým tlakom na územie. Udržanie siete maloplošných území s nízkym stupňom antropizácie (antropogenizácie) v pozmenenej krajine okresu umožní nielen zachovanie reprezentatívnych ukážok krajiny geomorfologického charakteru, pôvodných druhov drevín a bylín a celého radu živočíchov, ale prispieje najmä k zvýšeniu ekologickej stability územia.

V rámci opatrení zabraňujúcim ďalšiemu šíreniu antropologického tlaku na územie obce bolo navrhnuté vyhlásenie prírodnej pamiatky Jelenec podľa zákona č. 543/2002 Zb. o ochrane prírody a krajiny. Tento návrh vyplýva z toho, že sa v lokálnom biocentre Jelenec vyskytuje niekoľko ohrozených druhov rastlín (uvedených vyššie). Územie je cenné nielen z hľadiska výskytu týchto druhov rastlín, ale aj výskytom mokradového biotopu ako jediného pozostatku ramennej sústavy Váhu na území obce, a preto by účelom navrhovanej prírodnej pamiatky bola primárne práve ochrana týchto druhov rastlín a horeuvedeného typu biotopu.

V danom stave, v akom sa prírodné zložky krajinného prostredia obce Diakovce nachádzajú nebolo pre nedostatok reprezentačného materiálu z minulých období možné s dostatočnou presnosťou porovnať stav minulý a súčasný všetkých týchto zložiek. Takže porovnanie je treba brať za orientačné. Dôraz bol kladený najmä na analýzu hydrologickej (pokus o rekonštrukciu toku Váhu v minulosti pretekajúceho územím obce) a rastlinnej (určenie novej prirodzenej potenciálnej vegetácie) zložky krajiny. Súčasťou práce sú aj výsledky vlastného terénneho prieskumu (geobiocenologická charakteristika, objavenie výskytu chránených druhov rastlín, vlastná fotodokumentácia a iné.)

ZÁVER

V nedávnej dobe dosiahla intenzita vplyvu človeka na krajinu a rýchlosť nežiaducich zmien v krajine kritického stavu. Porušenie ekologickej stability krajiny a prekročenie únosného množstva dodatkových energomateriálových vkladov sa od určitého prahu stáva aj limitujúcim faktorom ekonomickej efektívnosti. Pokračovanie doterajšieho exploatačného prístupu ku krajine nie je ďalej možné - viedlo by k jej deštrukcii a zrúteniu požadovaných funkcií. Preto je v záujme každého tvorcu krajinného prostredia obce usmerňovať jeho vývoj správnym smerom s ohľadom na všetky jej živé a neživé zložky. Len kontinuita tradičných hospodárskych spôsobov (napr. kosenie a spásanie) a podpora regionálnych rozdielov by mohli udržať druhové bohatstvo predindustriálnej kultúrnej krajiny.

Skúmané územie obce Diakovce patrí k devastovanej krajine (podľa výpočtu KES). Výzvou teda zostáva v súčasnom trende nepokračovať, ale zvrátiť ho a snažiť sa o zachovanie súčasne existujúcich biotopov a prírodných hodnôt, obnovu prirodzených ekosystémov a lepšie hospodárenie s pôdou! Osveta je spôsob ako oboznámiť verejnosť s dôležitosťou ochrany prírody napr. v rámci EVSK, ktoré sú základom pre tvorbu ÚSES. Najvýznamnejší je tento systém na lokálnej (miestnej) úrovni, od nej sa odvíja stabilita krajiny na vyšších úrovniach (regionálnej a národnej).

Výzvou zostáva zveľaďovanie krajinného prostredia, s ktorým súvisí odstraňovanie prehrškov minulosti (napr. revitalizácia melioračných kanálov), rozšírenie a lepšie funkčné prepojenie prvkov ÚSES na miestnej i regionálnej úrovni...

LITERATÚRA

Buček, A., Lacina, J. (2006): Geobiocenologie II: Geobiocenologická typologie krajiny České republiky. 2. upravené vydání. Brno: MZLU Brno

Huba, M. (1988): Historické krajinné štruktúry. Ochrana prírody, odborná príloha spravodaja MV ŠZOPK Bratislava, s. 62

Ipolyi, A. (2004): A deákmonostori XIII. századi román basilica, Madách-Posonium, Bratislava

József, C. (2006): Viharok szárnyán, A deáki református keresztyén egyházközség története, Kalligram, Pozsony

Lipský, Z. (1999): Sledování změn v kulturní krajině, Učební text pro cvičení z Krajinné ekologie, Česká zemědělská univerzita v Praze, Lesnická fakulta, Ústav aplikované ekologie, Kostelec nad Černými lesy, 11 s., 67 s.

<http://oldmaps.geolab.cz/> (18. 2. 2010)

ZOZNAM PRÍLOH

Príloha I Lokalizácia záujmového územia

Príloha II Mapa Land use - Zdigitalizovaná mapa 1. vojenského mapovania (1769-1772)

Príloha III Mapa Land use – Zdigitalizovaná mapa 2. vojenského mapovania (1839)

Príloha IV Mapa Land use – Súčasný stav

Príloha V Fotodokumentácia

Príloha VI Geobiocenologické snímky

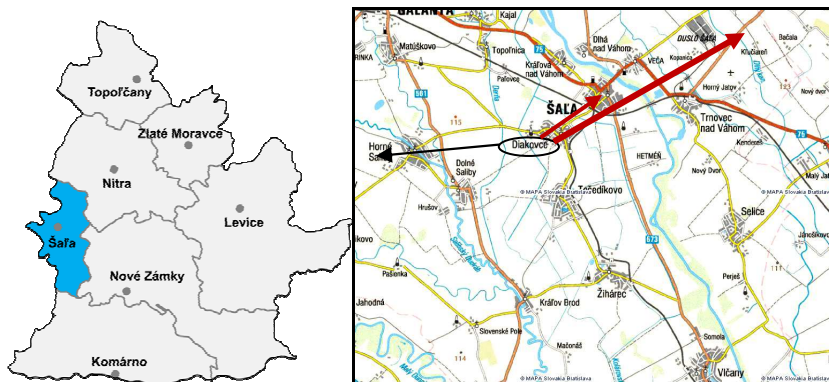
Príloha VII Model vedúcej stg

Príloha VIII Geobiocenologický profil územia

PRÍLOHY

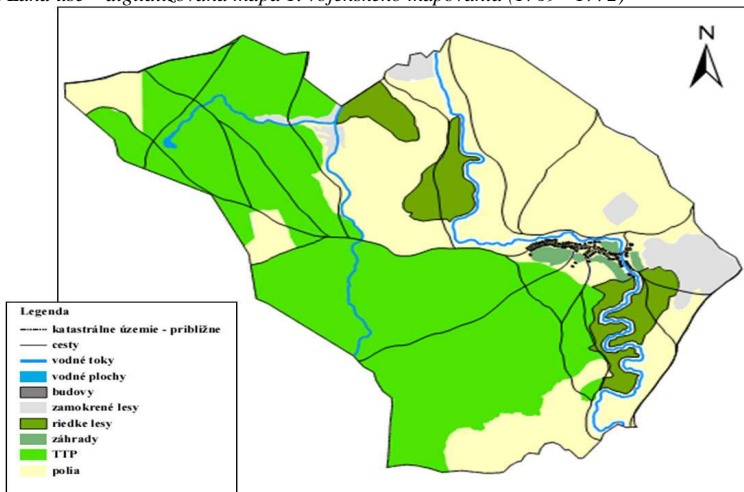
PRÍLOHA I

Lokalizácia záujmového územia



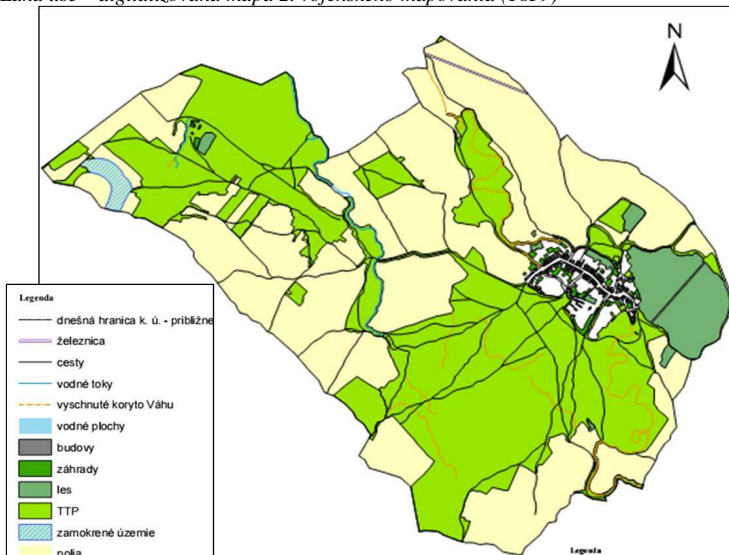
PRÍLOHA II

Mapa Land use – digitalizovaná mapa 1. vojenského mapovania (1769 - 1772)



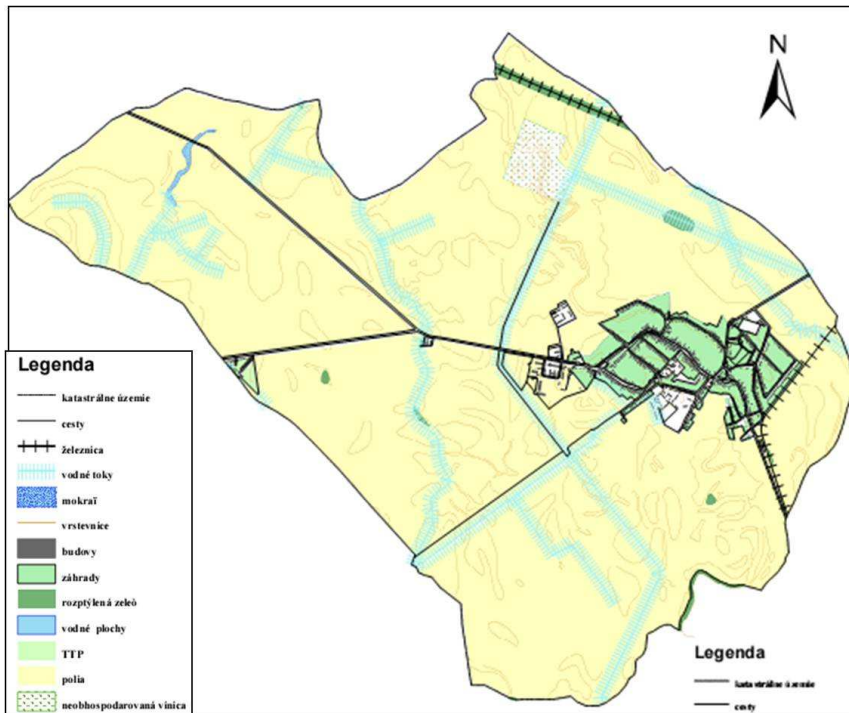
PRÍLOHA III

Mapa Land use – digitalizovaná mapa 2. vojenského mapovania (1839)



PRÍLOHA IV

Mapa Land use – súčasný stav



PRÍLOHA V

Fotodokumentácia (Zdroj: Autor)



Fotografia č. 1: Potok Derňa



Fotografia č. 2: Socha sv. Jána Nepomuckého v blízkosti Selického kanála



Fotografia č. 3: Lokálne biocentrum Jelenec

PRÍLOHA VI

Geobiocenologické snímky

číslo snímku: 1/1, **dátum:** 7. 6. 2007, **fytoгеография:** obvod eupanónskej xerotermernej flóry, časť Podunajská nížina, **k. ú.:** Diakovce, **nadmožská výška:** 115 m n. m., **sklon:** rovina, **STG:** ALS inf 1 BC 5b *Alni glutinosae – Saliceta inferiora* (olšové vrbiny nižšieho stupne)

lokalizácia: mokrad' Jelenec v lokalite Babské, asi 5 km SV od intravilánu obce Diakovce na pravom brehu, strana bližšie k Matúškovu,

charakteristika ekotopu: terénna depresia, trvale zamokrená, pôdny typ: glej, pôdotvorný substrát: nívne uloženie

antropické ovplyvnenie: priľahlá komunikácia, odpad hodený do mokrade, repové pole

tvár a veľkosť plochy: obdĺžnik 4x100 m, **aspekt:** letný, **výška hlavnej úroveň:** 20 m

synúzia drevín – celková pokrývnosť I.-III.: 60 %

I.+II. *Populus nigra* 20, *Populus alba* 10, *Cerasus avium* 1,

III. *Populus nigra* 10, *Acer campestre* 3, *Rhamnus cathartica* 3, *Cerasus avium* 1, *Padus avium* +, *Salix alba* 10, *Salix fragilis* 5

IV. *Sambucus nigra* 2, *Prunus spinosa* 5, *Ligustrum vulgare* 3, *Crataegus laevigata* 1, *Rosa canina* 1, *Rubus caesius* 1, *Bryonia alba* +, *Padus avium* 1, *Swida sanguinea* 1

V.1 *Cerasus avium* 1, *Salix alba* 1, *Sambucus nigra* 3, *Crataegus laevigata* +

synúzia podrastu – celková pokrývnosť: 40%

Phragmites communis 3, *Bolboschoenus yagara x koschewnikowii* 3, *Urtica dioica* 2, *Aristolochia clematitis* 1, *Iris pseudacorus* +, *Phalaris arundinacea* 2, *Aegopodium podagraria* 1, *Ficaria verna* 2, *Anthriscus sylvestris* 1, *Galium aparine* 1, *Glechoma hederacea* 2, *Lamium maculatum* 1, *Poa palustris* 2, *Caltha palustris* 1, *Galium palustre* +, *Calystegia sepium* 1, *Humulus lupulus* +, *Symphytum officinale* +, *Lycopus europaeum* +, *Lycopus exaltatus* +, *Ballota nigra* +, *Onopordum acanthinum* +, *Typha latifolia* 1

číslo snímku: 1/2, **dátum:** 7. 6. 2007, **fytogeografia:** obvod eupanónskej xerothermnej flóry, časť Podunajská nížina, **k. ú.:** Diakovce, **nadmorská výška:** 115 m n. m., **sklon:** rovina, **STG:** AIS inf 1 BC 5b *Alni glutinosae – Saliceta inferiora* (olšové vrby nižšieho stupňa)

lokalizácia: mokrad' Jelenec v lokalite Babské, asi 5 km SV od intravilánu obce Diakovce na ľavom brehu, strana bližšia k Diakovciam,

charakteristika ekotopu: terénna depresia, trvale zamokrená, pôdny typ: glej, pôdotvorný substrát: nivné uloženie

antropické ovplyvnenie: príľahlá komunikácia, odpad hodený do mokrade, pšeničné pole

tvar a veľkosť plochy: obdĺžnik 4x100 m, **aspekt:** letný, **výška hlavnej úrovne:** 20 m

synúzia drevín – celková pokryvnosť I.-III.: 65 %

I.+II. *Populus nigra* 25, *Populus alba* 10,

III. *Salix alba* 10, *Salix fragilis* 5, *Populus nigra* 10, *Acer campestre* 1, *Rhamnus cathartica* +, *Robinia pseudoaccacia* 1,

IV. *Sambucus nigra* 2, *Prunus spinosa* 5, *Ligustrum vulgare* 3, *Lycium halimifolium* 1, *Rubus caesius* 1+, *Bryonia alba* 1, *Swida sanguinea* 1

V.1 *Populus nigra* 3, *Salix alba* 2, *Sambucus nigra* 3, *Padus avium* +

synúzia podrastu – celková pokryvnosť: 60%

Phragmites communis 2, *Bolboschoenus yagara x koschewnikowii* 3, *Urtica dioica* 3, *Aristolochia clematitis* 1, *Phalaris arundinacea* 2, *Aegopodium podagraria* 2, *Anthriscus sylvestris* 1, *Ficaria verna* 2, *Galium aparine* 1, *Glechoma hederacea* 1, *Lamium maculatum* +, *Poa palustris* 2, *Caltha palustris* 1, *Galium palustre* +, *Calystegia sepium* 1, *Humulus lupulus* +, *Bromus sterilis* 1, *Artemisia vulgare* 1, *Agropyron repens* 1, *Silene vulgaris* +, *Rumex hydrolapathum* +, *Lycopus europaeum* 1, *Lathyrus tuberosum* +, *Sium latypholium* +, *Myosoton aquaticum* +, *Chaerophyllum bulbosum* 1, *Typha latifolia* 1

číslo snímku: 2/1, **dátum:** 7. 6. 2007, **fytogeografia:** obvod eupanónskej xerothermnej flóry, časť Podunajská nížina, **k. ú.:** Diakovce, **nadmorská výška:** 115 m n. m., **sklon:** rovina,

STG: UFrc inf 1 BC (3) – 4 *Ulm* – *Fraxineta carpini inferiora* (habrojilmové jaseniny nižšieho stupne)

lokalizácia: tok Jelenec, strana ľavého brehu, 700 m od cestného mosta

charakteristika ekotopu: pozostatok tvrdého luhu, pravidelne nezaplavovaný, pôdny typ: fluvizem, pôdotvorný substrát: piesky a štrkopiesky

antropické ovplyvnenie: kukuričné a pšeničné pole

tvar a veľkosť plochy: obdĺžnik 4x100 m

aspekt: letný, **výška hlavnej úrovne:** 15 m

synúzia drevín – celková pokryvnosť I.-III.: 40%

I.+II. *Quercus robur* 1, *Populus alba* 5, *Populus nigra* 10, *Populus canescens* 3, *Tilia cordata* +

III. *Populus nigra* 10, *Robinia pseudoaccacia* 5, *Pyrus pyraeaster* +, *Cerasus avium* 1, 5

IV. *Rosa canina* 1, *Prunus spinosa* 2, *Sambucus nigra* 2, *Tilia cordata* +, *Padus avium* +, *Acer campestre* +, *Swida sanguinea* 1, *Euonymus europaeum* +, *Crataegus laevigata* +

V.1 *Populus nigra* 3, *Salix alba* 1, *Sambucus nigra* 1,

synúzia podrastu – celková pokryvnosť: 60%

Phragmites communis 1, *Urtica dioica* 2, *Aegopodium podagraria* 1, *Anthriscus sylvestris* 1, *Galium aparine* 1, *Calystegia sepium* 1, *Bromus sterilis* 2, *Artemisia vulgare* 1, *Agropyron repens* 1, *Rumex acetosa* +, *Equisetum arvense* +, *Cardaria draba* +, *Geum urbanum* +, *Symphytum officinale* +, *Avena fatua* 1, *Salvia nemorosa* +, *Onopordum acanthinum* 1, *Glechoma hederacea* 1, *Rubus caesius* 1, *Galium aparine* 1, *Dactylis polygama* +, *Milium effusum* +

číslo snímku: 3/1, **dátum:** 7. 6. 2007, **fytogeografia:** obvod eupanónskej xerotermej flóry, časť Podunajská nížina, **k. ú.:** Diakovce, **nadmorská výška:** 115 m n. m., **sklon:** rovina, **STG:** Sa inf 1 B – C 5a *Saliceta albae inferiora* (vrby vrby biele nižšieho stupne)

lokalizácia: bezprostredná

charakteristika ekotopu: mäkký luh, brehový porast ľavého brehu Jelenca, pravidelne zaplavovaný, pôdny typ: fluvizem, pôdotvorný substrát: piesky a štrkopiesky

antropické ovplyvnenie: kukuričné a pšeničné pole

tvar a veľkosť plochy: obdĺžnik 4x100 m

aspekt: letný, **výška hlavnej úrovne:** 15 m

synúzia drevín – celková pokryvnosť I.-III.: 40%

I.+II. *Populus alba* 5, *Populus nigra* 10,

MENDELNET 2010

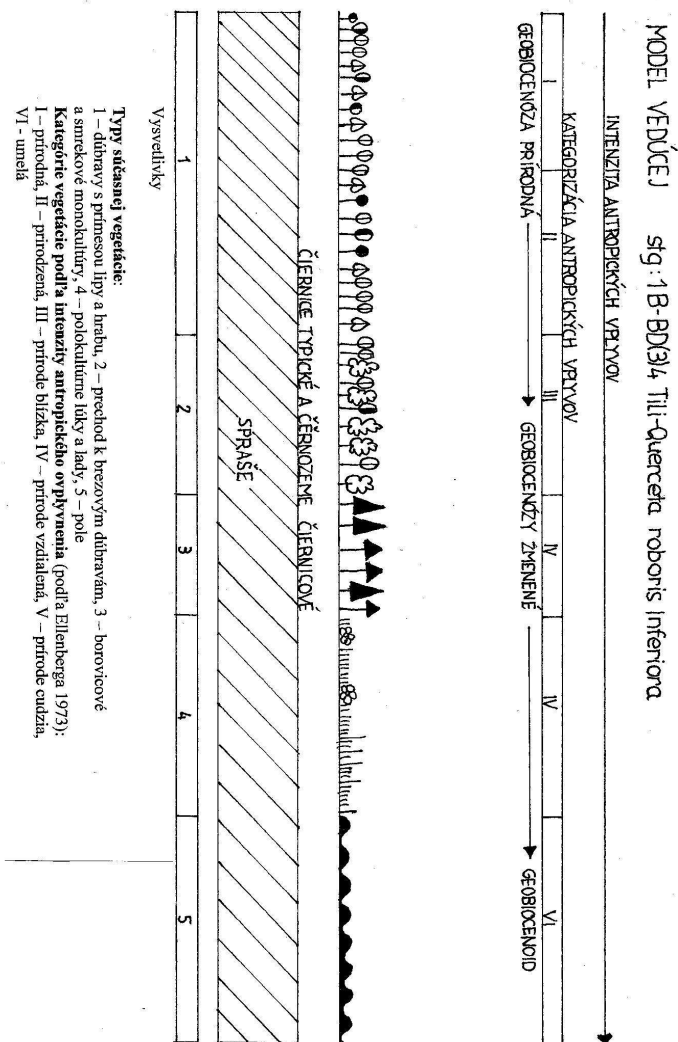
- III. *Populus nigra* 10, *Salix alba* 10, *Salix fragilis* 5
- IV. *Rosa canina* 1, *Prunus spinosa* 2, *Sambucus nigra* 2, *Acer campestre* +, *Swida sanguinea* +, *Euonymus europaeum* +,
- V.1 *Populus nigra* 3, *Salix alba* 1, *Sambucus nigra* 1,

synúzia podrastu – celková pokryvnosť: 40%

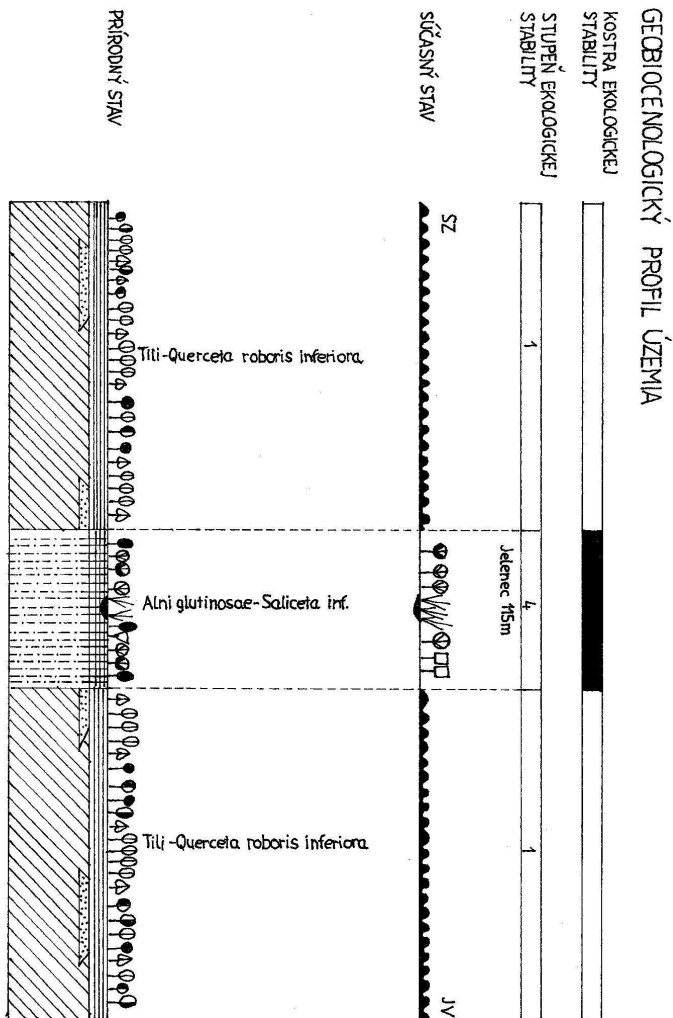
Phragmites communis 3, *Bolboschoenus yagara x koschewnikowii* 2, *Urtica dioica* 1, *Bryonia alba* 1, *Humulus lupulus* +, *Phalaris arundinacea* 1, *Aristolochia clematitis* 1, *Calystegia sepium* +, *Anthriscus sylvestris* +, *Aegopodium podagraria* +

PRÍLOHA VII

Model vedúcej stg



















Geobiocenologický profil územia




Vysvetlivky

GEOBIOCENOLOGICKÝ PROFIL ÚZEMIA A MODEL VEDÚCEJ stg


Vegetácia:

 <i>Quercus robur</i>	 <i>Salix alba</i>	 <i>Pinus sylvestris</i>
 <i>Quercus petraea</i>	 <i>Salix cinerea</i>	 <i>Picea abies</i>
 <i>Tilia cordata</i>	 <i>Alnus glutinosa</i>	 <i>Phragmites communis</i>
 <i>Carpinus betulus</i>	 <i>Fraxinus excelsior</i>	 pole
 <i>Ulmus minor</i>	 <i>Populus alba</i>	
 <i>Acer campestre</i>	 <i>Betula pendula</i>	

Pôdovorný substrát:

 štrky a štrkopiesky


 spráše

 nívné uložiny

 krajinné segmenty patriace do kostry ekologickej stability

Pôdy:

 čiernice typické a černoze čiernicové

 glej

Stupeň ekologickej stability:

0 – žiadny, 1 – veľmi nízky, 2 – nízky, 3 – stredný, 4 – vysoký, 5 – veľmi vysoký

THE PLAN OF ANTIEROSION MEASURES IN THE AREA OF UHERSKÉ HRADIŠTĚ

Sochorec M., Knot P.

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

E-mail: m.sochorec@seznam.cz

ABSTRACT

The goal of this thesis was to plan antierosion measures in the area of Uherské Hradiště. Based on analysis of current state of natural conditions, the average long-term soil loss by erosion and a level of erosion threat in particular areas were figured out by using of the Universal Wischmeier and Smith Equation. Values of acceptable soil loss were exceeded in most of areas. Therefore, organizational, agrotechnical and technical anti-erosion measures were planned for preservation of long-term fertility of soils.

From the total land area of 419.3 hectares, there is the average soil loss of 5100.0 tonnes. After antierosion measures in the first variation, loss decreased to the value of 1139.5 tonnes. In the case of second variation, the average soil loss decreases to 593.3 tonnes.

Key words: water erosion, USLE, acceptable soil loss, anti-erosion measures

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

Eroze je přírodní proces, při kterém vlivem působení vody, větru, ledu, případně jiných činitelů dochází k rozrušování povrchu půdy a odnosu půdních částic a jejich následnému usazování.

Eroze půdy ohrožuje dva omezené a nenahraditelné přírodní zdroje – půdu a vodu. Snižováním půdní úrodnosti se ochuzuje nejurodnější část zemědělské půdy – ornice. Transportované půdní částice a na nich vázané látky znečišťují vodní zdroje. Transport chemických látek uvolněných z půdy tekoucí vodou způsobuje v mnoha případech zhoršení jakosti povrchových i podzemních vod a současně i ztrátu živin pro vegetaci.

V České republice je vodní erozí ohroženo přibližně 42 % orné půdy a 7,5 % erozí větrnou. Příčinou je intenzivní využívání půdy a hospodaření na velkých půdních celcích, které vznikly dřívější formou hospodaření. Následkem je ztráta nejurodnější vrstvy půdy, zhoršení kvality vody a vznik škod v intravilánech měst a obcí.

MATERIÁL A METODIKA

Řešené pozemky se nachází na jižní Moravě, ve Zlínském kraji, v severní části Dolnomoravského úvalu, v centru středního Pomoraví, v katastrálním území Uherské Hradiště.

Nejprve byla provedena analýza současného stavu přírodních poměrů v řešeném území. Poté byl vypočítán účinek hlavních faktorů ovlivňujících vodní erozi způsobovanou přivalovými dešti, který nejdokonaleji vyjadřuje tzv. univerzální rovnice pro výpočet průměrné dlouhodobé ztráty půdy erozí z pozemků dle Wischmeiera, Smithe (1978):

$$G = R * K * L * S * C * P,$$

kde:

G = průměrná dlouhodobá ztráta půdy (t.ha⁻¹.rok⁻¹),

R = faktor erozní účinnosti deště - vyjádřený v závislosti na četnosti výskytu, úhrnu, intenzitě a kinetické energii deště,

K = faktor erodovatelnosti půdy - vyjádřený v závislosti na textuře a struktuře ornice, obsahu organické hmoty a propustnosti,

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. (Janeček a kol., 2008)

Podkladem pro stanovení jednotlivých faktorů byly mapy BPEJ M 1:5000 a mapy katastrálního území Uherské Hradiště M 1:10 000. Faktor erozní účinnosti přívalového deště byl stanoven jako průměrná roční hodnota pro Staré Město $22,4 \text{ MJ} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{cm} \cdot \text{h}^{-1}$. Údaje o výměrách jednotlivých pozemků byly získány z Veřejného registru půdy LPIS.

Stupeň eroze se stanoví jako násobek přípustné ztráty půdy. U hlubokých půd se stupeň eroze 1 (eroze nepatrná) pohybuje do $10 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$, stupeň 2 (eroze střední) v rozmezí $10 - 20 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$, stupeň 3 (eroze silná) mezi $20 - 30 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$ a stupeň 4 (eroze velmi silná) nad $30 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$.

Pokud vypočítaná ztráta půdy překračuje hodnoty přípustné ztráty stanovené dle hloubky půdního profilu u jednotlivých pozemků, jsou navrženy organizační, agrotechnická nebo technická protierozní opatření. Opětovným dosazením pozmeněných faktorů po návrhu opatření do univerzální rovnice se zjistí jejich účinnost.

Jako organizační opatření byly navrženy protierozní osevní postupy, ochranné zatravnění a pásové střídání plodin.

Základem pro organizační opatření jsou osevní postupy. Tyto postupy jsou nenákladné a upravují organizaci a strukturu plodin.

Dalším organizačním opatřením je ochranné zatravnění, které se používá na pozemcích větších sklonů, jež nelze využít jako ornou půdu. Pro zatravnění navrhuji směs s dostatečným podílem výběžkatých trav, které mají nejvyšší protierozní účinek a zajišťují vytrvalost porostu. Tyto druhy mají zpravidla pomalejší počáteční vývoj, a proto se doplňují druhy s rychlejším růstem. Optimálně zapojený travní porost je nejlepší protierozní ochranou.

Při pásovém střídání plodin se vkládají různě široké pásy s plodinami méně erozně ohroženými (travní porost, vojtěška, jetel, obilovina) na pozemek s pěstovanou erozně ohroženou plodinou. Šířka a počet pásů plodin chránících před erozí se volí dle velikosti sklonu a typu svahu.

Jako agrotechnické protierozní opatření je zvoleno setí do slámy obilní předplodiny ponechané na povrchu půdy jako mulč, který se vhodným nářadím částečně zapraví a rovnoměrně rozprostře po pozemku. Dále pak bezorebný výsev kukuřice do strniště obiloviny, u které byla sláma sklizena, z důvodů využití pro živočišnou výrobu s kypřením pouze vysévaných řádků.

Důlkování povrchu půdy spočívá v zabránění vzniku povrchového odtoku vytvořením dostatečných prostor pro spadlé srážky přímo na pozemku. Realizuje se speciálním strojem – důlkovačem.

Pro vybrané území byly jako technické opatření navrženy protierozní meze s průlehem, zasakovací pásy a zatravněné údolnice.

Protierozní mez s průlehem je trvalou překážkou soustředěného povrchového odtoku a je složena ze tří částí: zasakovacího pásu nad mezí, vlastního tělesa meze a odváděcích pásů. Mez je vedena ve směru vrstevnic, fixace směru pomocí výsadby stromové a keřové zeleně. Návrh ozelenění vychází z výběru přirozené druhové skladby. Pro přejíždění zemědělské techniky se část meze sníží a ponechá se jen průleh o šířce 12 m. Kromě protierozní funkce má význam i z hlediska krajinné estetického a má vliv na zvýšení biodiverzity v území. Protierozní mez vyžaduje jen minimální údržbu ve srovnání s jinými druhy protierozních opatření.

Zasakovací pásy se navrhují na svažitých pozemcích podél vrstevnic, kde se střídají s plodinami nedostatečně chránícími půdu. Účinnost zasakovacích pásů spočívá v převedení povrchově stékající vody, v odtok podpovrchový.

Zatravněné údolnice se navrhují k ochraně pozemků během přivalových dešťů a jarního tání sněhu, kdy dochází zejména na příčné zvlněných pozemcích k soustředování povrchového odtoku do přirozených úžlabin a údolnic. Nejlepší ochranou je použití vegetačního pokryvu.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Z výsledků práce uvedených v tabulce č. 1 je zřejmé, že navržená protierozní opatření sníží průměrnou dlouhodobou ztrátu půdy na úroveň přípustné ztráty půdy.

Stupeň erozního ohrožení číslo 1 (eroze nepatrná) byl zjištěn na 3,8 % plochy, stupeň číslo 2 (eroze střední) je zastoupena na 82,35 % a stupeň číslo 4 (eroze velmi silná) se nachází na 13,85 % řešeného území. Stupeň eroze číslo 3 (eroze silná) se v daném území nevyskytuje.

Pro vypracování návrhu protierozních opatření jsem navrhl 2 varianty (viz graf č. 1). V první variantě jsem zohlednil ekonomické hledisko hospodářského subjektu. Aby nedocházelo k vysokým finančním ztrátám, je zachováno pěstování širokořádkových plodin na svažitých pozemcích. První varianta snížila průměrnou dlouhodobou ztrátu půdy o 77,66 %, z celkové ztráty 5100,03 tun na hodnotu 1139,50 tun po návrhu protierozních opatření.

Přípustná ztráta půdy stanovená podle hloubky půdního profilu je pro hluboké půdy, které se nacházejí na většině řešených pozemků, $10 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$. Avšak z údajů mnoha autorů vyplývá, že rychlost tvorby půd se pohybuje okolo $1 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$. Přitom, i když je na pozemku stupeň eroze 1 (eroze nepatrná), může docházet k většímu odnosu půdy až do $10 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$. To je mnohem víc, než kolik se jí dokáže vytvořit a půdní úrodnost tak může celá desetiletí klesat bez povšimnutí. Například na pozemku Pod garážemi nebyla překročena přípustná ztráta půdy, avšak dochází zde k značnému průměrnému smyvu okolo $8 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$, proto i zde byla navržena protierozní opatření.

Vliv eroze také může vytvářet příhodné podmínky pro eutrofizaci vod, kdy dochází k splachu živin z polí do řek. Jak uvádí Janeček a kol. (2008), je dle nejnovějších studií přípustná hodnota smyvu,

MENDELNET 2010

kteřý ještě nezpůsobuje výraznějši eutrofizaci vod v rozmezí od 0,5 do 2 t.ha⁻¹.rok⁻¹. Jelikož v blízkosti pozemků protéká potok Olšovec, kteřý je přítokem řeky Olšavy, bylo bráno také toto hledisko v úvahu při návrhu protierozních opatření.

Ve druhé variantě bylo tedy cílem udržet ztrátu půdy v rozmezí hodnot rychlosti tvorby půdy a omezit podmínky pro eutrofizaci vod. Proto bylo vynecháno pěstování širokořádkových plodin na svažitých pozemcích. Druhá varianta snížila průměrnou dlouhodobou ztrátu půdy o 88,37 %, z celkové ztráty 5100,03 tun na hodnotu 593,25 tun, což je téměř o polovinu méně než u varianty první.

Východní část pozemku Horní pole nad školou, byla zatravněna u obou variant, jelikož je zde stupeň eroze 4 (eroze velmi silná) se značným sklonem svahu, jehož patu tvořtí potok Olšovec. Všechny tři lokality označené jako Horní pole, jsou od sebe nedostatečně odděleny, což by mohlo vést k ohrožení pozemků položených níže, cizí vodou z území ležících výše. Proto byly tyto celky odděleny pomocí protierozních mezí s dřevinami, které by navázaly na již existující liniové prvky a remízky.

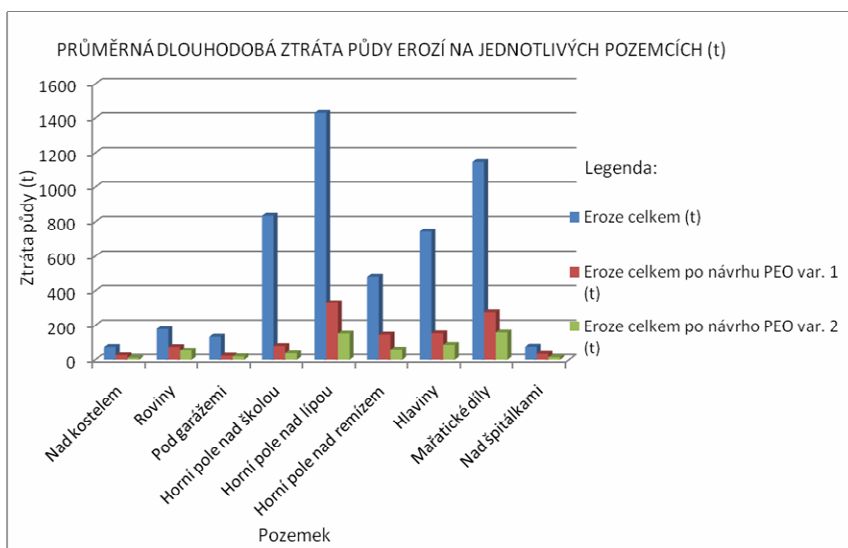
Dle Janečka (2008) je vhodné velké půdními bloky rozdělit v rovinných územích do půdních bloků o velikosti 50 ha a ve členitějších územích do bloků o velikosti 20 ha s převažujícími délkami ve směru vrstevnic. Toto rozdělení bylo provedeno protierozními mezemi s doprovodnou vegetací, což má kromě protierozní funkce vliv z hlediska krajinně estetického a zvyšuje se tím i biodiverzita v krajině.

Výsledky práce byly pro lepší přehlednost vyznačeny do map vytvořených pomocí softwaru CorelDRAW.

Tab. 1 Porovnání smyvu půdy na jednotlivých pozemcích

Pozemek	Výměra (ha)	Stupeň eroze	Stupeň eroze po návrhu PEO	Eroze celkem (t)	Eroze celkem po návrhu PEO var. 1 (t)	Eroze celkem po návrhu PEO var. 2 (t)
Nad kostelem	12,29	2	1	75,62	25,21	10,56
Roviny	36,90	2	1	178,45	74,92	54,14
Pod garážemi	15,31	1	1	133,83	23,05	19,99
Horní pole nad školou	55,71	4	1	834,20	81,23	37,35
Horní pole nad lípou	83,01	2	1	1429,20	328,74	151,28

Horní pole nad remízem	34,91	2	1	483,36	145,01	59,84
Hlaviny	43,70	2	1	742,98	152,79	87,89
Mařatické díly	106,84	2	1	1145,47	274,71	158,02
Nad špitálkami	13,68	2	1	76,92	33,83	14,17
Celkem	419,3	-	-	5100,03	1139,50	593,25



Obr. 1 Průměrná dlouhodobá ztráta půdy na jednotlivých pozemcích

ZÁVĚR

Ve své práci jsem se zabýval vodní erozí, na katastrálním území Uherské Hradiště, jelikož je na tomto území i celosvětově velkým problémem. Tato problematika by se neměla přehlížet, neboť jejím důsledkem může být trvalá ztráta půdní úrodnosti a zhoršení kvality vody, znečišťováním povrchových i podzemních vodních zdrojů chemickými látkami používanými v zemědělství.

Po stanovení faktorů způsobujících vodní erozi, byla vypočítána univerzální rovnice, která určila průměrnou dlouhodobou ztrátu půdy erozí. Tam kde vypočítaná ztráta půdy překračovala přípustné

ztráty půdy, byly navrženy protierozní opatření. Opětovným dosazením pozměněných faktorů po návrhu opatření do univerzální rovnice se zjistila jejich účinnost.

Na pozemcích byla použita jako organizační protierozní opatření: protierozní osevní postup, ochranné zatravnění a pásové střídání plodin. Pro agrotechnická opatření byly zvoleny protierozní osevní postupy s využitím protierozní agrotechniky a důlkování povrchu půdy. Z technických opatření byly použity protierozní meze s průlehy, zasakovací pásy s průlehy a zatravnění údolnic.

Hospodaření zemědělských subjektů na velkých půdních celcích vzniklé dřívější formou hospodaření ještě stále přetrvává u většiny zemědělských subjektů, které většinou nemají zájem na udržování půdní úrodnosti. Avšak jednou z možností vedoucí ke zlepšení tohoto stavu by mohly být projekty komplexních pozemkových úprav, ve kterých je protierozní ochrana obsažena v plánu společných zařízení.

Výsledkem práce je snížení eroze pod přípustné hodnoty ztráty půdy, zlepšení přístupnosti krajiny, zvýšení její krajinně estetické funkce a v neposlední řadě i zvýšení biodiverzity, při použití obou variant.

LITERATURA

JANEČEK M. a kol., 2008 *Základy erodologie*. Česká zemědělská univerzita, Praha, 172 s.

SOCHOREC M., 2010: *Návrh protierozních opatření v katastrálním území Uherské Hradiště*. Diplomová práce (in MS, dep. knihovna MENDELU v Brně), Mendelova univerzita v Brně, Brno, 87 s.

ASSESSMENT OF EFFECTIVENESS OF MECHANICAL-BIOLOGICAL WASTE WATER TREATMENT

Ševčíková J., Vítěz T., Groda B.

Department of Agriculture, Food and Environmental Engineering, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xmarkov3@node.mendelu.cz

ABSTRACT

This paper deals with the evaluation of effectiveness of wastewater treatment (WWT) plant in small village. The aim of the work is to compare measured effectiveness with value legislation and the projected values. The composition of the mechanical-biological WWT plant and sampling locations are illustrated in the first section. The methodology of assessment of WWT plant effectiveness together with legislative requirements are described in detail. The effectiveness of the studied WWT plant was measured on relevant pollution indicators, e.g. biochemical oxygen demand, chemical oxygen demand, pH, etc. Comparing studied indicators with local environment authority one can conclude that the effectiveness of WWT was adequate. However, according to decree of government no. 61/2003 Sb. the average effectiveness of WWT was not sufficient for any measured pollution indicator.

Key words: wastewater, wastewater treatment, treatment efficiency, pollution indicators

ÚVOD

Na celém světě dochází v současnosti k problémům s vodou, kterou je třeba nejen šetřit, ale také použitou vodu účinně vyčistit. Úroveň znečištění odpadních vod se liší především z hlediska jejich producentů. Rozdílné složení mají odpadní vody z vesnických sídel a jiné z městských oblastí, ve kterých dochází k průmyslové výrobě.

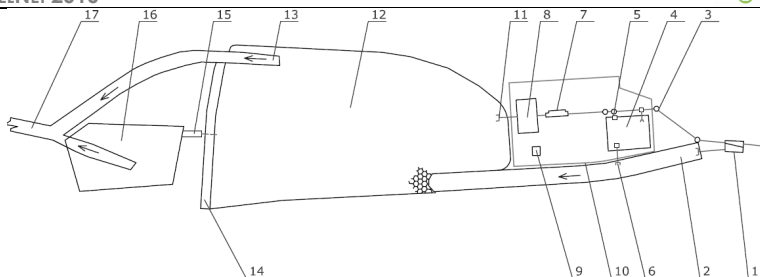
Čištění odpadních vod principiálně rozlišujeme na přírodní a klasické. Přírodní čistírny je vhodné používat pro čištění splaškových vod pocházející z rodinných domů, penzionů ve vesnicích, atd., protože pro svoji funkčnost vyžadují velkou plochu. Klasické čištění odpadních vod se používá pro vesnice i pro střední a velká průmyslová města [5]. Nejčastějším typem čistírny odpadních vod (ČOV), používaným v České republice, je mechanicko-biologická čistírna, která čistí odpadní vodu s využitím stejných dějů, jaké probíhají při samočištění vody v toku, pouze na menším prostoru. Čištění v čistírnách je intenzivnější a rychlejší, protože podmínky pro čištění jsou uměle podporovány [6].

Studovaná ČOV se nachází v obci na hranicích Moravského krasu, přibližně 30 km severně od Brna. V obci je vybudovaná mechanicko-biologická čistírna, jejíž biologický stupeň tvoří stabilizační nádrž. Trvalý provoz ČOV byl zahájen v lednu 2005. Před výstavbou ČOV bylo v roce 1995 provedeno odbahnění stabilizační nádrže. Čistírna je naprojektovaná na 560 ekvivalentních obyvatel (EO), přičemž v současnosti je na jednotnou kanalizaci, která končí ČOV, napojených 700 obyvatel obce.

Čistírna se skládá z primárního a sekundárního stupně. Primární stupeň tvoří šterbinový lapák písku, hrubé česle, dešťová nádrž a mělká kombinovaná nádrž. Sekundárním stupněm je pak samotná stabilizační nádrž [2]. Situační schéma ČOV, s vyznačenými odběrnými místy P1 a P3, je znázorněno na obr. 1. Odběrné místo P1 se nachází na přítoku odpadní vody na mechanický stupeň ČOV. Odběrné místo P3 značí odtok vyčištěné odpadní vody ze stabilizační nádrže.

MATERIÁL A METODIKA

Za účelem získání charakteristického složení odpadní vody byl odběr vzorků prováděn mechanicky, sléváním osmi dílčích vzorků stejného objemu v intervalu 15 minut, tzv. dvouhodinový směšný vzorek. Během sledovaného období dvanácti měsíců (březen 2009 – únor 2010) bylo provedeno osm odběrů odpadní vody na přítoku na mechanický stupeň ČOV (odběrné místo P1) a na odtoku ze stabilizační nádrže (odběrné místo P3). V den odběru byly vzorky transportovány v chladících přenosných boxech do akreditované laboratoře VODÁRENSKÉ AKCIOVÉ SPOLEČNOSTI, a.s. - divize Boskovice ke stanovení vybraných ukazatelů znečištění.



1	odlehčovací komora s boční přepadovou hranou	10	oplocený areál mech. stupně ČOV
2	obtokové koryto	11	P2 - odtok OV z mech. stupně do stabilizační nádrže
3	P1 - přítok OV na ČOV	12	stabilizační nádrž
4	dešťová nádrž	13	bezpečnostní přeliv
5	měrná šachta - Parshallův žlab	14	hráz stabilizační nádrže
6	odtok OV z dešťové nádrže do obtokového koryta	15	P3 - kaskáda
7	štěrbinový lapák písku a česle	16	umělý mokřad
8	mělká kombinovaná nádrž	17	receptent - Kotvrdovický potok
9	provozní přístřešek		

Obr. 1. Situační schéma ČOV

K hodnocení účinnosti čištění ČOV byly vybrány a sledovány následující ukazatele: biochemická spotřeba kyslíku (BSK_5), chemická spotřeba kyslíku ($CHSK_{Cr}$), nerozpuštěné látky (NL), pH, amoniakální dusík ($N-NH_4$), dusitanový dusík ($N-NO_2$), dusičnanový dusík ($N-NO_3$), anorganický dusík (N_{anorg}) a celkový fosfor (P_{celk}). V tabulce 1 jsou uvedeny přípustné „p“ a maximální „m“ hodnoty na odtoku z ČOV, které má obec povinnost dodržovat podle rozhodnutí Referátu životního prostředí Okresního úřadu Blansko a s nimiž jsou porovnány naměřené hodnoty ukazatelů znečištění z profilu P3. Jedná se o tyto ukazatele: BSK_5 , $CHSK_{Cr}$, NL, $N-NH_4$.

Tab. 1 Limitní přípustné „p“ a maximální „m“ hodnoty na odtoku z ČOV [3]

Ukazatel	„p“ [mg/l]	„m“ [mg/l]
BSK_5	25	62
$CHSK_{Cr}$	95	160
NL	27,6	65
$N-NH_4$	19	38

U všech sledovaných ukazatelů znečištění je uvedena účinnost čistírny při jejich redukcí. U ukazatelů BSK_5 , $CHSK_{Cr}$ a NL je vypočtená účinnost srovnána s přípustnou minimální účinností čištění vypouštěných odpadních vod podle Nařízení vlády č. 61/2003 Sb., v platném znění, pro ČOV 500 až 2000 EO. Toto nařízení vlády stanovuje přípustnou minimální účinnost čištění odpadních vod BSK_5 na 80 %, $CHSK_{Cr}$ na 70 % a NL na 80 % [1].

Účinnost čistícího procesu E [%] je definována normou ČSN 75 6401 jako poměr mezi odstraněnou koncentrací znečišťujících složky a koncentrací složky vstupující do systému. Účinnost odstraňování složky A v systému je dána vztahem [4]:

$$E_A = \frac{C_{A1} - C_{A2}}{C_{A1}} \cdot 100 \quad [\%] \quad (1)$$

kde C_{A1} je hmotnostní koncentrace složky A na vstupu do systému v [mg/l] a C_{A2} je hmotnostní koncentrace složky A na výstupu ze systému v [mg/l].

VÝSLEDKY A DISKUZE

Naměřené hodnoty v všech sledovaných parametřích znečištění jsou znázorněny v tabulce 2.

Biochemická spotřeba kyslíku

Průměrná hodnota BSK₅ za sledované období byla na přítoku na ČOV 8,6 mg/l a na odtoku 5,6 mg/l. Naměřené hodnoty nepřekročily přípustné (25 mg/l) a maximální (62 mg/l) hodnoty na odtoku z ČOV. Účinnost čistírny při redukci BSK₅ je 34,1 %. Přípustná minimální účinnost čištění vypouštěných odpadních vod musí být pro BSK₅ 80 %. Čistírna nesplňuje nařízený limit o 53,9 %.

Chemická spotřeba kyslíku

Průměrná hodnota CHSK_{cr} za sledované období byla na přítoku na ČOV 35,1 mg/l a na odtoku 29,1 mg/l. Naměřené hodnoty nepřekročily přípustné (95 mg/l) a maximální (160 mg/l) hodnoty na odtoku z ČOV. Účinnost čistírny při redukci CHSK_{cr} je 17,1 %. Přípustná minimální účinnost čištění vypouštěných odpadních vod musí být pro CHSK_{cr} 70 %. Čistírna nesplňuje nařízený limit o 52,9 %.

Nerozpuštěné látky

Průměrná hodnota NL za sledované období byla na přítoku na ČOV 9,6 mg/l a na odtoku 4,4 mg/l. Naměřené hodnoty nepřekročily přípustné (27,6 mg/l) a maximální (65 mg/l) hodnoty na odtoku z ČOV. Účinnost čistírny při redukci NL je 53,7 %. Přípustná minimální účinnost čištění vypouštěných odpadních vod musí být pro NL 80 %. Čistírna nesplňuje nařízený limit o 26,3 %. Hodnoty ze dne 1.7.2009 byly vyřazeny, protože u vzorku na odtoku se evidentně jedná o chybu v průběhu měření.

Dusitanový dusík

Průměrná hodnota N-NO₂ za sledované období byla na přítoku na ČOV 0,358 mg/l a na odtoku 0,422 mg/l. Účinnost čistírny při redukci N-NO₂ NO₂ není možno číselně vyjádřit, z výsledků je patrné že došlo ke zvýšení koncentrace tohoto ukazatele na odtoku z ČOV o 0,064 mg/l

Dusičnanový dusík

Průměrná hodnota N-NO₃ za sledované období byla na přítoku na ČOV 9,26 mg/l a na odtoku 6,8 mg/l. Účinnost čistírny při redukci N-NO₃ je 26,6 %.

Amoniakální dusík

Průměrná hodnota N-NH₄ za sledované období byla na přítoku na ČOV 6,44 mg/l a na odtoku 5,81 mg/l. Naměřené hodnoty nepřekročily přípustné (19 mg/l) a maximální (38 mg/l) hodnoty na odtoku z ČOV (Tab. 7). Účinnost čistírny při redukci N-NH₄ je 9,8 %.

Anorganický dusík

Průměrná hodnota N_{anorg} za sledované období byla na přítoku na ČOV 16 mg/l a na odtoku 13,1 mg/l. Účinnost čistírny při redukci N_{anorg} je 18,6 %.

Celkový fosfor

Průměrná hodnota P_{celk} za sledované období byla na přítoku na ČOV 1,09 mg/l a na odtoku 1,01 mg/l. Účinnost čistírny při redukci P_{celk} je 6,9 %.

Tab.2. Hodnoty sledovaných ukazatelů znečištění z odběrných míst P1 a P3 a účinnost ČOV

Datum odběru	BSK ₅ (mg/l) účinnost (%)			CHSK _{cr} (mg/l) účinnost (%)			NL (mg/l) účinnost (%)			N _{anorg} (mg/l) účinnost (%)		
	P1	P3	(%)	P1	P3	(%)	P1	P3	(%)	P1	P3	(%)
25.3.2009	5.1	4.7	7.8	21	20	4.8	6	8	-33.3	19.8	18.4	7.1
29.4.2009	11.2	9.1	18.8	42	41	2.4	5	10	-100.0	19.0	13.3	30.0
10.6.2009	13.0	6.9	46.9	56	40	28.6	14	2	85.7	17.0	14.0	17.6
1.7.2009	4.3	2.8	34.9	27	32	-18.5	(12)	(70)	(-483.3)	15.3	11.2	26.8
4.8.2009	3.2	2.2	31.3	35	25	28.6	3	3	0.0	15.2	10.1	33.6
13.10.2009	8.5	6.1	28.2	38	37	2.6	10	4	60.0	16.0	12.4	22.5
17.11.2009	5.9	3.1	47.5	14	8	42.9	4	2	50.0	9.8	10.4	-6.1
9.2.2010	17.2	10.2	40.7	48	30	37.5	25	2	92.0	16.2	14.7	9.3
min.	3.2	2.2		14	8		3	2		9.8	10.1	
max.	17.2	10.2		56	41		25	10		19.8	18.4	
průměr	8.6	5.6	34.1	35.1	29.1	17.1	9.6	4.4	54.2	16.0	13.1	18.6

Datum odběru	N-NH ₄ (mg/l) účinnost (%)			N-NO ₂ (mg/l) účinnost (%)			N-NO ₃ (mg/l) účinnost (%)			P _{celk} (mg/l) účinnost (%)		
	P1	P3	(%)	P1	P3	(%)	P1	P3	(%)	P1	P3	(%)
25.3.2009	1.57	1.05	33.1	0.075	0.112	-49.3	18.11	17.21	5.0	0.4	0.4	0.0
29.4.2009	9.70	3.36	65.4	0.762	0.876	-15.0	8.55	9.11	-6.5	1.4	0.7	50.0
10.6.2009	13.04	12.72	2.5	0.367	0.149	59.4	3.92	0.94	76.0	1.8	2.3	-27.8
1.7.2009	2.18	3.97	-82.1	0.242	0.314	-29.8	12.85	6.90	46.3	0.5	0.7	-40.0
4.8.2009	4.10	2.67	34.9	0.624	0.653	-4.6	10.45	6.73	35.6	0.7	0.4	42.9
13.10.2009	9.08	11.23	-23.7	0.364	0.083	77.2	6.57	1.04	84.2	1.4	2.0	-42.9
17.11.2009	2.40	2.02	15.8	0.116	0.248	-113.8	7.26	8.18	-12.7	0.5	0.4	20.0
9.2.2010	9.47	9.46	0.1	0.311	0.939	-201.9	6.39	4.29	32.9	2.0	1.2	40.0
min.	1.57	1.05		0.075	0.083		3.92	0.94		0.4	0.4	
max.	13.04	12.72		0.762	0.939		18.11	17.21		2.0	2.3	
průměr	6.44	5.81	9.8	0.358	0.422	-17.9	9.26	6.80	26.6	1.09	1.01	6.9

Z tabulky 2 je patrné, že u všech sledovaných ukazatelů znečištění je redukce těchto ukazatelů na odtoku z ČOV velmi nízká. V mnoha případech jsou dokonce hodnoty sledovaných ukazatelů znečištění na odtoku vyčištěné odpadní vody (P3) vyšší, než na přítoku odpadní vody na ČOV (P1). Toto je způsobeno přítokem nečištěné odpadní vody do stabilizační nádrže přes obtokové koryto a také vyplavováním usazených sedimentů ze stabilizační nádrže. Z tohoto důvodu čistírna odpadních vod

MENDELNET 2010

nesplňuje přípustnou minimální účinnost čištění vypouštěných odpadních vod dle Nařízení vlády č. 61/2003 Sb., v platném znění.

Naměřené hodnoty ukazatelů znečištění BSK₅, CHSK_{cr}, NL, N-NH₄ nepřesáhly během sledovaného období přípustné „p“ a maximální „m“ hodnoty na odtoku z ČOV dle rozhodnutí Referátu životního prostředí Okresního úřadu Blansko.

pH

Průměrná naměřená hodnota na profilu P1 je 7,32 a hodnota na profilu P3 7,47. Naměřené hodnoty odpovídají rozmezí hodnot pH u splaškových vod, které je 6,8-7,5. Všechny naměřené hodnoty pH na profilech P1 a P3 jsou uvedeny v tabulce 3.

Tab. 3 Hodnoty pH z odběrných míst P1 a P3

Datum odběru	Číslo protokolu	pH	Číslo protokolu	pH
	P1		P3	
25.3.2009	0847/2009	7,460	0849/2009	7,380
29.4.2009	1125/2009	7,450	1127/2009	8,610
10.6.2009	1501/2009	7,480	1503/2009	7,460
1.7.2009	1704/2009	6,890	1706/2009	7,170
4.8.2009	275/4O1/09	6,720	277/4O1/09	6,960
13.10.2009	3103/4O1/09	7,450	586/4O1/09	7,580
17.11.2009	753/4O1/09	7,740	755/4O1/09	7,470
9.2.2010	144/4O1/10	7,340	146/4O1/10	7,150
Průměrná hodnota		7,32		7,47

ZÁVĚR

Tato práce je zaměřena na hodnocení účinnosti mechanicko-biologické čistírny odpadních vod. Pomocí osmi vzorků, odebíraných v průběhu 12 měsíců, byly stanoveny hodnoty ukazatelů znečištění odpadní vody, jmenovitě BSK₅, CHSK_{cr}, NL, pH, N-NH₄, N-NO₂, N-NO₃, N_{anorg} a P_{celk}.

Účinnost čistírny byla po studovanou dobu velmi malá a nespĺňovala přípustnou minimální účinnost čištění vypouštěných odpadních vod, stanovenou Nařízením vlády č. 61/2003 Sb., v platném znění. Pro BSK₅ byla naměřena průměrná účinnost celé čistírny za sledované období 34,1 %, pro CHSK_{cr} 17,1 % a pro NL 53,7 %. U ukazatelů, které nejsou dle legislativy limitovány, byly naměřené průměrné hodnoty účinnosti čištění ČOV pro N-NH₄ 9,8 %, pro N-NO₂ došlo ke zvýšení koncentrace tohoto ukazatele na odtoku z ČOV, oproti přítoku o 0,064 mg/l, pro N-NO₃ 26,6 %, pro N_{anorg} 18,6 % a pro P_{celk} 6,9 %. Naměřené hodnoty pH odpovídaly hodnotám pro odpadní vody. Naměřené hodnoty ukazatelů BSK₅, CHSK_{cr}, NL, N-NH₄ z profilu P3 byly porovnány s přípustnými a maximálními hodnotami na odtoku z ČOV, které má obec povinnost dodržovat podle rozhodnutí Referátu životního prostředí Okresního úřadu Blansko. Průměrné naměřené hodnoty nepřekročily dané limity.

Zřizovateli ČOV bylo navrženo napojení celé kanalizační sítě na právě rekonstruovanou ČOV ve vedlejší obci, avšak tato varianta však s sebou nese vysoké finanční nároky.

LITERATURA

[1] Nařízení vlády č. 61 ze dne 28. února 2003 o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech. V *Sbírka zákonů České republiky*. 2003, částka 24.

[2] Provozní řád pro trvalý provoz ČOV Kotvrdovice, Brno, leden 2005

[3] Rozhodnutí Referátu životního prostředí, Č.J.: RŽP/1870/99-Tř o vydání povolení k vybudování vodohospodářského díla „*Čistírna odpadních vod Kotvrdovice – lokalita č.1, a související nakládání s vodami*“, Blansko, 13.10.1999

[4] Sdružení oboru vodovodů a kanalizací ČR. *Metodický pokyn oboru ochrany vod MŽP k nařízení vlády č. 229/2007 Sb., kterým se mění nařízení vlády č. 61/2003 Sb., o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech* [online]. 2007. [cit. 2009-10-29]. Dostupné z www: http://www.sovak.cz/sites/File/MP_k_novele_NV_61_final.doc>

[5] Tlapák, V.; Šálek, J.; Legát, V. *Voda v zemědělské krajině*. 1. vyd. Praha : Zemědělské nakladatelství Brázda, 1992. 320 s. ISBN 80-209-0232-5.

[6] Vítěz, T.; Groda, B. *Čištění a čistírny odpadních vod*. 1. vyd. Brno: MZLU v Brně, 2008. 126 s. ISBN 978-80-7375-180-7.

EVALUATION OF HEAVY METALS CONTENT IN SOIL AND HARVESTED PRODUCTION IN ENVIRONMENTALLY UNLOADED AREA OF CENTRAL SLOVAKIA

Szabóová G., Tomáš J., Bončíková D., Bajčan D.

Department of Chemistry, Faculty of Biotechnology and Food sciences, Slovak University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

E-mail: gabika.szaboova@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this work were pointed to importance of the monitor and evaluation of soil as well as evaluation of the quality and wholesomeness of the production on the reference plot in unloaded and heavily utilized agricultural area of central Slovakia.

Soil samples were analysed to determine changeable soil reaction, humus content in soil Tyurin in modification of the method according to Nikitin, 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. Heavy metal content of harvested production (*Pisum sativum L.*) was determined after “wet” mineralization (*MAARS Xpress*) and consequently measured in *VARIAN AA 240 Z* graphite oven. The data were presented in the form of printed content maps which were created by ArcView 3.2 computer program.

Results of the study pointed out, that level of the furrow layer contamination of the observed plot is relatively low, which creates favorable conditions for the elimination of the transition of observed contaminants through the system soil-plant-food material. Results of the observed contents of the heavy metals, reached by this study, confirmed the hypotheses of the level of contamination of the pea plant production *Pisum sativum, L.*

Key words: contamination, heavy metals, cadmium, chrome

Acknowledgments: This work has been supported by *VEGA 1/0339/08*

ÚVOD

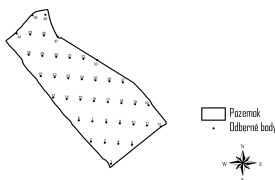
Problém kontaminácie ťažkými kovmi vystúpil do popredia nástupom priemyselnej revolúcie, kedy technologické postupy pri využívaní uhlia a iných prírodných zdrojov viedli k intenzívnej tvorbe emisných zlúčenín, ktorých súčasťou boli okrem oxidov uhlíka, síry a dusíka aj ťažké kovy (Zhenli et al., 2005). Vo väčšine vyspelých krajín je v súčasnosti prvoradou úlohou starostlivosť o kontaminovanú pôdu z dôvodu perzistencie ťažkých kovov v životnom prostredí a negatívneho pôsobenia na prostredie a ľudské zdravie (Cui et al., 2005).

K ťažkým kovom patria jednak biologicky nezastupiteľné mikroelementy (napr. Cu, Zn) ako i početné neesenciálne chemické prvky (Cd, Pb, Cr atď.). V pôdach sa nachádzajú v rôznych koncentráciách, oxidačných stupňoch i väzbách. Ich riziká spočívajú v ekotoxícite i v kumulácii v abiotických a biotických zložkách prostredia. Toxické sú aj biologicky nezastupiteľné mikroelementy ak prekročia určitú koncentráciu (Cances et al., 2003; Bajčan et al., 2007; Tóth et al., 2007).

Zvyšovaním obsahu ťažkých kovov v pôde dochádza zároveň k nárastu ich obsahu v potravinách rastlinného ako aj živočíšneho pôvodu, čo má za následok nepriaznivý vplyv na zdravie ľudí. Ďalším nepriaznivým dôsledkom pôsobenia rizikových prvkov je pokles úrody a kvality poľnohospodárskych plodín. Preto sa kontaminácia pôd ťažkými kovmi zaraďuje k najvýznamnejším problémom ochrany pôd a životného prostredia (Jómová et al., 2005)

MATERIÁL A METODIKA

Sledovaný pozemok Békató sa nachádza v katastrálnom území obce Vinica v okrese Veľký Krtíš. Záujmový pozemok je lokalizovaný na nasledovných koordinátoch: 48°06,963' severnej šírky (φ) a 19°06,275' východnej dĺžky (λ). Rozloha pozemku je 57,6 ha. Odberové miesta (39) predstavujú spojnice 5 sekundového rastra, ktorým sme prekryli plochu pozemku. BPEJ pozemku je 0448002 z čoho vyplýva, že pôdny typ pôdy pozemku je hnedozem luvizemná - HMI, pôdny druh stredne ťažká – hlinitá. Nadmorská výška týchto bodov sa pohybovala v intervale 192 – 197 m n. m.. Pozemok je charakterizovaný rovinným reliéfom. Hranice a presná lokalizácia sledovaného pozemku je znázornená na obrázku č. 1.



Obr.1 Hranice pozemku a lokalizácia odberových bodov

Vzorky pôdy sme odobrali v roku 2009. Odber vzoriek pôdy a rastlinného materiálu sme vykonávali pomocou metodiky vytipovania, navigovania a lokalizácie za použitia príručného navigačného zariadenia GPS – GARMIN 60 Cx, z hĺbky 0,0 – 0,3 m (pôda). Odberné miesta sme určili prekrytím pozemku rastrom s hustotou mriežky 5 s.. Vzorky sme spracovali a upravili podľa príslušných noriem (Linkeš et al., 1997). Vo všetkých vzorkách pôdy sme následne stanovili výmennú pôdnu reakciu a obsahu humusu, ako aj obsahy sledovaných rizikových prvkov, pričom analytickou koncovkou bola atómová absorbná spektrometria na prístroji *VARIAN AA 240 FS* :

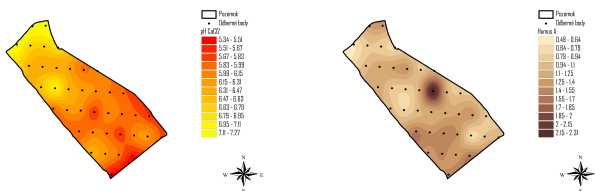
- pôdna reakcia pH/CaCl₂ – výmenná pôdna reakcia,
- obsah organického uhlíka oxidometricky Ľurinovou metódou,
- výpočet obsahu humusu v pôde Ľurinovou metódou v modifikácii podľa Nikitina.
- obsah Cd, Cr vo výluhu lúčavky kráľovskej,
- obsah Cd, Cr vo výluhu 1 mol.dm⁻³ NH₄NO₃,

Vzorky rastlinného materiálu (struky hrachu siateho – *Pisum sativum*) sme odobrali v štádiu technologickej zrelosti v roku 2009 z každého odberného bodu. Po vylúpaní z hrachu sme semená podrobili analýze na stanovenie obsahu sledovaných ťažkých kovov po mineralizácii „mokrou cestou“ mikrovlnným rozkladom na prístroji *MARS X-press*. Analytickou koncovkou bola taktiež atómová absorbná spektrometria na prístroji *VARIAN AA 240 Z*.

VÝSLEDKY A DISKUZE

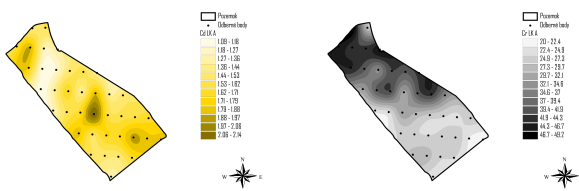
Pôdna reakcia je limitujúci faktor správania sa ťažkých kovov v pôdnom prostredí a vo veľkej miere vplýva na ich prechod systémom pôda – rastlina – potravinárska surovina (Abbas et al., 2007). Pôdna reakcia sledovaného pozemku je definovaná najmä substrátom, na ktorom pôda vznikla. Medzi dôležité faktory ovplyvňujúce pôdnu reakciu patria aj klimatické podmienky, ktoré na stanovišti prevládajú. Podľa Atlasu SR (2002) sa na sledovanom pozemku sa vyskytuje pôda slabo kyslá až slabo alkalická. Náš výskum toto tvrdenie potvrdil, pričom na sledovanom pozemku sa výmenná pôdna reakcia pohybovala v intervale 6,08±0,45 (medián ± smerodajná odchýlka). Pomerne vysoká hodnota smerodajnej odchýlky poukazuje na relatívne vysokú variabilitu nameraných údajov, čo je spôsobené pravdepodobne veľkou plochou pozemku vo vzťahu k intenzívnej poľnohospodárskej činnosti a aktívnemu zavlžovaniu. Namerané údaje výmennej pôdnej reakcie vytvárajú prostredie v ktorom bude pravdepodobne silne eliminovaný prechod kontaminantov systémom pôda – rastlina (Rooney et al., 2006).

Obsah humusu, resp. kvalita (podiel humínových a fulvo kyselín) patrí medzi základné faktory, ktoré ovplyvňujú správanie sa rizikových prvkov v pôdnom prostredí a taktiež vplýva na acidobázickú rovnováhu pôdneho roztoku. Na sledovanom pozemku sa obsah humusu pohyboval v intervale 1,15±0,31 %. Takéto obsahy humusu v pôde je možné definovať ako nízke (slabo až stredne humózna pôda) s priemerným rizikom prechodu ťažkých kovov do potravinového reťazca (Madejon et al., 2006). Získané údaje o výmennej pôdnej reakcii a obsahu humusu na sledovanej ploche sú znázornené na obr.2.



Obr. 2 Plošné znázornenie charakteristiky výmennej pôdnej reakcie (vľavo) a obsahu humusu v % (vpravo) na sledovanom pozemku

Extrakcia rizikových prvkov lúčavkou kráľovskou predstavuje ich pseudototálny obsah v pôde, ktorý definuje ich celkový obsah v takmer všetkých jej zložkách (okrem silikátov a aluminosilikátov – z dôvodu neschopnosti ich rozložiť). Obsah kadmia sa v orníčovom horizonte pohyboval v intervale $1,56 \pm 0,23 \text{ mg.kg}^{-1}$, čo na úrovni mediánu predstavuje prekročenie limitnej hodnoty ($0,7 \text{ mg.kg}^{-1}$) o viac ako 125 %. Najvyššiu koncentráciu kadmium dosahovalo na odbernom mieste 16 v strednej časti pozemku, čo zároveň koreluje aj s najnižšou zistenou hodnotou výmennej pôdnej reakcie. Obsah chrómu sa na pozemku pohyboval na úrovni strednej hodnoty $29 \pm 8,36 \text{ mg.kg}^{-1}$. Pomerne vysoká hodnota smerodajnej odchýlky poukazuje na vysokú variabilitu a nehomogenitu obsahu chrómu na sledovanom pozemku. Najvyššiu hodnotu obsahu Cr sme zaznamenali na odberných miestach 37 a 38. Získané údaje o obsahu Cd a Cr na sledovanej ploche sú znázornené na obr.3.



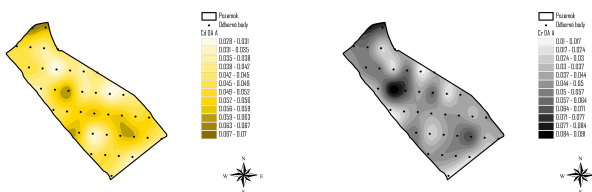
Obr. 3 Plošné znázornenie pseudototálneho obsahu sledovaných rizikových prvkov (Cd: žltá; Cr: sivá) na sledovanom pozemku v mg.kg^{-1}

Celkový obsah rizikovým prvkom nie je smerodajným indikátorom ich biopristupnosti (Feng et al., 2005; Alvarez et al., 2006). Z toho dôvodu je potrebné identifikovať obsah mobilných frakcií, ktoré sa nachádzajú v pôdnom roztoku a sú teda ľahko prijateľné rastlinami. Tento obsah sme získali pôsobením NH_4NO_3 s $c = 1 \text{ mol.dm}^{-3}$.

V prípade jedného z najväčších kontaminantov – kadmia, obsah jeho mobilných frakcií úzko koreloval s jeho obsahom vo výluhu lúčavky kráľovskej, čo je vo veľkej miere spôsobené takmer identickým priebehom výmennej pôdnej reakcie na sledovanom pozemku. Obsah mobilnej frakcie Cd sa pohyboval v intervale $0,046 \pm 0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$. Aj pri najvyššej koncentrácii, ktorú sme zaznamenali ($0,068 \text{ mg.kg}^{-1}$ – odberný bod 38) nedošlo k prekročeniu kritickej hodnoty ($0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$

¹), avšak táto hodnota nekorelovala s jeho celkovým obsah na sledovanom odbernom bode. Obsah chrómu sa na úrovni mediánu pohyboval v intervale $0,045 \pm 0,017 \text{ mg.kg}^{-1}$. V prípade chrómu legislatíva neurčuje kritickú hodnotu, avšak je možné konštatovať, že v porovnaní s celou plochou pozemku došlo k lokálne extrémnemu zvýšeniu koncentrácie sledovaného prvku na odberných miestach 22 a 38 ($0,80$ a $0,90 \text{ mg.kg}^{-1}$), čo je v porovnaní so strednou hodnotou zvýšenie až o 100 %.

Zvýšené koncentrácie mobilných foriem sledovaných rizikových prvkov lokálneho charakteru naznačujú na ich zvýšený prechod systémom pôda – rastlina, čo sa môže negatívne prejaviť na hygienickej kvalite nadzemnej fytomasy a dopestovaných bobúľ hrachu záhradného (Árvaý, 2009). Plošné znázornenie obsahu mobilných foriem Cd a Cr na sledovanej ploche sú znázornené na obr.4.



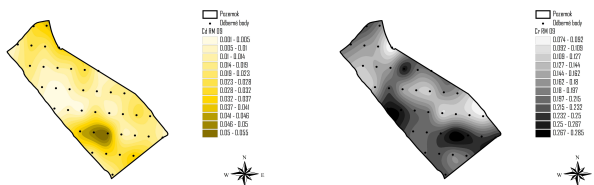
Obr. 4 Plošné znázornenie obsahu mobilných foriem sledovaných rizikových prvkov (Cd: žltá; Cr: sivá) na sledovanom pozemku v mg.kg^{-1}

Plodiny z čeľade *Fabaceae* patria medzi druhy, ktoré sú charakteristické pomerne veľkou listovou plochou vo vzťahu k celkovému habitu rastliny (najmä hrach), čo napovedá aj na zvýšený prechod rizikových prvkov z pôdy prostredníctvom transpiračného prúdu.

Strukoviny, obzvlášť hrach, sú plodiny, ktoré sa využívajú na monitoring úrovne kontaminácie agroekosystému ťažkými kovmi (Hattab et al., 2009), z čoho vyplýva, že pre túto čeľaď je charakteristický zvýšený príjem rizikových prvkov.

Obsah kadmia v semenách hrachu záhradného sa pohyboval v intervale $0,016 \pm 0,012 \text{ mg.kg}^{-1}$, čo nasvedčuje na vysokú variabilitu obsahu sledovaného prvku vo vzorkách z celého pozemku. Obsah kadmia v semenách hrachu prekročil najvyššie prípustné množstvo (ďalej NPM) iba na jednom odbernom bode (8), pričom pravdivosť tohto údaju potvrdzuje aj obsah Cd na vedľajšom odbernom bode, kde bola jeho koncentrácia na úrovni NPM ($0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$). Najväčšiu hodnotu obsahu Cd sme zaznamenali na odbernom bode 8 a 7, čo je v negatívnej korelácii s obsahom jeho mobilných frakcií, avšak v pozitívnej korelácii s výmennou pôdnou reakciou.

V prípade chrómu sme zaznamenali v strednej časti pozemku 3 lokálne zvýšené hodnoty v porovnaní s celou plochou pozemku (odberné body 9, 10 a 13). Je obsah sa pohyboval na úrovni strednej hodnoty v intervale $0,20 \pm 0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$, pričom ani v jednom prípade sme nezaznamenali prekročenie NPM ($4,0 \text{ mg.kg}^{-1}$). Všetky získané údaje sa pohybovali hlboko pod NPM. Plošné znázornenie obsahu Cd a Cr v semenách hrachu sú znázornené na obr. 5.



LITERATURA

- Abbas, S. T., Sarfras, M., Mehdi, S. M., Hassan, G., Rehman, O. U. (2007): Trace element accumulation in soil and rice plants irrigated with the contaminated water. *Soil Tillage resources* 94(2): 503 – 509.
- Alvarez, J.M., Lopez-Valdivia, L.M., Novillo, J., Obrador, A., Rico, M.I. (2006): Comparison of EDTA and sequential extraction tests for phytoavailability prediction of manganese and zinc in agricultural alkaline soils. *Geodetka* 132(3-4): 450–463.
- Árvay, J. (2009): Monitoring poľnohospodársky využívaných pôd a na nich dopestovaných plodín pomocou GPS v rôzne environmentálne zaťažených oblastiach Slovenska. Dizertačná práca, Nitra: SPU, 185.
- Atlas krajiny Slovenskej republiky (2002). Bratislava: MŽP SR a Esprit spol. s r.o., 342. ISBN: 80-88833-27-2.
- Bajčan, D., Lahučký, L., Stanovič, R., Árvay, J. (2007): Hygiena poľnohospodárskych plodín dopestovaných na metalicky zaťažených aluviálnych pôdach. IX. Banskoštiavnické dni 2007. Zvolen: TU Zvolen, s. 33-38 ISBN 978-80-228-1786-8.
- Cances, B., Ponthieu, M., Castrec-Rouelle, M., Aubry, E., Benedetti, M. F. (2003): Metal ions in soil and its solution: experimental data and model result. *Geoderma*, 113(3-4): 341-355.
- Cui, Y. J., Zhu, Y. G., Zhai, R. H., Huang, Y., Qiu, Y., Liang, J. Z. (2005). Exposure to metal mixtures and human health impacts in a contaminated area in Nanning, China. *Environment International* 31(6): 784–790
- Feng, X.H., Tan, W.F., Liu, F. (2005): The pathways of birnessite formation in alkali medium. *Science in China*, 48(3): 1418-1431.
- Hattab, S., Chouba, L., Ben Kheder, M., Mehouchi, T., Boussetta, H. (2009): Cadmium and copper induced DNA damage in *Pisum sativum* roots and leaves as determined by the Comet assay. *Plant Biosystème*, 143 (S1): S6 – S11.
- Jomová, K., Zima, M., Hegedusová, A., Tóth, T. (2005): Vstup ťažkých kovov do konzumnej časti cíccera v závislosti od pôdnych vlastností. Zborník z 57. zjazdu chemických spoločností. Tatranské Matliare, sept. 2005. *ChemZi*, 1/1, s.265- 266, ISSN 1336-7242.
- Linkeš, V., Kobza, J., Švec, M., Ilka, P., Pavlenda, P., Barančíková, G., Matuščíková, L. (1997): Monitoring pôd SR. Súčasný stav monitorovaných vlastností pôd 1992-96., VÚPÚ Bratislava, ÚKSUP Bratislava, Lesoprojekt Zvolen, 128s., ISBN 80-85361-35-3.
- Madejon, P., Murillo, J. M., Maranon, T., Cabrera, F., Soriano, M. A. (2003): Trace element and nutrient accumulation in sunflower plants two years after the Aznalcollar mine spill. *Science of Total Environment*, 307(1-3): 239 – 257.

Rooney, C. P., Zhao, F. J., McGrath, S. P. (2006): Soil factors controlling the expression of copper toxicity to plants in a wide range of European soils. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25(3): 726 – 732.

Tóth, T., Lazor, P., Vollmannová, A., Tomáš, J., Jomová, K., Čéry, J. (2007). Vstup ťažkých kovov do pôdy. *Chemzi: slovenský časopis o chémii pre chemické vzdelávanie, výskum a priemysel*. - Bratislava : Slovenská chemická spoločnosť, 3 (1): 125, ISSN 1336-7242.

Zhenli, L. He., Xiaoe, E. Y., Stoffella, P. J. (2005): Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 19(2–3): 125 – 140.

SUPPLIER ASSESSMENT FOR SEAT PARTS IN AUTOMOTIVE INDUSTRY

Andrássyová Z., Hrubec J., Pichňa P., Martin K.

Department of Quality and Engineering Technologies, Faculty of Engineering, Slovak University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

E-mail: andrassy@student.uniag.sk

ABSTRACT

The study is focused on the assessment of suppliers for automotive industry. Quality production depends on delivered part conformity according to requirements. Therefore it is important to monitor every supplier, who significantly affects the final product quality. Data of nonconformities established from receiving inspection, quality testing, and production in responsibility of suppliers are used for the assessment in form of Pareto analysis. Results suggest the critical suppliers according to quality of delivered parts and further steps for quality improvement of supplies and so quality production.

Key words: supplier monitoring, part conformity, product quality, Pareto analysis.

Acknowledgments: In chapter were used researches results within the frameworks of statutory researches VEGA 1/0576/09 (2009-2011) – “The quality improvement of agricultural machines and production systems”

ÚVOD

Každá výrobná organizácia využíva vo výrobnom procese vstupy, ktoré nakupuje od svojich dodávateľov. Správny výber dodávateľa je základným predpokladom pre kvalitnú výrobu a teda aj výsledný výrobok. Norma STN ISO/TS 16 949 Systémy manažérstva kvality. Osobitné požiadavky na používanie normy ISO 9001: 2008 v organizáciách na výrobu automobilov a ich náhradných dielcov upravuje požiadavky na nákup výrobku, kvalitu vstupovaného výrobku a monitorovanie dodávateľov. Organizácia musí definovať procesy pre zabezpečenie kvality vstupov, ktorými zisťuje mieru splnenia špecifických požiadaviek.

Štúdia sa zaoberá hodnotením dodávateľov sedadlových prvkov pre osobné automobily. Na základe zozbieraných údajov o nezhodách v zodpovednosti dodávateľa sa vyhodnocuje kvalita dodávaných prvkov pre výrobu sedadiel 1. rady. Pomocou výsledkov analýzy nezhodných prvkov sa určia kritický dodávateľia a stanovia sa ďalšie kroky vedúce k zlepšeniu kvality vstupných prvkov týchto dodávateľov.

MATERIÁL A METODIKA

Do výrobného procesu sedadiel 1. rady vstupuje viac ako 1 000 prvkov, pričom hlavné vstupy tvoria peny, kovové konštrukcie, poťahy, hlavové opierky, stredové opierky a plastové prvky.

ZBER ÚDAJOV

Vstupná kontrola

Vstupná kontrola, ktorej postup definuje interný dokument Kontrolný plán pre vstupnú kontrolu, vymedzuje prvky pre výrobu 1. rady sedadiel, ktoré podliehajú vstupnej kontrole. Sú to nasledovné prvky:

- hlavová opierka (každá dodávka -min 5 ks),
- poťah operadla (každá dodávka -min 10 ks),
- poťah sedáka (každá dodávka -min 10 ks),
- zadný panel (každá dodávka -min 5 ks),
- zadný panel s klímou (každá dodávka -min 8 ks).

Vstupná kontrola je rozdelená na vizuálnu kontrolu a kontrolu funkcií ovládania, pričom sú v kontrolnom pláne presne stanovené všetky sledované charakteristiky. Všetky údaje o kontrolovaných prvkoch sú zaznamenané do formulára vstupnej kontroly a zistené nezhody sa ďalej zaznamenávajú do databázy nezhôd.

Nezhody v zodpovednosti dodávateľa

Vzhľadom na to, že sa dodávky sedadlových prvkov nepodrobujú 100% kontrole, môže vzniknúť prípad, keď sa nezhoda zistí vo výrobnom procese, eventuálne pri kontrole na podnet oddelenia kvality. Vtedy je potrebné nesporne vymedziť zodpovednosť za nezhodu. Ak nezhoda spadá do zodpovednosti dodávateľa, eviduje sa v databáze nezhôd a rovnako ako údaje zo vstupnej kontroly poskytuje informácie pre celkové hodnotenie dodávateľa.

Tab. 1 Nezhody v jednotlivých dodávkach za 6 mesiacov

Dodávateľ	Počet nezhodných kusov (6 mesiacov)	Počet dodaných kusov (6 mesiacov)	Dodávateľ	Počet nezhodných kusov (6 mesiacov)	Počet dodaných kusov (6 mesiacov)
1	45	50 897	8	8	42 900
2	178	83 696	9	29	280 082
3	8	65 698	10	25	44 834
4	27	77 118	11	2	32 306
5	26	42 610	12	2	2 418
6	259	43 022	13	10	87 955
7	57	814 750			

Dodávateľ sedadlových prvkov: **1** -zadný panel, **2** -poťah, **3** -poťah, **4** -poťah, **5** -metál, **6** -hlavová opierka, **7** -plastové prvky, **8** -airback, **9** -pena, **10** -metál, **11** -memo box, **12** -poťah, **13** -káble.

ANALÝZA ÚDAJOV

Pre hodnotenie dodávateľa z hľadiska kvality dodávaných prvkov sa použijú údaje o nezhodách za obdobie 6 mesiacov (tab. 1), prepočítané na počet nezhodných kusov pripadajúcich na milión dodaných kusov PPM (Parts Per Million).

Výpočet PPM: $PPM = \frac{N_n}{N_d} \cdot 1\,000\,000$

kde: N_n -počet nezhodných kusov,

N_d -počet dodaných kusov.

Paretova analýza

Na analýzu počtu zistených nezhodných prvkov dodaných pre proces výroby sedadiel automobilov sa využije Paretova analýza. Tento nástroj kvality je bežne dostupný, efektívny a ľahko aplikovateľný pri sledovaní úrovne kvality dodávateľov. Pomocou Paretovej analýzy sa určia kritický dodávateľia z hľadiska kvality dodávaných prvkov, na ktorých treba zamerať pozornosť, detailnejšie ich rozobrať a nájsť opatrenia k eliminácii ich negatívneho vplyvu na kvalitu výrobného procesu a výrobku.

Pre zostrojenie Paretoho diagramu pre následnú analýzu sa postupuje nasledovne:

- do vytvorenej tabuľky sa zaznamenajú počty nezhôd v PPM zoradených zostupne,

- vyjadria sa kumulované absolútne početnosti nezhôd v PPM,

- prepočítajú sa na relatívne početnosti nezhôd v %,

- vyjadria sa kumulatívne relatívne početnosti nezhôd v % pre jednotlivých dodávateľov,

- zostrojí sa spojnicový graf nezhôd na x-ovej osi s kumulovanými % hodnotami na y-ovej osi.

(Mateides, 2006), (Hrubec, 2009)

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vstupné údaje z databázy nezhôd za obdobie 6 mesiacov boli prepočítané na ukazovateľ kvality dodávok PPM (tab. 2). Tento ukazovateľ udáva pomer nezhodných kusov k dodaným kusom vstupných prvkov vyjadrených v milióninách.

Tab. 2 Prepočet na ukazovateľ kvality PPM

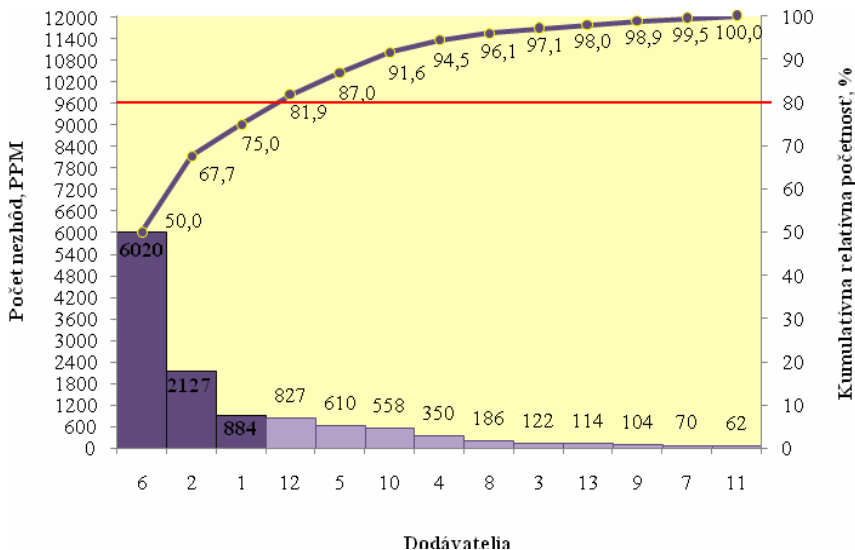
Dodávateľ	Počet nezhôd v PPM (6 mesiacov)	Dodávateľ	Počet nezhôd v PPM (6 mesiacov)
1	884	8	186
2	2127	9	104
3	122	10	558
4	350	11	62
5	610	12	827
6	6020	13	114
7	70		

Jednotliví dodávateľia boli zoradení podľa najvyššieho PPM a na základe toho hodnotení pomocou Paretovej analýzy. Každému dodávateľovi bol tak priradený percentuálny podiel nezhodovosti na celkovom výskyte nezhodných prvkov sedadiel.

Tab. 3 Údaje pre zostrojenie Paretoho diagramu

Dodávateľ	Počet nezhôd [n] v PPM	Kumul. absolútna početnosť [Σn] v PPM	Relatívna početnosť [%]	Kumul. relatívna početnosť [Σ %]
6	6020	6020	50,0	50,0
2	2127	8147	17,7	67,7
1	884	9031	7,3	75,0
12	827	9858	6,9	81,9
5	610	10468	5,1	87,0
10	558	11026	4,6	91,6
4	350	11376	2,9	94,5
8	186	11562	1,5	96,1
3	122	11684	1,0	97,1
13	114	11798	0,9	98,0
9	104	11902	0,9	98,9
7	70	11972	0,6	99,5
11	62	12034	0,5	100,0

Z tab. 3 je možné zistiť najkritickejších dodávateľov z hľadiska kvality dodávaných prvkov. Pre presnejšiu analýzu bol zostrojený Paretov diagram (obr. 1).



Obr. 1 Paretov diagram pre hodnotenie dodávateľa z hľadiska kvality dodávaných prvkov

Rozborom Paretovho diagramu identifikujeme kritických dodávateľov automobilových prvkov. Najčastejšie nezhody v zodpovednosti dodávateľa boli zaznamenané pri dodávateľovi č. 6, ktorý dodáva hlavové opierky sedadiel. Druhý najkritickejší dodávateľ je dodávateľ poťahov a posledný tvoriaci 80% z celkovej nezhodovosti je dodávateľ zadných panelov. Týmto postupom boli definovaní nielen kritickí dodávatelia, ale aj prvky, u ktorých je najväčšie riziko vzniku nezhody vo výrobnom procese.

Pri hodnotení sa zohľadňuje aj maximálna hodnota PPM stanovená pre jednotlivých dodávateľov. Ak zistená hodnota presahuje maximálnu hodnotu je potrebné ihneď zaviesť opatrenia, akým je napr. stena kvality (quality wall) pri opakovaných výskytoch nezhôd.

Podľa Wei-Ning Pi_{ho} (2005) existuje mnoho metód a nástrojov pre monitorovanie dodávateľov (konceptuálny, empirický, modelový) z hľadiska ceny, kvality a termínu dodávok. Literatúra podľa neho opisuje prevažne modely hodnotenia založené na vopred stanovených kritériách: kategorický model, metódu cenového pomeru, metódu založenú na cene, bodový model priaznivej charakteristiky, analýza podľa profilu dodávateľa, rozmerová analýza ako aj Taguchiho metóda stratovej funkcie. Vo svojej štúdií sa zaoberá výberom a hodnotením dodávateľa pomocou Taguchiho metódy stratovej funkcie, kde kritéria hodnotenia prevádza na straty kvality. Je to zaujímavý prístup k hodnoteniu kvality, keď sa zohľadňuje viacero vplyvujúcich faktorov, ako je cena, kvalita dodávok, termíny apod.

Je mnoho ďalších kritérií, ktoré môžu byť použité pri hodnotení dodávateľov, ako napr.: stredná doba medzi nezhodami, počet reklamácií, doba odozvy (čas reakcie), reálny výkon voči dohodnutému, dodávateľské vzťahy, obchodné podmienky apod. (CIPS, 2010)

ZÁVER

Monitorovanie dodávateľov a riadenie dodávok by mal byť obojstranný proces so spätnou väzbou, ktorý vedie k neustálemu zlepšovaniu. Dodávateľské podmienky by mali byť vždy presne definované vrátane potrebnej dokumentácie. Dôležitým krokom je správne vymedzenie metód a nástrojov na monitorovanie dodávateľskej úrovne kvality. Pri výbere metód by mali byť zohľadnené všetky definované kritériá, podmienky dodávok apod.

Štúdia bola zameraná na hodnotenie dodávateľa vzhľadom na kvalitu dodávaných prvkov za určité obdobie. Pomocou Paretovej analýzy sa stanovili najkritickejší dodávatelia, rovnako aj najkritickejšie prvky, ktoré vstupujú do výrobného procesu. U týchto je preto potrebná hĺbková analýza a zistenie konkrétnych nezhôd daných prvkov. Rozborom je možné zistiť najčastejšie vyskytujúcu sa nezhodu a teda aj príčiny, ktoré ju môžu spôsobovať. Pri opakovaných problémoch je dôležitá úzka spolupráca s dodávateľom.

Každá vzniknutá nezhoda má nejakú príčinu. Niektoré sa dajú odhaliť ľahšie, iné treba podrobiť hlbšiemu preskúmaniu. Preto je dôležité voliť správne metódy a nástroje kvality pre monitorovanie dodávateľov a neustále sledovať proces nakupovania.

LITERATÚRA

CIPS. The chartered institute of purchasing and supply (2010): *Performance monitoring of suppliers*. [online], 2010, [cit. 2010-10-11]. Dostupné na:

<www.cips.org/Documents/Resources/Knowledge%20Summary/Performance%20Monitoring%20of%20Suppliers.pdf>.

Hrubec, J. – Virčíková, E. a kol. (2009): *Integrovaný manažérsky systém*. 1. vyd. Nitra: SPU, 2009. 543 s. ISBN 978-80-552-0231-0.

Mateides, A. a kol. (2006): *Manažérstvo kvality*. 8. vyd. Bratislava: Epos, 2006. 751 s. ISBN 80-8057-656-4.

STN ISO/TS 16949: 2010, *Systémy manažérstva kvality. Osobitné požiadavky na používanie normy ISO 9001: 2008 v organizáciách na výrobu automobilov a ich náhradných dielcov* (01 0311).

Wei-Ning Pi - Chinyao Low (2005): Supplier evaluation and selection via Taguchi loss functions and an AHP. In: *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology*. [online], 2005, vol. 27, no. 5-6 [cit. 2010-10-11], p. 625-630. Dostupné na:

<<http://www.springerlink.com/content/hylulj7ngjpk6jyn/>>.

MONITORING OF THE ACOUSTIC EMISSION DURING MECHANICAL AND CORROSION DEGRADATION

Dostál P., Černý M.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: pet.d@seznam.cz, michalc@mendelu.cz

ABSTRACT

The work deals with special method of non-destructive testing – Acoustic emission. It is divided into two parts. The theoretical part contains the principle of this method and its application. The laboratory part is focused on research of corrosion in the material using Acoustic emission. The material is exposed to specific conditions - NaCl environment in the salt chamber for accelerating the process of degradation. The chamber is designed to simulate the corrosion conditions. The test pieces degrade very fast inside. In this part is also contained an acoustic measurement of fatigue degradation of materials by high cyclic loading. The research is focused on materials from aluminum alloys. Using the acoustic sensor is possible to provide monitoring of internal changes in the material.

By means of the competent software there is a possibility for analysing and processing of acoustic signals. This enables identification the current stage of degradation and assessing the risk of an accident in real-time.

Key words: corrosion, aluminium, aluminium alloys, degradation, mechanical loading, fatigue loading, fatigue crack, cyclic loading.

Acknowledgments: This study was supported and financed by the internal grant agency Mendel University in Brno – Faculty of Agronomy n. IP 10/2010.

ÚVOD

Nedestruktivní kontrola materiálu (NDT), se stala významným prvkem kontroly a řízení jakosti v průmyslu. Tyto nedestruktivní metody dokáží výrobcům včas odhalit skryté výrobní vady, které i při současných špičkových technologiích nelze nikdy vyloučit.

Postavení a význam metody akustické emise (AE) mezi ostatními NDT metodami spočívá především v jejich vzájemném doplňování. Metoda AE podává principiálně odlišnou informaci oproti ostatním NDT metodám. Metoda AE a ostatní NDT metody se poskytovanými informacemi nepřekrývají, ale vhodně doplňují.

Typické NDT metody pracují z cílem "vhodného nasvícení a tím zviditelnění" přítomnosti defektu v materiálu konstrukce. Přítomnost defektu se projeví změnou intenzity toku záření, změnou toku vířivých proudů, změnou magnetického toku v materiálu, v šíření a odrazech UZ vln, ve zviditelnění defektu penetrační kapalinou nebo magnetickým práškem. Tyto metody vyhledávají přítomnost defektu v konstrukci obvykle postupně krok po kroku. Vypovídají o přítomnosti, velikosti, orientaci a geometrii defektů.

Od pradávna se k orientačnímu posouzení změny kvality tělesa užívá známé poklepání, na cihlu, keramiku apod. Na základě odezvy tělesa na tento úder "slyšíme" případnou změnu vlastní frekvence tělesa a z té dokážeme identifikovat výskyt skryté vady. Soudobé akustické metody testování nejsou tolik subjektivní a jsou založeny na přesnějších měřících postupech, zejména ve způsobu buzení a příjmu zvuku.[4]

Tento článek se zabývá monitoringem a vizualizací korozní degradace a změn únavové životnosti materiálu pomocí snímání akustické emise. Zkušebním materiálem je slitina hliníku. Zkušební vzorky jsou cyklicky namáhány na ohyb, přičemž se snižuje jejich únavová životnost. V jistém okamžiku vzniká ve vzorku únavová mikrotrhlina, kterou je možné identifikovat právě pomocí metodiky akustické emise. Práce se rovněž zabývá problematikou koroze. Vzorky jsou vystaveny zrychleným korozním podmínkám a pomocí metody AE je tento proces sledován a analyzován. Pomocí prováděných laboratorních zkoušek a následné analýzy dat je možné účelně predikovat chování daného materiálu v reálných provozních podmínkách. Tímto lze zvýšit bezpečnost strojů, zařízení a procesů, lze předcházet závažným haváriím a modernizovat procesy.

MATERIÁL A METODIKA**Zkušební zařízení**

Analyzátor Xedo (Obr.1) od společnosti Dakel je moderní a výkonné modulární zařízení pro měření a vyhodnocování parametrů akustické emise. Umožňuje rovněž měření jiných fyzikálních veličin. Měřící jednotky systému jsou řazeny do ráků (tzv. boxů), kde jsou spolu s komunikačními jednotkami připojeny na společnou sběrnici. Z komponentů zařízení lze sestavit jak malé laboratorní přístroje, tak rozsáhlé průmyslové diagnostické systémy. Analyzátoři jsou určeny pro připojení pasivních piezokeramických snímačů bez zesilovače nebo aktivních snímačů s integrovaným předzesilovačem napájeným 12 nebo 24 V. Zpracování signálu vzorkovaného 2-8 MHz s 12bitovým rozlišením probíhá plně digitálně.



Obr.1 Analyzátor XEDO

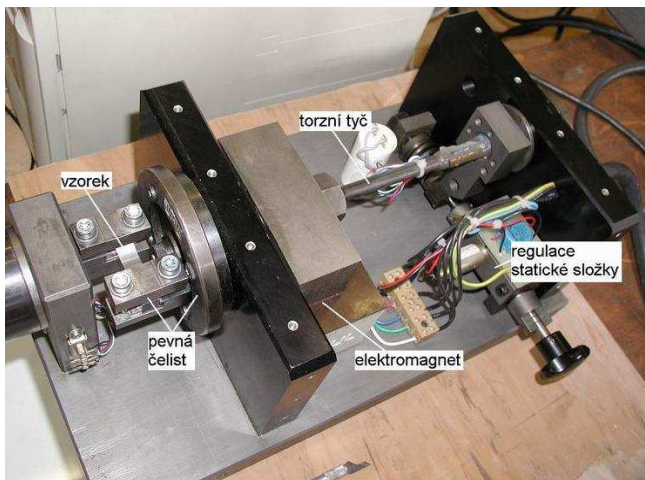
Snímače akustické emise, převádějící balíky vln akustické emise na elektrické signály, jsou obvykle keramické piezoelektrické snímače, případně rezonanční snímače s daným rozsahem frekvencí (30kHz, 300kHz). Pro tento konkrétní případ měření mechanické a korozní degradace slitin hliníku byl zvolen snímač IDK-09 s korundovou dotykovou plochou (Obr.2). Širokopásmové snímače jsou využívány jen pro orientační zjištění frekvenčního spektra. Nižší frekvence akustické emise sledujeme v kompozitech, potrubích, betonu, kdežto vyšší frekvence jsou zjišťovány při měřeních nad šumovým pozadím nebo při omezení detekčního rozsahu. K zabezpečení dobrého akustického přenosu je nanášeno mezi snímač a materiálem pojídlo, směs vody a rozpustného glycerinu či speciální “nadvukové” lepidlo.



Obr.2 Snímač akustické emise

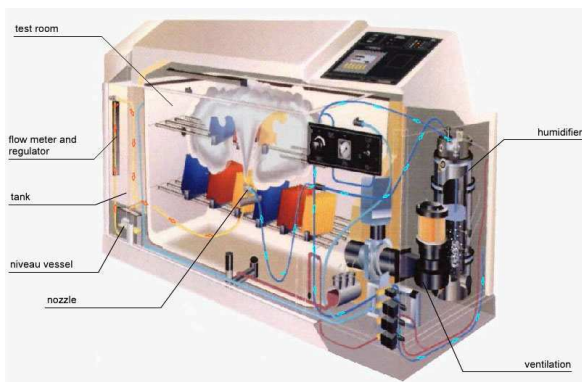
MENDELNET 2010

Pro testování únavové životnosti materiálu je použit vysokofrekvenční pulzátor Rumul Cracktronic 160. Zařízení se nachází v laboratoři vysokocyklové únavy VUT FSI v Brně, ÚK. Zkušební vzorek je na tomto zařízení cyklicky zatěžován a při tomto procesu jsou snímány signály akustické emise. 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. Princip tohoto pulzátoru je znázorněn na obrázku Obr.3. Snímač AE je upevněn na vzorku.



Obr.3 Princip pulzátoru Rumul Cracktronic 160

Pro korozní degradaci materiálu bylo použito zařízení od firmy Liebisch. Hlavní části jsou zobrazeny na obr. 4 - zkušební prostor (test room), průtokoměr a regulátor (flow meter and regulator), zásobní nádrž (tank), tryska (nozzle), větrání (ventilation), vlhčící zařízení (humidifier).



Obr.4 Princip solné komory

MATERIÁL

Pro zkoušku vysokocyklického únavového namáhání i pro korozní zkoušku v solné komoře používáme normované zkušební vzorky (viz. obr.5). Vzorky jsou určeny pro elektrozonační zkušební stroje a mají délku 55mm. Vzorky jsou ze slitiny hliníku EN AW-7075. Jedná se o vytvrditelnou slitinu vysoké pevnosti.



Obr.5 Zkušební vzorky

METODIKA

A) AE při mechanické degradaci

Vzorky jsou cyklicky namáhány čtyřbodovým ohybem na vysokofrekvenčním pulzátoru Rumul Cracktronic 160. Na zkušebním zařízení je nutné vhodně zvolit a nastavit amplitudu zatěžování, která zůstává po celou dobu testu konstantní. Tuto amplitudu volíme na základě četných zkušebních měření 9,5Nm, což odpovídá napětí 240MPa.

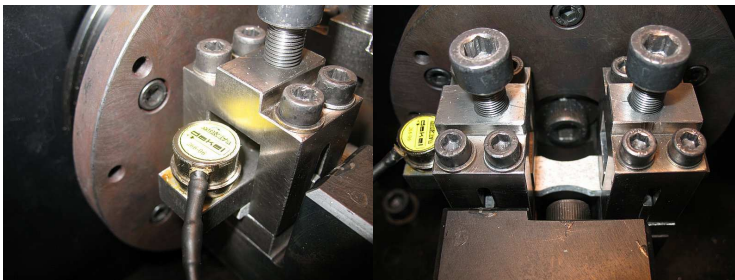
Zatěžovací frekvence je určena tuhostí zkoušeného vzorku. Tato frekvence se vlivem postupné únavové degradace vzorku mění. Do systému je nutné na základě experimentálních testů zadat takovou hodnotu změny frekvence, při které zkušební zařízení automaticky ukončí test vzhledem k již jistému šíření únavové trhliny. Tato změna frekvence pro námi testovaný materiál je 1,5Hz.

Pomocí detekce změny zatěžovací frekvence lze tedy určit, kdy se začíná trhlina šířit. Předmětem výzkumu je ale stanovení jednoznačné fáze procesu, kdy vzniká únavová mikrotrhlina, tedy ta fáze degradace, která předchází fatálnímu poškození vzorku, resp. reálné součásti v praxi. Pro toto určení využíváme metodu akustické emise, pomocí které dokážeme „slyšet“ změnu stavu zkoušeného materiálu. V určitých lokalitách materiálu dochází v důsledku cyklického únavového zatěžování k uvolňování části materiálem nahromaděné elastické energie, např. při vzniku a šíření trhliny. Uvolněná energie se v přilehlém okolí místa uvolnění transformuje na napěťový impuls, který se šíří materiálem ve formě přechodových elastických vln a při dosažení povrchu materiálu se transformuje na takový mód vlnění, který odpovídá geometrické konfiguraci a rozměrům objektu. Složka vlnění kolmá k povrchu materiálu je pak detekována piezoelektrickým snímačem akustické

MENDELNET 2010

emise (viz. obr. 4, obr. 5). Akustický signál ze snímače je po zesílení přiveden na vstup měřicího systému, kde je po opětovném zesílení vyhodnocován.

Signál AE má buď charakter spojitého šumu, kdy jeho amplituda po delší dobu neklesá pod určitou prahovou úroveň, nebo je nespojitá a signál má charakter časově oddělených pulsů - emisních událostí. Zdrojem spojitě AE jsou mikromechanismy v procesu plastické deformace materiálu, technologické šumy při provozu zařízení, resp. vlnění emitované při úniku média z tlakových systémů. Zdrojem nespojitě AE jsou především procesy probíhající při vzniku a rozvoji trhlin a korozní jevy, spojené s impulsním uvolňováním elastické energie.



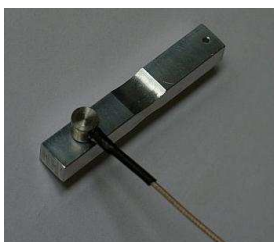
Obr. 6 Umístění snímače AE

Obr. 7 Umístění snímače AE

B) AE při korozní degradaci

Zrychlené korozní zkoušky byly provedeny v souladu s ČSN ISO 9227. Ke zkoušce bylo použito korozního prostředí v podobě solné mlhy (atmosféra chloridu NaCl) o koncentraci 50 ± 5 g/l destilované vody. Hustota roztoku při této koncentraci a teplotě 25°C je 1,0225 až 1,0400 g.cm⁻³. Tato zkouška se obvykle používá pro kovy, jejich slitiny, kovové povlaky, či organické povlaky na kovových podkladech a probíhá při teplotě 35°C.

Piezoelektrický snímač akustické emise je přilepen na vzorek (viz. Obr. 8) a izolován od agresivního korozního prostředí sanitárním tmelem (viz. Obr. 9). Takto je zabráněno degradaci samotného snímače. Umístění vzorku v komoře je zobrazeno na Obr. 10.



Obr. 8 Umístění snímače



Obr. 9 Izolace snímače

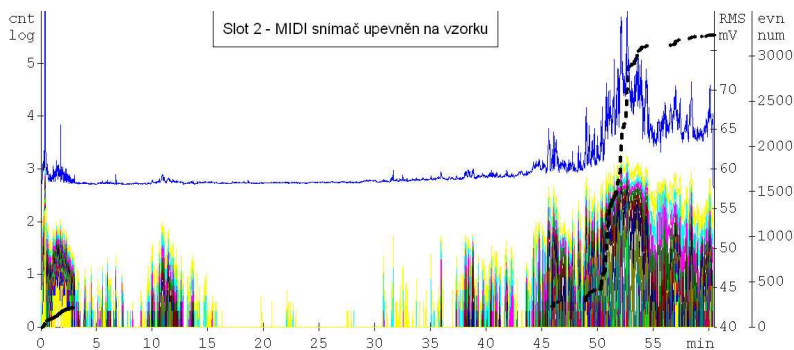


Obr. 10 Poloha vzorku v komoře

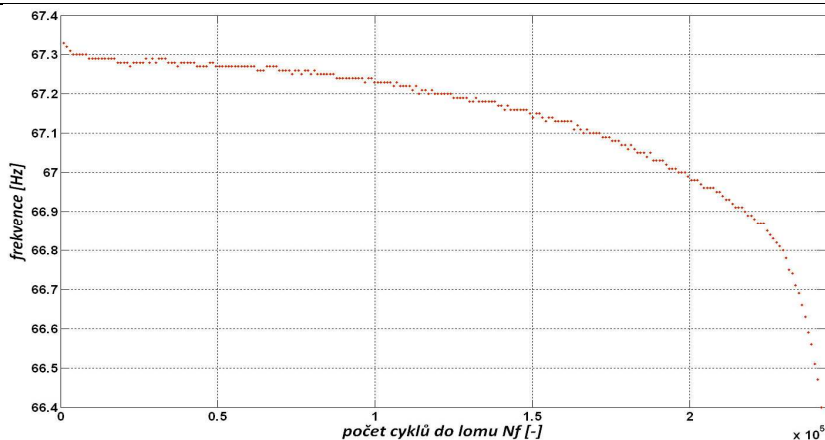
Vlastní anodické rozpouštění kovu se nepovažuje za významný zdroj signálu AE. V průběhu koroze vzniká volný povrch, mění se napětí na povrchu kovu, uvolňují se dislokace, vznikají, uvolňují se a zanikají bubliny a praskají oxidická nebo solná víčka uzavírající korozní body. Generace AE při korozi je spojována právě s těmito procesy. Měření AE tedy detekuje “pouze” procesy, které korozi doprovázejí – měření AE je tedy nepřímá metoda sledování koroze [5].

VÝSLEDKY A DISKUZE

V tomto článku je uveden reprezentativní příklad vizualizace akustické emise. Akustická emise je snímána a zaznamenávána v několika hladinách. Graf 1 znázorňuje signály akustické emise, graf 2 vyjadřuje závislost zatěžovací frekvence na počtu cyklů do lomu. Modrá křivka v grafu (Graf 1) nejlépe indikuje akustické signály vznikající v namáhaném vzorku. Z tohoto grafu lze vyčíst, že mikrotrhlina byla indikována po cca 50ti minutách cyklického zatěžování. V tomto místě vznikla významná emisní událost. Z grafu (Graf 2) vyčteme, že tento okamžik nastal při cca 2×10^5 cyklech.



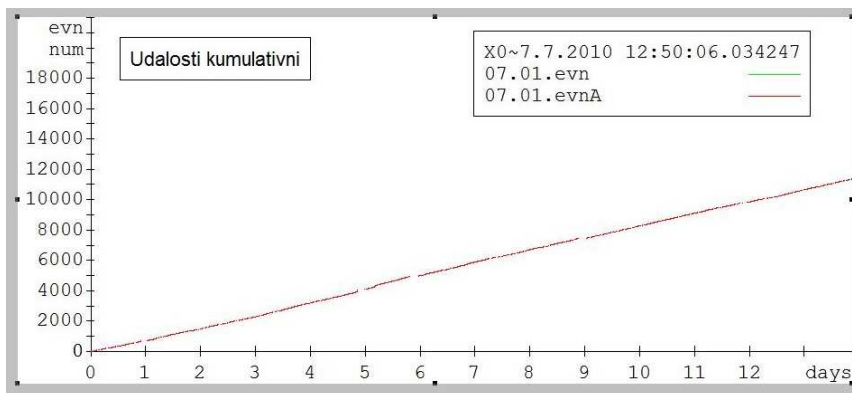
Graf 1. Monitoring akustické emise při mechanickém zatěžování



Graf 2. Závislost frekvence na počtu cyklů

Do stádia šíření trhliny proběhlo 243200 cyklů. Toto stádium je možné identifikovat z grafu (Graf 2), kde frekvenční křivka klesá na hodnotu 66,4Hz a níže (při konstantní amplitudě). Od této chvíle se trhlina šíří až do konečného lomu materiálu.

Pro hodnocení korozního degradačního procesu pomocí metody akustické emise je prozatím k dispozici krátkodobá analýza. Z grafu Graf 3 je patrné, že nenastaly žádné významné emisní události. Kumulativní součet událostí v závislosti na čase vytváří téměř lineární charakteristiku, což znamená, že byl detekován souvislý šum emisních událostí bez jakéhokoli extrému. Je tedy nutné podrobit zkoušený materiál delšímu degradačnímu procesu.



Graf 3. Kumulativní součet emisních událostí

ZÁVĚR

Metoda AE umožňuje kontrolu v reálném čase, přímo v průběhu sledovaného procesu. Umožňuje sledovat vývoj procesu. Práce je zaměřena na využívání této metody v oblasti korozní a mechanické, resp. únavové degradace materiálu.

Poškození únavou je v praxi, navzdory veškerému dosavadnímu výzkumu a pokroku v poznání, stále častým důvodem mnohdy fatálních selhání mechanicky namáhaných konstrukcí. Díky možnosti detekce a vizualizace poškození metodou akustické emise je možné včas predikovat blížící se poškození konstrukce, stroje, zařízení či procesu. Pomocí této vizualizace AE je možné sledovat aktivní defekty, tedy ty, které jsou zvláště nebezpečné.

U korozního poškození strojů a zařízení je častým problémem, že tento jev ujde pozornosti obsluhy, což může vést až k nevratným škodám na dané části zařízení. Je odhadováno, že koroze ročně způsobí škodu za zhruba padesát miliard dolarů. Proto je velmi účelné a perspektivní věnovat se této problematice. Měření AE se uplatní při sledování zejména lokalizovaných typů koroze. Hodnověrnost výsledků měření AE není ovlivněna heterogenitou parametrů pracovního prostředí ani konstrukční složitostí zařízení. Výhodou sledování koroze měřením AE je jednoduchá možnost určení místa zdroje AE – lokalizace místa poškození korozí. Charakteristiky signálů elektrochemického šumu i akustické emise umožňují predikovat typ koroze a jeho intenzitu.

Přínos této práce lze spatřovat především v rozšíření poznatků o nukleaci a šíření únavových mikrotrhlin a rovněž definování kritického stádia korozní degradace u slitin hliníku. Tyto poznatky lze dále aplikovat v řadě vědních oborů, kde využitím znalostí únavového a korozního procesu můžeme předcházet závažným nehodám.

LITERATURA

- [1] Dakel [online]. [cit. 2010-09-14]. Dostupné z: <http://www.dakel.cz> .
- [2] VUT FSI [online]. [cit. 2010-09-11]. Dostupné z: http://www.shigley.cz/www_uk/texty/vyzkum_unavove_vlastnosti_-_akusticka_emise .
- [3] MM Spektrum [online]. [cit. 2010-09-9]. Dostupné z: <http://www.mmspektrum.com/clanek/diagnostika-metodou-akusticke-emise> .
- [4] MUNI [online]. [cit. 2010-09-2]. Dostupné z: <http://www.ped.muni.cz/wphy/projekty/KEMIS.HTML> .
- [5] Davar [online]. [cit. 2010-09-14]. Dostupné z: <http://www.davar.cz> .
- [5] KLESNIL, M., LUKÁŠ, P. (1975): Únava kovových materiálů při mechanickém namáhání. ACADEMIA, 222s. ISBN 509-21-857.

[6] KLESNIL, M., LUKÁŠ, P. (1973): Šíření únavových trhlin v oceli. ACADEMIA, 89s.

ISBN 509-21-872.

[7] KOUTSKÝ, J. (1995): Degradací procesy a predikce životnosti. Západočeská univerzita, 167s. ISBN 80-7082-177-9.

[8] BROOKS, CHARLIE, R. (2002): Failure analysis of engineering materials. MC GRAW-HILL, 602s. ISBN 0-07-135758-0.

PROCESS PARAMETERS AND THEIR UTILIZATION BY THE TREATMENT OF THE BIOGAS PRODUCTION

Haitl M., Vítěz T.

Department of Agriculture, Food and Environmental Engineering, Faculty of Agronomy, Mendel university in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: martin.haitl@mendelu.cz

ABSTRACT

Production of electricity and heat from biogas, which is made from organic material is at present rapidly rising up and belong to one of the new technology, using renewable resources of the energy. Treatment of the biogas plant is from the view of the service not easy and need to observe the discipline to prevent the inhibition of anaerobic fermentation process. It's possible to attain high biogas yields with high methane volume only by the careful control of operation parametrs and providing lab analysis. In this work are discribed the key parametrs influencing anaerobic fermentation process, their measurement and interpretation in process condition. Beside the basic analysis is here described fast and easy titration analysis FOS/TAC providing importance information about the biology state of used matter, exactly about the volume of volatile fatty acids and the buffer kapacity. The only other way to become this informations is from specially equipped lab.

Key words: Biogas, lab analysis, effiencie of production, volatile fatty acids

Acknowledgments: This paper was supported by project TP 05/2010 Internal grant agency, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno

ÚVOD

Bioplyn je směs, jehož majoritní složku tvoří CH_4 , CO_2 , dále pak O_2 , H_2S a H_2O . Procentuální zastoupení jednotlivých složek a obsah metanu je rozhodující pro následnou přeměnu bioplynu na tepelnou a elektrickou energii Weiss et al. (2009). Množství provozovaných zařízení rapidně stoupá, v současné době je v České republice v provozu 228 bioplynových stanic (BPS), souhrnný instalovaný výkon dosahuje 112,8 MW, výroba elektřiny v aktuálním roce činí 228,4 GWh a bioplyn se podílí na využití obnovitelných zdrojů energie (OZE) 8,9%, (czba.cz 13. 9. 2010). Nejrozšířenějším typem zemědělských BPS v současných podmínkách střední Evropy, Českou republiku nevyjímaje, jsou zařízení zpracovávající cíleně pěstovanou biomasu a kejdu hospodářských zvířat. Bioplyn a jeho následné využití k výrobě energie je jednak jednou z alternativ náhrady fosilních paliv, dále se nabízí využití zemědělských a dalších vhodných organických odpadů, jakožto sekundárních surovin, za vzniku lokálních zdrojů tepelné a elektrické energie. Proces výroby bioplynu anaerobní fermentací organického materiálu, jeho intenzita a účinnost využití vstupních surovin je ovlivněna řadou faktorů. Jejich sledováním a změnami lze tento proces značně ovlivnit a dosáhnout tak vyšších výnosů bioplynu a lepšího využití vstupních materiálů. Vyšší produkce a efektivita procesu má vliv na samotnou ekonomiku výroby bioplynu a vlastnosti fermentačního zbytku. Fermentační zbytek je u bioplynových stanic (BPS) zemědělského typu využíván jako hnojivo, z tohoto důvodu je důležité znát jeho složení a vlastnosti. Při provozu BPS potřebuje obsluha zařízení znát množství a kvalitu vzniklého bioplynu, dále potřebuje informace o aktuálním stavu fermentovaného materiálu, tak aby mohla předejít poklesu produkce či dokonce zastavení procesu anaerobní fermentace.

Jak uvádí Amon et al. (2006) existující modely produkce bioplynu zobrazující kinetiku anaerobní fermentace ovlivněnou faktory, jako jsou pH, obsah $\text{NH}_4\text{-N}$, obsah mastných kyselin, atd., avšak jsou platné pouze pro konkrétní podmínky zpracování organických odpadů. Tyto modely nebyly navrženy k odhadu produkce metanu z energetických rostlin a k optimalizaci dávkování živin mikroorganismům podílejících se na anaerobní fermentaci v zemědělských BPS. Vzhledem k tomu, že většina u nás provozovaných BPS zpracovává cíleně pěstovanou biomasu, konkrétně silážní kukuřici, v kofermentaci s kejdou hospodářských zvířat, je důležité věnovat pozornost a sledovat fermentační proces rovněž této vstupní suroviny. Silážní kukuřice je díky svým vlastnostem ideální pro zpracování v BPS a to díky jejímu vysokému energetickému potenciálu, obsahu snadno rozložitelných látek, vysokým hektarovým výnosům, nízkému obsahu ligninových složek a možnosti její produkce při využití stávající zemědělské techniky. Vedle BPS zemědělského typu jsou u nás nejčastěji provozovány již několik desetiletí BPS zpracovávající čistírenské kaly, u nichž není prvotním cílem získání tepelné a elektrické energie, ale jsou budovány

za účelem hygienizace kalů ČOV. U těchto BPS má jejich provozovatel velmi malé možnosti, jak ovlivnit skladbu vstupních surovin. Může však sledováním a změnami procesních parametrů docílit takové produkce bioplynu, která bude mít hygienizační efekt na zpracovávaný materiál, a zároveň se získá dostatečné množství bioplynu o potřebné kvalitě pro využití v kogenerační jednotce, jež poskytuje tepelnou a elektrickou energii k částečnému pokrytí provozu ČOV. Methanogeneze organických látek je souborem několika procesů, které jsou v dynamické rovnováze. Změna jednoho vyvolá odezvu u ostatních procesů. Každá změna některého z dříčích procesů může být příčinou celkové nestability procesu methanogeneze. Mezi hlavní faktory způsobující nestabilitu procesu patří:

- změny teploty procesu
- změny v zatížení organickými látkami
- změny ve složení a vlastnostech zpracovávaného materiálu
- hydraulické přetížení
- expozice toxickými látkami

(Straka et al. 2006)

Veličiny mající vliv na průběh anaerobní fermentace jsou zejména teplota, pH, obsah sušiny, obsah organických látek v sušině, obsah nižších mastných kyselin (C2-C6), neutralizační kapacita vyjádřená koncentrací hydrogenuhličitanů v reakční směsi, obsah $\text{NH}_4\text{-N}$, CHSK, obsah celkového organického uhlíku, kvalita plynu – obsah CH_4 , CO_2 , H_2S , O_2 . Vzhledem ke komplexnosti anaerobních rozkladných procesů musí být sledován celý komplex proměnných procesů, neexistuje jediná proměnná, která by charakterizovala průběh procesu (Straka et al. 2006)

Cílem této práce je najít ty, které jsou co nejpřesnější, rychlé, snadno proveditelné a to nejlépe v provozních podmínkách BPS.

MATERIÁL A METODIKA

Laboratoř bioplynových transformací na Mendelově univerzitě v Brně disponuje zkušebními vsázkovými reaktory o provozním objemu $0,1 \text{ m}^3$, přizpůsobených svou konstrukcí k testování anaerobní fermentace tekutých substrátů, kde vstupní materiál dosahuje maximálně 15% obsah sušiny. Reaktory jsou provedeny jako duplikátorová nádoba s řízeným ohřevem vody jako topného média mezi pláští reaktoru. V reaktoru je instalováno míchadlo s nastavitelnými otáčkami pomocí frekvenčního měniče, tak, aby bylo docíleno optimálního promíchání materiálu. Dále jsou reaktory osazeny pH sondou, sondami pro odběr a zapravení vzorku v průběhu pokusu. Vzniklý plyn je

odváděn plynovou hadicí přes plynoměr BK-4 do plynového vaku, z kterého je následně bioplyn po dosažení nastaveného přetlaku ve vaku odveden ke spálení na hořáku plynu.

Vstupními materiály u doposud provedených experimentů byly směsi ze zemědělských BPS tvořené silážní kukuřicí a kejdou, a kaly z ČOV. Tyto materiály jsou značně odlišné, čemuž odpovídal i rozdílný průběh pokusů.

U jednotlivých experimentů byly provedeny vstupní zkoušky obsahu celkové a organické sušiny při teplotě 105 °C resp. 505 °C do konstantní hmotnosti zkoušeného vzorku podle norem ČSN EN 14346 resp. ČSN EN 15169. Celková a organická sušina materiálu byly stanovovány v týdenních intervalech v průběhu experimentů. Určeno bylo rovněž vstupní pH, FOS/TAC – což je poměr těkavých organických kyselin označovaných také jako nižší mastné kyseliny (NMK) a celkového anorganického uhlíku, vyjadřující pufrací kapacitu fermentovaného materiálu. Zkouška FOS/TAC byla provedena rovněž na konci experimentů. Během experimentů byla kontinuálně sledována teplota a pH. Denně byla stanovována kvalita vzniklého bioplynu pomocí analyzátoru Drager X – am 7000 a odečítáno množství vzniklého bioplynu z plynoměru.

FOS/TAC

Metoda FOS/TAC je jednoduchá titrační zkouška, která nám umožňuje zjistit okamžitý stav a biologii zpracovávaného materiálu. K jejímu provedení není potřeba speciálního laboratorního vybavení:

- 0,05 M H₂SO₄
- Byreta
- 20 ml přefiltrovaného zkušební vzorku
- Destilovaná voda
- Magnetická míchačka
- Kalibrovaný pH – metr s elektrodou
- Kádinka

Postup zkoušky: Zkušební vzorek o objemu 20 ml, získány přefiltrováním přes čajové sítko titrujeme na magnetickém míchadle 0,05M H₂SO₄, do dosažení hodnoty pH 5, po jejím dosažení a ustálení odečteme z byrety spotřebované množství kyseliny. Pokračujeme v titraci do dosažení pH 4,4. Po ustálení odečteme spotřebované množství kyseliny. Dosažíme hodnoty spotřebované kyseliny do následujících rovnic, vypočteme hodnoty FOS a TAC a jejich vzájemný poměr:

$$\text{TAC} = \text{spotřeb. H}_2\text{SO}_4 \text{ od počátku po pH } 5 * 250 \text{ [mg CaCO}_3\text{/l]}$$

$$\text{FOS} = (\text{spotřeb. H}_2\text{SO}_4 \text{ od pH } 5 \text{ po pH } 4,4 * 1,66 - 0,15) * 500 \text{ [mg/l]}$$

Mezní hodnoty, jejich příčiny a možné nápravy jsou uvedeny v tab.1

Tab.1

Hodnota FOS/TAC	Příčina	Opatření
>0,6	Zařízení silně předávkováno	Zastavit dávkování materiálu
0,5-0,6	Zařízení předávkováno	Tlumit dávkování materiálu
0,4-0,5	Zařízení silně zatíženo	Zvýšení pozornosti během dávkování
0,3-0,4	Zařízení vytiženo	Zachovat dávkování materiálu
0,2-0,3	Zařízení málo vytiženo	Dávkování pomalu zvyšovat
<0,2	Zařízení velmi málo vytiženo	Dávkování plynule zvyšovat

(metodika fy Hach-Lange)

Laboratorní testy byly provedeny v mezofilních podmínkách anaerobní fermentace, v teplotním rozmezí 38 °C – 40 °C.

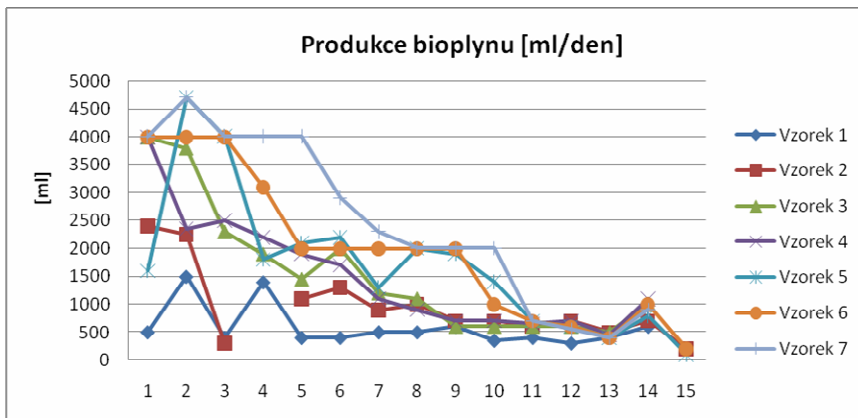
VÝSLEDKY A DISKUZE

Jak bylo uvedeno v předchozí kapitole, je laboratoř bioplynových transformací vybavena vsázkovými reaktory pracujících v mezofilním teplotním režimu. V současnosti je v praxi mezofilní typ anaerobní fermentace nejrozšířenější, avšak provozní zařízení nejsou vsázkové, ale umožňují kontinuální dávkování vstupních materiálů. To má výhodu v tom, že lze během pokusu dávkováním ovlivnit vlastnosti fermentovaného materiálu a jeho vytižení s následným vlivem na produkci bioplynu. Provoz vsázkových reaktorů klade vyšší požadavky na obsluhu, kdy je nutné přesně zvolit vhodné složení a množství vstupních materiálů, je zde ovšem možnost ovlivnit proces anaerobní fermentace pomocí výše uvedených veličin. Za laboratorních podmínek byl zjištěn vliv jednotlivých veličin na průběh anaerobní fermentace.

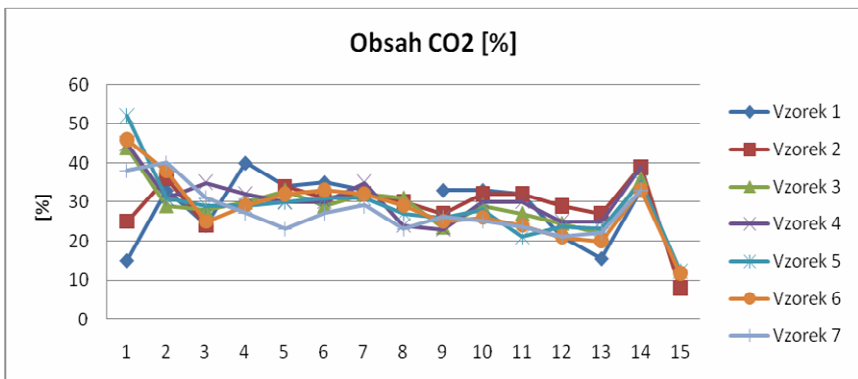
Vliv teploty

Jak uvádí (Yadvika et al. 2004) teplota má rozhodující vliv na produkci bioplynu. Její změny během procesu, jsou ovšem rozdílné v závislosti na teplotním režimu procesu. S rostoucí teplotou se zvyšuje produkované množství bioplynu, zvyšuje se obsah CO₂ a H₂S v bioplynu, obsah CH₄ však v důsledku nahromadění mastných kyselin, zejména kyseliny octové dále pak kyseliny propionové a máselné klesá. Na tab. 2 je vidět ve 14. dnu experimentu, kdy byla předchozí den zvýšena teplota o 4 °C, náhlý nárůst množství produkovaného bioplynu u všech testovaných vzorků. Na tab. 3 je rovněž ve 14. dnu experimentu patrný nárůst obsahu CO₂

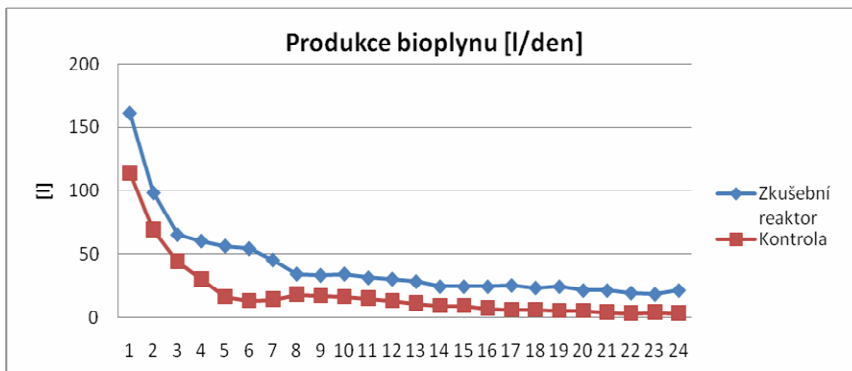
Tab.2



Tab.3



Snížení teploty má obdobný efekt, dojde k inhibici aktivity methanogenů (Straka et al., 2006) a sníží se produkce bioplynu, jak je zachyceno na tab. 4, kde došlo u kontrolního reaktoru 3.den laboratorního testu v důsledku technické závady ke snížení teploty po dobu 48 hodin o 2,7 °C, z původních 40 °C na 37,3 °C, která byla během následujících pěti dní pozvolna zvyšována na původní teplotu a kinetika produkce bioplynu se znovu přiblížila zkušebnímu reaktoru.



Vliv pH

Hodnota pH by se měla pohybovat v rozmezí 7,5 - 8,1 (Schulz et al. 2001). Nižší nebo naopak vyšší hodnoty pH mají negativní vliv na průběh anaerobní fermentace. V průběhu experimentů jsme zaznamenali mírný nárůst hodnoty pH, tento však nebyl nijak dramatický, pohyboval se většinou v řádu desetin %. Jak ukazuje tab. 5, kde jsou zaznamenány hodnoty pH v týdenních intervalech experimentů. Jelikož se hodnoty pH, pohybovaly po celou dobu experimentů v optimálním rozmezí, nebylo potřeba její hodnotu upravovat. Dodržování optimální hodnoty pH je důležité zejména při zapracování reaktorů BPS. Pokles pH a okyselení materiálu s sebou přináší zvýšení koncentrace mastných kyselin, s následným negativním vlivem na produkci bioplynu. K zvýšení hodnoty pH se nejčastěji používá $\text{Ca}(\text{OH})_2$, Na_2CO_3 , NaOH . Snížení pH je možné aplikací roztoků kyselin, např. HCl , H_2SO_4 , k tomuto však obvykle nedochází a provozovatelé spíše řeší problém nízkého pH a jeho navýšení na optimální hodnotu.

Tab.5

pH	R1	R2
4.5.2010	7,93	7,93
11.5.2010	7,99	7,98
17.5.2010	8,02	8
23.5.2010	8,03	8,01
29.5.2010	8,05	8,02

Výhody analýzy pH jsou v její jednoduchosti, nízkým nákladům na provedení. Její vypovídající hodnota je ale omezená, neinformuje nás totiž o biologickém stavu systému. Může dojít k situaci, kdy je pH stabilní a pohybuje se v optimálních hodnotách pro průběh anaerobní fermentace, ačkoli množství a zejména kvalita vzniklého bioplynu je nízká, například v důsledku nahromadění NMK ve fermentovaném materiálu.

Obsah NMK a jejich jednotlivé zastoupení mají na fermentační proces významný vliv. Během pokusů byl zjišťován jejich celkový obsah pomocí jednoduché titrační metody FOS/TAC.

FOS/TAC

Hodnota FOS/TAC udává poměr obsahu NMK a celkového anorganického uhlíku ve zkoušeném vzorku. Námi zjištěné hodnoty této veličiny odpovídaly stavu fermentovaného materiálu v době provedení zkoušky, kdy produkce měla klesající charakter a reaktor byl málo látkově zatížen. Během laboratorního experimentu, kdy testovaný materiál tvořila směs kukuřičné siláže a hovězí kejdy ze zemědělské BPS došlo k poklesu hodnoty FOS/TAC z hodnoty 0,2 na hodnotu 0,17 na konci testu. Hodnota FOS/TAC se snižovala, což odpovídá výše uvedenému. V tab.6 jsou hodnoty FOS, TAC a jejich poměru na počátku a konci experimentu, označených vzorek 1 až 4, jenž byl proveden na směsi kukuřičné siláže a hovězí kejdy ze zemědělské BPS. Experiment byl proveden v maloobjemových pokusných reaktorech o objemu 3 dm³. Reaktory 1 a 2 byly kontrolní, reaktory 3 a 4 zkušební. Do zkušebních reaktorů byl přidán různý organický materiál, zvýšilo se tak zatížení systému, což se projevilo jednak odlišnou produkcí, zároveň bylo pomocí zkoušky FOS/TAC po ukončení experimentu zjištěna rozdílná pufrací kapacita a obsah NMK. U obou kontrolních reaktorů došlo během pokusu ke snížení hodnot FOS i TAC, koncové hodnoty byly ve srovnání se zkušebními reaktory nižší. Koncová hodnota FOS u zkušebních reaktorů je oproti kontrolám vyšší, akumulace nižších mastných kyselin v materiálu odpovídá vyššímu organickému zatížení v důsledku přidání organického materiálu.

Tab.6

	Počátek	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4
pH 5 [ml]	55,2	50,5	39,4	42,1	50,7
pH 4,4 [ml]	3,5	2,5	1,8	3	3,3
TAC [mg CaCO ₃ /l]	13800	12625	9850	10525	12675
FOS [mg/l]	2830	2000	1419	2415	2664
FOS/TAC	0,205072	0,158416	0,144061	0,229454	0,210178

Obsah sušiny a organických látek v sušině

Podstatou vzniku bioplynu je rozklad organické hmoty za anerobních podmínek. Obsah celkové sušiny, organických látek v sušině a jejich úbytek v průběhu experimentu vzhledem k produkovanému plynu nám umožňují zjistit, jak efektivně je materiál v BPS zpracováván. Pokud je zjištěno nízké využití materiálu, lze toto ovlivnit úpravou doby zdržení v reaktoru BPS, či změnou teploty. V tab.7 jsou uvedeny hodnoty celkové sušiny a obsahu organických látek v sušině.

BPS Suchohrdly	celková sušina [%]		organické látky v sušině [%]	
	R1	R2	R1	R2
4.5.2010	7,3914	7,3914	79,5587	79,5587
11.5.2010	6,9387	6,0008	64,6590	76,6611
18.,5.2010	5,9118	5,8180	75,2578	75,3523
25.5.2010	5,6753	5,7817	74,9967	74,8944
28.5.2010	5,4883	5,6852	73,2471	74,6983

Rozdílné hodnoty obsahu celkové sušiny a organických látek v sušině na konci testu odpovídají rozdílné produkci reaktorů 1 a 2, kdy celková produkce byla 973 dm³ CH₄, respektive 917 dm³ CH₄. Další využitelné laboratorní zkoušky nebyly provedeny vzhledem k jejich náročnosti na provedení a laboratorní vybavení.

ZÁVĚR

Cílem této práce bylo najít a vytipovat laboratorní analýzy k řízení procesu anaerobní fermentace tekutých substrátů se zaměřením na ty, které jsou jednoduché na provedení a nejsou technicky náročné. Byly použity jednoduché a technicky nenáročné laboratorní testy, které by bylo možné použít v provozních podmínkách přímo na BPS, čímž by jejich provozovatelé, získali rychle informace o aktuálním stavu fermentovaného materiálu. Vedle dnes používaných provozních ukazatelů jakými jsou množství a kvalita produkovaného plynu, obsah sušiny, obsah organických látek v sušině, pH se v našich podmínkách osvědčila titrační analýza FOS/TAC. Ta nám podává informaci o obsahu NMK a pufruční kapacitě fermentovaného materiálu. Pomocí ní lze částečně nahradit laboratorní zkoušku plynovou chromatografií na stanovení obsahu jednotlivých těkavých organických kyselin. Je třeba zdůraznit, že zkouška FOS/TAC nám nepodává informaci o jednotlivém zastoupení těchto kyselin. Pokud její hodnota neodpovídá optimálnímu rozmezí, produkce bioplynu a jeho kvalita jsou na nízké úrovni, je vhodné provést laboratorní zkoušku na zastoupení jednotlivých NMK plynovou chromatografií. Optimální provoz BPS lze zajistit pouze kontinuálním sledováním parametrů ovlivňujících proces anaerobní fermentace. Laboratorní zkoušky v práci popsané, slouží provozovateli k rychlému zjištění hodnot, díky nimž může zasáhnout dříve, než dojde ke snížení intenzity produkce bioplynu a neefektivnímu provozu BPS.

LITERATURA

Amon T., Amon B., Kryvoruchko V., Zollitsch W., Mayer K., Gruber L. (2007): Biogas production from maize and dairy cattle manure-Influence of biomass composition on the methane yield. Agriculture, Ecosystems and Environment 118 (2007) 173 – 182

Schulz H., Eder B. (2004): Bioplyn v praxi, Ben: Ostrava, ISBN 80-86167-21-3

Straka F.(2006): Bioplyn, 2. rozš. vyd. Praha : GAS s.r.o., 9-338. ISBN 80-7328-090-6.

Yadvika, Santosh, T.R. Sreerishnan, Sangeeta Kohli, Vineet Rana (2004); Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques. *Bioresource technology*, 95 (2004) 1-10

www.nl-hach.lange.be, metodika FOS/TAC dostupná k datu 4.10.2010

www.czba.cz, bioplyn v ČR aktuálně, dostupné k datu 4.10.2010

INFLUENCE OF SURFACE STRESS ON THE COHERENCE OF HOT DIP GALVANIZED STEEL

Horák K., Černý M., Votava J., Fajman M.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: karel.horak@mendelu.cz, michalc@mendelu.cz, jiri.votava@mendelu.cz, martin.fajman@mendelu.cz

ABSTRACT

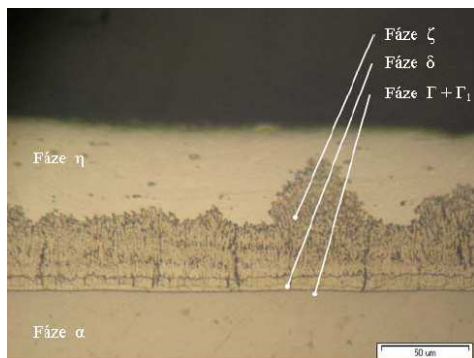
The article is created in connection with the previous work that was concerned with a thermal and mechanical resistance of zinc coating. Also in this work the pull-off test was used, but only the external surface of the Zn coating (on the tensile side of the specimen) was studied. The main reason of this work is to compare the influence of tensile and compressive stress on the structure of Zn-Fe intermetallics. For this reason the set of samples of steel 11 321 (DC01) was prepared. The samples were subjected to thermal heating that simulates the conditions during the dehydrogenation of the coating and then were bended over the cylindrical pins. The cracking of the coating was verified on both sides of the samples that indicates the unreliability of the hot dip galvanized steel in the locations loaded by the tensile or compressive stress. The way of cracks transmission under the surface is in both cases (tension and pressure) a bit different, but all the cracks has its origin in the transition of phases γ and δ . The existence of η phase plays the major role in transmittance of the cracks to the surface of coating and that is why the growing of the intermetallic phases caused by the increased temperature was observed.

Key words: zinc coating, temperature, pull off test, surface stress, intermetallic phases, metallography

Acknowledgments: This study was supported by the Research plan No. MSM 6215648905, which is financed by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

ÚVOD

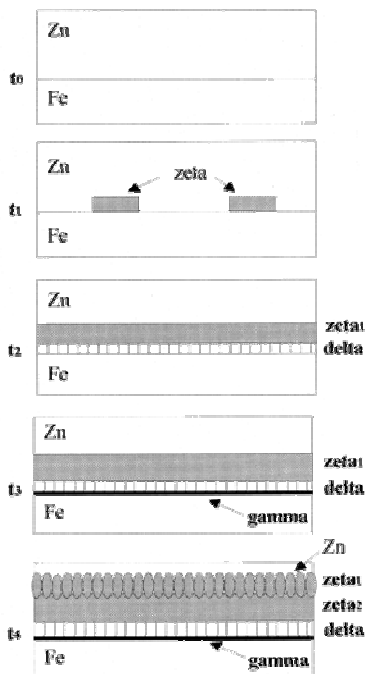
Vedle vysoké korozní odolnosti, která je od povlaků na bázi zinku vyžadována v první řadě, jsou velmi často diskutovány i jeho další vlastnosti, mezi které patří především přilnavost povlaku, odolnost proti oděru, pórovitost nebo mechanická tažnost. Diskutovány mohou být často i optické vlastnosti (lesk, textura apod.), které bývají většinou spojovány s dekorativní funkcí vytvořeného povlaku. V případě povlaku naneseného metodou žárového zinkování se však především jedná o vlastnosti mechanické.



Obr. 1. Rozložení intermetalických fází Fe-Zn po příčném průřezu povlakem

Již dříve bylo popisováno odlupování a segmentace povlaku na rozhraní jednotlivých přechodových fází Fe-Zn, které jsou po průřezu povlaku rozloženy z pravidla dle obrázku 1. Jejich výskyt a vznik je přitom řízen binárním rovnovážným diagramem Fe-Zn (viz obr. 3) a závisí v první řadě na podmínkách při kterých zinkový povlak vznikl, nebo které následovaly bezprostředně po jeho vytvoření.

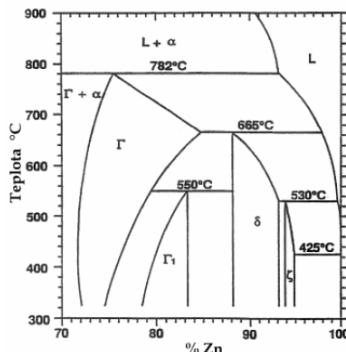
Ukázkou může být schématická struktura vrstvení intermetalických fází Fe-Zn v závislosti na čase ($t_4 > t_3 > t_2 > t_1 > t_0$), po který je struktura vystavena zvýšené teplotě (viz obr. 2). Touto teplotou může být například hodnota 200-300 °C, které bývá nově vytvořený povlak vystaven po dobu 1-2 hodin během procesu odvodňování. Jedná se o technologický postup, který je prováděn za účelem odstranění atomů vodíku a jeho sloučenin z nově vytvořeného povlaku. Princip vzniku atomárního vodíku spočívá v katodické redukci vodíkových iontů nebo vody na kladně nabitě



Obr. 2. Struktura vrstvení fází Fe-Zn vlivem zvyš. teploty ($t_4 > t_3 > \dots > t_0$) [2]

atomy vodíku, které jsou následně přitahovány k záporné elektrodě. Kladně nabitě atomy vodíku vznikají i při termické disociaci molekuly vody. [3]

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 tzv. vodíkovou 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 (navázání atomů vodíku na atomy kyslíku za vzniku vodní páry), přičemž mechanismus vodíkové nemoci lze považovat za zcela shodný s vodíkovou korozí. [6]



Obr. 3. Binární rovnovážný diagram Fe-Zn [2]

Vlastnosti zinkového povlaku jako celku jsou v největší míře ovlivněny procentuálním složením jednotlivých intermetalických fází. Tyto fáze se od sebe liší jak chemickým složením, krystalografickou strukturou, tak především svými mechanickými vlastnostmi (viz tab. 1).

Fáze η obsahuje max. 0,03 % Fe, přičemž se ve své podstatě jedná o povlak čistého zinku, který se vyznačuje vysokou houževnatostí. Fáze ζ obsahuje přibližně 6–7 % Fe a je tvořena dlouhými monoklinickými krystaly o délce až

Fáze	Vzorec	Krystalová struktura	Mikrotvrdość V _H 25 _{mg}
α Fe	Fe(Zn)	BCC	104
Γ	Fe ₃ 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

Tab. 1. Chem. složení, kryst. struktura a mikrotvrdość fází Fe-Zn [4]

desítky μm orientovanými kolmo na povrch. Fáze δ obsahuje 8–12 % Fe a často vykazuje dimorfismus – kompaktní nebo sloupcová struktura. Fáze Γ_1 obsahuje přibližně 21 % Fe a vlivem zvýšené teploty se vylučuje z fáze Γ . Mezi ostatními fázemi vyniká vysokou tvrdostí a FCC mřížkou. Tyto vlastnosti jí tak předurčují k případné delaminaci. Fáze Γ obsahuje maximálně 31 %

Fe a od fáze Γ_1 se liší BCC mřížkou. Fáze α je substituční tuhý roztok zinku ve feritu, přičemž za pokojové teploty může obsahovat až 4 % Zn. [1, 5]

Nově vytvořený zinkový povlak bývá v průmyslové praxi často podrobován tahovým, či tlakovým napětím (např. automobilový průmysl, ...). Vzhledem ke složení povlaku z hlediska intermetalických fází a odlišnosti jejich mechanických vlastností bude mít následná tepelná úprava (odvodňování) pravděpodobně vliv na soudržnost povlaku v místě napěťového zatížení. Případné změny povlaku způsobené tlakovým, či tahovým napětím jsou diskutovány v závěru práce.

MATERIÁL A METODIKA

Experimenty navazují na předchozí výzkum zabývající se uspořádáním intermetalických fází Fe-Zn a snižováním funkčnosti zinkové ochrany synergickým působením koroze a napětí. Z tohoto důvodu byla zvolena sada stejných vzorků ocelových plechů z materiálu ČSN 11 321 (DC01) o rozměrech 160x65x1,0 mm. Po nastříhání byly vzorky v komerční sféře odmaštěny, mořeny a žárově zinkovány na tloušťku vrstvy 40-60 μm při teplotě lázně 460 °C a délce ponoru 260 s.

Takto připravené vzorky byly rozděleny do třech skupin:

- vzorky bez tepelné úpravy
- vzorky popouštěné při 300 °C po dobu jedné hodiny
(simuluje proces odvodňování)
- vzorky popouštěné při 300 °C po dobu pěti hodin

Ohřev vzorků byl proveden v laboratorní peci MP 05-1.1 od firmy Martínek, s.r.o. Kladno, přičemž doba ohřevu pět hodin byla zvolena především z důvodu snadnější názornosti při popisu probíhajících změn v zinkovém povlaku. Ochlazení vzorků z teploty 300 °C bylo provedeno za pomoci vzduchové vývěvy.



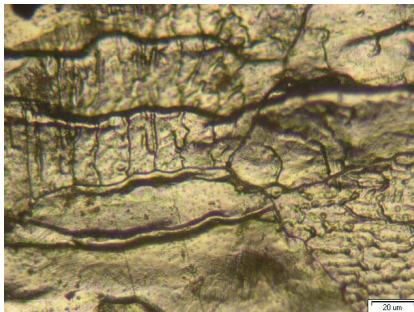
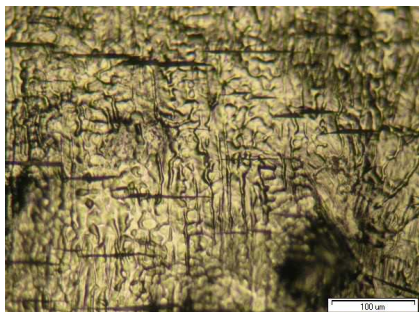
Obr. 4. Vzorek 160x65x1,0 po zkoušce ohybem

Pro hodnocení přilnavosti zinkového povlaku by bylo možné použít např. mřížkovou zkoušku dle ČSN ISO 2409 nebo odtrhovou zkoušku dle ČSN EN 24624. Za účelem hodnocení houževnatosti a soudržnosti zinkové vrstvy v místě napěťového zatížení byla však zvolena ohybová zkouška na válcovém trnu dle ČSN EN ISO 1519 s kritérii vyhovuje/nevyhovuje. Pro porovnání byly zvoleny dva trny o různých průměrech a to 10 a 32 mm. Ukázka vzorku po zkoušce ohybem je na obr. 4.

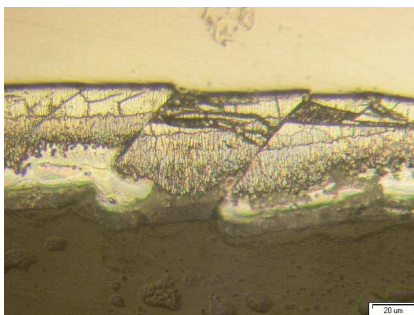
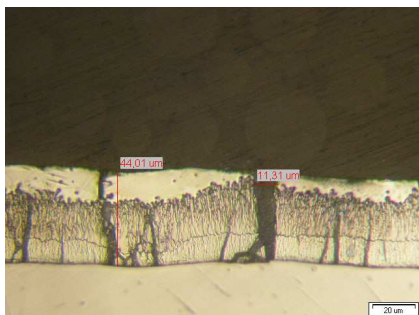
Pro vizualizaci a pozorování změn, které v povlaku nastaly, bylo využito světelné mikroskopie v režimu odrazu a následně metalografie.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Sledování tahové strany vzorků ohýbaných přes cylindrický trn o $\varnothing 10$ mm potvrdilo praskání zinkového povlaku již u vzorků bez tepelné úpravy (viz obr. 5, 7). Na povrchu vzorku se objevují trhliny o délce desítky mikrometrů a šířce až patnáct mikrometrů. Stejného výsledku bylo dosaženo i na vnitřní (tlakové) straně vzorku (obr. 6). Opět se objevují trhliny, avšak zároveň dochází k delaminaci intermetalických fází a jejich vzájemnému posuvu ve směru skluzových rovin, které jsou na obr. 8. dobře patrné. Liší se zároveň i struktura trhlín, které již nemají lineární charakter, jako tomu bylo na vnější tahové straně.



Obr. 5. Tahová strana vzorku bez TU – trn $\varnothing 10$ Obr. 6. Tlaková strana vzorku bez TU – trn $\varnothing 10$



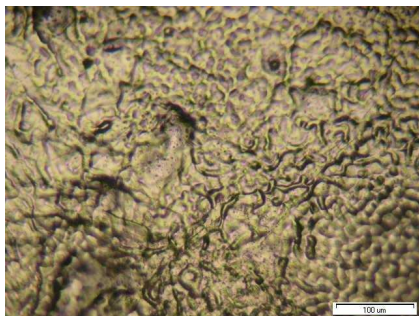
Obr. 7. Metalografický snímek tahové strany vzorku bez TU ohýbaného přes trn o $\varnothing 10$ mm Obr. 8. Metalografický snímek tlakové strany vzorku bez TU ohýbaného přes trn o $\varnothing 10$ mm

Při použití trnu o průměru 32 mm a vzorku bez tepelné úpravy bylo zjištěno porušení v podobě podpovrchových mikrotrhlin pouze na tahové straně vzorku. Porušení povlaku se projevuje v podobě vertikálních trhlin vyskytujících se v oblasti fází γ , γ_1 , δ a ζ . Prostupu trhlin na povrch vzorku však brání intermetalická fáze η , vyznačující se vysokou houževnatostí. Vznik trhlin je pravděpodobně iniciován v oblasti přechodu fází γ , γ_1 a δ , neboť jak je vidět na obr. 9, dochází k odlupování povlaku právě v těchto místech. Tomu nasvědčují i mechanické vlastnosti a

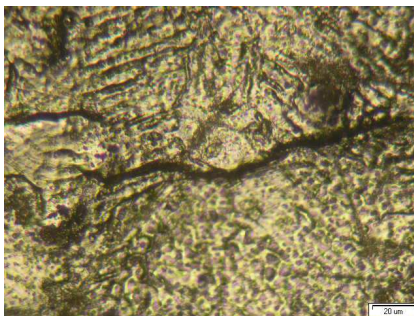


Obr. 9. Metallografický snímek odlupující vrstvy u vzorku popuštěného 1h při 300 °C

krystalografická struktura zúčastněných intermetalických fází, které se od sebe zásadně liší. V případě vzorku popuštěného jednu hodinu při 300 °C se však porušení v podobě povrchových trhlin objevilo nejdříve na tlakové straně vzorku (viz obr. 11). Na tahové straně se pravděpodobně opět uplatňuje dobrá tažnost fáze η , zabraňující průniku trhlin na povrch vzorku (viz obr. 10). Pod povrchem však dochází k dalšímu rozvoji již iniciovaných trhlin a ke vzniku dalšího porušení ochranného povlaku.



Obr. 10. Tahová strana vzorku popuštěného 1h při 300 °C - trn o Ø32 mm



Obr. 11. Tlaková strana vzorku popuštěného 1h při 300 °C - trn o Ø32 mm

V případě vzorků popuštěných pět hodin při teplotě 300 °C dochází jak na vnější tahové, tak na vnitřní tlakové straně povlaku k dalšímu šíření podpovrchových i povrchových trhlin, které začínají být patrné pouhým okem. Začíná docházet k borcení povrchové vrstvy a následnému odlupování povlaku, který tak ztrácí svoji ochrannou funkci.

ZÁVĚR

Práce potvrzuje negativní vliv působení tahových a tlakových napětí na celistvost a celkový stav zinkové vrstvy. Zároveň byla dokázána nevhodnost použití následných tepelných úprav zinkových vrstev, které způsobují nárůst intermetalických fází směrem k povrchu vzorku a usnadňují tak šíření podpovrchových trhlin, jejichž vznik byl iniciován během ohybové zkoušky. S nárůstem přechodových fází Fe-Zn směrem k povrchu vzorku dochází ke ztenčování pásu fáze η , která svojí houževnatostí jako jediná brání prostupu trhlin na povrch zinkové vrstvy. Díky existenci fáze η se tak povrchové trhliny objevily nejdříve u povrchu zatíženého tlakem a až následně u povrchu namáhaného tahem. Pod povrchem zinkové vrstvy byla však situace odlišná, neboť mikrotrhlínky se objevily nejdříve na tahové straně vzorku a až následně na straně tlakové. V obou případech se však jedná o hrubé nedostatky ochranné vrstvy, neboť existence trhlin a nárůst intermetalických fází umožňují pronikání koroze do nitra povlaku a jeho podkorodování. Korozní ochrana žárovým zinkováním je tedy v těchto případech naprosto nevhodná.

LITERATURA

- [1] LEŠKO, A., KOLLÁROVÁ, M., PARILÁK, L., 2002: *Deformation and fracture of hot dip galvanized steel sheets*. Kovové materiály. Vol. 40, is. 1, s. 1-10.
- [2] MARDER, A. R., 2000: *The metallurgy of zinc-coated steel*. Progress in Materials Science. Vol. 45, is. 3, s. 191–271.
- [3] TRČKA, J., 2003: *Vliv vnějších podmínek na stabilitu a vlastnosti antikoročních kovových povlaků na oceli*. Brno: VUT, Disertační práce.
- [4] ZMRZLÝ, M., 2004: *Vlastnosti modifikovaných povrchů kovových materiálů*. Brno: VUT, Disertační práce.
- [5] KRAUS, V.: *Povrchy a jejich úpravy*. [online]. [Cit. 2010-10-05].
Dostupné z: <http://tzs.kmm.zcu.cz/POUcelk.pdf> .
- [6] SurTec ČR s.r.o. [online]. [Cit. 2010-10-05].
Dostupné z: <http://www.surtec.cz/Publikace/Ti08.pdf> .

WASTE MANAGEMENT AND *HERMETIA ILLUCENS*

Kalová M.¹, Borkovcová M.²

¹Department of Agriculture, Food and Environmental Engineering, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

²Department of Zoology, Fisheries, Hydrobiology and Apiculture, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xkalova@node.mendelu.cz, borkov@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this study was to explore the possibility of using the insect *Hermetia illucens* for treatment of biodegradable municipal waste, so kitchen and garden waste. Methodology was observing and determining whether breeding *Hermetia illucens* in the Czech Republic is possible and under what conditions. This insect is a consumer of biological municipal waste (kitchen residues, food waste, peel the potatoes, grass, ...). It was confirmed that breeding *Hermetia illucens* is possible in our conditions, and the setting of appropriate temperature and light conditions.

Use of this insect is particularly suitable in terms of reducing the proportion of biodegradable municipal waste material. Reducing the proportion of biodegradable waste that can be applied to waste from the maintenance of public green spaces or where the agricultural and food production. Potential use of insect *Hermetia illucens* is high not only in waste management, but also in sectors where they try to prevent waste.

Key words: waste management, municipal waste, biodegradable municipal waste, biodegradable waste, kitchen and garden waste, insect *Hermetia illucens*

ÚVOD

V rámci celkového pohledu na odpadové hospodářství je jedním z nejvíce nedotažených a ožehavých témat zacházení s biologicky rozložitelným odpadem. Patrné projevy nedostatkových řešení jsou především v rámci zpracování biologicky rozložitelného komunálního odpadu, tedy kuchyňského a zahradního. Obecně existují dva hlavní proudy způsobů řešení, a to rozkladné metody za přístupu vzduchu (kompostování) či bez přístupu vzduchu (v bioplynových stanicích), které jsou značně závislé na kvalitě vytřídění materiálu rostlinného anebo živočišného původu. Stále platí, ač s posunutými lhůtami, závazky vůči legislativě EU ve snižování podílu biologické složky v komunálním odpadu, což není příliš snadné ani reálné naplnit.

Cílem této práce bylo navržen a základní prozkoumání možností využití hmyzu čeledi bráněnkovitých *Hermetia illucens*, který je více znám jako forenzní indikátor fáze rozkladu lidského těla. Není známo, že by *Hermetia illucens* přenášela jakékoli lidské onemocnění, jelikož dospělí jedinci nemají funkční části úst a k obživě jim stačí pouze voda. Tato moucha je neagresivní opylovač mrkvovitých rostlin, který se v našich podmínkách vyskytuje od druhé světové války, kdy do Evropy byla zavlečena z amerického kontinentu. (ESR International) Velkou výhodou pro odpadové hospodářství je schopnost konzumovat potravu jak rostlinného, tak živočišného původu.

MATERIÁL A METODIKA

V experimentu byl použit hmyz známý jako forenzní indikátor *Hermetia illucens* dovezený z Polska. Tento hmyz byl pozorován jako možný konzument biologické části komunálního odpadu, kejdy, dále odpadů z údržby veřejných ploch a případných zbytků z vývařoven a restaurací. Larvám byl předkládán různý materiál, kterým se živily. Měsíční stádium larvy přešlo do kukly, z které se vylíhly mouchy, které nakladly další vajíčka, z nichž se stanou opět larvy. Ty jsou velmi odolné, mají tvrdou konstrukci a jsou schopny přežít v podmínkách extrémního nedostatku kyslíku. (Tomberlin 2002) Kukly v našem experimentu jsme se snažili ponechat přirozenému vývoji, abychom docílili dalších larev v nové generaci. V okamžiku, kdy by bylo kukel nadbytek, je možnost je používat jako doplňkové krmivo pro drůbež, ryby či prasata.

Dospělí jedinci nepotřebují žádnou potravu, k přežití jim stačí jen voda. Jejich váha je rozdílná, těžší samičky po oplodnění kladou vajíčka po stranách či na povrch biologického materiálu, který se začíná rozkládat. Produkce vajec je v rozmezí 320-620, možné jsou až tři generace ročně. Ideální teplota je mezi 27-30°C, jelikož zaručuje 74-97% přežití. (Tomberlin 2009, Gutierrez 2004, Myers 2008, Sheppard 2002a, Sheppard 2002b)

Metodikou bylo pozorování za různě stimulovaných podmínek a obecně snaha zjistit, zda je chov *Hermetia illucens* v České republice možný a za jakých podmínek. Mezi podmínky patří

i stravovací preference zejména v oblasti kuchyňského a zahradního odpadu, případně materiálu ze zemědělské či potravinářské produkce. Materiál byl vybírán záměrně ten, který je problematický pro jiné způsoby využití, než jsou například bioplynové stanice, kompostárny či využití na způsob hnojiva.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Při sledování chování druhu *Hermetia illucens* v našich podmínkách bylo zjištěno, že přirozený chov je možný jen za omezených teplotních podmínek, proto jsme se museli přiklonit k chovu v umělých podmínkách, tedy vytvořit prostředí vytápěné a navíc i osvětlené. Proto je samozřejmou podmínkou v chladnějších oblastech kvalitní izolace.

Tab. 1 Stravovací preference larev *Hermetia illucens*

Konzumovaný materiál	Zařazení materiálu, podobnost k jinému materiálu / odpadu
Tráva	Zahradní odpad / odpad z údržby veřejné zeleně
Kuchyňské zbytky	Kuchyňský odpad (část komunálního odpadu)
Slupky od brambor, ...	Kuchyňský odpad (část komunálního odpadu)
Koňská koblíha	Kejda, odpady ze zemědělství

V rámci diskuse je třeba zmínit potenciální rizika využívání hmyzu *Hermetia illucens* v odpadovém hospodářství. Ač je přenos onemocnění na člověka z podstaty biologie druhu *Hermetia illucens* eliminován, jsou zde další možnosti ohrožení lidského zdraví či rovnováhy organismů, které je potřeba zodpovědět. Mezi tato rizika patří především přenos těžkých látek či výskyt patogenních mikroorganismů v potravním řetězci. V poslední řadě je nutno zmínit možnost etického rizika, tedy morálního pohledu, zda je morální využívat živé organismy v technologiích. Odpověď je v kompetenci environmentální etiky, zejména směr zoocentrismu by mohl mít velké výhrady.

Dalším diskutabilním bodem je zohlednění možných *bariér* (Filip 2003) využívání hmyzu v rámci odpadového hospodářství. Legislativní bariéry jsou značně proměnlivé dle aktuálnosti novel zákonů a vzhledem k neznalosti technologie v současnosti nevytvořené. Psychologická bariéra může být spatřována v nedůvěře vůči dané technologii či případné štítnosti spojené s odporem. Výraznou bariérou je informační, která upozorňuje na možné postoje nepřijetí občany, kterým se nová, málo známá technologie může zdát málo tradiční či extrémně alternativní. Na tuto bariéru navazuje organizační bariéra s otázkou, jak tuto technologii začlenit v rámci zaběhnutého systému nakládání s komunálním odpadem. Environmentální bariéra spočívá v otázce, zda je *Hermetia illucens* invazní druh a jak by případně narušil stabilitu místních ekosystémů. Odpověď přinesl námi stimulovaný experiment, kdy se jeví, že v našich teplotních podmínkách, tak, jak je známe v současnosti, se daný hmyz invazně nechová, tedy ani stabilitu místních ekosystémů s největší pravděpodobností nevyvede z rovnováhy.

ZÁVĚR

Bylo potvrzeno, že chov bráněnky *Hermetia illucens* je v našich podmínkách možný, a to za nastavení vhodných teplotních a světelných podmínek. Lze tedy přemýšlet o konkrétních možnostech, jak využívat konzumačních návyků tohoto hmyzu v rámci zaběhnutého systému nakládání s odpady, abychom byli schopni omezit podíl biologicky rozložitelných materiálů v komunálním odpadu. Tento navrhovaný postup s uvážením kukel jako krmiva lze chápat jako přípravu k opětovnému využití, tedy upřednostnění hierarchie nakládání s odpadem dle poslední novely zákona o odpadech 185/2001 Sb., jejíž účinnost byla stanovena na 1. července 2010. Snižování podílu biologicky rozložitelných odpadů lze aplikovat i na odpady z údržby ploch veřejné zeleně, případně do oblasti zemědělské či potravinářské produkce. Potenciál využití hmyzu *Hermetia illucens* je vysoký nejen v rámci odpadového hospodářství, ale i pro odvětví, kde se snaží předcházet vzniku odpadu.

LITERATURA

Filip J., Kotovicová J., Božek F. (2003): Komunální odpad a skládkování. Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně: 18-22.

Gutierrez A., Vergara Ruiz G.P., Mejia Velez R.A. (2004): Compositional, microbiological and protein digestibility analysis of larval meal of *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) at Angelopolis-Antioquia, Colombia. Revista - Facultad Nacional de Agronomia Medellin, 57(2): 2491-2499.

Myers H. M., Tomberlin J. K., Lambert B.D., Kattes D. (2008): Development of the Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) Larvae Fed Dairy Manure. Environmental Entomology, 37(1): 11-15.

Sheppard D. C., Tomberlin J. K., Joyce J. A., Kiser B. C., Sumner S. M. (2002): Rearing methods for the Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae). Journal of Medical Entomology, 95(4): 695-698.

Tomberlin J. K., Adler P. H., Myers H. M. (2009): Development of the Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) in Relation to Temperature. Environmental Entomology, 38(3): 930-934.

Tomberlin J. K., Sheppard D. C., Joyce J. A. (2002)a: Select Life-History Traits of Black Soldier Flies (Diptera: Stratiomyidae) Reared on three Artificial Diets. Annals of the Entomological Society of America, 95(3): 379-386.

Tomberlin J. K., Sheppard D. C., Joyce J. A. (2002)b: Susceptibility of Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) Larvae to Four Insecticides. Journal of Economic Entomology, 95(3): 598-602.

Webové stránky „ESR International“, dostupné na <http://www.esrint.com/pages/bioconversion.html> [navštíveno dne 4. 10. 2010]

Zákon o odpadech 185/2001 Sb. ve znění pozdějších předpisů, dostupný na http://www.mzp.cz/cz/odpadove_hospodarstvi [navštíveno dne 10. 10. 2010]

POSITION OF THE REFERENCE TEMPERATURE SENSOR IN A REAL ROOM

Karafiát P., Fajman M., Severa L., Havlíček M.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xkarafi1@node.mendelu.cz

ABSTRACT

A temperature control in a real room is a relatively complex matter. There are much undesirable interference under the real room conditions; such as changing of the temperature outside, opening windows and doors, a presence and movements of people etc. These factors influence quality of a regulation; thus, it is very important to find out a proper position of the reference temperature sensor, in order to control the room temperature, which should not be significantly influenced by these factors. The goal is to discover how the different courses of temperature are distributed in selected areas across the room. Continuous measurements of the temperature distribution were accomplished during a whole day. There were noticed considerable differences among some of individual measured temperature courses. The same as, calculated average courses of temperatures in different sections of the room are statistically significantly different, what confirms the theoretical hypothesis of temperature courses behavior under the real room conditions.

Key words: regulation, temperature, sensor position

ÚVOD

Regulace teploty v obytných prostorech je dnes nedílnou součástí při návrhu otopných soustav. Je to dáno jednak zvýšením tepelné pohody v místnostech, protože nedochází k velkým výkyvům teplot jako při manuálním řízení teploty, tak i z toho vyplývajících úspor tepelné energie, jejíž ceny neustále stoupají. Existuje mnoho způsobů regulace teploty k nimž patří regulace pomocí termostatických hlavic, ekvitermní regulace, regulace pomocí referenčního teplotního čidla v místnosti, případně kombinace těchto systémů. Práce se zabývá regulací pomocí referenčního teplotního čidla umístěným na vhodném místě v prostoru. Při výběru místa pro umístění čidla musí být respektovány okolní vlivy, které by mohly regulaci negativně ovlivňovat. Existují obecná pravidla, kde by mělo být čidlo umístěno, ovšem v praxi se ukázalo, že se jedná pouze o doporučení, protože každá místnost je jinak ovlivňována okolními jevy. Obecnými doporučeními se lze řídit, pokud by byla místnost ideální, tj. nedocházelo k žádným změnám teplot okolí, neprojevovalo by se proudění vzduchu atd. Takovou místnost lze ovšem vytvořit pouze v laboratorním prostředí. Proto je třeba se zabývat prostorami reálnými, kde na regulátor, resp. na čidlo referenční teploty působí mnoho okolností.

MATERIÁL A METODIKA

Umístění referenčního čidla regulace teploty v místnosti je často podceňovanou záležitostí při návrhu regulace otopné soustavy. Vhodné umístění referenčního čidla má značný vliv na kvalitu regulace teploty, následnou tepelnou pohodu v místnosti a také na náklady spojené s vytápěním objektu.

Regulátory pracují na principu neustálého snímání teploty v místnosti a vyhodnocují, jestli je potřeba dodávka tepla či nikoliv. Jedním z nedostatků této regulace je fakt, že regulátor snímá teplotu pouze v tom bodě v prostoru kde je umístěný. Proto není vybrání vhodného místa pro umístění jednoduchou záležitostí. Obecně platí několik doporučení, kde by v místnosti mělo být čidlo umístěno:

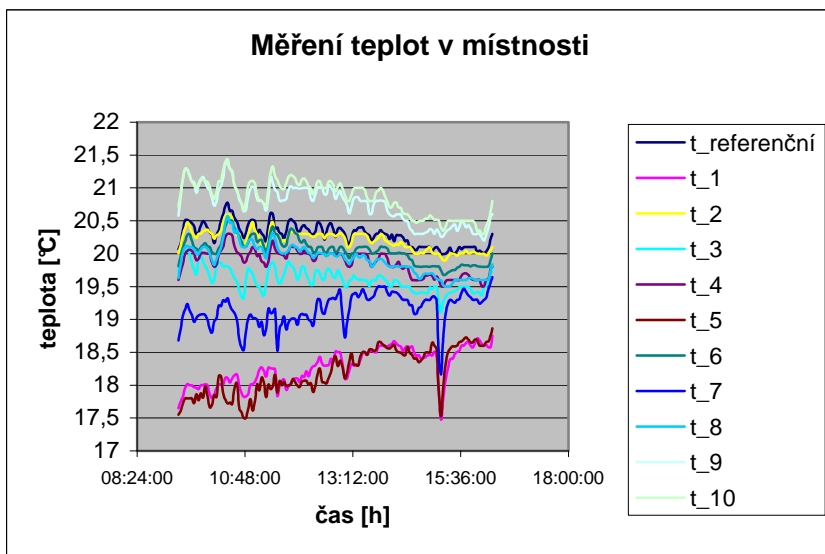
- čidlo by nemělo být umístěováno na stěně, která sousedí s venkovním prostorem
- nemělo by být umístěováno v blízkosti zdrojů tepla (radiátory, kamna, el. přímotop).
- nesmí snímat teplotu stěny, ale teplotu v okolním prostoru ve výšce cca 150 cm od podlahy

I přes tato obecná doporučení nelze jednoduše rozhodnout, kam referenční čidlo umístit, protože výše uvedené podmínky splňuje obvykle více míst v prostoru. Jednou z možností je často praktikovaná metoda pokus-omyl, kdy se takzvaně referenční čidlo umísťuje různě po místnosti a subjektivně se hodnotí kvalita regulace.

VÝSLEDKY A DISKUZE

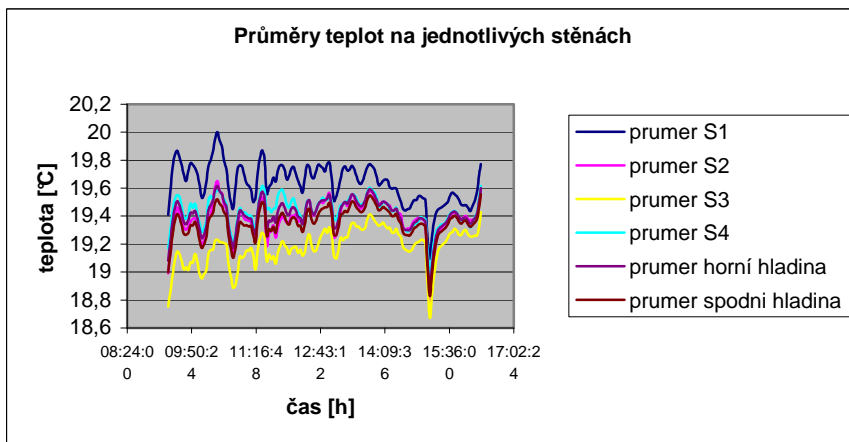
Měření bylo uskutečněno dne 17.1.2010 v reálné místnosti v rodinném domě používané jako obývací pokoj. Místnost byla používána obvyklým způsobem. Venkovní teplota v průběhu celého měření byla $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$, a nevykazovala výkyvy větší než $0,2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Nastavená teplota pro regulátor byla $20,3\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Z naměřených dat (Obr.2) je patrné, že dle předpokladů není rozložení teplot v místnosti konstantní. Také je patrný trend klesání a stoupání teplot v různých částech místnosti ve stejných časových okamžicích. V naměřených hodnotách je vidět kolem 15 hodiny značný pokles teplot u průběhů naměřených ve spodní části místnosti. Tento pokles byl způsoben otevřením dveří do sousedící chodby, kde byly otevřeny dveře do venkovního prostoru. V tomto okamžiku je patrné, jak se teplotní poměry v místnosti značně mění. Průběh teploty na referenčním čidle regulátoru, ale nevykazuje velký pokles. Ani ostatní průběhy teplot v horní hladině místnosti nevykazují velký rozkmit, což odpovídá teoretickým předpokladům.

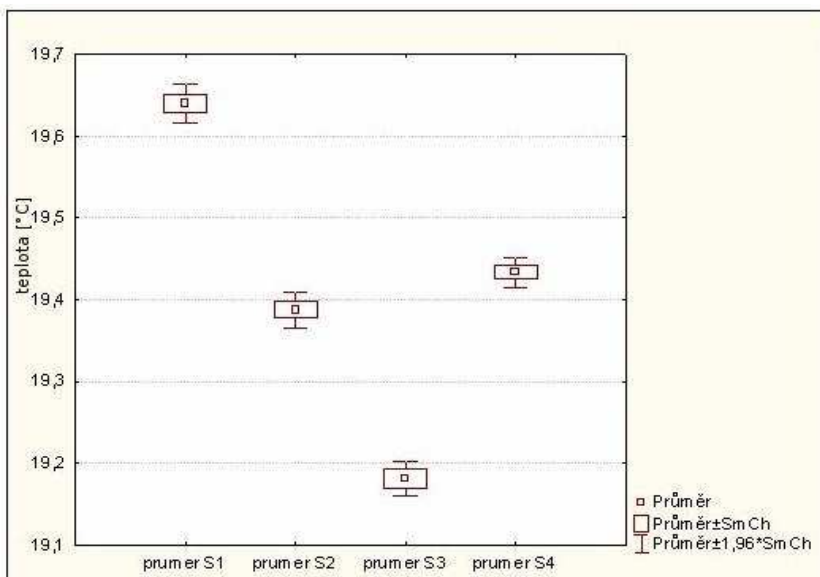


Obr.2: Průběhy teplot v měřených částech místnosti

Pro ověření, zda má na daný výsledek vliv na které stěně je referenční čidlo umístěno, se zprůměrovaly průběhy teplot v jednotlivých řezech v místnosti. Tím se získaly průměry teplot u jednotlivých stěn, a průměry teplot ve spodní a horní části místnosti (Obr.3). Statisticky se zjišťovalo, zda se průběhy prokazatelně liší či nikoliv.



Obr.3: Rozložení teplot na jednotlivých stěnách



Obr.4: Statistické zhodnocení průběhů teplot na stěnách

MENDELNET 2010

Z grafu na obrázku 4. je patrné že se průměrná teplota na stěně S1, což je stěna kde bylo referenční čidlo umístěno, nejvíce blíží požadované nastavené teplotě. Průměr teplot na protilehlé stěně je o 0,5 °C chladnější, což je způsobeno tím že tato stěna sousedí s chodbou a dveřmi do chodby, které tuto teplotu značně ovlivňují. Celkově se tyto průběhy teplot neliší mezi sebou o více než 0,6 °C. Z tohoto lze usuzovat, že referenční teplotní čidlo bylo umístěno v souladu s požadavky na něj kladenými.

ZÁVĚR

Z naměřených hodnot je patrné, jak se průběhy teplot v jednotlivých částech místnosti mění. Průměrné hodnoty teplot na jednotlivých stěnách se prokazatelně liší, což odpovídá teoretickým předpokladům. Hodnoceno je pouze jedno celodenní měření, protože při ostatních měřeních nebyla dodržena konstantní venkovní teplota v průběhu celého měření. Dále bylo měření ovlivněno prouděním venkovního vzduchu do místnosti při otevření dveří. Tento negativní jev ovšem zvýraznil, jak se průběhy teplot v místnosti mění a jak na ně reagoval regulátor. Z rozkmitů naměřených průběhů teplot také vyplývá, že je důležité, kde je teplotní čidlo regulátoru umístěno.

LITERATURA

Valter J., 2010: Regulace v praxi -- aneb Jak to dělám já. 1. vyd. BEN-Technická literatura
ISBN: 978-80-7300-2

Kreidl M., 2005: Měření teploty. 1.vyd. BEN-Technická literatura, ISBN 80-7300-145-4

LABORATORY REACTOR OF NON LIQUID SUBSTRATES FERMENTATION

Karafiát Z., Vítěz T.

Department of Agriculture, Food and Environmental Engineering, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xkarafi0@node.mendelu.cz, vitez@mendelu.cz

ABSTRACT

Currently, the number of biogas plants using fermentation technology free flowing. Preconditions for the successful operation of such devices is accurate understanding of biological processes and their contexts. Consequently, The goal of research is to optimalize liquid substrates fermentation process for different sorces of materials and raise amount of findings which are neceséry for more effective bio-gas stations procescution using liquid substrates technology. The work describes the use of pig manure during the incorporation of laboratory reactor.

Key words: biogas, biogas station, fermentation, biomass

Acknowledgments: The project is funded with support from College Development Fund, FR 2100281. The project is being implemented with financial support TA 5 / 2010 Internal Grant Agency of the Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno.

ÚVOD

V současné době je přibližně 80% celkové světové energie vyráběno z fosilních paliv. Z biomasy je vyrobeno 10-15% energie, což z ní činí nejdůležitější obnovitelný zdroj (Weiland 2010).

Jedním z příkladů využití biomasy je zpracování v bioplynových stanicích. V posledních letech stoupá zájem o tyto technologie, což se projevuje i na množství projektovaných bioplynových stanic. Evropská produkce energie z bioplynu dosáhla v roce 2007 6 milionů tun ekvivalentu ropy (Mtoe) s ročním nárůstem 20 % (EurObserv'ER 2008). Bioplynové stanice lze považovat za zemědělskému sektoru nejbližší. Jedná se především o anaerobní rozklad zemědělských substrátů (např. hnoj, kejda, kukuřičná siláž, travní senáž, různé zbytky obilovin), jehož výsledkem je bioplyn. Bioplyn je směsí plynů obsahující 55 – 75obj.% metanu a 23 – 43% oxidu uhličitého a cca 2% vodíku. Další plynné látky obsažené v bioplynu ve stopových koncentracích jsou sirovodík a další sirmé a dusíkaté sloučeniny (merkaptany, amidy). Který je spalován v kogeneračních jednotkách za současné výroby elektrické energie a tepla. Výhřevnost bioplynu o obsahu 60% metanu představuje 25MJ, což odpovídá cca 6,2kWh (Váňa 2009).

Bioplynové transformace se rozdělují na tekuté, kde by měl být obsah sušiny zachován pod 10%, a netekuté s vyšším obsahem sušiny, která může dosahovat až 30% (Braun 2008). V rámci projektu bioplynových transformací bylo pořízeno laboratorní zařízení, které dokáže zpracovat tuhé materiály ze zemědělské činnosti, údržby zeleně a biologicky rozložitelných komunálních odpadů. Jedná se o rozvíjející se technologii, která je u nově stavěných bioplynových zařízení zastoupena pouze z 10%, ale i přesto jsou zde patrné trendy výstavby stanic tohoto typu (Braun 2008). U této technologie narozdíl od tekutých procesů zcela chybí základní poznatky o vhodné skladbě substrátů a optimalizace jejich chodu. Proto abychom zjistili vlastnosti jednotlivých substrátů využíváme laboratorních fermentorů. Naším cílem je zjistit vhodný poměr mezi zreagovaným a novým substrátem, tak aby výnosnost bioplynu byla maximální.

MATERIÁL A METODIKA

Dosavadní zkoušky probíhaly při zapracovávání reaktoru do provozu. Jako prvotní substrát byl použit slamnatý vepřový hnoj o vstupní sušině 25,4% a jako procesní tekutina byla použita kapalná část fermentačního zbytku z bioplynové stanice.

Laboratorní fermentor o objemu 10L aktivního materiálu, je naplněn a následně hermeticky uzavřen. Materiál je temperován na mezofilní teplotu $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Od vložení je v pravidelných intervalech zkrápěn perkolátní tekutinou, která nový materiál naočkuje dostatečným množstvím mikroorganismů. Perkolátní tekutina také pomáhá udržovat stabilní teplotu materiálu. Do tří dnů od začátku cyklu dojde k odstranění kyslíku a stabilizaci anaerobního prostředí. Vznikající bioplyn je

jímán do plynových vaků, kde probíhá kvantitativní a následně kvalitativní analýza pomocí analyzátoru plynů (Dräger X-am 7000). Délka jednoho cyklu trvá 27 dnů. Denně se zapisují hodnoty: teplota biomasy, pH, tlak v reaktoru, množství vzniklého plynu a jeho složení CH₄, CO₂, H₂S, O₂. Na začátku a konci cyklu je zjišťována sušina materiálu. Poměr C:N se pohybuje v rozpětí 20-35:1, ideální poměr C:N je 25:1 (Zhang 1999).

Fáze procesu

Fermentace je velmi složitý proces, který může být rozdělen do čtyř fází: hydrolyza, acidogeneze, acetogeneze a methanogeneze.

Na jednotlivých fázích rozkladu se podílí různé společenstva mikroorganismů, která jsou částečně ve vzájemném vztahu, ale s různými požadavky na životní prostředí (Angelidaki 1993).

Hydrolyzující mikroorganismy jsou odpovědní za počáteční rozklad základních látek (uhlohydráty, proteiny, tuky) na nízkomolekulární sloučeniny (jednoduché cukry, aminokyseliny, mastné kyseliny). Většina z hydrolyzujících bakterií jsou striktní anaeroby, jako Bacteriocides, Clostridia a Bifidobakteria.

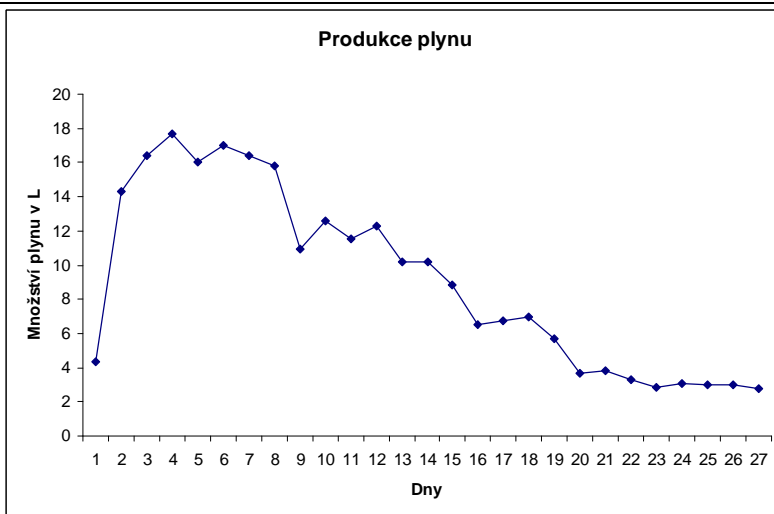
Produkty hydrolyzy se dále rozkládají v následné fázi acidogenezi. Zde dochází k dalšímu rozkladu především na kyselinu propionovou, kyselinu máselnou, kyselinu valerovou, kyselinu mléčnou a dále vzniká vodík a oxid uhličitý. Při zpracování látek dochází ke spotřebování kyslíku, čímž se vytváří anaerobní prostředí nezbytné pro produkci metanu.

Při fázi acetogeneze se látky vzniklé v předchozí fázi přeměňují na kyselinu octovou, vodík a oxid uhličitý. Fáze acetogeneze úzce souvisí s následnou fází methanogeneze, která představuje poslední krok v procesu výroby bioplynu. Metan se tvoří za přísně anaerobních podmínek pomocí příslušných bakterií (Methanosarcina spp., Methanobacterium spp., Methanococcus spp.) (KWS 2008). První a druhá skupina mikroorganismů stejně jako třetí a čtvrtá jsou úzce spojené mezi sebou, proto může být proces veden jako dvoustupňový (Schink 1997).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Množství vyprodukovaného plynu

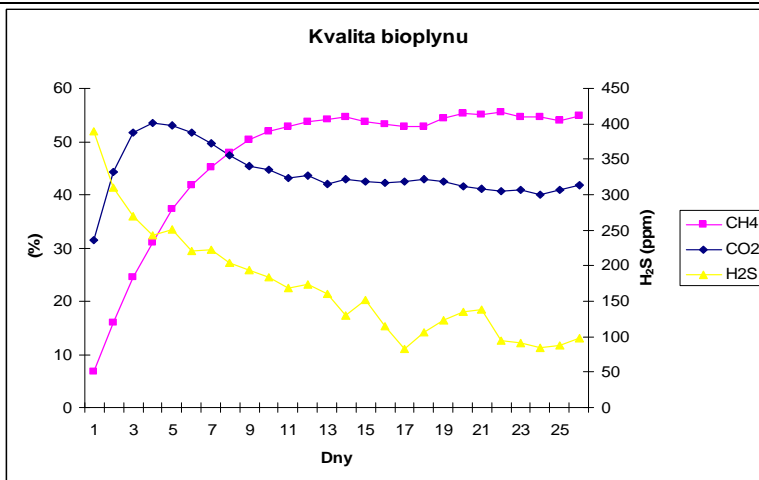
Celkové množství vyprodukovaného bioplynu za 27 dnů tvoří 246 litrů. Produkce od prvního dne výrazně stoupala. Největší produkce se dosáhlo 4. den, kdy bylo dosaženo hodnoty 17 litrů. Průměrná denní produkce během celého cyklu byla 9,1 litru. Celková produkce bioplynu se může rozdělit do tří etap. V prvních 8 dnech produkce nepoklesla pod 15 litrů za den, v následujících 10 dnech se hodnoty držely v rozmezí 6,5-12,5 litrů za den a od 20 dne se produkce propadla na 3 litry bioplynu na den. Prudký nárůst bioplynu způsobil dostatek jednoduše dostupných živin, které se postupně stávají hůře dostupné, jednotlivé komponenty substrátu jsou obtížněji rozložitelné mikroorganismy, což je důvodem snížení tvorby bioplynu.



Graf 1 Množství vyprodukovaného bioplynu

Kvalita plynu

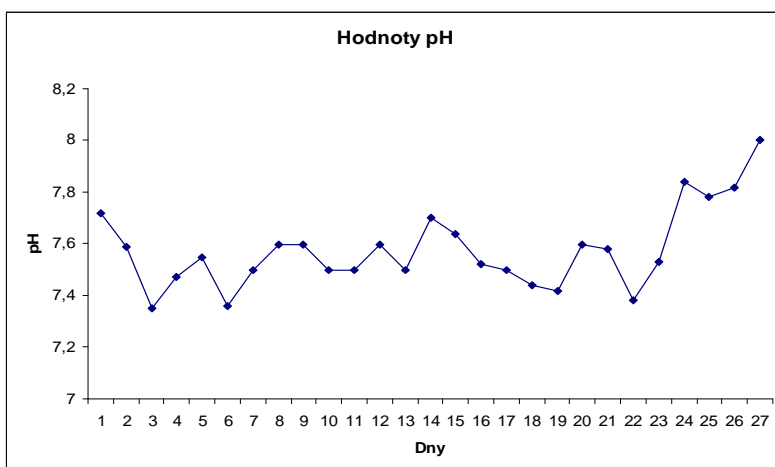
Hodnota metanu postupně narůstala a již 6. den dosáhla hodnoty 40%, 9 den 50% a postupně se dále zvyšovala. Největšího obsahu metanu bylo dosaženo 22 den, kdy bylo naměřeno 55,6%. Obsah metanu byl po celou dobu cyklu stabilní. Pozvolný nárůst metanu je způsoben delší generační dobou metan produkujících mikroorganismů. Průměrná hodnota oxidu uhličitého byla po celou dobu pokusu na 44%, přičemž hodnoty oscilovaly v rozmezí 31,5-53,4%. Obsah sirovodíku byl nejvyšší na začátku pokusu, činil 390 ppm (první den), po zbytek se jeho obsah snižoval až na hodnotu 82 ppm. Vysokou hodnotu sirovodíku na začátku cyklu si vysvětlujeme rychlým rozkladem dobře rozložitelných proteinů, při kterých se do bioplynu uvolňují sirmaté složky a postupným zvyšováním pH, kdy při pH substrátu 8 je disociováno 90% sulfidů vyskytujících se v bioplynu, oproti 50% při pH 7 (Žídek 2003). Průběžně se také sledovala hodnota kyslíku, která se průměrně pohybovala okolo 0,1%. Ve složení bioplynu nedocházelo v průběhu pokusu k výraznějším výkyvům.



Graf 2 Kvalita vyprodukovaného bioplynu

pH

Hodnota pH byla po celou dobu velmi stabilní. V průběhu pokusu oscilovala v rozmezí 7,3-7,8. Zajímavé je zvyšování hodnoty pH v posledních třech dnech pokusu, až k hodnotě pH 8. S tím souvisí zvýšené riziko zhroutení systému, kdy s vyšším pH silně vzrůstá hodnota koncentrace nedisociované formy amoniaku, která je při vyšších koncentracích toxická pro anaerobní bakterie zejména metanogeny (Dohányos 2009).



Graf 3 Hodnota pH

Tab. 1 Souhrnné výsledky

Denní průměr		Vepřová mrva
pH	[-]	7,6
Metan	[%]	46,7
Produkce bioplynu	[l]	9,1

ZÁVĚR

V rámci výroby elektrické energie z obnovitelných zdrojů má produkce bioplynu nezastupitelný význam. Při testování laboratorního zařízení, jsme se snažili zvolit vhodné podmínky (skladba substrátu, intenzita perkolace, teplota materiálu) tak, abychom se přiblížili reálným provozním podmínkám. Z dosavadních výsledků vyplývá vhodnost využití slamnatého vepřového hnoje, jako substrátu pro zapracování reaktoru do provozu. Produkce i kvalita vznikajícího bioplynu odpovídá výsledkům naměřených v laboratoři netekuté fermentace v Šumperku-Temenicích, při společnosti Fortex AGS. Zařízení bylo sestaveno za účelem seznámení studentů a získání ucelené představy o technologii netekuté fermentace. Dalším cílem výzkumu je sběr, zpracování a vyhodnocení dat, tak aby bylo možno provádět následující výzkum v oblasti netekuté fermentace. V současné době připravujeme sérii testů s různými druhy vstupních substrátů, zpracovatelných anaerobní fermentací. Jedná se především o biologicky rozložitelné odpady z komunální sféry. A rozvinout tak databázi informací o procesu anaerobní fermentace netekutých substrátů a optimalizovat tak celý proces.

LITERATURA

Angelidakii, I., Ellegaard, L., Ahring, B. (1993): A mathematical model for dynamic simulation of anaerobic digestion of complex substrates: focusing on ammonia inhibition. *Biotechnol Bioeng* 42: pp.159–166

Braun, R., Weiland, P., Wellinger, A. (2008): Biogas from energy crop digestion, IEA Bioenergy Task 37 – Energy from Biogas and Landfill Gas,

Dohányos, M. (2008): Jak zvýšit efektivnost bioplynové stanice? *Alternativní energie* **XI**, pp:26-27, ISSN 1212-1673

EurObserv'er Report (2008): The state of renewable energies in Europe : pp. 47–51.

Weiland, P. (2010): Biogas production: current state and perspectives, *Applied Microbiology and Biotechnology* 85 , pp. 849–860.

Kws Osiva, (2008): Bioplyn: Základy kvasné technologie, 86 s. vyd. KWS 2008

MENDELNET 2010

Schink, B. (1997): Energetics of syntrophic cooperation in methanogenic degradation. *Microbiol Mol Biol Rev* 61: pp.262–280

Schulz, H., Eder, B. (2004): *Bioplyn v praxi*. 1. vyd. Ostrava: Nakladatelství HEL, 168s. ISBN 80-86167-21-6.

Váňa, J.(2010): Bioplynové stanice na využití bioodpadů. *Biom*. <http://biom.cz/cz/odborne-clanky/bioplynovne-stance-na-vyuziti-bioodpadu> . ISSN: 1801-2655.

Zheng, M., Zhang, L. (1999): Biogasification of rice straw with an anaerobic-phased solids digester system, *Bioresource Technol.*68, pp.235–245.

Žídek, M. (2003): Alternativní využití bioplynu, *Energie z biomasy seminář 2003* s.133-136

CHARACTERIZATION OF FABRIC COMPONENT FROM USED TIRES WITH DIFFERENTIAL SCANNING CALORIMETRY

Knapčíková L., Oravec P.

Technical University of Košice, Faculty of Manufacturing of Technologies with the Seat in Prešov, Bayerova 1, Prešov, Slovakia

E-mail: lucia.knappikova@tuke.sk

ABSTRACT

This paper deals with the characteristics of fabric components from used tires. The Analysis which was used for this experiment is differential scanning calorimetry. With this method, the sample is subjected to a linear heating rate and heat flux in the sample, which is proportional to the immediate specific heats. Inside the shell, which is normally maintained at room temperature (cca.20 °C), there are two symmetrical container. Resistance thermometer and heating member embedded in the carrier sample serves as the primary temperature control system. Secondary temperature control system measures the difference in temperature between the two carriers, and this difference is adjusted to zero heat flow control, which is measured. Otherwise, we can say that the temperature of the sample is kept isothermally with the comparative sample (or block) supplying heat to the comparative samples. The analysis we have reached the following conclusions and that fabric used in our experiment consists of two types of polyamides, namely PA6 and PA 6.6. These results also help us in our work, notably by the design of process of composite materials based on fabric component from used tires.

Key words: differential scanning calorimetry, fabric component, used tires

ÚVOD

Produkcija pneumatik celosvetovo rastie. Je to spôsobené vplyvom rozvoja motorizmu a tiež výroby automobilov. Znamená to tiež množstvo pneumatík, ktoré prestali plniť svoju funkciu a tým sa dostali medzi odpad. Najvýznamnejšími vedľajšími produktami opotrebovaných pneumatík sú gumová drvina, textil a oceľ. V súčasnosti sú známe mnohé technológie, ktoré zhodnocujú tento odpad. Najvýznamnejší podiel v produkcii má výroba gumového granulátu, ktorého aplikácie použitia sú známe. Oceľ je zložka, s ktorou sa tiež nakladá pomerne s ľahkosťou. Po odseparovaní putuje ďalej na spracovanie. Jedinou zložkou, s ktorou sa v súčasnosti experimentuje je textil. Pre svoje tepelnoizolačné, zvukovo izolačné vlastnosti má tiež svoje miesto v cestnom staviteľstve.

MATERIÁL A METÓDY

Pri meraní boli použité nasledujúce materiály a prístroje:

- Vzorka textílií z opotrebovaných pneumatík – poskytnutá spoločnosťou V.O.D.S. Košice –SK (obr.1)
- Prístroj DSC 204 zn. NETZSCH (Germany)
- Program NETZSCH Proteus (vyhodnocovací program)

Ak je sledovanou fyzikálnou vlastnosťou rozdiel tepelných tokov do vzorky a referenčnej látky, hovoríme o diferenciálnej kompenzačnej kalorimetrii. Pre túto metódu je zaužívaná skratka DSC pochádzajúca z anglického názvu *differential scanning calorimetry*. Podľa konštrukcie delíme DSC kalorimetre na dva typy, a to kalorimetre s kompenzáciou výkonu a kalorimetre s tepelným tokom.[1] Oblasť použitia DSC kalorimetrov je väčšinou udávaná pre teploty v rozmedzí od $-180\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $+500\text{ }^{\circ}\text{C}$. Horný teplotný limit je determinovaný tým, že straty tepla žiarením sú úmerné štvrtej mocnine absolútnej teploty a v dôsledku tepelných strát žiarením nad horným limitom by meraný signál zanikol v šume. Metóda DSC je vhodná na meranie charakteristických teplôt fázových prechodov I. aj II. druhu ako aj na kvantitatívne stanovenie entalpických charakteristík spojených s fyzikálnymi aj chemickými premenami látok v kondenzovaných sústavách. Ďalej ju možno využiť na meranie tepelnej kapacity, stanovenie čistoty látok, popis reakčnej kinetiky a na iné špeciálne účely. [2] Pri tejto metóde sa vzorka podrobuje lineárnemu ohrevu a rýchlosti tepelnému toku vo vzorke, ktorý je úmerný okamžitému mernému teplu. Vnútri merného plášťa, ktorý je normálne udržiavaný na izbovej teplote (cca. $20\text{ }^{\circ}\text{C}$), sú umiestnené dve symetrické nádoby. Odporový teplomer a topný člen zabudovaný v nosiči vzorky slúži ako primárna teplotná kontrola systému. Sekundárny teplotný kontrolný systém meria teplotnú diferenciu medzi oboma nosičmi a tento rozdiel upravuje na nulovú kontrolu tepelného prúdu, ktorý je meraný. Inak sa dá povedať, že teplota vzorky je udržiavaná izotermicky so vzorkou porovnávacou (alebo blokom) dodávaním tepla do porovnávej vzorky. Toto množstvo, potrebné k udržaniu izotermických podmienok, je zapisované (zakresľované) v závislosti na čase alebo teplote. Používajú sa malé

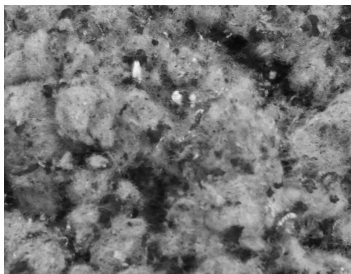
MENDELNET 2010

vzorky (miligramové množstvá), ktoré sú umiestnené na hliníkových podložkách, to znižuje tepelný spád na minimum. Malá tepelná kapacita celého systému dovoľuje použiť veľké rýchlosti ohrevu (desiatky K/min, °C/min) a zaisťuje veľkú rozlišovaciu schopnosť. Množstvo uvoľneného tepla je preto úmerné množstvu elektrickej energie spotrebovanej na zahriatie vzorky. Ide teda o kalorimetrickú metódu [3].

Pri meraní boli použité nasledujúce základné charakteristiky:

- Hmotnosť vzorky (textilu).....8,6 mg
- Teplota prvého ohrevu.....+20 °C..300 °C (10 K/min- rýchlosť ohrevu)
- Teplota druhého ohrevu.....-50 °C...300 °C (10 K/min- rýchlosť ohrevu)
- Teplota v miestnosti.....20 °C
- Vlhkosť prostredia.....50%
- Norma.....ISO 113 57

Na obrázku č.1 je znázornená vzorka textílie. Textil z opotrebovaných pneumatík bol poskytnutý spoločnosťou V.O.D.S. Košice. Na zhodnocovanie opotrebovaných pneumatík bola použitá technológia Eldan. Pneumatiky boli rozomieľané a drvené na rozličné frakcie, kde sa postupnou separáciou dosiaholo oddelenie jednotlivých zložiek, konkrétne gumového granulátu, ktorý má rôzne frakcie, textilu a oceľových drôtov. Oceľové drôty sa oddeľujú magnetickým separátorom, vzhľadom na to, že textil je rôznej dĺžky a je spletený, nie je možné dosiahnuť 100% čistotu textilu.

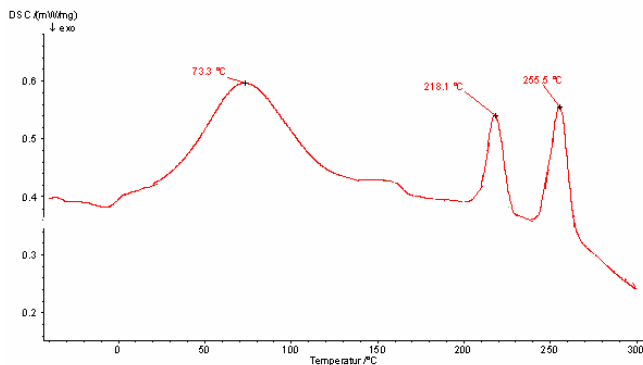


Obrázok 1 Vzorka textílií (spoločnosť V.O.D.S. Košice)

VÝSLEDKY A DISKUSIA

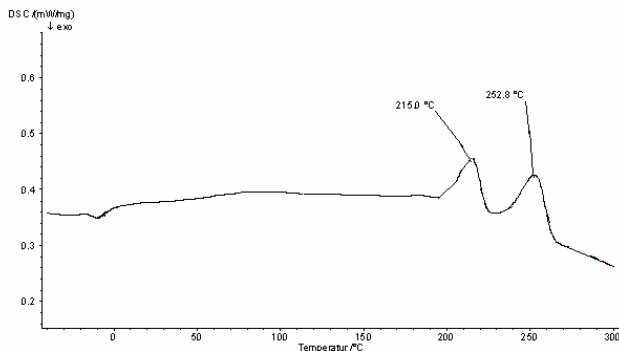
Po uplynutí stanoveného času merania sa analýzy ukončila. V programe NETZSCH Proteus sa následne vyhodnotili údaje, ktoré sa počas merania získali. Na obrázku č. 2 je grafické znázornenie diferenciálnej skenovacej kalorimetrie. Na grafe sú znázornené krivky 1. a 2. zahrievania pri

analyzovaní textílií. Teplota sklovitého prechodu T_g pri 1.ohreve má hodnotu $73,3\text{ }^{\circ}\text{C}$. Teploty topenia pri prvom vrchole „peak 1“ je $218,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ pri druhom vrchole „peak 2“ $255,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vo väčšine prípadoch sa robí 1. a 2. ohrev, lebo počas analýzy dochádza napr. k nedokonalému sadnutiu vzorky do skúšobnej nádoby, prítomnosť obsahu vody alebo rozpúšťadla vo vzorke alebo ak je vzorka znečistená.



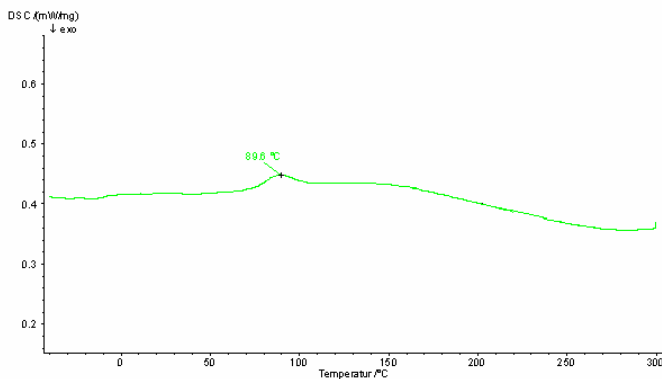
Obr. 2 Priebeh krivky pri DSC(textília) - 1.ohrev

Na obrázku č. 3 je znázornený 2.ohrev pri textilnej časti. Hodnoty z grafu sú nasledovné pri 1. vrchole hodnota zodpovedá teplote $215\text{ }^{\circ}\text{C}$, pri druhom vrchole má hodnotu $252,8\text{ }^{\circ}\text{C}$. Rýchlosť ohrevu je 10 K/min .



Obr. 3 Priebeh krivky pri DSC(textília) - 2.ohrev

Obrázok č.4 znázorňuje gumovú zložku, ktorá je obsiahnutá v samotných textíliách-ako gumový prach. Hodnota T_g je 89,6 °C.



Obr. 4 Priebeh krivky pri DSC (gumová zložka, nachádzajúca sa v textílií)

ZÁVER

Cieľom príspevku bolo priblížiť použitie diferenciálnej skenovacej kalorimetrie pri analýze textilnej zložky z opotrebovaných pneumatík. Po meraní sme dospeli k nasledujúcim záverom. Teplota skleneného prechodu pre gumovú zložku, ktorá tvorí súčasť textílií má hodnotu 89,6 °C. Teploty topenia T_m, pre jednotlivé zložky sú nasledovné. Teplota topenia- T_m pre textil počas prvého ohrevu je 218,1°C a 255,5°C. Po druhom ohreve sú hodnoty teploty topenia T_m 215 °C a 252,8 °C. Z analýzy bolo zistené, že textil je tvorený min. dvoma rozdielnymi typmi polyamidov. Prostredníctvom literatúry bolo stanovené, že hodnote 215 °C zodpovedá polyamid PA6 (vychádza to z porovnania T_m- teplôt topenia) a pre hodnotu 252 °C je to polyamid PA 6.6 [4].

LITERATÚRA

P. J. Haines (1995): Thermal Methods of Analysis–Principles, Applications and Problems. Blackie Academic & Professional, London

P. Šimon, E. Smrčková, Š. Svetík, A. Chochulová (2007): 5. Letná škola termickej analýzy a kalorimetrie – učebné texty. STU, Bratislava

VANÍČEK, J.: Metódy termickej analýzy, TF TÚ Liberec [online],[cit.01.03.2010], dostupné na WWW <<http://www.ft.vslib.cz/>>

Ehrenstein G., W., Riedel G., Travele P. (2003): Praxis der Thermischen Analyse von Kunststoffen, Hanser Verlag, s. 355, 358, München, ISBN 3-446-22340-1

TEMPERATURE DEPENDENT KINEMATIC VISCOSITY OF NEW AND USED ENGINE OIL

Kumbár V., Severa L., Havlíček M.

Department of Technology and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: kumbarv@centrum.cz

ABSTRACT

The objective of this study is to measure how the viscosity of engine oil changes with temperature. Six different commercially distributed new engine oils and two used engine oils (primarily intended for motorcycle engines) of 10W40 viscosity grade have been evaluated. All oils have been assumed to be Newtonian fluids, thus flow curves have not been determined. Oils have been cooled to below zero temperatures and under controlled temperature regulation, kinematic viscosity ($mm^2.s^{-1}$) have been measured in the range of $-5\text{ }^{\circ}C$ and $+115\text{ }^{\circ}C$. Anton Paar digital viscometer with concentric cylinders geometry has been used. In accordance with expected behavior, kinematic viscosity of all oils was decreasing with increasing temperature. Viscosity was found to be independent on oil's density. Temperature dependence has been modeled using several mathematical models – Vogel equation, Arrhenius equation, polynomial, and Gaussian equation. Proposed models can be used for description and prediction of rheological behavior of engine oils.

Key words: engine oil, kinematic viscosity, modeling

ÚVOD

Na motorové oleje jsou kladeny rozmanité a často i protichůdné nároky. Podle [14] motorový olej z hlediska tribotechnického musí:

- dobře lpět na mazaném povrchu při všech provozních podmínkách, což je určeno jeho hlavní komplexní vlastností – mazací schopností,
- odolávat smykovým silovým polím,
- dobře odvádět třecí a provozní teplo,
- chránit jak železné, tak barevné kovy (ložiska) před korozí,
- odolávat co nejdéle i za nepříznivých podmínek stárnutí – oxidaci uhlovodíků, resp. základních složek oleje,
- přispívat k těsnění pístů ve válci i za vysokých teplot,
- rozptylovat co nejmeněji nečistoty vznikající otěrem a zabraňovat jejich usazování,
- umožňovat provoz při velkých mrazech, ale i při vysokých teplotách.

Olej nesmí:

- napadat těsnící materiály,
- pěnit při provozu v motoru,
- vykazovat vysoké karbonizační číslo a rovněž nesmí být náchylný k tvorbě tzv. studených kalů.

Olej má být:

- málo odparný, což se příznivě odráží na malých ztrátách v provozu i za vysokých teplot (tato vlastnost souvisí s frakčním složením základového oleje),
- skladovatelný alespoň dva roky v temnu (plechová či polystyrenová embaláž) v přiměřené teplotě,
- ekonomický v provozu, což souvisí s jeho cenou a užitnými vlastnostmi,

- míšitelný s jinými oleji téže skupiny SAE¹ (dle viskozity) a dle podmínek provozu bez ohledu na firemní původ,
- v účelném balení i vzhledem k laickému používání – na obalu má být vytištěn návod k použití a případná upozornění,
- účelně značen dle mezinárodních norem SAE tak, aby byla jasná jeho specifikace a podmínky použití.

Viskozita

Rozlišujeme viskozitu kinematickou a dynamickou.

- Kinematická viskozita definuje poměr dynamické viskozity a hustoty kapaliny:

$$\nu = \frac{\eta}{\rho}; [m^2 \cdot s^{-1}], \quad (1)$$

- dynamická viskozita se dá vyjádřit slovně:

$$\eta = \frac{\text{síla} \cdot \text{čas}}{\text{plocha}}; \left[\frac{N \cdot s}{m^2} = Pa \cdot s \right]. \quad (2)$$

Jednotka $[Pa \cdot s]$ je vysoká, a proto se v praxi mnohem více uplatňuje jednotka o tři řády menší, tedy $[mPa \cdot s]$, pro kterou platí $1mPa \cdot s = 1 \cdot 10^{-3} Pa \cdot s$.

Viskozita se měří přístrojem zvaným viskozimetr. Stanovuje se například podle doby průtoku daného množství oleje kapilárou za přesně dané teploty, měřením rychlosti pádu kuličky v měřené kapalině či měřením na základě přenosu rotačního momentu. [14]

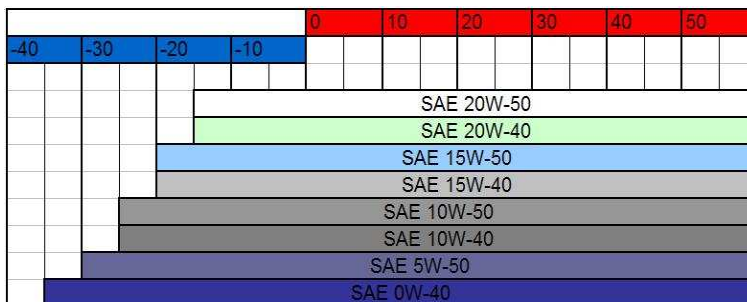
V praxi se nejvíce uplatňuje viskozitní index. Při nízké viskozitě je olej řídký a rychle tekoucí, při vysoké naopak hustý a teče velmi pomalu. Z toho vyplývá, že olej s nízkou viskozitou potřebuje kratší dobu a nižší tlak k tomu, aby zcela vyplnil dutinu, do níž je napuštěn. Viskozita olejů je rozdělena do tříd SAE. Absolutně nejnižší viskozitu má olej SAE0W (W jako Winter = zima), ale ten je tak řídký, že jeho optimální použití má opodstatnění za velmi nízkých teplot okolí (od $-35 \text{ }^\circ\text{C}$ výše). Nej hustší olej nese označení SAE60, ten je ale pro běžnou potřebu zase velice hustý. To všechno jsou oleje, které v motorech motocyklů příliš neupotřebíme, pro motocyklové

¹ Základní rozdělení do tzv. viskozitních tříd bylo vytvořeno Společností amerických inženýrů (Society of Automotive Engineers), známá pod zkratkou SAE.

MENDELNET 2010

motory mají největší význam oleje s označením například SAE 10W40, tedy oleje, které mají rozsah zaručené teplotní působnosti větší než oleje “jednoduché“ SAE_{xx}. [5]

Zatímco u olejů SAE_{xx} je doporučovaný teplotní rozsah asi 30 °C (myslí se teplota okolí, ne motoru), rozsah u oleje SAE 10W40 je zaručen od asi -25 °C do 50 °C. Přesnější hodnoty teplot a hodnoty olejů s jiným označením jsou na obr. 1. Tyto oleje jsou tedy takové 2 v 1 – například olej s označením SAE 0W40 se za nízkých teplot chová jako SAE0W a za vysokých teplot jako SAE40. [5]



Obr. 1 Teplotní rozsah jednotlivých olejů (převzato z [5])

Všeobecně mají všechny oleje při vysoké okolní teplotě nízkou viskozitu (proto je důležité před výměnou oleje motor zahřát, aby ho z motoru vyteklo co nejvíce) a naopak, pokud je motor velmi studený, oleje jsou husté a jejich viskozita vysoká. Viskozita ovlivněná okolní teplotou hraje hlavní roli při studeném startu motoru, protože bezprostředně po nastartování je potřeba, aby olej začal proudit a mazat exponovaná místa. Na vlastnosti oleje a na jeho viskozitu mají vliv i přísadové látky, jejichž složení si každý výrobce pečlivě chrání. Tato aditiva napomáhají tomu, aby olej snáze rozpouštěl a odstraňoval usazeniny v motoru, chránil lépe proti korozi. Určují samozřejmě také teplotní rozsah daného oleje. Ideální olej je tedy takový, který okamžitě po startu dokáže maximálně mazat motor a zároveň dokáže i za vysokých teplot vytvářet olejový film na všech potřebných součástech motoru. [5]

MATERIÁL A METODIKA**Motorové oleje**

K experimentům byly vybrány vzorky motocyklových motorových olejů, a to vzorky olejů nových (nepoužitých) i olejů použitých. Vzorky nepoužitých olejů byly vybrány mezi běžně prodávanými motocyklovými oleji vyrobenými v Evropské unii. Celkem bylo použito šest vzorků olejů s viskozitním indexem 10W40. Čtyři oleje jsou syntetické a dva oleje jsou polosyntetické. Vzorky použitých olejů byly odebrány z motocyklů Yamaha SR 125 (tzv. zajižďecí olej) a Suzuki GSX-R 750 SRAD (tzv. vyjetý olej).

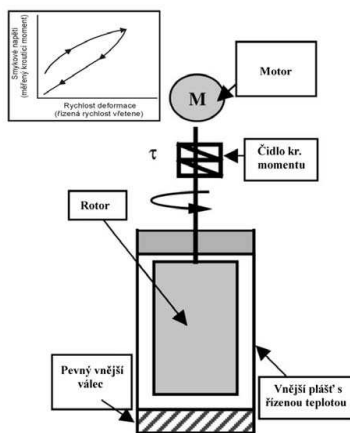
Tab. 1 *Vybrané nové motocyklové motorové oleje*

číslo vzorku	typ oleje	označení	výrobce	viskozitní index	země původu
1	syntetický	Moto 4T Off Road	Repsol	10W40	Španělsko
2	syntetický	Motex 4T-X	Chevron	10W40	Belgie
3	syntetický	Silkolene Comp 4	Fuchs	10W40	Velká Británie
4	syntetický	5100 Ester 4T	Motul	10W40	Francie
5	polosyntetický	Power 1 GPS	Castrol	10W40	Evropská unie
6	polosyntetický	DuraBlend 4T	Valvoline	10W40	Nizozemsko

Tab. 2 *Vybrané použité motocyklové motorové oleje*

číslo vzorku	typ oleje	označení	výrobce	viskozitní index	země původu	najeto, km	použití
7	syntetický	5100 Ester 4T	Motul	10W40	Francie	650	zajíždění motoru
8	syntetický	5100 Ester 4T	Motul	10W40	Francie	6200	běžné užití

Měření viskozity motorových olejů bylo provedeno pomocí rotačního viskozimetru Anton Paar DV-3P, který měří krouticí moment rotujícího vřetena ponořeného do vzorku. Tento viskozimetr pracuje na principu měření krouticí síly nutné k překonání odporu u rotujícího válce nebo disku ponořeného v měřeném materiálu. Rotující válec nebo vřeteno jsou propojeny přes pružinu s hřídelem motoru, který se točí definovanou rychlostí. Úhel pootočení hřídele je měřen elektronicky a poskytuje přesnou informaci o poloze hřídele, potažmo vřetene. Z měřených hodnot je na základě interních výpočtů přímo zobrazena hodnota dynamické viskozity ν [$mPa \cdot s$]. Pro kapaliny konstantní viskozity odpor vůči pohybu roste s velikostí vřetena. Rozsah měření pro stanovení reologických vlastností materiálu může být přizpůsoben zvolením vhodné kombinace vřetene a rychlosti otáčení. Pro získání relevantních výsledků měření je nezbytné znát nejdůležitější reologické vlastnosti vzorku. Je tedy třeba vyhodnotit, o jaký typ materiálu se jedná a správně jej klasifikovat. [8]



Obr. 2 Schematické znázornění mechanismu měření (převzato z [8])

K měření bylo použito standardizované vřeteno s označením R3. Toto vřeteno je nejvíce vhodné pro kapaliny podobných vlastností, jako má motorový olej.

Na rotačním viskozimetru jsme nastavili předem změřenou hustotu vzorku motorového oleje. Dále jsme nastavili počet otáček vřetene na 50 za minutu a nakonec ještě zvolili vzorkovací frekvenci. Do kyvety jsme odměřili 250 ml měřeného vzorku oleje zchlazeného na $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Tuto kyvetu se vzorkem jsme umístili do měřicího prostoru rotačního viskozimetru a vložili do ní měřící vřeteno (R3), nakalibrovaný teplotní senzor Pt 100 a spustili měření kinematické viskozity. Kinematická

viskozita je poměr viskozity dynamické a hustoty měřeného vzorku:

$$\nu = \frac{\eta}{\rho}, \quad (3)$$

kde (ν) je kinematická viskozita, (η) je dynamická viskozita a (ρ) je hustota.

Matematické modelování

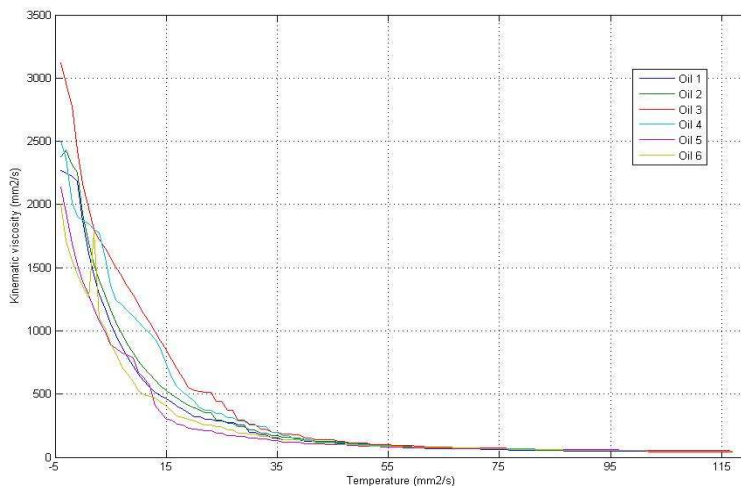
Matematický model byl vytvořen pomocí softwaru MATLAB[®] v. 7.1.0.246(R14) Service Pack 3, Curve fitting application (The MathWorks, Inc., USA). Dalším softwarem, pomocí něhož byl vytvořen matematický model, byl Microsoft[®] Excel 2002 (10.6856.6856) Service Pack 3.

Mezi naměřenými a vypočtenými hodnotami byly následně zjišťovány korelační koeficienty R^2 . U nových i použitých motorových olejů byly k matematickému modelování použity vztahy – Vogelův, Arrheniův, Gaussův, exponenciální a také polynom 6. stupně.

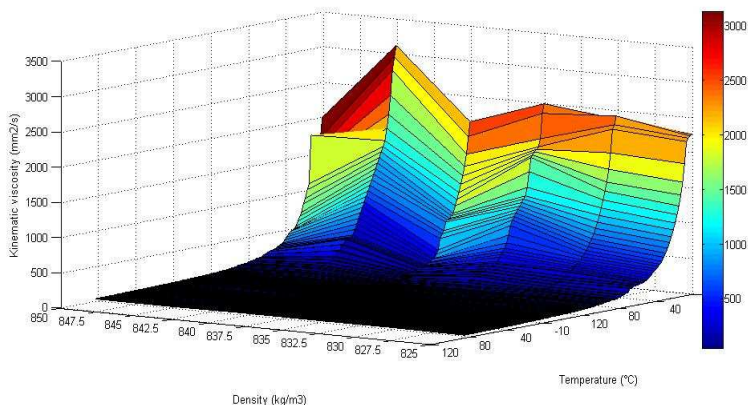
VÝSLEDKY A DISKUZE

Nový (nepoužitý) motorový olej

Nejprve byla uvažována a měřena závislost kinematické viskozity na teplotě u šesti nových olejů. Naměřené hodnoty jsou graficky znázorněny na obr. 3, kde lze vidět přehled teplotních závislostí jednotlivých motorových olejů.



Obr. 3 Teplotní závislost olejů (převzato z [10])



Obr. 4 Závislost viskozity na teplotě a hustotě olejů (převzato z [10])

Z grafu na obr. 4 je zřejmé, že závislost kinematické viskozity na hustotě nebyla měřením prokázána, závislost viskozity (kinematické i dynamické) na teplotě je vysoká. Pro smysluplné porovnání musíme vybrat srovnávací teplotu. Podle normy ISO 8217 je srovnávací teplota pro různé kapaliny 100 °C. Pro předestilované kapaliny je srovnávací teplota 40 °C. V tab. 3 je vytvořen podrobný přehled kinematických viskozit a hustoty jednotlivých motorových olejů při srovnávací teplotě 40 °C. [10]

Tab. 3 Přehled kinematických viskozit a hustot nepoužitých olejů (převzato z [10])

číslo vzorku oleje:	1	2	3	4	5	6
ν (mm ² .s ⁻¹)	116	127	142	120	104	116
ρ (kg.m ⁻³)	830	834	852	839	840	860

Klesání viskozity olejů se stoupající teplotou bylo očekávané a ztotožňuje se i se závěry v literatuře [3] a [6]. Je zřejmé, že teplotní závislost je vzdálená závislosti lineární. Jedním z důvodů je jistě účinek chemických procesů probíhajících při zahřívání v oleji.

Vliv teploty na kinematickou viskozitu oleje může být dobře matematicky modelován. Matematické modelování poskytuje prostředky reprezentující jisté množství reologických dat pomocí matematického výrazu. Je mnoho přijatelných tvarů rovnic vhodných k modelování

určitých stavů, ale neexistuje pouze jeden model vhodný pro všechny stavy [11]. Závislost kinematické viskozity na teplotě může být modelována například pomocí Voglova vztahu:

$$\nu = z \cdot e^{\left(\frac{T_1}{T_2+T}\right)}, \quad (4)$$

kde (ν) je kinematická viskozita, (z) je hustota oleje, (T_1) je celková teplota teplotně-viskozitní závislosti, (T_2) je spodní hranice teploty související s přechodem tepla soustavy květa-olej a (T) je teplota měřené oleje. Při rostoucí teplotě (T_1) se zvyšuje i kinematická viskozita pro danou teplotu, kdežto vzrůstající teplota (T_2) má opačný účinek. Pro malé teploty (T_1) nebo vysoké teploty (T_2) se může stát viskozita nezávislou na teplotě [12]. Při použití Voglova vztahu byla mezi naměřenými a vypočítanými hodnotami zjištěna korelace $R^2 = 0,92 \pm 0,04$ (pro všechny měřené nové oleje). [10]

Vliv teploty na viskozitu newtonských kapalin (včetně motorových olejů) můžeme také vyjádřit pomocí Arrheniova vztahu, který zahrnuje celkovou teplotu (T), univerzální plynovou konstantu (R) a aktivační energii pro viskozitu (E_a):

$$\nu = f(T) = A \cdot \exp\left(\frac{E_a}{R \cdot T}\right), \quad (5)$$

kde jsou hodnoty (A) a (E_a) stanoveny experimentálně. Vyšší hodnoty (E_a) ukazují na rychlejší změny viskozity v závislosti na teplotě. Vzhledem k neznámé viskozitě (ν), při libovolné teplotě (T), při referenční viskozitě (ν_r) a při referenční teplotě (T_r) nemusíme uvažovat konstantu (A). Potom nám vyplyne rovnice zapsaná v logaritmickém tvaru:

$$\ln\left(\frac{\nu}{\nu_r}\right) = \left(\frac{E_a}{R}\right) \cdot \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_r}\right). \quad (6)$$

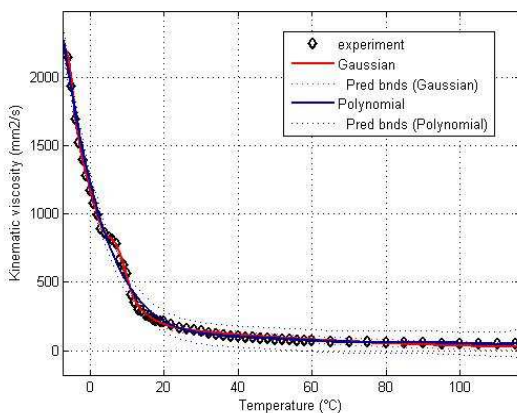
Takový nebo podobný přístup byl použit pro popis závislosti viskozity na teplotě newtonských kapalin u mnoha autorů (například [2], [4], [9]). Při použití Arrheniova vztahu byla mezi naměřenými a vypočítanými hodnotami zjištěna korelace $R^2 = 0,96 \pm 0,08$ (pro všechny měřené nové oleje).

Velmi vysokých přesností korelace mezi naměřenými a vypočítanými hodnotami bylo dosaženo při použití Gaussova nebo polynomickeho modelu. Příznivého výsledku korelace $R^2 = 0,993 \pm 0,007$ (pro všechny měřené oleje) bylo dosaženo u polynomu 6. stupně. Jak můžeme vidět v [10], bylo dosaženo ještě vyšší přesnosti korelace $R^2 = 0,9993 \pm 0,003$ (pro všechny měřené nové oleje)

pomocí Gaussova modelu a při použití vztahu:

$$a_1 * \exp\left(-\left(\frac{x-b_1}{c_1}\right)^2\right) + \dots + a_4 * \exp\left(-\left(\frac{x-b_4}{c_4}\right)^2\right). \quad (7)$$

Příklad polynomické a Gaussovy aproximace můžeme vidět na obr. 5, kde bylo použito naměřených hodnot pro vzorek oleje č.3.



Obr. 5 Naměřené hodnoty a matematický model pro olej č. 3 (převzato z [10])

Obdobné matematické vztahy byly použity mnohými autory (například [7], [13]) k popsání teplotní závislosti reologických vlastností různých materiálů. Popis závislosti viskozity na teplotě, především klesání viskozity s rostoucí teplotou, byl ve výše uvedených publikacích a studiích obdobný.

Můžeme tedy říci, že viskozita motorového oleje je funkcí teploty. Znalost tohoto chování má velký význam, obzvláště s ohledem na efektivnost a výkon spalovacího motoru. Viskozita ovlivňuje tekutost oleje, což má vliv i na hnací sílu motoru, a také na tlak oleje v olejové náplni spalovacího motoru. Tekutost oleje je i důležitým faktorem ovlivňujícím délku životnosti motoru. Dříve byla u motorových olejů viskozita a s ní související tekutost sledována především s ohledem na schopnost dobrého mazání třecích ploch v motoru a schopnost dobrého odvádění tepla a nečistot v motorovém prostoru. S vzestupem regulace a řízení motoru (především přesné seřízení zapalování) se klade i mnohem větší důraz na znalost viskozitního chování motorového oleje [1]. Vzestupem regulace a řízení motoru je chápáno například řízení vačkového hřídele, aktivní palivové řízení a dvoufázové ovládání ventilů. Jedná se o velmi přesná zařízení, která potřebují stálý přísun tzv. tlakového oleje (tj. olej, který je přiváděn pod určitým tlakem), který umožňuje

hydraulické ovládání součástí v motoru. Proto je jejich funkce velice citlivá na viskozitu motorového oleje. [10]

Použitý motorový olej

K měření použitého motorového oleje byly použity dva vzorky olejů. V obou případech byl použit olej od výrobce Motul.

Pro smysluplné porovnání musíme opět vybrat srovnávací teplotu. Podle normy ISO 8217 je srovnávací teplota pro předestilované kapaliny je srovnávací teplota 40 °C .

Tab. 4 Přehled kinematických viskozit a hustot použitých olejů

číslo vzorku oleje:	7	8
ν (mm ² .s ⁻¹)	91	89
ρ (kg.m ⁻³)	855	858

Porovnáme-li vzorky použitého oleje se vzorkem novým (viz tab. 3) můžeme vidět, že hustoty vzorků jsou podobné, kdežto kinematické viskozity u použitých olejů jsou o poznání menší.

Motorový olej použitý k běžnému provozu motoru motocyklu (tzv. vyjetý olej)

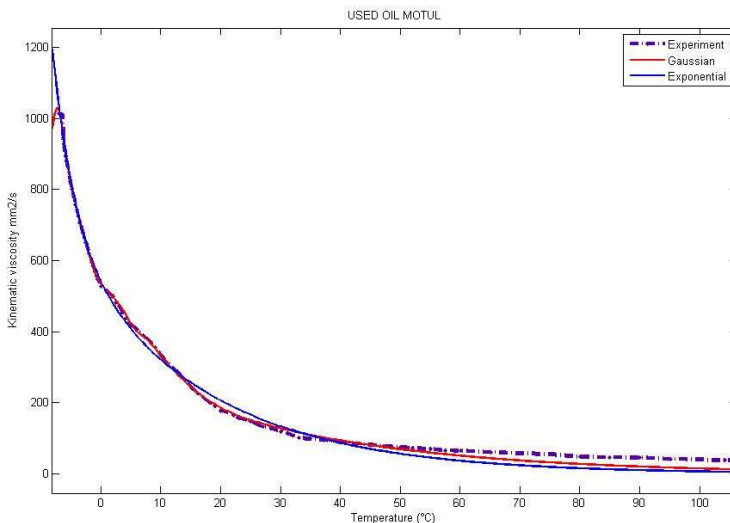
První použitou metodou k zjištění korelace mezi hodnotami naměřenými a vypočítanými je pro tzv. vyjetý motorový olej metoda Gaussova. U vzorku tzv. vyjetého oleje byla pomocí Gaussova modelu zjištěna korelace $R^2 = 0,9983$ při použití vztahu:

$$a_1 * \exp\left(-\left(\frac{x-b_1}{c_1}\right)^2\right) + \dots + a_s * \exp\left(-\left(\frac{x-b_s}{c_s}\right)^2\right) \quad (8)$$

Další metodou k zjištění korelace mezi hodnotami naměřenými a vypočítanými je pro tzv. vyjetý motorový olej metoda exponenciální. U vzorku tzv. vyjetého oleje byla pomocí exponenciálního modelu zjištěna korelace $R^2 = 0,9952$ při použití vztahu:

$$a * \exp(b * x) + b * \exp(d * x) \quad (9)$$

Graf na obr. 6 znázorňuje teplotní závislost kinematické viskozity u tzv. vyjetého motorového oleje. Jsou zde znázorněny i křivky získané pomocí Gaussovy a exponenciální metody.



Obr. 6 Graf teplotní závislosti kinematické viskozity u tzv. vyjetého oleje

Motorový olej použitý k zjetí motoru motocyklu (tzv. zajížděcí olej)

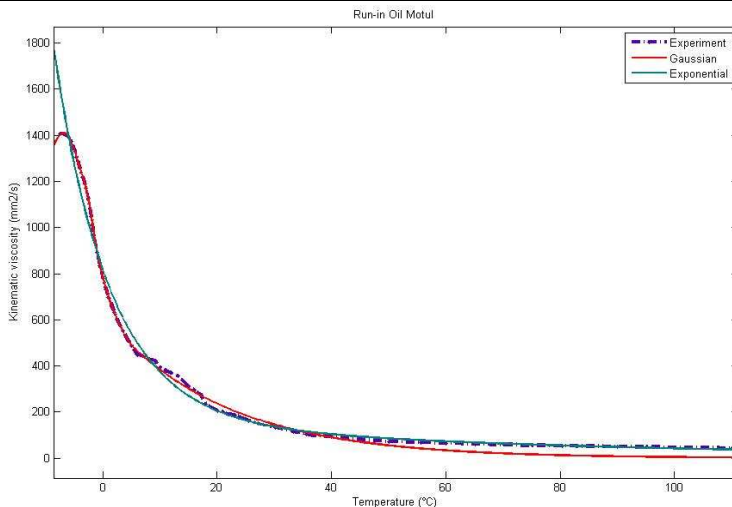
První použitou metodou k zjištění korelace mezi hodnotami naměřenými a vypočítanými je pro tzv. zajížděcí motorový olej metoda Gaussova. U vzorku tzv. zajížděcího oleje byla pomocí Gaussova modelu zjištěna korelace $R^2 = 0,9977$ při použití vztahu:

$$a_1 * \exp\left(-\left(\frac{x-b_1}{c_1}\right)^2\right) + \dots + a_5 * \exp\left(-\left(\frac{x-b_5}{c_5}\right)^2\right) \tag{10}$$

Další metodou k zjištění korelace mezi hodnotami naměřenými a vypočítanými je pro tzv. zajížděcí motorový olej metoda exponenciální. U vzorku tzv. zajížděcího oleje byla pomocí exponenciálního modelu zjištěna korelace $R^2 = 0,9873$ při použití vztahu:

$$a * \exp(b * x) + b * \exp(d * x) \tag{11}$$

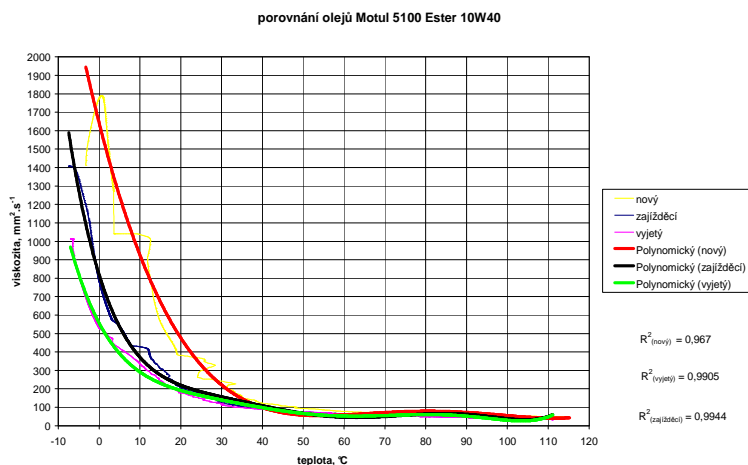
Graf na obr. 7 znázorňuje teplotní závislost kinematické viskozity u tzv. zajížděcího motorového oleje. Jsou zde znázorněny i křivky získané pomocí Gaussovy a exponenciální metody.



Obr. 7 Graf teplotní závislosti kinematické viskozity u tzv. zajižedcího oleje

Přímé porovnání použitého motorového oleje

Grafické porovnání všech tří vzorků motocyklového motorového oleje Motul je vyhotoveno na obr. 8. Při porovnání bylo použito polynomického modelu, přesněji polynomu 6. stupně. Hodnoty korelace (R^2) jsou pro všechny tři křivky uvedeny na obr. 8.



Obr. 8 Porovnání olejů Motul

Z grafu na obr. 8 je patrné, že nejvyšší viskozitu při nízkých teplotách vykazuje olej nepoužitý (nový). Nižší hodnoty kinematické viskozity vykazuje olej tzv. zajížděcí, na který byly sice při záběhu motoru po výbrusu válce kladeny velké nároky, ale byl v motoru jen do konce záběhu, což bylo asi 650 km. Nejnižších hodnot kinematické viskozity dosahuje olej tzv. vyjetý, který konal své úkoly ve vysokootáčkovém motoru silničního sportovního motocyklu po dobu běžně užívaného intervalu výměny, a to přesně 6200 km. Nad hodnotou teploty oleje asi 50 °C jsou hodnoty kinematické viskozity u všech tří vzorků olejů přibližně stejné.

Z výše uvedeného vyplývá, že je olej potřeba měnit podle uživatelské příručky, jelikož s narůstajícím počtem ujetých kilometrů ztrácí olej svou viskozitu, a to především při teplotách asi do 50 °C. Olej se pak stává více tekutým při nižších teplotách, a tím motor více trpí při tzv. studených startech, jelikož olej již nedovede tak dobře vytvořit na součástech motoru tenkou olejovou vrstvu (olejový ochranný film). Studený start můžeme chápat jako start takového motoru, který má stejnou teplotu s teplotou okolí. Motor tedy není přehřátý. Při těchto startech potom nejsou dostatečně mazány dotykové plochy v motoru, jelikož olej kvůli svým vlastnostem steče z těchto ploch, a tím dochází k většímu opotřebení těchto částí.

ZÁVĚR

Motorové oleje slouží především k mazání a čištění spalovacích motorů. Dále chrání motory před korozi, zdokonalují těsnění a odvádí teplo od jednotlivých částí a prvků motoru. Tato práce je primárně zaměřena na kvantifikaci vlivu teploty na kinematickou viskozitu právě motorových olejů.

Popis a znalost teplotní závislosti kinematické viskozity motorových olejů jsou velmi významné, a to především při hodnocení provozní účinnosti spalovacích motorů. Navržené matematické modely mohou být použity pro popis a predikci tokového chování motorových olejů.

Nový (nepoužitý) motorový olej

Sledováno bylo šest komerčně distribuovaných olejů různých výrobců: Moto 4T Off Road (Resol), Motex 4T-X (Chevron), Silkolene Comp 4 (Fuchs), 5100 Ester 4T (Motul), Power 1 GPS (kastrol) a DuraBlend 4T (Valvoline). Použité oleje jsou určeny pro motocyklové motory a patří do stejné viskozitní třídy 10W40. Čtyři oleje jsou syntetické a dva polosyntetické. Tokové křivky sestavovány nebyly, protože (v souladu s literaturou a vlastním měřením) oleje byly považovány za newtonovskou kapalinu. Vzhledem k této skutečnosti nebylo třeba provádět žádné speciální úpravy vzorků před začátkem měření (např. zatěžování definovanou rychlostí deformace po definovanou dobu, odstávání vzorků apod.). Oleje byly zchlazeny na teploty pod 0 °C a dále u nich byla v řízených teplotních podmínkách stanovena kinematická viskozita ($mm^2 \cdot s^{-1}$) v rozsahu teplot od -5 °C až do +115 °C. V souladu s očekáváním u všech olejů hodnota kinematické viskozity klesala se zvyšující se teplotou. Vzhledem k tomu, že je viskozita motorového oleje výrazně teplotně závislá a za účelem objektivizace jejího vyjádření, byla

v souladu s normou ISO 8217 stanovena referenční teplota 40 °C . Hodnoty viskozit testovaných olejů se při této referenční teplotě pohybovaly od 104 do 146 $\text{mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Bylo zjištěno, že viskozita různých olejů přímo nekoreluje s jejich hustotou. [10]

Teplotní závislost olejů byla modelována pomocí několika matematických modelů. Mezi naměřenými a vypočtenými hodnotami byly zjištěny následující korelace: $R^2 = 0,92$ pro Vogelův vztah, $R^2 = 0,96$ pro Arrheniův vztah, $R^2 = 0,993$ pro polynom šestého stupně a $R^2 = 0,9993$ pro Gaussův vztah. [10]

Použitý motorový olej

K měření použitého motorového oleje byly použity dva vzorky olejů. V obou případech byl použit stejný olej 5100 Ester 4T (Motul) s viskozitním indexem 10W40. Ani zde nebyly sestavovány tokové křivky, protože (v souladu s literaturou a vlastním měřením) oleje byly opět považovány za newtonovskou kapalinu. Vzhledem k této skutečnosti nebylo třeba provádět žádné speciální úpravy vzorků před začátkem měření (např. zatěžování definovanou rychlostí deformace po definované dobu, odstávání vzorků apod.). Oleje byly zchlazeny na teploty pod 0 °C a dále u nich byla v řízených teplotních podmínkách stanovena kinematická viskozita ($\text{mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) v rozsahu teplot od -5 °C až do +115 °C . V souladu s očekáváním u obou olejů hodnota kinematické viskozity klesala se zvyšující se teplotou. Vzhledem k tomu, že je viskozita motorového oleje výrazně teplotně závislá a za účelem objektivizace jejího vyjádření, byla v souladu s normou ISO 8217 stanovena referenční teplota 40 °C . Hodnoty viskozit obou testovaných vzorků při této referenční teplotě byly 91 $\text{mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ pro tzv. zajížděcí olej a 89 $\text{mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ pro olej tzv. vyjetý. Bylo také zjištěno, že viskozita různých olejů přímo nekoreluje s jejich hustotou.

Při srovnání obou vzorků použitých motorových olejů se vzorkem nepoužitého (nového) oleje stejné značky bylo zjištěno, že nejvyšší viskozitu při nízkých teplotách vykazuje olej nepoužitý (nový). Nižší hodnoty viskozity vykazuje olej tzv. zajížděcí, na který byly sice při záběhu motoru po výbrusu válce kladeny velké nároky, ale byl v motoru jen do konce záběhu, tedy asi 650 km . Nejnižších hodnot viskozity dosahuje olej tzv. vyjetý, který konal své úkoly v motoru po dobu běžně užívaného intervalu výměny, a to přibližně 6200 km . Nad hodnotu teploty oleje asi 50 °C jsou hodnoty viskozity u všech tří vzorků olejů přibližně stejné.

I zde byla teplotní závislost olejů modelována pomocí matematického modelu. Byl zde použit matematický model polynomický (6. stupně), Gaussův model a model exponenciální.

Pro polynomický model byly zjištěny mezi naměřenými a vypočtenými hodnotami následující korelace: $R^2 = 0,994$ u oleje tzv. zajížděcího a $R^2 = 0,991$ u oleje tzv. vyjetého. Pro Gaussův model byly zjištěny mezi naměřenými a vypočtenými hodnotami korelace $R^2 = 0,9977$ u oleje tzv. zajížděcího a $R^2 = 0,9983$ u oleje tzv. vyjetého. Pro model exponenciální byly zjištěny mezi

naměřenými a vypočtenými hodnotami korelace $R^2 = 0,9866$ u oleje tzv. zajížděcího a $R^2 = 0,9952$ u oleje tzv. vyjetého.

LITERATURA

- [1] ALBERTSON, W. C., STALEY, D. R., MC DONALD, M. M., PRYOR, B. K.: *Engine oil viscosity diagnostic system and methods*, 2008, United States Patent 20080223114.
- [2] FRISO, D., BOLCATO, F.: *Rheological properties of some Newtonian food liquids*. Rivista di Ingegneria Agraria 2, 2004. s. 75–80.
- [3] GUO, B., LYONS, W. and GHALAMBOR, A.: *Petroleum production engineering*. Elsevier Science and Technology Books, 2007. ISBN 0750682701.
- [4] HLAVÁČ, P.: *The rheologic properties of dark beer, Proceedings of Research and Teaching of Physics in the Context of University Education*, Nitra, 5.–6.6.2007, s. 169–175.
- [5] KOLIČ, V.: Černá krev, *Motohouse*. Praha, 1998, č. 5, s. 112-119. ISSN 1213-3086
- [6] MANN, D.: *Motor Oils and Engine Lubrication*. Motor Oil Engineers, L.L.C., Detroit. 2007.
- [7] MARCOTTE, M., TAHERIAN, A. R., TRIGUI, M., RAMASWAMY, H. S.: *Evaluation of rheological properties of selected salt enriched food hydrocolloids*. Journal of Food Engineering 48, 2001. s. 157–167.
- [8] SEVERA, L.: *Tixotropní chování vybraných druhů potravin* [habilitační práce]. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2008. 113 s.
- [9] SEVERA, L. a LOS, J.: *On the influence of temperature on dynamic viscosity of dark beer*. Acta Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně. 2008. s. 303–307.
- [10] SEVERA, L., HAVLÍČEK, M., KUMBÁR, V.: *Temperature dependent kinematic viscosity of different types of engine oils*. Acta Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně. 2009. sv. LVII, č. 4, s. 95-102. ISSN 1211-8516.
- [11] STEFFE, J. F.: *Rheological Methods in Food Process Engineering*, 2. vyd. Freeman Press, East Lansing, MI, USA. 1996. s. 428. ISBN 0-9632036-2-2.
- [12] TAKATA, R., WONG, V.W.: *Effects of lubricant viscosity on ring/liner friction in advanced reciprocating engine systems*. Proceedings of ICEF06 ASME Internal Combustion Engine Division. 2006 Fall.
- [13] TAVARES, D. T., ALCANTARA, M. R., TADINI, C. C., TELIS-ROMERO, J.: *Rheological Properties of Frozen Concentrated Orange Juice (FCOJ) as a Function of Concentration and Subzero Temperatures*. International Journal of Food Properties 10 (4), 2007. s. 829–839.
- [14] ZEHNÁLEK, J.: *Chemie, paliva, maziva*, 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 1998. 176 s. ISBN 80-7157-314-0.

ANTI-ABRASIVE COATING OF MOULDS FOR POURING CUPS

Liška J., Filípek J.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: jaromir.liska@lanik.eu

ABSTRACT

Presented paper is dedicated to using of nitridic and nano-composite coatings in context of ceramic material processing. Two pressing moulds for pouring cups have been prepared for the testing. The first one was manufactured according to the original documentation while the second one was subject to coating on the crucial parts. Both moulds have been loaded in operation under similar conditions. After specified count of loading cycles, the moulds have been disassembled into individual parts that have been measured and controlled. The paper lists results of the measurement and evaluation.

Key words: mould, ceramic, pouring cup, anti-abrasive, coating.

ÚVOD

Jednou z nejdůležitějších technologických fází při výrobě žáruvzdorné keramiky (Obr. 1) je lisování práškové drotenky v lisovací formě. Lisování práškové drotenkové směsi probíhá při velkých tlacích a dává keramice tvar konečného výrobku. Drotenka je směs vysoce abrazivních keramických materiálů, které spolu se značnými lisovacími tlaky mají za následek rychlé opotřebování všech funkčních ploch lisovacích forem. Požadovanými vlastnostmi materiálů forem jsou vysoká tvrdost a otěruvzdornost při zachování určité houževnatosti, která napomáhá formě odolávat rázovitému charakteru zatížení formy. Běžně používané nástrojové oceli a jejich tepelné zpracování jsou velmi kvalitní, takže nárůst mechanických vlastností změnou materiálu a tepelného zpracování je téměř vyčerpán. Pro zvýšení životnosti řezných a tvářecích nástrojů ve strojírenské praxi se dnes již běžně používají mikropovlaky nitridů kovů a nanokompozitní vrstvy. Tato zkouška by měla ověřit užití povlaků při zpracování lisované keramiky.



Obr. 1: Keramické a lití nálevky [1]

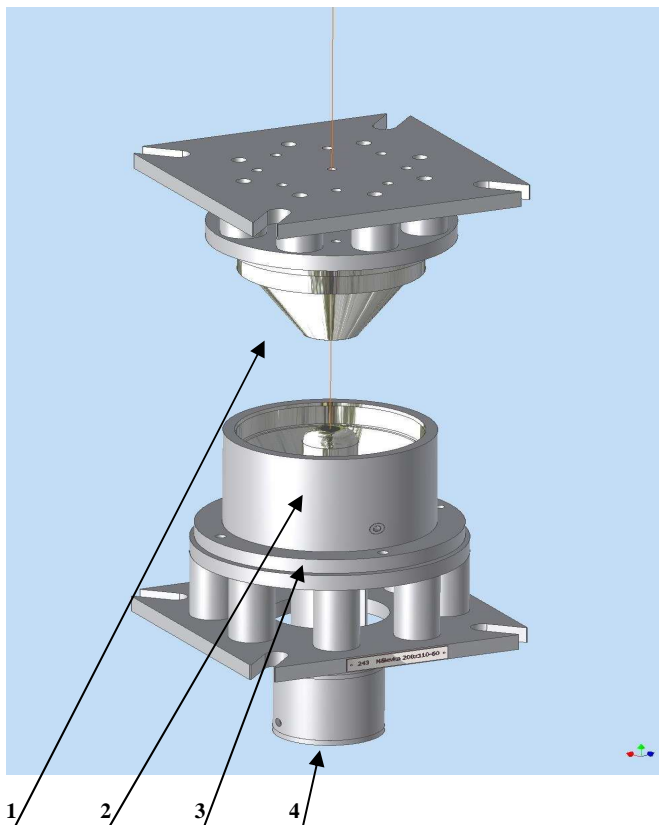
MATERIÁL A METODIKA

Pro odzkoušení odolnosti povlaků byly vyrobeny nové funkční díly dvou forem, které lisují stejný výrobek. Všechny nové díly jsou pečlivě proměřeny jak z hlediska rozměrů, tak z hlediska tvrdostí. Vybrané díly jedné z forem byly naneseny vhodným povlakem, smontovány a nasazeny do výroby. Na poloautomatických lisech jsou parametry nastaveny a striktně kontrolovány technologií výroby. Obě formy jsou střídavě využívány k výrobě nálevek dle požadavků výroby. Po významnějším zatížení minimálně 1000 ks neboli 1000 zátěžových cyklů (dle zakázek výroby), jsou formy kontrolovány, fotografovány a proměřovány. Tento test bude probíhat až do vyřazení formy,

z důvodu rozměrových změn výrobku. Po vyřazení budou porovnávané díly demontovány, proměřeny kontrolní rozměry, změřena tvrdost popřípadě prokalení vytipovaných částí dílců a budou pořízeny snímky opotřeбенých ploch pro faktografický rozbor.

Konstrukce forem pro lisovanou keramiku

Na 3D modelu lisovací formy pro keramickou licí nálevku (Obr. 2) bude krátce vysvětlen princip lisování.



Obr. 2: 3D model sestavy formy na keramickou nálevku (vytvořeno produktem Autodesk Inventor)

Horní razník 1 je upevněn na pohyblivé části lisu (tzv. beranu), spodní část formy složená ze středního trnu 2, těla formy 3 a spodního razníku a vyhazovače 4 je upevněna na stole lisu, přičemž spodní razník je ovládán přídatnou pístnicí.

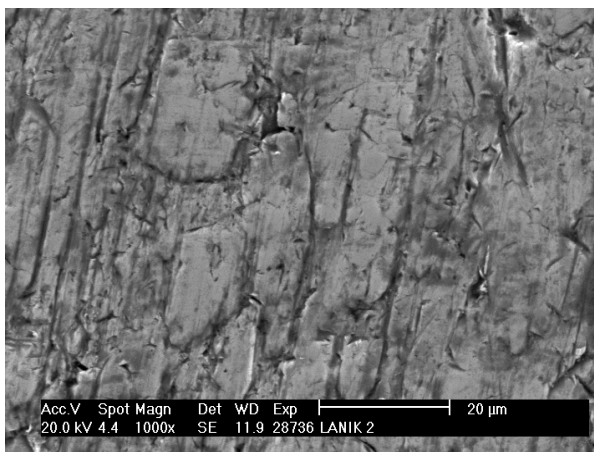
Do těla formy je nasypáno odměřené množství práškové drolenky, která je rovnoměrně rozmístěna okolo středního trnu, horní razník slisuje drolenku do požadovaného tvaru v horní části výrobku

MENDELNET 2010

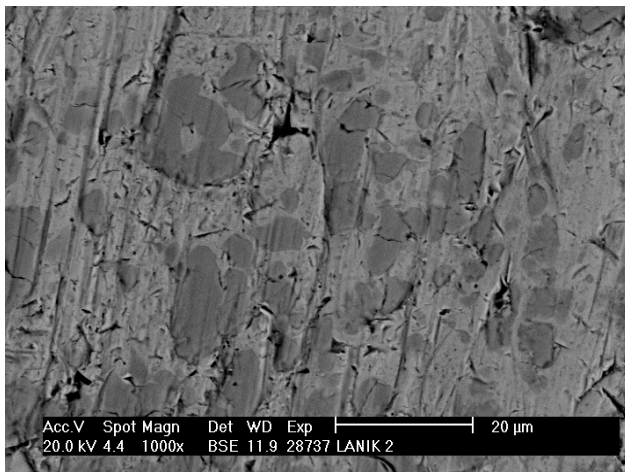
a spodní razník zhtutí jeho spodní část. Po vyjetí horní části formy je výrobek vysunut spodním razníkem, v tomto případě vyhazovačem do polohy pro odebrání. Z výše uvedeného vyplývá, že všechny zmiňované části formy zpracovávají abrazivní drolenku a jsou tedy abrazivně opotřebovávány. Pro účel zkoušky tedy vybírám jako vhodné součásti – horní razník a střední trn. Tělo formy je mohutná součást a její povlakování by tudíž bylo nákladné. Spodní razník je tenká tvarově složitá součást, jejíž tvrdost musela být snížena pro zvýšení houževnatosti a zamezení vzniku trhlin při zatížení. Součást s takto sníženou tvrdostí (menší než 58HRC) není vhodná pro povlakování.

Abrazivní opotřebení součástí

Pro ilustraci je uvedeno opotřebení na demontovaném již vyřazeném středním trnu. Na elektronovém rastrovacím mikroskopu (REM) byla na středním trnu pozorována a dokumentována plocha neopotřebená a opotřebená. Na Obr. 3 je zachycena neopotřebená plocha se stopami po opracování – svislé rýhy [3]. Obr. 4 při zobrazení v tzv. zpětně odražených elektronech (BSE), ukazuje v hrubém rozlišení rozdílné chemické složení struktury. Základní hmota je světlejší, karbidy se zobrazují jako tmavší plošky.

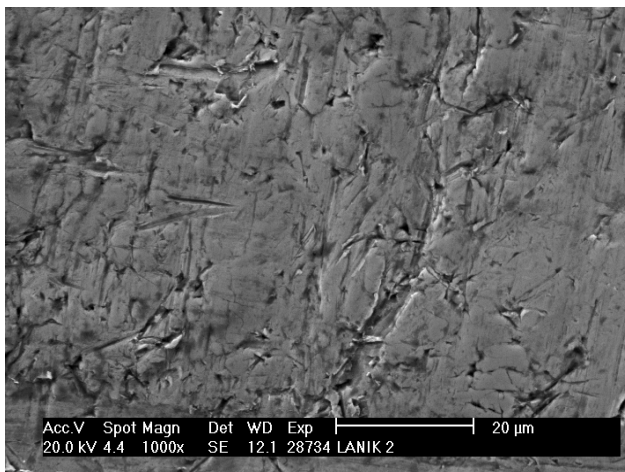


Obr. 3: Střední trn neopotřebený [3]

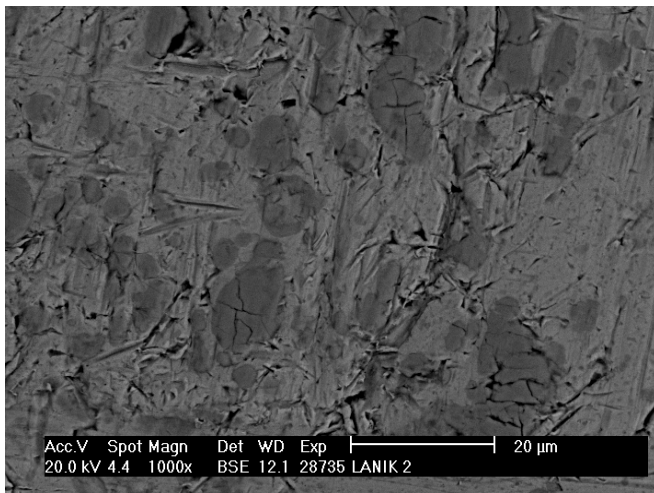


Obr. 4: Střední tm neopotřeбенý (BSE) [3]

Obr. 5 dokumentuje opotřeбенý povrch, abrazivní opotřeбенí je charakterizováno rýhováním, trhlinkami, plastickou deformací a vtiskováním zrn. Při BSE zobrazení Obr. 6 je vidět silné poškození karbidů popraskáním.



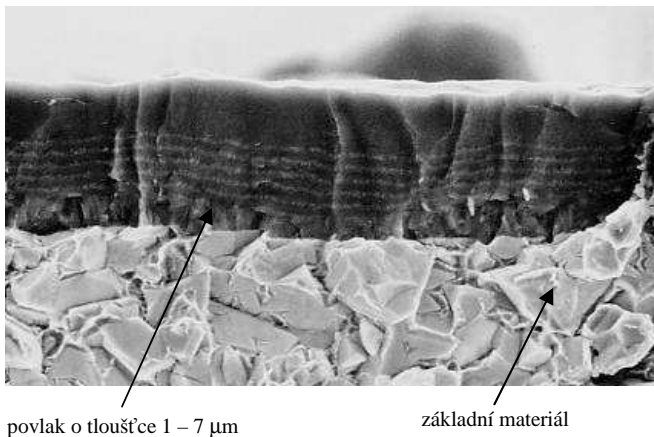
Obr. 5: Střední tm opotřeбенý [3]



Obr. 6: Střední tm opotřeбенý (BSE) [3]

Proces povlakování

Povlakování je možné definovat jako proces, jehož výsledkem je vytvoření tenkého izotropního materiálu na funkčních plochách (Obr. 7) s cílem zlepšení vlastností povrchu (otěruvzdornost, tvrdost, koeficient tření...) [2].



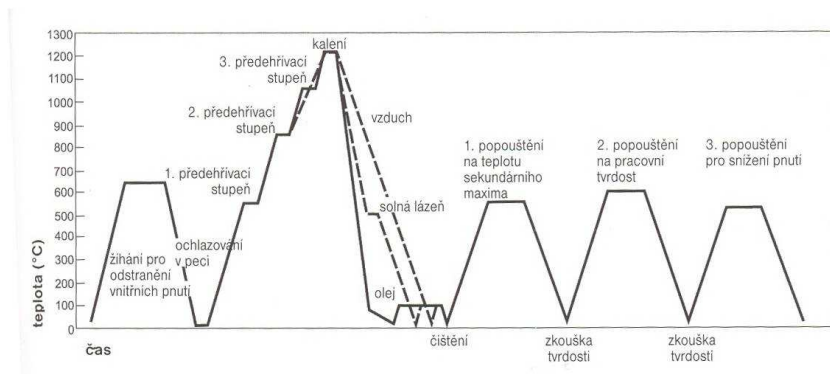
Obr. 7: Mikrosnímek povlakovaného povrchu [2]

Pro naši aplikaci byl vývojovým týmem firmy **Liss Platit** doporučen nanokompozitní povlak **nACo** s vlastnostmi uvedenými v Tab. 1.

Tab. 1: Vlastnosti povlaku nACo

Tvrдость	Koeficient tření	Teplotní odolnost	Teplota depozice
4500 HV	0,45	1200 °C	450 °C

Námi používaný materiál, nástrojová ocel 19 436 kalená a jedenkrát popuštěna na primární tvrdost je jako podklad pod nanokompozitní vrstvu nevyhovující a to hlavně z hlediska tepelného zpracování. Při depozici na 450 °C by došlo k snížení tvrdosti součástí a k jejich možné deformaci způsobené přítomností nerozpuštěného austenitu. Proto byl pro výrobu součástí zvolen materiál 19 573, kalený na sekundární tvrdost a třikrát popuštěný (Obr. 8).



Obr. 8: Diagram kalení nástrojových ocelí

Pro zkoušky byly tedy připraveny dva horní razníky a dva střední trny z oceli 19 573, tepelně zpracovány výše uvedeným způsobem na tvrdost 60 HRC. Atesty ocelí, protokoly o měření rozměrů a tvrdostí ověřeny. Jeden horní razník a jeden střední trn byl ve firmě Liss Platit Rožnov pod Radhoštěm napovlakován a dodán do firmy Igor Láník Techservis Boskovice, kde byl spolu s nepovlakovanými dílci namontován do opravovaných forem (Obr. 9).



Obr. 9: Součásti forem připravené ke zkoušce (vlevo povlakované)

Dle požadavků odbytu jsou formy nasazovány do výroby tak, aby na každé z nich byl odlisován stejný počet kusů, tím je zaručeno, že obě formy jsou shodně testovány. Podmínky při lisování jsou jasně dány parametry poloautomatického lisu, které jsou pro každý výrobek přednastaveny technologem a dodržování parametrů výroby je průběžně kontrolováno pracovníky útvaru řízení jakosti. Tyto podmínky jsou jasně vymezeny tzv. technologicky kontrolovaným procesem v rámci směrnice ISO firmy Láník. K **31. 9. 2010** bylo možno provést první vyhodnocení po stanoveném úseku 1850 zátěžných cyklů (kusů) na povlakované formě a 2180 cyklů na standardní formě.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Prvním kritériem pro posouzení povrchů forem je vizuální kontrola, při které jsou na sledovaných dílech vytipována kritická místa.

Střední trny:

Na Obr. 1 vidíme opotřebované střední trny v oblasti styku horního a spodního razníku. Proto byl změřen nejmenší průměr obou trnů v místě největšího opotřebování pomocí přístroje Zeiss Scan Max a porovnán s průměrem původním, dle měřicího protokolu dodavatele (Tab. 2).

Tab. 2: Tabulka naměřených hodnot

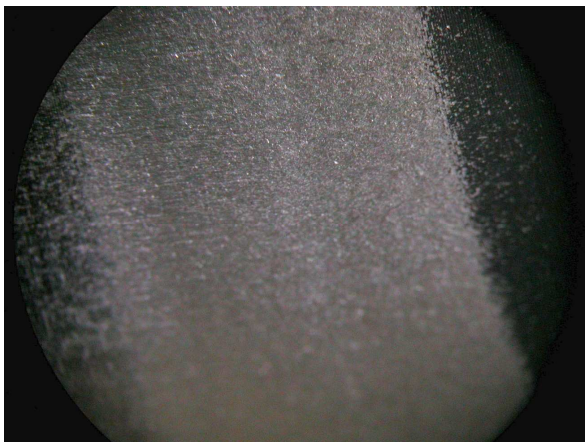
	Rozměr	Nové - změněno	Změřeno po testu	Úbytek /průměr	Počet kusů
Trn povlakovaný	76,6 h6	76,595	76,584	0,011	1850
Trn bez povlaku	76,6 h6	76,592	76,460	0,132	2180

Na několika snímcích v různých zvětšeních budou zdokumentovány opotřeбенé plochy obou trnů (Obr. 11 a 12).

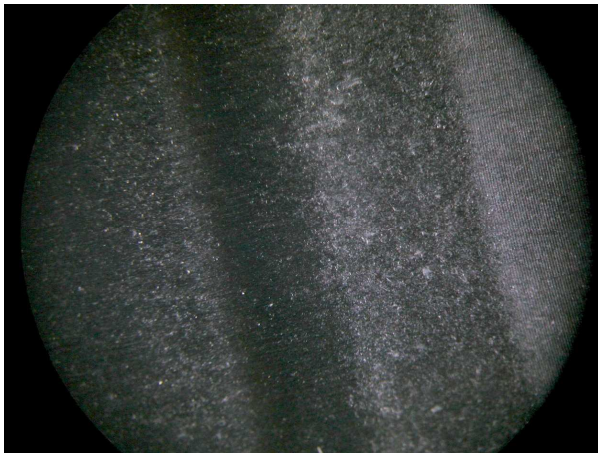


Obr. 10: Střední trny po odpracování cca. 2000 cyklů

Z fotografií a tabulky je zřejmé, že při plošném zatížení součásti povlak bez problémů odolává abrazivnímu působení keramiky, zatím co u součásti bez povlaku je vidět rýhy ve směru pohybu razníků. Místa s extrémním zatížením jsou u povlakovaného dílu méně opotřeбенá, protože povlak oddálil styk keramiky s ocelí, to ostatně potvrdilo i měření.



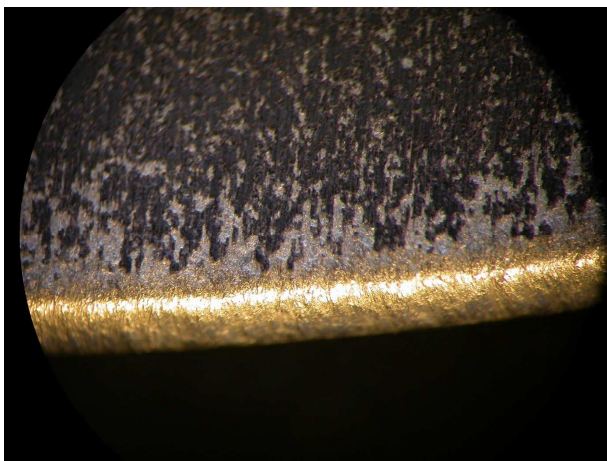
Obr. 11: Opotřeбенý trn s povlakem (20x zvětšeno)



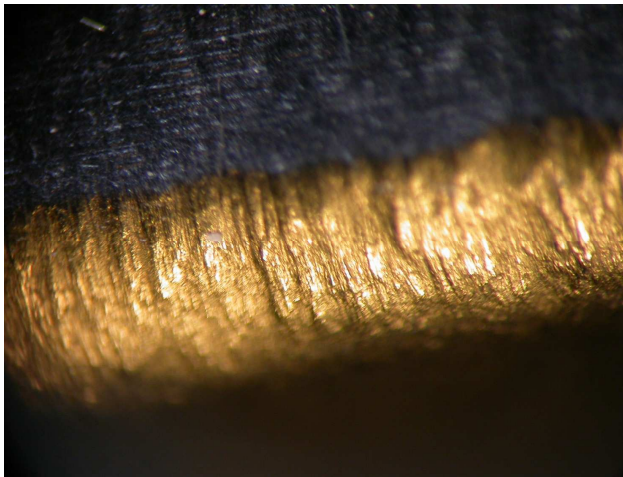
Obr. 12: Opotřeбенý trn bez povlaku (20x zvětšeno)

Horní razníky:

U horních razníků je situace obdobná, na plochách je minimální opotřebení u povlakované součásti je povlak neporušen. Nejvíce namáhaná spodní hrana razníku je díky obrovskému hranovému zatížení opotřebena do rádiusu. Díky povlaku je rádius na povlakovaném razníku menší než na razníku bez povlaku (Obr 13 a 15). Na povlakovaném razníku byl změřen rádius $R\ 0,2\ \text{mm}$ a na nepovlakovaném razníku $R\ 0,6\ \text{mm}$.



Obr. 13: Hrana povlakovaného razníku(50x zvětšeno)



Obr. 14: Hrana nepovlakovaného razníku(50x zvětšeno)

ZÁVĚR

Z výše uvedených poznatků a měření je zřejmé, že povlaky také prodlužují životnost nástrojů, které zpracovávají vysoce abrazivní keramické materiály. Při velkých hranových zatíženích je povlak po určitém počtu cyklů zcela odstraněn a nástrojová ocel podléhá abrazivnímu opotřebení jako na nepovlakovaném nástroji. Ovšem časový úsek, po který abraze odstraňuje povlak z hrany, prodlužuje životnost nástroje. Při plošném zatížení součásti povlak dostatečně chrání nástroj před abrazivními částicemi a nástroj zůstává hladký, což příznivě ovlivňuje drsnost povrchu lisované tvarovky a usnadňuje její vyjímání z formy. Pojivo neulpívá ve vrypech na nástroji. Pro komplexnější zhodnocení zkoušky bude nutné pokračovat v zatěžování formy až do jejího vyřazení z důvodu rozměrových neshod výrobků a potom provést cenovou rozvahu inovace. Na základě již získaných poznatků lze vyslovit tyto dílčí závěry:

- vzhledem k poměrně vysoké ceně povlaku bude výhodné povlakovat menší a tvarově složitější nástroje,
- využívat povlaky tam, kde je zapotřebí dosahovat hladších povrchů keramiky a kde není možné používat organické separátory,
- na místa s extrémním hranovým zatížením zkusit aplikovat karbidové nástřiky větších tloušťek, nebo taková místa na nástrojích nahradit inserty ze slinutých karbidů či keramiky.

LITERATURA

- [1] *Nabídkový katalog keramických tvarovek firmy Láněk. Boskovice.* 2009. 1s.
- [2] SONDOR, Jozef. *Prezentace povlaků Liss.* Rožnov pod Radhoštěm. 2009. 87s.
- [3] PODRÁBSKÝ, Tomáš. *Materiálový rozbor na dodaných nástrojích.* Brno, 2005. 25s.

EMISSIONS FROM THE COMBUSTION OF VEGETABLE OIL IN A DIESEL ENGINE

Lukůvka R., Čupera J.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xlukuvka@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The purpose of this thesis is the difference in emissions from the combustion of diesel fuel and vegetable oil in a diesel engine. The vehicle was modified to burn vegetable oil. Vegetable oil compared to diesel has different physical properties such as higher viscosity, so it has to be preheating before injected into the cylinder. Measurements were performed on the vehicle service Mendel University in Brno. For emission measurement was used system analysis Bosch ESA 3.250. Were monitored CO, CO₂, HC and NO_x. Smoke emissions was not monitored. Vegetable oil had higher CO and HC emissions as the diesel. NO_x emissions were lower on vegetable oil. CO₂ emissions were unchanged. The emission characteristics show that vegetable oil has not very favorable emission of pollutants. To some extent, plays a role in the type of test vehicle. It is an older concept of a diesel engine.

Key words: biofuels, vegetable oil, biodiesel, emissions, diesel

ÚVOD

Vznětový motor může mimo motorové nafty spalovat další rozmanité druhy paliv. Dle konkrétního paliva je potřeba zajistit patřičné technické úpravy, některé paliv jako např. estery mastných kyselin rostlinných olejů (metylester řepkového oleje – MEŘO) nevyžadují prakticky žádné úpravy na vznětovém motoru [1], [2]. Svými vlastnostmi jsou velmi podobné motorové naftě. U esterů mastných kyselin může nastat problém s degradací pryžových materiálů, které nejsou vůči agresivnějším účinkům odolné [3]. Paliva jako dimetyléter, etanol, metanol, LNG, CNG vyžadují poměrně složité technické úpravy, u některých zmíněných paliv se motor upravuje na zážehový. Rostlinný olej je poměrně snadno dostupný. Oproti motorové naftě vykazuje rozdílné fyzikální vlastnosti, avšak po relativně jednoduchých úpravách palivového systému jej lze spalovat v konvenčním vznětovém motoru. Lze jej používat v surovém stavu, pouze po důkladné filtraci po vylisování. Pro snížení rizika technické poruchy motoru se doporučuje používat rostlinný olej v palivové kvalitě dle normy ČSN 65 6516 [4].

Cílem měření a pokusu nebylo sledování škodlivých vlivů na spalovací motor, zejména z pohledu dlouhodobého užívání rostlinného oleje jako paliva. Obecně lze konstatovat, že mezi veřejností jsou často rozšířeny zlé mýty o provozu vznětového motoru na rostlinný olej, na *obr.1*, [5] můžeme vidět demontovaný vstřikovač upraveného vznětového motoru provozovaného velmi často na rostlinný olej.

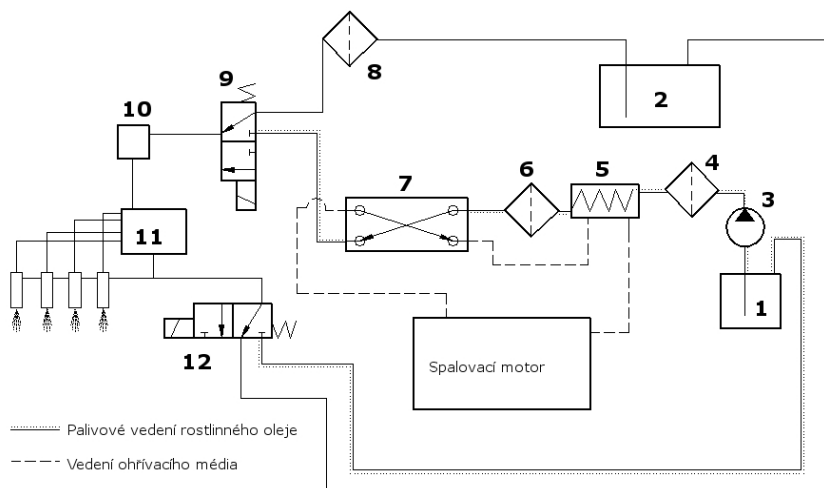


Obr.1: Detail vstřikovače s čepovou tryskou, vznětový motor s nepřímým vstřikováním, Fiat 1,9 TD

MATERIÁL A METODIKA

Rostlinný olej disponuje rozdílnými fyzikálními vlastnostmi oproti motorové naftě. Jedná se zejména o kinematickou viskozitu. U rostlinného oleje je za teploty 20 °C až 20x vyšší, v závislosti na druhu rostlinného oleje [6], [7].

Rostlinný olej lze za dodržení určité technické kázně poměrně dobře spalovat v běžném vznětovém spalovacím motoru. Platí pro něj jedna nevyhnutelná zásada, a tj. předehřívání před vstřikováním do spalovacího prostoru. Předehřev rostlinného oleje snižuje jeho kinematickou viskozitu na již poměrně přijatelnou hodnotu. Maximální teplota oleje vstupujícího do vstřikovacího čerpadla je omezena zejména teplotou chladicí kapaliny motoru, použitým tepelným výměníkem a jeho teplosměnnou plochou. S důrazem na jeho rozdílné fyzikální vlastnosti [8] byl navržen zkušební dvoupalivový systém, viz. *obr.2*.



Obr.2: Schéma zapojení dvoupalivové soustavy zkušebního vznětového motoru

1 – nádrž na rostlinný olej, **2** – nádrž na motorovou naftu, **3** – pomocné čerpadlo rostlinného oleje, **4** – hrubý palivový filtr, **5** – sekundární tepelný výměník, **6** – jemný palivový filtr, **7** – primární deskový tepelný výměník, **8** – naftový filtr, **9** - elektromagnetický vstupní 3/2 ventil, **10** – elektrický předehřev (není nutný), **11** – vstřikovací čerpadlo, **12** – výstupní elektromagnetický 3/2 ventil

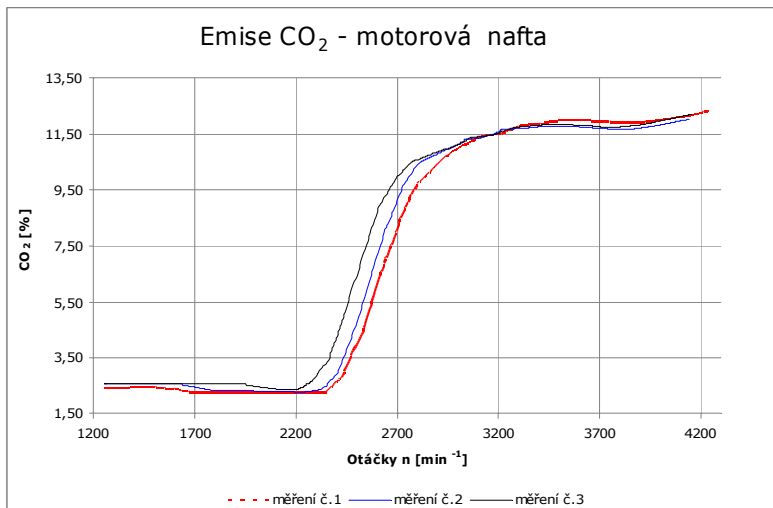
Pro měření bylo vybráno osobní motorové vozidlo Peugeot 106, 1.5D vybavené zkušebním dvoupalivovým systémem, technické parametry viz. *tab.1*.

Tab.1: Přehled technických parametrů motoru zkoušeného vozidla Peugeot 106

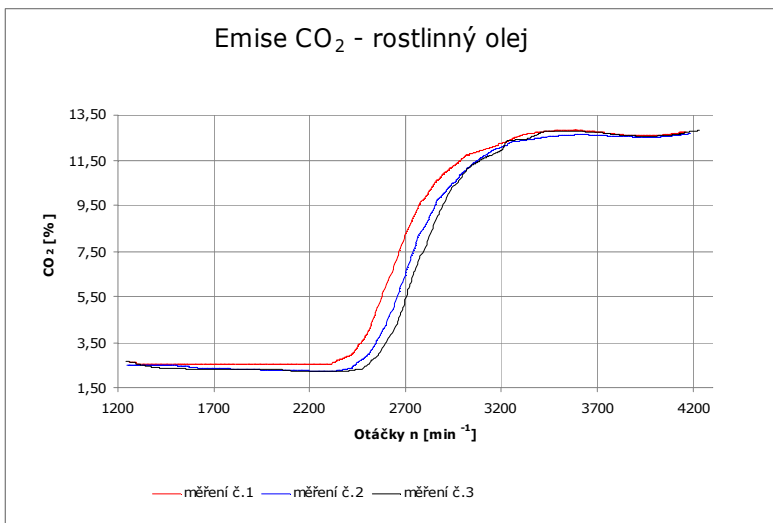
Druh, počet válců, uspořádání	Vznětový, řadový 4válec
Zdvihový objem	1525cm ³
Vrtání válců × zdvih pístu	77,9×80 mm
Kompresní poměr	22:1
Max. točivý moment při ot. (Nm/min ⁻¹)	95 / 2250
Max. výkon při otáčkách (kW/min ⁻¹)	42 / 5000
Příprava směsi	Nepřímé vstřikování
Rozvod	OHC (2 ventily / válec)

Měření proběhlo na vozidlové zkušebně Mendelovy Univerzity v Brně. Vozidlo bylo podrobena dynamické jízdě zkoušce na vozidlovém dynamometru MEZ 4VDM E120-D [8]. Ke stanovení emisí dopomohla systémová analýza Bosch ESA 3.250. V rámci přesunu do areálu Mendelovy Univerzity před samotným zahájením měření dosáhl motor provozní teploty. Sledovány emise CO, CO₂, HC, NO_x, kouřivost nesledována. Pro každé palivo byly provedeny tři měření. První tři měření proběhly při běhu na motorovou naftu, po dodatečné tepelné temperaci systému přepnuto na rostlinný olej. Získané hodnoty nebyly statisticky zpracovány. Ze získaných hodnot byly sestaveny grafy a zjištěné výsledky následně vyhodnoceny.

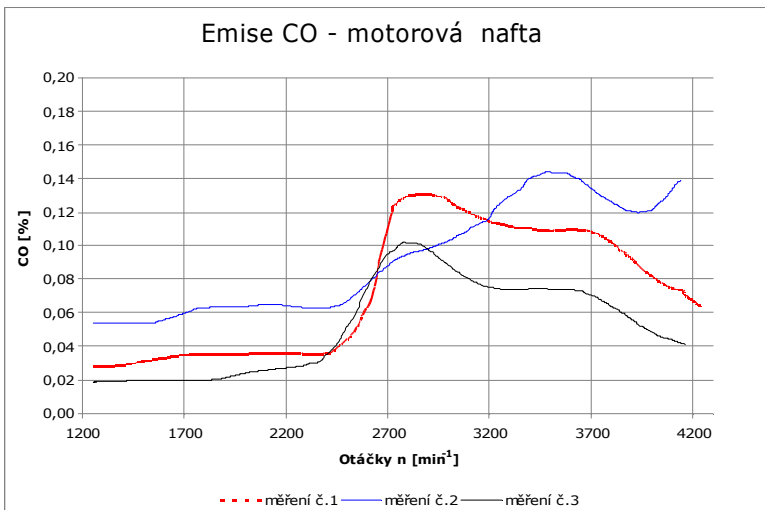
VÝSLEDKY A DISKUZE



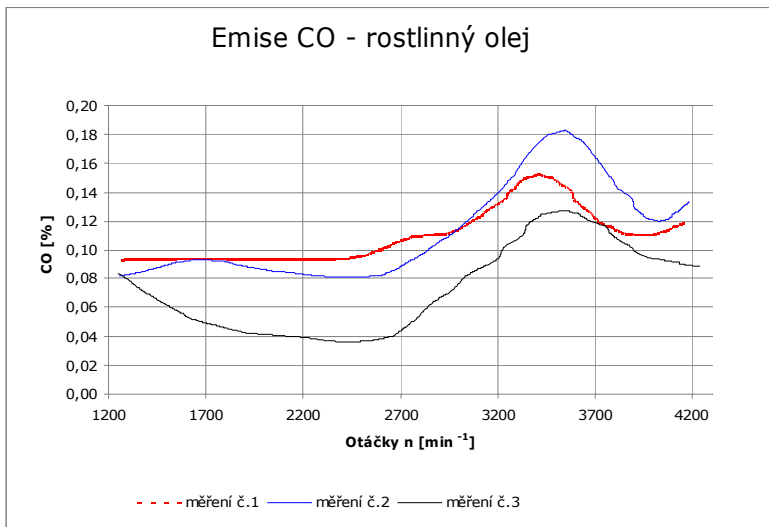
Graf 1: Emise CO₂, motorová nafta



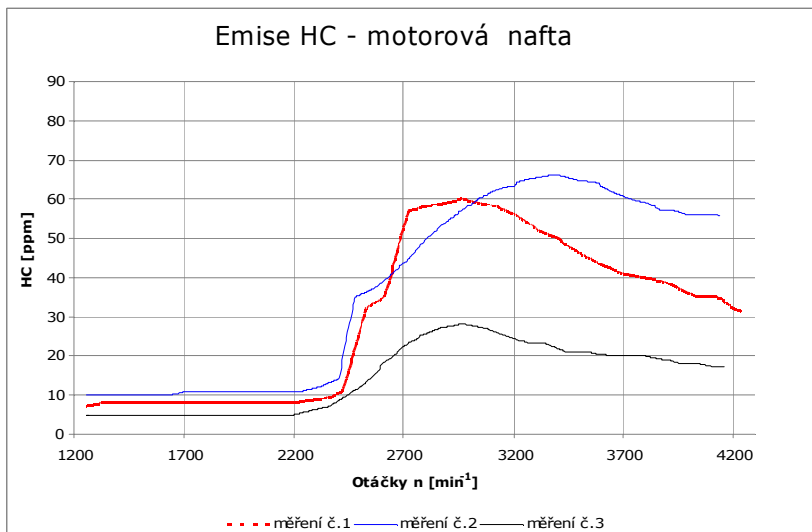
Graf 2: Emise CO₂, rostlinný olej



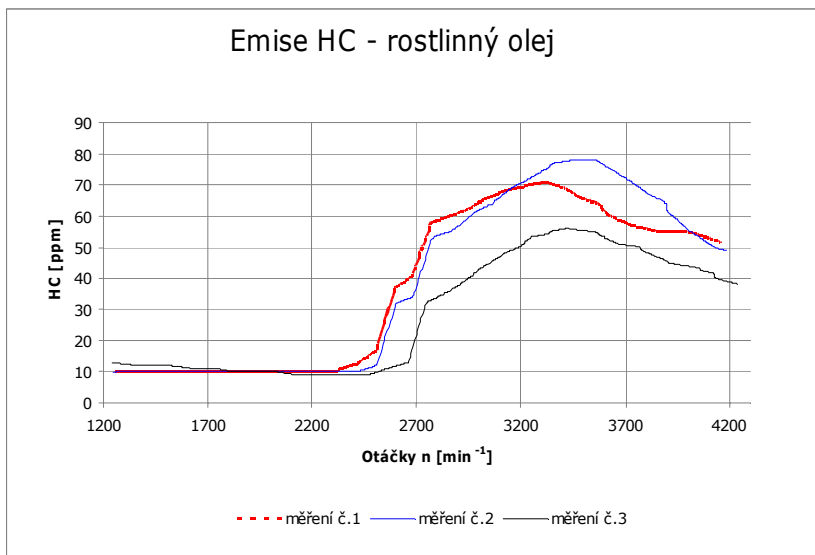
Graf 3: Emise CO, motorová nafta



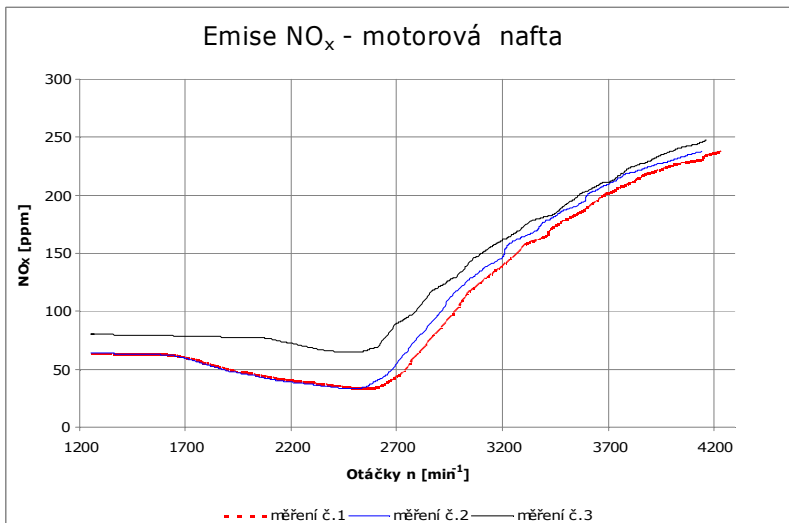
Graf 4: Emise CO, rostlinný olej



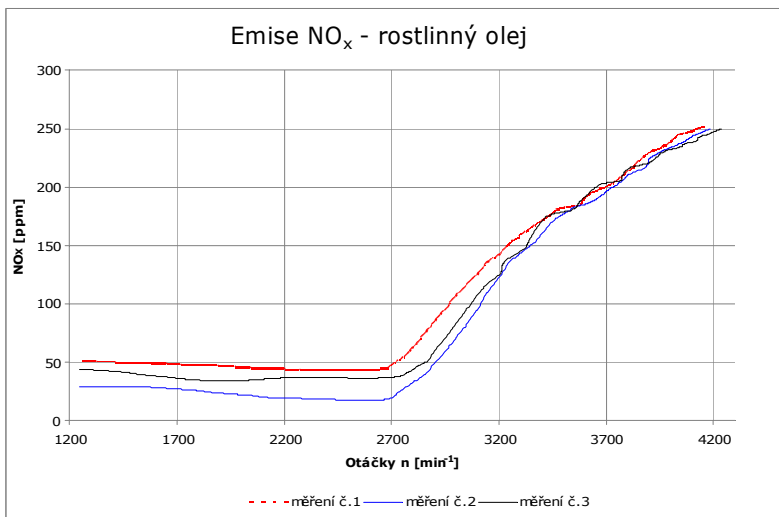
Graf 5: Emise HC, motorová nafta



Graf 6: Emise HC, motorová nafta



Graf 7: Emise NO_x motorová nafta



Graf 8: Emise NO_x rostlinný olej

Co se týká emisí CO_2 , rostlinný olej dosáhl vyšších maximálních hodnot v porovnání s motorovou naftou, viz. *graf 2*. Rostlinný olej v nižších provozních otáčkách vykazuje víceméně stejné hodnoty emisí CO_2 . Lze konstatovat, že celkový pokles emisí CO_2 nebyl u zkoušeného vozidla zaznamenán.

Emise CO vykazaly navýšení v celém otáčkovém rozsahu. U rostlinného oleje můžeme pozorovat patrný nárůst již od nízkých otáček, viz. *graf 3*.

U emisí HC byl při spalování rostlinného zaznamenán mírný nárůst oleje, viz. *graf 6*. Emise HC jsou poměrně problematické, a proto takový nárůst nehraje ve prospěch rostlinného oleje.

Emise NO_x byly naměřeny nižší u rostlinného oleje, *graf 8*. V porovnání s mírou emisí při spalování motorové nafty jsou příznivější u rostlinného oleje a to v celém otáčkovém rozsahu.

Z emisních charakteristik vyplývá, že rostlinný olej nemá u zkoušeného typu vozidla výrazně příznivé hodnoty emisí škodlivin. Určitě zde hraje velkou roli použitý typ zkušebního vozidla. Jednalo se o starší koncepci vznětového motoru. U technicky novějších vznětových motorů nelze vyloučit daleko více příznivé emisní charakteristiky pro rostlinný olej.

Pro získání spolehlivých hodnot se nabízí provedení měření na vznětovém motoru ve špičkovém technickém stavu, aby bylo možno vyloučit možné ovlivnění výsledků např. horším stavem vstřikovačů, stavem spalovacího prostoru, vnikajícím motorovým olejem do spalovacího prostoru, rozdílným kompresním poměrem jednotlivých válců atp.

Zároveň by bylo vhodné provést dlouhodobější nebo rozsáhlejší měření a tím získat reprezentativní soubor dat, které budou statisticky věrohodnější. Zjištěné výsledky mají spíše orientační význam, nelze je brát jako etalon pro veškeré vznětové motory. Každý spalovací motor je svým smyslem originál, i kdyby se měření provedlo na jiném vozidle tohoto typu se shodným pohonným agregátem, nebudou s velkou pravděpodobností získány výsledky se stejnými hodnotami jednotlivých emisí. Pokud by se uvedl příklad, plně dostačuje, aby měl jeden ze zkoušených motorů horší technický stav, např. opotřebené pístní kroužky, už tento rozdíl podstatně zkreslí získané výsledky, zejména emisí HC .

ZÁVĚR

Byly získány hodnoty, které mají vypovídací hodnotu o spalování rostlinného oleje místo motorové nafty. Výsledkem je dále potvrzení, že vznětový motor s dvoupalivovým systémem může plnohodnotně spalovat rostlinný olej.

Lze konstatovat, že u zkoušeného vozidla Peugeot 106, 1,5D:

- nebyl zjištěn rapidní rozdíl v exhalacích při spalování rostlinného oleje a motorové nafty,
- u rostlinného oleje došlo ke snížení emisí NO_x

- u rostlinného oleje došlo k mírnému zvýšení maximální hodnoty emisí CO₂, v nízkých otáčkách motoru emise nezměněny,
- motorová nafta vykázala u emisí CO, HC příznivější hodnoty,
- se z ekologického hlediska se v případě rostlinného oleje nejedná o příliš výraznou a dalo by se říci i očekávanou změnu v produkci emisí.

Nelze vyloučit, že neupravený, nebo i špatně upravený vznětový motor bude vykazovat výrazné opotřebení a technické poruchy a zejména daleko rapidnější zhoršení emisních charakteristik.

Nelze doporučit spalování rostlinného oleje v neupraveném, konvenčním vznětovém motoru.

LITERATURA

- [1] ČSN EN 14214 +A1. Motorová paliva - Methylestery mastných kyselin (FAME) pro vznětové motory - Technické požadavky a metody zkoušení
- [2] ČSN 65 6508. Motorová paliva - Směsné motorové nafty (obsahující MEŘO) - Technické požadavky a metody zkoušení
- [3] POKORNÝ, Z. *Bionafta : ekologické alternativní palivo do vznětových motorů*. 1. vyd. Praha: Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství ČR, 1998. 43 s. ISBN 80-7105-173-X
- [4] ČSN 65 6516. Motorová paliva - Řepkový olej pro spalovací motory na rostlinné oleje - Technické požadavky a metody zkoušení
- [5] Archiv autora příspěvku
- [6] ROUBÍČEK, V. *Technologie ropy: alternativní paliva*. Ostrava: Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava. Fakulta metalurgie a materiálového inženýrství, 2000. 267 s. ISBN 80-7078-690-6
- [7] VLK, František. *Alternativní pohony motorových vozidel*. 1. vyd. Brno: František VlK, 2004. 234 s. ISBN 80-239-1602-5
- [8] Rozbor rostlinného oleje ve strojírenském zkušebnímu ústavu, evidenční číslo 39-6062

USE SPREADERS FOR SOWING

Marada P., Červinka J.

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

E-mail: xmarada@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this work is to assess the usage of fertilizer spreaders of sowing. It studies the usability of fertilizer spreaders with two types of spread mechanisms: spinner and pendulum spreader. The sowing usability is evaluated with the variation coefficient, expressing the uniformity of sowing. I compared my findings with the sowing uniformity of sowing machine. This work offers also the work procedure for sowing by fertilizer spreader. I also compared economics aspects of individual machines work, including their efficiency.

Key words: fertilizer spreaders, sowing, variation coefficient

ÚVOD

Rozmetadla různých materiálů se uplatňují v různých oborech. Nejčastěji v zemědělství, kde se používají k aplikaci tuhých a průmyslových hnojiv. Dalším významným oborem, kde se rozmetadla využívají je komunální sféra, kde se používají hlavně k aplikaci posypových materiálů.

Prezentovaný pokus je zaměřen na to zda je možné a s jakými výsledky použít rozmetadla tuhých průmyslových hnojiv k setí vybraných plodin. Bylo zjišťováno jakých výsledků dosáhnou rozmetadla tuhých průmyslových hnojiv s rozdílným principem rozmetání při setí. Zkoušena byla rozmetadla s hubicovým a kotoučovým rozmetacím ústrojím, při setí dvou různých plodin, a to pšenice a hořčice. Získané výsledky jsem porovnal s výsledkem jakého dosáhl klasický secí stroje při setí výše uvedených plodin.

Cílem práce je porovnat oba způsoby setí a zjistit s jakou rovnoměrností pracují rozmetadla průmyslových hnojiv s porovnáním se secím strojem a zjistit výhody a nevýhody setí rozmetadlem.

MATERIÁL

V experimentu byla použita dvě rozmetadla tuhých průmyslových hnojiv Vicon PS 303 s hubicovým rozmetacím ústrojím, rozmetadlo Amazone ZA-M II s kotoučovým rozmetacím ústrojím a secí stroj SE 1 – 055 od výrobce Roudnické strojírný a slévárny s 3 metrovým pracovním záběrem a vybaveným nožovými secími botkami.

Jako zkoušené osivo bylo zvoleno osivo pšenice jarní a hořčice bílé. Požadavek na výsevek pšenice byl stanoven ve výši 220 a 250 kg.ha⁻¹. U hořčice bílé byl stanoven výsevek 20 a 40 kg.ha⁻¹.

METODIKA

Při měření byla sledována rovnoměrnost v příčném a podélném směru setí. Rovnoměrnost setí byla vyjádřena variačním koeficientem, pomocí kterého je porovnávána rovnoměrnost setí u jednotlivých strojů.

Zjištění příčné nerovnoměrnosti

Pro zjištění příčné nerovnoměrnosti rozmetání osiva, byly záchytné misky umístěny napříč ke směru jízdy tak, aby jedna miska byla ve středu rozmetání. Další misky byly umístěny ve vzdálenosti 0,85 metru na obě strany a to z důvodu bezpečného projetí traktoru. Dále už byla vzdálenost mezi jednotlivými miskami 0,7 metru. Misky byly rozmístěny do takové šíře, aby pokryly celý záběr rozmetání. Výstupem měření je hodnota variačního koeficientu. Každá nastavená dávka byla třikrát opakována.

Zjištění podélné nerovnoměrnosti

Pro zjištění podélné nerovnoměrnosti rozmetání osiva, byly záchytné misky umístěny ve středu jízdy, tj. mezi kola traktoru. Misky byly ve vzdálenosti 0,5 metru. Celková dráha měření byla 10 metrů.

U secího stroje byla zkoušena pouze příčná nerovnoměrnost setí. Osivo z jednotlivých výsevních botek bylo zachyceno a z naměřených hodnot vypočítán variační koeficient.

Nastavení jednotlivých strojů bylo provedeno podle návodu na obsluhu jednotlivých strojů a rozmetacích a výsevních tabulek pro dané stroje. U osiv pro které nebylo v rozmetacích tabulkách uvedeno nastavení, byly provedeny zkoušky minutovým průtokem a měřením šíře rozmetání, tak aby bylo možné nastavit požadovanou hektarovou dávku.

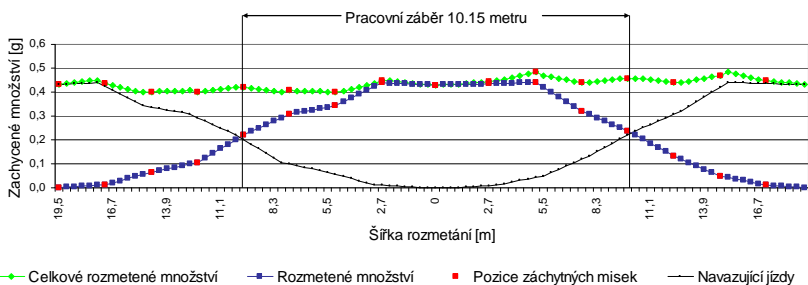
Z hodnot naměřených při jednotlivých pokusech byl sestaven u rozmetadel rozmetací obrazec, pomocí kterého byl zjištěn optimální pracovní záběr při kterém dosahuje rozmetadlo nejvyšší rovnoměrnosti setí. Dále byl sestaven graf vyjadřující změnu rovnoměrnosti setí při změně pracovního záběru od optimálního pracovního záběru. Z naměřených hodnot byl dále zjištěn skutečný hektarový výsevek při optimálním pracovním záběru. U secího stroje byla ze zjištěných hodnot vypočtena skutečná hektarová dávka a koeficient příčné nerovnoměrnosti. Vliv změny pracovního záběru nebyl zohledňován, protože je zde pracovní záběr pevně dán konstrukcí stroje.

VÝSLEDKY

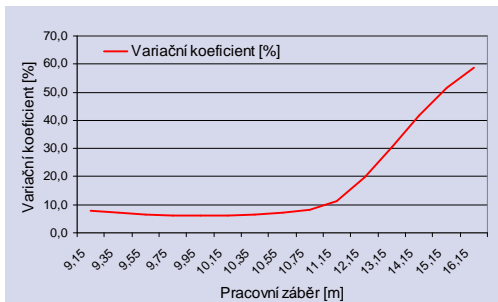
Výsledkem každé skupiny měření byla hodnota variačního koeficientu v příčné a podélné rovině měření, dále grafické znázornění rozmetacího obrazce a graf znázorňující změnu variačního koeficientu v závislosti na změně pracovního záběru.

Požadované a nastavené hodnoty spolu s výslednými hodnotami jsou uvedeny v tabulce č.1.

Zde je uveden náhled výstupu měření ze zkoušky č.3 (viz tab. 1.) měření rovnoměrnosti setí rozmetadla Vicon PS 303 při požadované hektarové dávce $20 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$, s požadovaným pracovním záběrem 10 metrů.



Obr. 1. Rozmetací obrazec Vicon – hořčice $20 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$



Obr. 2. Změna variačního koeficientu při změně pracovního záběru Vicon - hořčice 20 kg.ha⁻¹

Na obr.1. je znázorněn rozmetací obrazec rozmetadla Vicon PS 303. Zjištěné výsledky jsou velmi dobré protože zde bylo dosaženo minimální odchylky od požadovaných hodnot jak v hektarové výsevni dávce, tak i pracovním záběru. V příčné nerovnoměrnosti bylo dosaženo příčné nerovnoměrnosti 6,14 % a v podélné 7,54 %, což je hodnoceno jako dobrý výsledek.

Obr. 2. znázorňuje závislost změny pracovního záběru na příčnou nerovnoměrnost setí. Ze zjištěného vyplývá, že odchylka do 0,5 metru nemá výrazný vliv na zhoršení rovnoměrnosti setí.

Zjištěné výsledky dalších zkoušek jsou uvedeny v tabulce č.1. Podrobnější grafické znázornění a popis jednotlivých pokusů je uveden v diplomové práci Využití neseného rozmetadla pro setí, Pavel Marada (2010).

Tab. 1. Výsledky jednotlivých zkoušek

Zkouška č.	Osivo	Stroj	Hektarová dávka kg.ha ⁻¹			Pracovní záběr [m]		Nastavení na stupnici		Variační koeficient [%]	
			požadovaná	nastavená	skutečná	požadovaný	skutečný	tabulkové	skutečné	příčná	podélná
1	Hořčice	Amazone	20	20,2	10,3	12	11,75	10	11	28,48	7,63
2	Hořčice	Amazone	40	38,3	14,0	12	16,35	14	17	8,92	4,87
3	Hořčice	Vicon	20	20,6	20,4	10	10,15	7	6	6,14	7,54
4	Hořčice	Vicon	40	39,1	42,2	10	9,15	11	10	6,25	6,07
5	Hořčice	SE 1 - 055	20	x	18,8	3	3	1,3	1,3	4,63	x
6	Hořčice	SE 1 - 055	40	x	37,7	3	3	2,4	2,4	3,79	x
7	Pšenice	Amazone	220	214	352	18	10,95	32	30	29,67	8,65
8	Pšenice	Amazone	250	263	267	18	17,75	33	33	25,11	4,85
9	Pšenice	Vicon	220	215	189	10	11,35	36	42	9,76	6,00
10	Pšenice	Vicon	250	254	216	10	11,75	38	47	10,20	8,26
11	Pšenice	SE 1 - 055	220	x	225	3	3	4,3	4,3	1,96	x
12	Pšenice	SE 1 - 055	250	x	240	3	3	4,5	4,5	1,38	x

MENDELNET 2010

Z hodnot uvedených v tab. 1. je patrné, že jsou velké rozdíly v dosahované rovnoměrnosti mezi jednotlivými měřeními a to i v rámci stejné plodiny a stroje. To je patrné hlavně u rozmetadla Amazone. V průběhu měření bylo zjištěno, že regulační šoupátko na levé straně je mírně poškozeno, nedocházelo k úplnému otevření výpadevého otvoru. Po provedené opravě zkoušení pokračovalo. Až při následném výpočtu bylo zjištěno že oprava nedokázala úplně odstranit vadu na regulačním šoupátku. Z tohoto důvodu je nutné při hodnocení přihlídnout k tomu faktu. Pro hodnocení rozmetadla Amazone bylo přihlídnuto hlavně k měření č.2.

Při porovnání výsledků dosažených rozmetadly se secím strojem je zde patrný velký rozdíl mezi rovnoměrností dosahovanou secím strojem a rozmetadly. I přes tento rozdíl dosažené hodnoty odpovídají normě ČSN 470135 pro setí.

Doporučený pro pracovní postup při použití rozmetadla k setí

Rozmetadlo tuhých průmyslových hnojiv dokáže rovnoměrně rozmístit osivo po povrchu pozemku. Následně je nutné osivo zapravit do půdy. Zapravení je vhodné provést hřebovými branami postavenými „na tupo“. Velký vliv na kvalitu zavláčených semen má kyprost ornice. V pokusu byl zjištěn počet nezavláčených semen na úrovni 5 %.

K porovnání ekonomické náročnosti setí rozmetadlem a secím strojem byly použity normativy pro zemědělskou výrobu (Abraham a kol. 2007). Normativy uvádí náklady na 1 hektar setí univerzálním secím strojem 264 Kč. Náklady na rozmetání 151 Kč. ha⁻¹ a na zavláčení 137 Kč. ha⁻¹. K nákladům na rozmetání osiva je nutné připočítat zvýšení výsevku o 5 %. Toto zvýšení je z důvodu, nedostatečného zapravení 5 % osiva do půdy, které po případném vzejití zaschne. Z výše uvedeného vyplývá, že použití rozmetadla k setí je dle normativů pro zemědělskou výrobu ekonomicky náročnější.

Z organizačního hlediska má použití rozmetadla pro setí vyšší hodinovou výkonnost než secí stroj. A to z důvodů většího pracovního záběru. Výkonnost je ovlivněna velikostí zásobníku a hektarovou dávkou. V pokusu byla dosahována výkonnost rozmetadla na úrovni 8 hektarů za hodinu a následně zavláčení 5 hektarů za hodinu. U secího stroje byla dosažena výkonnost 2,5 ha. hod⁻¹.

ZÁVĚR

Setí má a bude mít v zemědělství velký význam, protože každoročně bývá oseto zhruba přes 3 miliony hektarů zemědělské půdy nejrůznějšími plodinami a u setí některých se může uplatnit právě setí rozmetadlem, které díky své vysoké hektarové výkonnosti může napomoci dodržet správné agrotechnické termíny.

Vysévat lze pouze plodiny u kterých není vyžadováno pěstování v řádku a není vyžadována velká hloubka setí. Ta je dána možností zapravit osivo do země následující operací, např. zavláčením.

Pro hodnocení rovnoměrnosti setí požaduje norma ČSN 470135 (již zrušena bez náhrady) nerovnoměrnost do 8 %. Rovnoměrnost setí u rozmetadel se pohybuje do 10 %, mimo případů

nedostatečně opraveného regulačního šoupátka u pokusů č. 1, 7 a 8. U pokusů č. 3 a 4 byla tato norma splněna. Secí stroj splňuje tuto normu bez výhrad.

Technologie setí pomocí rozmetadla tuhých průmyslových hnojiv je vhodná hlavně pro setí meziplodin a je možné ji použít pro setí jarních obilnin. V praxi se provádí i setí ozimých obilovin (ZP Mikulčice – okr. Hodonín), ale toto je vhodné pouze v oblastech s mírnějším průběhem zimy.

LITERATURA

Abraham Z., 2007: *Technické a technologické normativy pro zemědělskou výrobu*, Výzkumný ústav zemědělské techniky, v.v.i., Praha, ISBN 978-80-86884-26-4

Marada P., 2010, *Využití neseného rozmetadla pro setí*, (diplomová práce), Mendelova univerzita v Brně.

PODĚKOVÁNÍ

Příspěvek byl zpracován s podporou Výzkumného záměru č. MSM6215648905 „Biologické a technologické aspekty udržitelnosti řízených ekosystémů a jejich adaptace na změny klimatu“, uděleného MŠMT ČR a projektu MZE ČR QH 91051 „Efektivní pěstební technologie obilnin“.

THE USING OF MATERIAL MANUFACTURING PROCESS OUTPUT POWER LEDVICE

Nováková M., Konrád Z.

Department of Agricultural, Food and Environmental Engineering, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xnovak66@node.mendelu.cz, xkonrad@node.mendelu.cz

ABSTRACT

Our objective was to analysis of using of materials produced from power-station Ledvice process. There are the sort and composition of the materials and character of the secondary energetical products with using in energy and building industries.

The consideration is applied to products of combustion and fuel desulphurization that are reprocessed to secondary raw material in mixing centres. After the certification process the secondary raw material are using for recultivation and building process to improving of environment.

The conclusions and the encouragements for next trends with a view to development of the new power source with energy output 660 MW are included in the last part of this article.

Key words: energy, secondary raw material, power sources, power-station, secondary energetical products

ÚVOD

Tato práce se zabývá analýzou využití výstupních materiálů z elektrárny Ledvice. Je zde řešena problematika charakterizující druh, složení a v neposlední řadě vlastnosti vedlejších energetických produktů vznikajících v elektrárenské výrobě Ledvic (ELE) s následným využitím v energetice a stavebnictví.

Pozornost je kladena na produkty z procesu spalování a odsíření z ELE, které se přepřacovávají na druhotnou surovinu v míchacích centrech a jejich následné využití je zejména v oblasti stavebnictví a rekultivaci vytěženého lomu Fučík jako certifikované výrobky. Těmito surovinami je stabilizát z nynějšího provozu, ale i granulát, který je z nového zdroje ELE. V neposlední řadě jsou zformulovány závěry a praktická doporučení pro další vývoj i v oblasti výstavby nového zdroje 660 MW.

Elektrárna Ledvice

Elektrárna Ledvice (dále jen ELE) se nachází cca 3 km severně od města Bílina. Areál elektrárny má trojúhelníkový tvar a je ohraničen na západní straně hnědouhelným velkolomem Severočeských dolů – Důl Bílina (dále jen SD-DB), ze severu vlečkovištěm uhlí DB a na východě vlastní vlečkou a dále tratí ČD Teplice – Bílina.

ELE kromě výroby elektrické energie zajišťuje dodávky tepla pro odběratele v nejbližším okolí prostřednictvím teplárenské společnosti United Energy (Teplice, Bílina) a pro Doly Bílina. V ELE je spalováno hnědé energetické uhlí o výhřevnosti 10,5 – 13 MJ.kg⁻¹ z dolu Bílina. Uhlí je dopravováno přímo pásovými dopravníky ze sousední úpravní uhlí Ledvice. Hlavním zdrojem vody je řeka Labe, záložním zdrojem vody je Všechlapská nádrž.

Od svého vzniku vyrobila ELE 100 280 522 MWh elektrické energie (spotřeba České republiky zhruba za rok a půl). Od roku 1993 poklesly roční emise SO₂ z 35 000 tun na cca 8 000 tun, emise NO_x 7 000 tun na cca 3 500 tun, emise tuhých částic z více než 11 000 tun na cca 200 tun. Současný instalovaný výkon Elektrárny Ledvice je 3 x 110 MW.



Obr. 1 Letecký snímek nynější ELE

METODIKA A MATERIÁL

Zpracování VEP

Ze spalovacích procesů ELE vznikají VEP, které se stávají za předpokladu splnění technických a zákonných podmínek surovinou pro další zpracování a výrobu. Tyto odpady z procesu spalování a odsíření se přepracovávají na druhotnou surovinu (dále jen DS) využitelnou zejména ve stavebnictví a rekultivaci vytěženého lomu Fučík. Touto surovinou je stabilizát, který vzniká z koncového produktu odsíření, popílku a vody v míchacím zařízení (MC I a II).

Míchací centrum I

Přepracováním v míchacích centrech je zajištěna dokonalá homogenizaci vedlejších energetických produktů (dále jen VEP), které jsou potřebné pro výrobu materiálu podle zadaných receptur. Jedná se o stabilizát „G3“, což je směs sypného optimálně vlhčeného materiálu vyrobená v MC I dle stanovené receptury z popílků z kotlů K2 a K3. Výsledkem je směs optimálně vlhčeného stabilizátu, která je využívána

- a) jako certifikovaný stavební materiál pro stavbu obvodových hrázek,

b) nebo je přidáván do domíchávací (homogenizační) nádoby GEHO k čerpatelné směsi fluidních popelovin, samostatně v MC II.

Míchací centrum MC I plní v současných provozních podmínkách poněkud odlišnou funkci v porovnání se stavem po jeho plánované modernizaci. Provozem MC I musí být ve stávajících podmínkách zajištěno zpracování veškeré produkce klasických popílků odpadajících od kotlů K2 a K3 a současně musí být zpracována celá produkce REA produktu z odsiřování. Při běžném provozu je do MC II dopravována směs klasického popílku a REA produktu v množství, které odpovídá objemu produkce. Po modernizaci MC I budouv míchacím centru zpracovány materiály v objemech podle potřeb MC II a podle potřeb dodávek stabilizátu pro hrázky. Vstupní suroviny budou do sila č. 1 a do sila WAH dopravovány v závislosti na potřebách MC I, nikoliv ve vazbě na produkované množství těchto materiálů.

K vlastnímu míchání jsou nainstalovány dvě identické linky každá o max. výkonu 80 t.h^{-1} suché směsi, resp. 104 t.h^{-1} stabilizátu. Provozována je většinou jedna míchací linka, druhá tvoří 100 % rezervu. Pouze v ojedinělých případech při výrobě optimálně vlhčeného stabilizátu pro výstavbu obvodových hrázek jsou nasazeny obě linky.

Součástí strojně technologického souboru MC I je již v současné době sestava zařízení pro dávkování a dopravu REA produktu ze sila, které se nachází v sousedním objektu vápenného hospodářství. REA produkt je dávkován rotačními podavači (turnikety) a dopravován pomocí šnekových a řetězových dopravníků do objektu sila č. 1.

Míchání směsi zajišťuje dvouhrdelový lopatkový míchač (míchačka Boler), kdy dochází ke kontinuálnímu promíchání vstupních surovin v podobě suchého produktu odsiřování a zvlhčeného úletového popílku s dostatečnou možností přidání záměsové vody. Po provedeném smíchání surovin je zvlhčený stabilizát pohybem lopatek dopraven k výpadu na sběrný vynášecí dopravník a odtud dopravován do

a) domíchávače GEHO (MC II),

b) do expedičních zásobníků nakládky pro odvoz nákladními auty (hrázky).

Stabilizát „G3“, který má tedy dvojí uplatnění:

- spolu se suspenzí z fluidních popelů vyráběných v MC II. je smíchán a dopravován trubní dopravou GEHO na složiště,
- jako stavební materiál je používán pro výstavbu hrázek jednotlivých kazet pro ukládání VEP z obou míchacích center na složiště, v tomto případě je doprava stabilizátu „G3“ prováděna nákladními sklápěčmi automobily.

Míchací centrum II (MC II) na výrobu stabilizátu ve formě čerpatelné nebo optimálně vlhčené směsi z fluidních popelů produkovaných FK 4 bylo postaveno a uvedeno do provozu v ČEZ, a.s. Elektrárna Ledvice v roce 1998, v roce 2006 po provedené optimalizaci zpracování VEP a výměně rozhodujících strojních zařízení (mixéry, šnekové dopravníky) je vyráběn výhradně čerpatelný stabilizát. MC II slouží k řízenému míchání ložového a filtrového popílku se záměšovou vodou, výsledkem procesu je stabilizát G2. Stabilizát je vyráběn pouze ve formě čerpatelné suspenze G2/2. Technologické zařízení má dvoulinkové uspořádání a je umístěno pod dnem akumulčního prostoru děleného válcového železobetonového popílkového sila č.2. Prostor pro rozmístění mixérů a doplňujících zařízení je dán půdorysnou plochou válcového tvaru zásobního sila č. 2 o vnitřním průměru 16 m.

Technologický celek je shodný u obou výrobních linek L1 a L2. Dvoustupňová homogenizace se skládá z horizontálního rychloběžného mixéru FP 65-C a míchací nádoby s míchadlem. Druhý stupeň homogenizace probíhá v míchací nádobě, kde pomocí lopatkového míchadla dochází k dodatečné homogenizaci a zrovnoměnění konzistence čerpatelné suspenze.

Systém dávkování a regulace záměšové vody je tvořen 2 soustavami přívodních potrubí záměšové vody k mixérům, indukčního průtokoměru záměšové vody, regulační klapky s havarijní funkcí a rozvodu k vlhčícím tryskám obou horizontálních rychloběžných mixérů FP 65-C.

Zařízení jsou umístěna na obslužné plošině odtud je dopravována koncentrovaná suspenze do domíchávače, kde je pomocí vertikálního míchadla homogenizována s optimálně vlhčeným stabilizátem G3 dopraveným z MC I.

Doprava čerpatelného stabilizátu

Z MC II je dopravována koncentrovaná suspenze do domíchávače GEHO I, kde je pomocí vertikálního míchadla dokonale zhomogenizována s optimálně vlhčeným stabilizátem G3 dopraveným z MC I a odtud čerpacím systémem GEHO I až na složiště k uložení do zemní konstrukce.

Certifikace VEP

Aby stabilizát či granulát (materiál) mohl být certifikovaným výrobkem, musí vyhovět řadě ověřovacích zkoušek, které jsou hlavní náplní technických návodů pro následné využití výrobku. Autorizovaná osoba (dále jen AO) potvrzuje, že u stavebního výrobku přezkoumala podklady příložené výrobcem (ELE), provedla počáteční zkouškou typu výrobku na vzorku a posoudila, že uvedený výrobek splňuje požadavky související se základními požadavky nařízení vlády 312/2005 Sb., ve znění pozdějších předpisů a dále je v souladu se stavebním technickým osvědčením (dále jen STO). Nedílnou součástí certifikátu je protokol o výsledcích certifikace, který obsahuje závěry

MENDELNET 2010

ověřování a výsledky zkoušek, základní popis certifikovaného výrobku podmínky v místě nezbytné pro jeho identifikaci.

Certifikace výrobku se provádí na základě výsledků zkoušek prezentovaných v protokolu o výsledku certifikace výrobku vydané AO. Posuzovaný materiál na základě výsledků vyhovění technickým podmínkám uvedeným v certifikátu výrobku a splňuje zároveň i limitní hodnoty. Jedná se o první certifikaci výrobku pro dané využití. Vymezení sledovaných vlastností a způsobu jejich posouzení technických požadavků prezentuje **STO**.

AO je odpovědná za certifikát výrobku. Provádí jeho kontrolu minimálně jedenkrát za 12 měsíců. Dohlíží na řádným fungování systému řízení výroby v místě výroby, odebírá vzorky výrobku v místě výroby, provádí jejich ověřovací zkoušky a posuzuje zda vlastnosti výrobku odpovídají STO. Pokud AO zjistí nedostatky, je oprávněna zrušit nebo změnit obsah vydaného certifikátu.

Certifikované výrobky**VEP ze stávající výroby (K2, K3, FK 4)**

- Stabilizát G3 je směs sypaného optimálně vlhčeného materiálu vyrobena v MCI podle stanovené receptury z popílků z kotlů K2 a K3. Výsledkem je směs optimálně vlhčeného stabilizátu, která je využívána a) jako certifikovaný stavební materiál pro stavbu obvodových hrázek, b) nebo je přidáván do domíchávací (homogenizační) nádoby GEHO k čerpatelné směsi fluidních popelovin, samostatně v MC II.
- Stabilizát „G2“ ve formě čerpatelné nebo optimálně vlhčeného stabilizátu z fluidních popelů produkovaných FK 4.

A) Produkty ze stávajícího zdroje ELE

- **Popílek hnědouhelný** je určen jako příměs do betonu dle EN 450-1.
- **Struska** je využívána pro násypy zemních těles pozemních komunikací, zásypy opěrných konstrukcí, zásypy a obsypy liniových staveb inženýrských sítí (vodovody, kanalizace, plynovody), zásypový materiál při rekultivaci vytěžených prostor po těžbě nerostných surovin (povrchové doly, pískové lomy), terénní úpravy nebo rekultivace antropogenní činnosti postižených pozemků, ostřivo při výrobě cihlářských pálených výrobků, pro výrobu škvárobetonu
- **REA produkt** – výroba stabilizací v silničním stavitelství, úprava zemin nebo jiného zrnitého materiálu s použitím pojiva

- **Stabilizát optimálně vlhčený a stabilizát čerpatelný (KOPOS)*** se používá pro tělesa násypů zemních pozemních komunikací (budování zpevněných hrázek pro odliv GEHO), protipovodňové hráze, protihlukové valy, hráze odkališť a skládek odpadů, podkladní a ochranné vrstvy vozovek (Certifikát č. 204/2006/040-026 882), aktivní zóna, obsypy a zásypy objektů, přechodové oblasti mostů, těsnící a uzavírací vrstvy skládek odpadů ve smyslu ČSN 80 8032, stabilizace zemin (zemní pláň, do těles násypů), zásypový materiál při rekultivaci prostor po těžbě nerostných surovin, sanace podzemních dutin (po demolici stavebních objektů, při stavbách tunelů, parovody, kanalizace, stará důlní díla), KAPS – kamenivo zpevněné popílkovou suspenzí

VEP z NZ ELE

B) Produkty po uvedení nového zdroje do provozu

- **Popílek hnědouhelný**
- **Energosádrovec**
- **Struska**
- **Stabilizát čerpatelný**
 - ze stávajícího zdroje
 - z nového zdroje
- **Stabilizát optimálně vlhčený** se bude využívat na stavbu hrázek a podkladních vrstev komunikací
- **Aditivovaný granulát** je výrobek určený do výsypek povrchových dolů pro násypy a zásypy při zahlazování důlní činnosti.

Technologické zkoušky stabilizátů

Důležitou součástí modernizace celé elektrárny je připravovaná rekonstrukce MC I pro výrobu optimálně vlhčených stabilizátů určených k budování hutněných zemních těles, zejména hrázek na odkalištích a tělesa dopravního koridoru. V souvislosti s plánovaným odstavením dvou starých klasických kotlů a s odstavením dosud provozovaného souboru odsiřování kouřových plynů polosuchou metodou bude i výroba stabilizátu v novém míchacím centru provozována v podmínkách nových materiálových vstupů.

MENDELNET 2010

Kvalitní optimálně vlhčený stabilizát bude v rekonstruovaném MC I vyráběn z klasického vysokoteplotního popílku dopravovaného z nového zdroje. Jako pojivová složka má být ve smyslu technického zadání použito práškové jemně mleté vápno. V rámci přípravy realizačního záměru byl předložen návrh variantního úsporného řešení, které předpokládá nahrazení vysoké spotřeby drahého práškového vápna ložovým popelem s vysokým obsahem volného CaO, který v elektrárně Ledvice odpadá z provozu fluidního kotle.

Na přípravě technologických podkladů pro nové řešení MC I pro výrobu stabilizátu se významně podílí firma ECO-BUILDING BRNO s.r.o. jako dodavatel strojního zařízení a firma RECYCLING SERVICE s.r.o., která provádí potřebné technologické zkoušky. V součinnosti s vývojem nové technologie byla v laboratoři této firmy provedena i převážná část laboratorních zkoušek, potřebných měření a jejich vyhodnocování, které jsou obsahem praktické části.

Předložená dílčí zpráva o průběhu a výsledcích dosud provedených technologických zkoušek výroby nového druhu popílkového stabilizátu v podmínkách ELE uvádí zejména výsledky vlastních prací provedených ve smyslu zadání v rámci mé diplomové práce. Doplnkově jsou ve zprávě uvedeny i další údaje získané od spolupracujících organizací, které výsledky dosud provedené praktické části diplomové práce uvádí do širšího kontextu v rámci celé řešené problematiky.

Problematika technologických zkoušek efektivního využití VEP z ELE pro výrobu popílkových stabilizátů je členěna do tří samostatných pracovních etap. V předložené informativní zprávě o dosažených výsledcích je stručně hodnocena problematika prvních dvou pracovních etap, které se zaměřují na technologii výroby stabilizátu výlučně podle současných a výhledových potřeb elektrárny. Do programu praktické části je zařazena i samostatná třetí etapa s cílem ověřit a prokázat možnost výroby velmi kvalitních popílkových stabilizátů i pro jiné způsoby užití, zejména pro uplatnění nových druhů stavebních polotovarů především v inženýrské výstavbě.

Program a cíl zkoušek

Rozhodující část dosud provedených laboratorních a technologických zkoušek výroby popílkových stabilizátů na bázi VEP z ELE byla zaměřena na ověření proveditelnosti inovačního námětu využití ložového popela s vysokým obsahem volného CaO jako pojivové složky nahrazující při výrobě mleté práškové vápno. Podstatou těchto zkoušek byla příprava dvou sérií zkušebních směsí, ze kterých byla vyráběna zkušební tělesa jako vzorky popílkových stabilizátů. První série zkušebních těles byla vyrobena jako srovnávací vzorky s použitím práškového vápna. Druhá série vzorků byla vyrobena při použití fluidního ložového popela jako náhradní vápenné pojivové složky.

Všechna vyrobená zkušební tělesa byla uložena po dobu 28 dnů v podmínkách normového zrání, následně byly u vyrobených vzorků stabilizátů stanoveny jejich základní vlastnosti. Pro hodnocení kvality jednotlivých vzorků je rozhodující především pevnost v tlaku prostém dosažená po 28

MENDELNET 2010

dnech normového zrání. Technické zadání pro vývoj nového druhu popílkového stabilizátu ukládá zajistit vlastnosti nového výrobku alespoň v parametrech dosud produkovaného stabilizátu.

V současné době je optimálně vlhčený stabilizát vyráběn z klasického popílku a REA produktu z polosuché odsiřovací metody mísených v hmotnostním poměru 2 : 1 až 3 : 1. v laboratorních podmínkách tyto stabilizáty dosahují po vyzrání pevnosti v tlaku prostém v rozmezí 0,8 až 1,2 MPa. V běžných provozních podmínkách vykazují stabilizáty pevnosti nižší, většinou v rozmezí 0,6 až 0,9 MPa. S ohledem na konkrétní způsob použití stabilizátu při výstavbě obvodových hrázek na odkališti je za postačující považováno dosažení pevnosti 0,5 MPa. Vlastnosti dosud vyráběného stabilizátu jsou předepsány příslušným certifikátem výrobku, jednotlivé parametry produktu dané certifikátem jsou dosud při výrobě stabilizátu plněny.

Program technologických zkoušek výroby nového druhu popílkového stabilizátu vycházel zejména z původního předpokladu zadavatele, že jako pojivo bude použito práškové vápno v hmotnostním podílu 3 % z celkového obsahu sušiny. Při zkouškách byly vyrobeny vzorky stabilizátů s obsahem vápna v rozmezí 2 až 6 % hmot. s cílem vyšetřit vliv hmotnostního přídatku na konečné pevnosti vyrobeného stabilizátu. V další části zkoušek byly vyrobeny vzorky při použití ložového popela tak, že tato složka byla po přepočtu dávkována opět na stejné rozmezí hmotnostního obsahu volného CaO 2 až 6 %.

Vedení elektrárny jako zadavatel technologických zkoušek, s cílem posílit hodnověrnost dosažených výsledků, pověřilo v podstatě stejným úkolem i firmu EG7 Hradec Králové, která pro potřeby elektrárny zajišťuje provádění kontrolních zkoušek i technologických podkladů pro certifikaci výrobků. Tato firma pro účely zkoušek odebrala vlastní vzorky vstupních surovin, na obou pracovištích byly tedy zkoušky prováděny v podmínkách různých namátkově odebraných surovinových vstupů. Výsledky zkoušek přesto vedou k velmi podobným závěrům, které potvrzují reálnou možnost a výhodnost použití ložového popela k danému účelu. V příslušné části této zprávy o výsledcích zkoušek jsou proto zařazeny i uvedené výsledky ze srovnávacích kontrolních zkoušek.

Jedním z výsledků zkoušek laboratoře EG7 Hradec Králové je doporučení ověřit v další etapě přípravných prací i variantní možnost výroby popílkového stabilizátu, kdy jako pojivová složka bude použit úletový fluidní popílek. S ohledem na podstatně nižší obsah volného CaO v tomto popílkem by takové řešení předpokládalo jeho podstatně vyšší podíl ve směsi, klasický popílek by bylo třeba s úletovým fluidním popílkem mísit v hmotnostním poměru 1 : 1. V rámci provedených zkoušek byla tato možnost ověřena se závěrem, že uvedené řešení pevnosti vyrobeného stabilizátu spíše snižuje.

Údaje o surovinách

Základní surovinovou složkou pro výrobu optimálně vlhčeného stabilizátu je klasický vysokoteplotní popílek, který bude po rekonstrukci MC I a odstavení stávajících kotlů dopravován

MENDELNET 2010

z nového zdroje. S ohledem na stejnou palivovou základnu byly pro laboratorní a technologické zkoušky jako hodnověrné vzorky odebrány vzorky ze stávajících kotlů. Vzorek popílku označený jako 1. dodávka byl použit v převážné části zkoušek, vzorek označený jako 2. dodávka byl použit pouze v doplňkové části zkoušek zaměřené na ověření využití úletového fluidního popílku.

Tab. 1 Základní vlastnosti klasického popílku

Parametr	Měr. jedn.	Klasický popílek	
		1. dodávka	2. dodávka
Vlhkost	% hm.	0,09	0,11
Ztráta žháním	% hm.	1,27	2,43
Sypná hmotnost	kg.m ⁻³		
• volná		765	758
• setřesená		910	950
Sítový rozbor	% hm.		
zbytek na síť 1,000		0,4	0,2
o vel. ok (mm) 0,500		0,4	0,6
0,200		5,8	9,8
0,125		14,2	33,2
0,090		33,2	30,2
0,063		26,0	16,6
0,040		13,6	7,0
< 0,040		6,4	2,4

Dále byly při zkouškách použity suroviny zajišťující svým přídatkem požadovaný obsah volného CaO v surovinové směsi. V první části zkoušek bylo použito práškové vápno mleté od CARMEUSE CZECH REPUBLIC, závod Mokrá.

Dále byly pro účely zkoušek odebrány v elektrárně Ledvice vzorky ložového fluidního popela a úletového fluidního popílku. S ohledem na základní cíl zkoušek, kterým je ověření a prokázání možnosti výhodného použití ložového popela s vysokým obsahem CaO jako korekční vápenné složky pro výrobu stabilizátu je u ložového popela zvláště důležitý tento parametr.

V následujícím tabulkovém přehledu jsou uvedeny základní vlastnosti vzorků ložového popela a úletového fluidního popílku odebraných z provozních zásobníků elektrárny Ledvice k účelům laboratorních a technologických zkoušek. Závodní laboratoř elektrárny průběžně provádí stanovení obsahu volného CaO ve fluidních popílcích zejména s cílem kontroly odsiřovacího procesu.

Důležitý parametr obsahu volného CaO v ložovém popelu je dále uveden v samostatném tabulkovém přehledu, ve kterém jsou výsledky prováděných zkoušek v závodní laboratoři zpracovány za delší časové období. Z přehledu těchto výsledků je zřejmé, že obsah volného CaO v ložovém popelu je dlouhodobě stálý a pohybuje se v rozmezí 10 až 12 % hmotn.

Tab. 2 Základní vlastnosti fluidních popílků

Parametr	Měr. jedn.	Fluidní úletový popílek	Fluidní ložový popel
Vlhkost	% hm.	0,07	0,05
Ztráta zžháním	% hm.	5,26	3,91
Sypná hmotnost	kg.m ⁻³		
• volná		647	838
• setřesená		769	1020
Obsah volného CaO	% hm.	4,16	12,08
Sítový rozbor	% hm.		
vel. ok sít 8,000		0,0	0,0
(mm) 4,000		0,0	0,2
2,000		0,0	1,0
1,000		0,0	4,2
0,500		0,4	11,8
0,200		4,2	44,3
0,125		14,0	21,2
0,063		50,8	10,7
0,040		22,8	4,9
< 0,040		7,8	1,7

Tab. 3 Přehled obsahu volného CaO v ložovém popelu (přepočet – suma CaO v % hm.)

Měsíc – rok	r. 2007	r. 2008	r. 2009	r. 2010
Leden	4,19 – 14,24	1,79 – 14,46	6,61 – 11,55	9,03 – 16,70
Únor	12,65 – 18,07	5,79 – 15,21	6,66 – 12,29	8,93 – 17,26
Březen	12,41 – 14,66	7,36 – 14,25	6,08 – 14,55	9,02 – 17,02
Duben	0,67 – 22,08	5,01 – 10,96	5,07 – 14,96	10,85 – 16,61
Květen	6,35 – 19,78	0	7,44 – 15,40	8,74 – 14,09
Červen	9,72 – 19,35	0	3,90 – 12,34	8,48 – 15,00
Červenec	8,81 – 24,72	0	5,83 – 16,52	
Srpen	7,90 – 19,95	0	0,31 – 13,61	
Září	8,94 – 17,36	0	9,40 – 15,17	
Říjen	5,89 – 19,70	0	11,42 – 19,68	
Listopad	3,50 – 15,37	10,91	11,11 – 16,54	
Prosinec	3,59 – 15,88	9,64 – 11,25	10,31 – 16,72	
Rozsah (min. – max.)	0,67 – 24,72	1,79 – 15,21	0,31 – 19,68	8,48 – 17,26
Roční průměr (%)	12,518	9,941	11,583	12,486

Složení zkušebních směsí

Surovinové směsi pro výrobu vzorků popílkových stabilizátů byly připraveny ve dvou samostatných sériích. V prvním případě bylo jako pojivo použito práškové vápno, ve druhém případě byl použit fluidní ložový popel. V obou případech se ověřovaný obsah volného CaO ve směsi pohyboval v rozmezí 2 až 6 % hmotn. Všechny vzorky zkušebních směsí byly vyrobeny

MENDELNET 2010

v pastovité konzistenci, která zjednodušuje přípravu a výrobu vzorků a současně po vyzrání přesně modeluje vlastnosti optimálně vlhčených stabilizátů předepsaným způsobem hutněných.

Tab. 4 Složení popílkového stabilizátu na 1 m³ čerstvé směsi (jako pojivo použito práškové vápno)

Směs č.	Složky popílkového stabilizátu				ρ_{es}
	klasický popílek	práškové vápno		voda	
	(kg)	(%)	(kg)	(l)	(kg.m ⁻³)
1.	1054,0	2	21,5	408,5	1484
2.	1040,0	3	32,3	416,7	1489
3.	1028,6	4	42,9	421,5	1493
4.	1006,0	6	64,2	428,3	1499

Tab. 5 Složení popílkového stabilizátu na 1 m³ čerstvé směsi (jako pojivo použito volné CaO z ložového popela)

Směs č.	Složky popílkového stabilizátu				ρ_{es}
	klasický popílek	fluidní ložový popel		voda	
	(kg)	(% CaO)	(kg)	(l)	(kg.m ⁻³)
5.	908,0	2	186,0	431,0	1525
6.	821,6	3	273,8	437,6	1528
7.	728,0	4	358,8	445,7	1533
8.	543,8	6	543,8	452,4	1540

Z hlediska porovnání příštích provozních podmínek výroby stabilizátu se současným stavem jsou důležité zejména směsi č. 6 a 7, které představují 3 % a 4 % obsahu volného CaO ve směsi. Dávkování klasického popílku a fluidního ložového popela by u směsi č. 6 znamenalo jejich mísení v hmotnostním poměru 3 : 1, u směsi č. 7 v poměru 2 : 1. Prakticky by bylo zachováno stejné rozmezí v dávkování surovinových složek jako v současných podmínkách. Zařízení pro dávkování korekční složky a dopravní cesty by v takovém případě nemusely být upraveny.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky technologických zkoušek

Základní vlastnosti stabilizátu s přidavkem vápna

Tab. 6 Pevnost v tlaku a objemová hmotnost vyzrálého popílkového stabilizátu

Směs č.	σ_{pd} po 28 dnech	Objemová hmotnost		Vlhkost
		vlhká	suchá	
	(MPa)	(kg.m ⁻³)		(%)
1.	0,38	1588	1179	34,72
2.	0,63	1622	1199	35,19
3.	0,84	1638	1212	35,11
4.	1,26	1634	1221	33,84

Základní vlastnosti stabilizátu s přidavkem ložového popela

Tab. 7 Pevnost v tlaku a objemová hmotnost vyzrálého popílkového stabilizátu

Směs č.	σ_{pd} po 28 dnech	Objemová hmotnost		Vlhkost
		vlhká	suchá	
	(MPa)	(kg.m ⁻³)		(%)
5.	1,26	1646	1241	32,59
6.	2,65	1685	1256	34,13
7.	3,15	1679	1284	30,79
8.	4,92	1683	1295	29,96

Tab. 8 Pevnost v tlaku a objemová hmotnost vyzrálého popílkového stabilizátu – doplňkové zkoušky

Směs č.	σ_{pd} po 28 dnech	Objemová hmotnost		Vlhkost
		vlhká	suchá	
	(MPa)	(kg.m ⁻³)		(%)
5.A	0,60	1 629	1 172	39,04
6.A	1,04	1 650	1 202	37,31
7.A	1,54	1 655	1 214	36,30
8.A	1,98	1 664	1 228	35,50
9.A	1,12	1 558	1 017	53,26

V přehledu výsledků zkoušek zpracovaných ve formě tabulek č. 6 a 7 jsou uvedeny vlastnosti popílkových stabilizátů vyrobených v první etapě zkoušek. dosažené pevnosti v tlaku prostém u jednotlivých vzorků jasně prokazují, že při stejném obsahu volného CaO ve směsi je použití ložového popela jako vápenné korekční složky výhodné a zajišťuje podstatně vyšší pevnosti než při použití práškového vápna.

V tabulce č. 8 jsou stručně uvedeny výsledky druhé doplňkové etapy zkoušek, která byla v podstatě zaměřena zejména na ověření možného využití úletového fluidního popílku (směs 9.A). Při této příležitosti byly připraveny i kontrolní srovnávací směsi 5.A až 8.A, které umožnily opakované srovnání s použitím ložového popela. V porovnání s výsledky první etapy (tabulka č. 7). Zde

MENDELNET 2010

zkoušené vzorky vykázaly nižší pevnosti v tlaku prostém, dosažené hodnoty jsou však plně vyhovující. Snížení pevnosti je dáno horší kvalitou použitého klasického popílku, pravděpodobně se zde projevil i nepříznivý vliv delší doby skladování vzorku ložového popela.

V další části předložené zprávy zaměřené na dosažené výsledky laboratorních a technologických zkoušek jsou ve stručném přehledu uvedeny výsledky srovnávacích zkoušek provedených v laboratoři firmy EG7 Hradec Králové. Hodnocení těchto dílčích výsledků a jejich porovnání s výsledky vlastních zkoušek jsou provedeny svodným způsobem v závěrečné kapitole této dílčí zprávy zaměřené na celkové hodnocení výsledků zkoušek.

Tab. 9 Zkoušky zhutnitelnosti PS pro směsi popílku (P) a ložového popela (LP)

Zkouška	Vlastnost	Stabilizát S2	Stabilizát S3	Stabilizát S4	Stabilizát S6
Poměr mísení P : LP		5 : 1	3 : 1	2 : 1	1 : 1
Zhutnitelnost PS	w_{optPS} (%)	21,2	18,1	17,3	16,7
	ρ_{dmaxPS} (kg.m⁻³)	1300	1307	1323	1346

Tab. 10 Výsledky zkoušek pevnosti v prostém tlaku stabilizátu

Sledovaná vlastnost	Doba zrání vzorků (dnů)	Stabilizát S2	Stabilizát S3	Stabilizát S4	Stabilizát S6
Pevnost v prostém tlaku (MPa)	14	2,47	2,13	1,91	0,87
	28	3,99	4,76	3,83	1,44
	28 ^{*)}	3,31	3,59	2,80	1,08

^{*)} pozn.: zkušební tělesa byla před zkouškou sycena vodou po dobu 5 hodin

Označení vzorků S2 až S6 odpovídá různým poměrům mísení klasického a ložového popela a je shodné s označováním v předchozí tabulce č. 9.

Tab. 11 Výsledky zkoušek propustnosti stabilizátu po 28 dnech zrání

Sledovaná vlastnost	Identifikace vzorku	Stabilizát S2	Stabilizát S3	Stabilizát S4	Stabilizát S6
Propustnost koef. propustnosti k (m.s⁻¹)	původní	6,3.10 ⁻⁸	1,4.10 ⁻⁷	4,0.10 ⁻⁷	1,1.10 ⁻⁶
	opakované	2,2.10 ⁻⁸	1,0.10 ⁻⁷	1,9.10 ⁻⁷	5,5.10 ⁻⁷

MENDELNET 2010

Ve výše uvedené tabulce jsou při identifikaci vzorků jako původní označeny vzorky, které byly ponechány po dobu zrání v běžných atmosférických podmínkách. Vzorky označené jako opakované byly uloženy po celou dobu zrání v normových podmínkách.

Výsledky zkoušek propustnosti vyztužených stabilizátů vyrobených při použití ložového popela jako korekční vápenné složky prokazují, že lepších výsledků je dosaženo při splnění podmínek normového zrání (vlhké uložení vzorků). Certifikát výrobku pro současně vyráběný stabilizát stanovuje jako limitní hodnotu propustnosti $1,0 \cdot 10^{-6} \text{ m.s}^{-1}$, tento požadavek je bezpečně plněn u všech vzorků.

V rámci provádění srovnávacích zkoušek výroby stabilizátů při použití ložového popela se laboratoř EG7HK věnovala i zajímavé problematice využití odpadní vody z koridorů jako záměsově vody při výrobě stabilizátů. Tato odpadní voda obsahuje zvýšený podíl některých škodlivin a nespĺňuje podmínky pro vypouštění odpadních vod do vod povrchových. Výsledky zkoušek svodně zpracovaných do následujících tabulkových přehledů však prokazují, že ložový popel je v daném případě schopen působit i jako solidifikační přísada, která v průběhu tuhnutí a zrání váže škodliviny do nerozpustné formy.

Tab. 12 Chemické složení vodných výluhů ze vzorků stabilizátu ve srovnání s požadavky TN 09.14.02

Ukazatel	Jednotka	limitní hodnota	Stabilizát S6	Stabilizát S4	Stabilizát S3	Stabilizát S2
Arsen	mg/l	0,1	< 0,010	< 0,010	< 0,010	< 0,010
Baryum	mg/l	1,0	0,039	0,065	0,065	0,087
Berylium	mg/l	0,005	< 0,0050	< 0,0050	< 0,0050	< 0,0050
Chrom	mg/l	0,1	< 0,005	< 0,005	< 0,005	< 0,005
Kadmium	mg/l	0,005	< 0,003	< 0,003	< 0,003	< 0,003
Kobalt	mg/l	0,1	< 0,010	< 0,010	< 0,010	< 0,010
Měď	mg/l	1,0	< 0,010	< 0,010	< 0,010	< 0,010
Nikl	mg/l	0,1	< 0,006	< 0,006	< 0,006	< 0,006
Olovo	mg/l	0,1	< 0,010	< 0,010	< 0,010	< 0,010
Rtuť	mg/l	0,005	< 0,0003	< 0,0003	< 0,0003	< 0,0003
Selen	mg/l	0,05	< 0,010	< 0,010	< 0,010	< 0,010
Stříbro	mg/l	0,1	< 0,005	< 0,005	< 0,005	< 0,005
Vanad	mg/l	0,2	0,017	0,019	0,025	0,037
Zinek	mg/l	3,0	0,010	< 0,010	< 0,010	< 0,010

Tab. 13 Ověření možnosti fixace škodlivin obsažených v OV z koridorů ve stabilizátu

Ukazatel	Jednotka	OV z koridorů	Stabilizát S6	Stabilizát S4	Stabilizát S3	Stabilizát S2
pH	mg/l	12,32	11,91	12,02	11,99	11,93
Vodivost	mS/m	-	140	175	157	156
RL	mg/l	2620	460	630	550	588
RAS	mg/l	1900	296	396	462	394
Chloridy	mg/l	66,5	< 2,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0
Sírany	mg/l	987	112	148	146	190
Fluoridy	mg/l	2,3	0,21	0,20	0,24	0,69
Antimon	mg/l	< 0,020	< 0,020	< 0,020	< 0,020	< 0,020
Bór	mg/l	0,298	< 0,050	< 0,050	< 0,050	< 0,050
Hliník	mg/l	0,286	1,69	0,619	0,846	0,373
Molybden	mg/l	0,841	< 0,020	0,033	0,036	0,060

Z výsledků prezentovaných v tabulce č. 12 vyplývá, že při využití odpadní vody z koridorů jako záměšové vody do stabilizátu nedojde k překročení limitních hodnot obsahu škodlivin ve vodném výluhu a to u žádné ze čtyř zkoušených rezeptur.

Vyluhovacími zkouškami dokladovanými výsledky v tabulce č. 13 bylo prokázáno, že ve stabilizátu se fixují i další škodliviny obsažené v odpadní vodě, výrazně se snižují obsahy rozpuštěných látek, bóru a molybdenu. Zvýšený obsah hliníku ve výluhu nesouvisí s kvalitou odpadní vody, ale je dán vysokým obsahem tohoto prvku v popílku a jeho zlepšenou vyluhovatelností v alkalickém prostředí.

Zhodnocení výsledků technologických zkoušek

Laboratorní a technologické zkoušky provedené v rámci praktické části diplomové práce byly věcně zaměřeny na ověření vhodných způsobů zpracování vedlejších energetických produktů z elektrárny Ledvice při výrobě popílkových stabilizátů. Výsledky zkoušek prokázaly výhodnost ověřovaného inovačního námětu, který spočívá v náhradě práškového vápna ložovým popelem. Tato druhotná surovina je produkována ve vlastní elektrárně, navíc dlouhodobě vykazuje vysoký obsah volného CaO, k danému účelu je proto velmi vhodná.

Z dosažených výsledků je zřejmé, že v případě použití ložového popela jako korekční vápenné složky je dosahováno u vyzrálých stabilizátů podstatně vyšších pevností než při použití práškového vápna ve stejném podílu volného CaO ve směsi. Tato výhoda ložového popela je zcela určitě dána doprovodným obsahem bezvodého síranu vápenatého jako produktu odsířovacího procesu, který příznivě působí jako další pojivová složka.

Další pracovní program praktické části diplomové práce bude s vhodným využitím dosavadních poznatků zaměřen na ověření nových receptur pro výrobu popílkových stabilizátů, které mohou rozšířit možnosti výhodného zpracování vedlejších energetických produktů z elektrárny Ledvice. Předběžným pracovním cílem je vývoj popílkových stabilizátů s pevností min. 5 MPa, nové receptury budou ověřovány na principu zpracování energosádrovce v kombinaci s klasickým a fluidním popílkem.

Výstavba nového zdroje 660MW

Výstavba nového výrobního bloku a dalších hlavních zařízení nového zdroje (dále jen NZ) je situována do severního prostoru areálu elektrárny. V podélné ose NZ probíhající cca ve směru východ - západ jsou dále umístěny objekty nové kotelny, zákotlí, odsíření a nové uhelné skládky. Pro kompaktnost řešení je chladicí věž s přirozeným tahem umístěna v blízkosti strojovny NZ.

Realizací nového bloku v Elektrárně Ledvice vstoupí ČEZ, a. s., do skupiny provozovatelů nejmodernějších bloků s nejvyšší účinností a s velmi nízkými emisemi škodlivin. V současné době existuje v této kategorii bloků pouze řešení s kotli věžového typu s nadkritickými parametry páry (parametry přehřáté páry 27,3 MPa při 600 °C, páry přehřáté 4,9 MPa při 610 °C).

Turbína bude kondenzační s možností vyvedení tepla v horké vodě i páře. Odsířovací zařízení bude pracovat na principu standardní mokré vápencové vypírky.

Dodávka vnitřního hospodářství VEP zahrnuje:

výstavbu stavebních objektů a provozních souborů, dopravníky, technologie zpracování odpadů v Míchacím centru (MC) na koncentrovanou suspenzi, tj. skladování a dopravu popílku, skladování a dopravu strusky po třídící síta

strusky pod síly strusky, dopravu nepromytého sádrovce do míchacího centra, skladování a dopravu „záměšové“ vody do míchacího centra, vykládku a skladování mletého vápna, přípravu koncentrované suspenze v míchacím centru, dopravu koncentrované suspenze k dalšímu zpracování .

NZELE 660 MW bude při maximálním výkonu produkovat strusku o množství 26,7 t sušiny za hodinu, popílek v objemu 151 t.h⁻¹ a energosádrovec z provozu odsílení kouřových plynů v objemu 34 t.hod⁻¹. Současně budou novou technologií odstraňovány odpadní vody v objemu 41 300 m³ za rok. Struska vyprodukovaná z NZ bude za drtičem hrubé frakce a vibračním odvodňovacím sítím odebírána prvním pasovým dopravníkem trasy a odváděna systémem trubkových pasových dopravníků do sil strusky. Ta budou mít vnitřní objem skladovací komory 2 × 1 000 m³, budou je tvořit železobetonové (dále jen ŽB) tubusy s vnitřním průměrem 8,6 m a tloušťkou stěn 0,5 m. Vnitřní prostor podstavy je rozdělen na jednotlivá podlaží železobetonovými stropy. V těchto prostorách bude umístěna technologie odvodnění strusky pomocí vibračních sítí včetně nádrží odsazené vody a čerpadel a elektrorozvodna. Odvodněnou strusku bude možné dopravovat pomocí aut a drážních vagonů případně i na jiná místa mimo navazující technologie zpracování litého granulátu.

Na prostor pro odvodňování a drcení strusky navazuje zařízení domíchávače GEHO II. Je součástí technologie výroby litého aditivovaného granulátu, jako produktu, který bude ukládán do prostoru vnitřní výsyvky Dolu Bílina (v souladu se stavebně-technickým osvědčením č. 010-020480, které vydal Technický a zkušební ústav stavební, s. p., 7. listopadu 2006). Do domíchávače bude rovněž směřována koncentrovaná suspenze z míchacího centra. Tvoří ji popílek, energosádrovec a vápno včetně podílu odpadních vod, které jsou beze zbytku zpracovány v nové technologii míchačů a mixérů. Suspenze bude zahrnovat, jako aditivum, podíl přidaného vápna (v objemu 4 t sušiny.hod⁻¹).

Maximální výkon tohoto zařízení bude činit 368 t.h⁻¹ koncentrované suspenze (při 32% obsahu vody). Technologie MC (dodávka firmy ECO-BUILDING BRNO s.r.o.) bude umístěna v prostoru dvou ŽB sil popílku o objemu 2 × 6 000 m³. V silech je

akumulována produkce popílku z elektrofiltrů, které jsou pneumaticky dopravovány z popílkových mezisil. Technologie MC umožňuje řízené vyprazdňování sil, míchání popílku s vápnem, energosádrovcovou suspenzí a záměsovou vodou na přípravu litého granulátu. Sila jsou vysoká 50,7 m, z čehož betonová konstrukce měří 42,5 m, ocelová zastřešující konstrukce pak 8,2 m. Vnitřní průměr sila je po celé jeho výšce konstantní, a to 20 m. Technologie sil umožní distribuci popílku pomocí vagonů či nákladní automobilové dopravy na jiná místa spotřeby. Součástí výroby koncentrované suspenze je technologie dopravy a dávkování „nepromytého“ energosádrovce. Dávkování energosádrovce (dále jen EGS) do rychloběžných mixérů bude prováděno formou tekuté čerpatelné sádrovcové suspenze se zaústěním přímo do každého rychloběžného mixéru. Sádrovcová suspenze je připravována v rozplavovacích nádobách, instalovaných v síle č. 2. Pro každou dvojici mixérů slouží jedna rozplavovací nádoba. Doprava nepromytého EGS ze skladu do míchacího centra bude provedena dvěma cestami, a to ve formě odvodněného EGS, přepravitelného pásovými dopravníky, a ve formě čerpatelné sádrovcové suspenze. Z rozplavovacích nádrží je sádrovcová suspenze čerpána do míchacího zařízení. Součástí technologie míchacího centra je přidání aditiva v podobě vápna, které je zabezpečováno vápenným hospodářstvím. To zajistí vykládku vápna z železničních vagonů do dvou zásobních sil o objemu $2 \times 400 \text{ m}^3$, dopravu vápna ze zásobních sil do provozního zásobníku o objemu 100 m^3 v míchacím centru a dávkování vápna do mixérů. Technologie sil popílku a vápna je doplněna vzduchotechnikou a odsáváním včetně filtrace pro splnění příslušných ekologických norem. Odpadní vody z provozu budou akumulovány v nádržích a pomocí čerpadel, umístěných v jímce, dopravovány do technologických zařízení míšícího centra a domíchávače pro výrobu litého granulátu, dále budou používány k proplachu technologie čerpadel a potrubních systémů.

Akumulační nádrže záměsové vody tvoří dvě nadzemní nádrže, obě o objemu $1\,000 \text{ m}^3$. Nádrže budou sloužit pro akumulaci odpadních a procesních vod z provozů NZ. Obě zařízení budou vybavena horizontálním pomaloběžným míchadlem. Akumulační nádrž poplachové vody je nadzemní nádrž o objemu 400 m^3 , která bude sloužit k akumulaci vody a separaci hrubších pevných částic z proplachu dopravního potrubí litého granulátu a odpadních vod z mourové skládky. Nádrž zajistí bezpečné zachycení poplachové vody z celého proplachovaného systému a usazení pevných částic z celého objemu vody. Pevné částice budou po odvodnění nádrže vyneseny šnekem do kontejneru a zlikvidovány v souladu s provozním předpisem. Odvodnění je zavedeno do směšovací jímky vod z akumulačních nádrží.

Stavba začala založením objektů sil v září 2009. Sila strusky a popílku budou stavebně dokončena v závěru 1. pololetí 2011, montáž technologie bude probíhat do února 2012. Stavba bude připravena k přijetí spalín a k zahájení provozu kotle nového zdroje 660 MW do 10. dubna 2012.



Obr. 2 snímek ELE po výstavbě NZ 660 MW

ZÁVĚR

Elektrárna Ledvice používá k ukládání technologicky upravených VEP v MC II (osazené dvoustupňovou technologií homogenizace – know-how firmy ECO-BUILDING BRNO) unikátní světovou technologií trubní dopravy holandské firmy GEHO Pums (nyní WEIR Limited), kdy čerpatelný stabilizát z elektrárny se využívá pro rekultivaci krajiny. Tato dálková tlaková doprava VEP byla uvedena spolu s MC II do provozu 1998. Je to soustava čerpací techniky, dvou podávacích čerpadel a dvou hlavních vysokotlakých pístomembránových, výtlačného potrubí. Dopravní vzdálenost z elektrárny na úložiště je zhruba 4500 m. Od roku 1998 do konce roku 2006 bylo touto technologií samonivelizace uloženo 3 500 000 m³ stabilizátu, který je certifikován jako stabilizát-pasta pro krajínovtvorbu.

Dosavadním provozem bylo prokázáno, že čerpatelný stabilizát z fluidních popelů lze vyrábět v dlouhodobě konstantních provozních podmínkách, konzistence suspenzí se v průběhu provozu nemění, základní funkční principy provozované strojní sestavy jsou správné, a že následná trubní doprava čerpatelného stabilizátu na složiště k uložení pomocí vysokotlakých čerpadel GEHO PUMPS je technologie provozně spolehlivá se světovou novostí a může být dlouhodobě provozována s relativně nízkými provozními náklady. Dosavadní dobré technické i ekonomické výsledky vedly k rozhodnutí vedení ELE provozovat v budoucnu tento způsob likvidace fluidních popelů jako základní a jedinou variantu.

LITERATURA

ABZ, 2007. *Hydratace*, Databáze online [cit. 2010-09-07]. Dostupné na: <http://slovník-cizích-slov.abz.cz/web.php/slovo/hydratace>

BÍLÝ M., ŠTĚPÁNEK R., listopad 2009: Míchací centra a stabilizáty, s.4-11. In: BÍLÝ M., ŠTĚPÁNEK R., (ed.), *Progresivní využití popílků ve stavebnictví-technická publikace*. ECO-BUILDING s. r. o., Brno, 71s

BÍLÝ M., ŠTĚPÁNEK R., listopad 2009: Tepelná úprava popílků, s.12-56. In: BÍLÝ M., ŠTĚPÁNEK R., (ed.), *Progresivní využití popílků ve stavebnictví-technická publikace*. ECO-BUILDING s.r.o., Brno, 71s.

ČEZ, a.s., 2010: *Elektrárna Ledvice*. Databáze online [cit. 2010-02-10]. Dostupné na: <http://www.cez.cz/cs/vyroba-elektřiny/uhelne-elektřarny/cr/ledvice.html>

ČEZ, a.s., 2010: *Struska*. Databáze online [cit. 2010-07-07]. Dostupné na: <http://www.cezep.cz/zakaznický-modul/prispevek/55871.html>

ČEZ, a.s., 2010: *Struska*. Databáze online [cit. 2010-07-07]. Dostupné na: <http://www.cez.cz/cs/pro-zakazniky/ostatni-sluzby/vedlejsi-energetické-produkty-pro-stavebniky/struska.html#p9>

ČEZ, a.s., 2010: *ČEZ Energetické produkty s.r.o. - Elektrárna Ledvice*. Databáze online [cit. 2010-07-07]. Dostupné na: <http://www.betonsrver.cz/cez-ledvice>

ČEZ, a.s., 2010: *Energosádovec*. Databáze online [cit. 2010-07-07]. Dostupné na: <http://www.cezep.cz/zakaznický-modul/prispevek/55869.html>

NĚMEČEK R., 2009: Technologie likvidace VEP nového bloku elektrárny Ledvice. *Allforpower*, 3 (3): 41-42.

EFFECT OF COMBUSTION OF ALTERNATIVE FUELS ON DIESEL ENGINE EXHAUST EMISSIONS

Polcar A., Čupera J.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: adam.polcar@mendelu.cz

ABSTRACT

The article describes the influence of combustion of the alternative fuels on the composition of exhaust emissions, also on the production of carbon dioxide CO₂, carbon monoxide CO and unburned hydrocarbons HC. Tests were conducted on diesel engine Zetor, model: Zetor 1005. The engine was operating on rapeseed oil and its blends with diesel oil (50:50), methyl ester of rapeseed oil and biodiesel. All tests were carried out in laboratories of the Department of Engineering and Automobile Transport at the Mendel University in Brno. Results of measurements showed changes of exhaust gases composition. We came to the conclusion that the operation of the engine for biofuels significantly decreases emissions of organic pollutants - carbon monoxide and unburned hydrocarbons.

Key words: engine, combustion, exhaust emissions

Acknowledgments: This project was supported by IGA 2010 – TP03.

ÚVOD

V současné době většina spalovacích motorů používá ke svému provozu uhlovodíková paliva na bázi ropy – naftu a benzín. Ropa ale představuje neobnovitelný zdroj energie, který má omezené zásoby. Odhaduje se, že světová těžba ropy by měla vrcholit již kolem roku 2020. Vlivem rozvoje automobilismu, s přibývajícím poptávkou a klesající, nebo alespoň nezvyšující se dodávkou, lze očekávat strmý a nekontrolovatelný nárůst cen tohoto druhu paliva. Mezi další problémy vyskytující se spalováním těchto ropných derivátů je to, že představují jeden z hlavních zdrojů znečišťování ovzduší škodlivinami a skleníkovými plyny. Tyto důvody nutí lidstvo hledat alternativní paliva, která se budou svými vlastnostmi blížit palivům na bázi ropy a budou šetrnější k životnímu prostředí. Jedním z potencionálně perspektivních motorových paliv jsou tzv. rostlinné oleje. Rostlinné oleje jsou získávány z olejnatých rostlin a disponují příznivými vlastnostmi, blíží se vlastnostem motorové nafty – mají vysokou výhřevnost, jsou kapalné, nesnadno zápalné atd. V České Republice jsou nejvíce rozšířeny rostlinné oleje získávány z řepky olejné tzv. řepkové oleje. Mimo zkoumání jejich fyzikálně-chemických vlastností se pozornost výrobců motorů zaměřuje zejména na jejich přímou aplikaci ve vznětových motorech – na úpravu motoru pro spalování těchto biopaliv, změnu výkonnostních a ekonomických parametrů a rozbor jednotlivých složek emisí.

Článek se zabývá vlivem spalování rostlinného oleje resp. řepkového oleje, jeho směsi s motorovou naftou, metylesteru řepkového oleje a bionafty ve spalovacích motorech na složení výfukových emisí.

MATERIÁL A METODIKA

Pro měření byl použit vznětový motor Zetor, model: Zetor 1005, osazený v traktoru Zetor FORTERRA 9641. Jak je již v úvodu zmíněno, byl motor při zkouškách provozován na:

- *motorovou naftu (pro získání výchozích hodnot)*
- *řepkový olej*
- *směs řepkového oleje a motorové nafty (50:50)*
- *metylester řepkového oleje*
- *bionaftu (31 % metylesteru řepkového oleje, 69 % motorové nafty)*

Měření probíhalo v laboratořích Ústavu techniky a automobilové dopravy na Mendelově univerzitě v Brně podle metodiky OECD, při dodržení dovolených mezních úchylek předepsaných normou ČSN ISO 789-1. Pro zjištění obsahu jednotlivých sledovaných složek výfukových plynů: CO₂, CO, HC, při spalování daného typu paliva, bylo nutné změřit jmenovité a částečné charakteristiky, při

MENDELNET 2010

kerých docházelo k záznamu obsahu sledovaných složek emisí. Na základě naměřených charakteristik byly sestaveny úplné charakteristiky motoru, které posloužili jako podklad pro sestavování emisních map příslušné emisní složky v celém pracovním rozsahu motoru.

Měření probíhalo:

1) dynamicky – pro získání maximálního výkonu, točivého momentu a jmenovitých otáček. Tyto hodnoty posloužily následně jako podklad pro nastavení statického měření jmenovité charakteristiky.

2) staticky- při statickém měření probíhalo vlastní měření jmenovitých a částečných charakteristik. Pro sestavení jmenovitých charakteristik bylo zvoleno 13 a více bodů hodnot točivého momentu při daných otáčkách, na které byl následně motor zatížen dynamometrem. Po zatížení motoru na dané otáčky a ustálení měřených hodnot došlo k jejich uložení současně s hodnotami sledovaných emisí. Celé měření probíhalo zcela automaticky.

Pro sestavení grafu úplné charakteristiky motoru při provozu na daný typ paliva bylo provedeno měření jedné jmenovité a jedenácti částečných charakteristik motoru při snížených dodávkách paliva. Do úplné charakteristiky motoru byly následně vyneseny hyperboly stálých výkonů, křivky měrných spotřeb a křivky jednotlivých složek emisí.

Po změření všech hodnot a následně změně typu použitého paliva, se celý postup zopakoval. Díky horším vlastnostem některých paliv bylo nutné před začátkem měření provést zásah do palivové soustavy motoru.

Technické parametry traktoru Zetor Forterra 9641

Výrobce traktoru: Zetor, a.s., model: FORTERRA 9641, číslo motoru: 1005 – 000015 048 -127, Číslo traktoru: L0964201029K, rok výroby: 2008, počet odpracovaných motohodin: 20. Motor: model: Zetor 1005, řadový čtyřválcový kapalinou chlazený vznětový s dvou-palivovou soustavou s řadovým vstříkovačím čerpadlem, přeplňovaný turbokompresorem bez regulace plnicího tlaku. Zdvihový objem: 4156 cm³. Jmenovitý výkon: 66 kW, Maximální točivý moment: 391 N.m. Převodovka: Mechanická s třístupňovým násobičem, reverzační, synchronizovaná. Počet převodových stupňů 24 vpřed / 18 vzad. Pohon pojezdu 4K4. Pneumatiky: přední náprava: Michelin MITAS RD-01 Radial Drive 320/85 R 24, zadní náprava: MITAS RD-01 Radial Drive 420/85 R 38.



Obr. 1 Traktor Zetor FORTERRA 9641

Popis měřicího zařízení:

Pro změření již zmíněných charakteristik byl použit **vířivý dynamometr V 500**, který byl k traktoru připojen přes zadní vývodový hřídel. Technické údaje dynamometru: výrobce: VÚES Brno, typ dynamometru: V 500, otáčky [min^{-1}]: 150/1500/3000, výkon [kW]: 4/500/500, točivý moment [N.m]: 254/3184/1592.

Pro stanovení množství emisí CO_2 , CO a HC ve výfukových plynech byl použit **4složkový infraanalýzátor Infracal CL**. Zpracování výstupních údajů analyzátoru bylo realizováno vlastními nástroji. Data byla zpracovávána na externím PC v prostředí LabVIEW a distribuována po síti Ethernetu do měřicího počítače zkušebny. Technické parametry přístroje: měřicí rozsah (vol): CO: 0-10 % (rozlišení 0,001 %), CO_2 : 0-20 % (rozlišení 0,01 %), HC: 0-2500 ppm (rozlišení 1 ppm), lambda: 0-9,999 (Brettschneider bez respektování NO_x), přesnost přístroje: splňuje třídu přesnosti dle OIML Class 1 a 0.



Obr. 2 Připojení traktoru k vířivému dynamometru V 500

Mezi další sledované hodnoty při měření patřila např. kouřivost (měřena Opacimetrem Bosch RTM 430), spotřeba paliva (měřena hmotnostním průtokoměrem Coriolis Sitrans FC MassFlo Mass 6000), hmotnostní průtok vzduchu (pomocí termického anemometru), teplota paliva, mazacího oleje motoru, nasávaného vzduchu před čističem, výfukových plynů a teplota a tlak vzduchu za turbodmychadlem (teploty byly měřeny termočlánky NiCr-Ni, tlak tenzometrickým snímačem tlaku). V neposlední řadě probíhalo i snímání barometrických podmínek v laboratoři pro výpočet korekčních koeficientů.

Měřené hodnoty ze všech uvedených snímačů byly snímány s frekvencí 18 Hz a průběžně ukládány do paměti měřicího počítače zkušebny.

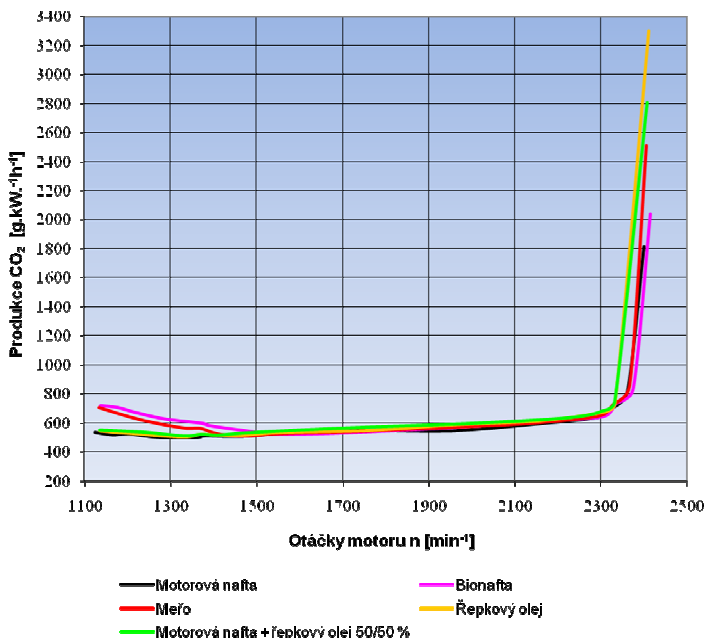


Obr. 3 Maska programu pro snímání měřených hodnot

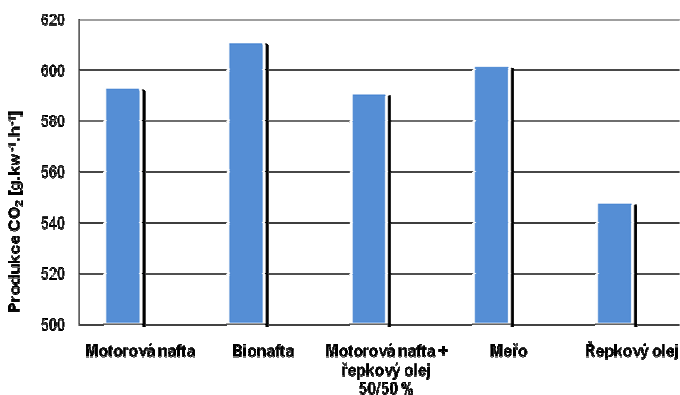
VÝSLEDKY A DISKUZE

Na základě měření byly sestaveny závislosti obsahu jednotlivých složek emisí oxidu uhličitého CO₂, oxidu uhelnatého CO a emisí nespálených uhlovodíků HC, na otáčkách při jmenovité dodávce paliva (Obr. 4, Obr. 6, Obr. 8) a také úplné charakteristiky jednotlivých emisí. Z důvodu omezeného rozsahu článku zde úplné charakteristiky emisí uvedeny nebudou.

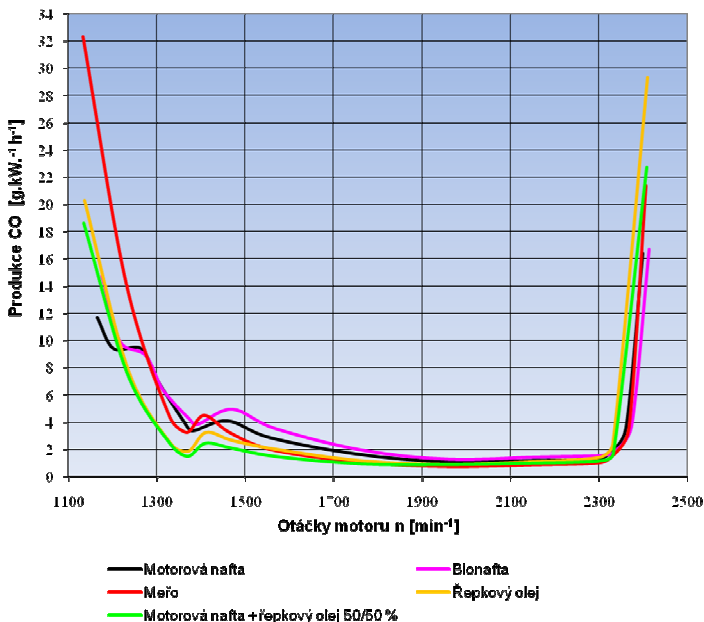
Pro detailnější zjištění produkce sledovaných složek emisí při maximálním výkonu jsme vytvořili sloupcové grafy Obr. 5, Obr. 7 a Obr. 8. Největšího výkonu bylo na základě měření dosaženo u motorové nafty při otáčkách 2148 min⁻¹, u bionafty při 2156 min⁻¹, u směsi motorové nafty s řepkovým olejem 50:50 při 1960 min⁻¹, u metylesteru řepkového oleje při 2152 min⁻¹ a u čistého řepkového oleje již při otáčkách 1764 min⁻¹.



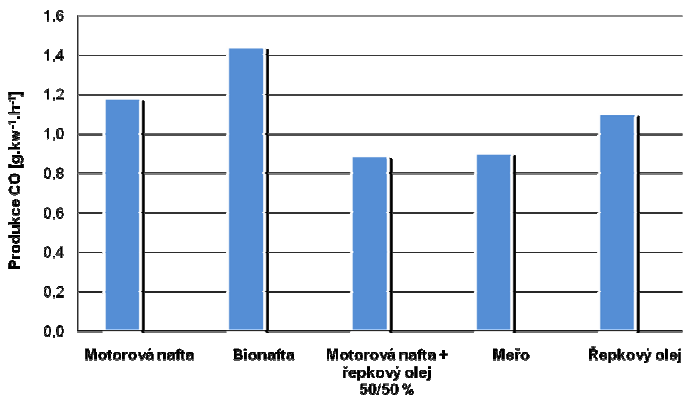
Obr. 4 Závislost produkce oxidu uhličitého na otáčkách motoru (naměřeno při jmenovité otáčkové charakteristice)



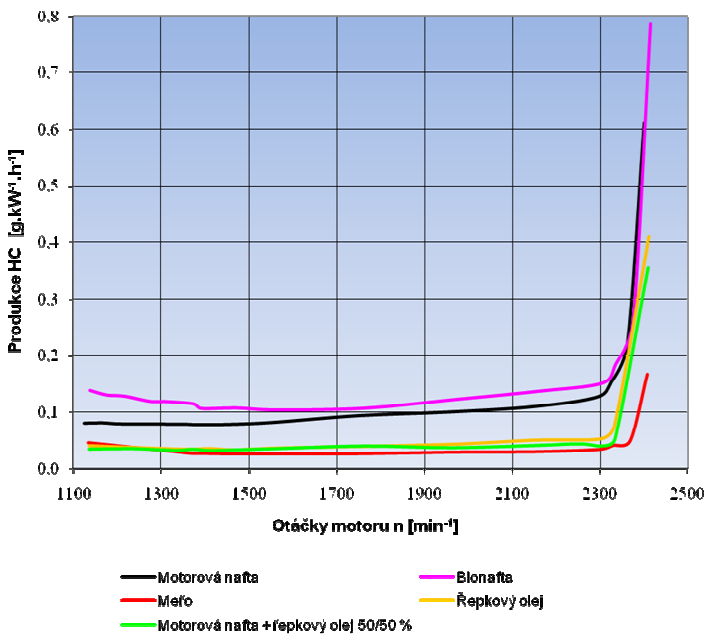
Obr.5 Porovnání produkce CO₂ uvedených paliv při maximálním výkonu



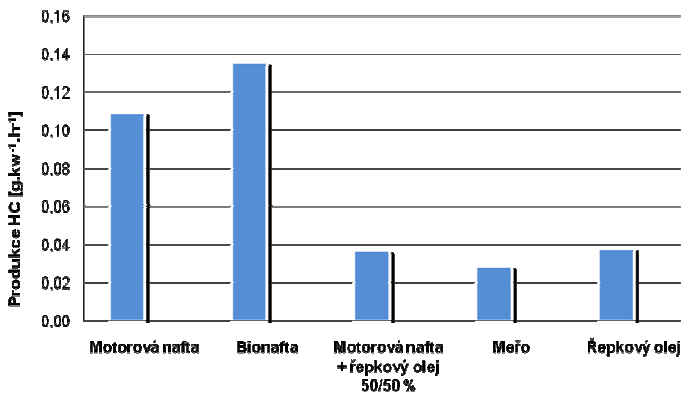
Obr. 6 Závislost produkce oxidu uhelnatého na otáčkách motoru (naměřeno při jmenovité otáčkové charakteristice)



Obr. 7 Porovnání produkce CO uvedených paliv při maximálním výkonu



Obr. 8 Závislost produkce nespálených uhlovodíků na otáčkách motoru (naměřeno při jmenovité otáčkové charakteristice)



Obr. 9 Porovnání produkce HC uvedených paliv při maximálním výkonu

Grafické závislosti zobrazují průběh obsahu jednotlivých složek emisí v závislosti na otáčkách motoru při jmenovité dodávce paliva. Hodnoty emisí výfukových plynů jsou charakteristickým ukazatelem kvality spalování, která je zejména dána jejich fyzikálně-chemickými vlastnostmi paliva.

Při měření řepkového oleje a jeho směsi s naftou v poměru 50/50 bylo zapotřebí, v důsledku jeho vysoké kinematické viskozity, která je přibližně 12krát větší než u motorové nafty, ho před vstupem do palivové soustavy ohřívat (teplota těchto paliv se následně pohybovala mezi 55 až 73 °C). Viskozita olejů úzce souvisí s kvalitou jejich spalování a tedy i s emisemi výfukových plynů. Při správném průběhu spalování je zapotřebí palivo ve spalovacím prostoru dokonale rozpráší – atomizovat. Pečlivá atomizace paliva má pak za následek jeho snadnou a rychlou oxidaci. Pokud bychom používali vysoce viskózní paliva a snižovali jejich viskozitu nuceným ohříváním, museli bychom pro zabezpečení dokonalého průběhu jejich spalování použít daleko vyšších vstříkovačích tlaků než při vstříkávání nafty.

Příčiny vzniku emisí nespálených uhlovodíků jsou srovnatelné jako u emisí CO - jsou produktem nedokonalé oxidace. Vznikají vždy při obohacování směsi, tzn. v případech, kdy se vstříkuje více než základní množství paliva, nebo v místech, do kterých se plamen nemůže dostat, jako např. ve šterbině mezi pístem a prvním pístním kroužkem. Nespálené uhlovodíky vznikají i tehdy, když v důsledku nižší teploty v blízkosti stěn spalovacího prostoru dojde k vyhasínání plamene. Emise HC a CO jsou složky paliva a jejich zvýšené množství ve výfukových plynech poukazuje na energetickou ztrátu, na menší využití energie obsažené v přivedeném palivu a následně i menší přeměnu na mechanickou práci. Z grafických závislostí sledovaných emisí CO a HC (Obr. 6 a Obr. 8) je patrné, že při použití alternativních paliv došlo ke snížení jejich produkce v celém rozsahu otáček. Jen při nízkých otáčkách a plných zatíženích dochází k velkému nárůstu emisí CO. Tento nárůst může být způsoben zhoršeným spalováním v důsledku delšího průtahu vznícení (vlivem horší odpařitelnosti zkoušeného paliva). Při porovnání produkce oxidu uhličitého a zejména pak nespálených uhlovodíků při maximálním výkonu je produkce těchto škodlivin menší než při spalování motorové nafty a bionafty. Je to z důvodu lepší oxidace paliv. Lepší oxidace nastává z důsledku vyššího obsahu kyslíku v palivu, což se projeví rychlejší tvorbou směsi a tedy i dokonalějším spalováním. Někdy bývají tyto paliva, z důvodu vyššího obsahu kyslíku, označována též jako paliva kyslíkatá. Nejnižších hodnot emisí CO dosahoval motor v oblastech vysokých výkonů, naopak emisí HC v oblastech maximálních točivých momentů.

Oxid uhličitý je bezbarvý, velice stabilní, málo reaktivní plyn. Je produktem dokonalé oxidace - dokonalého spalování. Tento plyn je jeden z hlavních plynů, které vytvářejí radiální clony omezující sdílení tepla ze zeměkoule sáláním, neboli vyvolává skleníkový efekt a účastní se tak na oteplování klimatu Země. Při spalování rostlinných olejů dochází k lepší oxidaci než u motorové nafty a bionafty a tedy k nepatrnému zvýšení emisí CO₂, které jsou „cílem“ spalování (viz Obr.4).

Výsledky měření odpovídají výsledkům podobných měření publikovaných ke stejné problematice.

ZÁVĚR

Cílem článku je analyzovat složení výfukových emisí při spalování alternativních paliv - řepkového oleje a jeho metylesterů. Při rozboru výsledků docházíme k závěrům, že použití těchto alternativních paliv přináší výrazné snížení emisí základních i minoritních zdravotně rizikových organických škodlivin - oxidu uhelnatého a nespálených uhlovodíků. Ovšem ale před stanovením obecných závěrů, jestli dané palivo je k životnímu prostředí šetrnější, si musíme uvědomit, že jde o posuzování zatížení životního prostředí pouze při spalování těchto paliv. Abychom komplexně posoudili vliv daného alternativního paliva na životní prostředí, museli bychom do analýzy zahrnout jeho celý „životní cyklus“ tzv. LCA- Life Cycle Assessment, tj. produkci zdrojů, výrobu paliva, jeho distribuci ke spotřebiteli až po fázi jeho spotřeby ve vozidle. Jak vyplývá ze závěrů různých analýzy, tak používání těchto paliv je z hlediska snížení GHG emisí efektivní ve fázi koncové spotřeby pouze za předpokladu, že se podaří zachytit a uskladnit CO₂ vznikající již v procesu jejich výroby, tedy za cenu jejich větší energetické náročnosti výroby. Výhoda zavádění biopaliv spočívá zejména v omezování závislosti na ropných produktech, využití domácích zdrojů, průmyslové výroby a udržování krajiny. Dalšími přednostmi biopaliv je jejich netoxicitata a biologická odbouratelnost.

Nahrazení klasických konvenčních motorových paliv z fosilních zdrojů za alternativní paliva z obnovitelných zdrojů naráží v současné době na dva hlavní problémy. V první řadě jde zejména o velké náklady na výrobu biopaliv a dále pak na náklady spojené s případnou úpravou spalovacího motoru (aplikace vyhřívaných nádrží apod.) a zvýšené provozní náklady. Při provozu motoru na biopaliva je nutné používání speciálního motorového oleje a zkrácení jeho intervalu výměny, díky jeho znehodnocování např. oligomerizací rostlinných olejů. Vedle nízké oxidační stability stojí i náchylnost biopaliv k tvorbě usad, jak ve spalovacím prostoru, tak i v palivových nádržích.

LITERATURA

BAUER F. a kol.: Výsledky měření spalovacího motoru při provozu na alternativní paliva. Zkušební zpráva, Brno: MZLU, 2008, 68 s.

DUMITRU B.: *Rapeseed oil and methyl ester of rapeseed oil as alternative fuels for diesel engines*. Collection from XLII. International Scientific Conference of Czech and Slovak University Departments and Institutions Dealing with the Research and Combustion Engines in Liberec: TU Liberec, Department of Vehicles and Engines, 2010, 350 s.

MACEK J.: *Spalovací motory I*. ČVUT, Praha, 2007, 260 s.

POLCAR A.: *Katalytické systémy zážehových motorů- monitorování účinnosti v definovaných jízdních režimech*. Diplomová práce, MZLU Agronomická fakulta, Brno: 2009, 92s.

VLK F.: *Paliva a maziva motorových vozidel*. Brno: Vlk, 2006, 376 s.

VOJTÍŠEK M.: Vliv provozních podmínek na spalování rostlinných olejů ve stávajících vznětových motorech a na výfukové emise. Doktorská disertační práce, Liberec: Technická univerzita v Liberci, 2009, 138 s.

USING OF PAPER SLUDGE, CREATED IN THE PAPER RECYCLATION PROCESS

Sklenář M., Kotovicová J.

Department of Applied and Landscape Ecology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: milan.sklenar@post.cz, kotovicj@mendelu.cz

ABSTRACT

My objective was to make a proposal of handling the waste paper material, which is an important part of paper and pulp industry. It is mostly important in companies, where the waste paper is entering the process of creating paper packaging material, like corrugated and solid cardboard, where the proportional share of the waste mass is at the present time unsubstitutable. During the recycling of the waste mass, for the future use in paper production is paper sludge generated, this “sludge“ is generic term for the residue that results from pulp and papermaking. To better understand its properties, it is necessary to review how it is formed. Generally, it is the solid residue recovered from the wastewater stream of the pulping and papermaking process, but the composition of this paper sludge can be different in the relation to the source of the waste material. On the average 35% of the content mass entering the paper production ends like waste, which includes the wastewater sludge, woodyard waste, mill trash, such as shipping material demolition debris and causticizing wastes. Additionally, the increase of the recycling in the last decades and the paper mass production, has also increased the amount of material that needs to be disposed of. Currently the residue is commonly sent to landfills. Recently concern has risen over the amount and quality of future landfill space. Landfills are becoming difficult to site and costly to construct and operate because of more stringent regulations, diminishing land availability, and public opposition, which is manifested in the environmental impact assesment. The widely used solution is in the last years the burning, which shifts some of the residue back to the air discharge stream with its resulting costs and problems. Some alternatives are more environmentally friendly.

Key words: paper sludge, paper, pulp, recycling, landfill, burning

ÚVOD

Nakládání s odpadem je důležitou součástí výroby v papírenském průmyslu, je především důležité v podnicích, kde dochází ke zpracování odpadního papíru (např. Výroba hladkých a vlnitých lepenek), při recyklaci odpadního materiálu vzniká tzv. Papírenský kal, jehož složení se může lišit v závislosti na původu odpadního materiálu, dále se můžou lišit následné způsoby nakládání s daným odpadem. V průměru 35 % z objemu veškerého materiálu vstupujícího do výroby papíru končí jako odpad, který krom papírenského kalu obsahuje i dřevní odpad, poškozená vlákna čerstvě zpracované dřevní hmoty, balící a přepravní materiály a kaustifikační odpad, který vzniká při výrobě „kraftových“ vrstev lepenek přípravou alkalických hydroxidů působením hydroxidu vápenatého na roztoky uhličitánů alkalických kovů. Při recyklaci vzniká až čtyřnásobný objem papírenského kalu, než je objem dřevní celulózy, která je potřebná například pro výrobu lepenek. S rozšířením průmyslové výroby v posledních letech došlo i k nárůstu výroby a spotřeby papíru a kartonáže, s tím dochází i k zvyšování produkce papírenského kalu z následné recyklace odpadní hmoty. Toto reziduum se v našich podmínkách odstraňuje především skládkováním, což je v rozporu s moderními celoevropskými trendy o snižování množství skládek. Skládkování se bude v budoucnu jevit jako neekonomické a proto bude zapotřebí dát prostor i ostatním metodám, jako je například spalování, s využitím vzniklého tepla nebo kompostování.

Pro úspěšný průběh analýzy jsem využil laboratorních výsledků získaných od společnosti SMURFIT KAPPA Štúrovo, a.s., výrobce vlnitých lepenek a celulózy, z roku 2008.

MATERIÁL A METODIKA

Kal je suspenze s velkým množstvím vody, jejíž velká část je vázána na organické látky v suspenzi kalu. Vazby se mohou lišit, což následně ovlivní ekonomiku odvodňování. Obvyklé množství sušiny je 1-5%. Anaerobní stabilizace zajistí až 40 %.

Mokrý spalování (oxidace) kalu v nadkritické oblasti vody:

Nejvyšší možné využití energie kalu nabízí tzv. Mokrý oxidace kalu v nadkritické oblasti vody, kritická teplota vody je 374°C a kritický tlak je 22 mpa. Z hlediska účinnosti získání energie z kalu je na nejvyšším stupni právě mokrá oxidace v nadkritické oblasti vody, dále pak pyrolýza, anaerobní stabilizace a na závěr přímé spalování, které představuje nejméně energeticky efektivní prostředek pro získání energie z kalu.

Biologický materiál a ostatní organické látky jsou konvertovány s účinností 99,99%. Uhlík a vodík z organických látek je přeměněn na CO₂ a H₂O, dusík i amoniakální, síra s fosforem se konvertují na N₂, SO₄²⁻ a PO₄³⁻, organicky vázaný chlor na Cl⁻. Těžké kovy se oxidují na příslušné oxidy.

Pyrolýza:

Jedná se o technologický postup, kdy se kal za nepřítomnosti kyslíku vystavuje teplotě 800 - 1000°C. Dojde k chemické destrukci organických látek za pomoci tepla bez přítomnosti kyslíku. Produkty pyrolytického štěpení jsou plynné, jedná se o CO₂, CO, H₂, CH₄ a případně další uhlovodíky, dále pak kapalné, což je kondensát a vyšší uhlovodíky a tuhý zbytek. Pyrolyzní plyn a kapalná část se spalují, penou část je možno skládkovat.

Anaerobní stabilizace kalů:

Tento proces zajišťuje vyšší produkci bioplynu a současně minimalizuje produkci stabilizovaného kalu. Bioplyn je následně energeticky využitelný. Anaerobní stabilizace kalů zvyšuje poměr sušiny v celkovém objemu.

Využití mikrobiálního rozkladu:

Kompostování je přirozená biologická aktivita, kterou lze využít pro zpracování papírenského kalu. Efektivita procesů závisí na množství kyslíku obsaženém v kalu. Umělé okysličování, kdy je vzduch mechanicky vháněn do masy, urychluje procesy rozkladu. Pro kompostování se primárně využívá již odvodněného kalu. Nestabilní sušina by měla tvořit minimálně 40 až 60%, pH by mělo být mezi 5.5 až 9.5. Obsah těžkých kovů v kalu neovlivní rozklad, ale omezí následné využití kalu na neagronomické využití.

ZÁVĚR

Jako nejefektivnější proces zpracování papírenského kalu, co se energetické produkce týče, se jeví mokré spalování (oxidace) kalu v nadkritické oblasti vody. Jedná se sice o metodu náročnou na počáteční investice a zázemí, ale s rozvojem technologií a zvyšováním ceny za potenciální skládkování kalu, dojde v budoucnu k rozvoji této technologie.

Z možností, které nejsou tak náročné na počáteční investice a zázemí, se jeví jako dobrá volba mikrobiální rozklad kalu. Tato „low tech“ metoda jedinečná příležitost, jak snížit množství toxinů v kalu pro další využití například v zemědělství. Přes nevýhody typu dlouhé reakční doby, která je zapotřebí při kompostování a relativně rozsáhlé pracovní plochy, která je potřeba k vytvoření jednotlivých hromad, zůstává jako hlavní silná stránka minimální počáteční investice spolu s nízkými fixními náklady na další provoz kompostovacího zařízení.

LITERATURA

Svanström m.,modell m., tester j. (2003):

Direct energy recovery from primary and

Secondary sludges by supercritical water

Oxidation. Iwa international specialist

Conference.

Brem, g.m brouwers, j.j.h., 1991. Mathematical

Modeling of staged combustion in an afbc.

Fluidized bed combustion, vol. 1., strana 449-458

Lyngfelt, a., leckner, b., 1999. Combustion of wood-chips in circulating fluidized bed boilers-no and co emissions as functions of temperature and air-staging. Fuel 78, strana 1065-1072.

Šutý, I., 1982. Výroba a vlastnosti buničiny. 1. Vydání bratislava: alfa. Strana 489

MECHANICAL PROPERTIES OF RECYCLING MATERIALS FROM HETEROGENIC PVC WASTES

Špaček I.¹, Kotovicová J.²

¹Department of Quality and Environment, Fatra, j. c. Napajedla, T. Bati 1541, Czech Republic

²Department of Applied and Landscape Ecology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: ivospacek@seznam.cz, kotovicj@mendelu.cz

ABSTRACT

The report describes evaluation of mechanical properties recycling of materials from PVC heterogenic waste. These recycling materials are produced of on mechanical recycling line. It works on the principle of mechanical shredding (grinding) and separating of PVC heterogenic waste. Target of this process is the granulate of PVC with defined quality, purity and dimension. The report describes methods of testing the product and statistical evaluation measuring of mechanical properties and possibility of using recycling materials back to the some or similar products.

Key words: PVC, recycling of composite plastic waste, mechanical shredding, mechanical properties, statistical evaluation

ÚVOD

Recyklace plastů a jejich následné využití se řadí mezi environmentálně šetrné postupy, u kterých můžeme vysledovat přínosy z několika hledisek. Z hlediska ochrany životního prostředí se jedná o postupy umožňující snižovat množství odstraňovaných odpadů jak skládkováním, tak spalováním. Recyklace umožňuje šetřit primární zdroje surovin. Z hlediska ekonomického umožňuje využívat relativně levnou vstupní surovinu. Naproti tomu však vyžaduje volit správné aplikace do výrobků. Je to dáno méně příznivými vlastnostmi recyklátů v porovnání s původními surovinami.

Jednou z možností recyklace plastů jsou způsoby mechanické recyklace. Metody „mechanické recyklace“ mají za cíl z odpadu plastu získat recyklát schopný dalšího zpracování přímo na výrobních technologiích či v kombinaci s dalšími přísadami upravit požadované vlastnosti. Jako pomůcka v problematice recyklace plastů může posloužit příručka ^[1]. Problematikou mechanické recyklace se zabývá např. studie ^[2]. Mechanická recyklace se řadí mezi procesy regenerace materiálů, které se při splnění podmínek dané technologie řadí mezi nejefektivnější způsoby. V maximální míře umožňuje redukovat dopady na životní prostředí při vlastním provádění recyklace. Environmentální dopady je nutno posuzovat během celého procesu recyklace, to znamená v celém životním cyklu - od vzniku odpadu plastu až po odstraňování konečných reziduí. Běžnými technologiemi je drcení a regranulace. Limitujícími faktory bývá většinou čistota vstupních odpadů. Pokud zpracovatelská technologie nemá stupeň pro čištění plastových odpadů (vymývání či separace nečistot), není schopna zpracovávat odpady pocházející např. z oblasti komunální sféry. Limitujícím faktorem je rovněž heterogenita zpracovávaných odpadů způsobená kombinací různých typů plastů a rovněž heterogenita způsobená textilními výztužnými materiály. Právě tento druhý případ recyklace odpadů tvořených plastem (měkkým PVC) s výztužnou textilní tkaninou je předmětem příspěvku.

Ke specifikaci plastových recyklátů na bázi PVC slouží norma ČSN EN 15346 ^[3]. Tato norma specifikuje charakteristiky recyklátů, udává metody zkoušení a posouzení PVC recyklátů určených pro použití v polotovarech a konečných výrobcích. Norma stanovuje povinně zkoušené parametry, které musí být stanovovány u každé posuzované šarže recyklátu.

MATERIÁL A METODIKA

Příspěvek se zabývá vyhodnocením mechanických vlastností recyklátů vznikajících na recyklační lince instalované ve společnosti Fatra, a.s. Linka slouží primárně pro zpracování heterogenních odpadů PVC^[4]. Zpracovávají odpadů pocházejí z hydroizolačních folií, jejichž struktura je tvořena měkčeným PVC a výztužným materiálem PES. Na obr. 1 je znázorněn řez touto folií s patrnou textilní mřížkou PES. Některé typy hydroizolačních folií mohou být na jedné straně navíc opatřeny netkanou textilní podložkou.



obr. 1 – detail zabudované PES mřížky na řezu hydroizolační fólie

Recyklát z těchto odpadů je vyráběn procesem mechanické recyklace s odlučováním (separací) textilního podílu. Separací je minimalizován podíl textilních vláken v recyklátu. Příměs vláken je nežádoucí jak z hlediska možností další zpracovatelnosti, tak z hlediska fyzikálně mechanických vlastností recyklátu a z něho vyrobeného produktu.

Princip recyklace a strojní zařízení je popsáno v^[4]. Jedná se o linku, na které se výsledný granulát získává postupným drcením (rozrušováním) odpadu a pneumatickým odlučováním textilních PES vláken. Stupeň odloučení vláken je kompromisem mezi požadovanými mechanickými vlastnostmi recyklátu a stupněm odloučení vláken. Je zřejmé, že platí nepřímá úměra mezi stupněm čistoty granulátu a výkonovými parametry. S vyšším stupněm odlučování vláken klesá výkon zařízení a procento výtěžnosti. Při vyšším stupni odlučování vláken dochází ke ztrátám jemnějších podílů PVC, které se vlivem pneumatického odlučování dostávají do vznosu podobně jako vlákna a odcházejí společně s odlučovými vláknami.

Výsledným produktem je recyklát (drt) znázorněný na obr.2. Velikost částic je dána konfigurací a nastavením linky. Je volena tak, aby vyhovovala následným technologiím zpracovávajícím tento recyklát.

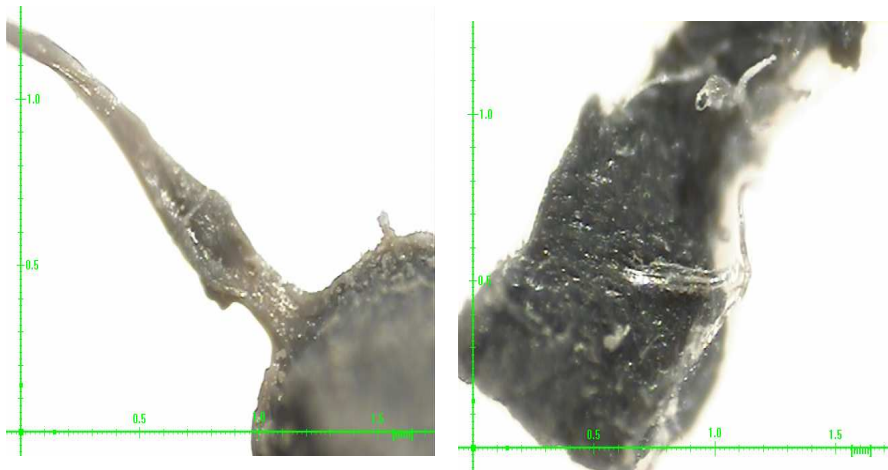


obr. 2 – výsledný produkt - recyklát (drť) PVC



obr. 3 – recyklát (drť) PVC – detail částic se zbytkovými vlákny

Obr. 3 představuje detail částic recyklátu. Jsou patrná volná zbytková vlákna mezi částicemi recyklátu i vlákna vycházející z částic drtě.



obr. 4 – mikrofotografie detailu okraje částice drtě se zbytkovými vlákny

Na povrchových partiích jednotlivých částic drtě – obr. 4 jsou patrná zbytková vlákna zakotvená do vlastní částice. Tato vlákna již není možno uvolnit bez dalšího rozrušení (zmenšení) částic drtě.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Jak již bylo uvedeno, obsah zbytkových vláken ovlivňuje fyzikálně mechanické vlastnosti. Pro možnost zpětného použití recyklátu do původních či obdobných výrobků produkovaných technologiemi vytlačování či válcování bylo provedeno hodnocení drtě – recyklátu z hlediska požadovaných mechanických vlastností. Záměrem bylo současně vyhodnotit naměřené parametry statisticky, to znamená, že součástí je i vyhodnocení způsobilosti procesu [6, 7, 8].

Definovaná kritéria pro zpětné využití do výrobků jsou pevnost v tahu a tažnost. V rámci uskutečněných experimentů byl prováděn odběr vzorků výsledného recyklátu. Vzorkovacím místem je výstup linky před balením recyklátu do přepravní jednotky – PE pytlů, či volně sypané drtě do kovových přepravních boxů. Z odebraných vzorků drtě je při zkouškách zhotovena folie na laboratorním dvouválcí. Pevnost a tažnost jsou následně hodnoceny dle ČSN EN 12311-2, metoda B [5].

Požadované parametry recyklátu – drtě zjišťované na zkušebních tělesech:

- pevnost v tahu min. 14 MPa
- tažnost min. 220 %

Měření parametrů recyklátu probíhalo v rámci ověřovacích zkoušek linky. Byla provedena série testů sloužících pro ověření požadovaných parametrů a ověření způsobilosti procesu. Každé statistické vyhodnocení vychází ze souboru dat získaných z cca 30 až 35 dílčích vzorků odebíraných ve stanovených intervalech. U každého odebraného vzorku byly provedeny předepsané zkoušky na stanovení pevnosti v tahu a tažnosti.

Histogramy a výsledky statistického vyhodnocení jsou uvedeny v příloze na obrázku 5 pro dvě série měření. Pro posouzení vývoje procesu recyklace v čase bylo uskutečněno celkem pět sérií měření plus jedna série při prvotním zajištění linky (série měření označená jako 0). Výsledky shrnuje následující tabulka:

Série měření	Pevnost v tahu MPa	Směrodatná odchylka MPa	Způsobilost procesu C_{pk}	Tažnost %	Směrodatná odchylka %	Způsobilost procesu C_{pk}
0	16,4	1,08	0,76	233	13,3	0,32
1	16,2	1,24	0,59	227,3	8,3	0,29
2	16,4	0,72	1,10	231,9	6,1	0,65
3	16,4	0,78	1,01	229,9	7,5	0,44
4	16,5	0,96	0,88	233,6	9,5	0,48
5	16,4	0,72	1,10	231,0	5,7	0,64

Hodnota míry způsobilosti procesu C_{pk} představuje ukazatel dosaženého stupně centrování procesu^[7], schopnosti procesu dodávat výstup v rámci tolerovaného rozmezí hodnot a specifikovaného technického standardu^[8]. V tomto příspěvku popisovaný recyklát je prioritně určen pro zpětné zpracování do hydroizolačních fólií. Tyto fólie nacházejí uplatnění v průmyslu stavebnictví. Stavebnictví, používající hydroizolační folie pro izolace staveb a v popisovaném případě pro izolace střešních pláštů, obvykle nemá stanovenou požadovanou hodnotu C_{pk} . Jako vodítko pro porovnání hodnoty C_{pk} může posloužit oblast automotive, kde jsou hodnoty C_{pk} důsledně sledovány tak, aby dodavatel poskytoval záruku toho, zda splní požadované parametry a zajistí kvalitu dodávek v čase. V případě dodávek výrobků do automotive je vyžadována hodnota $C_{pk} > 1,33$, vztažená na existující proces^[8,9]. U jednostranně stanoveného intervalu, jako je tomu v našem případě a pro existující proces je vyžadována hodnota $C_{pk} > 1,25$ ^[8].

ZÁVĚR

Naměřená data pocházejí z období zkoušek na recyklační lince a jejího uvádění do provozu. Z hlediska naměřených a statisticky vyhodnocených dat lze konstatovat:

- Požadované hodnoty pevnosti v tahu jsou splněny. Naměřené průměrné hodnoty se pohybují v rozmezí od 16,2 do 16,5 MPa, přičemž požadovaná hodnota je 14 MPa. Způsobilost procesu je v intervalu od 0,6 do 1,10.

- Požadované hodnoty tažnosti jsou splněny. Naměřené průměrné hodnoty se pohybují v rozmezí od 227 do 233 %, přičemž požadovaná hodnota je 220 %. Způsobilost procesu C_{pk} je nižší než u pevnosti v tahu a pohybuje se v intervalu od 0,32 do 0,65.

Na základě dosažených výsledků lze konstatovat, že recykláty – drtě vyráběné na recyklační lince splňují požadované hodnoty pevnosti a tažnosti a jsou vhodné pro zpětné navracení do původních výrobků.

LITERATURA

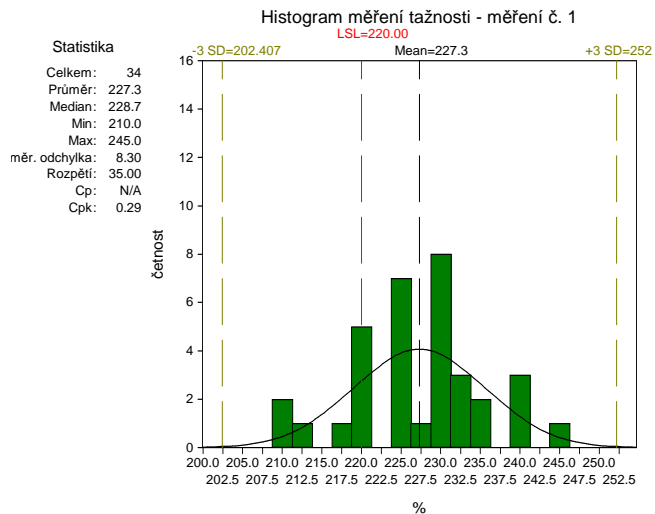
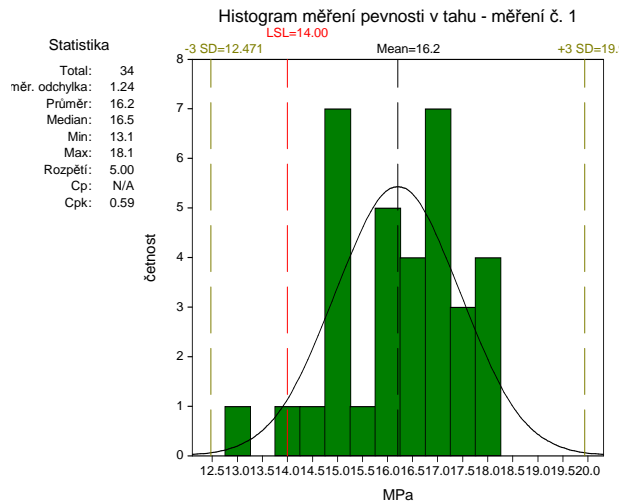
- [1] ISO/TC 61/WG 2 N 5206 Plastics —Guide for the production of recycled plastics materiále
- [2] Mechanical Recycling of PVC Wastes
Study for DG XI of the European Commission, January 2000, Eckhard Plinke
- [3] ČSN EN 15346 Plasty – Recyklované plasty- Charakterizace polyvinylchloridových (PVC) recyklátů (srpen 2008)
- [4] Recyklace plastových odpadů z výroby PVC střešních folií. Mendelnet 2009
Špaček I., Kotovicová J.
- [5] ČSN EN 12311-2 Hydroizolační pásy a fólie - Stanovení tahových vlastností - Část 2: Plastové a pryžové pásy a fólie pro hydroizolaci střech
- [6] ČSN ISO/TR 10017 Návod k aplikaci statistických metod
- [7] ČSN ISO 3534-2 Statistika – slovník a značky, část 2: Statistické řízení jakosti
- [8] http://cs.wikipedia.org/wiki/Index_zp%C5%AFsobilosti_procesu
(8. 10. 2010)
- [9] <http://www.iss-cz.com/jakost/dodavatelsky-manual.html>
(8. 10. 2010)

datum v závorkách u odkazu na www stránky = datum ověření funkčnosti odkazu

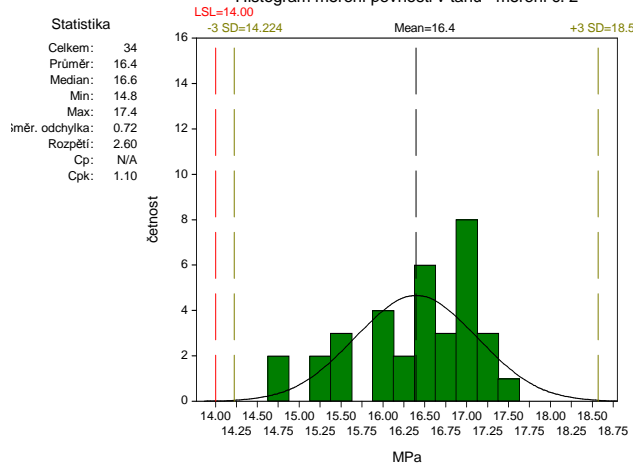
POUŽITÉ ZKRATKY

PVC	polyvinylchlorid
PES	polyester
PE	polyetylén

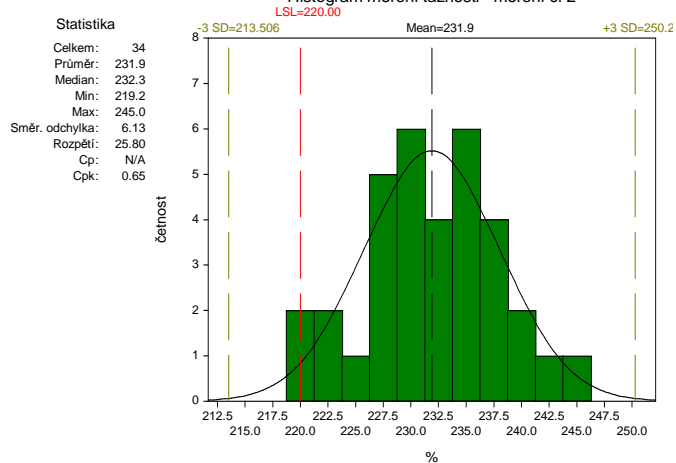
Příloha - obr. 5 – histogramy a statistická vyhodnocení pro dvě série dat



Histogram měření pevnosti v tahu - měření č. 2



Histogram měření tažnosti - měření č. 2



THE BOUNDARY CONDITIONS FOR A NUMERICAL MODELING OF A BIOMASS COMBUSTION PROCESS

Trávníček P., Vítěz T., Mareček J.

Department of Agriculture, Food and Environmental Engineering, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: petr.travnicek@mendelu.cz

ABSTRACT

Our objective was to determine some boundary conditions for use of a numerical model calculation of a biomass combustion process. Particle size distribution (PSD) of sawdust and wood shavings mixture were performed according to Rosin-Rammler. On the basic of analyze was designed granulometric curves – curve of Cumulative weight under sieve, curve of cumulative weight over sieve and curve of frequency distribution. Samples of sawdust and wood shavings mixtures were collected from the fuel bunker in the furniture factory. Size of mesh were 0.1 mm, 0.2 mm, 0.3 mm, 0.4 mm, 0.5 mm, 1.6 mm, 3 mm, 5 mm a 6 mm. Curve of frequency distribution had non-standard behavior. These behaviors probably cause of special material – wood shavings in the mixture have non-spherical form. The basic information for a boundary condition entry to CFD model was preserved.

Key words: biomass combustion process, particle size, CFD model

ÚVOD

Nevhodně definované okrajové podmínky mohou proces CFD (Computational Fluid Dynamic) výpočtu ovlivnit natolik, že jinak z fyzikálního hlediska správně vytvořený numerický model neodpovídá skutečnosti. Z tohoto důvodu je určení okrajových podmínek pro účely výpočtu CFD modelu velmi důležité. Při vytváření CFD modelu spalovacího procesu tuhého paliva lze mezi okrajové podmínky zařadit například distribuci velikosti částic paliva, složení spalín, chemické složení paliva, tlak tekutiny na výstupu ze spalovacího prostoru, rychlost proudění tekutiny, přebytek vzduchu a jiné.

Značný vliv na CFD výpočet spalovacího procesu tuhého paliva má analýza distribuce velikosti částic, která mimo jiné zahrnuje analýzu četnosti dané frakce ve vzorku. Pro tuto analýzu se používá několik různých složitých matematických modelů nebo jejich modifikací (González-Tello et al., 2008), které zahrnují například distribuci velikosti částic podle Rosin-Rammlera, Gates-Gaudis-Schumanna nebo podle Nukiyama-Tanasawa. Použití těchto modelů závisí na druhu materiálu, jenž je analýze podrobován. Metoda určení vhodnosti modelu pro daný druh materiálu uvádí v odborné literatuře Macías-García et al., 2004.

V příspěvku je provedena analýza distribuce velikosti částic směsi pilin a hoblin. Tento spalovaný materiál má svá specifika (např. hobliny ve směsi nemají sférický charakter), a proto je důležité zvolit vhodný model. Pro tento účel byl zvolen nejvyužívanější matematický model a to analýza distribuce velikosti částic podle Rosin-Rammlera.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorek materiálu pro účel analýzy byl odebrán ze zásobníku paliva spalovacího zařízení. Sběr vzorků byl proveden v souladu s normou ČSN ISO 10381-6:1998 Kvalita půdy - Odběr vzorků - Část 6. V den odběru byl vzorek transportován do laboratoře, kde byl při 105 °C v elektrické peci vysušen na standardní sušinu.

Po úpravě vzorku byla provedena síťová analýza pomocí soustavy sít o rozměrech ok 0,1 mm, 0,2 mm, 0,3 mm, 0,4 mm, 0,5 mm, 1,6 mm, 3 mm, 5 mm a 6 mm. Navážka odpadního písku o hmotnosti $50 \pm 1,5$ g byla vložena na horní síť. Jednotlivé frakce odpadního písku byly separovány síťovým rozborem, resp. setřásáním písku pomocí kmitání stolice, na které byla sada sít o vnitřním průměru 200 mm umístěna. Počet kmitů byl nastaven na hodnotu 150 za minutu, doba trvání zkoušky byla zvolena na 15 minut. Poté byly jednotlivé frakce ze síta odebrány a zváženy. Vážení bylo provedeno analytickými váhami Radwag AS 220/X s přesností 0,0001 g. Na základě změřených dat byly sestrojeny granulometrické křivky – křivka kumulativní hmotnosti částic nad sítím, křivka kumulativní hmotnosti částic pod sítím a křivka četnosti částic.

Kumulativní hmotnost nad sítím

Křivka kumulativní hmotnosti nad sítím udává hmotnostní podíl zrn x_z , které jsou větší než je rozměr oka síta x o velikosti x v závislosti na velikosti ok sít x . (Rosin and Rammler, 1933).

$$R(x) = \frac{\Delta m \cdot (x_z > x)}{m} \quad [-] \quad (1)$$

kde:

Δm – hmotnost částic s rozměrem ok x a větších [kg]

m – celková hmotnost navážky vzorku [kg]

Kumulativní hmotnost pod sítím

Hmotnostní podíl zrn, jejichž velikost x_z je roven velikosti ok síta x nebo menších než je rozměr oka síta x v závislosti na velikosti ok sít x , je udáván pomocí křivky kumulativní hmotnosti pod sítím (Rosin and Rammler, 1933).

$$P(x) = \frac{\Delta m \cdot (x_z \leq x)}{m} \quad [-] \quad (2)$$

kde:

Δm – hmotnost částic o velikosti x_z rovné nebo menší nežli oko síta x [kg]

m – celková hmotnost navážky vzorku [kg]

Četnost

Křivka četnosti se odvodí z křivky kumulativní hmotnosti pod sítím. Křivku četnosti definuje hmotnostní podíl částic $dP(x)$, jež připadají na jednotkový interval.

$$y(x) = \frac{dP(x)}{dx} \quad [m^{-1}] \quad (3)$$

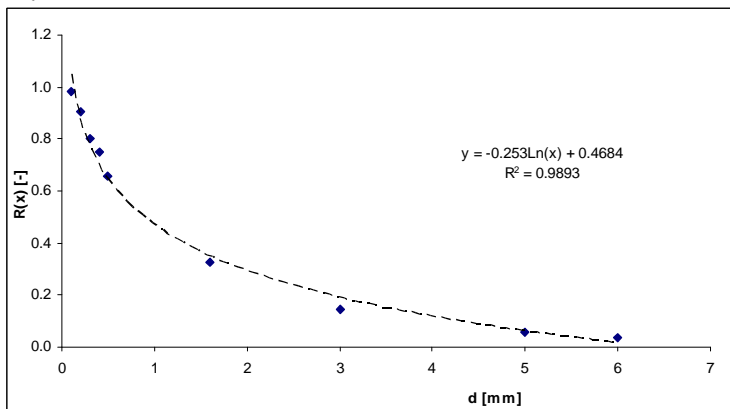
VÝSLEDKY A DISKUZE

Výsledné hodnoty ze síťové analýzy vzorku jsou uvedeny v Tab. 1. Křivka znázorňující hmotnostní podíly součtu jednotlivých frakcí neboli kumulativní hmotnost nad sítím, je uvedena v Grafu 1. Z tohoto grafu je patrné, že křivka má logaritmický průběh a koeficient determinace, zde činí po zaokrouhlení $R^2 = 0,99$.

Tab. 1: Zjištěná data pro sestavení granulometrických křivek

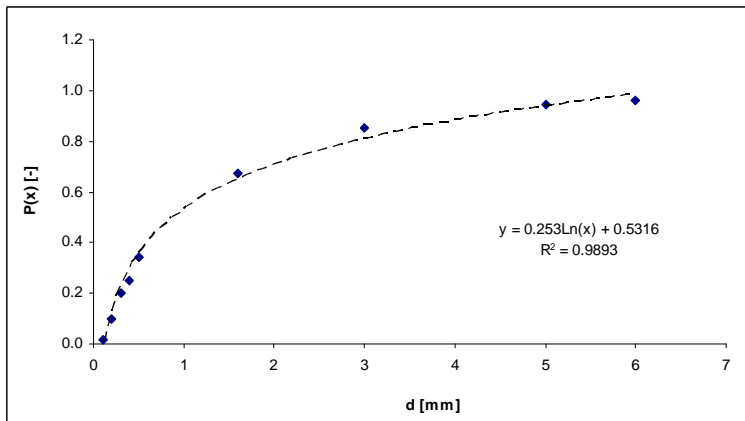
Velikosti zrn	Velikost oka	Zastoupení frakce	Zastoupení frakce	Kumulativní hmotnost nad sítím R(x)	Kumulativní hmotnost pod sítím P(x)	Četnost y(x)
[mm]	[mm]	[g]	[-]	[-]	[-]	[m ⁻¹]
<0.1	0.1	3.9479	0.0784	0.9814	0.0186	0.0002
0.1 – 0.2	0.2	5.1094	0.1015	0.9030	0.0970	784.3094
0.2 – 0.3	0.3	2.5530	0.0507	0.8015	0.1985	1015.0588
0.3 – 0.4	0.4	4.7443	0.0943	0.7508	0.2492	507.1917
0.4 – 0.5	0.5	16.5542	0.3289	0.6565	0.3435	942.5262
0.5 – 1.6	1.6	9.1431	0.1816	0.3276	0.6724	298.9763
1.6 – 3	3	4.5850	0.0911	0.1460	0.8540	129.7438
3 – 5	5	0.8295	0.0165	0.0549	0.9451	45.5439
5 – 6	6	1.9340	0.0384	0.0384	0.9616	16.4793

Graf 1 Křivka kumulativní hmotnosti nad sítím



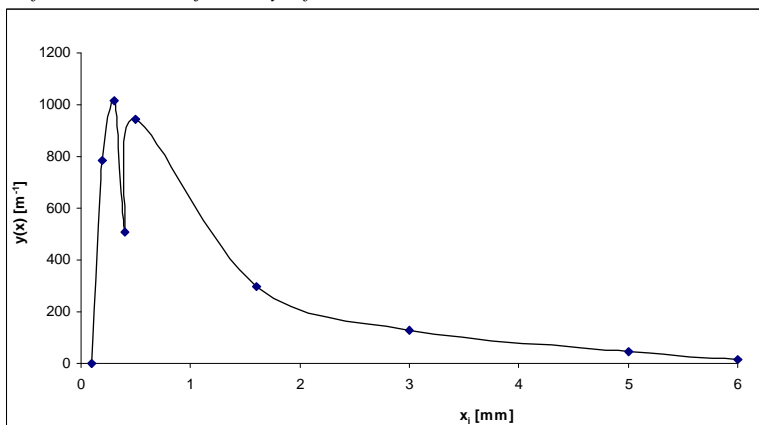
Přirozený logaritmus průběhu funkce kumulativní hmotnosti pod sítím je absolutní hodnotou přirozeného logaritmu funkce kumulativní hmotnosti nad sítím. Křivka kumulativní hmotnosti pod sítím je tedy reciprokou ke křivce kumulativní hmotnosti nad sítím. Křivka kumulativní hmotnosti pod sítím je vyjádřena v Grafu 2.

Graf 2 Křivka kumulativní hmotnosti pod sítím



Křivka četnosti jednotlivých frakcí je znázorněna v Grafu 3. Z grafu je patrné, že největší četnost částic se vyskytuje v intervalu velikosti částic od 0,5 mm do 1,6 mm. V průběhu funkce se však vyskytuje anomálie, která není u jiných materiálů analyzovaných podle Rosin-Rammlera běžná (Vítěz et al., 2010). Jedná se o propad hodnoty $y(x)$ u částic o rozměru 0,4 mm. Tato anomálie je pravděpodobně způsobena specifiky zkoušeného materiálu, kde hobliny (jež jsou částí palivové směsi) nemají sférický tvar.

Graf 3 Křivka četnosti jednotlivých frakcí ve vzorku



ZÁVĚR

Rozseвовá analýza paliva pro potřeby numerického modelu spalovacího procesu biomasy ukázala nestandardní průběh funkce četnosti jednotlivých frakcí ve vzorku. Základní informace pro zadávání okrajových podmínek do softwaru provádějícího numerickou simulaci však z provedeného měření zůstává zachována. Jedná se především o vypočítanou hodnotu největších četností jednotlivých frakcí, která je nutná pro zdárný průběh CFD výpočtů. Ostatní informace, jako je funkce kumulativní hmotnosti nad sítím a kumulativní hmotnosti pod sítím, jsou ze statistického hlediska průkazné. Koeficient determinace činí $R^2 = 0,99$. V současné době probíhá testování ostatních matematických modelů pro analýzu distribuce velikosti částic, jejichž výsledky jsou potom uplatňovány při zadávání okrajových podmínek do CFD modelů. Výsledky použitých CFD modelů jsou poté mezi sebou porovnávány a vyhodnocovány.

LITERATURA

González-Tello, P., Camacho, F., Vicaria, J. M., González, P.A. (2008): A modified Nukiyama-Tanasawa distribution function and Rosin-Rammler model for the particle-size-distribution analysis. *Powder Technology* 186: 278–281

Macías-García, A., Cuerda-Correra, Eduardo M., Díaz-Diez, M. A. (2004): Application of the Rosin-Rammler and Gates-Gaudin-Schuhmann models to the particle size distribution analysis of agglomerated cork, *Materials Characterization* 52: 159–164.

Rosin, P.; Rammler, E. (1933): The Laws Governing the Fineness of Powdered Coal. *Journal of the Institute of Fuel* 7: 29–36

Vítěz T., Kukla R., Trávníček P. (2010): Physical properties of sand from the waste water treatment plants. *Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun.* 58: 233–238.

ASSESSMENT OF ENERGY-BIOGAS PROCESS AT STATIONS USING THERMOGRAPHY METHODS

Urban L., Jun J., Fryč J.

Department of Agricultural, Food and Environmental Engineering, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xurban03@node.mendelu.cz, xjun@node.mendelu.cz

ABSTRACT

Not only the financial support of the European Union and individual Member States, but also a greater need for electricity has led many businesses to the idea of building a biogas plant that uses anaerobic digestion process for biological waste treatment, or other biodegradable material. The main product of anaerobic digestion is biogas, consisting primarily of methane (CH₄) and carbon dioxide (CO₂), which can be used as an alternative source for heat and power (CHP unit). The same purpose can be used as landfill gas generated as a byproduct of municipal waste in landfills. The production of biogas thermal power only arises in the system but it must first and added to allow the emergence of anaerobic digestion-the provision of suitable living conditions for microorganisms. The biogas plant in the village near Hodonín Čejč had with temperature fluctuations in this problem - which caused a reduction in the quantity of biogas. For this reason, it was with the help of thermal sensing cameras made the individual parts of biogas and using a special evaluation software, which often escape the heat and would need to be more isolated or replaced.

Key words: biogas, landfill gas, biogas plant, thermography, cogeneration unit

Acknowledgments: This post was created as part of the grant project No. TP5/2010 Internal Grant Agency of the Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno.

MATERIÁL A METODY ZPRACOVÁNÍ

Termovizní metody představují bezdotykový způsob diagnostiky povrchové teploty materiálů. Jedná se o zařízení, které je určeno pro snímání povrchové teploty materiálu - elektromagnetického spektra vlnového pásma infračerveného záření ležícího mezi hodnotami vlnové délky 0,8 μm – 400 μm . Výstupem z tohoto měření jsou fotografie v barevně oddělených teplotních rozdílech. Po zpracování a rozboru pořízených snímků lze definovat přesnou teplotu v jednotlivých místech či skupinách daného zařízení podobně jako u dotykového čidla. [3] Díky tomuto zařízení je možné periodicky monitorovat jednotlivé konstrukční celky bioplynové stanice. Snímány byly zejména pláště reaktoru, plynojemu a potrubí, jímž proudí bioplyn ke kogenerační jednotce. Zde se totiž nachází řada spojů a tepelných mostů, které představují potenciální kritická místa celé koncepce.



Obr. 2 Termovizní kamera Therma CAM E 320 [4]



Obr. 3 Detail displeje Therma CAM E 320 [4]

K analýze pořízených snímků byl využit program ThermaCAM QuickReport verze 0.1, který je součástí instalačního softwaru termovizní kamery Therma CAM E 320. V tomto programu je třeba zadat výchozí parametry měření, upravit teplotní rozsah, dále pak označit kritická místa pomocí vhodného nástroje určit jejich aktuální teplotu. Program umožňuje i export souboru do programu Excel. Po analýze lze vyhotovit zprávu o měření, určenou jak pro posuzovanou organizaci (zákazníka) tak i pro archivaci vlastních výsledků. [4]

VÝSLEDKY PRÁCE A DISKUZE

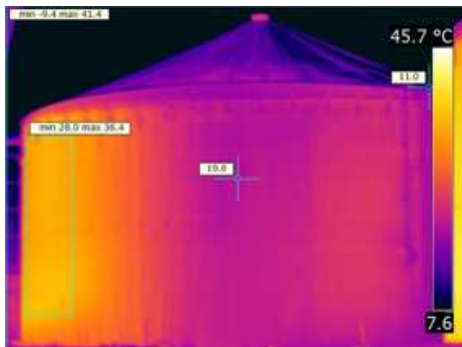
Touto bezdotykovou metodou byl diagnostikován energetický proces bioplynové stanice v obci Čejč nedaleko Hodonína s instalovaným elektrickým výkonem 1072 kW a tepelným výkonem 982 kW. Stavba tamního objektu se skládá z přípravný biomasy, vyvíječů plynu (reaktorů), mezi zásobníku bioplynu, kogenerační jednotky a provozního skladu fugátu. Jakožto vstupní surovina pro výrobu bioplynu je použita směs prasečí kejdy s kukuřičnou siláží. Získaný bioplyn slouží k výrobě elektrické energie, teplo je využito pro potřeby farmy. Fermentační zbytek je používán jako biohnojivo na místní farmě. Bioplynová stanice v Čejči je provozována společností Horák energo s.r.o. od roku 2007 bez vážnějších problémů. V letošním roce však došlo k poklesu tlaku v celém systému a tím pádem i ke snížení produkce bioplynu.

MENDELNET 2010

Vzhledem k charakteristice termovizního měření se tento způsob diagnostiky jeví jako ideální alternativa vhodná pro zjištění příčin náhlého poklesu teploty – snížení produkce bioplynu, kdy byly za pomoci termovizního zařízení Therma CAM E 320 pořízeny tzv. termografy celého objektu - předem vytipovaných kritických míst.



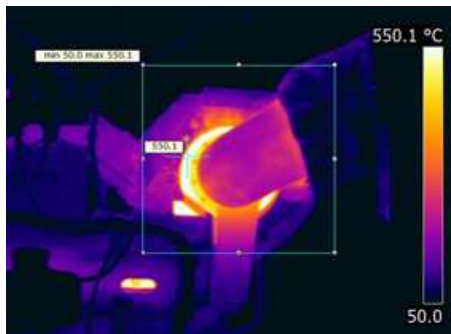
Obr. 3 Plocha reaktoru digitální fotografie



Obr. 4 Plocha reaktoru termovizní fotografie



Obr. 5 Kogenerační jednotka tepelné ztráty



Obr. 6 Kogenerační jednotka masivní tepelné ztráty (teplota 550 °C)

Při použití termovizního zařízení Therma CAM E 320, nebyl zjištěn únik bioplynu z žádného místa potrubního systému ani pláště reaktoru. Naopak byla zjištěna vysoká produkce tepelné energie, která se máří a není efektivně využita. Pokud by při výstavbě celého zařízení byla zvolena jiná forma izolace – mohla se ještě více zvýšit účinnost nejen kogenerační jednotky, ale i celého zařízení, které tak mohlo dodávat více tepelné energie pro potřeby farmy.

Dalším zkoumáním systému bylo dosaženo závěru, že změnu teploty v reaktoru způsobila buď špatná koncentrace (kvalita) vstupních materiálů (směs prasečích kejdy s kukuřičnou siláží) nebo byla obsluhou zařízení zvolena špatná hodnota nastavení počátečního procesu, což mělo za následek

pokles teploty systému – špatné podmínky pro fermentaci látek a tím pádem i dlouhodobý pokles výroby bioplynu.

ZÁVĚR

Při použití termovizní kamery Therma CAM E 320, a následném vyhodnocení pořízených snímků bioplynové stanice v obci Čejč nebyl zjištěn únik bioplynu, ale vysoká produkce tepelné energie, která se maří a není efektivně využita. Pokles výroby bioplynu tak pravděpodobně způsobila chyba obsluhy zařízení - špatná hodnota nastavení zařízení nebo nedostačující kvalita směsi prasečí kejdy s kukuřičnou siláží.

Měřením se současně se prokázalo, že možnost použití termovize při zjištění tepelných mostů a ztrátových míst je nejen efektivní, ale i velice rychlé. Zpracované výsledky je možné v budoucnu využít jakožto podklad pro výstavbu nových, nejen bioplynových zařízení, ale i pro jejich rychlou revizi z hlediska potenciálních míst nežádoucího úniku tepla.

Poděkování

Rádi bychom touto cestou poděkovali panu Doc. Fričovi, za spolupráci, poskytnuté materiály, jeho trpělivost a v neposlední řadě také ochotu při konzultacích, dále bychom chtěli poděkovat celému řešitelskému týmu, který nám byl k dispozici a poskytl nám příslušné informace.

LITERATURA

- [1] STRAKA, F. a kol.: Bioplyn – příručka pro výuku, projekci a provoz bioplynových systémů. Praha: GAS s.r.o., 2006, 706 s, ISBN 80-7328-090-6
- [2] TRÁVNÍČEK, P., KARAFIÁT, Z.: Kogenerace pomocí plynových spalovacích motorů. *Biom.cz* [online]. 2009-04-15 [cit. 2010-10-07]. Dostupné z WWW: <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/kogenerace-pomoci-plynovych-spalovacich-motoru>>. ISSN: 1801-2655.
- [3] Urban, L. Marada, P. Enviromentální posuzování místa a organizace (EPMO), Protokol o provedení auditu, 21 str.
- [4] Urban, L. Posuzování funkce a činnosti půdního biofiltru pomocí termovizního zařízení, 2010, Kapitola (MPPB), disertační práce, 9str.

METHODOLOGY AND MONITORING OF AGRICULTURAL SOIL BY BIOFILTRER THERMOVISION METHODS

Urban L., Marada P., Mareček J.

Department of Agricultural, Food and Environmental Engineering, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xurban03@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The soil biofilter operation of side effect. Due to the uneven flow of air at high temperature degrades the filter medium composed of wood chips and substrates. This phenomenon can also be described as a "presence of air chimney. To ensure proper operation and function of the bio-filter is necessary to establish an appropriate methodology to monitor its activities and the way to prevent the emergence of so-called air stack and therefore in accordance with the Government to monitor and evaluate the quality of air 597/2006 Coll. prevent improper functioning of the device. The paper will be presented for the assessment of the facilities under review the work of rendering rendering company ASAP s.r.o. in the Tower, with a focus on functional testing of the liquidation process of soil pollutants using a biofilter. Which will serve as background material and sample work. For this purpose, the University used infrared equipment ThermoCAM E 320

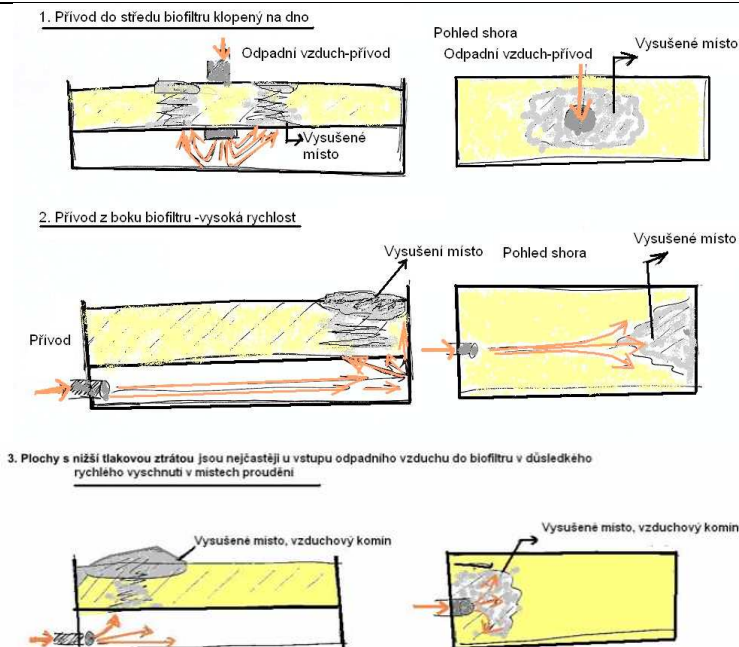
Key words: biofilter, thermovision, temperature, environmental

Acknowledgments: I would like to take this opportunity to thank Dr. Ing. Petr Marada, for their cooperation, the material, his patience and last but not least, the willingness to consultation, then I want to thank all the Institute of Food and Agricultural Environmental Engineering.

ÚVOD

Biofiltr je zařízení primárně určené pro čištění vzduchu od pachových emisí, které by za jiných okolností emitovaly do ovzduší. Jako náplň biofiltru se používá přírodní substrát složený z dřevní štěpky, trhaného pařezu a drcené kůry stromů. Substrát je vrstven v loži. V průběhu provozu k mineralizaci lože, sesedání lože, zvyšování tlakové ztráty vzduchu na loži, k vysychání lože a k zarůstání lože mikroorganismy v prostorách nadměrně zvlhčováných. Tyto faktory vedou k tvorbě parciálních ploch biofiltru, což jsou místa, kde je nižší tlaková ztráta, viz (obr. 1.) Tato místa propustí více čištěného vzduchu, zvýší se rychlost proudění vzduchu, dochází většímu prosychání místa, tím se ještě více sníží tlaková ztráta. Vzduch proudí cestou nejmenšího odporu, tedy těmito parciálními plochami. Snižuje se doba kontaktu kontaminované vzdušiny s ložem biofiltru, navíc proschlá místa neobsahují aktivní mikroorganismy. Tím dochází k úniku velkého množství nevyčištěného vzduchu a snižuje se funkční účinnost biofiltru.^[1]

Pro zjištění správné činnosti biofiltru je nutné stanovit vhodnou metodiku sledování jeho činnosti a způsob, jakým předejít vzniku ploch biofiltru s nižší tlakovou ztrátou a tím v souladu s Nařízením vlády o sledování a vyhodnocování kvality ovzduší č. 597/2006 Sb. zamezit nesprávné funkci tohoto zařízení. V příspěvku budou prezentovány metody posuzování dezodoračního zařízení na základě přezkoumání činností dle ČSN 14015 (EPMO). U asanačního podniku kafilérie ASAP s.r.o. ve Věži se zaměřením na kontrolu funkčnosti procesu likvidace polutantů využitím půdního biofiltru, který poslouží jako podkladový materiál a vzorová práce. K tomuto účelu bylo využito univerzitní termovizní zařízení ThermaCAM E 320.



Obr. 1 Příklady nesprávné funkce rozvodu vzdušnin pod ložem a průchodu filtračním materiálem (Auterská, 2006) [4]

MATERIÁL A METODY ZPRACOVÁNÍ

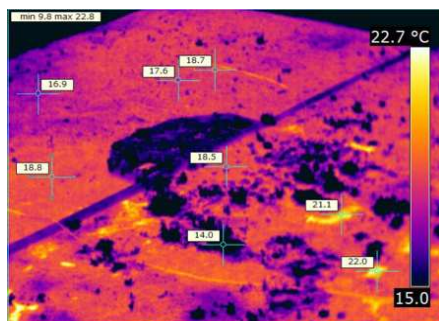
K posouzení funkční účinnosti biofiltru bylo zahájeno termovizní snímání povrchové plochy biofiltru. Tyto termovizní metody představují bezdotykový způsob měření povrchové teploty materiálů. Jedná se o zařízení, které je určeno pro snímání povrchové teploty materiálu. V podstatě jde o transformaci teploty na elektromagnetické spektrum vlnového pásma infračerveného záření ležícího mezi hodnotami vlnové délky $0,8 \mu\text{m} - 400 \mu\text{m}$. Výstupem z takového měření jsou fotografie v barevně oddělených teplotních úrovních (viz. obr. 4-6) Po zpracování a rozboru těchto snímků lze definovat teplotu v jednotlivých parciálních plochách biofiltru. Díky tomuto zařízení je možné periodicky monitorovat plochu tělesa půdního biofiltru a následně s potřebnou přesností určit kritická místa, kde by mohlo dojít k úniku pachové znečištěného vzduchu do okolního ovzduší. [2]

VÝSLEDKY PRÁCE A DISKuze

Za pomoci termovizního zařízení Therma CAM E 320 bylo uskutečněno měření plochy půdního biofiltru. Výsledkem jsou fotografie zachycující povrchovou teplotu náplně biofiltru, resp. prostup vzdušiny. Tyto plochy vznikají na místech s nižší tlakovou ztrátou, následkem nesprávně odstupňovaných intervalů spouštění zavlažovacího režimu, který zajišťuje požadovanou vlhkost a teplotu substrátu potřebnou pro činnost a život mikrobiologických kultur. Tyto kultury jsou potřebné pro likvidaci polutantů, které pro ně představují zdroj živin a potravy. Proto jsou pro správnou funkci biofiltru tolik důležité. Pro správnou funkci biofiltru je žádoucí rozsah teplot od 10 do 25°C. Toto jsou teploty, které zajišťují dostatečné životní podmínky pro mikrobiologické organismy a bakterie živící se odpadními polutanty. V případě společnosti ASAP s.r.o., nebylo zjištěno překročení těchto teplot jak v kladném, tak ani v záporném směru viz. (obr. 3). Bylo však prokázáno, že vzduch se plochou lože rozprostírá nerovnoměrně. Dále, že tento vzduch cirkuluje a při filtraci tělesem biofiltru vznikají nežádoucí plochy s nižší tlakovou ztrátou. Při včasné diagnostice lze tento efekt zmírnit či zcela eliminovat. Mezi navrhovaná opatření patří včasná a průběžná diagnostika, na jejímž základě lze stanovit kritickou hranici časového intervalu výměny substrátu náplně biofiltru, dále pak přesně specifikovat intervaly zavlažování biofiltru. Opatření povedou k optimalizaci činnosti dezodoračního filtru a k eliminaci negativního dopadu na životní prostředí, únikem pachových emisí do ovzduší.



Obr. 2 Plocha půdního biofiltru digitální fotografie^[2]

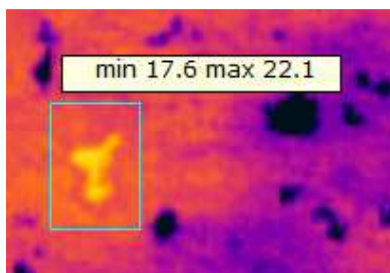


Obr. 3 Plocha půdního biofiltru termovizní fotografie^[2]

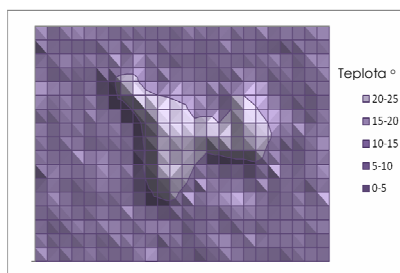
V následující tabulce jsou parametry měření, při kterých byly termografy pořízeny.

Tab. 1 Podmínky měření

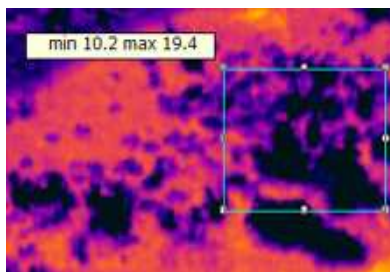
Parametr	Hodnota	Jednotka
Vzdálenost objektu	25	m
Teplota atmosféry	13	°C
Teplota odraženého záření	22	°C
Relativní vlhkost	48	%
Emisivita objektu	0,91	Poměrná hodnota



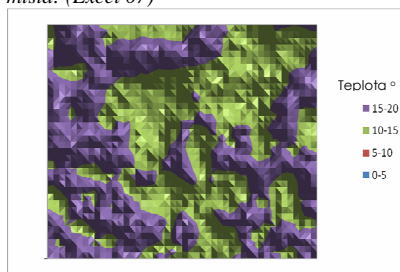
Obr. 4 Termograf: kritické míst: Ar1



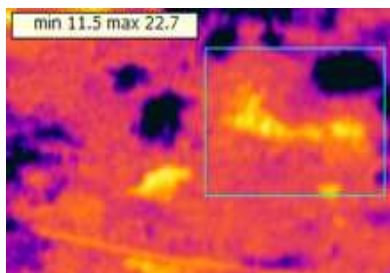
3D Graf 1 Grafické znázornění kritického místa: (Excel 07)



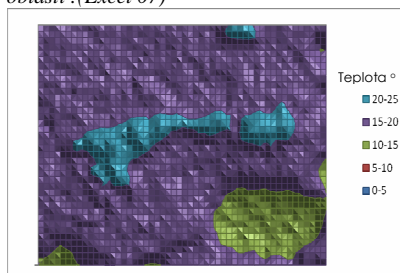
Obr. 5 Termograf: sledovaná oblast: Ar2



3D Graf 2 Grafické znázornění sledované oblasti: (Excel 07)



Obr. 6 Termograf: Nehomogenní oblast: Ar3



3D Graf 3 Grafické znázornění nehomogenní oblasti: (Excel 07)

ZÁVĚR

Fatální důsledky, znečištění okolního vzduchu pachovými emisemi v důsledku nesprávné funkce půdního biofiltru, může mít pro podnikatelský subjekt přímý vliv na jeho podnikatelskou činnost. Jako možné sankce lze ve smyslu platných právních předpisů uložit finanční postih, omezení nebo zákaz činnosti. Nezanedbatelná je i ztráta dobrého jména (goodwill) společnosti. V současné době řešitelský tým pracuje na dalším zdokonalení metodiky pro posuzování provozu a funkce půdního biofiltru pomocí termovizních metod.

Doporučuji včasnou a systematicky opakovanou diagnostikou dle metodických pokynů, na jejichž základě lze stanovit periodický plán výměny náplně biofiltru, nebo její periodické promísení. Dále pak sestavení časových intervalů zavlažování a určení množství vody diferencovaně aplikované na kritická místa potenciálního vzniku ploch biofiltru s nižší tlakovou ztrátou. Po archivaci výsledků měření, navrhuji jako další krok opětovné měření v intervalu 3 měsíců a další po půl roce. Tento způsob sledování doporučuji všem majitelům, či provozovatelům podobného zařízení.

LITERATURA

- [1] Marada, P.— Mareček, J. Možnosti dočištění kontaminovaného vzduchu jímaného z výstupu biofiltru, Mendelova univerzita, 30 str.
- [2] Urban, L. Marada, P. Enviromentální posuzování místa a organizace (EPMO), Protokol o provedení auditu, 21 str.
- [3] ČSN ISO 14015, Environmentální posuzování míst a organizací (EPMO), 2003-06-01, 32 str.
- [4] Auterská P. Vypracování návrhu metodiky měření zápachu na biofiltrech. Zpráva o řešení funkčního úkolu pro MZe. MZLU v Brně. Brno 2006. 19 s.

MONITORING OF BEER FERMENTATION PROCESS USING ACOUSTIC EMISSION METHOD

Varner D.¹, Černý M.¹, Mareček J.², Los J.²

¹Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

²Department of Agriculture, Food and Environmental Engineering, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: info@davar.cz

ABSTRACT

The acoustic emission (AE) method has been used to monitor fermentation process in the hopped wort. In the pilot phase of the research, 3 piezoelectric sensors have been placed on the outside of the fermentation tank assembly and acoustic signals have been measured continuously for the entire fermentation period. The sensors' purpose was to "hear" carbon dioxide bubbles emerging inside of the fermentation tank and to pass signals to the AE analyzer/laptop PC for further processing.

Key words: beer, fermentation, tank, cylindroconical fermenter, acoustic emission

INTRODUCTION

Beer fermentation has been monitored using acoustic emission (AE) method that is able to „hear“ small acoustic impulses or noise inside of objects or vessels. The aim of the experiment was to determine whether AE can reliably distinguish fermentation process properties for various beer types. As the temperature of the tank content has been monitored on a continuous basis by an automated system, the AE was expected to provide another parameter of the process.

The technique is unique for its simple concept. No immerse devices are required, no special environment specifications need to be taken into account. If sufficient results are available, automatic fermentation-control devices might be developed including AE monitoring sensors. Similar systems could be used to control vine fermentation process in the future.

Beer Fermentation Process

Fermentation is the process by which fermentable carbohydrates are converted by yeast into alcohol, carbon dioxide, and numerous other byproducts. It is these byproducts that have a considerable effect on the taste, aroma, and other properties that characterize the style of beer. [1]

Cylindroconical fermenters are the most commonly used fermentation systems used today to produce both lagers and ales. As the name implies, the enclosed vessels are vertical cylinders with a conical base and, normally, a dished top. This design allows for easy yeast collection and CIP cleaning. They range in size between 100 and 7,000 hl, have from a 1:5 to a 3:1 ratio of height to diameter, and work under pressures of from 100 to 130 kPa above atmospheric pressure. In fermentation vessels with a ratio greater than 3:1, there is a tendency for increased production of higher alcohols at the expense of esters. Vessel geometry plays an important role in fermentation. As the height-to-diameter ratio increases, so does the mixing of yeast and wort, as well as the fermentation rate. [1]

Acoustic Emission Method

Acoustic emissions are the stress waves produced by the sudden internal stress redistribution of the materials caused by the changes in the internal structure. Possible causes of the internal-structure changes are crack initiation and growth, crack opening and closure, dislocation movement, twinning, and phase transformation in monolithic materials and fiber breakage and fiber-matrix debonding in composites. Most of the sources of AEs are damage-related; thus, the detection and monitoring of these emissions are commonly used to predict material failure. In technical diagnostics, AE method has been used to monitor rotational part status (friction and cavitation of bearings/gears), detection of micro-cracks, pressure vessel defects, tubing system defects, aircraft

structure evaluation/testing, and bridge status diagnostics. AE technique has proven useful in fatigue testing and destruction experiments. Major advantages of AE include continuous monitoring of the object, time savings, and forecast abilities of the concept. On the other hand, AE wave source is not always obvious, as the emitted energy may result from several phenomena inside of the part. Further variable factors include shape of the object, surface area, material structure, and homogeneity level. [2]

MATERIAL AND METHODS

In Mendel university, there is a Destila micro-brewery in the food production laboratory of the Department of Agriculture, Food and Environmental Engineering. The Destila system serves for model and/or analysis purposes. It allows for amount modifications of malt, hops, yeasts, and other ingredients. The temperature can be streamlined within the actual brewing process as well. The variable configuration features make the micro-brewery an ideal ground for various research projects. Figure 1 shows the fermentation section of the micro-brewery.

The Destila micro-brewery consists of the following main components: mash tun, cooling system, open fermentation tank, storage tank, cylindroconical fermenter, filtration/racking tank, and accessory (electric, boiler, cooling system, filtration).

In this project, beer fermentation process in cylindroconical fermenter tank has been subject to AE monitoring. This device allows for combined and streamlined fermentation process as opposed to primary fermentation in open fermentation tank and secondary fermentation in storage tank. The cylindroconical fermenter is made from Cr/Ni stainless steel.



Figure 1: Fermentation part of Destila micro-brewery assembly. Note the cylindroconical fermenter in the foreground with extensive piping accessory (position of SENSOR2). Photo by D. Varner

Three piezoelectric sensors have been glued to the tank body and accessory (SENSOR1, SENSOR2, and SENSOR3). Each sensor featured a different position with relation to the hopped

MENDELNET 2010

wort inside the tank. The objective of sensor positioning was to establish the closest possible acoustic contact with the actual hopped wort in the tank vessel. However, this has become quite complicated as the body of fermenter features a two-layer welded structure. Reason for this is a convenient glycol-based cooling system that helps to maintain standard conditions for the fermentation process. The concept of sensor engagement was to capture development of carbon dioxide bubbles inside the tank and occasionally register their destruction on the surface of the hopped wort in a way of sound wave.

SENSOR1 has been placed on the top of the tank in the initial phase of configuration testing (see Figure 3). Later, a new place was found for SENSOR1: on the bolt head of the temperature gauge fixture. This position is on the side of the fermenter. As the bolt head is directly attached to the gauge rod immersed in the tank contents, SENSOR1 was supposed to get closest possible contact with the hopped wort (see Figure 2).



Figure 2: Position of SENSOR1 on the temperature gauge. Note the yellow rubber band for additional fixing of the sensor. Photo by D. Varner

SENSOR2 has been placed on a carbon dioxide outlet valve assembly (see Figure 3). This part of the device serves as a secondary source of fermentation intensity level. A gauge shows pressure of carbon dioxide in the tank above the hopped wort level. Obviously, the more bubbles emerge from the piping, the more intensive the internal process is. Placing SENSOR2 in the outlet body of the valve was the only way of visual relationship between signal and actual fermentation intensity. Thus, this sensor was initially meant just for support purpose. The actual AE was probably caused by mechanical motion of internal valve components rather than by actual fermentation process.



Figure 3: Position of SENSOR2 on the carbon dioxide outlet valve assembly. The sensor can be seen below the gauge dial, glued upside-down to the bottom of the assembly. Photo by D. Varner

SENSOR3 has been glued to the top of the tank. This position has been chosen due to direct contact with the inside atmosphere of the tank. As opposed to side walls, the top wall of the tank is a single sheet metal plate. As a result, SENSOR3 was expected to easily register the bubbles above the hopped wort level.



Figure 4: Position of SENSOR3 on the top of the fermentation tank (the small one, in background). In the foreground, a big calibration sensor is temporarily glued to the double-wall portion of the tank. After successful calibration of the AE monitoring assembly, it was removed. Photo by D. Varner

The signals from all three sensors was pre-amplified and later processed by the Dakel XEDO AE analyzer. An Ethernet-connected laptop PC with Dakel DaeMon software was used for continuous viewing and storage of the AE data (see Figure 5).



Figure 5: Control laptop PC on top of XEDO AE analyzer. Photo by D. Varner

The data from AE monitoring has been evaluated using Dakel DaeShow software to provide visual representation and statistics. The AE was monitored continuously for the entire fermentation period (see Duration section below).

In general, the fermentation itself was supposed to represent a noise-type signal environment. However, AE events might have been registered as well, mainly in connection with destruction of individual carbon dioxide bubbles.

Acoustic Emission Parameters

Two significant AE signal parameters have been taken into account during the experiment: RMS values and PSD function maximum values. They are described as follows:

- RMS (Root Mean Square) indicates "effective" value or "robustness" of the signal. RMS indicates quantity properties of the AE events (amount of energy). RMS is measured in Volts.
- PSD (Power Spectral Density) of the AE events indicates distribution of energy transmitted over the frequency spectrum. PSD graphs show one or more peaks. Transformation of the signal from time domain to frequency domain has been performed using the Hanning window. PSD is measured in mW/Hz or dBm/Hz for a logarithmic scale.

Additional Parameters of the Brewing Procedure

Temperature – In the beginning of the fermentation, the temperature hopped wort was 7 degrees Celsius. During the first 24 hours of fermentation, the temperature increased to 10 degrees Celsius. Then the control system performed an automatic cooling-based reduction of 1 degree Celsius per day. Thus, at the end of the experiment, the hopped had temperature of approximately 2 degrees Celsius.

MENDELNET 2010

Hopped Wort Composition – In this particular brew, the following ingredients have been used: malt 18kg (Czech sort 9kg, Bavarian sort 9kg), Premium granulated hop (100g), water.

Duration – The fermentation lasted from afternoon of April 21st 2010 till morning of April 30th 2010. For all this time, the AE system was active and data was recorded on the laptop PC.

DISCUSSION

Despite expectations, the results of AE monitoring have not produced satisfactory results. The individual sensors provided ambiguous and hard-to-read data that did not correspond to the common fermentation theory (ascending trend, intensive activity, descending trend in the end of the fermentation).

SENSOR1 – produced flat RMS curve with very rare AE events (supposedly bursts of the bubbles). No trends have been visible in the charts.

SENSOR2 – produced some usable results featuring steep rise of AE events and correlating RMS. However, while RMS shows descending trend towards the end of experiment, the AE events for some reason keep on higher count level. As SENSOR2 measured secondary activity of valve components, this data DO NOT represent actual fermentation-related carbon dioxide development. On the other hand, the quantity of CO₂ bubbles going through the valve might proportionally correspond to the fermentation process intensity. A chart with cumulative AE event count versus RMS trend is shown in Figure 6. The extreme rise of RMS at the very end of experiment time-line has been caused by the brewery personnel. Clearly, they have been touching the tank and performing some rich-sound-emitting activities, such as pumping or rinsing.

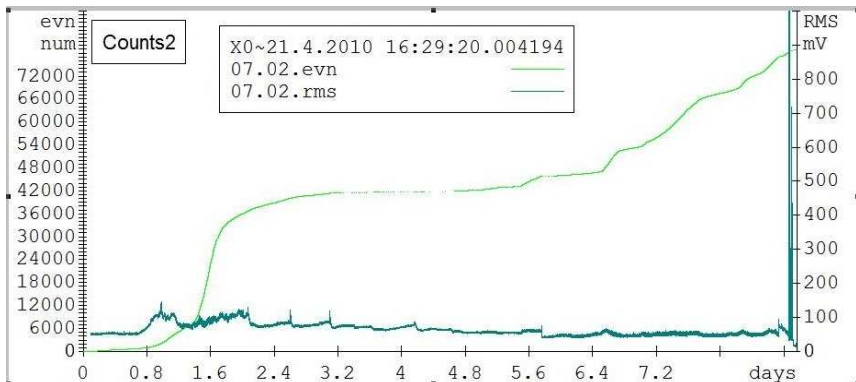


Figure 6: Data acquired from of SENSOR2. Note the green curve of cumulative AE event count (the steeper the curve, the more AE events have occurred) and blue trend of signal RMS values. Plot generated by the Dakel DaeShow software.

MENDELNET 2010

As far as the PSD function of SENSOR2 data is concerned, typical spectral distribution in the signal is shown in Figure 7. However, as stated above, this is not a relevant process-related data plot, but rather a secondary process property (probably a mechanical motion of the valve mechanism).

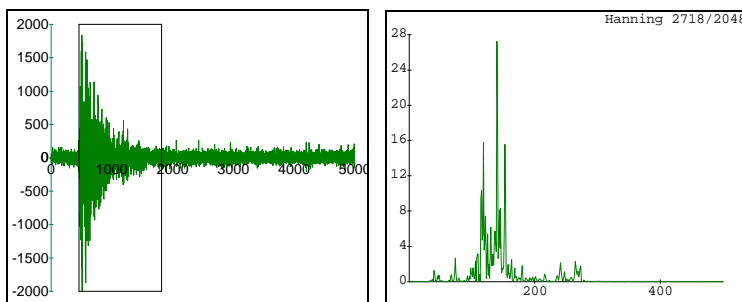


Figure 7: PSD data acquired from of SENSOR2. Note the selection window on the left and corresponding frequency distribution that actually describes some mechanical motion rather than a fermentation-related process. Plots generated by the Dakel DaeShow software.

SENSOR3 – produced flat RMS curve with very rare AE events. No trends have been visible in the charts. Recorded data is similar to SENSOR1 data set.

CONCLUSIONS

The aim of the experiment was to observe possibility of AE being able to monitor fermentation process in a micro-brewery facility. Three sensors have been used, but no satisfactory results have been obtained. The only reasonable AE data come from secondary process (carbon dioxide outlet valve). Possible reasons for the failure might be as follows:

1. Lack of knowledge concerning AE behavior in Cr-Ni steel and signal attenuation.
2. Complex layout of the fermenter making proper positioning of AE sensors complicated.
3. Unavailable data concerning the inside conditions in the fermenter.

For future research, we strongly recommend performing a detailed study of fermenter structure and extensive calibration/verification of the sensors' functionality.

REFERENCES

- [1] Beer Fermentation [online]. 2010 , 08.02 [quot. 2010-09-26]. Available from WWW: <http://www.beer-brewing.com/beer-brewing/beer_chapters/ch13_beer_fermentation.htm >.
- [2] KREIDL, Marcel, ŠMÍD, Radislav. Technická diagnostika. 1. vyd. Praha : Nakladatelství BEN
- [3] BÉLA, Kiss; HORVÁTH, Imre. *Pivovarský slovník : německo-anglicko-maďarsko-český* . Reedice VÚPS. Praha : Luxpress, 1994. 265 s. ISBN 80-7130-033-0.

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors would like to thank the Dakel ZD Rpety Company for ongoing AE equipment support and Mr. František Píkrýl for kind support and useful advice concerning brewing procedures.

COMPARISON OF TENSILE CHARACTERISTICS OF TRACTOR CHALLENGER MT 875B

Vykydal P., Bauer F.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: vykydal@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this paper was to compare the tensile characteristics of the tractor, measured in two test rooms. It was an international testing laboratory in Nebraska, and the test at the Department of Engineering and Automobile Transport Mendel University in Brno. As a test tractor was elected Challenger MT 875B. The tractor was measured on a concrete pad, measuring section was 100 m. The design kit for the measurement of Nebraska formed a special truck, in the case of measurement in Brno kit consisted of two tractors Fendt 936 Vario. The results indicate that the tractor was measured in Nebraska found a higher tensile strength and tensile performance and less slippage. These differences may be caused both by the larger width of the straps and heavier tractor measured in Nebraska.

Key words: tractor, tensile performance, tensile strength, slippage

Acknowledgments: This project was supported by IGA 2010 – TP03.

ÚVOD

Traktor je mobilní energetický prostředek, který je určený především pro tahové práce, proto jsou pro jeho provoz důležité tahové vlastnosti. Ucelený přehled o tahových vlastnostech traktoru dává tahová charakteristika. Data potřebná k vyhodnocení tahových charakteristik se získávají pomocí tahových zkoušek. Zkoušky tahových vlastností traktorů se provádí podle metodik OECD Code 1 a 2, postup tahových zkoušek obsahují také normy ČSN ISO 789-9 a ČSN 30 0415. Tento příspěvek se zabývá porovnáním tahových charakteristik vybraného traktoru měřeného v traktorové laboratoři v Nebrasce a v laboratořích na Mendelově univerzitě.

MATERIÁL A METODIKA

Zkoušky byly realizovány jak v mezinárodní traktorové zkušebně v Nebrasce, tak také na Ústavu techniky a automobilové dopravy Mendelovy univerzity. Univerzita v Nebrasce je oficiální zkušební laboratoř určená pro zkoušení traktorů podle kódů Organizace pro hospodářskou spolupráci a rozvoj (OECD). Měření tahových vlastností Mendelovy univerzity probíhalo v lokalitě letiště Vyškov, které se nachází na východním okraji města. Tahové zkoušky probíhaly vždy za ustálených režimů v celém měřicím úseku. Pro každý měřený rychlostní stupeň bylo měřeno minimálně 6 bodů pro vykreslení celého průběhu tahového výkonu a dalších parametrů uváděných v tahové charakteristice. Délka měřicího úseku na betonové dráze byla 100 m. Před každým měřeným úsekem byla ponechána dostatečná dráha pro ustálení měřených parametrů. Zatěžovací soupravu tvořily dva traktory Fendt 936 Vario spojené ocelovým lanem. Při zkoušce byla nastavena plná dodávka paliva. V průběhu celého měření byla zapnuta klimatizace. Během měření byla zaznamenávána data jak ze snímačů externě doplněných pro potřeby zkoušek, tzn. tahová síla, teoretická rychlost, skutečná rychlost, tak ze snímačů, kterými již byly zkoušeny traktory vybaveny, např. hodinová spotřeba paliva, točivý moment, otáčky motoru, teploty provozních náplní, skutečná rychlost atd. K měření tahových sil byl použit tenzometrický snímač, který byl vložen v tažné tyči mezi zkoušeným a zatěžovacími traktory. Skutečná rychlost soupravy byla měřena radarem a teoretická rychlost byla vypočtena z údajů otáček hnacího kola.

Technické parametry traktoru Challenger MT 875B měřeného ve Vyškově

Výrobce CAT C18, číslo motoru: EJGO1152, číslo traktoru AGCCO875TNTLA10119, rok výroby 2008, počet motohodin: 20. Motor: max. výkon 425 kW při 1800 ot/min, navýšení výkonu motoru: 8 % při 1800 ot/min, jmenovité otáčky 2100 min⁻¹, počet válců: 6, převýšení točivého momentu: 42 %, vrtání: 145 mm, zdvih: 183 mm, objem válců: 18,1 dm³, počet ventilů: 24, chlazení motoru: kapalínové, přepřínování: turbodmychadlo (mezichladič vzduch – vzduch), vstřikovací systém: MEUI-ADEM 4 plně elektronický. Převodovka: typ: CAT Powershift, počet převodových stupňů

MENDELNET 2010

16F/4R, pohon pojezdu: mechanický. Rozměry a příslušenství: pásový podvozek: šířka pásu 700 mm, rozvor: 3000 mm, příslušenství: čelní radlice, bez PTO. Celková hmotnost 24 520 kg.

Technické parametry traktoru Challenger MT 875B měřeného v Nebrasce

Místo testu: Nebraska Traktor Test Laboratory, University of Nebraska Lincoln, Nebraska 68583-0832, datum testu: 25.4. – 4.5. 2005, výrobce: AGCO Corp, 4205 River Green Parkway, Duluth Ga 30096. Motor: číslo motoru EJG00101, jmenovitý výkon: 425 kW při 2200 ot/min, max. výkon: 454 kW při 2000 ot/min, max. točivý moment: 2828 Nm při 1400 ot/min, převýšení točivého momentu: 42 %, počet válců: 6, vrtání: 145 mm, zdvih: 183 mm, objem válců: 18,1 dm³, chlazení motoru: kapalinové, přepřínování: turbodmychadlo z mezichladičem. Převodovka: Challenger PowerShift 16F/4R. Rozměry a příslušenství: pojezdové ústrojí: pásy – 915 mm, max. rychlost jízdy 40 km/h. Rozvor 3100 mm, hmotnost: 25 401 kg.



Obrázek 1. Pásový traktor Challenger MT 875B

Popis měřicího zařízeníTenzometrický snímač síly

Snímač síly pocházel z produkce společnosti Hottinger Baldwin Messtechnik GmbH, typ Z4 s rozsahem 500 kN.

Specifikace snímače síly: nominální hodnota síly: 500 kN, třída přesnosti: 0,5, nominální citlivost: 2 mV/V, nastavení nuly: 0,5 %, linearita: 0,03 %, vstupní odpor: >345 Ω , excitace: 0,5 až 12 V, přetížitelnost 150 %, hmotnost: 42 kg.

Indikace úseků

Vytýčené úseky byly indikovány reflexní optickou závorou IFM electronic s reléovým výstupem (12V).

Radar

Pro měření skutečné pojezdové rychlosti, resp. rychlosti vůči zemskému povrchu, byl použit radar RDS TGSS model SR168-6-010 s nominální frekvencí 24,125 GHz. Výkon zářiče činí 0,5 W.

Snímač otáček kola:

Snímač je z produkce firmy LARM Netolice a.s. a jedná se o inkrementální optický snímač s 360 body na jednu otáčku. Výstup je digitální TTL. Signál ze snímače byl připojen na digitální vstup měřící ústředny.



Obrázek 2. Tenzometrický snímač síly HBM Z4

Ostatní použité přístroje:

- Tenzometrický převodník NI 9237
- Měřící ústředna CompactDAQ 9172
- Modul digitálních vstupů NI 9411
- Měřící software

Tahový výkon:

$$P_t = F_t \cdot v_s \quad [\text{kW}],$$

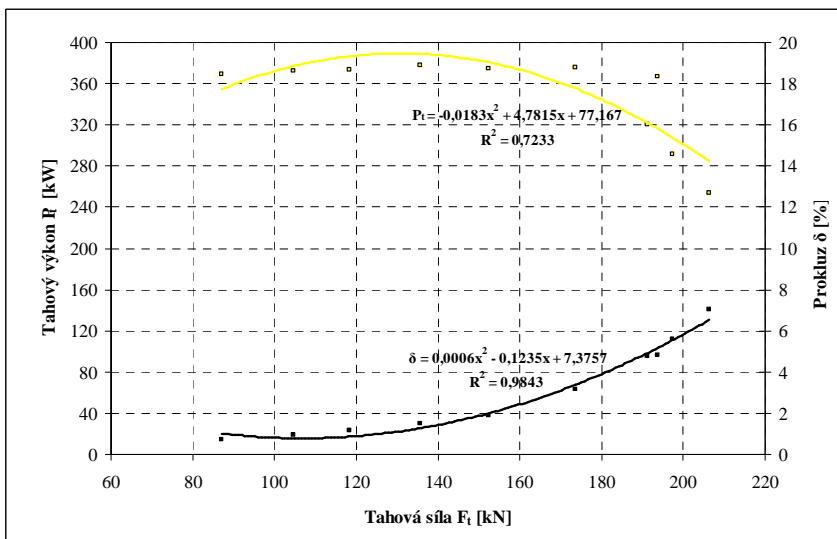
kde:

 F_t - tahová síla [kN], v_s - skutečná rychlost [m.s⁻¹],**Prokluz:**

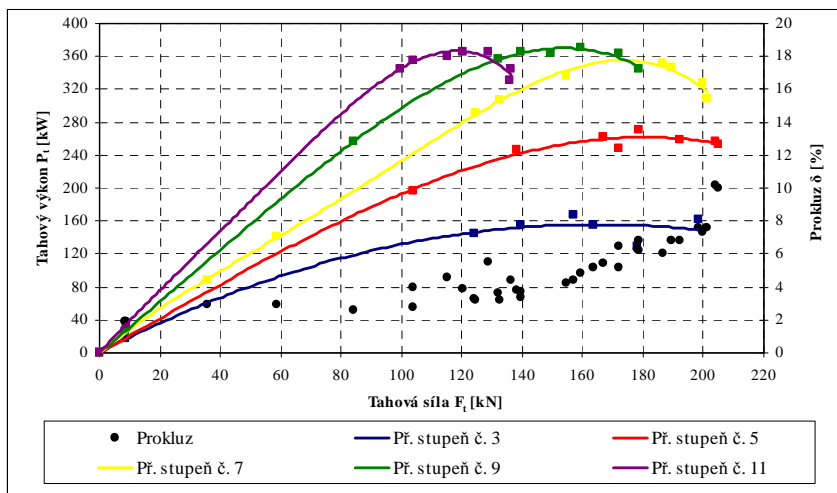
$$\delta = \left(\frac{v_t - v_s}{v_t} \right) \cdot 100 \quad [\%],$$

kde:

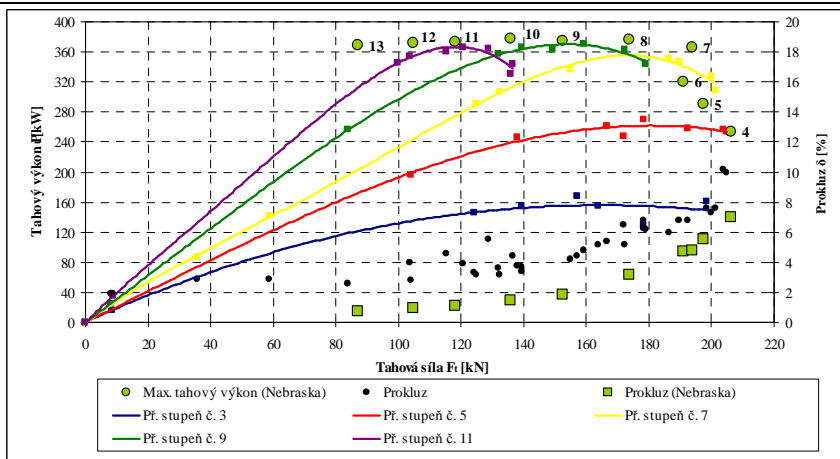
 v_t - teoretická rychlost [m.s⁻¹], v_s - skutečná rychlost [m.s⁻¹],



Obrázek 3. Obalová křivka tahových výkonů traktoru Challenger MT 875B měřeného v Nebrasce



Obrázek 4. Tahová charakteristika traktoru Challenger MT 875B měřeného ve Vyškově



Obrázek 5. Srovnání výsledků tahové charakteristiky traktoru Challenger MT 875B – Nebraska, Vyškov

Data získaná při měření na Mendelově univerzitě nám slouží k sestavení tahové charakteristiky a k porovnání s tahovou charakteristikou naměřenou mezinárodní zkušební laboratoří v Nebrasce. Z grafu na obrázku 3 je zřejmé, že pásový traktor měřený v Nebrasce dosáhl nejvyšší tahové síly 206,2 kN na čtvrtý převodový stupeň při tahovém výkonu 253,5 kW, rychlosti 4,43 km.h⁻¹ a prokluzu 7%, nejvyšší tahový výkon byl 377,7 kW na desátý převodový stupeň při tahové síle 135,7 kN, rychlosti 10 km.h⁻¹ a prokluzu 1,5%. V grafu na obrázku 4 je vynesena tahová charakteristika pásového traktoru měřeného na Mendelově univerzitě. Při tomto měření byla naměřena nejvyšší tahová síla 204,8 kN na pátý převodový stupeň při tahovém výkonu 254,1 kW, rychlosti 4,32 km.h⁻¹ a prokluzu 10%, naopak nejvyšší tahový výkon byl 370 kW na devátý převodový stupeň při tahové síle 159,3 kN, rychlosti 8,3 km.h⁻¹ a prokluzu 4,8%. V grafu na obrázku 5 jsou vyneseny a porovnány tahové charakteristiky zkušebny v Nebrasce a v Brně. Rozdíl nejvyšší naměřené tahové síly činí 1,4 kN, resp. 0,67% vůči traktoru měřeného v Nebrasce. U nejvyššího tahového výkonu činí rozdíl 7,1 kW, resp. 1,9% bereme-li traktor měřený v Nebrasce jako základ. Větší šířka pásů, tedy i větší styčná plocha mezi podložkou a pojezdovým ústrojím a vyšší hmotnost o 881 kg u stroje měřeného v Nebrasce se projevilo minimálním navýšením tahové síly, resp. tahového výkonu a také snížením prokluzu v celém rozsahu měření.

ZÁVĚR

Z výsledků je zřejmé, že v mezinárodní zkušební laboratoři v Nebrasce byla naměřena vyšší tahová síla, vyšší tahový výkon a také nižší prokluz. Tyto rozdíly jsou způsobeny jednak větší styčnou plochou mezi pojezdovým ústrojím a podložkou díky širším pásům o 215 mm a také vyšší hmotností stroje měřeného v Nebrasce o 881 kg. Naměřené rozdíly jsou však velice malé. U tahové síly je rozdíl 0,67% a u tahového výkonu tento rozdíl činí 1,9%, bereme-li za základ traktor měřený v Nebrasce. Větší šířka pásů má příznivý vliv na průběh prokluzu, kdy traktor v Nebrasce vykazoval nižší hodnoty prokluzu v celém rozsahu měření. Další výhodou větší šířky pásů pro koncového uživatele je lepší rozložení hmotnosti stroje a tím spojené i menší utužení půdy.

LITERATURA

1. Bauer, F. A kol.: *Traktory*, Profi Prees, Praha, 2006, 1.vydání, 192 s.,
2. Bauer, F., Sedlák, P., Čupera, J., Šmerda, T., Preč, M., Slavík, J.: *Výsledky měření tahových vlastností traktorů Challenger*. MZLU Brno, 2008. Zpráva ze zkoušek

TECHNOLOGY OPTIONS RENEWAL OF RUNNING LIFE SKIVE FARMET

Vysočanská M., Čičo P., Boriková P., Kotus M.

Department of Quality and Engineering Technologies, Faculty of Engineering, Slovak University of Agriculture in Nitra, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

E-mail: m.tilky@gmail.com

ABSTRACT

In this paper we deal with resistance of skive, which were welded one type of filler material but two ways MAG and TIG welding. The results shows that measured values are less wear on skive with the method used MAG surfacing. After field tests conducted operational and economic assessment was compared size abrasive become worn over the original material skive as well as various methods among themselves. In all MAG welded blades have a higher hardness and smaller than attrition TIG method, but also a etalon. Effect of renovating MIG compared to a standard was 18.3% increase in wear resistance. The results are only partially solve the problem should seek further possibilities to increase resistance farmland instruments, as the resulting effect of reducing costs, reducing downtime and increasing efficiency and production efficiency.

Key words: to face, attrition, running life

ÚVOD

Predsejbová príprava pôdy po orbe patrí k energeticky náročnejším operáciám poľnohospodárskej výroby. Náročná je z hľadiska vynakladania finančných prostriedkov na obstaranie nových orgánov pracovných strojov, ktoré sa opotrebovávajú počas prevádzky obrábaním pôdy. Prostredníctvom renovačných technológií dochádza k snahe znížiť opotrebenie. Tieto technológie zabezpečujú zvyšovanie životnosti strojov a zariadení, šetria nové náhradné diely a materiál. Možnosť ako predĺžiť životnosť pracovného nástroja a zvýšiť odolnosť voči intenzite opotrebenia je naváranie, ktoré nachádza veľké uplatnenie. Technológia navárania obnovuje opotrebovaný povrch nástroja a vo väčšine prípadov zlepšuje pôvodné vlastnosti ako mal pôvodný materiál. Dokonalé využitie vlastností návarových vrstiev vyžaduje znalosť ich prejavu v podmienkach opotrebenia. Úspešnosť renovácie naváraním závisí hlavne od kvality nanesej vrstvy a jej vyplývajúcej trvanlivosti v prevádzke a tiež na ekonomickej výhodnosti.

MATERIÁL A METÓDY

Prevádzkové skúšky sa vykonávali na Kompaktmate K 500 PS 11, kde sme mali k dispozícii desať šípových kypriacich radličiek dodaných výrobcom spoločnosti Farnet a.s. Česká Skalice. Tieto skúšky boli vykonávané v katastri obci Moravany nad Váhom a Banka. Pri realizácii sa použilo 10 šípových radličiek, z toho na 4 radličky sme navarili preventívne návary metódou MAG, na 4 ks metódou TIG rúrkovým návarovým drôtom Fluxodur 62-0 o priemere 1,2 mm (chemické zloženie, vid'. tabuľka 1.) a zvyšné dve pôvodné slúžili ako etalón. Návary boli nanesené na čelnú plochu radličky v šírke 20-25 mm, v jednej vrstve. Tvrdosť návaru udávaná výrobcom je 57 - 62 HRC. Na vykonanie experimentov bolo pri naváraní metódou MAG použité zváracie zariadenie STEL TOP 504-A a pri naváraní metódou TIG invertor TIG 160 AC/DC.

Ochranný plyn pri metóde MAG Feromix C 18 v zložení 82% CO₂ a 18% Ar, pri metóde TIG argón. Pri metóde MAG bol použitý zvárací prúd 160A a pri metóde TIG 108-114A. Každá radlička bola odvážená, úbytok hmotnosti poslúžil k vyhodnoteniu opotrebenia. Meranie opotrebenia sa vykonalo po spracovaní 400 ha.

Tabuľka 1 Chemické zloženie návarovej elektródy Fluxodur 62-0

Table 1 Chemical composition of fusion face electrode Fluxodur 62-0

Prvok	C	Si	Mn	Cr
Obsah (%)	5	1,1	2	27

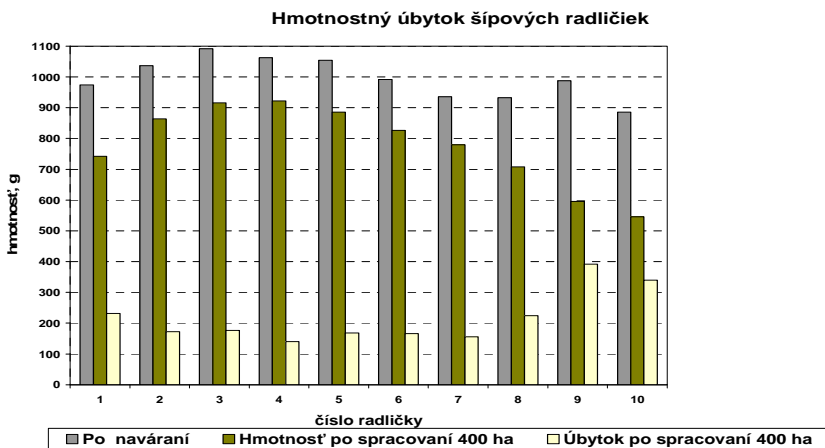
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Namerané hodnoty hmotnosti pred a po naváraní, ako aj vypočítaný hmotnostný úbytok proti opotrebeniu sú uvedené v tab. 2. Grafické vyhodnotenie je na obr.1.

Tabuľka 2 Namerané úbytky hmotnosti

Table 2 Measured weight losses

	Hmotnosť, g:	Pred naváraním, g	Po naváraní, g	Návar, g	Hmotnosť radičky po spracovaní 400 ha, g	Hmotnostný úbytok, g
	Nanášaný materiál / Metóda					
1	Fluxodur 62-0 / etalón	974	974	X	742	232
2	Fluxodur 62-0 / MAG	924	1036	112	864	172
3	Fluxodur 62-0 / MAG	986	1092	106	916	176
4	Fluxodur 62-0 / MAG	970	1062	92	922	140
5	Fluxodur 62-0 / MAG	956	1054	98	886	168
6	Fluxodur 62-0 / TIG	978	992	14	826	166
7	Fluxodur 62-0 / etalón	936	936	X	780	156
8	Fluxodur 62-0 / TIG	920	932	12	708	224
9	Fluxodur 62-0 / TIG	972	988	16	596	392
10	Fluxodur 62-0 / TIG	872	886	14	546	340



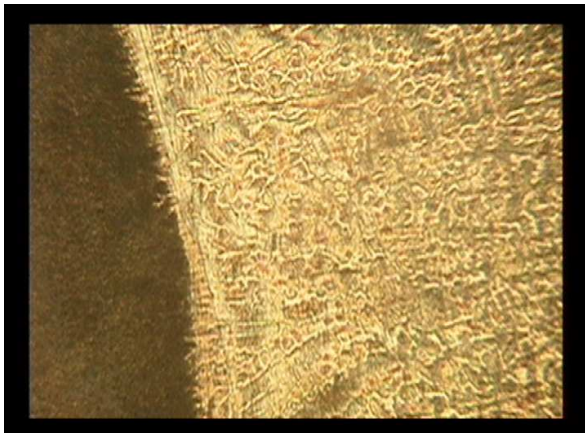
Obr. 1 Úbytky hmotnosti navarených šípových radličiek po 400 ha

Fig. 1 Reductions in the weight of a welded skive to 400 ha



Obr.2 štruktúra vzorky navarená pomocou metódy MAG

Fig.2 Structure of the samples welded by MAG



Obr.3 štruktúra vzorky navarená pomocou metódy TIG

Obr.3 Structure of the samples welded by TIG

Hodnota tvrdosti u pôvodnej radličky bola 21,3 HRC. Pri metóde MAG sa po navarení dosiahla priemerná hodnota 54 HRC. Oproti etalónu je tvrdosť vyššia o 32,7%. Pri metóde TIG bola nameraná priemerná tvrdosť 38 HRC. Pri metóde MAG sa dosiahol nárast tvrdosti oproti metóde TIG o 15%. Mohlo to byť spôsobené, nedodržaním technologických podmienok navárania malou vrstvou návaru a väčším premiešaním prídavného materiálu so základným. Z dosiahnutých výsledkov je zrejmé, že hmotnostné úbytky na radličkách sú nerovnomerné. Veľké rozdiely sú pri TIG metóde 166-392 g, čo predstavuje 136%. Ale aj na etalónoch je rozdiel 156-232g-rozdiel 49%. Vyrovnané hodnoty tvrdosti boli dosiahnuté pri metóde MAG 140 - 176 g, čo predstavuje rozdiel 26%. Najmenší hmotnostný úbytok bol nameraný u radličky č. 4 (MAG) a to 140g. Najväčší hmotnostný úbytok bol nameraný u radličky č.9 (TIG) 392g. V prevádzkových skúškach sa premeriavali aj lineárne úbytky, tie však v príspevku neuvádzam, ale korešpondujú s dosiahnutými výsledkami v úbytkoch hmotnosti. Z dosiahnutých výsledkov je vidieť, že dosiahnuté tvrdosti zodpovedajú aj výsledkom opotrebenia. Na odolnosť voči opotrebeniu vplyva chemické zloženie návarového kovu. Pri oboch technológiách bol použitý ten istý návarový materiál a teda bol predpoklad vzniku rovnakej štruktúry. Z mikroskopického šetrenia je vidieť, že došlo pri metóde TIG k veľkému premiešaniu prídavného a základného materiálu čo sa prejavilo v zmene štruktúry a tým znížení tvrdosti a odolnosti proti opotrebeniu. Výsledná štruktúra pri naváraní TIG má preto aj úbytok hmotnosti podstatne väčší. Rozmiestnenie karbidov v MAG štruktúre (obr.2) má jasne ohraničený ihlicovitý tvar karbidov a v TIG štruktúre (obr.3) je vidieť sieťovitý charakter rozloženia karbidov.

ZÁVERY

V príspevku sme sa zaoberali odolnosťou kypriacich radličiek, ktoré boli navarené jedným druhom prídavného materiálu avšak dvoma spôsobmi navárania MAG a TIG. Z výsledkov je vidieť, že namerané hodnoty opotrebenia sú menšie u radličiek s použitou metódou navárania MAG. Po

prevádzkových skúškach sa uskutočnilo hmotnostné a ekonomické hodnotenie, bola porovnaná veľkosť abrazívneho opotrebenia oproti pôvodnému materiálu radličiek ako aj medzi jednotlivými metódami medzi sebou. Pri metóde MAG všetky navarené radličky mali vyššiu tvrdosť a menšie opotrebenie oproti metóde TIG, ale aj etalónom. Nárast odolnosti proti opotrebeniu, pri renovácii metódou MAG oproti etalónu, predstavoval hodnotu 18,3%. Dosiahnuté výsledky sú len čiastočným riešením problematiky, treba hľadať ďalšie možnosti zvyšovania odolnosti pôdspracujúcich nástrojov, čo vo výslednom efekte zníži náklady, zníži prestoje a zvýši hospodárnosť a efektívnosť výroby.

Príspevok bol vypracovaný v rámci riešenia grantového projektu VEGA 1/0576/09 (2009-2011) – „Zvyšovanie kvality poľnohospodárskych strojov a výrobných zariadení“

LITERATÚRA:

1. Bošiak, M. – Čičo, P. 2009. Verification of the resistance of hard facing metals in condition of abrasive wear – Overenie tvrdonávarových materiálov v podmienkach abrazívneho opotrebenia, Medzinárodná študentská vedecká konferencia, Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, str. 49-53, - ISBN 978-80-552-0208-2
2. Bujna, M. – Čičo, P. 2009. Technical life of undermine chisels renovated of the hard surfacing - Technický život podryvacích dlát renovovaných naváraním, Výrobné inžinierstvo, číslo 4, ročník VIII., Košice: Technická univerzita, str. 41-42, ISSN 1335 7972
3. Kotus, M. – Bujna, M. 2007. Abrasive wear measuring in operations – Meranie veľkosti abrazívneho opotrebenia v prevádzke, Zborník z medzinárodnej vedeckej konferencie Bezpečnosť – kvalita – spoľahlivosť, Košice – ISBN 978-80-8073-828-0
4. Pošta, J. – Havlíček, J. – Černovol, M. 1998. Renovace strojních součástí./ Vedecká monografie/, 2. vydání, Praha: Česká tribologická společnost, 160 s., ISBN 80-902015-6-3
5. Vydrošková, M. – Čičo, P. 2010. Zlepšenie odolnosti podryvacích radličiek naváraním/ XII. Medzinárodná vedecká konferencia mladých 2010/, Nitra: Zborník vedeckých prác, SPU, 240 s., ISBN 978-80-552-0441-3

INSECT AS FOOD IN CZECH REPUBLIC

Bednářová M.¹, Borkovcová M.¹, Zorníková G.², Zeman L.³

¹Department of Zoology, Fisheries, Hydrobiology and Apidology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

²Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

³Department of Animal Nutrition and Forage Production, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xhonigov@node.mendelu.cz

ABSTRACT

During the last decade interest in entomophagy had increased rapidly in developed countries all around the world, including Europe and Czech Republic. This caused growing need to find ways and possibilities, how to include insect to human consumption in the area of Czech Republic. Concerning this topic we dealt with four issues: Aspects of collecting freely living insect from nature for entomophagy purposes; acceptability of insect as food for Czech people; nutrition value of insect and possibilities of using insect as functional food; and legislative conditions for breeding and distribution of edible insect in the Czech Republic.

Up to now observations, interviews and analyses led into following conclusions: It is not possible to collect freely living insect under the conditions of Czech Republic. Environmental indexes, such as biodiversity index, tended to disvalue. Interview respondents are in general agreeable with the idea of eating insect, but they would prefer food, in which the insect is not visible. Insect has the potential to be used as functional food, while its nutritional value is highly affected by feeding ration. It is not possible to breed and sell insect as food or feedstock for food production, because of the lack of necessary laws. However, legislative frame is prepared in cooperation with EU.

Up to now results and public interest evoke the need to continue with analyses of insect nutritional value.

Key words: public interest, legislative frame, nutrition value

Acknowledgments: This study was supported by the Research Project IGA “The effect of livestock feed additives on their efficiency parameters and animal products quality” no. 8/2010.

ÚVOD

V posledním desetiletí došlo ke zvýšení zájmu o entomofáгии ve vyspělých zemích, po celém světě, Evropu nevyjímaje (Ramos-Elorduy, 1997). Roste také zájem i v České Republice. Z tohoto zájmu vyplývá nutnost najít cestu a možnosti, jak zařadit hmyz do jídelníčku člověka v podmínkách České republiky. V rámci zkoumání možností konzumace hmyzu jsme se zaměřili na čtyři základní témata. První je otázka, zda lze hmyz pro účely entomofáגיע sbírat v České republice volně v přírodě, jako se to dělá například ve státech Střední a Jižní Ameriky či v Thajsku. Dále jsme se zabývali tím, nakolik je pro obyvatele České Republiky hmyz jako potravinu přijatelný. Dalším aspektem byla výživná hodnota hmyzu a možnost využití hmyzu jako funkční potraviny. V neposlední řadě je třeba vzít na vědomí fakt, že chov a kuchyňská úprava hmyzu v České Republice zatím nemá legislativní rámec.

MATERIÁL A METODIKA

SBĚR BEZOBRATLÝCH VE VOLNÉ PŘÍRODĚ

Na dvou ekologických zahradách v odlišných klimatických podmínkách v okrese Brno-venkov a Šumperk byl v letech 2005-2008 chytán starou indiánskou metodou (DeFoliart, 1982) rovnokřídlý hmyz, a to vždy 1 x za 14 dnů v množství 150 ml. Zástupci řádu rovnokřídílí (Orthoptera) byli vybráni pro svou dostupnost prakticky po celou vegetační sezónu, jsou lehce odlovitelní a jsou to druhy vhodné pro entomofáגיע. Sběr byl prováděn od dubna do října. Rovnokřídílí zachycení v nádobách s vodou byli okamžitě vybírání do odměrného válce, především větší kusy. Ostatní rovnokřídílí a další bezobratlí byli bezprostředně po odběru potřebných jedinců vypuštěni zpět do trávy, aby nedošlo k jejich zbytečnému usmrcení. Chycení rovnokřídílí byli usmrceni v mrazicím boxu chladničky, determinace nalezených druhů do rodů byla následně provedena na Ústavu zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství. Pro potřeby této práce byly ze zjištěných výsledků spočítány následující základní ekologické indexy: Index dominance, index druhové diverzity, ekvitabilita a abundance.

Index dominance vyjadřuje zastoupení jednotlivých populací v celkovém počtu jedinců biocenózy. Index druhové diverzity – Shannon-Wienerův index, který zachycuje nejen počty druhů, ale zohledňuje i rozložení jedinců jednotlivých druhů. Čím je index vyšší, tím větší počet druhů s nižší početností se v biocenóze vyskytuje. Ekvitabilita čili vyrovnanost vyjadřuje míru rovnoměrného zastoupení jednotlivých druhů v biocenóze. Ekvitabilita dosahuje hodnot od 0 do 1. Čím více se blíží k jedné, tím je společenstvo početně vyrovnanější. Abundance neboli početnost je jednoduchou charakteristikou, představující celkový počet jedinců v populaci.

DOTAZNÍKY

První dotazníky vznikly v roce 2003 a byly rozdávány účastníkům přednášek. Obsahovaly pouze základní otázky (Tab. 1).

Tab. 1: Otázky a jejich vyhodnocení v dotazníku z roku 2003

Ochutnali jste hmyz na přednášce?	Ano (94%)	Ne (6%)
Ochutnali jste hmyz již předtím (např. v zahraničí)?	Ano (24)	Ne (76%)
Chutnal Vám?	Ano (99%)	Ne (1%)
Dáváte přednost tomu, že hmyz není v potravině vidět?	Ano (63%)	Ne (37)

Vyhodnocení dotazníku potvrdilo zájem o jedlý hmyz v České republice, s ukazatelem, že pro zjištění skutečných potřeb a přání strávníků je třeba dotazník rozšířit. Proto byl sestaven dotazník číslo 2 (Tab. 2).

Tab. 2: Vzor v současnosti používaného dotazníku

1. Slyšeli jste už termín entomofágie?	ANO	NE
2. Ochutnal/a jste již hmyz? Je-li Vaše odpověď na tuto otázku „NE“, pokračujte, prosím, otázkou č.7	ANO	NE
3. Bylo to v:	ČR	zahraničí
4. Chutnal Vám hmyz?	ANO	NE
5. Vadilo Vám něco při konzumaci hmyzu? (Případně můžete uvést, co)	ANO	NE
6. Vzpomínáte si, o jaký druh hmyzu šlo? (Případně můžete uvést druh)	ANO	NE
7. Konzumaci hmyzu vnímáte spíše jako:	raritú	jednou běžnou součástí jídelníčku
8. Chcete v budoucnu jíst hmyz? Je-li Vaše odpověď na tuto otázku „NE“, pokračujte, prosím, otázkou č.13	ANO	NE
9. Preferujete potraviny, ve kterých hmyz není vidět?	ANO	NE
10. Které formě použití hmyzu byste dal/přednost?	a) nápoj b) extrakt c) pouze celý hmyz d) celý hmyz jako součást	
11. Zajímala by Vás literatura o této problematice?	ANO	NE

ROZBORY

Pro možnost zařazení celého hmyzu, případně částí hmyzu, resp. extraktů z hmyzu do jídelníčku člověka je nutné znát přesné výživové hodnoty i obsahy dalších, potenciálně nebezpečných látek. Proto byly navrženy pokusy s různými typy krmných dávek u pěti druhů hmyzu nejčastěji chovaných v České republice. Jedná se o tyto druhy: Larvy potměnka moučného, larvy potměnka brazilského, cvrček stepní, šváb argentinský, saranče stěhovavá. Na základě výsledků předcházejících rozborů (Borkovcová a Bednářová, 2010) budou v dalších sledováních sestaveny krmné dávky s přidáním karotky,

pivovarských kvasnic, sušené syrovátky, případně potravin s vysokým obsahem omega 3 mastných kyselin (šalvěj španělská, len setý), plus kontrolní skupina. Kromě stanovení základních nutričních hodnot, bude cílem také zjistit, zda je možno tyto hodnoty ovlivnit přidáním určité látky či úplnou změnou krmiva. Po 14 dnech krmení danou potravinou bude provedena analýza nutričního složení.

LEGISLATIVA

Vzhledem k tomu, že v České republice dosud neexistuje platná legislativa pro účely chovu a prodeje hmyzu jako potraviny pro člověka, obrátili jsme se na Ministerstvo zdravotnictví a orgány Státní hygienické správy s cílem vyvolat jednání o podmínkách a možnostech zavedení hmyzu jako potraviny, případně doplňku výživy.

VÝSLEDKY A DISKUZE

SBĚR BEZOBRATLÝCH VE VOLNÉ PŘÍRODĚ

Celkem bylo na obou sledovaných lokalitách zachyceno 12 druhů zástupců řádu rovnokřídlí, z nichž všechny lze využít v entomofágii. Výskyt jednotlivých druhů kolísal podle sezóny a klimatických podmínek jednotlivých zahrad. Ze získaných hodnot byly spočítány ekologické indexy pro každou zahradu jednotlivě.

Zatímco ekvitabilita, index dominance a abundance nevykazovaly známky ovlivnění sběrem hmyzu, z hodnot indexu druhové diverzity vyplývá, že odběr za daných podmínek ovlivnil druhovou diverzitu rovnokřídlých na sledovaných lokalitách. Tyto výsledky jednoznačně směřují k doporučení nesbírat v České republice hmyz v přírodě, a to ani na soukromých pozemcích a biozahradách. Odběr hmyzu ze specializovaných kontrolovaných chovů se naopak jeví vhodnou metodou.

DOTAZNÍKY

Dotazník je používán velmi krátkou dobu, v této práci jsou výsledky vyhodnocení odpovědí pouze od 169 respondentů.

Z dílčích výsledků dotazníkové akce vyplývá, že o hmyz je stále velký zájem. V podmínkách České republiky se zájem těch, kteří dosud hmyz nekonzumovali a neseťkali se s ním ani v cizině, orientuje spíše na použití extraktů nebo drceného hmyzu, tak aby na potravině nebylo zřejmé, že hmyz obsahuje. Takto je pro většinu respondentů snáze přijatelný.

Práce podobného druhu jsou sporadické. Známé jsou například výsledky senzorických testů z Itálie, kde byly hodnoceny senzorické vlastnosti těsta na pizzu, do něhož byli přidáni podrcení mouční červi. Respondenti tohoto dotazníku jednoznačně kladně hodnotili chuťovou odlišnost těsta s přidanými červy.

Jako první byly provedeny rozborů základních nutričních hodnot u potměníka moučného, potměníka brazilského a cvrčka stepního krmných základní dietou – pšeničnými otrubami, jablky a čínským zelím ad libitum (Anonym, 1997 a 2001) (Tab. 3). Z rozborů vyplynula celkem vysoká kalorická hodnota sledovaných druhů hmyzu, daná především poměrně vysokým obsahem tuku.

Tab. 3: Základní nutriční hodnoty potměníka moučného a cvrčka stepního

	%sušiny	% tuku	BE MJ/kg	prům % NL
Potměník moučný	29,412	37,570	26,995	46,984
Cvrček stepní	33,898	34,550	24,614	59,162

Námi zjištěné hodnoty jsou srovnatelné s údaji uváděnými některými dalšími autory (Barker et al, 1998), o výsledků jiných autorů se naopak liší (Bukkens, 1997; Jones et al., 1972). Tyto odlišnosti mohou být způsobeny mnoha různými důvody, například prováděním rozborů v jiných fázích vývoje, výkrm prováděný v odlišných chovatelských podmínkách prostředí (teplota, vlhkost), ale především odlišným složením krmné dávky.

V dalších testech byla sledována odlišnost nutričních hodnot hmyzu při doplnění základní krmné dávky o další nutriční elementy – mrkev, sušená syrovátka a pivovarské kvasnice. Výsledky jsou uvedeny v Tab. 4.

Tab. 4: Nutriční složení hmyzu při krmění upravenými krmnými dávkami

Číslo diety		sušina vzorku	%	% lab. sušiny			
				lab. suš.	popel	tuk	vláknina
1	normalní krmění (NK)	41,954	95,63	2,64	47,95	5,26	38,662
3	NK+karotka	38,664	96,16	2,74	44,98	5,11	40,714
2	NK+piv.kvasnice	37,157	93,94	2,65	46,85	5,22	39,613
4	NK+suš.syrovátka	40,969	95,29	2,72	47,16	5,62	39,799

Podobné výsledky zjistili i další autoři, totiž že výsledné složení hmyzu lze výrazně ovlivnit složením krmné dávky a ačkoli tyto práce byly prováděny u hmyzu s cílem zařadit ho jako funkční potravinu při výživě zájmových zvířat (DeFoliart, 1982; Martin et al., 1976; Borkovcová et al., 2005), je zřejmé, že stejných výsledků může být dosaženo při odchovu zvířat pro účely výživy člověka. Bylo by tak možné doplňovat běžně konzumované potraviny provitaminem A, železem, vitamíny skupiny B, nebo kalcie (Klasing, 2000).

Výsledky rozborů prováděných v letech 2003-2010 ukázaly však také na nebezpečí spojené s konzumací hmyzu krmného umělé dietou, a sice zvýšenou koncentrací těžkých kovů. Vzhledem

k tomu, že monodieta (základní krmná dávka) je tvořena otrubami, ve kterých je vyšší koncentrace těžkých kovů oproti mouce, hrozilo by potenciálně zvýšené nebezpečí vyššího příjmu těžkých kovů právě po konzumaci hmyzu. Dílčí výsledky rozborů dvou nejčastěji konzumovaných druhů hmyzu na těžké kovy jsou uvedeny v Tab. 5. Z tohoto pohledu se jeví spíše jako nutnost krmnou dávku vytvářet kombinací různých krmiv.

Tab. 5: Obsah těžkých kovů v sušině druhů *Gryllus assimilis* a *Tenebrio molitor*

druh	Sušina g/kg ⁻¹	Ve 100% sušiny					
		Popelovina g/kg ⁻¹	Těžké kovy (mean±S.D.) mg/kg ⁻¹				
			Pb	Cd	Mn	Zn	Cu
<i>Gryllus assimilis</i>	327.53	41.92	0.026	0.071	0.654	185.71	25.465
	-338.98	±1.06	±0.0119	±0.0225	±0.1008	±25.559	±1.2951
<i>Tenebrio molitor</i>	286.15	38.69	0.023	0.113	0.171	119.42	16.391
	-294.12	±0.77	±0.0078	±0.0451	±0.0597	±28.364	±1.3448

Obsah aminokyselin

Detailní rozborby bílkovinné složky ukázaly na poměrně vysoké zastoupení esenciálních aminokyselin. Zjištěné hodnoty jsou uvedeny v Tab. 6. Částečně se tyto výsledky shodují s ostatními autory (Finke, 1984; Nakagaki et al., 1987), kteří rovněž poukazují na vysoký podíl esenciálních aminokyselin, i když obsahy jednotlivých aminokyselin se různí.

Tab. 6: Obsah jednotlivých druhů aminokyselin u druhů *Gryllus assimilis* a *Tenebrio molitor*

	Eenciální aminokyseliny												
	Cys	Met	ΣCys+Met	Lys	Thr	Arg	Ile	Leu	Tyr	Phe	His	Val	Trp
G. assimilis	1,04	1,16	2,20	9,29	3,88	12,02	3,12	6,14	5,68	0,74	1,95	5,10	0,51
T. molitor	1,01	1,03	2,04	9,52	4,34	10,11	3,73	6,55	4,36	0,82	2,45	5,86	0,32

V průběhu rozborů na složení tuku prováděných v letech 2003-2010 byly zjištěny výrazné rozdíly v obsahu jednotlivých druhů mastných kyselin (Borkovcová et al., 2005). Zejména výrazně kolísá obsah esenciálních mastných kyselin (omega 3, 6, 9). Pro upřesnění příčiny tohoto kolísání je nutné provést ještě mnoho testů, než bude příčina odhalena. Případně stanoveno obsahové rozmezí. Ke stejným závěrům došli také autoři dalších prací, (Pennino et al., 1991) jejichž výsledky rovněž indikují výrazné kolísání v obsahu omega 3-9 mastných kyselin (Finke, 2002). Obsah mastných kyselin u dvou základních druhů hmyzu a dále obsah v kuklách, svlečkách, u zanedbaných moučných červů a v jejich trusu je uveden v Tab. 7.

Tab. 7: Obsah mastných kyselin

ozn.vz.	cvrček	moučný č.	kukly	svleč.	zanedb.	trus
MK						
C8:0	0,000	0,000	0,000	0,616	0,611	0,000
C10:0	0,000	0,000	0,000	0,160	0,147	0,000
C12:0	0,070	0,211	0,141	0,063	0,058	0,057
C14:0	0,721	3,392	2,057	0,890	0,970	0,324
C16:0	26,095	14,515	20,305	29,615	29,277	17,780
C16:1	2,080	2,950	2,515	3,337	3,463	0,239
C18:0	7,640	3,128	5,384	5,031	4,842	2,855
C18:1	27,341	48,254	37,798	42,156	41,997	20,477
C18:2n6	33,701	26,323	30,012	17,226	17,846	52,890
C18:3n6	0,034	0,063	0,049	0,084	0,097	0,121
C18:3n3	1,234	0,843	1,039	0,544	0,451	3,917
C20:0	0,320	0,144	0,232	0,178	0,161	0,574
C20:1	0,107	0,089	0,098	0,094	0,072	0,764
C20:4n6	0,154	0,037	0,096	0,000	0,000	0,000
C20:5n3	0,186	0,027	0,107	0,000	0,000	0,000
C22:4n6	0,053	0,027	0,040	0,000	0,000	0,000
C22:6n3	0,266	0,000	0,133	0,000	0,000	0,000

LEGISLATIVA

V roce 2008 jsme vstoupili v jednání s Ministerstvem zdravotnictví ČR s cílem zjistit stanovisko ministerstva k problematice jedlého hmyzu v České republice. Bylo konstatováno, že zájem o hmyz jako potraviny v našem státě roste, je však třeba vytvořit legislativní rámec pro jeho chov a využití. Souběžně byl v této věci zahájen blok přednášek pro pracovníky krajských hygienických stanic a jednání v EU prostřednictvím zástupce České republiky z komise pro potraviny nového typu.

Na základě tohoto jednání jsme obdrželi Stanovisko Ministerstva zdravotnictví v záležitosti entomofágie, jehož hlavní body zde uvádíme ve zkráceném znění:

Stanovisko PS PNT k případu „Hmyz jako potravina“

Na prvních jednáních souvisejících s touto problematikou bylo konstatováno, že problematika „hmyzu jako potraviny“ by mohla spadat do účinnosti Nařízení EP a R č. 258/97 k potravinám nového typu a uvedená problematika bude konzultována v rámci pracovní skupiny pro PNT (CAFAB) při DG SANCO (EK).

Byly provedeny následující kroky:

1. PS PNT provedla inventuru případů, které byly řešeny na zasedáních CAFAB a v rámci dotazů členských států (ČS) a které se týkaly možného použití „hmyzu jako potraviny“.
2. Ing. Borkovcová připravila seznam druhů hmyzu, které je možno použít k uvedenému účelu
3. Dne 14. 12. 2009 a opakovaně 15. 2. 2010 byly zaslány PS PNT e-maily do CAFAB a jednotlivých ČS s dotazem na statut a historii užití „hmyzu jako potraviny“

Ze zaslanych stanovisek ČS vyplynulo:

problematika „hmyzu jako potraviny“ by spadala pod legislativu v oblasti potravin nového typu a pod nově revidované Nařízení, které je v současné době v legislativním procesu schvalování.

celý hmyz (whole insect) nespadá pod platné Nařízení EP a R č. 258/97.

Některé druhy hmyzu mají v EU historii užití před 15. 5. 1997 (např. sarančata, cvrčci, moučnický červ)

Problematika použití hmyzu jako potraviny není ve „veterinární“ legislativě ošetřena (způsob získávání hmyzu, způsob chovu vývojových stádií hmyzu, druh použitého krmiva a hodnocení zdravotní nezávadnosti hmyzu před použitím jako potraviny či ve stravovacích službách)

Ministerstvo zdravotnictví nemá v úmyslu bránit konzumaci hmyzu, přestože není platná legislativa. Proto bylo s pracovníky Hygienické služby dohodnuto, že hmyz bude mít do vytvoření nové legislativy EU postavení podobné jako tatarský biftek – v restauraci je konzumován na vlastní nebezpečí.

ZÁVĚR

Výzkum potvrdil, že sběr hmyzu ve volné přírodě způsobem námi zvoleným vede k poklesu biodiverzity. Z toho vyplývá, že sběr ve volné přírodě nebude v podmínkách České republiky možný. Je třeba získávat hmyz z velkochovů.

Dotazníky potvrdily stálý a rostoucí zájem veřejnosti o entomofáгии, a to jak v řadách laiků, tak i odborníků. Obecně lidé upřednostňují pokrmy, v nichž hmyz není vidět. Mnozí by uvítali potraviny doplněné o extrakty z hmyzu.

Výsledky rozborů ukazují, že výživná hodnota hmyzu je vysoká a lze ji ovlivnit krmivem. Je tedy teoreticky možné chovat hmyz jako funkční potravinu.

Zájem veřejnosti si vynutil zájem dotčených institucí. V současné době probíhá úprava legislativy Evropské unie, která umožní legální chov hmyzu pro účely zpracování jako potravin pro člověka, případně pro výrobu extraktů z hmyzu.

Z dosavadních výzkumů týkajících se jak nutričního složení, tak zájmu veřejnosti i legislativy, je zřejmé, že se hmyz jeví jako perspektivní komodita a dieteticky vhodný doplněk stravy. K upřesnění těchto závěrů je třeba provádět další sledování.

LITERATURA

- Anonym, 1997: Vyhlaška 293/1997 Sb. MZd. o způsobu výpočtu a uvádění výživné (nutriční) hodnoty potravin a označení údaje o možném nepříznivém ovlivnění zdraví.
- Anonym, 2001. Postupy laboratorního zkoušení krmiv, doplňkových látek a premixů II. ÚKZÚZ Brno, 233 s.
- Barker, D., Fitzpatrick, M.P., Dierenfeld, E.S., 1998: Nutrient composition of selected whole invertebrates. *Zoo Biology*, 17 (2): 123-134
- Borkovcová, M, Hönišová, M., Kráčmar, S., 2005: Insect as a part of pets and farm animals diet. In VI. Kábrtovy dietetické dny. 1. vyd. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně, 2005, s. 101-104. ISBN: 80-7305-521-X.
- Borkovcová, M, Bednářová, M., 2010: Historie a současnost entomofágie. *Výživa a potravin*, 65: 67-69
- Bukkens, S.G.F., 1997: The nutritional value of edible insects. *Ecology of food and nutrition* 36 (2-4): 287-319
- DeFoliart, G.R., Finke, M.D., Sunde, M.L., 1982: Potential value of the Mormon cricket (Orthoptera: Tettigoniidae) harvested as a high protein feed for poultry. *J. Econ Entomol.*, 75: 848-852
- Finke, M.D., Sunde, M.L., DeFoliart, G., 1984: An evaluation of the protein quality of Mormon crickets (*Anabrus simplex* Haldeman) when used as a high protein feedstuff for poultry. *Poult Sci.*, 64:708-712
- Finke, M.D., 2002: Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. *Zoo Biology*, 21 (3): 269-285
- Jones, L.D., Cooper, W., Harding, R.S., 1972: Composition of mealworm *Tenebrio molitor* larva. *J. Zoo Anim Med.*, 3:34-41.
- Klasing, K.C., Thacker, P., Lopez, M.A., Calvert, C.C. 2000: Increasing the calcium content of mealworms (*Tenebrio molitor*) to improve their nutritional value for bone mineralization of growing chicks *J Zoo Wildl Med.*, 31: 512-517
- Martin, R.D., Rivers, J.P.W., Cowgill, U.M., 1976: Culturing mealworms as food for animals in captivity. *Int Zoo Yearb.*, 16:63-70
- Nakagaki, B.J., Sunde, M.L., DeFoliart, G., 1987: Protein quality of the house cricket *Acheta domestica*, when fed to broiler chicks. *Poult. Sci.*, 66:1367-1371
- Pennino, M., Dierenfeld, E.S. Behler, J.I., 1991: Retinol, alfa-tocopherol and proximate nutrient composition of invertebrates used as feed. *Int Zoo Yearb.*, 30:143-149
- Ramos-Elorduy, J., 1997: Insects: A sustainable source of food? *Ecology of food and nutrition*, 36 (2-4): 247-276

EVALUATION AND COMPARISON OF TOTAL POLYPHENOLS CONTENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY IN CHOSEN VARIETY PEARS AND APPLES FROM DIFFERENT CULTIVATION AREAS OF SLOVAKIA

Bončíková D., Tomáš J., Tóth J., Szabóová G.

Department of Chemistry, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

E-mail: dominika.boncikova@gmail.com

ABSTRACT

Polyphenolic compounds are effective antioxidants regarding their ability to react with free radicals of fatty acid and oxygen (free radical scavenging effect). One of the richest sources of polyphenolic compounds in human nutrition are apples (*Malus pumila* Mill.) and (*Pyrus communis*) that contain abundant complex. Our work goal focused of total polyphenols content and antioxidant activity in three varieties of pears and apples. These chosen antioxidant were determined by spectrophotometric method and for determination of total polyphenols were chosen method of Lachman. Average content of total polyphenols in selected varieties of pears was 874.938 mg.kg⁻¹, with a higher content of total polyphenols, we found in a variety Bohemica 1361.822 mg.kg⁻¹. The contents of total polyphenols in apples of varieties ranged from 496.7 mg.kg⁻¹ in the variety Idared and 3880 mg.kg⁻¹ in the Fuji variety. Total antioxidant activity of apples was higher than that of varieties of pears. Relationships between content of total polyphenols and antioxidant activity is affected by varietal differences.

Key words: apples, pears, antioxidant activity, total polyphenols contents

ÚVOD

Polyfenoly a fenolové zlúčeniny predstavujú jednu z najpočetnejších a najviac zastúpených skupín rastlinných metabolitov a tvoria súčasť stravy ľudí. Je známych viac než osemtisíc fenolových zlúčenín. Polyfenoly sú produkty sekundárneho metabolizmu rastlín. Môžu tvoriť jednoduché molekuly, ako sú fenolové kyseliny, až po vysoko polymerizované zlúčeniny (taníny) (Mandelová, 2005).

Termín fenolové zlúčeniny sa používa pre komponenty s aromatickou kruhovou štruktúrou a s jednou alebo viacerými hydroxylovými skupinami. Fenoly sú esenciálne zlúčeniny v rastlinách pre rast a pre reprodukciu, chránia rastlinu pred ultrafialovým žiarením a patogénmi. Rastlinné fenoly sú syntetizované v rastline cez kyselinu šikimovú, pri ktorej fenylalanín zohráva centrálnu úlohu (Olthof, 2001).

Obsah fenolických látok v prírodných materiáloch je pomerne variabilný v závislosti od jednotlivých druhov plodín, ale aj ich odrôd. Je podmienený geneticky a ovplyvňovaný pedoklimatickými alebo agronomickými environmentálnymi podmienkami (Drewnowski a Gomez, 2000).

Antioxidantom je z chemického hľadiska každá chemická látka, ktorá zabráni oxidácii zlúčeniny reaktívnym metabolitom tým, že sama oxiduje. Antioxidanty majú význam v potravinárskom priemysle tým, že zvyšujú stabilitu potravín. Z biologického hľadiska významný antioxidant je taká zlúčenina, ktorá v malej koncentrácii v reakcii s reaktívnym metabolitom tvorí relatívne stabilné a netoxické produkty a tým chráni bunky, tkanivá a celý organizmus pred oxidačným poškodením voľnými radikálmi (Šilhár et al., 2004).

”Antioxidačná sila” potravín je výrazom ich schopnosti ako brániť ľudský organizmus proti pôsobeniu voľných radikálov a zabrániť vzniku degeneratívnych ochorení, ktoré vyplývajú z pretrvávajúceho pôsobenia oxidačného stresu (Majo et al. 2008).

Výsledok aktivity antioxidantu je ochrana biologicky dôležitých molekúl a tým v konečnom dôsledku buniek, tkanív a celého organizmu pred oxidačným poškodením voľnými radikálmi. Antioxidanty môžu chrániť ľudský zárodok pred poškodením a mutáciami, bránia vzniku nádorových ochorení, chránia niektoré enzýmy a vitamíny (Kyselovič, 2002).

Jablká a hrušky patria na Slovensku medzi najžiadanejšie ovocie, ktoré sa najväčšou mierou podieľa na harmonickej výžive obyvateľstva. Jablká sa zaraďujú do čeľade *Rosaceae* (Ružovité), podčeľade *Pomoideae* (Jablonové) a tvoria samostatný rod *Malus* s väčším počtom druhov. Jablká a hlavne jablkové šupky sú významným zdrojom látok so silnou antioxidačnou aktivitou, ktorá pomáha v prevencii oxidácie lipidov a DNA. Pokusy *in vivo* dokazujú schopnosť jabĺk znižovať úroveň cholesterolu. Tieto účinky sú pripisované hlavne polyfenolovým látkam (Boyer a Liu, 2004).

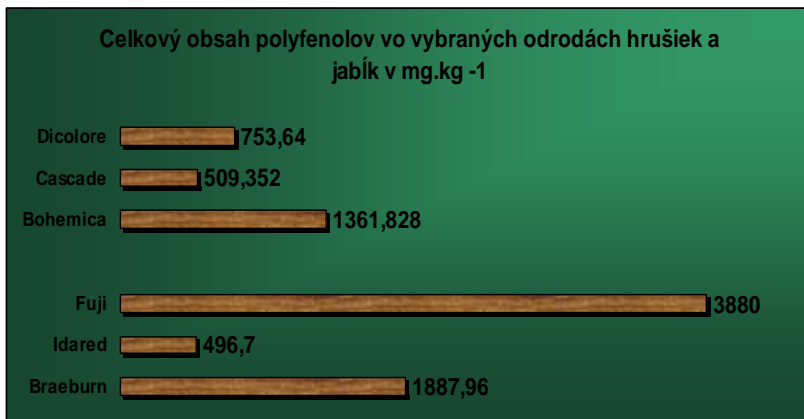
Hrušky (*Pyrus communis*) patria do čeľade *Rosaceae* (Ružovité). Ich pôvod siaha do Strednej Ázie. Hrušky vďaka svojim diuretickým účinkom pomáhajú znižovať krvný tlak a pomáhajú proti hnilobným procesom v črevách (Pamplona, 2005).

MATERIÁL A METODIKA

Analyzované rastlinné vzorky hrušiek a jablák sme pre potreby tohto experimentu odobrali z PD Topolníky, PD Hrušov, PD Nové Zámky, Gemerprodukt Valice (Rimavská Sobota). Na realizáciu pokusu sme vybrali 3 odrody jablák (*Malus sp.*) (Fuji, Idared, Braeburn) a 3 odrody hrušiek (*Pyrus communis*) (Bohemica, Cascade, Dicolore). V získaných vzorkách hrušiek a jablák sme sledovali celkovú antioxidačnú aktivitu vybraných odrôd a zmeny antioxidačnej aktivity v závislosti od odrodovej diferencie. Celkovú antioxidačnú aktivitu (TAC) v % sme merali pomocou radikálu DPPH (2,2-difeny-1-pikrylhydrazyl) spektrofotometricky pri vlnovej dĺžke 515,6 nm. V získaných vzorkách sme stanovili obsahy polyfenolových látok spektrofotometricky s použitím Folin-Ciocalteuovho skúmadla. Absorbanciu sme merali pri vlnovej dĺžke 765 nm proti slepému pokusu

VÝSLEDKY A DISKUSIA

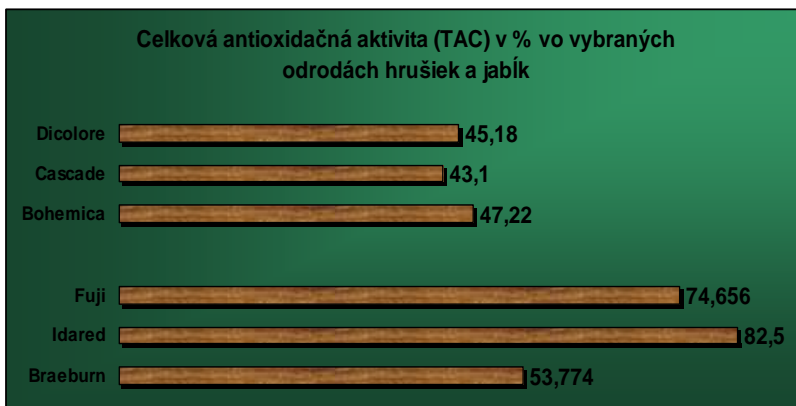
Graf č.1



Z grafu č.1 vyplýva, že najvyšší obsah celkových polyfenolov vo vybraných odrodách hrušiek sme zaznamenali pri odrode Bohemica 1361, 822 mg.kg⁻¹, naopak najnižší pri odrode Cascade 509, 352 mg.kg⁻¹. Odroda Dicolore vykazovala hodnotu celkových polyfenolov 753,64 mg.kg⁻¹. Priemerná hodnota obsahu celkových polyfenolov vo vybraných odrodách hrušiek predstavovala 874, 938 mg.kg⁻¹. Z grafu je zreteľný veľký rozptyl nameraných hodnôt, čo je samozrejme pre odrodovú diferenciu. Nami zistené výsledky však prekračujú dosiahnutú hodnotu autorov Tariöven Dilek et al. (2005), ktorí udávajú hodnoty celkových polyfenolov hrušiek v rozmedzí 196 – 457 mg.kg⁻¹. Jablká sa celkovo vyznačovali vyššou antioxidačnou aktivitou v porovnaní

s hruškami, pričom priemerný obsah celkových polyfenolov z vybraných odrôd jabĺk predstavoval 2088, 22 mg.kg⁻¹. Najvyšší celkový obsah polyfenolov bol nameraný pri odrode Fuji a to 3880 mg.kg⁻¹ a najnižší pri odrode Idared 496,7 mg.kg⁻¹. Podľa Leja et al.(2003), Napolitano et al. (2004) polyfenoly prítomné v jablčnom extrakte sú zodpovedné za antioxidačnú aktivitu.

Graf č.2



Z uvedeného grafu je zjavné, že analyzované odrody hrušiek mali pomerne vyrovnané hodnoty antioxidačnej aktivity aj napriek tomu, že obsahy celkových polyfenolov boli značne variabilné. Priemerná hodnota celkovej antioxidačnej aktivity u vybraných odrôd hrušiek bola 45,16 % u jabĺk predstavovala 70,31 %. Okrem prítomných fenolických látok antioxidačnú aktivitu ovplyvňuje viacero faktorov, ako je skladovanie, prítomnosť iných výživných látok a vzájomné interakcie medzi nimi (Cardelle-Cobas, 2005).

ZÁVER

Informácie týkajúce sa vzťahu medzi obsahom celkových polyfenolov a antioxidačnou aktivitou uvádzané v literatúre sú protichodné. Na základe epidemiologických štúdií je možné usudzovať, že jablká hrajú významnú úlohu pri znižovaní rizika vzniku širokej palety chronických ochorení a to hlavne rakoviny, kardiovaskulárnych ochorení, astmy a diabetu druhého typu. Konzumácia jabĺk sa tiež spája so znižovaním hmotnosti, zlepšením funkcie pľúc a celkového zdravotného stavu konzumentov. Väčšina polyfenolových látok sa vyskytuje v šupke v nižších koncentráciách ako v ostatných častiach plodu. Sledovaním vzťahu medzi obsahom celkových polyfenolov a antioxidačnou aktivitou vo vybraných odrodách jabĺk a hrušiek bolo zistené, že odrody jabĺk majú vyššiu antioxidačnú aktivitu ako odrody hrušiek, pričom rozhodujúcim faktorom určenia antioxidačnej aktivity nebol obsah celkových polyfenolov vo vybraných odrodách jabĺk a hrušiek, ale práve odrodová diferenciacia.

LITERATÚRA

BOYER, J., LIU, R. H. 2004. Apple phytochemicals and their health benefits. In *Nutrition Journal*, vol. 3, 2004, p. 1-15.

CARDELLE-COBAS, A., MOREO, F. J., CORZO, N., OLANO, A., VILLAMIEL, M. 2005. Assessment of initial stages of Maillard reaction in dehydrated onion and garlic symplex. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, 2005, p.9078-9082.

DREWNOWSKI, A., GOMEZ-CARNEROS, C. 2000. Bitter taste, phytonutrients and the consumer review. In *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 79, 2000, p. 727-747.

KYSELOVIČ, J. 2002. Voľné radikály a antioxidanty. In *Biochémiá výživy*. Nitra : SPU, 2002, s.121. ISBN 80-8069-096-0.

LEJA, M., MARECZEK, A., BEN, J. 2003. Antioxidant properties of two Apple cultivar dutiny long-term storage. In *Food Chemistry*, vol. 80, 2003, p. 303-307 *Biochemistry and Metabolism with Clinical Application*, vol. 2, 2003, p. 215-276.

MANDELOVÁ, L. 2005. Polyfenoly: rozdelení a zdroje v potravě. In *Výživa a potraviny* 60 (1), 2005, s. 11-14.

NAPOLITANO, A. 2004. Influence of variety and storage on the polyphenol composition of apple flesh. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 52, 2004, p. 6526-6531.

OLTHOF, M. 2001. Bioavailability of flavonoids and cinnamic acids and their effect on plasma homocysteine in humans. Wageningen: Wageningen University, 2001, p.135. ISBN 90-5808-417-5.

PAMPLONA, R. D. 2005. *Encyklopédia léčivých rostlin*. Praha, 2005, p. 385.

ŠILHÁR, S. – HEILEROVÁ, L. – DANIŠ, M. 2004. Význam a možnosti zvýšenia príjmu antioxidantov v spoločnom stravovaní. In *Zborník - Výživa a potraviny pre tretie tisícročie " Spoločné stravovanie "*. Nitra:SPU, 2004, s.27-29, ISBN 80-8069-421-4.

TANRIÖVEN, D. 2005. Phenolic compounds in pear juice in different cultivars. In *Food Chemistry*, vol. 93, 2005, p. 89-93.

Pod'akovanie : Práca vznikla za podpory projektu VEGA 1/0339/08 Duálna kontaminácia prostredia vo vzťahu ku kvalite dopestovaných poľnohospodárskych komodít na environmentálne zaťažených oblastiach Slovenska a možnosti eliminácie vstupu rizikových látok do potravného reťazca človeka.

Kontaktná adresa : Ing. Dominika Bončíková, Slovenská poľnohospodárska univerzita, FBP, KCH, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra. Tel.: 037 6414376, E-mail: dominika.boncikova@gmail.com

THE INFLUENCE OF CULTIVATION TECHNOLOGY ON QUALITY OF POTATOES

Bubeníčková A., Jůzl M.

Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xbubeni0@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of the study was to observe differences in controlled release fertilizers (urease inhibitor) and conventional fertilizer (urea) and their influence on quality of potatoes. The purpose of this work was evaluated the color of potatoes, established quality of table potatoes and measuring starch in potatoes. There were evaluated two varieties of potatoes: Karin, Red Anna and two types of fertilizer (urea, urea with urease inhibitor) in differential concentration (100%, 80 % and 60%). The measurements were realized in laboratory of Mendel University in Brno- Department of Food technology. Results of color measurement had shown that the lower value of lightness achieved type Karin and there were obtained significantly differences ($P < 0.05$) in types of potatoes, used fertilizers and concentration of fertilizer. The content of starch in type Red Anna was significantly higher ($P < 0.05$) in samples with conventional fertilizer than controlled release fertilizer. Determination of quality of table potatoes had shown that there were no significantly differences between samples. Each of samples were compared with Potato Variety index and got boiling type B.

Key words: potatoes, fertilizer, urease inhibitors, color, starch

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

Brambory jsou plodinou náročnou na živiny. Jedním ze základních předpokladů pěstitelského úspěchu je proto zajistit jim jejich optimální množství. Příjem a využití živin z půdního roztoku je velmi složitý proces založený na vzájemně se ovlivňujícím působení mnoha vnitřních a vnějších faktorů (Kasal et al., 2010).

Používání hnojiv má tak nezastupitelnou roli v přívodu organických látek a živin do půdy a tím i v udržování a zvyšování půdní úrodnosti. Kromě toho významnou měrou zasahují do úrovně výnosu i jeho kvality a náklady na hnojiva tvoří nezanedbatelnou část celkových nákladů. Při nesprávném používání především dusíkatých hnojiv může dojít nejen k nežádoucímu ovlivnění kvality bramborových hlíz, ale také k ohrožení životního prostředí, např. vyplavení nitrátového dusíku, těkaní čpavkového dusíku (Mengel, Kirkby, 2001).

Proto i výrobci hledají cestu, jak nabídnout kvalitnější produkt uživatelům. Jednou z možností je úprava chování hnojiva po jeho aplikaci do půdy. Úprava chování hnojiv se nejčastěji řeší přidávkou inhibitorů přímo k hnojivu nebo současně s jeho aplikací. Pokud hovoříme o regulaci mikrobiologických procesů v půdě, využíváme k omezení těchto přeměn v případě aplikace močoviny inhibitory ureázy (Tlustoš et al., 2007). Principem je dočasné potlačení činnosti enzymu ureáza, který po kontaktu močoviny s půdou urychluje vznik amoniaku, který jako NH_3 uniká do ovzduší nebo se sorbuje ve formě NH_4^+ na půdní částice (Mráz, 2007).

Ve srovnání s neupravenou močovinou jsou působením inhibitoru ureázy eliminovány ztráty dusíku únikem amoniaku a vytvořeny lepší předpoklady pro transport nerozložené močoviny ke kořenům rostlin. Vzhledem k uvedeným vlastnostem hnojiva je možné jeho použití v nových technologických postupech při hnojení rostlin, které jsou šetrné k životnímu prostředí a omezují znečišťování vod a ovzduší (Růžek, 2008).

Cílem této práce bude prověřit rozdíly ve využití dusíku z hnojiv s řízeným uvolňováním dusíku (s inhibitory ureázy) oproti shodným hnojivům bez řízeného uvolňování dusíku a jejich vliv na kvalitativní parametry brambor.

MATERIÁL A METODIKA

Byly získány tři varianty dvou genotypů (Red Anna, Karin) hnojené standardní močovinou (MO) – kontrolní varianta s dávkou na úrovni 100 % vypočítané dávky N, varianta s aplikací 80 % základní dávky a aplikací na úrovni 60 % základní dávky N. Analogicky k tomu byly dostupné tři varianty s močovinou s inhibitorem ureázy (US) v dávkách 100 %, 80 % a 60 % základní dávky N. Sledovanými jakostními parametry byla barva, obsah škrobu a stolní hodnota.

Pro velmi přesné měření barvy hlíz byl využit stolní spektrofotometr KONICA MINOLTA CM-3500d, s charakteristikou měření d/8. Na řezu hlízy byly sledovány charakteristiky světlosti nebo jasu L^* a souřadnice a^* a b^* popisující charakter barvy.

Stanovení škrobnatosti brambor bylo provedeno polarimetricky podle Ewarse - Metoda ES, převzata ze směrnice Komise 99/79/ES.

Na závěr bylo provedeno stanovení stolní hodnoty- sledovanými deskriptory byly konzistence, struktura, moučnatost, vlhkost, nedostatky v chuti, tmavnutí vařených hlíz. Stolní hodnota byla provedena bodovým systémem: konzistence- velmi měkká (1) až velmi pevná (9), struktura- jemná (3) až hrubá (7), moučnatost – velmi slabá (1) až velmi silná (9), vlhkost – velmi slabá (1) až velmi silná (9), nedostatky v chuti – nepatrné (1) až velmi silné (9), tmavnutí hlíz po uvaření – velmi slabé (1) až velmi silné (9) (Čermák, 2010).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Při měření barvy hlíz byly zjištěny hodnoty uvedené v následující tabulce.

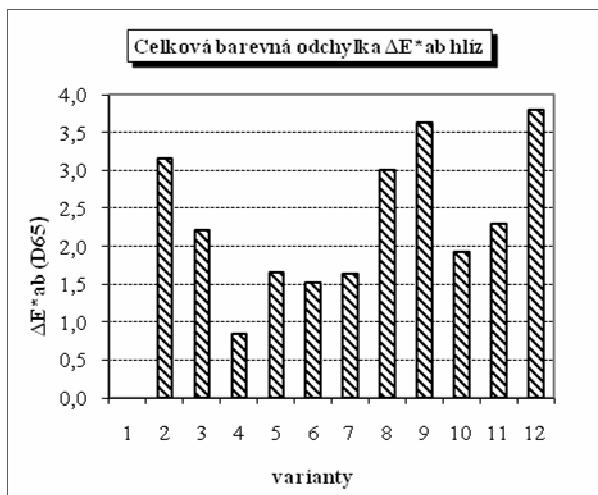
Tab. 1 Hodnoty CIE L*a*b* syrových hlíz

	L*			a*			b*			ΔE*ab
	x□	S _x	V _x	x□	S _x	V _x	x□	S _x	V _x	
Red A. MO 100%	74.17	1.91	0,03	0,71	0,22	0,31	32,15	2,21	0,07	0
Red A. MO 80%	73.34	1.69	0,02	0,22	0,12	0,54	29,14	0,85	0,03	3,15
Red A. MO 60%	74.63	2.08	0,03	0,50	0,25	0,50	29,99	1,78	0,06	2,21
Red A US 100%	74.78	0.97	0,01	0,89	0,19	0,22	31,85	1,23	0,04	0,84
Red A. US 80%	73.83	0.97	0,01	0,55	0,18	0,33	30,52	1,28	0,04	1,66
Red A. US 60%	74.18	2.19	0,03	0,28	0,32	1,11	30,70	1,13	0,04	1,51
Karin MO 100%	74.54	0.75	0,01	-0,57	0,32	-0,57	33,08	1,87	0,06	1,63
Karin MO 80%	75.00	1.41	0,02	-0,50	0,42	-0,83	29,54	1,70	0,06	3,00
Karin MO 60%	76.29	0.78	0,01	-0,49	0,46	-0,92	34,84	1,90	0,05	3,63
Karin US 100%	75.12	1.17	0,02	-0,69	0,25	-0,36	31,24	2,54	0,08	1,92
Karin US 80%	74.97	0.95	0,01	-0,91	0,14	-0,16	30,73	1,52	0,05	2,29
Karin US 60%	75.22	1.45	0,02	-0,64	0,42	-0,66	28,75	2,26	0,08	3,80

*ΔE*ab označuje celkovou odchylku, jako standard byla zvolena Red Anna MO 100 %*

Nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl u parametru L* (P>0,05) mezi použitými hnojivy (MOxUS) a jednotlivými koncentracemi hnojiva (100x80x60) v rámci jedné odrůdy. Naopak statisticky průkazný rozdíl u parametrů L* (P<0,05) byl zjištěn mezi jednotlivými odrůdami. U parametru a* byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl (P<0,05) jak mezi jednotlivými odrůdami, tak i koncentracemi a použitými hnojivy. Parametr b* se statisticky průkazně lišil (P<0,05) mezi koncentracemi použitých hnojiv.

Světlejší odrůdou byla průkazně (P>0,05) odrůda Karin, nejvyšší intenzitu barevné souřadnice (a*=0,89) měla odrůda Red Anna s obsahem ureázy 100%. Parametr b* byl nejvyšší u odrůdy Karin s obsahem močoviny 60% (Tab. 1). Odchylka ΔE*ab nad hodnotu 2,5 označuje vzorky rozdílné od standardu (Red Anna MO 100 %), jak ukazuje graf č. 1.



Z chemických analýz byl zjišťován pouze obsah škrobu v hlízách daných odrůd. Obsah škrobu byl stanoven z důvodu přímé souvislosti s moučnatostí, konzistencí, strukturou i vlhkostí. Tyto znaky patří mezi rozhodující parametry pro zařazení bramborových hlíz do varných typů a určení, které bramborové výrobky jsou vhodné či nevhodné pro konzum.

Tab. 2 Obsah škrobu v bramborových hlízách (v hm. %)

	\bar{x} (%)	S_x	V_x
Red Anna MO 100%	15,00	0,15	0,01
Red Anna MO 80%	14,96	0,15	0,01
Red Anna MO 60%	12,60	0,02	0,02
Red Anna US 100%	13,67	0,02	0,02
Red Anna US 80%	13,92	0,15	0,01
Red Anna US 60%	12,48	0,13	0,01
Karin MO 100%	13,46	0,11	0,01
Karin MO 80%	16,52	0,06	0,01
Karin MO 60%	16,19	0,19	0,01
Karin US 100%	15,77	0,00	0,00
Karin US 80%	15,79	0,17	0,01
Karin US 60%	16,57	0,15	0,01

MENDELNET 2010

Mezi odrůdami (Red Anna x Karin) byl nalezen statisticky průkazný rozdíl ($P < 0,05$), dále se statisticky průkazně ($P < 0,05$) lišila použitá hnojiva (MO x US). U odrůdy Red Anna došlo k poklesu obsahu škrobu vlivem použitého hnojiva US, u odrůdy Karin nebyl tento pokles zaznamenán. Statisticky průkazný rozdíl nebyl zjištěn mezi koncentracemi 100% a 80% u hnojiva US. Vyšší množství škrobu bylo zjištěno v hlízách odrůdy Karin, zatímco hlízy odrůdy Red Anna vykazovaly nižší obsah škrobu. V senzorkém hodnocení byly získány podobné závěry (Tab. 3).

U brambor určených pro výrobu škrobu má prvořadý význam hektarový výnos škrobu, u konzumních brambor a brambor určených ke zpracování na potravinářské výrobky zaleží vedle výše výnosu, obsahu sušiny, skladovatelnosti a nutriční hodnoty i na dobré úrovni stolní hodnoty.

Tab. 3 Stolní hodnota uvařených hlíz

	Red A. MO 100 %	Red A. MO 80 %	Red A. MO 60 %	Red A. US 100 %	Red A. US 80 %	Red A. US 60 %	Kar- in MO 100 %	Kar- in MO 80 %	Kar- in MO 60 %	Kar- in US 100 %	Kar- in US 80 %	Kar- in US 60 %
konzi- stence	5	5	5	6	6	6	6	6	6	6	6	6
struktura	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
moučna- tost	4	4	3	3	3	4	3	4	4	4	4	4
vlhkost	3	3	3	4	4	4	3	3	4	4	3	3
nedostatky v chuti	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
tmavnutí vař. hlíz	3	3	3	3	4	4	3	3	3	4	4	4
varný typ	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

Posuzováním vzorků podle SRN normy (zařazení do varných typů) bylo zjištěno, že odrůdy Karin a Red Anna odpovídají dle hodnocení varnému typu B. Výsledky byly tedy shodné s popisem v Katalogu odrůd. Mezi vzorky nebyly zaznamenány značné rozdíly, lišily se pouze ve znaku moučnatosti a vlhkosti. Moučnatost i vlhkost je subjektivně hodnocený vztah, který je v přímé souvislosti s obsahem škrobu.

ZÁVĚR

Významnou živinou, která se podílí na výši výnosu, je dusík, který patří k základním stavebním prvkům, z nichž se tvoří bílkoviny. Dusík má přímý vliv i na kvalitu brambor. Vysoké dávky dusíku však negativně ovlivňují životní prostředí možnou kontaminací spodních vod. Z tohoto důvodu se nyní posuzuje možnost využití hnojiv s inhibitory. Použitím inhibitorů se zvyšuje efektivnost využití dusíku dodávaného v hnojivu tak, aby byl maximálně přijímán rostlinou a pokud ne, aby byl zabudován do organických vazeb v půdě. Tím se podstatně snižuje riziko ztrát dusíku vyplavením.

Z výsledku pokusů vyplývá, že použité hnojivo US nemá statisticky průkazný vliv na parametr světlosti L*, ani na barevnou souřadnici b*. V případě stanovení škrobu bylo zjištěno, že u odrůdy Red Anna došlo k poklesu obsahu škrobu vlivem použitého hnojiva US, u odrůdy Karin nebyl tento pokles zaznamenán. U všech vzorků bylo provedeno určení stolní hodnoty, mezi jednotlivými vzorky nebyly zaznamenány značné rozdíly a byly shodné s popisem v Katalogu odrůd.

POUŽITÁ LITERATURA

Čermák V. (2010): Seznam doporučených odrůd bramboru, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Brno, 127 s, ISBN 978-80-7401-025-5

Kasal, P., Čepl, J., Vokál B. (2010): Hnojení brambor, Výzkumný ústav bramborařský Havlíčkův Brod, 24 s, ISBN 978-80-86940-24-3

Mengel, K., Kirkby, E. A. (2001): Principles of Plant Nutrition. 5th Edition, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/Boston/London, 849 s.

Mráz, J., (2007): Urea stabil- efektivní zdroj dusíku pro polní plodiny, Sborník z konference „Prosperující olejnin“, 121-122 s.

Růžek, P. (2008): Technologie hnojení novým dusíkatým hnojivem Urea^{stabil} pro různé systémy zpracování půdy, Ověřená technologie, 4 s.

Tlustoš, P., Pavlíková, D., Čabelková, L., Svoboda L., Najmanová, J. (2007): Vývoj nových dusíkatých hnojiv a jejich uplatnění. In: Sborník z mezinárodní konference „Racionální použití hnojiv“ ČZU v Praze, 46-55 s.

SENSORY ANALYSIS OF ORIGINAL OLOMOUC SMELLY CHEESE STORED AT DIFFERENT TEMPERATURE REGIMES

Kovařík A., Jarošová A., Cwiková O.

Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: kovarikadam@gmail.com

ABSTRACT

The aim of thesis was to determine how the different temperature regimes of cold storage affect the sensoric properties of Olomouc smelly cheese – with regard to salinity and consistency.

Olomouc smelly cheese at full maturity was cold stored in three ways: in a refrigerator (temperature 6 °C, 48 h) in a freezer (temperature – 18 °C, 48 h) and under dry ice (temperature about – 40 °C, 48 h). All specimens were presented for sensory analysis after tempering to 20 °C. The evaluation was conducted in the sensory laboratory of the Department of Food Technology by ten trained assessors. Subjects of evaluation were: the smell, color and appearance, degree of curing, consistency and taste. For the evaluation were used unstructured graphical scales with a length of 100 mm, where 1 mm point represents 1 evaluation. Evaluation was repeated on several batches of the product.

The results proved no effect of storage under dry ice on the taste or consistency of Olomouc smelly cheese. It was clearly showed that storage in a freezer debases sensoric quality of Olomouc smelly cheese.

Key words: dry ice, cheese, Olomouc smelly cheese, sensory analysis

ÚVOD

Olomoucké tvarůžky jsou tradiční český kyselý sýr zrající pod mazem chráněný zeměpisným označením EU (ÚPV, 2010). Tvarůžky mají výraznou až ostře pikantní vůni a chuť, charakteristický oranžový nebo zlatožlutý maz a tuhé těsto (TEUBNER, 1998).

Tyto vlastnosti získává sýr během zrání působením především proteolytických bakterií *Brevibacterium linens*. Rozkladem bílkovin vznikají organolepticky aktivní peptidy, aminokyseliny, těkavé MK, amoniak, sirovodík, biogenní aminy a další látky vytvářející vůni a chuť (FOX, 2004). *Brevibacterium linens* také vytváří typickou barvu sýra. Velký vliv na chuť tvarůžků má obsah soli. Sůl se přidává do tvarohu ještě před zráním (GÖRNER, VALÍK, 1999). Obsah soli v konečném výrobku může být nejvýše 5,5 % (TEUBNER, 1998).

Zrání probíhá od povrchu směrem ke středu a příznivě se tak mění vlastnosti sýru. Průběh zrání můžeme pozorovat na řezu, vrchní vrstva dostává žluté zabarvení a vnitřní jádro zůstává více či méně bílé podle postupu difuze enzymů produkovaných aerobní proteolytickou mikroflórou (GÖRNER, VALÍK, 1999).

Olomoucké tvarůžky se téměř vždy skladují za chladírenských teplot. Cílem práce bylo zjistit, jakým způsobem různé teplotní režimy chladírenského skladování při přepravě ovlivňují senzorycké vlastnosti Olomouckých tvarůžků – s ohledem na slanost a konzistenci.

MATERIÁL

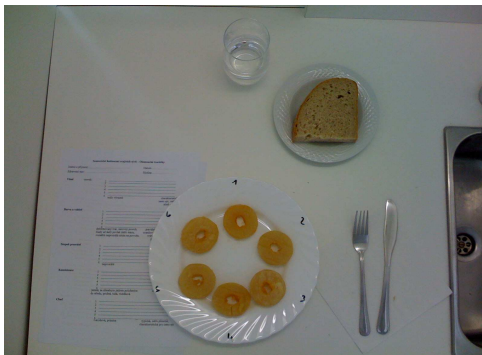
Hodnoceny byly Olomoucké tvarůžky, které byly do laboratoře dopraveny v přepravních izotermických obalech a skladovány při různých teplotních režimech.

METODIKA

K hodnocení byly použity věnečky Olomouckých tvarůžků ($n = 30$) odebraných v plné zralosti. Následně byly vzorky skladovány:

- v chladničce, teplota 6 °C, 48 hod,
- v suchém ledu, teplota kolem – 40 °C, 48 hod,
- v mrazničce, teplota – 18 °C, 48 hod.

Poté byly vzorky, vytemperované na teplotu 20 °C, předloženy k senzoryckému hodnocení, které probíhalo v senzorycké laboratoři Ústavu technologie potravin ve dnech 6., 13., 20. května 2010. Hodnocení se zúčastnilo 10 školených hodnotitelů a proběhly 3 opakování na 3 šaržích. Jako neutralizátor byl použit chléb.



Obr. 1 Vzorčky připravené k hodnocení

Hodnotitelé sledovali 5 základních znaků – vůni, barvu a vzhled, stupeň prozrání, konzistenci, chuť. Výsledky zaznamenávali do formuláře s grafickými nestrukturovanými stupnicemi o délce 100 mm, kde 1 mm představoval 1 hodnotící bod (příloha). Grafické stupnice byly zvoleny pro jejich vhodnost ke statistickému zpracování.

Pro vyhodnocení výsledků byly použity výpočty základních statistických charakteristik (průměr, směrodatná chyba průměru) v programu Statistica Cz, verze 8.

VÝSLEDKY A DISKUZE

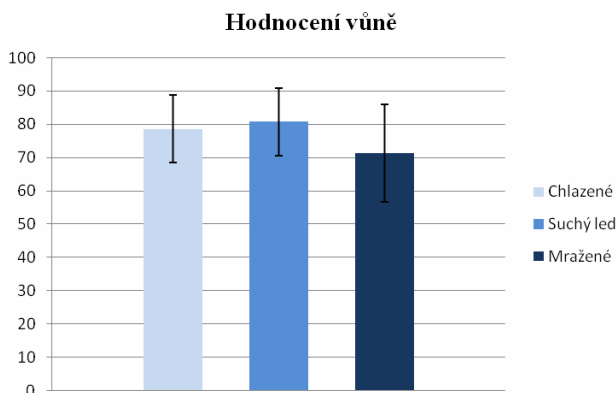
Průměrný počet bodů jednotlivých znaků je uveden v tab. 1. Z těchto výsledků je patrné, že skladováním Olomouckých tvarůžků v mrazničce dochází ve všech sledovaných znacích k výraznému zhoršení jakosti ve srovnání s tvarůžky skladovanými v chladničce. Naopak vzorky skladované v suchém ledu byly hodnoceny jako mírně lepší než tvarůžky chlazené, avšak tento rozdíl nebyl statisticky průkazný ($P > 0,05$).

Tab. 1 Průměrné hodnoty a směrodatné odchylky

Vlastnost	Vzorek	Průměr	Směr. odchylka
Vůně	Chlazené	78,6	10,2
	Suchý led	80,7	10,1
	Mražené	71,3	14,7
Barva a vzhled	Chlazené	75,3	10,2
	Suchý led	78,1	10,5
	Mražené	65,3	16,9
Stupeň prozrání	Chlazené	86,4	10,6
	Suchý led	85,9	12,1
	Mražené	81,4	12,4

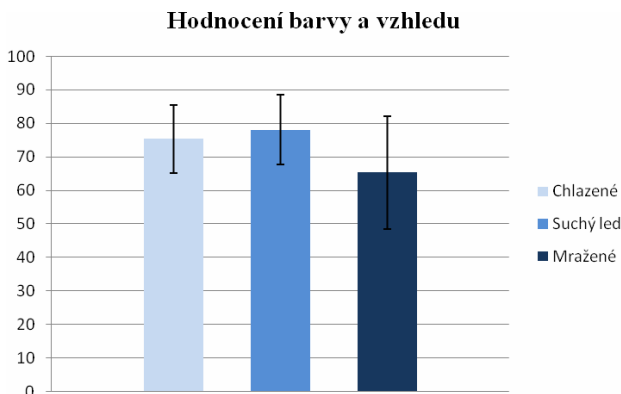
Konzistence	Chlazené	76,3	12,4
	Suchý led	78,6	14,3
	Mražené	63,3	16,5
Chuť	Chlazené	80,4	9,9
	Suchý led	81,3	9,9
	Mražené	70,5	13,7

Pro přehledné srovnání jsou dále jednotlivé znaky vyneseny do grafu.



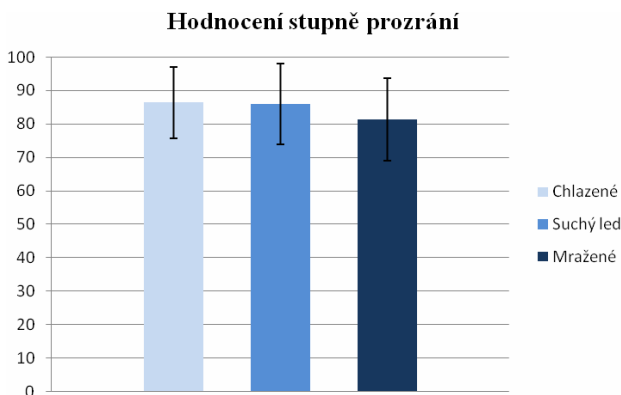
Graf 1 Hodnocení vůně Olomouckých tvarůžků při různém chladičském skladování

Nejlépe hodnocená byla vůně tvarůžků skladovaných v suchém ledu. Rozdíl mezi vůní takto skladovaných tvarůžků a tvarůžky chlazenými byl však statisticky neprůkazný ($P > 0,05$). Lze očekávat, že tvarůžky chlazené budou více uzrálé, s ostřejší vůní, protože zrání při teplotě 5 °C pokračuje, ale při -40 °C je prakticky zastavené. Doba 48 hodin, po kterou byly Olomoucké tvarůžky uloženy v suchém ledu, je nejspíše příliš krátká, aby se rozdíl v prozrání projevil dostatečně výrazně.



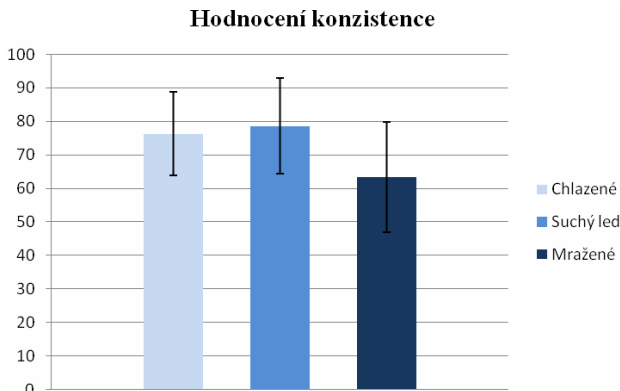
Graf 2 Hodnocení barvy a vzhledu Olomouckých tvarůžků při různém chladírenském skladování

Barva a vzhled chlazených a v suchém ledě skladovaných Olomouckých tvarůžků byly opět hodnoceny jako prakticky stejné. Na barvu a vzhled mělo jednoznačně negativní vliv skladování v mrazničce, kdy docházelo k deformacím a po rozmrazení k roztékání, uvolňování vody a vyblednutí barvy.



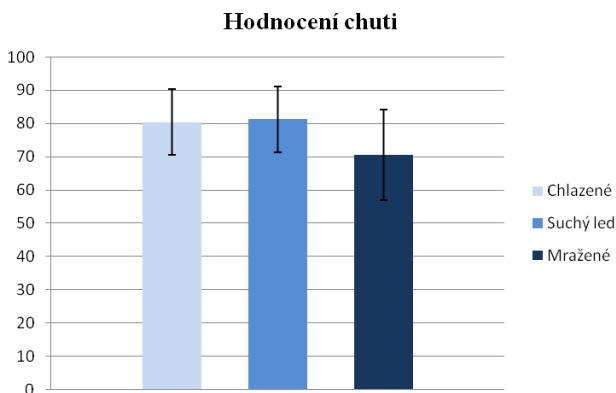
Graf 3 Hodnocení stupně prozrání Olomouckých tvarůžků při různém chladírenském skladování

Prozrání bylo hodnoceno u všech vzorků poměrně stejně. K pokusu sloužily vzorky Olomouckých tvarůžků plně prozřálé. Chlazené tvarůžky zrály ve srovnání s ostatními o dva dny déle.



Graf 4 Hodnocení konzistence Olomouckých tvarůžků při různém chladírenském skladování

V rámci sensorické analýzy měly nejlepší konzistenci vzorky uchovávané v suchém ledu. Důvodem toho byla zřejmě skutečnost, že jako nejlepší byla hodnocena konzistence měkčí, bez zřetelného jádra. Skladování v mrazničce způsobuje po rozmrazení zhoršení konzistence, zejména roztékání výrobku.



Graf 5 Hodnocení chuti Olomouckých tvarůžků při různém chladírenském skladování

Při hodnocení chuti dosáhly stejných výsledků Olomoucké tvarůžky skladované v chladničce a v suchém ledu. Nepotvrdil se tak vliv uchování v suchém ledu na chuť. Chuť výrazně ovlivnilo skladování v mrazničce.

ZÁVĚR

Výsledky ukazují, že skladování Olomouckých tvarůžků v suchém ledu výrazně neovlivňuje jejich senzoryckou jakost. Ve všech znacích, kromě stupně prozrání, byly Olomoucké tvarůžky skladované v suchém ledu bodově hodnoceny při srovnání s tvarůžky skladovanými v chladničce jako mírně lepší. Tento rozdíl ale nebyl statisticky průkazný ($P > 0,05$). Nepotvrdil se tak vliv skladování v suchém ledu na konzistenci, ani na slanost vzorků.

Naopak skladování v mrazničce negativně ovlivňuje všechny hodnocené znaky. Dochází k deformacím, uvolňování vody, k roztékání tvarůžků, vyblednutí barvy a změnám chuti.

Na základě tohoto pokusu nelze jednoznačně doporučit optimální způsob skladování při přepravě. Vzhledem k malému počtu vzorků a opakování by do budoucna chtělo dlouhodoběji sledovat jednotlivé senzorycké znaky, obzvláště pak slanou chuť a konzistenci.

LITERATURA

FOX, P. F., et al. *Cheese : chemistry, physics, and microbiology / . Major cheese groups* . Volume 2. 3. vyd. Amsterdam: Elsevier, 2004, p. 204-206. ISBN 0-12-263653-8

GÖRNER, F., VALÍK, L. *Aplikovaná mikrobiologie poživatin*. Bratislava: Malé centrum, 2004, 528 s.

LAW, B. A. *Technology of cheesemaking*. Sheffield: Sheffield Academic Press, 1999, 322 s. ISBN 0-8493-9744-8

POKORNÝ, J. *Metody senzorycké analýzy potravin a stanovení senzorycké jakosti*. 2. vyd. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1993, 196 s. ISBN 80-85120-60-7

TEUBNER, C., MAIR-WALDBURG, H., EHLERT, F. *Sýry - velká encyklopedie*. Bratislava: Perfekt, 1998, s. 106-107 ISBN 80-8046-101-5.

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ. *Zápis zeměpisného označení Olomoucké tvarůžky* [online]. Praha: ÚPV, červenec 2010 [cit. 2010-10-03]. Dostupný z WWW:< http://www.upv.cz/cs/upv/aktuality/aktual2009/Zapis_zemepisneho_oznaceni_Olomoucke_tvaruzky.html >

PŘÍLOHA

Senzorické hodnocení zrajících sýrů – Olomoucké tvarůžky

Jméno a příjmení:..... Datum:.....

Zdravotní stav:..... Hodina:.....

Vůně vzorek:

1	_____
2	_____
3	_____
4	_____
5	_____
6	_____

málo výrazná

charakteristická pro
tento sýr, ostře výrazná,
silně pronikavá

Barva a vzhled

1	_____
2	_____
3	_____
4	_____
5	_____
6	_____

deformovaný tvar, nerovný povrch,
bledý až šedý povlak málo mazu,
rozsáhlá neproзраlá místa na povrchupravidelný tvar, hladký, lesklý
oranžový-zlatožlutý maz, přiměřena
vrstva mazu, rovnoměrné
prozáření na povrchu

Stupeň prozáření

1	_____
2	_____
3	_____
4	_____
5	_____
6	_____

neproзраlé

prozářené v celém řezu

Konzistence

1	_____
2	_____
3	_____
4	_____
5	_____
6	_____

jemná, se zřetelným jádrem položeným
do středu, pružná, tuhá, roztékaváměkkí, bez zřetelného
jádra

Chut'

1	_____
2	_____
3	_____
4	_____
5	_____
6	_____

tvarohová, prázdna

typická, ostře pikantní,
charakteristická pro tento sýr

Obr. 2 Formulář pro senzorické hodnocení Olomouckých tvarůžků

IMPACT SITES ON THE CONTENT OF BIOACTIVE COMPOUNDS IN WILD BLUEBERRIES

Křížová L.¹, Vollmannová A.¹, Daniel J.², Medvecký M.², Margitanová E.¹

¹Department of Chemistry, Faculty of Biotechnology and Food Science, Slovak University of Agriculture, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

²Regional Research Station in Krivá na Orave, 027 55 Krivá na Orave, Slovakia

E-mail: livia.krizova@gmail.com, scpv@orava.sk

ABSTRACT

Fruits of the highbush blueberry are popular for their beneficial effects on human health and for their excellent sweet-vine taste. The aim of our work was compare the contents of total polyphenols and antioxidant capacity in different samples of wild blueberries. In the samples we determined antioxidant capacity by the method of Brand – Williams (1995) using DPPH (2,2–difeny1-1-pikrylhydrazyl) and the content of total polyphenols by the method Lachmann (2003) in four samples of wild blueberries from different sites Slovakia (Račková dolina, Heľpa, Čertovica a Oravské Veselé). Highest content of total polyphenols from analysis samples have wild blueberries from the Račková dolina 3069.78 mg.kg⁻¹, but with the lowest antioxidant capacity of 53.97%. On the other side the lowest content of total polyphenols from studies samples have wild blueberries from the surrounding Heľpa 2681.085 mg.kg⁻¹ with antioxidant capacity 67.71%. Highest antioxidant capacity was measured in sample of wild blueberries from Oravské Veselé 70.45%.

Key words: blueberries, antioxidant capacity, total polyphenols, DPPH

Acknowledgments: This research was supported by Research Project VEGA 1/0030/09, APVV SK - SI – 0008 – 08.

ÚVOD

Čučoriedky patria do rodu *Vaccinium*, rozšíreného rodu s viac ako 200 druhmi vždzyzelených a opadavých drevín s veľkosťou od trpasličích kríkov až po kríky veľkosti stromov (Riihinen et al., 2008). Čučoriedky sú jedným z najbohatších zdrojov antioxidantov z pomedzi ovocia a zeleniny. Čučoriedkové a brusnicové extrakty zabraňujú oxidácii lipidov v lipozómoch a znižujú obsah LDL cholesterolu (Kalea et al., 2006). Polyfenoly a fenolové zlúčeniny predstavujú jednu z najpočetnejších a najviac zastúpených skupín rastlinných metabolitov a tvoria súčasť stravy ľudí. Sú produktami sekundárneho metabolizmu rastlín (Mandelová, 2005). Zloženie a obsah fenolových zlúčenín v čučoriedkach sa mení v závislosti od odrody, ročného obdobia a podmienok pestovania, preto je ťažké získať unikátne jedinečné údaje (Giovanelli, Buratti, 2008).

Cieľom našej práce bolo porovnanie obsahov celkových polyfenolov a antioxidačnej kapacity vo vzorkách divorastúcich čučoriedok zo štyroch rôznych lokalít Slovenska.

MATERIÁL A METÓDY

Sledovanými vzorkami boli divorastúce čučoriedky zo štyroch rôznych lokalít Slovenska (Račková dolina, Heľpa, Čertovica a Oravské Veselé). Charakteristika klimatických pomerov uvedených lokalít je uvedená v tab. 1. Vzorky boli zbierané v štádiu plnej zrelosti.

Stanovenie antioxidačnej kapacity

Antioxidačnú kapacitu sme stanovovali metódou Brand – Williams (1995), pomocou zlúčeniny DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl)(Merck). Do kvetiek sme napipetovali 3,9 cm³ 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl (DPPH), zapísali sme hodnotu absorbancie, ktorá zodpovedá počiatočnej koncentrácii DPPH roztoku v čase A₀. Pridali sme 0,1 cm³ sledovaného roztoku a následne sme ihneď začali merať závislosť A = f(t). Roztok v kyvete sme premiešali pohykom hore a dole miešadielkom s nožičkou a zmerali sme absorbanciu v 1, 5 a 10 minúte A = f(t) pri vlnovej dĺžke 515,6 nm na spektrofotometri Shimadzu UV/VIS -1240. % inhibície vyjadruje koľko je sledovaná zložka schopná odstrániť radikálu DPPH v danom čase.

Stanovenie celkových polyfenolov

Obsah celkových polyfenolov vo vzorkách sme stanovovali spektrofotometrickou metódou podľa Lachmanna (2003). Do 50 cm³ odmernej banky sme napipetovali nami zvolený objem (0,05 cm³) extraktu a vzorku sme zriedili destilovanou vodou. K zriedenej vzorke sme pridali 2,5 cm³ Folin-Ciocalteuovho skúmadla a po 3 min. státi sme pridali 7,5 cm³ 20%-ného vodného roztoku Na₂CO₃. Následne sme objem doplnili destilovanou vodou po rysku na objem 50 cm³. Tvorba farebného komplexu bola tvorená počas dvoch hodín. Zároveň so vzorkou sa pripravila kalibračná krivka s použitím štandardných roztokov kyseliny galovej. Absorbanciu modro sfarbených roztokov sme merali pri vlnovej dĺžke 765 nm proti slepému pokusu na spektrofotometri Shimadzu

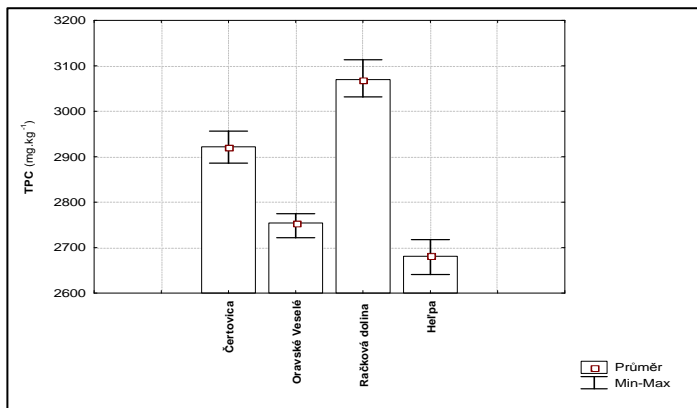
UV/VIS 1240. Výsledky sme prepočítali a vyjadrili ako mg kyseliny galovej na kg čerstvého materiálu (Lachmann, 2003).

Lokality Slovenska	Nadmorská výška	Charakteristika
Čertovica	1232 m n.m.	<ul style="list-style-type: none"> - charakteristická chladná a vlhká klíma - jednotlivé klimatické zložky (teplota, slnečný svit, vietor, zrážky) sa vo vzťahu k polohe v území a nadmorskej výške menia - až 1200 mm zrážok ročne - priemerná ročná teplota + 11,8 °C
Oravské Veselé	755 m n.m.	<ul style="list-style-type: none"> - charakteristická chladná horská klíma - vysoké zrážky v rozmedzi 800-1200 mm ročne
Heľpa	695 m n.m.	<ul style="list-style-type: none"> - mierne teplá klimatická oblasť so studenými zimami
Račková dolina	930-1100 m n.m.	<ul style="list-style-type: none"> - chladná oblasť vysokohorského typu - typickým znakom je premenlivosť oblačnosti slnečného svitu, zrážok, teploty vzduchu, veterných pomerov - priemerné ročné zrážky 615 mm - priemerná denná teplota pod 0°C trvá viac ako 200 dní v roku

Tab. 1 Charakteristika lokalít odberu divorastúcich čučoriedok

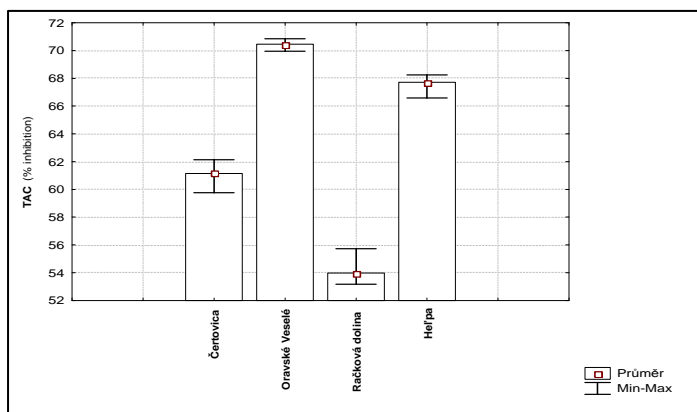
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Grafy 1 a 2 prezentujú priemerné hodnoty obsahov celkových polyfenolov a antioxidačnej kapacity v štyroch vzorkách divorastúcich čučoriedok zo štyroch rôznych lokalít Slovenska (Račková dolina, Heľpa, Čertovica a Oravské Veselé).



Graf 1 Obsah celkových polyfenolov vo vybraných vzorkách divorastúcich čučoriedok v mg.kg⁻¹

Z grafu 1 vyplýva, že najvyšší obsah celkových polyfenolov má vzorka divorastúcich čučoriedok z Račkovej doliny 3069,78 mg.kg⁻¹. Najnižší obsah celkových polyfenolov má vzorka divorastúcich čučoriedok z Heľpy 2681,08 mg.kg⁻¹. Plody divorastúcich čučoriedok sú maličké, tmavofialové až čierne, výraznej kyslovínovej chuti. V literatúre absentujú údaje o obsahoch celkových polyfenolov v divorastúcich čučoriedkach, a je len málo údajov o obsahoch celkových polyfenolov v šľachtených odrodách čučoriedok. Preto porovnávame naše výsledky s výsledkami autoriek Giovanelli a Buratti (2008), ktoré stanovili priemerný obsah celkových polyfenolov v rôznych šľachtených odrodách čučoriedok v intervale od 2510 – 3100 mg.kg⁻¹. Ako aj s výsledkami zistenými autorkami Scibisz a Mitek (2007), ktoré priemerný obsah celkových polyfenolov v rôznych šľachtených odrodách čučoriedok stanovili v intervale od 2079 – 4223 mg.kg⁻¹.



Graf 2 Antioxidačná kapacita vo vybraných vzorkách divorastúcich čučoriedok udávaná ako % inhibície

Graf 2 znázorňuje antioxidačnú kapacitu vo vybraných vzorkách divorastúcich čučoriedok z rôznych lokalít Slovenska. Najvyššia antioxidačná kapacita bola nameraná vo vzorke čučoriedok z okolia Oravského Veselého 70,45 % a najnižšia antioxidačná kapacita vo vzorke čučoriedok z Račkovej doliny 53,97 %. Vzorka z Račkovej doliny sa ale vyznačovala najvyšším obsahom celkových polyfenolov z pomedzi sledovaných vzoriek. Potvrdili sme tvrdenia autorov Smith et al. (2008), že bioaktívne extrakty lesných čučoriedok, bohaté na antokyaníny a proantokyanidíny, vykazujú výraznú antioxidačnú aktivitu. Vollmannová et al. (2009) sa vo svojej práci venovali sledovaniu obsahu celkových polyfenolov, antioxidačnej kapacity a taktiež celkovému obsahu antokyanínov vo vybraných šľachtených odrodách čučoriedky chocholíkatej (*Vaccinium corymbosum* L.). Nami stanovené priemerné hodnoty antioxidačnej kapacity v sledovaných vzorkách divorastúcich čučoriedok sú v porovnaní s hore uvedenými autormi v priemere o 11 % nižšie.

ZÁVER

Čučoriedky majú mimoriadne pozitívny vplyv na ľudský organizmus. Sú bohatým zdrojom makro a mikroelementov, vitamínov a ďalších pozitívne efektívnych fytochemikálií. Taktiež sú významným zdrojom polyfenolových látok, flavonoidov, hlavne antokyanínov, vyznačujú sa vysokou antioxidačnou aktivitou. Výsledky stanovenia celkového obsahu polyfenolov a antioxidačnej aktivity vo vzorkách divorastúcich čučoriedok zo štyroch rôznych lokalít Slovenska prezentované v tejto práci potvrdzujú, že klimatické podmienky jednotlivých lokalít majú výrazný vplyv na obsah bioaktívnych látok v týchto lesných plodoch. Na nízky obsah celkových polyfenolov vo vzorke divorastúcich čučoriedok z Heľpy môže vplyvať nižšia nadmorská výška (695 m n.m.) v porovnaní so vzorkou divorastúcich čučoriedok z Račkovej doliny (930-1100 m n.m.), ako aj mierne teplá klimatická oblasť v ktorej sa Heľpa nachádza. Na vysokú hodnotu antioxidačnej kapacity vo vzorke čučoriedok z Oravského Veselého môže vplyvať vysoké množstvo zrážok, ktoré sa pohybuje v rozmedzí až 800-1200 mm ročne, ako aj chladná horská klíma charakteristická pre spomínanú lokalitu Slovenska, ktorá je vhodným prostredím pre rast týchto lesných plodov.

LITERATÚRA

- Brand –Williams, W. – Cuvelier, M. E. – Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, Vol. 28, No.1, 1995, p.25 – 30.
- Giovanelli, G. – Buratti, S. 2008. Comparison of polyphenolic composition and antioxidant activity of wild Italian blueberries and some cultivated varieties. *Food chemistry*, vol. 112, 2008, p. 903-908.
- Kalea, A. Z., Lamari, F. N., Theocharis, A. D., Cordopatis, P., Schuschke, D. A., Karamanos, N. K., Klimis-Zacas, D. J. 2006. Wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) consumption affects the

composition and structure of glycosaminoglycans in Sprague-Dawley rat aorta. *Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 17, 2006, p. 109–116.

Lachman, J. – Hejtmánková, A. – Dudjak, E. et al. 2003. Content polyphenolic antioxidants and phenolcarboxylic acids in selected parts of yacon. *Vitamins 2003 – Přírodní antioxidanty a volné radikály*. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2003, s. 89 – 97. ISBN 80 – 7194 – 549 - 8

Mandelová, L. 2005. Polyfenoly: rozdělení a zdroje v potravě. *Výživa a potraviny*, vol. 60. no. 1, 2005, s. 11-14.

Riihinen, K. – Jaakola, L. – Kärenlampi, S. – Hohtola, A. 2008. Organ-specific distribution of phenolic compounds in bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and ‘northblue’ blueberry (*Vaccinium corymbosum* x *V. angustifolium*). *Food chemistry*, vol. 110, 2008, p.156-160.

Šcibisz, I. – Mitek, M. 2007. Antioxidant properties of highbush blueberry fruit cultivars. *Food Science and Technology*, vol. 10, no. 4, 2007.

Vollmannová, A. – Tóth, T. – Tomáš, J. – Timoracká, M. – Melicharová, S. 2009. Content of bioactive components in selected cultivars of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *Acta fytotechnica et zootechnica*, vol. 12, 2009, p. 695-699.

THE FATE OF MYCOTOXINS DURING MALTING AND BREWING

Malachová A.^{1,2}, Cerkal R.², Ehrenbergerová J.², Hajšlová J.¹

¹Department of Food Chemistry and Analysis, Faculty of Food and Biochemical Technology, Institute of Chemical Technology, Prague, Technická 3, 166 28 Prague 6, Czech Republic

²Department of Crop Science, Breeding and Plant Medicine, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: alexandra.malachova@vscht.cz

ABSTRACT

Barley, as well as others cereals, can be contaminated by mycotoxins which are produced by filamentous fungi as secondary metabolites under the field conditions. The highest health risk for costumers is that these toxins can survive during food processing and thus they pass into final products, such as beer. The aim of the presented study was to evaluate the transfer of Fusarium mycotoxins, namely deoxynivalenol (DON), deoxynivalenol-3-glucoside (D3G) and enniatins (ENNs), into malt, beer, and their intermediate products. Concerning the fate of DON a D3G during malting, their levels are decreased during the steeping stage, however, rapid increase of their levels was observed within the germination process. Final malt contained approx. 80% of DON and 260% of D3G levels compared to the initial barley. Further increase of DON and D3G levels was proven during mashing of malt, their levels increased up to 600 and 800%, respectively, when comparing with starting malt.. This phenomenon can be attributed to releasing of mycotoxins from their masked forms. Worth to notice, that spent grains contained undetectable concentration of both DON and D3G. As regards enniatins, during the malting technology their levels significantly decreased. Further decline was observed during the brewing technology. Due to their low solubility in water, they do not pass almost into beer and thus stay in spent grains.

Key words: deoxynivalenol, deoxynivalenol-3-glucoside, enniatins, beer

Acknowledgments: This research was carried out within the scope of three projects (MSM 6046137305, NPV II 2B08049, and VC 1M0570) financed by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

ÚVOD

Výroba piva, stejně jako produkce surovin pro jeho výrobu, má v České republice mnohasetletou tradici (1). Nesporně je pivo i celosvětově velmi oblíbeným nápojem, kdy jeho spotřeba v mnoha zemích dosáhla např. v roce 2004 až 100 l na osobu za rok (2). Základní surovinou pro výrobu sladu je ječmen, který bývá velmi často kolonizován, stejně jako mnoho jiných obilnin, mikroskopickými vláknitými houbami rodu *Fusarium* již v průběhu vegetace. Jedním z negativním dopadů přítomnosti fusariových mikromycet je, že mohou produkovat široké spektrum toxických sekundárních metabolitů – mykotoxinů. V současnosti je známo více než 150 fusariových mykotoxinů, z nichž nejvýznamnější a také nejprostudovanější skupinou jsou trichotheceny. Mezi trichotheceny se řadí také doposud nejvíce sledovaný mykotoxin deoxynivalenol (DON), který z důvodu velmi častého výskytu bývá považován za marker mykotoxinové kontaminace a je také jediným trichothecenem, pro který bylo Evropskou komisí ustanoveno nejvyšší přípustné množství v různých surovinách a potravinách (3). Mykotoxiny nejsou toxické pouze pro konzumenty, ale také pro napadené rostliny, proto je mohou podobně jako jiná xenobiotika metabolizovat navázáním malé polární molekuly (glukosy, sulfátu či glutathionu), za vzniku pro rostlinu „méně toxických“ látek – vznikají tzv. maskované mykotoxiny. První zmínky o těchto látkách se objevily již v polovině 80. let 20. století (4), ale teprve od roku 2007, kdy byl uveden na trh analytický standard maskovaného deoxynivalenol-3-glukosidu (D3G), mohly být zahájeny intenzivní výzkumy v této oblasti. Největší riziko pro konzumenty potravin kontaminovaných D3G spočívá v jeho pravděpodobném štěpení v gastrointestinálním traktu savců na původní „nemaskovaný“ DON, a tím k navýšení expozice tomuto toxinu.

V souvislosti se změnami klimatu dochází k rozšiřování dříve méně běžných druhů mikromycet jako jsou např. *F. subglutinans* či *F. proliferatum*, které jsou zodpovědné především za produkci enniatinů. Tyto toxiny byly dříve běžné spíše v chladnějších oblastech, ale v současné době již byl reportován jejich výskyt také v cereáliích pěstovaných ve Španělsku a Itálii (5,6). Na rozdíl od trichothecenů se jedná o látky, o kterých je doposud nedostatek informací, proto vydal v letošním roce Evropský úřad dozorující nad bezpečností potravin (European Food Safety Authority – EFSA) vyzvu tyto mykotoxiny sledovat a poskytovat data o jejich výskytu (7).

Cílem překládané studie bylo sledovat osud výše zmíněných mykotoxinů v průběhu sladařské a pivovarské technologie při použití přirozeně kontaminované vstupní suroviny.

MATERIÁL A METODIKA

Popis experimentu

Jako modelová odrůda pro sladování a vaření piva byla použita sladovnická odrůda ječmene jarního Radekast. Zrno bylo vypěstováno na experimentální výzkumné stanici Mendelovy univerzity v Brně (MENDELU) v Žabčicích. Sladování bylo provedeno v mikrosladovně a pivo bylo uvařeno v minipivovaru Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského, a.s. (VÚPS). Přesné podmínky obou technologických procesů byly publikovány již dříve (2). V průběhu obou technologických procesů byly odebrány meziprodukty: i) při sladování – vstupní ječmen, ječmen po 1., 2. a 3. dni máčení, zelený slad, slad a sladový květ; ii) při vaření piva – předek, sladina, mladina, mladé pivo, pivo a mláto, které byly potom vyšetřeny na obsah vybraných fusariových mykotoxinů na Ústavu chemie a analýzy potravin Vysoké školy chemicko-technologické v Praze (VŠCHT Praha).

Standardy a chemikálie

Standardy deoxynivalenolu (DON) a deoxynivalenol-3-glukosidu (D3G) byly dodány firmou Biopure (Tulln, Rakousko) a standardy enniatinu A (EN A), enniatinu B (EN B), enniatinu A1 (EN A1) a enniatinu B1 (EN B1) byly dodány firmou Alexis Biochemicals (New York, USA). Organická rozpouštědla určená pro hmotnostně-spektrometrickou detekci (acetonitril, methanol) a mravenčan amonný byly dodány firmou Sigma-Aldrich (Taufkirchen, Německo). Deionizovaná voda používaná pro přípravu extrakční směsi a mobilní fáze byla připravena pomocí přístroje Milli-Q zakoupeného od firmy Millipore (Molsheim, Francie).

Analytická metoda

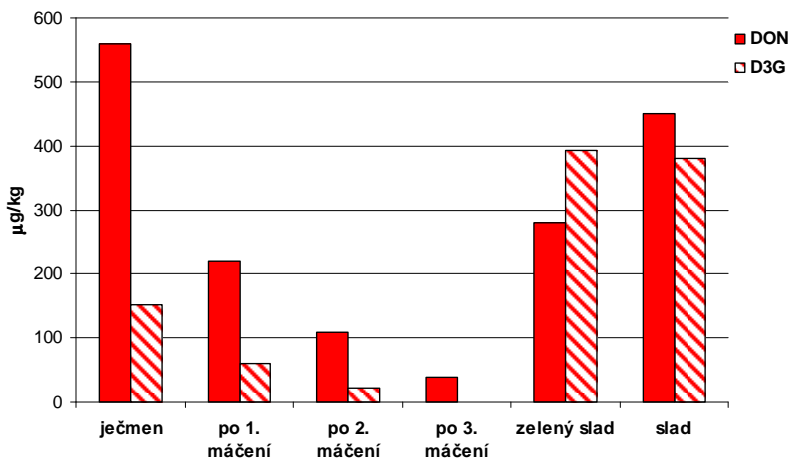
Analytická metoda pro stanovení mykotoxinů ječmeni, sladu, pivu a meziproduktech obou technologických procesů se skládá ze tří kroků: (i) extrakce vzorku azeotropní směsí – acetonitril:voda (84:16, v/v), (ii) odpaření a zahuštění alikvotního podílu extraktu na rotační vakuové odparce a (iii) rozpuštění získaného odparku ve směsi methanol:voda (50:50, v/v), (2). K vlastní separaci analytů a reziduálních složek matrice je využívána ultra-účinná kapalinová chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií typu orbitální iontová past.

Výtěžnosti všech analytů pro jednotlivé matrice se pohybovaly v rozmezí 84-98 % s RSD do 10%, detekční limity (LOD) nepřekročily 5 µg/kg.

VÝSLEDKY A DISKUSE

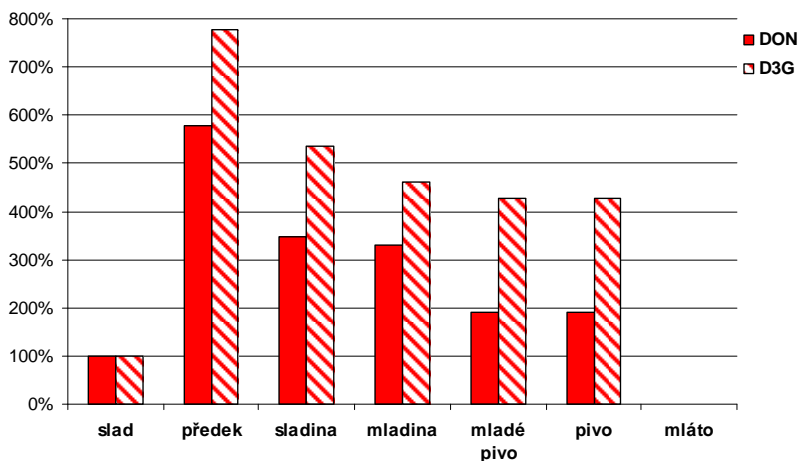
Osud trichotheecenových mykotoxinů v průběhu pivovarovství a sladařství

Jak již bylo uvedeno v kapitole Materiál a metodika, všechny vzorky odebrané v průběhu pivovarské a sladařské technologie byly vyšetřeny na obsah DON a jeho maskované formy D3G. Dynamika hladin obou mykotoxinů je znázorněna na *Obr. 1*. Vstupní ječmen obsahoval 560 $\mu\text{g}/\text{kg}$ DON a 151 $\mu\text{g}/\text{kg}$ D3G. Po pěti hodinách máčení (po 1. máčení) došlo v důsledku vyluhování do máčecí vody k poklesu DON i D3G na 40 % původních hodnot. V dalších dvou dnech tento trend pokračoval. Po dalších čtyřech dnech klíčení byl odebrán meziprodukt zelený slad, který již obsahoval opět vyšší hladiny obou toxinů než v průběhu máčení. Hladina maskovaného D3G narostla na 393 $\mu\text{g}/\text{kg}$, což je téměř o 260 % více než bylo v původním ječmeni. Tento jev může souviset s rychlým nástupem enzymatické aktivity během klíčení. Ze zeleného sladu byl potom hvozďením, dotahováním a odklícením získán jako finální produkt celé technologické řady světlý slad plzeňského typu. V porovnání se zeleným sladem došlo i k mírnému snížení (o cca 10 %) hladiny D3G a naopak ke zvýšení hladiny DON o 30 %. Vysoké hladiny D3G (725 $\mu\text{g}/\text{kg}$) i DON (580 $\mu\text{g}/\text{kg}$) byly detekovány ve sladovém květu, který se využívá ke krmivářským účelům.



Obr. 1: Dynamika DON a D3G v průběhu sladování

Získaný slad byl poté využit v navazujícím experimentu jako vstupní surovina. Standardní pivovarskou technologií bylo vyrobeno pivo. Dynamika DON a D3G v průběhu vaření piva je shrnuta na *Obr. 2*, ze kterého je patrné, že v průběhu rmutování, kdy dochází k rozkladu dextrinů na monosacharidy, došlo k největšímu nárůstu DON (o 470 %) a D3G (o 670 %) oproti původním hladinám detekovaným ve sladu. Vysoké hladiny obou toxinů v meziprojektu předek oproti dalším intermediátům sladiny, mladiny, mladému pivu a pivu jsou dány vysokou koncentrací extraktu, který je dále zředěn. Činností kvasinek již dále nedochází k výrazným změnám a hladiny DON i D3G v mladém pivu i a pivu jsou téměř identické. V odpadním produktu mlátě, využívaném stejně jako sladový květ ke krmivářským účelům, byly hladiny obou sledovaných analytů pod detekčním limitem 5 µg/kg.

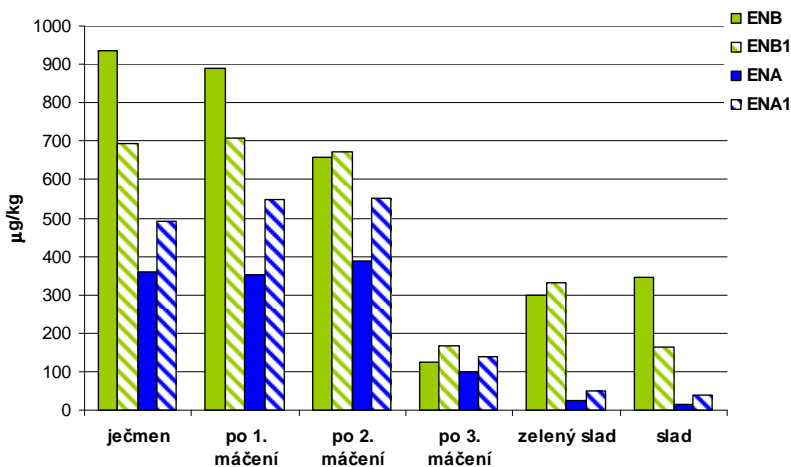


Obr. 2: Dynamika DON a D3G v průběhu pivovarství

Osud enniatinů v průběhu pivovarství a sladařství

Dynamika enniatinů v průběhu sladařství a pivovarství nebyla doposud v literatuře popsána. Jedná se tedy o první pilotní experiment, který se bude v následujícím roce v rámci probíhajícího projektu opakovat. Ve srovnání s dynamikou DON a jeho maskovaného analogu D3G se enniatiny chovají v průběhu sladování naprosto odlišně (viz *Obr. 3*). V průběhu prvních tří dnů máčení dochází

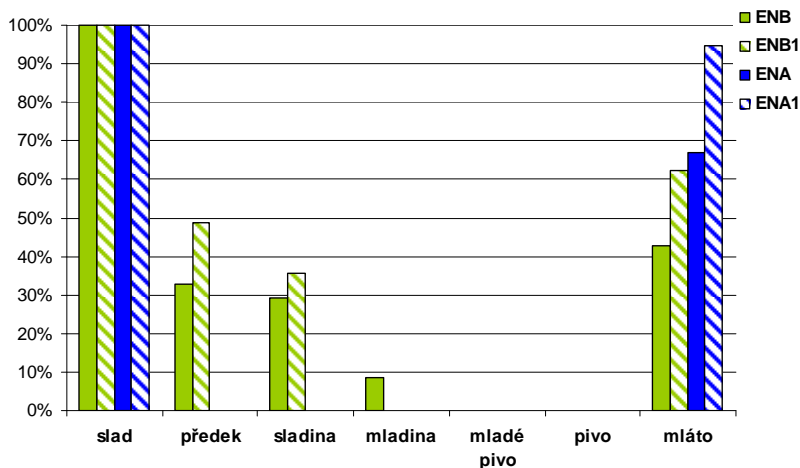
k pomalému snižování koncentrací všech enniatinů (EN B, EN B1, EN A, EN A1), což může být vysvětleno jejich nižší polaritou ve srovnání s trichoheceny. Markantní pokles byl zaznamenán až po ukončení máčení a nastartování procesu klíčení. V zeleném sladu došlo k poklesu o 20 % EN A a EN A1 oproti ječmenu po třetím dni máčení. Naopak hladiny EN B a EN B1 se zvýšily o 30 % a o 20 %. Hvozďením, dotahováním a odlícením již k velkým změnám hladin nedochází s výjimkou EN B1, který poklesl o dalších 20 %. Výsledný slad obsahoval v porovnání se vstupním ječmenem mnohem nižší hladiny, proto lze usuzovat, že na rozdíl od trichohecenů pravděpodobně nejsou enniatiny vázány do maskovaných forem nebo se za daných podmínek z maskovaných forem neuvolňují. Vysoké hladiny enniatinů byly opět detekovány ve sladovém květu (**Tab. I**)



Obr. 3: Dynamika enniatinů v průběhu sladování

Tab. I: Hladiny enniatinů detekované ve sladovém květu

varianta	mykotoxiny (µg/kg)			
	EN A	EN A1	EN B	EN B1
sladový květ	416	451	397	497



Obr. 4: Dynamika enniatinů v průběhu pivovarství

Při zhodnocení přestupu enniatinů do piva (viz Obr. 4) je nutné konstatovat, že do konečného piva nepřecházejí, což je patrné z vysokých hladin detekovaných v mlátu. EN A a EN A1 nebyly detekovány v žádném meziproduktu sladování a EN B a EN B1 byly stanoveny na nejvyšší hladině v předku.

ZÁVĚR

Kontaminace cereálií mykotoxiny je závažným celosvětovým problémem. Největším rizikem pro konzumenty jsou maskované formy těchto toxinů, které se uvolňují v průběhu enzymatických procesů probíhajících při sladování a vaření piva. To znamená, že i při použití ječmene s velmi nízkými koncentracemi trichothečenů mohou být hladiny těchto látek ve výsledném pivo mnohonásobně vyšší. Opačný jev byl pozorován při sledování enniatinů v průběhu těchto technologií. Vstupní surovina byla kontaminována mnohonásobně více než slad a z něj vyrobené pivo.

LITERATURA

1. Zpráva o českém pivovarství a sladařství, dostupné na <http://www.cspas.cz/index.asp?lang=2>), staženo dne 1.10.2010
2. Lancová K., Hajšlová J., Poustka J., Krplová A., Zachariášová M., Dostálek P., Sachambula L.: Transfer of *Fusarium* mycotoxins and „masked“ deoxynivalenol (deoxynivalenol-3-glucoside) from field barely through malt to beer. *Food Additives and Contaminants.*, 25 (6), 732–744 (2008).
3. Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs; *Official Journal of the European Union*, 2006, 5–24 (2006).
4. Berthiller F., Dall’Asta C., Schuhmacher R., Lemmens M., Adam G., Krska R.: Masked mycotoxins: determination of a deoxynivalenol glucoside in artificially and naturally contaminated wheat by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Journal of agricultural and food chemistry*, 53, 3421–3425 (2005).
5. Jestoi M.: Emerging *Fusarium*-mycotoxins fusaproliferin, beauvericin, enniatins and moniliformin – A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48 (1), 21–49 (2008).
6. Meca G., Zinedine A., Blesa J., Font G., Manes J.: Further data on the presence of *Fusarium* emerging mycotoxins enniatins, fusaproliferin and beauvericin in cereals available on Spanish markets. *Food and Chemical Toxicology*, 48 (5), 1412–1416 (2010).
7. Verstraete F, EU food safety legislation with focus on contaminants: Challenges for food research, in *Food Research in Support to Science – Base Regulations: Challenges for Producers and Customers*. 21–22th April, Prague (2009).

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SELECTED VARIETIES OF MALTING BARLEY

Mareček V., Cerkal R.

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

E-mail: vit.marecek@mendelu.cz

ABSTRACT

Antioxidants can be defined as substances capable of hindering, slowing down, or preventing undesirable tastes and scents that occur as a result of oxidation caused by free radicals. The vast majority of natural antioxidants are being taken in by humans as a part of complex mixtures and therefore, the term Total Antioxidant Activity (TAA) has been introduced. The aim of this work was to determine the total TAA of grain in selected varieties of spring barley (*Hordeum vulgare* L.) treated by zinc fertilizer in two growth stages and subsequently, compare the TAA to the qualitative parameters of malt. One of the most often used methods for establishing TAA is the TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) method that indicates the antioxidant activity of a sample that is equivalent to a specific amount of the standard of Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid). The extracts were obtained by mashing 25 g of homogenized grist with the supplement of 225 ml of distilled water at a temperature of 45 °C for the duration of 15 minutes. TEAC was determined on the basis of the samples' capacity to eliminate synthetic radicals DPPH (1,1-diphenyl-2-(2,4,6-trinitrophenyl)hydrazyl). The absorbance decrease was measured at the 515 nm wave length after 10 minutes from the beginning of the reaction. The highest average TEAC value was found in the Aksamit variety ($1.34 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$), the lowest one was found in the Radegast variety ($1.05 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$). The inter-variety difference for the measured TEAC values represented almost 30 %, the difference in varieties treated by zinc fertilizer was 10 %. Very weak or weak correlations were found between TEAC and the extract content ($r=-0.3^*$), the final attenuation ($r=0.34^*$), soluble nitrogen content ($r=-0.43^*$), β -glucans content ($r=0.49^*$) and malting quality index (MQI, $r=-0.33^*$).

Key words: Barley, antioxidant, malt, TEAC

Acknowledgements: This work was carried out with the support of the Research Centre for Study of Extract Compounds of Barley and Hop VC 1M0570 and the project IGA SP2100061.

ÚVOD

Látky s antioxidačními účinky se v průběhu několika minulých let dostaly do popředí zájmu jak laické veřejnosti, tak i mnoha odborníků, především z potravinářských oborů (Karabín et al., 2006). Antioxidanty v potravinách mohou být definovány jako jakékoli látky, které jsou schopny zdržovat, zpomalovat nebo zabraňovat rozvoji nežádoucích chutí a vůní v důsledku oxidace způsobené volnými radikály. Podle způsobu inhibice oxidačních procesů mohou být antioxidanty děleny na dvě základní skupiny. Primární antioxidanty jsou látky, které s volnými radikály reagují za vzniku stabilních molekul. O sekundárních antioxidantech hovoříme v případě, že nereagují přímo s volnými radikály, ale různými mechanismy zabraňují jejich vzniku (Gordon, 2001). Volné radikály jsou atomy nebo molekuly obsahující nepárové elektrony, díky čemuž jsou vysoce reaktivní a nestabilní. Hrají velmi důležitou roli v mnoha biologických procesech, včetně metabolických cyklů, buněčné signalizaci, imunitní reakci a různých patofyziologických stavech (Vikram et al., 2009). Převážnou většinu přírodních antioxidantů přijímají lidé jako součást složitých směsí, jejichž složky mohou vzájemně reagovat s různými radikály rozličnými mechanismy. Z tohoto důvodu jsou snahy charakterizovat antioxidační aktivitu směšných vzorků jako celek. Termín celková antioxidační aktivita (Total Antioxidant Activity, TAA) byl zaveden pro snadnější vzájemné porovnání antioxidačních účinků různých vzorků. Metod pro stanovení TAA bylo vyvinuto velké množství. Jednou z nejvíce používaných je metoda TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), která udává antioxidační aktivitu vzorku ekvivalentní určitému množství standardu Troloxu (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina) (Fidler a Kolářová, 2009).

Cílem práce bylo u vybraných odrůd ječmene jarního stanovit celkovou antioxidační aktivitu v zrna a následně porovnat s kvalitativními parametry sladu.

MATERIÁL A METODIKA

Jako výchozí materiál byly využity vzorky zrna ječmene jarního (*Hordeum vulgare* L.) získané při řešení aktivity Výzkumného centra pro studium obsahových látek ječmene a chmele (VC 1M0570) vypěstované na ŠZP v Žabčicích v roce 2009. V pokusu byl sledován vliv aplikace zinečnatého hnojiva Zinran (celkový obsah 50 % Zn a 4,7 % S) ve dvou růstových fázích: Zn1 (1 kg · ha⁻¹ v DC 31) a Zn2 (1 kg · ha⁻¹ v DC 55) na technologickou jakost zrna (Cerkal et al., 2010).

Laboratorní vzorek zrna (30 g) každé ze šesti sladovnických odrůd (Aksamit, Bojos, Jersey, Prestige, Radegast, Sebastian) byl rozemlet na laboratorním mlýnku QC 124 (Mezos, ČR) s velikostí síta 0,8 mm a následně homogenizován. Do rmutovací nádoby bylo naváženo 25 g meliva a přidáno 225 ml destilované vody. Melivo bylo rmutováno ve 12místné rmutovací

lázní Bender a Hobein 15 minut při teplotě 45 °C a poté byly vyjmuty a ponechány při pokojové teplotě 30 minut. Ochlazené vzorky byly hodinu filtrovány přes skládaný filtr (červený filtrační papír č. 560), přelity do uzavíratelných plastových lahvíček a skladovány při teplotě -20 °C.

Před měřením absorbance byly vzorky extraktů rozmrazeny a přefiltrovány přes nitrát-celulózový filtr s pórovitostí 0,2 μm. Pro stanovení antioxidační aktivity byla použita metoda využívající eliminaci syntetických radikálů DPPH (1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl). Jako standardní látka byl použit Trolox rozpuštěný v methanolu a z tohoto zásobního roztoku byla ředěním připravena kalibrační řada v experimentálně zjištěném rozmezí koncentrací 20–500 μmol · l⁻¹. Ze zásobního roztoku DPPH (0,2 mol · l⁻¹) v methanolu byl připraven pracovní roztok o koncentraci 100 μmol · l⁻¹ obsahující octanový pufr (pH 4,3) v poměru 1:2 (DPPH:pufr). Pro analýzu bylo do polystyrénových kyvet (Plastibrand-Brand ISO 9001/14001) odebráno 1,9 ml této reakční směsi, ke které bylo přidáno 100 μl vzorku. Úbytek absorbance byl měřen při vlnové délce 515 nm po dobu 10 min. od začátku reakce na Life science UV/VIS spektrofotometru DU 730 (Beckman Coulter, USA). Původní fialové zbarvení roztoku bylo působením antioxidantů odbarveno. Míra schopnosti inhibice fialového zbarvení byla vyjádřena v procentech a pomocí kalibrační křivky přepočtena na ekvivalentní množství Troloxu (Fidler, Kolářová, 2009).

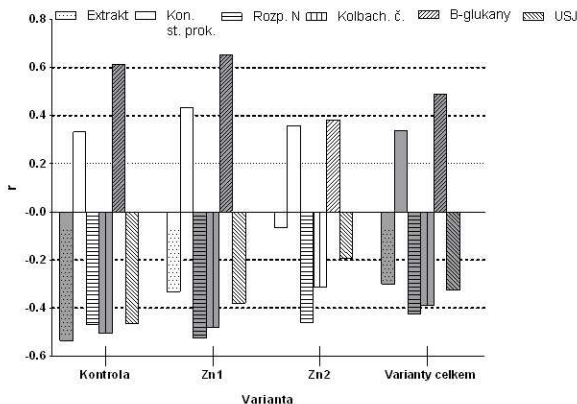
VÝSLEDKY A DISKUZE

Výstupy analýzy variance a následného testování podle Tukeye ($P < 0,05$) ukázaly na existenci rozdílů v celkové antioxidační aktivitě zrna (TEAC) mezi jednotlivými genotypy i mezi variantami ošetření zinečnatým hnojivem. Pro objasnění vztahů mezi antioxidační kapacitou a vybranými ukazateli jakosti sladu byly vypočteny korelační koeficienty (Obr. 1).

Nejvyšší průměrná hodnota TEAC byla zjištěna u odrůdy Aksamit (1,34 μmol · g⁻¹; Tab. 2), nejnižší u odrůdy Radegast (1,05 μmol · g⁻¹). Rozdíl v naměřených hodnotách TEAC tedy představoval téměř 30 %. Významnou roli v metabolismu antioxidačních látek sehrála také přítomnost zinku (Moos, 2000). Jeho aplikace na vyvíjející se zrna (ve fázi DC 57) přispěla k poklesu hodnot TEAC o více než 10 % oproti kontrolní, neošetřené variantě (1,28 μmol · g⁻¹). Aplikace zinku ve fázi DC 31 se na hodnotách antioxidační kapacity zrna průkazně neprojevila (1,24 μmol · g⁻¹). Vycházíme-li z předpokladu, že antioxidační látky byly z meliva získány extrakcí ve vodném roztoku, je zajímavé sledovat také hodnoty celkového extraktu v moučce. Průkazně nejvyšší hodnoty extraktu byly zjištěny u odrůdy Sebastian (81,83 %), nejnižší u odrůdy Aksamit (80,69 %), u které byl zároveň zjištěn absolutně nejnižší obsah rozpustného dusíku (75 mg · 100 ml⁻¹). Obsah rozpustného dusíku nárůstal u jednotlivých odrůd s jejich klesající TEAC (viz obr. 1). To lze zdůvodnit degradací skupiny látek antioxidační povahy, u kterých dochází při teplotě 45 °C k uvolňování radikálů obsahujících rozpustný dusík. U souboru sladovnických odrůd bylo zjištěno široké spektrum obsahu β-glukanů (od 130 do 331,4 mg · l⁻¹), které pozitivně korelovalo s hodnotami TEAC ($r = 0,49^*$). Uvedené potvrzuje obecně známý fakt o antioxidačním působení β-glukanů (Hall, 2001). V pivovarské praxi jsou však vysoké hodnoty β-glukanů

příčinou technologických problémů a jejich zvýšený obsah v zrnu, resp. ve sladu, je proto nežádoucí (Wunderlich, Back, 2008).

Obr. 1 Korelace mezi antioxidační kapacitou (TEAC) zrna a vybranými parametry jakosti sladu ječmene jarního z lokality Žabčice (2009)



Pozn. Pro výpočet vztahů byly použity data z celého souboru ($n=54$), resp. hodnoty grupované podle variant ošetření zinečnatým hnojivem (kontrola, Zn1 a Zn2; $n=18$) bez ohledu na odrůdu. Příkazné závislosti jsou v grafu znázorněny výplní.

Hodnocení souboru dat regresní analýzou ukázalo na existenci velmi slabé negativní závislosti mezi TEAC a obsahem extraktu ($r=-0,3^*$), velmi slabé pozitivní korelace s konečným stupněm prokvašení ($r=0,34^*$). Slabý negativní vztah byl zjištěn mezi u obsahu rozpustného dusíku ($r=-0,43^*$). Slabou pozitivní závislostí ($r=0,49^*$) se vyznačoval vztah mezi TEAC a obsahem β -glukanů. Mezi hodnotami TEAC a USJ byla zjištěna velmi slabá negativní závislost ($r=-0,33^*$)

ZÁVĚR

Byla stanovena celková antioxidační aktivita (TEAC) u šesti odrůd ječmene jarního ošetřeného ve dvou růstových fázích zinečnatým hnojivem Zinran. Rozdíl v hodnotách TEAC mezi jednotlivými odrůdami činil téměř 30 % ($1,34-1,05 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$), mezi variantami ošetření pak více než 10 % ($1,28-1,15 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$). Z těchto skutečností lze vyvozovat, že aplikace zinečnatého hnojiva ovlivňuje množství obsažených látek s antioxidačními účinky v zrnu ječmene jarního, avšak primárně je TEAC spíše odrůdovou záležitostí. Byly zjištěny velmi slabé nebo slabé závislosti mezi TEAC a obsahem extraktu ($r=-0,3^*$), konečným stupněm prokvašení ($r=0,34^*$), obsahem rozpustného dusíku ($r=-0,43^*$), obsahem β -glukanů ($r=0,49^*$) a USJ ($r=-0,33^*$).

LITERATURA

Cerkal R., Hřivna L., Ryant P., Prokeš J., Březinová Belcredi N., Vejražka K., Michnová M., Gregor T. (2010): Zinek – vliv na růst rostlin a kořenů ječmene, technologickou kvalitu zrna a kvašení sladiny. *Kvasný průmysl*, 56(3): 152-159.

Fidler M., Kolářová L. (2009): Analýzy antioxidantů v chmelu a pivu. *Chem. Listy*, 103: 232-235.

Gordon M. H. (2001): The development of oxidative rancidity in foods. In: Pokorný J., Yanishlieva N., Gordon M. (eds.) *Antioxidants in Food*. Woodhead Publishing Limited, Sawston (UK):7-21. ISBN: 1 85573 463 X.

Hall C. (2001): Sources of natural antioxidants: oilseeds, nuts, cereals, legumes, animal products and microbial sources. In: Pokorný J., Yanishlieva N., Gordon M. (eds.) *Antioxidants in Food*. Woodhead Publishing Limited, Sawston (UK):159-209. ISBN: 1 85573 463 X.

Karabín M., Dostálek P., Hořta P. (2006): Přehled metod pro stanovení antioxidační aktivity v pivovarství. *Chem. Listy*, 100: 184-189.

Moss R. W. (2000): *Antioxidants against Cancer*. Equinox Press, Inc. New York: p.82. ISBN: 1-881025-28-74.

Vikram D. S., Rivera B. K., Kuppasamy P. (2009): In Vivo Imaging of Free Radicals and Oxygen. In: Uppu R. M., Murthy S. N., Parinandi N. L. (eds.): *Free Radicals and Antioxidant Protocols*, Second Edition. Humana Press, New York: 3-28. ISBN: 978-1-58829-710-5.

Wunderlich S., Back W. (2008): Overview of Manufacturing Beer: Ingredients, Processes, and Quality Criteria. In: Preedy V. R. (ed.): *Beer in Health and Disease Prevention*. Academic Press (Elsevier): 3-16. ISBN: 978-0-12-373891-2.

PŘÍLOHY:

Tab. 1: Tabulka analýzy variance pro antioxidační kapacitu zrna ječmene (TEAC) a vybrané jakostní parametry sladu

Faktor	n	TEAC ($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$)		Extrakt v moučce (%)		Kon. stupeň prokvašení (%)		Rozp. N ($\text{mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$)		Kolbachovo číslo		Obsah β -glukanů ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)		USJ	
		MS	Výz.	MS	Výz.	MS	Výz.	MS	Výz.	MS	Výz.	MS	Výz.	MS	Výz.
Odr.	5	0,09074	***	2,4	***	29,5	***	460,1	***	157,7	***	51449	***	14,0923	***
Var.	2	0,07825	***	0,2	NS	0,0	NS	1,5	NS	1,8	NS	1538	NS	0,2984	NS
Odr. x Var.	10	0,00183	NS	0,0	NS	0,3	NS	9,5	NS	1,4	NS	1474	NS	0,1020	NS
Chyba	36	0,00818		0,3		0,2		8,5		2,2		1339		0,5163	
Celkem	53														

Pozn. MS – průměrný čtverec; Výz. – významnost na hladině $P < 0,05$ *, $P < 0,01$ **, $P < 0,001$ *** * Odr. – odrůda, Var. – varianta; NS – statisticky nevýznamné. USJ – ukazatel sladovnické jakosti.

Tab. 2: Průměrné hodnoty TEAC zrna ječmene, vybraných jakostních parametrů sladu a výsledky testování rozdílů mezi úrovněmi faktorů Tukeyovým testem ($P < 0,05$)

	Faktor	TEAC ($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$)	Extrakt v moučce (%)	Kon. stupeň prokvašení (%)	Rozp. N ($\text{mg} \cdot 100 \text{ml}^{-1}$)	Kolbachovo číslo	Obsah β -glukanů ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	USJ
		Průměr $\pm s_d$	Průměr $\pm s_d$	Průměr $\pm s_d$	Průměr $\pm s_d$	Průměr $\pm s_d$	Průměr $\pm s_d$	Průměr $\pm s_d$
Odrůda	Aksamit	1,34 \pm 0,13 ^a	80,69 \pm 0,52 ^b	80,24 \pm 0,53 ^b	75,00 \pm 2,87 ^d	36,39 \pm 1,32 ^c	331,44 \pm 49,93 ^a	1,68 \pm 0,09 ^c
	Bojos	1,25 \pm 0,07 ^{ab}	80,72 \pm 0,71 ^b	78,34 \pm 0,56 ^c	90,89 \pm 3,26 ^{bc}	42,27 \pm 1,63 ^b	130,00 \pm 31,69 ^d	2,82 \pm 0,43 ^d
	Jersey	1,27 \pm 0,09 ^{ab}	81,77 \pm 0,27 ^a	81,52 \pm 0,29 ^a	88,11 \pm 1,69 ^c	46,89 \pm 1,78 ^a	259,89 \pm 42,55 ^b	4,73 \pm 0,57 ^{ab}
	Prestige	1,26 \pm 0,09 ^{ab}	80,89 \pm 0,38 ^b	81,83 \pm 0,36 ^a	87,56 \pm 2,13 ^c	42,26 \pm 1,09 ^b	194,33 \pm 31,25 ^c	3,90 \pm 0,44 ^{bc}
	Radegast	1,05 \pm 0,11 ^c	81,17 \pm 0,44 ^{ab}	77,46 \pm 0,39 ^d	92,44 \pm 2,13 ^{ab}	44,21 \pm 1,71 ^b	157,33 \pm 33,41 ^{cd}	3,33 \pm 0,53 ^{cd}
	Sebastian	1,17 \pm 0,08 ^b	81,83 \pm 0,50 ^a	81,83 \pm 0,39 ^a	95,67 \pm 4,42 ^a	48,20 \pm 0,78 ^a	165,22 \pm 29,21 ^{cd}	5,04 \pm 1,24 ^a
Varianta	K	1,28 \pm 0,12 ^a	81,22 \pm 0,68 ^a	80,06 \pm 1,66 ^a	88,44 \pm 7,26 ^a	43,64 \pm 4,22 ^a	198,94 \pm 67,04 ^a	3,62 \pm 1,41 ^a
	Zn1	1,24 \pm 0,12 ^a	81,07 \pm 0,71 ^a	80,16 \pm 1,74 ^a	88,44 \pm 6,75 ^a	43,02 \pm 4,09 ^a	216,72 \pm 90,17 ^a	3,44 \pm 1,23 ^a
	Zn2	1,15 \pm 0,13 ^b	81,24 \pm 0,62 ^a	80,10 \pm 1,85 ^a	87,94 \pm 7,78 ^a	43,44 \pm 4,18 ^a	203,44 \pm 78,80 ^a	3,69 \pm 1,34 ^a

Pozn. s_d – směrodatná odchylka; K – kontrola, Zn1, Zn2 – ošetřeno zinečnatým hnojivem v růstové fázi DC 31, resp. DC 55. Průměry označené odlišnými písmeny představují statisticky významné rozdíly na 95% hladině významnosti.

CONTENT OF RUTIN CREATION IN ANATOMICAL PARTS IN CHOSEN VARIETES OF AMARANTH (*AMARANTHUS L.*) DURING GROWING

Margitanová E.¹, Vollmannová A.¹, Čičová I.², Krížová L.¹, Bystrická J.¹

¹Department of Chemistry, Faculty of Biotechnology and Food Science, Slovak University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

²Research Institute of Plant Production, Bratislavská 122, 921 68 Piešťany, Slovakia

E-mail: e.margitanova@gmail.com, cicova@vurv.sk

ABSTRACT

Amaranth, which belongs to the *Amaranthaceae* family, is an ancestral American crop that was used by Mayas, Aztecs and Indas and then prohibited after the conquest. It is considered as a pseudocereal and has a high nutritive value, with nutritive value, with high protein content and an excellent aminoacidic balance. The aim of our work was study of flavonoid – rutin in 4 chosen varieties (Burgundy, Olpir, Plainsman, Elephant head) of amaranth (*Amaranthus L.*). Samples of plant material we obtained from The Plant Production Research Center in Piešťany. The content of rutin was evaluated in growth phase I. (intensive extension of stems), in phase II. (formation of flowers), in phase III. (milk ripeness) and in phase IV. (full ripeness) by the method HPLC (Chromatograph Alliance 269, Waters, USA). The contents of rutin in stems of all tested varieties of amaranth were in range from 0 (Elephant head) to 3.125 mg.kg⁻¹(Burgundy), in leaves the contents were from 13.145 (Olpir) to 34.4225 mg.kg⁻¹(Burgundy). The highest values were obtained by seed of amaranth while it represented the range from 261.4625 (Olpir) to 502.87 mg.kg⁻¹ Burgundy. The most suitable variety from the tested ones was Burgundy from the standpoint of crops using as functional foodstuffs.

Key words: amaranth, rutin, varieties, anatomical parts, grow

Acknowledgments: This research was supported by Research Project VEGA 1/0030/09, APVV SK-SI-0008-08.

ÚVOD

V poslednom období sa odporúča konzumácia atypickej zeleniny (výhonkov z pseudocereálií akými sú napr. laskavec mrlík a iné), ktoré sa využívajú ako funkčná potravina, pre vysokú nutričnú hodnotu, zahŕňujúcu aminokyseliny, vlákninu, mikroelementy, vitamíny ako aj flavonoidy a fenolové kyseliny (Paško et al., 2008). Aj ich zrná majú vysokú nutričnú a funkčnú hodnotu spájajúcu sa s kvantitou a kvalitou ich proteínov, tukov a antioxidačnou kapacitou (Paško, Sajewicz, Gorinstein, & Zachwieja, 2008). Ich je spojená s nižším rizikom rôznych ochorení ako je ateroskleróza, rakovina, cukrovka a Alzheimerova choroba (Rimm et al., 1996; Steinmetz & Potter, 1996). Postupom času sa rozšírilo využívanie niektorých pseudocereálií, ako je laskavec alebo mrlík nielen v rámci bežnej stravy, ale aj v strave ľudí s celiakiou alebo alergiou na typické obilniny (Berti, Riso, Brusamolino, & Porrini, 2005). Vysoká nutričná hodnota zŕn laskavca je dôvodom pre zvyšujúci sa záujem jeho využitia ako alternatívnej plodiny (Pospíšil et al., 2006), pretože má vysoký obsah bielkovín (14-18 %) (Aufhammer et al., 1999). Obsah lyzínu je 3 - 3,5 násobne vyšší v porovnaní s kukuricou a 2 - 2,5 násobne vyšší v porovnaní s pšenicou (Svirskis, 2003). Listy laskavca sú bohatým zdrojom bielkovín, karotenoidov, vitamínu C, vlákniny a minerálnych látok ako je vápnik, železo, zinok, horčík a fosfor (Shukla et al., 2006). Zrno laskavca obsahuje 6- 9 % oleja, približne 77 % nenasýtených mastných kyselín, hlavne kyselinu linolovú, ktorá je nevyhnutná pre ľudskú výživu. Laskavec je dobrým zdrojom flavonoidov, ktoré sa tvoria vo fáze kvitnutia (Martirosyan et al., 2003). Zrno laskavca obsahuje 7 % tukov a približne 8 % pripadá na skvalén, často využívaný vo farmaceutickom priemysle. Laskavcový olej a skvalén nachádza svoje uplatnenie prevažne pri liečení onkologických ochorení, pri poruche imunity, na odstránenie vredov a preležanín (Bogolyubov, 1999). V porovnaní s ostatnými cereáliami je celkový obsah minerálov (popola) v semenách laskavca vyšší. Semená laskavca obsahujú i celý rad vitamínov, ktoré sú koncentrované najmä v klíčku. Nutrične významný je obsah vitamínu B₂ a niacínu, antioxidačného vitamínu E, menej vitamínu B₁ a vitamínu C (Habanová, Habán, 2003).

Laskavec sa využíva pri výrobe potravinárskych výrobkov (Pospíšil et al., 2006) (krupica, kaše, mäsli, múka ako súčasť chleba) a pôsobí proti procesu starnutia ľudského organizmu (Dziwulska-Hunek et al., 2009).

Cieľom práce bolo sledovanie dynamiky tvorby rutínu v jednotlivých anatomických častiach vybraných odrôd laskavca počas vegetácie.

MATERIÁL A METÓDY

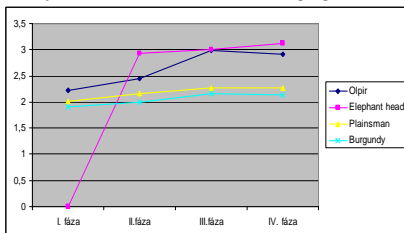
Pre realizáciu pokusu sme vybrali 4 odrody láskavca (*Amaranthus L.*), a to Burgundy, Olpir, Plainsman a Elephant head. Rastlinný materiál sme odobrali v štyroch štádiách rastu rastliny láskavca, a to v čase intenzívneho predlžovania stoniek, počas formovania kvetných útvarov, v mliečnej zrelosti a v plnej zrelosti (stonky, listy, kvety, semená). Obsah rutínu bol stanovený HPLC metódou s použitím chromatografického systému Waters Alliance 2695 (USA), ktorý je vybavený kvartérnou pumpou, DAD detektorom 2487, automatickým dávkovačom vzoriek a programom Empower. Na separáciu látky bola použitá kolóna LiChrospher 100, RP-18 (250 mm x 4 mm, Merck), s prietokom mobilnej fázy cez kolónu 1 ml/minútu a nástrekom 10 μ l. Mobilnými fázami boli: A acetonitril, B: 0,1 % kyselina fosforečná (80:20 v/v). U študovanej látky boli retenčné časy porovnané s retenčným časom štandardu pri vlnovej dĺžke 365 nm a teplote termostatu kolóny 30°

C. Všetky analýzy boli uskutočnené v 4 paralelných meraniach. Obsah rutínu bol vypočítaný na základe kalibračnej krivky štandardu a vyjadrený v $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ čerstvej hmoty.

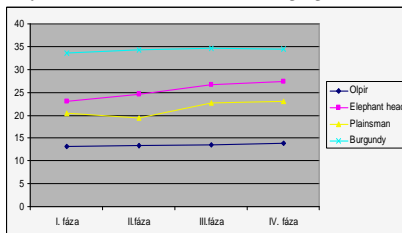
VÝSLEDKY A DISKUSIA

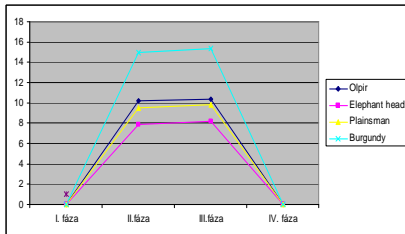
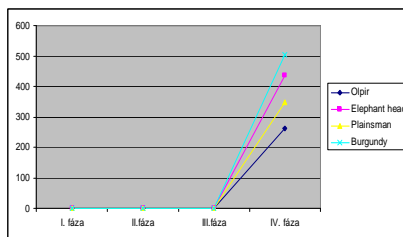
V práci sme v jednotlivých anatomických častiach láskavca (stonky, listy, kvety, semená) sledovali dynamiku tvorby rutínu počas vegetácie (4 odbery). V prvej fáze odberu, v čase intenzívneho predlžovania stoniek, sme mali k dispozícii iba stonky a listy. Zo získaných výsledkov vyplýva, že stonky mali podstatne nižší obsah rutínu v porovnaní s listami. Najvyšší obsah rutínu v stonkách sledovaných odrôd láskavca mala odroda Olpir ($2,22 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) a v listoch (I. fáza) sme zistili najvyšší obsah rutínu v odrode Burgundy ($33,5525 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). V druhom odbere sme mali k dispozícii okrem listov a stoniek už aj kvety. Najnižšie obsahy rutínu v II. fáze (formovanie kvetných útvarov) mali stonky pri všetkých odrodách, najvyššie obsahy sme namerali v listoch. Kvety láskavca obsahovali polovičné množstvo rutínu v porovnaní s listami. Najvyššia koncentrácia rutínu v kvetoch všetkých sledovaných odrôd láskavca bola zistená v odrode Burgundy ($14,99 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). V priemere v listoch láskavca sme zaznamenali 2,15 krát väčší obsah rutínu ako v kvetoch láskavca a 9,61 krát väčší obsah rutínu ako v stonkách láskavca. Vo fáze mliečnej zrelosti (3.fáza) sme hodnotili množstvo rutínu podobne ako v predchádzajúcej fáze a to v stonkách, listoch a kvetoch. Zo získaných výsledkov o obsahu rutínu v jednotlivých anatomických častiach láskavca môžeme zostaviť nasledujúce poradie: stonky < kvety < listy.

Graf 1 Obsah rutínu v stonke v $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$



Graf 2 Obsah rutínu v listoch v $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$



Graf 3 Obsah rutínu v kvetoch v mg. kg⁻¹Graf 4 Obsah rutínu v semenách v mg.kg⁻¹

V tejto rastovej fáze sa množstvo rutínu v stonkách pohybovalo od 2,1625 - do 3,00 mg.kg⁻¹, v kvetoch od 8,2075 – do 15,38 mg.kg⁻¹ a najvyššie hodnoty sme zistili v listoch (13,5275 - 34,62 mg.kg⁻¹). V IV. rastovej rastovej fáze (plná zrelosť) sme mali k dispozícii stonky, listy a semená. Pri hodnotení tejto fázy na základe obsahu rutínu možno zoradiť jednotlivé anatomické časti laskavca nasledovne: stonky (2,135 – 3,125 mg.kg⁻¹) < listy (13,87 – 34,4225 mg.kg⁻¹) < semená (261,46 – 502,87 mg.kg⁻¹). Vo fáze plnej zrelosti najvyšší obsah rutínu v semenách i v listoch laskavca sme zistili v odrode Burgundy. Naše výsledky obsahu rutínu v semenách korešponujú s výsledkami autorov Kalinová a Dadáková (2009), ktorí namerali obsah rutínu od 127 – 592 mg.kg⁻¹. Rozdielne hodnoty v obsahu rutínu v semenách laskavca môžu byť zapríčinené aj odrodou, ako aj ďalšími faktormi.

Postupný nárast rutínu počas vegetácie rastliny laskavca nie je jednoznačný podobne ako to udáva aj Kalinová a Dadáková (2009). Vo všetkých sledovaných odrodách sme zaznamenali podobne ako Kalinová a Dadáková (2009) na začiatku vegetačného obdobia nižší obsah rutínu v stonkách ako na konci vegetácie. Naše výsledky nekorešponujú s výsledkami Martinkovej et al. (2009), ktorí udávajú najväčšie množstvo rutínu v období predlžovania stonky, teda v I. rastovej fáze. V sledovaných odrodách laskavca sme postupne zvyšovanie obsahu rutínu v listoch zistili v odrodách Olpir a Elephant head. V odrode Plainsman sme zaznamenali mierne zníženie obsahu rutínu v II. fáze oproti obsahu rutínu v I. fáze z hodnoty 20,47 na 19,38 mg.kg⁻¹. V odrode Burgundy zaznamenali sme mierny pokles obsahu rutínu v IV. fáze oproti obsahu rutínu v III. fáze o 0,2 mg.kg⁻¹. Maximálny nárast obsahu rutínu v kvetoch všetkých sledovaných odrôd laskavca sme zistili v III. fáze (mliečna zrelosť), pričom najvyššie množstvo rutínu v kvetoch mala odroda Burgundy (15,38 mg.kg⁻¹).

ZÁVER

Pseudocerálie, ako je laskavec, sú bohatým zdrojom bielkovín, tukov, vitamínov, minerálnych látok, vlákniny, antioxidantov a polyfenolových zlúčenín. Pravidelná konzumácia má blahodarné účinky na ľudské zdravie. My sme sa venovali stanoveniu rutínu v stonkách, listoch, kvetoch a semenách laskavca. Najväčšia pozornosť bola venovaná listom, kvetom a semenám z hľadiska ich využitia pri výrobe potravinárskych výrobkov (kaše, müsli, múka ako súčasť chleba, príprava šalátov z čerstvých listov). Z hľadiska využitia listov mladých rastlín na prípravu šalátov je najvhodnejším obdobím zber v III. fáze, kedy listy produkovali najviac rutínu zo sledovaných anatomických častí rastliny laskavca. Obsah rutínu v listoch sa pohyboval od 13,145 mg.kg⁻¹

(Olpir) - do 34,425 mg.kg⁻¹ (Burgundy). Oveľa významnejším zdrojom rutínu sú však semená laskavca, ktoré sa môžu práve z tohto dôvodu využiť jako vynikajúci surovinu pre výrobu nového typu potravín – tzv. funkčných potravín. Odroda Burgundy bola najbohatším zdrojom rutínu v semenách (502,87 mg.kg⁻¹), ale taktiež aj v kvetoch (15,28 mg.kg⁻¹).

LITERATÚRA

Aufhammer, W., Kübler, E., Lee, J. H. (1999): Grain quality of the pseudocereals buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench), quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) and amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.x *A.hybridus* L.) in relation to growing conditions. Die Bodenkultur, 50: 11-24.

Berti, C., Riso, P., Brusamolino, A., & Porrini, M. (2005): Effect on appetite control of minor cereal and pseudocereal products. British Journal of Nutrition, 94: 850–858.

Bogolyubov, I. S. (1999): Reference book “Source of Health”. Tverj, p. 62 (2nd ed.) [cited by Svirskis, A. (2003). Investigation of amaranth cultivation and utilization in Lithuania. Agronomy Research, 1(2), 253–264].

Habánová M., Habán M. (2003): Možnosti využitia laskavca (*Amaranthus L.*) - funkčnej potraviny. Výživa a potraviny pre tretie tisícročie „Funkčné - potraviny“: Zborník z vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou. ISBN 80 – 8069 – 174 -6.

Kalinová, D., Dadáková, E. 2004. Varietal differences of rutin in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench.) determined by micellar electrokinetic capillary chromatography . Proceedings of the 9th International Symposium on Buckwheat, Prague 2004, 719-722

Martinková, J., Hnilička, F., Hnilíčková, H., Orsák, M. (2009): Determination of the content of rutin and total polyphenols in leaves of spinach and amaranth. Scientia Agriculturae Bohemica, 40 (1): 6-11.

Martirosyan, D. M., Kadoshnikov, S. I., Borsukov, P. A., Kadoshnikova, I. G., Agababyan, E. Y., Kamalyan, N. S., Mnatsakanyan, V. A. (2003): Pharmacological Properties of Amaranth. Legacy, 15:6-10.

Paško, P., Sajewicz, M., Gorinstein, S., & Zachwieja, Z. (2008): Analysis of the selected phenolic acids and flavonoids in *Amaranthus cruentus* and *Chenopodium quinoa* seeds and sprouts by HPLC method. Acta Chromatographica, 20(4): 661–672.

Pospíšil, A., Pospíšil, M., Varga, B., Svečnjak, Z. (2006): Grain yield and protein concentration of two amaranth species (*Amaranthus* spp.) as influenced by the nitrogen fertilization. In: *Europ. J. Agronomy*, 25: 250-253.

Shukla, S., Bhargava, A., Chatterjee, A., Srivastava, J., Singh, N., & Singh, S. P. (2006): Mineral profile and variability in vegetable amaranth (*Amaranthus tricolor*). Plant Foods for Human Nutrition, 61: 23–28.

Svirskis, A. (2003): Investigation of amaranth cultivation and utilization in Lithuania. Agronomy Research, 1(2), 253–264.

EFFECT OF APPLICATION OF PROBIOTIC PREPARATION WITH MULTISTRAIN COMPOSITION ON CHEMICAL PROPERTIES OF MOST VALUABLE PARTS IN CHICKEN

Mihok M., Haščík P., Čuboň J., Kačániová M., Prívarová Š., Hleba L., Arpášová H.

KHSŽP, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic

E-mail: mihok.micha@gmail.com

ABSTRACT

Aim of the experiment was monitoring of influence of probiotic preparation with multistrain composition applied via available source in quantity of 3ml. group/day into chemical composition of the most precious parts of chicks' slaughter bodies – Hybro hybrid combination.

There were created 2 groups (control and experimental) for the experiment. Probiotic preparation formed on the basis of stems *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaris* LAT187, *Lactobacillus acidophilus* LAT180, *Lactobacillus helveticus* LAT179, *Lactobacillus delbrueckii* spp. *lactis* LAT182, *Streptococcus thermophilus* LAT205 a *Enterococcus faecium* E-253 containing 2.0.109 KTJ.g⁻¹ of nutritive medium was added for the experimental group. Chicks were fed during 40 days. Into 21 st day of their life feeding mixture HYD-01 (powdery form) and till the end of feeding HYD-02 was used, no antibiotics and coccidiostat were added and used of the same composition in both groups. Out of the chemical composition we detected fat content of 1.62 g.100g⁻¹ in breast muscle for the experimental group, which is less by 0.08 g.100 g⁻¹ (P≥0.05) comparing the inspection group with value of 1.70 g.100g⁻¹. The fat content in thigh muscle (12.48 g.100g) in the experimental group was by 1.41 g.100g⁻¹ higher (P≥0.05) comparing the inspection group (11.07 g.100g⁻¹). Proteins content was per 100 g of breast muscle higher (P≥0.05) in the experimental group (22.72 g.100 g⁻¹) than in the inspection one (22.65 g.100 g⁻¹). On the contrary, higher proteins content (P≥0.05) we detected in thigh muscle of inspection group (18.67 g.100g⁻¹) than in the experimental one (18.13 g.100g⁻¹). Finally, adding of checked probiotic did not essentially influence chemical composition of the most precious body parts of Hybro JOT chicks.

Key words: probiotic, Hybro, chemical composition, breast and thigh muscles

Acknowledgments: The work was elaborated within VEGA 1/0360/09 project

ÚVOD

Výber mäsového typu kurčiat ako uvádzajú Berri *et al.* (2001) sa zameriava predovšetkým na zvýšený rast a zlepšenie telesnej kompozície. Podľa Benkovej *et al.* (2005) je hydinové mäso vhodná komodita pre tvorbu tzv. funkčných potravín pre ľudskú výživu. Okrem produkcie hydinového mäsa pre potravinársky priemysel je dôležitá podľa Haščíka *et al.* (2005a) aj jeho kvalitatívna skladba, ktorú ovplyvňuje genotyp zvieratá, výživa, vek, chovateľské prostredie a rôzne ďalšie extra a intravitálne činitele. Pri vstupe Slovenskej republiky do Európskej únie došlo k zmene v legislatíve, kde boli prijaté opatrenia postihujúce pridávanie živočíšnych múčok, rastových stimulátorov, antibiotík do kŕmnych zmesí používaných vo výžive hydiny. V súčasnosti sa preto hľadajú náhrady, ktoré by mohli pozitívne ovplyvniť mikrofóru gastrointestinálneho traktu (Haščík *et al.*, 2005b, 2007; Nováková *et al.*, 2008). Využívajú sa kompletne kŕmne zmesi, ktoré sú obohatené o probiotické, enzymatické, minerálne, vitamínové a rastlinné preparáty, ktoré majú postupne nahradiť živočíšne múčky, antibiotické preparáty a kokcidiostatiká (Haščík *et al.*, 2005ab, 2007; Angelovičová *et al.*, 2006, 2008, 2009 a i). Zároveň je možná aplikácia niektorých preparátov aj cez vodný zdroj. Preto cieľom nášho experimentu bolo overenie účinnosti aplikácie probiotického preparátu s multikmeňovým zložením cez vodný zdroj na chemické zloženie najcennejších častí jatočného tela kurčiat hybridnej kombinácie Hybro.

MATERIÁL A METÓDY

Experiment na výkrmových kurčatách hybridnej kombinácie Hybro prebiehal v testovacej stanici hydiny Katedry hydinnárstva a malých hospodárskych zvierat, pri FAPZ SPU v Nitre. Z celkového počtu 120 ks jednodňových kurčiat sme vytvorili 2 experimentálne skupiny: kontrolná (K) a pokusná (P), v každej po 60 ks kurčiat. Výkrm trval 40 dní. V oboch skupinách sa používala ako štartérova KKZ HYD-01 (syvká forma) do 21. dňa veku kurčiat a od 22. dňa výkrmu do konca výkrmu KKZ HYD-02 (granulovaná forma) systémom *ad libitum*. Skrmované KKZ HYD-01 a HYD-02 boli vyrobené bez antibiotických preparátov a kokcidiostatík. Priemerná výživná hodnota kŕmnych je zobrazená v tabuľke 1. Pokusnej skupine bol vo výžive navyše aplikovaný probiotický preparát cez vodný zdroj (tabuľka 2). Pridávaný probiotický preparát s multikmeňovým zložením obsahoval kmene *L. delbrueckii spp. bulgaris* LAT187, *L. acidophilus* LAT180, *L. helveticus* LAT179, *L. delbrueckii spp. lactis* LAT182, *Streptococcus thermophilus* LAT205 a *Enterococcus faecium* E-253 s obsahom $2,0 \cdot 10^9$ KTJ.g⁻¹ v živnom médiu. Na vyhodnotenie chemického zloženia najcennejších častí jatočne opracovaného tela kurčiat sme po základnej jatočnej rozrábke pri 30 ks z každej skupiny odobrali prsnú svalovinu bez kože a stehennú svalovinu s kožou a podkožným tukom. Základné chemické zloženie mäsa bolo vyhodnocované pomocou prístroja INFRATEC 1265 (NSR), kde sme sledovali obsah vody, tuku a bielkovín v g.100 g⁻¹. Energetickú hodnotu v kJ.100 g⁻¹ sme zisťovali výpočtom cez prepočítavacie

koeficienty na obsah tuku a bielkovín. Základné variačno-štatistické hodnoty (aritmetický priemer, smerodajná odchýlka, minimum, maximum, variačný koeficient) sme vypočítali pomocou programu SAS, a na určenie preukaznosti rozdielov medzi skupinami sme použili t-test.

Tabuľka 1 Výživná hodnota podávaných kŕmnych zmesí počas experimentu

Sledovaný ukazovateľ	KKZ HYD-01	KKZ HYD-02
Sušina (g.kg ⁻¹)	917,30	913,30
Dusíkaté látky (g.kg ⁻¹)	211,30	199,70
Tuk (g.kg ⁻¹)	25,50	23,00
Škrob (g.kg ⁻¹)	413,00	434,80
Celkový cukor (g.kg ⁻¹)	49,50	31,70
ME _N (MJ.kg ⁻¹)	11,689	11,555
Vápnik (g.kg ⁻¹)	12,121	8,207
Fosfor (g.kg ⁻¹)	7,833	6,834

Tabuľka 2 Dávkovanie pitnej vody a probiotika v pokusnej skupine deň-1

Týždeň	Počet ks	Dávka pitnej vody (l)	Dávkovanie probiotika (ml)
1	60	2,5	3,0
2	60	3,5	3,0
3	60	4,6	3,0
4	60	6,7	3,0
5	60	8,6	3,0
6 (40. deň)	60	10,6	3,0

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Dosiahnuté hodnoty chemického zloženia prsnej svaloviny bez kože a stehennej svaloviny s kožou a podkožným tukom u hybridnej kombinácie Hybro, ktoré boli cieľom nášho experimentu sú zobrazené v tabuľkách 3 a 4.

Tabuľka 3 Chemické zloženie prsnej svaloviny kurčiat hybridnej kombinácie Hybro

Ukazovateľ	Skupina	\bar{x}	s	minimum	maximum	v %
Obsah vody g.100g ⁻¹	Kontrolná	74,65a	0,393	74,10	75,10	0,530
	Pokusná	74,67a	0,653	73,50	75,40	0,860
Obsah bielkovín g.100g ⁻¹	Kontrolná	22,65a	0,242	22,30	23,00	1,070
	Pokusná	22,72a	0,552	22,20	23,60	2,43
Obsah tuku g.100g ⁻¹	Kontrolná	1,70a	0,275	1,30	2,10	16,22
	Pokusná	1,62a	0,397	1,20	2,20	24,56
Energetická hodnota kJ.100g ⁻¹	Kontrolná	439,67a	14,328	422,50	461,03	3,26
	Pokusná	441,42a	16,699	420,42	466,89	3,78

Pozn.: Priemerné hodnoty v tom istom stĺpci, pri ktorých nasledujú rôzne písmená, sú preukazné pri $P \leq 0,05$

Tabuľka 4 Chemické zloženie stehnovej časti kurčiat hybridnej kombinácie Hybro

Ukazovateľ	Skupina	\bar{x}	s	minimum	maximum	v %
Obsah vody g.100g ⁻¹	Kontrolná	69,27a	2,031	66,90	71,80	2,930
	Pokusná	68,38a	1,560	66,60	70,20	2,290
Obsah bielkovín g.100g ⁻¹	Kontrolná	18,67a	0,578	17,80	19,30	3,09
	Pokusná	18,13a	0,383	17,60	18,70	2,11
Obsah tuku g.100g ⁻¹	Kontrolná	11,07a	2,531	8,40	14,30	22,88
	Pokusná	12,48a	1,790	10,10	14,40	14,36
Energetická hodnota kJ.100g ⁻¹	Kontrolná	729,65a	86,848	631,41	836,97	11,90
	Pokusná	774,10a	63,473	693,79	842,41	8,20

Pozn.: Priemerné hodnoty v tom istom stĺpci, pri ktorých nasledujú rôzne písmená, sú preukazné pri $P \leq 0,05$

Na základe výsledkov experimentu vyplýva, že obsah vody bol v prsnej svalovine v kontrolnej skupine 74,65 g.100g⁻¹ a v pokusnej 74,67 g.100g⁻¹. Suchý *et al.* (2002) zistili hodnoty obsahu vody vo svalovine kurčiat u rôznych hybridných kombinácií v rozmedzí 73,81 až 74,64 g.100g⁻¹. Podobné hodnoty uvádzajú aj Haščík *et al.* (2009), ktorí zistili obsah vody od 74,27 do 74,6 g.100g⁻¹. V stehennej svalovine bola hodnota obsahu vody v pokusnej skupine (68,38 g.100g⁻¹), t.j. nižšia o 0,89 g.100g⁻¹ ako v kontrolnej skupine (69,27 g.100g⁻¹). Suchý *et al.* (2002) uvádza, že vyššie hodnoty v obsahu vody sú v prsnej svalovine ako v stehennej, kde zistili hodnoty od 71,4 g.100g⁻¹ do 71,5 g.100g⁻¹ u hybridných kombinácií Ross 308, Cobb a Hybro. Obsah bielkovín v 100 g prsnej svaloviny dosahoval nižšie hodnoty v kontrolnej skupine (22,65 g.100g⁻¹) v porovnaní s pokusnou (22,72 g.100g⁻¹). Ako uvádzajú vo svojich prácach Simeonová (1999), Mojto a Zaujec (2001), Suchý *et al.* (2002), resp. Haščík *et al.* (2005b, 2009) obsah bielkovín v stehennej časti aj v našom experimente bol nižší oproti prsnej svalovine. Obsah bielkovín v stehennej časti bol nižší o 0,54 g.100g⁻¹ v pokusnej skupine (18,13 g.100g⁻¹), ktorej bol pridávaný probiotický preparát, v porovnaní s kontrolou (18,67 g.100g⁻¹). Opačnú tendenciu v obsahu bielkovín v stehennej svalovine popisuje Wattanachant (2004) ktorý zistil zvýšené hodnoty o 1,3 g.100g⁻¹ v pokusnej skupine (20,69 g.100g⁻¹), kde bola pridaná kukurično-sójová múčka, v porovnaní s kontrolnou skupinou (19,31 g.100g⁻¹). Tuk v mäse je považovaný za hlavný rezervár energie, ale aj ako dôležitý prvok z hľadiska senzorickej kvality mäsa, nakoľko obsahuje vysoký obsah aromatizujúcich látok (Suchý *et al.*, 2002). Hodnoty obsahu tuku v prsnej svalovine sa pohybovali od 1,62 g.100g⁻¹ v pokusnej skupine do 1,70 g.100g⁻¹ v kontrole, čo je v súlade so zisteniami Haščíka *et al.* (2009) Naopak, vyššie hodnoty uvádzajú Mojto a Zaujec (2001), Suchý *et al.* (2002), ktorých hodnoty sa pohybovali od 2,05 do 2,50 g.100g⁻¹. V stehennej časti bol obsah tuku v kontrolnej skupine na úrovni 11,07 g.100g⁻¹ a v pokusnej 12,48 g.100g⁻¹. V pokusnej skupine vyživovanej probiotikom bol obsah tuku porovnateľný s hodnotami zistenými Mojtom a Zaujecom (2001) a Haščíkom *et al.* (2009), ktorí zistili jeho obsah v tejto časti na úrovni 10,83 až 13,63 g.100 g⁻¹. Wattanachant (2004) vo svojej práci konštatuje, že obsah tuku v stehennej svalovine je vyšší ako obsah tuku v prsnej svalovine. Energetická hodnota 100 g svaloviny priamo súvisí s obsahom tuku a bielkovín. Vyššiu energetickú hodnotu sme zistili v prsnej svalovine

v pokusnej skupine ($441,42 \text{ kJ}\cdot 100\text{g}^{-1}$) v porovnaní s kontrolou ($439,67 \text{ kJ}\cdot 100\text{g}^{-1}$). V 100g stehennej svaloviny aj skožou a podkožným tukom sme zistili energetickú hodnotu o $44,45 \text{ kJ}\cdot 100\text{g}^{-1}$ vyššiu v pokusnej skupine ($774,10 \text{ kJ}\cdot 100\text{g}^{-1}$) v porovnaní s kontrolou ($729,65 \text{ kJ}\cdot 100\text{g}^{-1}$). Energetická hodnota v 100 g stehenej časti nášho experimentu bola vyššia pri porovnaní s výsledkami Haščíka *et al.* (2005b), ktorí overovali účinok probiotického preparátu vytvoreného na báze *Bacillus subtilis* a *Bacillus licheniformis* pri aplikácii cez krmnu zmes a dosiahli hodnoty od $642,13$ do $715,06 \text{ kJ}\cdot 100\text{g}^{-1}$. V nami preverovanom experimente z hľadiska štatistického môžeme skonštatovať, že pri aplikácii probiotického preparátu s multikmeňovým zložením s obsahom kmeňov *L. delbrueckii spp. bulgaris* LAT187, *L. acidophilus* LAT180, *L. helveticus* LAT179, *L. delbrueckii spp. lactis* LAT182, *Streptococcus thermophilus* LAT205 a *Enterococcus faecium* E-253 s obsahom $2,0\cdot 10^9$ KTJ.g⁻¹ v živnom médiu sa medzi sledovanými skupinami nezistili štatisticky preukazné rozdiely ($P \geq 0,05$) v obsahu vody, bielkovín, tuku a energetickej hodnote.

ZÁVER

V experimente sme hodnotili vplyv aplikácie probiotického preparátu s multikmeňovým zložením cez vodný zdroj na chemické zloženie najcennejších častí jatočného tela kurčiat hybridnej kombinácie Hybro. V konečnom dôsledku prídavok preverovaného probiotika zásadne neovplyvnil ($P \geq 0,05$) chemické zloženie najcennejších častí JOT kurčiat (prsna svalovina, stehenná svalovina s kožou a podkožným tukom) v porovnaní s kontrolnou skupinou. Na základe predchádzajúcich výsledkov môžeme odporučiť probiotický preparát vo výžive kurčiat Hybro z pohľadu zdravotného, resp. pozitívneho efektu na dosahovanú mäsovú úžitkovosť a hospodárske využitie krmiva, ale z hľadiska výsledkov chemického zloženia najcennejších častí JOT nemá uvedené preverované probiotikum opodstatnenie na jeho aplikáciu vo výžive kurčiat.

LITERATÚRA

- ANGELOVIČOVÁ, M. – MELLEN, M. – ANGELOVIČ, M. 2006. Uplatnenie biotechnologického postupu náhrady krmneho antibiotika premixom škoricovej silice vo výžive výkrmových kurčiat. In *Biotechnológia 2006*, JU: České Budejovice, 2006, s. 134 – 136. ISBN 8085- 645-53-X.
- ANGELOVIČOVÁ, M. – LADYKOVÁ, M. – LIPTAIOVÁ, D. – MOČÁR, K.- ŠTOFAN, D. 2008. Riešenie náhrady krmných antibiotík rastlinnými silicami pri výrobe kurčacieho mäsa In *IX. potravinárska konferencia : otvorené fórum o stave bezpečnosti, kvality a kontroly potravín*, Bratislava 12. - 13. februára 2008. Košice, s. 41-45.
- ANGELOVIČOVÁ, M. – AGELOVIČ, M. 2009. Zhodnotenie efektivity výkrmu kurčiat vo vzťahu k ich produkcii. In *Bezpečnosť a kontrola potravín : zborník prác z medzinárodnej vedeckej konferencie*, SPU Nitra, 1. - 2. apríl 2009., s. 199-203, ISBN 978-80-552-0193-1.
- BENKOVÁ, J.- BAUMGARTNER, J. – HETÉNYI, L. 2005. Hydinové mäso – významná zložka racionálnej výživy obyvateľstva. In *Realizácia komplexného programu ozdravenia výživy obyvateľstva SR – využitie nutričných poznatkov v primárnej a sekundárnej prevencii neinfekčných chorôb*. Zborník č. 49, SAPV, Nitra, 2005, s. 31-32. ISBN 80- 89162-18-5.

BERRI, C.– WACREINIER, N.– MILLET, N.– LE BIHAN-DUVAL, E. 2001. Effect of selection for improved body composition on muscle and meat characteristics of broilers from experimental and commercial lines. In *Poultry Science*, 80: 833-838.

HAŠČÍK, P. – ČUBOŇ, J. – HORNIAKOVÁ, E. – KRIVÁNEK, L. – KULÍŠEK, V. 2005a. Vzťah medzi aplikáciou probiotického preparátu a množstvom abdominálneho tuku u výkrmových kurčiat. In *Agriculture (Poľnohospodárstvo)*, roč. 51, Nitra, 2005, č. 11, s. 574-579, ISSN 0551-3677.

HAŠČÍK, P. – WEIS, J. – ČUBOŇ, J. – KULÍŠEK, V. – MAKOVICKÝ, P. – KAČÁNIOVÁ, M. 2005b. Vplyv probiotického preparátu v KKZ brojlerových kurčiat ROSS 308 na chemické zloženie mäsa. In *Acta fytotechnica et zootechnica*, Nitra, roč. 8, 2005, č. 1, s. 20-24, ISSN 1335-258X.

HAŠČÍK, P. – ČUBOŇ, J. – KAČÁNIOVÁ, M. – EBREŽIOVÁ, I. 2007. Vplyv nových trendov na ekonomiku výroby hydinového mäsa. In *Acta oeconomica et informatica*, roč. 10, 2007, č. 1, s. 17-20.

HAŠČÍK, P. – KAČÁNIOVÁ, M. – ČUBOŇ, J. – BOBKO, M. – NOVÁKOVÁ, I. – VAVRIŠINOVÁ, K. – ARPÁŠOVÁ, H. – MIHOK, M. 2009. Application of *Lactobacillus fermentum* and its effect on chemical composition of Ross PM3 chicken meat. In *Acta fytotechnica et zootechnica*, Nitra, roč. 12, 2009, mimoriadne číslo, s. 197-205, ISSN 1335-258X.

MOJTO, J. – ZAUJEC, K. 2001. Aktuálne údaje o chemickom zložení a nutričnej hodnote mäsa hospodárskych a divých zvierat. In *Maso*, 2001, č. 4, s. 39-41.

NOVÁKOVÁ, I. – KAČÁNIOVÁ, M. – HAŠČÍK, P. – FIKSELOVÁ, M. – MOČÁR, K. – LIPTAIOVÁ, D. – ŠTOFAN, D. – PAVLIČOVÁ, S. – TRAKOVICKÁ, A. 2008. Účinok podávania probiotík na podporu mikroflóry gastrointestinálneho traktu výkrmových kurčiat. In *Bezpečnosť a kvalita surovín a potravín*. Nitra : SPU, 2008, s. 398–402.

SIMEONOVÁ, J. 1999. Technology of Poultry, Eggs and other Minor Animal Products (in Czech). In *MZLU Brno*, 199, 247 pp., ISBN 80-7157-405-8.

SUCHÝ, P. – JELÍNEK, P.- STRAKOVÁ, E. – HUCL, J. 2002. Chemical composition of muscles of hybrid broiler chickens during prolonged feeding. In *Czech J. Anim. Sci.*, 47, 2002, (12), pp. 511-518.

WATTANACHANT, S. – BENJAKUL, S.– LEDWARD, D. A. 2004. Composition, color, and texture of Thai Indigenous and Broiler chicken muscles. In *Poultry Science*, 83: 123-128.

Práca bola riešená v rámci projektu VEGA 1/0360/09.

FOOD FOR LOW - CALORIE NUTRITION

Mlejnková V., Šulcerová H.

Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University,
Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: Veronika.Mlejnkova@seznam.cz

ABSTRACT

The presented degree work deals with the subject “Food for Low-calorie Nutrition”. It is divided into two parts – the theoretical and the practical one.

The object of the degree work is to develop the literature search about obesity excess weight and solution of obesity problems with concentration on low – calorie nutrition. In the theoretical part of the degree work there are described associations over organizations occupying with these problems.

The food “Šmakoun” (literary and amusingly the food which tastes good) was evaluated in the sensoric way in the practical way. The name of this food was transformed into “Shmaky” in 2008. It concerned the original Šmakoun, Šmakoun smoked, Fine salad and Minced Meat with Šmakoun. The obtained results were statistically evaluated by means of dispersion analysis and multiple comparison after the test Tukey-B. Particular descriptors were graphically represented with all patterns. The next task was to create a photographic atlas of meal portions. Particular items were calculated according to their energy value of foodstuff for 400 kJ, weighed, photographed and cut into portions, so as each photographed plate would correspond to the quantity of the indicated value. In view of this quantity of food in the plate the other nutrition values were calculated as well. The created photographic atlas should be used as a visual and practical aid for an easier orientation in the given foods.

Key words: obesity, excess weight, nutrition recommendations, “Šmakoun”, sensoric analysis

ÚVOD

Obezita a nadváha se staly na přelomu tisíciletí závažným problémem a v této souvislosti se dá hovořit o epidemii třetího tisíciletí. Příčinou je nejen náš nesprávný životní styl, ale i špatné životní podmínky. Zatímco v dobách minulých se tento problém týkal spíše dospělé populace, v současné době jí můžeme sledovat ve zvýšené míře již u dětí.

Česká republika patří mezi první pěťici nejobéznějších národů Evropy. Ve světě není situace lepší, vyskytuje se i v oblastech, kde se s tímto problémem dříve nesetkávali. Jedná se například o státy Latinské Ameriky nebo jihovýchodní Asie.

Současná populace využívá technické vymoženosti jako automobily, výtahy a různé ostatní prostředky pro pohodlnou přepravu, ale nikdo si neuvědomuje, že obyčejná chůze, respektive pohyb je pro náš organismus neobyčejně prospěšná a zdravá.

Na druhé straně se neustále zvyšuje náš energetický příjem. Potraviny jsou dostupnější, pestřejší, ale musíme mezi nimi vhodně vybírat.

Největší podíl na rozvoji obezity a nadváhy mají nesprávné stravovací návyky, které se mnohdy dědí mezi generacemi, ale také nedostatečná fyzická aktivita. Roli zde i hrají vlivy sociální a kulturní, ale také osobní potřeby jako je hlad, pocit sytosti, nálada.

Vážným problémem jsou také možné následky obezity jako je diabetes mellitus 2. typu, nádorová onemocnění, kardiovaskulární onemocnění, hypertenze a další, které zhoršují kvalitu života a zkracují jeho délku. Česká republika patří k zemím, kde je nejvyšší výskyt těchto onemocnění.

MATERIÁL A METODIKA

Byla provedena senzorická analýza a vytvořen atlas porcí vybraných potravin. Senzorická analýza proběhla v senzorické laboratoři Mendelovy univerzity v Brně na Ústavu technologie potravin 24 školenými hodnotiteli. Tato laboratoř vyhovuje požadavkům normy ISO 8589. K senzorické analýze byly předloženy vzorky Šmakoun, nyní již pod novým názvem Shmaky. Jednalo se o Šmakoun originál, Šmakoun uzený, Jemný salát a Sekaná se Šmakounem. Pro hodnocení výrobků „Šmakoun“ (Shmaky) byl vypracován formulář s nestrukturovanými stupnicemi. Celkem bylo sedm stupnic. Každá ze stupnic měřila 100 mm a krajní body těchto stupnic byly 100 (nejlepší hodnocení) a 0 (nejhorší hodnocení). Dále ve formuláři byly kladeny otázky, na které se odpovídalo odpovědí ano či ne. Takto vypracovaný formulář byl předložen posuzovatelům. Hodnoceno bylo celkem šest deskriptorů, a to atraktivnost obalu, vhodnost použitého obalu, vzhled výrobku po vybalení, vůně, chuť, celkový dojem. Jako chuťový neutralizátor byla použita čistá pitná voda. Potraviny byly uloženy před vlastním hodnocením při pokojové teplotě, aby vynikly jejich senzorické vlastnosti.

Získané hodnoty byly zpracovány MS Excel a Unistat 5.5 pomocí metody analýzy rozptylu a mnohonásobného porovnání podle Tukey-B testu s hladinou významnosti 99 % a 95 %.

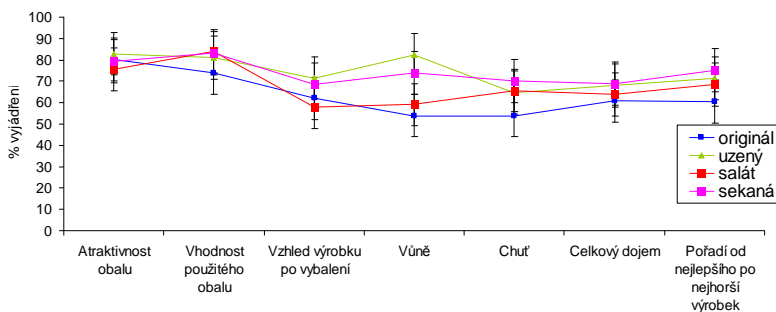
V další částí byl vytvořen fotografický atlas. Jako vzorky potravin byly použity mléčné výrobky (jogurty, sýry, pudinkové dezerty se šlehačkou, probioticky kysané nápoje, jogurtové drinky), tuky (jednalo se o tuky rostlinné), maso (vepřové, hovězí, kuřecí, králičí) a masné výrobky (salámy, sekaná, tlačěnka, klobásy, špekáčky), pečivo (bílé i celozrnné – rohlíky, chleba, koláče, koblihy, croissant), těstoviny, zelenina a ovoce, Robi maso (řízky, plátky, karbanátky, sekaná, mexické fazole, čína, pomazánky), Šmakoun (Shmaky) – (bábovky, sekaná, párky, marinovaný Šmakoun a různé saláty).

Veškeré vzorky byly před vlastním fotografováním uloženy v ledničce při teplotě 4 – 8 °C. Po přípravě materiálu byly vzorky postupně z ledničky odebrány. U každého výrobku byly přepočteny energetické hodnoty na 400 kJ a propočteny i ostatní nutriční hodnoty, které většinou uváděl výrobce na obalu potravin nebo webových stránkách. Vzorky byly naporcovány pomocí nože a desky, zváženy na laboratorních vahách a propočteny i ostatní nutriční hodnoty tak, aby odpovídaly dané hodnotě. Po veškerých propočtech byly potraviny umístěny na bílý keramický talíř o průměru 20 cm a takto připravený talíř byl umístěn na černý pokladový papír a vyfotografován.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Hodnocení atraktivnosti obalu bylo vyrovnané, ale nejlépe byl hodnocen Šmakoun uzžený. U vhodnosti použitého obalu byla posuzovateli nejlépe ohodnocena Sekaná se Šmakounem a Jemný salát, nejhorší vhodnost obalu podle hodnotitelů měl Šmakoun originál. U vzhledu výrobku po vybalení byl nejlépe hodnocen Šmakoun uzžený a nejhorší ohodnocení připadlo Jemnému salátu. Nejlepší vůně výrobku byla přiřazena Šmakoun uzžený a jako výrobek s nejhorší vůní byl ohodnocen Šmakoun originál. Při senzoricím posouzení chuti byla nejlépe hodnocena Sekaná se Šmakounem a jako nejhorší výrobek Šmakoun originál. Při hodnocení celkového dojmu se hodnocení nepatrně lišilo, nejlepší celkový dojem připadl na Sekanou se Šmakounem a Šmakoun uzžený a jako nejhorší byl vyhodnocen Šmakoun originál. Jeden z úkolů hodnotitelů bylo seřadit výrobky v pořadí od nejlepšího výrobku po nejhorší. Jako nejlepší výrobek byla vybrána Sekaná se Šmakounem, dále Šmakoun uzžený, Jemný salát a jako nejhorší výrobek byl ohodnocen Šmakoun originál. Nejstabilnější byly hodnoceny deskriptory u Sekané se Šmakounem.

Porovnání průměrů u všech výrobků



Graf 1 Porovnání průměrů u všech výrobků

U každého výrobku byly veškeré deskriptory hodnoceny i samostatně. Při sensorické analýze Šmakoun originál byl nejlépe hodnocen deskriptor atraktivnost obalu a jako nejhůře byla vyhodnoceny vůně a chuť. U Šmakoun uzenny byla nejlépe hodnocena vůně a atraktivnost obalu a jako nejhorší deskriptor byla vyhodnocena chuť. Jemný salát byl hodnocen vcelku vyrovnaně, ale jako nejlepší deskriptor byla ohodnocena vhodnost použitého obalu. Jako poslední výrobek byla hodnocena Sekaná se Šmakounem, kdy vhodnost použitého obalu byla hodnocena nejlépe a vzhled výrobku po vybalení nejhůře.

Ve formuláři bylo položeno 24 posuzovatelům celkem pět otázek, na které odpovídali odpovědí ano či ne. Tyto odpovědi byly spočítány, procentuálně vyjádřena četnost a zaznamenány do tabulek pro jednotlivé odpovědi. 71 % posuzovatelů odpovědělo, že kupuje výrobky pro zdravou výživu, 33 % z nich zná své hodnoty cholesterolu, 38 % je ovlivnitelných reklamou při koupi výrobku pro zdravou výživu, 54 % z nich by si koupilo potraviny z vaječného bílku, aniž by je někdy předtím ochutnali a jen 42 % posuzovatelů zná výrobky Šmakoun.

Veškeré výsledky byly statisticky zpracovány pomocí Unistat 5.5. Po statistickém vyhodnocení výsledků analýzou rozptylu dle typu výrobku byl statisticky vysoce průkazný rozdíl jen u vůně. U ostatních deskriptorů (atraktivnost obalu, vhodnost použitého obalu, vzhled výrobku po vybalení, chuť, celkový dojem a hodnocení výrobků od nejhoršího po nejlepší) nebyl statisticky průkazný rozdíl. U mnohonásobného porovnání s 95 a 99 % významností dle typu výrobku, podle testu Tukey – B byl statisticky prokazatelný rozdíl u vůně mezi typy 2-3 a 2-1. U typu 4-3, 1-3, 4-1, 2-4 nebyl statisticky prokazatelný rozdíl.

Výživa je významný faktor životního stylu, který ovlivňuje zdraví. Poskytuje nejen pokrytí základních potřeb energie a jednotlivých živin nezbytných k životu, ale je spojena i s emocemi, často s pocitem uspokojení. Výživa společně s fyzickou aktivitou a genetickými dispozicemi se podílí na výsledném výživovém stavu jedince (MÜLLEROVÁ, 2003).

Při redukci váhy je třeba nejen sledovat množství přijímané energie, ale i skladbu jídelníčku. Je důležité, aby hubnoucí přijímali dostatečné množství bílkovin. Problémem je, že zejména živočišné bílkoviny jsou často provázené tuky, které potřebujeme omezovat. Tento problém pomáhá řešit výrobek pro zdravou výživu – Šmakoun (MÁLKOVÁ, 2008).

Přísun bílkovin při redukci váhy by měl být také zvýšen až na 25 – 30 % celkové energie. Šmakoun (Shmaky) je potravina vyrobená z vysoce kvalitního vaječného bílku (94 %) na bílkovinnou potravinářskou surovinu [protein (albumin) vaječného bílku]. Je vhodná pro redukční výživu z důvodu minimálního nebo dokonce nulového obsahu tuků (maximálně do 1 %), nízké energetické hodnoty a minimálního obsahu cholesterolu. Obsahuje vysoké množství kvalitních bílkovin (SHMAKY, 2008; ŠTEFÁNKOVÁ, 2008).

Srovnáme-li potravinu Šmakoun s vejcem, z jehož bílku byl vyroben, zjistíme, že vejce obsahuje 12 % bílkovin, dále 12 % lipidů a má vysoký obsah cholesterolu (750 – 1300 mg/ 100g), který je obsažen hlavně ve vaječném žloutku, v malém množství jsou zastoupeny i sacharidy (KALAC, 2008). Z toho obsahuje bílek 10,6 % bílkovin, stopy lipidů, což jsou hodnoty skoro srovnatelné s potravinou Šmakoun. Žloutek narozdíl od bílku obsahuje 16,6 % bílkovin, 32,6 % tuků (SIMEONOVÁ, 2003), což je vyšší hodnota než u výrobku Šmakoun a bílku. Vejce jsou považována ve stravě za důležité, jelikož obsahují kvalitní bílkoviny, řadu vitamínů a minerálních látek. Nevýhodou vaječného žloutku je vysoký obsah cholesterolu, který je důležitým rizikovým faktorem pro vznik kardiovaskulárních onemocnění jako je ateroskleróza (kornatění tepen) a ischemická choroba srdeční (SIMČIČ, 2009). Jedno vejce obsahuje přibližně 200 mg cholesterolu, což téměř odpovídá limitu cholesterolu stanoveného American Heart Association 300 mg/d (KASSIS, 2010). Celková energetická hodnota výrobku Šmakoun je maximálně 250 kJ/100 g, u vejce záleží na jeho velikosti. Průměrné vejce (cca 60 g, hmotnostní skupina M) má energetickou hodnotu 332 – 387 kJ/100 g. Hlavní zdrojem energie je žloutek, na který připadá asi 75 % využité energie (MÍKOVÁ, 2010).

Nutričně srovnatelnou potravinou pro redukci hmotnosti je Tofu. Tofu, nazývaný také v zahraničí jako sójový „tvaroh“ (soybean curd), je jednou z nejdůležitějších a nejznámějších potravin v tradiční orientální stravě vzhledem ke správné výživě. Tofu obsahuje velké množství lehce stravitelných bílkovin (17 %) a jen málo tuku (8 %). Neobsahuje cholesterol a je velmi kvalitním zdrojem vápníku, hořčíku, železa. Z vitamínů v něm nalezneme vitamíny skupiny B a vitamín E (TANG, 2007; VETO, 2009).

V porovnání s výrobkem Šmakoun, jehož energetická hodnota je 250 kJ/100 g, se Tofu po energetické stránce příliš neliší. Jeho energetický obsah je jen 280 kJ/100 g, čímž je také velmi vhodnou potravinou pro redukční výživu. Rozdíl mezi těmito potravinami je však v tom, že výrobek Šmakoun je živočišného původu na rozdíl od výrobku Tofu, který je původu rostlinného.

Základem potraviny Šmakoun je bílkovina podobná kuřecímu masu (MÁLKOVÁ, 2007). Drůbeží maso je chutné stravitelné a výživné. Skládá se zhruba z 20 – 30 % bílkovin a ceny tohoto masa jsou nižší ve srovnání s hovězím nebo skopovým masem (AL-DUGHAYM, 2010). Kuřecí maso společně

s krůtím masem se řadí k nízkoenergetickým druhům masa. Jejich energetická hodnota je u krůtího masa 414 kJ/100 g a u kuřecího masa 558 kJ/100g (SIMEONOVÁ, 2003). Obsah bílkovin u obou mas je vyšší v prsní svalovině, činí asi 22 % (22 g/100 g masa), než u stehenní svaloviny. Obsah tuku je opět nižší u prsní svaloviny (kuře: 2,9 – 3 % a krůta: 1,0 %) než u svaloviny stehenní (kuře: 11,0 %, krůta: 2,0 %) a i v jiných částech kuřete, jako jsou paličky (18 g bílkovin a 5 g tuku/100 g masa) a křídla (18 g bílkovin a 18 g tuku/100 g masa) (KUROZAWA, 2009).

Z hlediska obsahu bílkovin je to u potraviny Šmakoun 11,8 % a u drůbežího masa v prsní svalovině 22 % a ve stehenní svalovině 17 – 21 % dle typu drůbeže. Proto při redukci váhy je vhodnější vybírat si potraviny, které mají vyšší obsah bílkovin a nižší energetickou hodnotu. Potravina Šmakoun má vysoký obsah bílkovin a velmi nízkou energetickou hodnotu v porovnání s drůbežím masem, které má vyšší energetickou hodnotu, vyšší obsah bílkovin a tuku.

Další podobnou potravinou vhodnou pro redukci výživy je Robi maso, které je však oproti potravině Šmakoun rostlinného původu. V porovnání s potravinou Šmakoun neobsahuje žádné tuky ani cholesterol nebo jen v minimálním množství (0,03 %) stejně jako Šmakoun. Obsah bílkovin činí 20,8 %. Oproti ostatním klasickým zdrojům rostlinných bílkovin (sójové výrobky – Tofu, atd.) je snadněji stravitelný a nenadýmá, způsobuje pocit sytosti a zajistí, že hladina krevního cukru nebude kolísat a hubnutí tak bude komfortní záležitostí (ZÁPOTOCKÁ, 2009). Příjem potravin s vyšším obsahem bílkovin je důležité, protože se neztrácí svalová hmota a organismus musí vydat určitou energii, aby z bílkovin získal pro něj použitelné aminokyseliny. Další shodnou vlastností s potravinou Šmakoun je, že má Robi maso rychlou kulinární úpravu. Energetická hodnota Robi masa je však vyšší 523 kJ/100g, což je energetická hodnota srovnatelná s drůbežím masem.

Další potravinou, která má vysoký obsah bílkovin a nízký energetický obsah je Cottage. Je řazen mezi čerstvé sýry. Jeho energetická hodnota činí 437 kJ/100 g. Obsah bílkovin činí 11,5 % a 5 % tuku (TEPLÝ, 2009), což je vyšší hodnota v porovnání s ostatními již uvedenými potravinami pro redukční výživu.

ZÁVĚR

Zvyšující se počet obézních nejen u dospělých, ale také u dětí, vede k závažným problémům jak pro samotné jednotlivce, tak pro společnost jako takovou. Zejména u dětí je tento stav alarmující, jelikož oni jsou naší budoucností. Z uvedeného důvodu je nutné zaměřit se na prevenci obezity a nadváhy již od útlého věku. Výchovu v tomto směru provádět nenásilnou formou, pokud možno hrou. Velmi důležitým prvkem je výchova dětí v rodině. Většina stravovacích návyků je podvědomě přenášena do dalšího života a později na další generace. Každé dítě je hravé, sport a hra je přirozená vlastnost, která by měla být podporována a rozvíjena. V dnešní době děti tráví mnoho času u počítače, televize a sportu se věnují jen v malé míře, což je spolu s nesprávnými stravovacími návyky jednou z hlavních příčin vzniku obezity a nadváhy u dětí.

Dnešní doba je uspěchaná, méně se věnujeme sportu, nakupujeme polotovary pro usnadnění kulinářské přípravy nebo navštěvujeme restaurace. Potraviny jsou vybírány nejen podle ceny

a senzorických vlastností, ale někteří lidé jsou ovlivněni reklamou. Obchodní řetězce nás lákají na nejrůznější akční ceny, často je opomíjena kvalita potravin, ale je dáována přednost kvantitě. Při nákupu bychom měli věnovat větší pozornost údajům uvedených na etiketě a vybírat si potraviny méně tučné, s vyšším obsahem vlákniny, nižším podílem soli, cukrů, atd.

Špatné stravovací návyky jako jsou vynechané snídaně, velké porce jídla jen 2krát denně, přejídání se, nedostatečná konzumace ovoce, zeleniny a vlákniny vedou nejen ke vzniku obezity a nadváhy, ale i k onemocněním s tím souvisejícím. Strava by měla být rozložena do 5 – 6 porcí za den, doplněná o ovoce a zeleninu (alespoň 400 g zeleniny a 200 g ovoce denně). Měl by být dodržován i pravidelný pitný režim neslazených nápojů nebo čajů.

Vytvořený atlas porcí potravin přispívá ke zlepšení orientace při výběru. Vizualně znázorňuje velikosti porcí vybraných potravin a jejich nutriční složení propočtené na 400 kJ. Jako vhodnou potravinou pro redukci váhy byla vybrána potravina Šmakoun a výrobky z něj. Dalším vhodným výrobkem, který je alternativou masa je Robi maso. Existuje spousta literatury, která uvádí různé diety, které ve většině případů nakonec vedou k tzv. „jojo efektu“, kdy po ukončení diety se váha opět vrací do původní hodnoty nebo vzroste.

V médiích se objevuje velké množství reklam na zaručené zhubnutí již po několika týdnech a to bez fyzické aktivity a změny stravovacích návyků. Myslím si, že pokud si lidé nezačnou uvědomovat nutnost správného životního stylu, bude obezita a nadváha neustále vzrůstat.

LITERATURA

Al-Dughaym A.M., Altabari G.F., (2010): Safety and quality of some chicken meat products in Al-Ahsa markets-Saudi Arabia, Saudi Journal of Biological Science, 17: 37–42.

Burdychová R., (2008): Kurz: Poradce zdravé výživy. Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Brno

Hainer V., (2004): Základy klinické obezitologie. 1. vyd. Grada Publishing, Praha, 356 s. ISBN 80-247-0233-9

Kalač P., (2008): Vejce jako funkční potravina. Výživa a potraviny. 5: 135-138 s.

Kassis N., at al, (2010): Development of nutraceutical egg products with omega-3-rich oils, LWT - Food Science and Technology, 43: 777-783 s.

Kurozava E.L., at al, (2009): Effect of carrier agents on the physicochemical properties of a spray dried chicken meat protein hydrolysate, Journal of Food Engineering, 94: 236-333 s.

Málková I., (2007): Hubneme s rozumem zdravě a natrvalo, 2. vyd. Grada Publishing, Praha, 224 s. ISBN 978-80-87049-09-8

Málková I., Štochlová J., (2008): Hubneme s rozumem v praxi, 2. vyd. Grada Publishing, Praha, 172 s. ISBN 978-80-87049-08-2

Míková K.; Strosserová A., (2010): Vejce. Výživa a potraviny. 2: 21-23 s.

MENDELNET 2010

Müllerová D., (2003): Zdravá výživa a prevence civilizačních nemocí ve schématech. 1. vyd. Triton, Praha, 99 s. ISBN 80-7254-421-7

Shmaky, (2008): Protein foods - Shmaky. Databáze online [cit. 2010-02-21]. Dostupné na: <<http://www.shmaky.cz/>>

Šimčič M., at al., (2009): The cholesterol content of eggs produced by the Slovenian autochthonous Styrian hen, Food Chemistry, 114: 1-4 s.

Simeonová J., (2003): Technologie drůbeže, vajec a minoritních živočišných produktů. MZLU, Brno, 247 s, ISBN 80-7157-405-8.

Štefánková L., (2008): Shmaky. Protein foods. Databáze online [cit. 2010-04-05]. Dostupné na: <<http://www.shmaky.cz/shmaky/1-Protein-Foods/8-O-spolecnosti>>

Tang Chuan-He., (2007): Formation and rheological properties of 'cold-set' tofu induced by microbial transglutaminase. ScienceDirect. LWT 40: 579-586 s.

Teplý M., (2009): Madeta. Databáze online [cit. 2010-04-05]. Dostupné na: <http://www.madeta.cz/>

Veto, (2009): Tofu. Databáze online [cit. 2010-04-05]. Dostupné na: <http://www.tofu.cz/o_tofu2.htm>

Zápotocká R., (2009): Robi. Databáze online [cit. 2010-04-05]. Dostupné na: <<http://www.robi.cz>>

GROWTH OF IMPORTANT GROUPS OF MICROORGANISMS IN COW AND GOAT MILK

Němcová M, Kalhotka L.

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

E-mail: xnemco13@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of project was to identify growth of microorganisms in chosen samples of goat and cow pasteurized milk. Milk and milk products represent convenient environment for the growth of microorganisms which can positively or negatively influence the quality and biological value of the product by microbial metabolic activity.

Changes of microbial fermentative activity caused by proteolysis, lipolysis, alkaline reaction, milk-slime production, colour changing are ranged among main changes of milk caused by microorganisms.

Samples of goat and cow pasteurized milk were inoculated by chosen microorganisms as *Pseudomonas fluorescens*, *Enterococcus faecium* and *Escherichia coli*. The number of microorganisms was monitored in process of cultivation for 3 days on 6 °C, 25 °C and 30 °C according to the recommendation or standards.

Escherichia coli was cultivated on VRBL (Biokar Diagnostic, France) in 24 hours on 37 °C. *Pseudomonas Fluorescens* on PCA with skimmed milk (Biokar Diagnostic, France) in 72 hours on 30°C and *Enterococcus faecium* on COMPASS ENTEROCOCCUS AGAR (Biokar Diagnostic, France) in 24 hours on 44 °C. There was also made a check up where the total counts of microorganisms was set up on PCA medium with skimmed milk (Biokar Diagnostic, France) in 72 hours on 30°C.

It is evident that after 3 days of cultivation, when total counts of microorganism were compared with total counts of microorganisms of the check sample no matter variety of inoculated bacteria, the similar effect was reached. It depends on a variety of bacteria which is dominant in milk and what changes will happen. In both kinds of milk similar increase was noted although there is a possibility that goat milk represent a better substratum for microbial expansion.

Key words: mikroorganisms, goat pasteurized milk, cow pasteurized milk

ÚVOD

Mléko a mléčné výrobky představují vhodné prostředí pro růst mikroorganismů, které svojí metabolickou činností mohou ovlivnit příznivě nebo nepříznivě kvalitu a biologickou hodnotu výrobku (Griger, Holec, 1990). Mikroorganismy v mléce mohou vyvolat různé změny, které jsou závislé především na druhu mikroorganismu a na složce mléka, které tyto mikroorganismy rozkládají. Mezi hlavní změny, které vyvolávají mikroorganismy v mléce, patří změny vyvolané fermentační činností mikroorganismů, dále změny způsobené proteolýzou, lipolýzou, tvorbou alkalické reakce mléka, případně slizovatění mléka, změny barvy aj. (Cempírková et al., 1997).

Kozí mléko, stejně jako kravské patří mezi kaseinová mléka a v základní složení se mu i podobá. Bílkoviny resp. aminokyseliny obsažené v mléce jsou pro mikroorganismy zdrojem dusíku. Kozí mléko obsahuje nepatrně více minerálních látek, vyjádřených jako popeloviny, než mléko kravské, obsahy stopových prvků jsou podobné (Gajdůšek, 2002).

Tabulka č. 1 - Průměrné zastoupení základních složek kravského a kozího mléka (Gajdůšek, 2002)

Složka	Kravské mléko	Kozí mléko
Laktosa (%)	4,8	4,4
Tuk (%)	4,0	3,3
Celkové bílkoviny (%)	3,3	3,3
kasein	2,7	2,6
Popeloviny (%)	0,7	0,8
Vápník (mg/100 ml)	120	125
Fosfor (mg/100 ml)	92	97
Hořčík (mg/100 ml)	12	12
Draslík (mg/100 ml)	157	202
Sodík (mg/100 ml)	48	37
Vitamín A (mg/100 ml)	0,030	0,027
Vitamín B2 (mg/100 ml)	0,180	0,184
Vitamín B12 (mg/100 ml)	0,80	0,60
Vitamín C (mg/100 ml)	1,4	1,5
Vitamín D (mg/100 ml)	0,06	0,023
Vitamín E (mg/100 ml)	0,11	--

Mléčný tuk přežvýkavců obsahuje vysoký podíl mastných kyselin C₄ až C₁₀ (tabulka č. 2). Tukové kuličky v kozím mléce jsou mnohem menší než u kravského, proto tuk pomaleji vystává a je

snadněji stravitelný. Obaly tukových kuliček jsou mnohem křehčí, snadněji praskají, volný tuk je přístupný působení endogenních lipáz a zvyšuje se koncentrace volných mastných kyselin (Gajdůšek, 2002). Svým složením tedy mléko tvoří velmi dobré prostředí pro rozvoj mikroorganismů.

Mléko od zdravých dojnic obsahuje malý počet mikroorganismů. Počet mikroorganismů v mléce při opuštění vemene bývá 10^1 - 10^3 v 1 ml mléka. Po nadojení dochází ke značné změně původních mikroorganismů syrového mléka a to v důsledku kontaminace různého původu. Hlavním zdrojem kontaminace mléka po nadojení je ovzduší, dojící zařízení, vemeno, ruce pracovníků, ale i ostatní zdroje např. voda, hmyz apod. (Cempírková et al., 1997). Kontaminace mléka může pocházet jednak primárně přímo z nemocných zvířat a to i bez zjevných klinických příznaků, nebo může jít o sekundární kontaminaci nedodržením hygieny při získávání, uchovávání, přepravě a zpracovávání mléka. Görner et Valík (2004) uvádí, že by počty psychrotrofních bakterií v mléce neměly přesáhnout 50000 KTJ/ml, jako doplňkový údaj pro kravské mléko pak uvádí pro počty koliformních bakterií hodnoty nižší jak 1000 KTJ na ml. Celkové počty mikroorganismů by v syrovém kravském mléce neměly překročit 100000 KTJ v 1 ml. Nařízení ES č. 853/2004 udává pro syrové kozí mléko limit ≤ 1500000 resp. ≤ 500000 mikroorganismů na ml.

Tabulka č. 2 - Průměrné zastoupení vybraných aminokyselin a mastných kyselin v kozím a kravském mléce (Gajdůšek, 2002, Dičáková, 2005)

Složka	Kravské mléko	Kozí mléko
Histidin (mg/100 ml)	90,7	102
Fenylalanin (mg/100 ml)	113,8	158,0
Tyrozín (mg/100 ml)	130,3	158
Lyzin (mg/100 ml)	281,4	194,8
Arginin (mg/100 ml)	131,5	109,9
Glycin (mg/100 ml)	110,3	52,1
Izoleucin (mg/100 ml)	153,8	67,1
Kyselina másečná (%)	3,6	6,4
Kyselina kapronová (%)	2,3	3,1
Kyselina kaprylová (%)	1,3	1,8
Kyselina kaprinová (%)	2,7	9,6
Kyselina palmitová (%)	27,6	29,5
Kyselina stearová (%)	10,1	8
Kyselina olejová (%)	26	25,7
Kyselina linolová (%)	2,5	1,8
Kyselina linolenová (%)	0,4	0,3

Mezi významné mikrobiální kontaminanty mléka patří *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium* a *Pseudomonas fluorescens*. Bakterie *Escherichia coli* jsou schopné fermentovat laktosu za vzniku kyseliny mléčné, kyseliny octové, oxidu uhličitého a vodíku (Görner et Valík, 2004; Hayes et Boor, 2001). Griger et Holec (1990) uvádí, že tyto mikroorganismy jsou součástí střevní mikroflóry lidí i zvířat. V mléce jsou proto *E. coli* a koliformní bakterie spolehlivým indikátorem primární a sekundární kontaminace, dále jsou spolehlivým indikátorem sanitace výrobního zařízení a indikují spolehlivost pasterizace. Enterokoky v potravinářské mikrobiologii na první pohled působí protichůdně. Ve fermentovaných potravinách mají probiotické vlastnosti, jsou schopny tvořit bakteriociny a jsou potřebné při zrání sýrů (Greifová et al., 2003). Naopak v nefermentovaných potravinách poukazují na nedostatečné zahřátí suroviny a na nedostatečnou sanitaci výrobního zařízení. (Görner et Valík, 2004). Jsou rovněž významnými producenty biogenních aminů, což jsou dusíkaté látky vznikající dekarboxylací volných aminokyselin. Významným kontaminantem mléka jsou rovněž psychrotrofní mikroorganismy, které jsou definované jako mikroorganismy schopné růst při teplotě 7 °C a nižší bez ohledu na jejich optimální teplotu růstu. Mléko z dobrých hygienických podmínek obsahuje méně než 10 % psychrotrofů z CPM. Ale počet psychrotrofů v mléce získaném v hygienicky nedostatečných podmínkách může být vyšší než 75-80 % z celkové mikroflóry (Burdová et Baranová, 2005). Jejich samotný růst v mléce nezpůsobuje vážné problémy, protože se většinou pasterací devitalizují (Burdová, 1998). Význam psychrotrofních mikroorganismů spočívá v tom, že produkují termostabilní extracelulární enzymy s proteolytickými a lyfolytickými účinky, které se mohou podílet na degradaci některých složek mléka (Burdová, 1998; Griegr et Holec, 1990). Například bakterie s proteolytickými enzymy, štěpí a rozkládají bílkoviny za tvorby peptonu a peptidů, které se dále mohou rozkládat na amoniak, sirovodík, indol a skatol, biogenní aminy a jiné (Burdová O., 2000). Nejčastěji izolovaným rodem z mléka je r. *Pseudomonas*, potom r. *Flavobacterium* a r. *Alcaligenes* (Burdová, 1998).

CÍL

Cílem této práce bylo zjistit dynamiku růstu počtů vybraných druhů bakterií ve vzorcích kozího a kravského pasterovaného mléka.

ZPŮSOB ŘEŠENÍ - METODIKA

Lahvičky s 10 ml kozího nebo kravského pasterovaného mléka byly inokulovány bakteriemi *Pseudomonas fluorescens* (kravské mléko $1,12 \cdot 10^7$, kozí mléko $9,36 \cdot 10^8$), *Enterococcus faecium* (kravské mléko $5,5 \cdot 10^7$, kozí mléko $1,12 \cdot 10^8$) a *Escherichia coli* (kravské mléko $2,23 \cdot 10^7$, kozí mléko $1,39 \cdot 10^8$).

V průběhu jejich kultivace (3dny) při 6 °C, 25 °C a 30 °C byly podle norem nebo doporučení stanovovány jejich počty.

Escherichia coli byla kultivována na VRBL (Biokar Diagnostic, France) za 24 hodin při 37 °C. *Pseudomonas fluorescens* na PCA whit skimmet milk (Biokar Diagnostic, France) za 72 hod při 30°C a *Enterococcus faecium* na COMPASS ENTEROCOCCUS AGAR (Biokar Diagnostic, France) za 24 hodin při 44 °C. U kontrolních neinokulovaných vzorků mléka se stanovoval celkový počet mikroorganismů na PCA whit skimmet milk (Biokar Diagnostic, France) za 72 hod při 30 °C.

VÝSLEDKY

Ve vybraných vzorcích kozího a kravského pasterovaného mléka byly zjištěny počty mikroorganismů, které jsou uvedeny v tabulkách č. 5, 6, 7. Výchozí vzorky pasterovaného kozího a kravského mléka před inokulací vybranými mikroorganismy, obsahovaly relativně nízké počty mikroorganismů (viz tab. 4).

Pasterované kravské a kozí mléko bez inokulovaných mikroorganismů bylo použito jako kontrola (viz tabulka č. 3). Z výsledků je zřejmé, že již po 24 hodinách vzrostly počty CPM z 10^2 resp. 10^3 na 1 ml na hodnoty 10^6 až 10^7 na ml. Tento nárůst není v podstatě ovlivněn teplotou kultivace. Při 6°C budou však v mléce převládat psychrotrofní bakterie, byť jejich počet na počátku pokusu byl v mléce velmi malý. Množství koliformních bakterií v kontrole dosahovalo v průběhu sledování relativně nízkých hodnot, což je způsobeno buď nízkou kultivační teplotou (6 °C) nebo jsou bakterie potlačeny ostatní kontaminující mikroflórou (25 °C, 30 °C).

Velmi podobný trend můžeme sledovat i u enterokoků.

Výsledky sledování počtů jednotlivých druhů bakterií inokulovaných do kravského nebo kozího mléka při teplotách 6 °C, 25 °C a 30°C po dobu 3 dnů jsou uvedeny v tab. 5, 6, 7. *Pseudomonas fluorescens* (tab 5) byla inokulována do kravského mléka v množství cca 10^7 / ml a do kozího mléka v množství řádově 10^8 / ml. Vezmeme-li při porovnání v úvahu množství inokula je dynamika růstu této bakterie v obou vzorcích mléka podobná. Při 6°C se počty mikroorganismů pohybují velmi blízko stanovené hodnotě množství inokula a oscilují kolem této hodnoty v rozmezí 1 řádu. U ostatních teplot kultivace (25 °C a 30 °C) lze říci, že již po 24 hod nastává vzrůst počtů cca o jeden řád. Tyto počty se během kultivace v podstatě nemění. Velmi podobné hodnoty byly zjištěny též u *Escherichia coli* a u *Enterococcus faecium*. (viz. tab. 6 a 7). U *E.coli* při 6 °C byl v kravském i kozím mléce zaznamenán mírný pokles počtu bakterií nebo se hodnoty podstatně neměnily. U kultivace při 25 °C se počty *E.coli* v kravském mléce podstatně nemění a v kozím mléce se jejich množství zvyšuje z 10^8 na 10^9 v ml. Ve 30 °C lze pozorovat třetí den pokles počtu v obou druzích mléka vyvolaný pravděpodobně rychlejším metabolismem bakterií vedoucím k vyčerpání živin a nahromadění toxických metabolitů.

Počty bakterie *Enterococcus faecium* při 6 °C se v průběhu 72 hodin sledování příliš nemění a setrvávají prakticky na stejných hodnotách. Patrný je pouze pokles jejich počtu v porovnání s množstvím inokula. U 25 °C je patrný nárůst třetí den kultivace, jinak se ale hodnoty pohybují v rozmezí řádu v jakém byly do vzorku inokulovány.

Tabulka č. 3 - Počty mikroorganismů u kontrolního vzorku kravského a kozího mléka kultivované 3 dny při daných teplotách

Kontrola	dny	Kultivace při 6 °C		Kultivace při 25 °C		Kultivace při 30 °C	
		Kravské mléko	Kozí mléko	Kravské mléko	Kozí mléko	Kravské mléko	Kozí mléko
CPM		$1,01 \cdot 10^7$	$6,03 \cdot 10^6$	$2,87 \cdot 10^8$	$2,63 \cdot 10^8$	$2,72 \cdot 10^6$	$2,63 \cdot 10^8$
		$1,03 \cdot 10^7$	$5,82 \cdot 10^7$	$2,3 \cdot 10^7$	$3,15 \cdot 10^8$	$3,56 \cdot 10^7$	$3,55 \cdot 10^8$
		$8,69 \cdot 10^6$	$4,95 \cdot 10^7$	$1,78 \cdot 10^7$	$2,3 \cdot 10^8$	$2,53 \cdot 10^8$	$2,09 \cdot 10^8$
Koliformní MO		Méně jak 10	18	Méně jak 10	18	4	18
		Méně jak 10	4	Méně jak 10	4	4	18
		Méně jak 10	Méně jak 10	Méně jak 10	4	4	40
Enterokoky		22	4	15	13	9	45
		12	4	10	18	15	45
		13	13	13	18	80	45

Tabulka č. 4 - Počty mikroorganismů stanovené u pasteurovaného kravského a kozího mléka

Počty mikroorganismů	Kravské mléko	Kozí mléko
Celkové počty mikroorganismů	212	1530
Psychrotrofní mikroorganismy	7	6
Koliformní mikroorganismy	14	1
Enterokoky	Méně jak 10	8

Tabulka č. 5 – Růst bakterie *Pseudomonas fluorescens* v kravském a kozím mléce

<i>Pseudomonas</i>	dny	Kultivace při 6 °C	Kultivace při 25 °C	Kultivace při 30 °C
Kravské mléko	1	$6,85 \cdot 10^6$	$5,8 \cdot 10^8$	$7,8 \cdot 10^8$
	2	$6,38 \cdot 10^6$	$6,65 \cdot 10^8$	$4,8 \cdot 10^8$
	3	$1,55 \cdot 10^6$	$3,67 \cdot 10^8$	$8,14 \cdot 10^7$
Kozí mléko	1	$1,33 \cdot 10^7$	$2,66 \cdot 10^9$	$3,34 \cdot 10^9$
	2	$7,36 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^9$	$1,77 \cdot 10^9$
	3	$7,09 \cdot 10^9$	$1,77 \cdot 10^9$	$1,72 \cdot 10^9$

Tabulka č. 6 - Růst bakterie *Enterococcus faecium* v kravském a kozím mléce

<i>Enterococcus faecium</i>	dny	Kultivace při 6 °C	Kultivace při 25 °C	Kultivace při 30 °C
Kravské mléko	1	$5,58 \cdot 10^6$	$1,91 \cdot 10^7$	$4,82 \cdot 10^7$
	2	$3,66 \cdot 10^6$	$4,73 \cdot 10^7$	$9,45 \cdot 10^7$
	3	$4,03 \cdot 10^6$	$6,42 \cdot 10^8$	$6,23 \cdot 10^7$
Kozí mléko	1	$5,23 \cdot 10^6$	$5,53 \cdot 10^8$	$4,53 \cdot 10^8$
	2	$3,91 \cdot 10^6$	$1,96 \cdot 10^8$	$2,42 \cdot 10^8$
	3	$5,66 \cdot 10^6$	$8,65 \cdot 10^8$	$4,91 \cdot 10^8$

Tabulka č. 7 - Růst bakterie *Escherichia coli* v kravském a kozím mléce

<i>Escherichia coli</i>	dny	Kultivace při 6 °C	Kultivace při 25 °C	Kultivace při 30 °C
Kravské mléko	1	$1,45 \cdot 10^4$	$5,4 \cdot 10^7$	$1,7 \cdot 10^7$
	2	$3,63 \cdot 10^7$	$4,4 \cdot 10^7$	$1,04 \cdot 10^7$
	3	$4,5 \cdot 10^2$	$3,4 \cdot 10^7$	$9,1 \cdot 10^5$
Kozí mléko	1	$3,98 \cdot 10^7$	$1,08 \cdot 10^9$	$2,01 \cdot 10^8$
	2	$7,50 \cdot 10^7$	$1,5 \cdot 10^9$	$1,28 \cdot 10^9$
	3	$6,02 \cdot 10^7$	$1,22 \cdot 10^9$	$8,98 \cdot 10^8$

ZÁVĚR:

Pasterace při 72 °C po dobu asi 30 sekund není zákrok, který 100% zlikviduje veškerou mikroflóru mléka. Syrové kozí mléko bývá více kontaminováno, proto je i větší množství přežitých bakterií, byť jsou jejich počty relativně nízké.

Porovnáme-li počty mikroorganismů bez ohledu na druh inokulované bakterie s počty CPM u kontrolního vzorku je z tabulek patrné, že po 3 dnech kultivace je dosaženo velmi podobných hodnot a záleží pak na druhu bakterie, který v mléce převládá a jaké následné změny v mléce provede.

Už po 24 hodinách kultivace je v mléce velké množství bakterií, které se mohou podílet na kažení potravin a to bez rozdílu kultivačních teplot.

U obou druhů mléka je nárůst mikroorganismů podobný, přesto se však kozí mléko do jisté míry jeví jako lepší substrát pro rozvoj mikroorganismů

LITERATURA

BURDOVÁ O., *Kvalita mliečnych výrobkov v závislosti od mikrobiálnej kontaminácie surového mlieka*, Mliekarstvo 1998/29/ 4, s.44 - 45

BURDOVÁ O., *Hygiena surového mlieka určeného na výrobu sýrov*. Mliekarstvo 2000/31/3, s.4-5

BURDOVÁ O., BARANOVÁ M., *Vplyv technologicky nežiadúcej mikroflóry na kvalitu mlieka a mliečnych výrobkov*. Mliekarstvo 2005/36/2, s.18-20

CEMPÍRKOVÁ E., LUKÁŠOVÁ J., HEJLOVÁ Š., *Mikrobiologie potravin*, Skriptum Jihočeská univerzita, České Budějovice, 1997, s. 99-107

DÍČÁKOVÁ Z. et al, *Porovnanie aminokyselinového zloženia mlieka troch druhov hospodárskych zvierat*, Mliekarstvo, 2005/36/2, s.28- 31

DUCKOVÁ V., ČANIGOVÁ M., *Psychrotrofná mikroflóra mlieka*. Mliekarstvo, 2004/35/3, s.32-35

GAJDŮŠEK S., *Laktologie*, Brno: MZLU, 2008, 84 s, ISBN 80- 7157- 657- 3

GÖRNER F., VALÍK Ľ., *Aplikovaná mikrobiológia potravín*, Bratislava: Male cetrum, ISBN: 80- 967064-9-7, s. 528

GRIEGR C., HOLEC., *Hygiena mlieka a mliečnych výrobkov*, Bratislava: Príroda,1990, s.39-49
ISBN 80- 07- 00253- 7

HAYES M. C., BOOR K., *Raw Milk and fluid milk products*. In. Marth E.H., Steele J.L., Applied Dairy Microbiology. New York, ISBN 0-8247-0536- X, s. s. 744

NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 853/2004

EFFECT OF MILK CONTENT ON TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF POOL SAMPLE COW'S MILK

Polák O., Falta D., Chládek G.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xpolak@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate differences in the content of the ingredients (protein, fat, lactose and solids non-fat) and milk technological properties (titratable acidity, synereze and cheese curds) in the period from January to September in dairy cows of Holstein breed.

Every week from January to September were took samples of tank milk from the morning and evening milk yield. In the pool samples were analysed values for: fat content (%), protein content (%), casein content (%), lactose (%), titrable activity (SH), rennet coagulation time (s) and quality of curd (class). We found that the value of rennet coagulation were in the period ranged from 185 to 258 sec. Fat content had noticeable effect on the rennet quality, as illustrates observed correlation coefficient ($r = 0.54$). Protein had an effect too, correlation coefficient was ($r = 0.38$). Furthermore, there was found affect of fat content on the titratable acidity ($r = -0.44$). In addition there were not found more signifiant effect on the substantive components of technological properties of milk.

Key words: milk, rennet coagulations, protein

Acknowledgments: Results published in this paper were part of IGA (TP 2/2010) and research program supported by MSMT CR (MSM6215648905)

ÚVOD

Zvyšující se užitek u holštýnských dojnic v posledních letech vyžaduje opakované analýzy základních parametrů mléka. Kromě klasických obsahových složek (bílkoviny, tuku, laktózy a tukuprosté sušiny) se stále více dostávají do popředí také ukazatele související s technologickými vlastnostmi mléka jako je syřitelnost, kvalita sýřeny nebo titrační kyselost (Čejna a Chládek, 2004).

Syřitelnost je považována za nejdůležitější technologickou vlastnost mléka. Jedná se o schopnost mléka srážet se syřidlem a vytvořit sýřenu požadovaných vlastností (Gajdůšek, 2003). Ikonen (2000) poznamenává, že krátký srážecí čas je asociován s nižším pH, vyšším obsahem tuku a proteinů v mléce. Tyrisevā et al. (2004) uvádějí, že environmentální faktory jako jsou stádium a pořadí laktace a sezóna ovlivňují syřitelnost vlivem změn chemického složení mléka. Významný vliv na kvalitu sýřeny má obsah bílkovin, kaseinu a vápníku (Tervalo a Antila, 1985). Grandison et al. (1984) konstatují, že zlepšující vliv na kvalitu sýřeny má také vyšší obsah kaseinu.

Cílem této práce bylo zhodnotit rozdíly v obsahových složkách (bílkoviny, tuku, laktózy a tukuprosté sušiny) a technologických vlastnostech mléka (titrační kyselost, syřitelnost mléka a kvality sýřeny) v období od ledna do září u dojnic holštýnského plemene.

MATERIÁL METODIKA

V chovu dojnic holštýnského plemene na Školním zemědělském podniku v Žabčicích, byly jednou týdně odebrány bazénové vzorky v průběhu 38 týdnů (7.1 – 26. 09. 2010). Vzorky představovaly směs ranního a večerního nádoje. Průměrná užitek dojnic dosahovala průměrně 9000 kg mléka za laktaci.

V bazénových vzorcích mléka byly následující den po odběru stanoveny průměrné hodnoty obsahu tuku (%), obsahu bílkovin (%), obsahu laktózy (%), obsahu TPS (%), titrační kyselosti (SH), syřitelnosti (s) a kvality sýřeny (třída kvality). Syřitelnost mléka byla stanovena pomocí „Nefelo-turbidimetrického snímače koagulace mléka“ měřící principem vysvětleným v Chládek a Čejna (2005). Bylo použito syřidlo Laktochym 1:5000 (Milcom Tábor) v množství 1 ml na 50 ml mléka po zředění syřidla 1:4. Kvalita sýřeny byla hodnocena po 60 minutové inkubaci 50 ml zasýřeného mléka při 35 °C a posouzena dle tabulky (Gajdůšek, 1999) hodnotící vzhled sýřeny a syrovátky (třída 1 = nejlepší, třída 5 = nejhorší). Titrační kyselost byla prováděna dle ČSN 57 0530 čl. 58, zjištěná spotřeba se násobila 2x. Obsah bílkovin a tuku v mléce byl stanoven pomocí NIR spektrometrie. Pro statistické zpracování a vyhodnocení byly použity programy MS Excel a Statistica 8.0.

VÝSLEDKY A DISKUZE

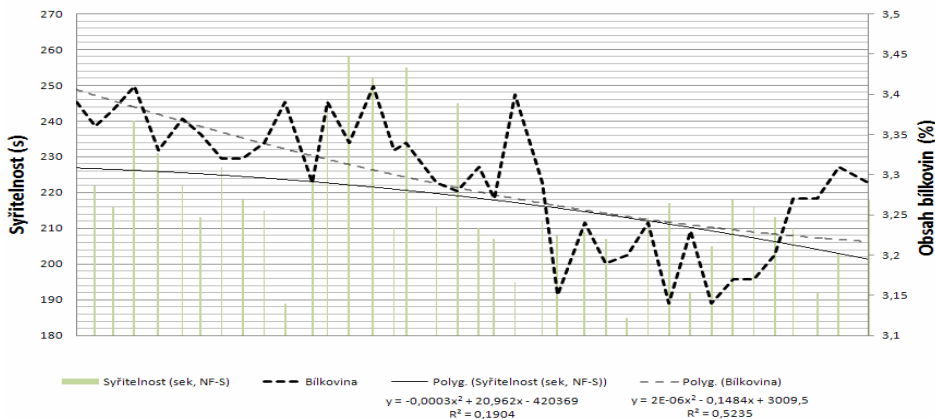
Průměrné hodnoty zjišťovaných parametrů v bazénových vzorcích uvádí tab. I. Syřitelnost se pohybovala v rozmezí hodnot 185 až 258 s. Rozdíl mezi nejlepší a nejhorší syřitelností činil 73 s a průměrná hodnota za celé sledované období byla 217,2 s. Kvalita syřeniny se pohybovala nejvíce na úrovni 2. třídy kvality a to v rovnoměrném zastoupení během 38 týdnů měření. V jedenácti případech dosahovala úrovně 1. třídy kvality. Kvalita syřeniny vykazovala nejvyšší variabilitu 31,81 %. Titrační kyselost byla v průměru 6,98 %. Průměrný obsah bílkovin resp. tuku byl zjištěn na úrovni 3,29 % a 4,02 %, přičemž obsah bílkovin i tuku vykazoval nízkou variabilitu na úrovni 2,39 % a 4,87 %.

Tabulka I.: Průměrné hodnoty zjišťovaných parametrů v bazénových vzorcích mléka během 38 týdnů sledování

	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Vx(%)
Syřitelnost (s)	217,23	185	258	17,35	7,98
Kvalita syřeniny (třída)	1,79	1	3	0,57	31,81
Titrační kyselost (SH)	6,99	6,64	4,5	0,17	2,46
Bílkoviny (%)	3,29	3,14	3,41	0,08	2,40
Tuk (%)	4,03	3,64	4,37	0,20	4,86
Laktóza (%)	4,83	4,62	4,95	0,06	1,28
TPS (%)	8,72	8,44	9,02	0,14	1,59
Kasein (%)	2,59	2,43	2,75	0,08	3,07

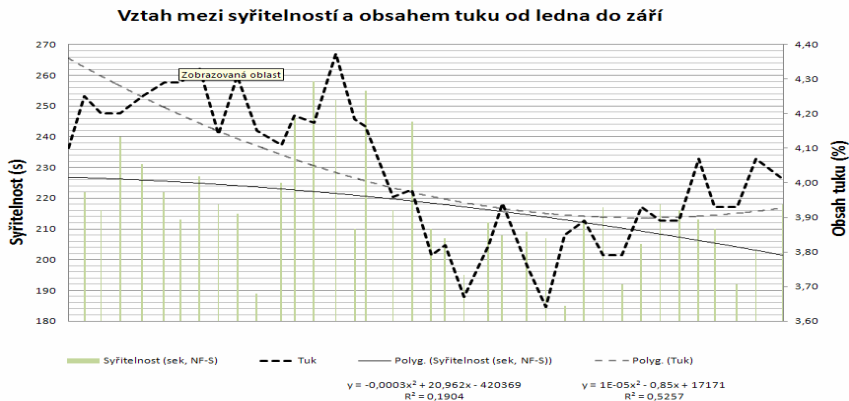
Vliv obsahu bílkovin na syřitelnost mléka je patrný z grafu 1. Pokud jde o obsah bílkovin v mléce, tak podobný trend naznačuje, že při vzestupu obsahu bílkovin v mléce dochází k delšímu času potřebnému pro zasýření. Toto tvrzení dokládá i zjištěný korelační koeficient mezi těmito sledovanými parametry ($r = 0,38$). Pokud jde o vliv obsahu tuku na syřitelnost mléka to nám dokládá graf 2. Zde byl zjištěn podobný korelační koeficient

Vztah mezi syřitelností a obsahem bílkovin od ledna do září



($r = 0,54$) jako u bílkoviny. Ikonen (2000) uvádí, že krátký srážecí čas je asociován s nižším pH, vyšším obsahem proteinu a tuku v mléce. Bylo zjištěno, že korelační koeficienty obsahových složek k syřitelnosti mléka byly průkazné.

Graf 1. Vztah mezi syřitelností a obsahem bílkovin od ledna do září

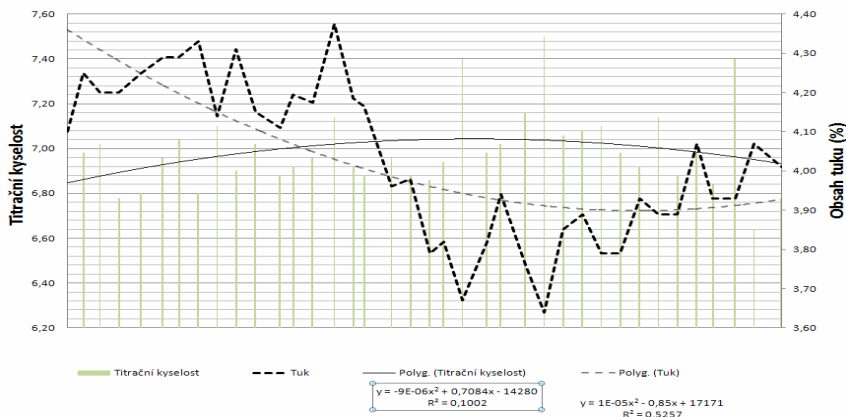


Graf 2. Vztah mezi syřitelností a obsahem tuku od ledna do září

Obsah bílkoviny zde neměl žádný vliv na kvalitu syřeniny, jak znázorňuje zjištěný korelační koeficient ($r = -0,04$). Obsah tuku zde měl jen mírný vliv na kvalitu syřeniny, což dokládá zjištěný korelační koeficient ($r = -0,10$). Hanuš et al. (1995) zaznamenal u obsahu bílkovin ($r = -0,30$) a Auldust et al. (2002) zaznamenal korelační koeficient ($r = -0,40$). Další obsahové složky neměly významnější vliv na kvalitu syřeniny.

Z výsledků dále vyplývá, že obsah tuku měl patrný vliv na titrační kyselost ($r = -0,44$), kdy se v průběhu sledovaného období snižoval obsah tuku, a zvyšovala se hodnota titrační kyselosti, jak vyjadřuje graf 3. Genčurová et al. (1997) uvádí pozitivní korelační koeficienty titrační kyselosti k obsahu tuku ($r = 0,24$) a obsahu bílkovin ($r = 0,55$). Naopak, Formaggioni et al. (2001), nezjistili statisticky průkazný vliv obsahu tuku a kaseinu na zvyšování titrační kyselosti, což je v rozporu s naší prací.

Vztah mezi titrační kyselostí a obsahem tuku od ledna do září



Graf 3. Vztah mezi titrační kyselostí a obsahem tuku od ledna do září

ZÁVĚR

Bylo zjištěno, že hodnota syřitelnosti se ve sledovaném období pohybovala v rozmezí 185 – 258 s. U obsahu tuku byl nalezen patrný vliv na kvalitu syřeniny, což nám dokládá zjištěný korelační koeficient ($r = 0,54$). Obsah bílkovin zde měl vliv na kvalitu syřeniny, což dokládá zjištěný korelační koeficient ($r = 0,38$). Dále zde byl nalezen vliv obsahu tuku na titrační kyselost ($r = -0,44$). Také zde nebyly nalezeny další průkazné vlivy obsahových složek na technologické vlastnosti mléka.

LITERATURA

Auldish, M. J. – Mullins, C. – O'Brien, B. – O'Kennedy, B. T. – Guinee, T. Effect of cow breed on milk coagulation properties. *Milchwissenschaft*, 2002, vol. 57, no. 3, s. 140 – 143. ISSN: 0026-3788.

Čejna, V. – Chládek, G. Vliv stádia laktace na titrační kyselost a syřitelnost mléka dojníc českého strakatého plemene. In *Farmářská výroba sýrů a kysaných mléčných výrobků*. Brno: MZLU, 2004, s. 33-34. ISBN: 80-7157-771-5.

ČSN 57 0530. Metody zkoušení mléka a tekutých mléčných výrobků. Praha: ČNI, 1995, 100 s.

Formaggioni, P. – Malacarne, M. – Summer, A. – Fossa, E. – Mariani, P. Milk with abnormal acidity. VI. The role of phosphorus content and the rennet-coagulation properties of Italian friesian herd milks. *Annali della Facolta di Medicina Veterinaria, Universita di parma*, 2001, vol. 21, s. 261 – 268. ISSN: 0393-4802.

Gajdůšek, S. *Mlékařství II (cvičení)*. Dotisk, Brno: MZLU, 1999, 92 s. ISBN: 80-7157-278-0.

Genčurová, V. - Hanuš, O. – Hrdinová, E. – Jedelská, R. – Kopecký, J. Vztahy kysací schopnosti a dalších technologických vlastností k vybraným parametřům mléka. Živočišná výroba, 1997, roč. 42, č. 8, s. 375-382. ISSN: 0044-4847.

Grandison, A. S. – Ford, G. D. – Millard, D. – Owen, A. J. Chemical composition and coagulating properties of renneted milks from cows during early lactation. J. Dairy Res., 1984, vol. 51, no. 3, s. 407-416. ISSN: 0022-0299.

Hanuš, O. – Gajdůšek, S. – Beber, K. – Ficnar, J. – Jedelská, R. Složení a technologické vlastnosti mléka od dojnic ve střední části laktace a jejich vzájemné vztahy. Živočišná výroba, 1995, roč. 40, č. 12, s. 555-561. ISSN: 0044-4847.

Chládek, G. – Čejna, V. Měření syřitelnosti mléka pomocí nefelo-turbidimetrického snímače. In: Mléko a sýry 2005, Praha: Česká společnost chemická, 2005, s. 127-130, ISBN: 80-86238-42-5.

Ikonen, T. Possibilities of genetic improvement of milk coagulation properties of dairy cows. Academic dissertation, Faculty of Agriculture and Forestry of the University of Helsinki. 2000, s. 34, [cit. 4. 4. 2006]. Dostupné z <<http://ethesis.helsinki.fi/julkaisut/maa/kotie/vk/ikonen/possibil.pdf>>

Tervala, H. L. – Antila, V. Milk with anomalous renneting properties. Meijeritieteellinen-Aikakauskirja, 1985, vol. 43, no. 1, s. 26-32. ISSN: 0367-2387

Tyriseva, A. – M. – Vahlsten, T. – Routtinen, O. – Ojala, M. Noncoagulation of milk in finish Ayrshire and Holstein-Friesian cows and effect of herds on milk coagulation ability. J. Dairy Sci., 2004, vol. 87, no. 11, s. 3958-3966. ISSN: 0022-0302.

SENSORY ANALYSIS OF BLUEBERRY CULTIVARS

Priatková L., Hlaváčová Z., Kertész Á., Vietoris V., Sedláčková - Horčinová V.

Department of Physics, Faculty of Engineering, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture in Nitra Tr. A. Hlinku 2, 949 76, Slovakia

E-mail: lenka.priatkova@uniag.sk, Zuzana.Hlavacova@uniag.sk

ABSTRACT

Blueberries have become a product of interest in recent years due to their nutritional and health benefits. The sensory quality of food is a subject of constant and active producer's interest. As a unique source of product information, sensory analysis has also important marketing consequences because it provides direct, low cost, fast and actionable information. When a consumer buys a food product, they can buy nutrition, convenience, and image. Therefore, sensory evaluation should be an integral part in defining and controlling product quality. The measurements were done with 15 cultivars of *Vaccinium corymbosum* L. The samples were stored in the fridge at 8 °C for 1 or 2 days before aromatic volatile and sensory quality analyses. On unstructured scales labelled on both ends, panellists rated in for the acceptability of appearance, colour, skin toughness, flavour, taste, fruit size, size uniformity of berries and texture quality during eating. For each sample, the consumer was asked to taste it, and then asked to indicate which statement best described how they felt about the sample on a 9-point hedonic scale (dislike extremely to like extremely). Values from Sensory analysis which are liking were analyzed with analysis of variance (multifactor ANOVA). For testing of normal distribution we had used Shapiro – Wilk test with the software Panelcheck. Factor Analysis was conducted on the sensory data to identify variability shared in common among the sensory descriptors (i.e., Dim 1 and Dim 2) for the 15 cultivars examined. The cultivars Sierra and Sunrise had most of the significant differences with each cultivars. Cultivars varied in sensory quality characteristics with trained panellist and of preference map. The cultivars Spartan and Bluecrop having the best and Berkeley and Patriot having the lowest, but still acceptable, sensory quality. Flavour quality characteristics best predicted overall eating quality of blueberries. Various textural and visual quality characteristics also influenced consumer assessment of overall eating quality of blueberries. It is therefore necessary to evaluate sensory blueberries and meet the requirements of consumers.

Key words: sensory analysis, *Vaccinium corymbosum* L., preference map, panellists, descriptors

Acknowledgments: This work was supported by research projects VEGA 1/0643/09 of Slovak Grant Agency for Science. And supported from the Research Institute of Grassed Growth and the Mountain Agriculture in Krivá on Orava, from where the samples were.

INTRODUCTION

The origin of blueberries and the biggest tradition of their growing is in the North America, where their big fruit cultivars are also growing. The big plantation is also in the all Europe, Australia and New Zeland (Dierking W., Dierking S. 1993). On Slovakia, there does not exist a big tradition in growing of blueberries. The main production of blueberries of Slovakia is in Orava. The *Vaccinium corymbosum* L. is cultivated from traditional vegetation. Fruits of blueberries belong to the healthiest cultivars on the world. They have got high biological and dietetic value (Šimala, 2000). From the nutritional point of view, blueberries has got also high concentration of ferrum in compare with other cultivars of small berrylike fruits. It is also very rich in carbohydrates, it has got a low content of fat and a lot of vitamins from the category of vitamins C, K, A, magnesium and it is also rich source of fibre (Kováčiková et al., 1997).

With an increased consumption of fresh blueberries in the past two decades, a whole new generation of cultivars has been released that were bred, at least in part, for improved fruit quality, shelf stability and extension of the fresh-market harvest season.

While many research papers have been published on instrumental quality characteristics of highbush and rabbiteye blueberries (Silva et al., 2005), very little information is available regarding their sensory characteristics. Sensory evaluations of thawed highbush and rabbiteye blueberries showed that 17 panellists preferred the colour of rabbiteye to highbush blueberries, but thawed fruit of highbush cultivars had superior taste and texture and less seediness (Makus and Morris, 1993). More recent sensory evaluations of fresh highbush and rabbiteye blueberries showed that 10 trained panellists found no differences in fruit colour, flavour or skin toughness among three rabbiteye and two highbush cultivars (Silva et al., 2005).

It is well known that food provides not only indispensable for life nutrients but it is a source of psychological satisfaction for every human being. The sensory quality of food is a subject of constant and active producer's interest. As a unique source of product information, sensory analysis has also important marketing consequences because it provides direct, low cost, fast and actionable information. Therefore, after about 70 years of its own development and growth, sensory evaluation has emerged as a distinct and recognized scientific specialization that offers unique procedures, methods and standards in order to make analysis reliable and valid. Sensory evaluation is a scientific discipline used to evoke measure, analyse and interpret reactions to those characteristics of food and other materials as they are perceived by the senses of sight, smell, taste, hearing and touch. A scientific discipline used to evoke, measure, analyse and interpret those responses to product that are perceived by the senses of sight, smell, taste and hearing. A way

to ensure cost-efficient delivery of new products with high consumer acceptability. Sensory preferences including consumer preferences influence of sensitivity differences, personality differences, expectations and context effect, dependent and different for evaluators.

When a consumer buys a food product, they can buy nutrition, convenience, and image. Nevertheless, most importantly consumers are buying sensory properties/performance and sensory consistency. Therefore, sensory evaluation should be an integral part in defining and controlling product quality.

The objective is to identify sensory quality characteristics that may predict consumer acceptability of blueberry eating quality.

MATERIAL AND METHODS

Plant material

The measurements were done with 15 cultivars of *Vaccinium corymbosum* L.. The experimental area where are the individual cultivars grown, lies in altitude 700 m.o.s., with geographical latitude 49° 17 ' n.l. and 19° 28,5 ' e.l. The average temperature over the year is 6° C with yearly aggregate amount meteoric water 800 – 900 mm. The manual picking was realized on August in 2010. Highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum*) were hand harvested from mature field-grown plants from the Research Institute of Grassed Growth and the Mountain Agriculture in Krivá on Orava. The samples were stored in the fridge at 8 °C for 1 or 2 days before aromatic volatile and sensory quality analyses. The samples were stored in the fridge at 8 °C for 1 or 2 day before aromatic volatile and sensory quality analyses.

Sensory analysis

Each panellist evaluated all fifteen samples with the fifteen cultivars serving as a complete block in the statistical design. They were given a questionnaire that included a rating scale for several sensory characteristics. Samples were presented one at a time in individual booths under moderate incandescent lighting. On unstructured scales labelled on both ends, panellists rated in for the acceptability of appearance, colour, skin toughness, flavour, taste, fruit size, size uniformity of berries and texture quality during eating. The consumer evaluation had been in sensory laboratory and the berries were evaluated at 23 °C for 2 h. A sample consisted of fresh whole blueberries presented in a cup labelled with a three-digit code. For each sample, the consumer was asked to taste it, and then asked to indicate which statement best described how they felt about the sample on a 9-point hedonic scale (dislike extremely to like extremely). In such a case, differences between samples would too be obvious for trained panellist. The chosen experimental design helped to investigate differences between fifteen samples in each context due the qualitative but not quantitative factor. Consumers were instructed to bottled water between samples to cleanse their palates. Data analysis starts from data inspection and data validation and then proceeds in some

steps. First, the analysis of sensory perception and preferences is discussed. Second, preference cluster mapping is described. Blueberry descriptors were chosen based on prior solicited comments from scientists familiar with fresh - market blueberry quality characteristics.

RESULTS AND DISCUSSION

Factor analysis of sensory data describes two dimensional components (Dim) calculated from the trained panel showed 85,87 % of variance.

Factor Analysis was conducted on the sensory data to identify variability shared in common among the sensory descriptors (i.e., Dim 1 and Dim 2) for the 15 cultivars examined. This method was applied to the extracted factors to identify and estimate any correlation among the extracted factors. Cultivars Spartan and Bluecrop that had generally high scores for size uniformity of berries and textural quality characteristics also had positive scores for Dim 1 (explaining 69.67 % of the variation observed among the sensory descriptors), with high loading values for size uniformity of berries (completely balanced, uniform; medium berries balanced and berries very unbalanced) and texture during chewing (Fig. 1). Likewise, cultivars that had generally low scores for size uniformity of berries and textural quality had negative scores on Dim 2, and cultivars that had generally intermediate size uniformity of berries and textural quality characteristics had scores near zero for Dim 2. (Berkeley, Patriot, Goldtraube 23 and Nelson). Cultivars Berkeley, Patriot, Goldtraube 23 and Nelson had also the negative scores on Dim 2, for the skin toughness and taste. Dim 2 explained 16.2 % of the variation observed among the sensory descriptors and the skin toughness and taste and overall eating quality loaded onto this factor. Cultivars (Puru, Pemberton, Sunrise, Sierra) that scored generally high for acceptability of flavour, colour and overall eating quality had positive scores for Dim 1 and cultivars (Polaris, Chippewa, Bluejay, Duke and Blueray) that scored lowest in these sensory quality characteristics had negative scores for Dim 2. (Puru, Pemberton, Sunrise and Sierra). Cultivars Polaris, Chippewa, Bluejay, Duke, Blueray had high scores for the acceptance of appearance and fruit size on Dim 2 (16.2 %) and that cultivars had lowest values for flavour and colour, also for the Dim 1. Just as the sensory descriptors loading onto Dim 1 and 2 are correlated with one another, the oblique rotation of the factors estimates a correlation between Dim 1 and 2 of 0.42. In summary, Factor Analysis indicated that cultivars Spartan and Bluecrop had higher sensory quality than cultivars Berkeley, Patriot, Goldtraube 23 and Nelson. The cultivar Spartan and Bluecrop having the best and Berkeley and Patriot having the lowest, but still acceptable, sensory quality. Results from Factor Analysis were similar to other statistical analyses of the sensory data as described above.

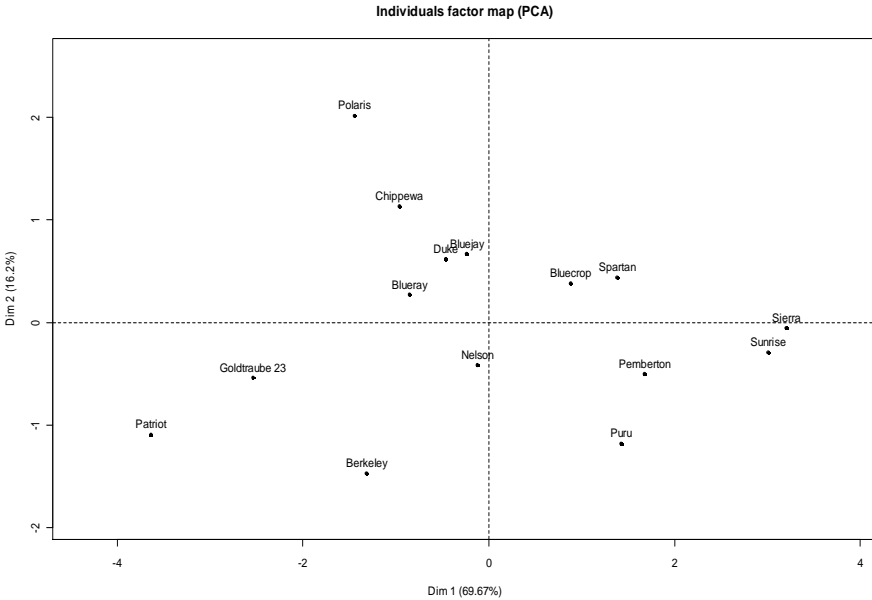


Fig.1 Factor Analysis of sensory data for all 15 blueberry cultivars

We also considered the possibility that maturity (i.e., ripeness) differences among cultivars may have affected the sensory results. Care was taken to harvest fruit once the fruit turned fully blue and was firm to touch, but slight differences in maturity among cultivars probably occurred. For example, the highbush cultivar, Berkeley, scored low for intensity of texture during chewing. Since firmness varies dramatically with the stage of maturity (Ballinger et al., 1973), the relatively low textural quality scores of Berkeley combined with its high sweetness and low tartness scores, which are characteristic of more mature fruit (Galletta et al., 1971), may indicate that these fruit were harvested at a somewhat more advanced stage of maturity than those of other cultivars to which they are being compared. Textural and flavor-related sensory scores of Berkeley should still be interpreted with caution. When blueberries are grown in a single location and year, genetic factors are more important than environmental differences within the field (Ballington et al., 1984). Thus, this study reflects, by design, primarily genetic differences.

Statistical analysis

Values from Sensory analysis which are liking were analyzed with analysis of variance (multifactor ANOVA). Anova was used for unvaried comparison between the 15 cultivars and sensory descriptors significant differences at 0.05 level were considered as variables. For testing of normal distribution we had used Shapiro – Wilk test with the software Panelcheck. The cultivars Sierra and Sunrise had most of the significant differences with each cultivars.

P-values for the Hotelling T2 tests

	Berkley	Bluecrop	Bluejay	Blueroy	Duke	Goldtraube 23	Chippewa	Nelson	Patot	Pemberton	Polaris	Puru	Serra	Spurth	Sarria
Berkley	1	0.03292	0.05186	0.03463	0.1256	0.4883	0.008313	0.1892	0.2289	0.04335	0.005324	0.1428	0.001758	0.002637	0.004231
Bluecrop	0.03292	1	0.286	0.1788	0.1632	0.0008407	0.9657	0.2397	0.003333	0.7069	0.09687	0.3658	0.0002004	0.7206	0.0007608
Bluejay	0.05186	0.286	1	0.7751	0.9656	0.03524	0.6635	0.4805	0.02597	0.3197	0.3418	0.05184	0.002085	0.2799	0.003152
Blueroy	0.03463	0.1788	0.7751	1	0.877	0.1653	0.4619	0.5764	0.07058	0.258	0.1632	0.03157	0.0031	0.1617	0.004309
Duke	0.1256	0.1632	0.9656	0.877	1	0.0535	0.8026	0.8362	0.03483	0.3103	0.454	0.0815	0.001545	0.1942	0.00244
Goldtraube 23	0.4883	0.0008407	0.03524	0.1653	0.0535	1	0.005991	0.08774	0.4955	0.009578	0.007212	0.01701	2.146e-05	0.0005067	5.938e-05
Chippewa	0.008313	0.9657	0.6635	0.4619	0.8026	0.005991	1	0.1847	0.009254	0.1607	0.6241	0.02279	0.0003346	0.0818	0.0007111
Nelson	0.1892	0.2397	0.4805	0.5764	0.8362	0.08774	0.1847	1	0.01199	0.3861	0.07045	0.3725	0.005985	0.00589	0.01455
Patot	0.2289	0.003333	0.02597	0.07058	0.03483	0.4955	0.009254	0.01199	1	0.01069	0.00945	0.008721	0.0003458	0.002309	0.0004627
Pemberton	0.04335	0.7069	0.3197	0.258	0.3103	0.009578	0.1607	0.3861	0.01069	1	0.07694	0.6761	0.1041	0.2957	0.2958
Polaris	0.005324	0.09687	0.3418	0.1632	0.454	0.007212	0.6241	0.07045	0.00945	0.07694	1	0.01635	0.002604	0.089	0.003875
Puru	0.1428	0.3658	0.05184	0.03157	0.0815	0.01701	0.02279	0.3725	0.008721	0.6761	0.01635	1	0.05702	0.1253	0.1108
Serra	0.001758	0.0002004	0.002085	0.0031	0.001545	2.146e-05	0.0003346	0.005985	0.0003456	0.1041	0.002604	0.05702	1	0.1147	0.6681
Spurth	0.002637	0.7206	0.2799	0.1617	0.1942	0.0005067	0.08118	0.05589	0.002309	0.2957	0.089	0.1253	0.1147	1	0.1839
Sarria	0.004231	0.0007608	0.003152	0.004309	0.00244	5.938e-05	0.0007111	0.01455	0.0004627	0.2958	0.003875	0.1108	0.6681	0.1839	1

Fig. 2. P- values for the hotelling T2 tests (ANOVA) blueberry fruit from 15 cultivars. Means within a column of followed by the coloured columns were significantly different and non-coloured were not significantly different, Shapiro – Wilk tests, ($\alpha = 0.05$)

CONCLUSION

It is well known that food provides not only indispensable for life nutrients but it is a source of psychological satisfaction for every human being. The sensory quality of food is a subject of constant and active producer's interest. As a unique source of product information, sensory analysis has also important marketing consequences because it provides direct, low cost, fast and actionable information. When a consumer buys a food product, they can buy nutrition, convenience, and image. Nevertheless, most importantly consumers are buying sensory properties/performance and sensory consistency. Therefore, sensory evaluation should be an integral part in defining and controlling product quality. Blueberries have become increasingly popular because of their health-promoting properties. Therefore the objective of our study is to identify sensory quality characteristics that may predict consumer acceptability of blueberry eating quality.

Cultivars varied in sensory quality characteristics with trained panellist and of preference map (Fig.1). The cultivars Spartan and Bluecrop having the best and Berkeley and Patriot having the lowest, but still acceptable, sensory quality. Cultivars Spartan and Bluecrop that had generally high scores for size uniformity of berries and textural quality characteristics, but they had the lowest scores for taste and skin toughness. The cultivars Berkeley, Patriot, Goldtraube 23 and Nelson had generally high scores for taste and skin toughness and the lowest scores for size uniformity of berries and textural quality characteristics. The cultivars Polaris, Chippewa, Bluejay, Duke and Blueray had generally high scores for acceptance of appearance and fruit size and the lowest scores for flavour and colour. However, the cultivars Puru, Pemberton, Sunrise and Sierra they had not the same scored but vice versa. Flavour quality characteristics best predicted overall eating quality of blueberries. Various textural and visual quality characteristics also influenced consumer assessment of overall eating quality of blueberries. It is therefore necessary to evaluate sensory blueberries and meet the requirements of consumers. The cultivar Spartan and Bluecrop having the best and Berkeley and Patriot having the lowest, but still acceptable, sensory quality. Results from Factor Analysis were similar to other statistical analyses of the sensory data as described above. We also considered the possibility that maturity (i.e., ripeness) differences among cultivars may have affected the sensory results. The cultivars Sierra and Sunrise had most of the significant differences with each cultivars (Fig.2).

It is therefore necessary to evaluate sensory blueberries and meet the requirements of consumers. The sensory analysis should be also useful for making decision for making decision pertaining to the marketability of fruits and vegetables.

REFERENCES

- Ballinger, W.E., Kushman, L.J., Hamann, D.D., 1973. Factors affecting the firmness of highbush blueberries. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 98, 583–587.
- Ballington, J.R., Ballanger, W.E., Swallow, W.H., Galletta, G.J., Kushman, L.J., 1984. Fruit quality characterization of 11 *Vaccinium* species. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 109, 684–689.

Dierking W., Dierking S. 1993. European *Vaccinium* species. In *Acta Hort*, vol. 346, 1993, no. 8, p. 299-304.

Galletta, G.J., Ballinger, W.E, Monroe, R.J., Kushman, L.J., 1971. Relationships between fruit acidity and soluble solids levels of highbush blueberry clones and fruit keeping quality. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 96, 758–762.

Kováčiková, J. et al. 1997. Fruit and vegetables. Nutritional tables. Bratislava: VÚP, 1997, 208 s. ISBN 80-85330-33-4.

Makus, D.J., Morris, J.R., 1993. Highbush vs. rabbiteye blueberry: a comparison of fruit quality. *J. Food Qual.* 16, 417–428.

Silva, J.L., Marroquin, E., Matta, F.B., Garner Jr., J.O., Stojanovic, J., 2005. Physiochemical, carbohydrate and sensory characteristics of highbush and rabbiteye blueberry cultivars. *J. Sci. Food Agric.* 85, 1815–1821.

Šimala, D. 2000. *Vaccinium Corymbosum* L.: Research Banská Bystrica: Research Institute of Grassed Growth and the Mountain Agriculture, 2000, 13 p.

USING PROBIOTIC STRAINS FOR SOURDOUGH PRODUCTION**Přichystalová J., Kalhotka L., Šušková J., Kos B., Beganović J., Pavunc A., Habjanič K.**

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

E-mail: xsvanca1@node.mendelu.cz

ABSTRACT

Our aim was to use probiotic strains for the production of sourdough and test their antimicrobial activity by using turbidimetric method. The experiments tested inhibitive activity against some pathogens which can appear in sourdough.

Evidently probiotic microorganisms decrease count of pathogens as *Echerichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*. There is possibility in developing new sourdough starters containing probiotic culture which could be advantageous in bakery technologies.

Key words: sourdough, probiotic strains, microorganisms, antimicrobial activity

Acknowledgments: The project was realized at University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology, Laboratory for Antibiotics, Enzymes, Probiotic and Starting Cultures

ÚVOD

Vzhledem k tomu, že převážná většina potravin obsahujících probiotika je mléčného původu, vyvstává výzva produkce potravin nemléčného původu s probiotiky. V dnešní době je možné konzumovat fermentované salámy nebo šřávu z kysaného zelí obsahující probiotické mikroorganismy. Jelikož z celosvětové produkce potravin zaujímají cereálie 73 %, bylo by vhodné, aby se i zde podařilo nalézt využití pro probiotické mikroorganismy.

Konzumace živých probiotických bakterií je jeden z nejpřirozenějších způsobů, jak preventivně zabránovat vzniku rakoviny (Šušková, 2001) a jak udržovat střevní mikroflóru v rovnováze. K jejich dalším příznivým účinkům patří produkce mastných kyselin s krátkým řetězcem, jejichž hlavním významem je výživa buněk střevního epitelu – kolonocytů (Lipská a Visokai, 2009). K probiotickým bakteriím patří rody *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* a některé kvasinky (*Sacharomyces boulardii*).

Ke správnému růstu probiotických bakterií je třeba, aby měly dostatek substrátu tzv. prebiotika. Ty se skládají z vlákniny a jejích štěpných produktů. Ačkoliv se prebiotika chovají k trávicímu systému jako inertní, jsou selektivně fermentována probiotiky, která je využívají jako zdroj energie a stavební materiál (Tannock, 2007). Cereálie obsahují vlákninu škrob, a monosacharidy jako je glukosa, stachylosa, fruktosa apod. Obiloviny oproti mléku vykazují vyšší obsah některých esenciálních vitamínů, vlákniny a minerály (Charalampopoulos, 2009).

Obiloviny obsahují omezené množství využitelných aminokyselin díky limitujícímu množství threoninu, lysinu a tryptofanu. Ve srovnání s mlékem a ostatními živočišnými produkty vykazují nižší stravitelnost bílkovin. To je též způsobeno přítomností kyseliny fytové. Působením mléčného kvašení je možné efektivně snížit množství kyseliny fytové a taninů. Tím se dostupnost proteinů zlepší (Charalampopoulos, 2009).

Produkce kvasu je nezbytná pro výrobu žitného chleba a dalšího pečiva jako je Panettone, toskánský či Altamura chléb. Přítomnost kvasu v těstě je nutná k dosažení potřebného objemu pečiva a k poklesu pH (Brandt, 2006). Přídavkem probiotických bakterií je možné dosáhnout nakynutí stejně dobře, jako při použití komerčních kvasů obsahujících směsnou kulturu bakterií mléčného kvašení. Probiotické bakterie produkují kyselinu mléčnou a CO₂. Heterofermentativní mikroorganismy mohou produkovat ještě další látky, zejména kyselinu octovou, která spolu s kyselinou mléčnou okyseluje těsto.

Silná antimikrobiální aktivita, která je důležitou vlastností probiotik, je způsobena produkcí pestré směsi látek jako např. je kyselina mléčná, peroxid vodíku a bakteriociny. Použití probiotik je tak

MENDELNET 2010

nejpřirozenějším způsobem konzervace. Jsou schopna inhibovat široké spektrum mikroorganismů způsobující kažení potravin (Geddes a kol., 1999). Význam probiotických bakterií v kvasech nespočívá v jejich přímé konzumaci spotřebitelem, ale v tom, že zkvalitňují proces kynutí a brání rozvoji nežádoucí mikroflóry.

Cílem experimentu bylo zjistit míru inhibičního působení probiotických bakterií na nežádoucí mikroorganismy kontaminující mouku a zjistit tak možnost využití probiotických mikroorganismů při výrobě pekařských kvasů.

MATERIÁL A METODIKA

V rámci experimentu byly použity probiotické bakterie definované na Univerzitě v Záhřebu (Fakulta technologie potravin a biotechnologie):

- *Lactobacillus helveticus* (M92)
- *Lactobacillus plantarum* (L4)
- *Enterococcus faecium* (L3)
- *Lactobacillus fermentum* (A8)
- *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* (LMG 9450)

Během předběžných výsledků byla provedena fenotypová a genotypová charakterizace kmenů bakterií mléčného kvašení *Lactobacillus helveticus* M92, *Lactobacillus plantarum* L4, *Enterococcus faecium* L3, *Lactobacillus fermentum* A8 a *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* LMG 9450, odebraných při fermentaci mouky pomocí klasických mikrobiologických a molekulárních metod (API 50 CHL, API 20 Strep, SDS – PAGE, RAPD).

Podstatou experimentu bylo zjistit inhibiční účinek použitých bakterií proti testovaným mikroorganismům, potenciálním kontaminantům mouky, *Staphylococcus aureus* 3048, *Escherichia coli* 3014 a *Bacillus subtilis* ATCC 6633 pomocí turbidimetrické metody.

Centrifugací kultury bakterií *Lactobacillus helveticus* M92, *Lactobacillus plantarum* L4, *Enterococcus faecium* L3, *Lactobacillus fermentum* A8 a *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* LMG 9450 při 9000 ot./min po dobu 5 min, byla odstraněna voda. Supernatantní bakteriální kultury byly sterilně přefiltrovány přes membránový mikrofiltr s póry 0,22 µm tak, aby byly zachyceny bakteriální buňky.

Do otvorů mikrotitračních destiček bylo přidáno 240 µl supernatantní zkoumané bakteriální kultury a 10 µl testovacích mikroorganismů, které byly nakultivovány v ochranném médiu. Antibakteriální aktivita zkoumaných bakteriálních kultur k testovacím mikroorganismům po 24 hodinách kultivace při 37 °C byla stanovena spektrofotometrickým měřením absorbance při vlnové délce 620 nm pomocí počítače mikrotitračních destiček (LKB 5060-006, „GDV“, Itálie). Rozdíl v absorbanci

MENDELNET 2010

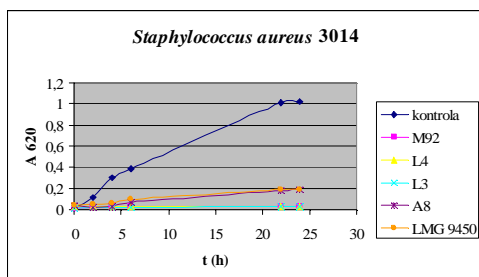
ochranného bujónu bez přidané supernatantních zkoumaných bakterií a vzorku s dodaným supernatantem je přímo úměrný inhibici růstu testovacích mikroorganismů. Slepá zkouška byla provedena na neinokulovaný ochranný bujón.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Cílem experimentu bylo otestovat antimikrobiální aktivitu vybraných probiotických bakterií. Při tomto experimentu byl zjištěn rapidní pokles vitality testovaných kontaminujících bakterií *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* 3048 a *Escherichia coli* 3014. *Staphylococcus aureus* 3048 (Graf 1) byl nejvíce inhibován kmenem *Lactobacillus plantarum* L4. Indikátor fekálního znečištění *Escherichia coli* 3014 (Graf 2) a bakterie způsobující nitkovitost chleba *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (Graf 3) nejméně rostly v přítomnosti *Lactobacillus helveticus* M92, *Lactobacillus plantarum* L4 a *Enterococcus faecium* L3.

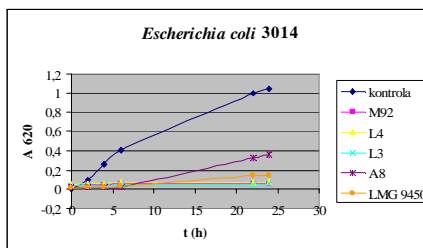
Inhibici nejvíce způsobovala přítomnost kyseliny mléčné, jejíž produkce byla nejdůležitější vlastností startovacích kultur používaných pro výrobu kvasu (Clarke, Schober a Arendt, 2002; Gianotti a kol., 1997). Rychlá produkce kyseliny mléčné během prvního a druhého dne je nezbytná pro produkci kvasu z technologických a hygienických důvodů. Výsledky ukázaly, že aplikované kmeny mohou být užity pro efektivní výrobu kvasu. Navíc jsou výhodné díky svým antagonistickým vlastnostem proti *Escherichia coli* a *Bacillus subtilis*, obvyklým kontaminantům během fermentace

Graf. 2 Inhibice růstu testovacích mikroorganismů *Staphylococcus aureus* 3048 supernatantní kulturou bakteriálních kmenů *Lactobacillus helveticus* M92, *Lactobacillus plantarum* L4, *Enterococcus faecium* L3, *Lactobacillus fermentum* A8 a *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* LMG 9450; kontrola – růst testovacího mikroorganismu *Staphylococcus aureus* 3048 v ochranném bujónu

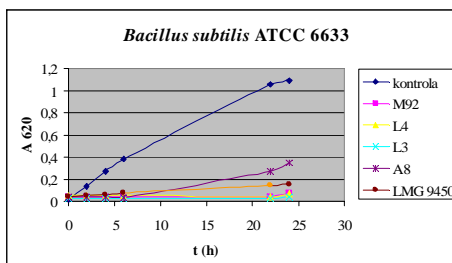


MENDELNET 2010

Graf. 3 Inhibice růstu testovacích mikroorganismů *Escherichia coli* 3014 supernatantní kulturou bakteriálních kmenů *Lactobacillus helveticus* M92, *Lactobacillus plantarum* L4, *Enterococcus faecium* L3, *Lactobacillus fermentum* A8 a *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* LMG 9450; kontrola – růst testovacího mikroorganismů *Escherichia coli* 3014 v ochranném bujónu



Graf. 4 Inhibice růstu testovacích mikroorganismů *Bacillus subtilis* ATCC 6633 supernatantní kulturou bakteriálních kmenů *Lactobacillus helveticus* M92, *Lactobacillus plantarum* L4, *Enterococcus faecium* L3, *Lactobacillus fermentum* A8 i *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* LMG 9450; kontrola – růst testovacích mikroorganismů *Bacillus subtilis* ATCC 6633 v ochranném bujónu



ZÁVĚR

Je jisté, že kvas obsahuje dostatečné množství potřebných živin, aby v něm mohly růst probiotické bakterie a představuje směr pro vývoj nových funkčních potravin. Bohužel jsou probiotické bakterie v průběhu technologie pečení usmrceny. Chléb tak nemůže mít probiotické účinky sám o sobě. Je ale důležité poznamenat, že probiotika nepůsobí na zdraví jen tím, že se dostanou živé do střevního traktu, ale už v syrovém těstě syntetizují mnohé vitamíny (riboflavin, niacin, thiamin) a heterofermentativní bakterie tvoří látky mající vliv na chuť chleba.

Za poslední desetiletí bylo navrženo mnoho způsobů využití probiotických kmenů bakterií. Tato studie si dala za úkol dokázat, je-li možné je využívat i pro produkci kvasu. Experimenty prokázaly výhodnost využití probiotických bakterií jako jsou *Lactobacillus helveticus* M92, *Lactobacillus plantarum* L4, *Enterococcus faecium* L3, *Lactobacillus fermentum* A8 a *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* LMG 9450.

LITERATURA

Brandt M. (2006): Sourdough for convenient use in baking, Elviser, Minden, 160-161

Clarke I., Schober J., Arendt K. (2000): Effect of single strain and traditional mixed strain starter cultures on rheological properties of wheat dough and on bread quality, Cereal Chemistry, Faculty of Food Technology and Biotechnology Zagreb, 640-647

Geddes, Kaiser, Lewus, Ross a kol. (1999): Developing applications for lactococcal bacteriocins, Gianotti A., Vannini L., Gobbetti M., Corsetti A., Gardini F., Guerzoni M. (1997): Model of the activity of selected starters during sourdough fermentation, Food Microbiology, Elsevier, Brusel, 327-337

Charalampopoulos D., Rastall R. (2009): *Prebiotics and Probiotics Science and Technology*, Springer, Whiteknights, 1265 s.

Kluwer Academics, Dordrecht, 337-346

Lipská L., Visokai V. a kol. (2009): Recidivita kolorektálního karcinogenu, Grada Publishing, Praha, 431 s.

Šušković J., Kos B., Goreta J., Matošić S. (2001): Role of Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria in symbiotic Effect, Elsevier, Zagreb, 235 s.

Tannock G. (2007): Probiotics and Prebiotics – where are we going?, Caister Academic Press, Wymondham, 335 s.

CHANGING THE CONTENT OF DI-N-BUTYL PHTHALATE AND DI-2-ETHYLHEXYL PHTHALATE IN THE CARCASS OF PACKAGED CHICKEN DURING REFRIGERATED STORAGE

Puškářová L., Jarošová A., Zorníková G.

Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xpuskaro@node.mendelu.cz

ABSTRACT

In the packed samples of frozen chicken, the value of di-n-butyl phthalate (DBP) and di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) was monitored. During the storage period, samples from muscles, skin and mesenterial fat have been analyzed every three months. In all analyzed samples of chicken tissue, both tracked phthalates have been detected. The highest concentrations were detected in samples of mesenterial fat for DBP 0.64–2.33 mg.kg⁻¹, for DEHP 2.07–8.73 mg.kg⁻¹ of the original sample. An upward trend in the concentration of DEHP depending on storage period ($p < 0.05$) in samples of muscle and mesenterial fat was proven. The difference ($p < 0.05$) in the presence of DBP and DEHP in tissues with different fat content was statistically proven. During the whole duration of the experiment a difference ($p < 0.05$) between the concentration of DBP and DEHP in the same tissue was observed.

Key words: phthalates, di-n-butyl phthalate, di-2-hexyl phthalate, chicken tissue, package

ÚVOD

Estery kyseliny ftalovej (PAE) sú všadeprítomné znečisťujúce látky a sú bežnou súčasťou životného prostredia a potravinového reťazca (GROB, 2008). Svetová produkcia týchto látok sa odhaduje na niekoľko miliónov ton ročne, čo je prvým ukazovateľom ich veľkého sociálneho a ekonomického významu (GÓMEZ-HENZ a AGUILAR-CABALLOS, 2003).

Ftaláty sa pridávajú do plastov na zlepšenie ich mechanických vlastností, do kozmetiky, parfémov, do produktov ako sú stavebné materiály, farby, detské hračky a zdravotnícke pomôcky (API, 2001). PAE sú nekovalentne viazané (LOTTRUP ai., 2006) a preto sa môžu vylúhovať, migrovať, odparovať do vnútorného prostredia, atmosféry a do materiálu, s ktorým sú v kontakte (HEUDORF ai., 2007). Pridávané sú i do potlačových farieb obalov používaných pre balenie potravín a môžu byť detekované i v potravinách v dôsledku ich migrácie (JAROŠOVÁ, 2000).

Toxicita ftalátov bola a stále je predmetom diskusie a znepokojenia verejnosti (GÓMEZ-HENZ a AGUILAR-CABALLOS, 2003). Ftaláty a ich metabolity sa ukázali ako potenciálne škodlivé pre človeka a životné prostredie vzhľadom na ich hepatotoxické, teratogénne a karcinogénne vlastnosti (MATSUMOTO ai., 2008). Sú živočíšnymi karcinogénmi a môžu spôsobiť smrť plodu, malformácie, testikulárne poranenia, poškodenie pečene, antiandrogénnu aktivitu, teratogenicitu a najmä reprodukčnú toxicitu u laboratórných zvierat (LATINI, 2005). V záujme verejného zdravia sú jednak preto, že je známa ich toxicita u pokusných zvierat a ich vysoký potenciál pre expozíciu súvisiacu s ich prítomnosťou v spotrebnom tovare (CALAFAT a NEEDHAM, 2008).

Významné poznatky týkajúce sa problematiky esterov kyseliny ftalovej boli získané na Výskumném ústave veterinárneho lékařství v Brně a na Ústavu technologie potravin Mendelovy univerzity v Brně. V priebehu rokov 1992 až 2009 bol sledovaný obsah ftalátov (DBP a DEHP) v obalových materiáloch a plastoch, v zdravotníckych materiáloch, krmných zmesiach pre hospodárske zvieratá, v tkanivách a orgánoch hospodárskych zvierat, v potravinách a rôznych typoch obalov, u prasiat a hydiny v modelových pokusoch a v svalovine rýb. Sledovanie obsahu ftalátov v krmivách a krmných komponentoch v priebehu troch rokov ukázalo, že je nutná i kontrola vstupov do potravinového reťazca. Potvrdenie kumulácie a distribúcie toxických ftalátov v tele hospodárskych zvierat po perorálnej aplikácii je významné z hľadiska zdravotnej nezávadnosti surovín a potravín živočíšneho pôvodu (JAROŠOVÁ, 2010).

MATERIÁL A METODIKA

Pre pokus boli použité vzorky jatočných tiel kurčiat odobrané z porážkovej linky hydinského závodu. V decembri 2008 bolo náhodným výberom odobraných 70 kusov jatočných tiel. Jatočné

telá po predchádzajúcej eviscerácii a jatočnom opracovaní boli zabalené do spotrebiteľských obalov a následne mraziarensky skladované pri $-21\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po každých troch mesiacoch skladovania bolo pre analýzu odobraných 8 vzoriek. Do konca roka 2009 boli v priebehu deviatich mesiacov skladovania uskutočnené 3 odbery, čo predstavuje 24 kusov kurčiat. Odobrané zmrazené kurčatá boli pred vlastnou analýzou rozmrazené pri chladničkových teplotách.

Pre analýzu boli použité overené metódy pre stanovenie DBP (di-butyl ftalát) a DEHP (di-2-ethylhexyl ftalát) v potravinách (JAROŠOVÁ ai., 1999). DBP a DEHP boli stanovené u každého kurčťa individuálne. Odobraná svalovina (zmesná vzorka prsnej a stehennej svaloviny), koža a vnútorný tuk boli zhomogenizované, zlyofilizované a následne boli PAE tri krát extrahované zmesou rozpúšťadiel acetón:hexán (1:1). Spojené zfiltrované extrakty sa zahustili na rotačnej vákuovej odparke. PAE boli od koextraktov separované gélovou permeačnou chromatografiou (GPC) s kolónou Bio Beads S-X3, eluáty sa po GPC dočistili koncentrovanou kyselinou sírovou (65 %). Po vyušení dusíkom boli vzorky doplnené acetonitrilom na objem 1 ml. PAE boli stanovené metódou HPLC s UV detekciou pri vlnovej dĺžke 224 nm. Použitá bola kolóna Cogent e-Column C18 s veľkosťou častíc $5\text{ }\mu\text{m}$ a rozmermi $4,6\text{ mm} \times 150\text{ mm}$. Mobilnou fázou bola zmes acetonitril:voda (99:1). Výsledné koncentrácie boli vypočítané na základe kalibračnej krivky v softwari Agilent Chemstation for LC and LC/MS systems.

Výsledky boli štatisticky spracované v program STATISTIKA 9. Použitý bol t-test a regresná analýza.

VÝSLEDKY A DISKUZE

U všetkých analyzovaných vzoriek kuracích tkanív boli detekované oba sledované ftaláty, DBP i DEHP. Koncentrácie ftalátov v $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ pôvodnej hmotnosti vo vzorkách svaloviny, kože a vnútorného tuku sú uvedené v Tab. 1 a na Obr. 1.

Tab.1 Priemerné koncentrácie ftalátov (DBP, DEHP, DBP + DEHP) v $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ pôvodnej hmotnosti v kuracích tkanivách (svalovine, koži a vnútornom tuku) v priebehu 9 mesiacov mraziarenského skladovania

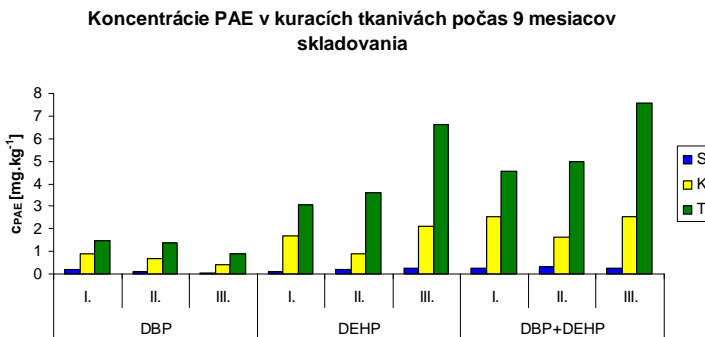
odber	svalovina			koža			tuk		
	DBP	DEHP	Σ DBP +DEHP	DBP	DEHP	Σ DBP +DEHP	DBP	DEHP	Σ DBP +DEHP
I. 3/2009	0,20	0,08	0,28	0,89	1,67	2,56	1,48	3,09	4,56
II. 6/2009	0,11	0,19	0,30	0,71	0,92	1,63	1,39	3,59	4,98
III. 9/2009	0,04	0,24	0,28	0,45	2,11	2,59	0,92	6,64	7,56

(Medza stanovitelnosti DBP a DEHP u tukových matric – $0,2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, pre živočíšny materiál s nízkym obsahom tuku – $0,03\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.)

Najnižšia priemerná koncentrácia DBP bola nameraná vo vzorke svaloviny po 9. mesiacoch skladovania ($0,04 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. vz.) a najvyššia vo vzorke vnútorného tuku po 3. mesiacoch skladovania ($1,48 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. vz.). Najnižšia priemerná koncentrácia DEHP bola nameraná vo vzorke svaloviny po 3. mesiacoch skladovania ($0,08 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. vz.) a najvyššia vo vzorke vnútorného tuku po 9. mesiacoch skladovania ($6,64 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. vz.). Podľa predpokladu bol pozorovaný štatisticky preukázaný rozdiel vo výskyte DBP i DEHP v tkanivách s rozdielnym obsahom tuku ($p < 0,05$).

Po celú dobu experimentu bol pozorovaný rozdiel ($p < 0,05$) medzi koncentráciou DBP a DEHP v rámci jedného tkaniva. U svaloviny bolo zistené rozmedzie pre DBP $0,03\text{--}0,24 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. vz. a pre DEHP $0,05\text{--}0,32 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. vz., u kože pre DBP $0,19\text{--}1,25 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. vz. a DEHP $0,63\text{--}2,94 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. vz., u vnútorného tuku pre DBP $0,64\text{--}2,33 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. vz. a pre DEHP $2,07\text{--}8,73 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. vz.

Zmeny, ku ktorým dochádzalo v priebehu skladovania znázorňuje Obr. 1. U DBP vo všetkých sledovaných tkanivách bola preukázaná klesajúca tendencia nameraných hodnôt v priebehu doby skladovania ($p < 0,05$). U DEHP bola preukázaná stúpajúca tendencia u svaloviny a vnútorného tuku ($p < 0,05$). V svalovine stúpol obsah DEHP z hodnoty $0,08$ na hodnotu $0,24 \text{ mg.kg}^{-1}$, teda 3 krát. Vo vnútornom tuku z hodnoty $3,09$ na hodnotu $6,64 \text{ mg.kg}^{-1}$, teda 2,2 krát. Stúpajúca tendencia ($p < 0,05$) bola tiež preukázaná u celkového obsahu ftalátov (DBP + DEHP) vo vzorkách vnútorného tuku.



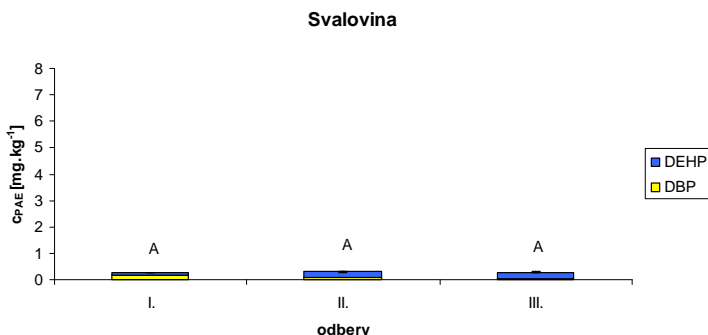
Obr.1 Koncentrácie ftalátov (DBP, DEHP a DBP + DEHP) v mg.kg^{-1} pôvodnej hmotnosti kuracích tkanivách (svalovina = S, koža = K, vnútorný tuk = T) v priebehu 9 mesiacov mraziarenskeho skladovania (I. ober po 3. mesiacoch, II. odber po 6. mesiacoch, III. odber po 9. mesiacoch)

Koncentrácia ftalátov v svalovine v priebehu 9 mesiacov mraziarenského skladovania

Vo vzorkách svaloviny sa hodnoty DBP sa pohybovali v rozmedzí 0,03–0,24 mg.kg⁻¹ pôvodnej vzorky. Zmeny koncentrácie DBP v priebehu skladovacieho obdobia majú klesajúcu tendenciu (I. odber = 0,20, II. odber = 0,11, III. odber 0,04 mg.kg⁻¹ pôv. vz., p<0,05).

Hodnoty DEHP sa pohybovali v rozmedzí 0,05–0,32 mg.kg⁻¹ pôvodnej vzorky. Zmeny koncentrácie DEHP v priebehu skladovania majú stúpajúcu tendenciu (I. odber = 0,08, II. odber = 0,19, III. odber 0,24 mg.kg⁻¹ pôv. vz., p<0,05).

Hodnoty oboch ftalátov (DBP + DEHP) sa pohybovali v rozmedzí 0,24–0,40 mg.kg⁻¹ pôvodnej vzorky. Koncentrácie sumy ftalátov v priebehu skladovacieho obdobia sú rozdielne, ale tendencia nebola preukázaná (I. odber = 0,28, II. odber = 0,30, III. odber = 0,28 mg.kg⁻¹ pôv. vz., p>0,05). Zmeny, ku ktorým dochádzalo v priebehu skladovania znázorňuje Obr. 2.



Obr.2 Koncentrácie DBP a DEHP v mg.kg⁻¹ pôvodnej hmotnosti v svalovine v priebehu 9 mesiacov mraziarenského skladovania (I. odber po 3. mesiacoch, II. odber po 6. mesiacoch, III. odber po 9. mesiacoch); A, B, C = priemery označené rôznymi písmenami sa významne líšia (p<0,05)

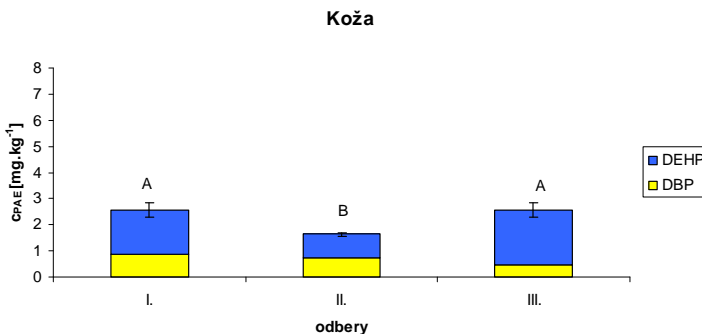
Koncentrácia ftalátov v koži v priebehu 9 mesiacov mraziarenského skladovania

Vo vzorkách kože sa hodnoty DBP sa pohybovali v rozmedzí 0,19–1,25 mg.kg⁻¹ pôvodnej vzorky. Zmeny koncentrácie DBP v priebehu skladovacieho obdobia majú klesajúcu tendenciu (I. odber = 0,89, II. odber = 0,71, III. odber 0,45 mg.kg⁻¹ pôv. vz., p<0,05).

Hodnoty DEHP sa pohybovali v rozmedzí 0,63–2,94 mg.kg⁻¹ pôvodnej vzorky. Koncentrácie DEHP v priebehu skladovania sú rozdielne, ale tendencia nebola preukázaná (I. odber = 1,67, II. odber = 0,92, III. odber 2,11 mg.kg⁻¹ pôv. vz., p>0,05).

Hodnoty oboch ftalátov (DBP + DEHP) sa pohybovali v rozmedzí 1,32–3,75 mg.kg⁻¹ pôvodnej vzorky. Koncentrácie sumy ftalátov v priebehu skladovacieho obdobia sú rozdielne, ale tendencia

nebola preukázaná (I. odber = 2,56, II. odber = 1,63, III. odber = 2,56 mg.kg⁻¹ pôv. vz., p>0,05). Zmeny, ku ktorým dochádzalo v priebehu skladovania znázorňuje Obr. 3.



Obr.3 Koncentrácia sumy ftalátov (DBP + DEHP) v koži v mg.kg⁻¹ pôvodnej hmotnosti v priebehu 9 mesiacov mraziarenského skladovania (I. odber po 3. mesiacoch, II. odber po 6. mesiacoch, III. odber po 9. mesiacoch) a zastúpenie jednotlivých ftalátov (DBP a DEHP); A, B = priemery označené rôznymi písmenami sa významne líšia (p<0,05)

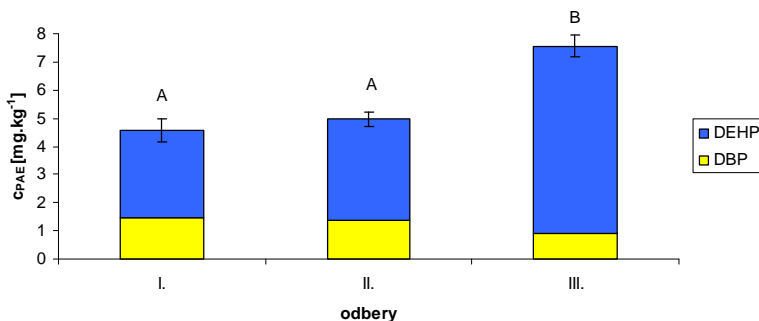
Koncentrácia ftalátov vo vnútornom tuku v priebehu 9 mesiacov mraziarenského skladovania

Vo vzorkách vnútorného tuku sa hodnoty DBP sa pohybovali v rozmedzí 0,64–2,33 mg.kg⁻¹ pôvodnej vzorky. Zmeny koncentrácie DBP v priebehu skladovacieho obdobia majú klesajúcu tendenciu, (I. odber = 1,48, II. odber = 1,39, III. odber 0,92 mg.kg⁻¹ pôv. vz., p<0,05).

Hodnoty DEHP sa pohybovali v rozmedzí 2,07–8,73 mg.kg⁻¹ pôvodnej vzorky. Zmeny koncentrácie DEHP v priebehu skladovania majú stúpajúcu tendenciu (I. odber = 3,09, II. odber = 3,59, III. odber 6,64 mg.kg⁻¹ pôv. vz., p<0,05).

Hodnoty oboch ftalátov (DBP + DEHP) sa pohybovali v rozmedzí 2,89–9,87 mg.kg⁻¹ pôvodnej vzorky. Zmeny koncentrácie sumy ftalátov v priebehu skladovacieho obdobia majú stúpajúcu tendenciu (I. odber = 4,56, II. odber = 4,98, III. odber = 7,55 mg.kg⁻¹ pôv. vz., p<0,05). Zmeny, ku ktorým dochádzalo v priebehu skladovania znázorňuje Obr. 4.

Vnútorňý tuk



Obr.4 Koncentrácia sumy ftalátov (DBP + DEHP) vo vnútorňom tuku v mg.kg^{-1} pôvodnej hmotnosti v priebehu 9 mesiacov mraziarenského skladovania (I. ober po 3. mesiacoch, II. odber po 6. mesiacoch, III. odber po 9. mesiacoch) a zastúpenie jednotlivých ftalátov (DBP a DEHP); A, B = priemery označené rôznymi písmenami sa významne líšia ($p < 0,05$)

JAROŠOVÁ ai. (1999), sledovali distribúciu a akumuláciu DEHP a DBP v tkanivách brojlerov po perorálnom podaní ftalátov. Obsah DBP v svalovine, koži a vnútorňom tuku bol 0,19, 0,9, a 3,13 mg.kg^{-1} pôvodnej vzorky. JAROŠOVÁ ai. (2009) sledovali distribúciu a akumuláciu PAE v živočíšnych tkanivách brojlerových kurčiat ROSS 308. Obsah DBP v svalovine bol v rozmedzí 0,03–0,55 mg.kg^{-1} , v koži <0,20–1,49 mg.kg^{-1} , v tukovom tkanive <0,20–2,56 mg.kg^{-1} pôvodnej vzorky. Nami zistené hodnoty DBP v svalovine sú v rozmedzí 0,03–0,24 mg.kg^{-1} , v koži 0,19–1,25 mg.kg^{-1} a vo vnútorňom tuku 0,64–2,33 mg.kg^{-1} pôvodnej vzorky. Obdobné výsledky pre DBP v svalovine hydiny 0,08–0,24 mg.kg^{-1} a v hydinovom tuku 0,20–0,68 mg.kg^{-1} boli namerané pri vyšetrovaní tkanív zvierat z fariem Južnej Moravy (RASZYK ai., 1998; JAROŠOVÁ ai., 1998).

Po perorálnom podaní ftalátov kurčatám bol zistený obsah DEHP v svalovine 1,93 mg.kg^{-1} , v koži 8,28 mg.kg^{-1} a vo vnútorňom tuku 18,20 mg.kg^{-1} pôvodnej vzorky (JAROŠOVÁ ai., 1999). U brojlerových kurčiat ROSS 308 bol obsah DEHP v svalovine v rozmedzí 0,03–1,15 mg.kg^{-1} , v koži <0,20–4,68 mg.kg^{-1} , v tukovom tkanive 0,25–9,85 mg.kg^{-1} pôvodnej vzorky (JAROŠOVÁ ai., 2009). Nami zistené hodnoty DEHP v svalovine sú v rozmedzí 0,05–0,32 mg.kg^{-1} , v koži 0,63–2,94 mg.kg^{-1} a vo vnútorňom tuku 2,07–8,73 mg.kg^{-1} pôvodnej vzorky. V tuku hydiny z fariem Južnej Moravy boli však zistené nižšie hodnoty DEHP (0,20–1,71 mg.kg^{-1}), hodnoty DEHP v svalovine (0,02–0,30 mg.kg^{-1}) boli porovnateľné s našimi.

Pozorovaný bol rozdiel ($p < 0,05$) medzi koncentráciou DBP a DEHP v rámci jedného tkaniva, napríklad vo vzorkách vnútorňého tuku bola koncentrácia DBP 0,64–2,33 mg.kg^{-1} a DEHP 2,07–8,73 mg.kg^{-1} pôvodnej vzorky. Rozdiely vo výskyte DEHP a DBP v tele kurčiat môžu byť

spôsobené individuálnymi rozdielmi v metabolizme, pomerom medzi akumuláciou a odstránením z tela, ako aj rozdielmi vo fyzikálnych a chemických vlastnostiach medzi ftalátmi. DBP má menšie molekuly s kratším, nerozvetveným reťazcom, ktorý umožňuje čiastočnú rozpustnosť vo vode. DEHP je nerozpustný vo vode.

Výsledky naznačujú, že hlavne DEHP sa akumuluje v tuku, teda bol potvrdený lipofilný charakter ftalátov a kumulácia ftalátov v živočíšnych tkanivách. Ftaláty nájdené vo vzorkách môžu pochádzať z kontaminovaného krmiva, vody, z kontaminovaného prostredia vo výkrme, alebo ku kontaminácii mohlo dôjsť počas porážky kurčiat, z výrobného zariadenia, alebo oplachovej vody.

U balených a mraziarensky skladovaných kurčiat bolo sledované potenciálne riziko migrácie ftalátov z PVC obalu. Túto migráciu potvrdili autori PAGE a LACROIX (1992) na vzorkách masla a margarínu, DOBIÁŠ ai. (1996) na modelových roztokoch a obaloch na bázi PET, HARAZIM ai. (2008) pri skladovaní repkového oleja v plastovej nádrži. JEN a LIU (2006) poukázali na vysoký obsah ftalátov v horúcich polievkach v jednorazových plastových miskách. Aj keď dochádzalo k štatisticky preukázanému zvyšovaniu DEHP vo vzorkách svaloviny a vnútorného tuku, rovnako k zvyšovaniu koncentrácie sumy ftalátov (DBP + DEHP) počas doby skladovania ($p < 0,05$) migrácia v našom pokuse potvrdená nebola. Potvrdenie, alebo vyvrátenie tohto predpokladu si vyžaduje pokračovať v experimente do ukončenia doby trvanlivosti kurčiat (18 mesiacov).

ZÁVER

Sledovaný bol výskyt esterov kyseliny ftalovej (DBP a DEHP) v kuracích tkanivách balených mrazených kurčiat (24 kusov) v priebehu mraziarenskeho skladovania (9 mesiacov). Analyzované boli vzorky svaloviny, kože a vnútorného tuku, pretože sú vhodnými indikátormi kontaminácie DEHP a DBP.

Oba sledované ftaláty boli stanovené vo všetkých analyzovaných tkanivách. Najnižšia koncentrácia DBP bola nameraná v svalovine v rozmedzí 0,03–0,24 mg.kg⁻¹, najvyššia bola vo vnútornom tuku 0,64–2,33 mg.kg⁻¹ pôvodnej vzorky. Vo vnútornom tuku bola nájdená i najvyššia hodnota DEHP 2,07–8,73 mg.kg⁻¹. Svalovina obsahovala najmenej DEHP 0,05–0,32 mg.kg⁻¹ pôvodnej vzorky, rovnako ako aj najmenej DBP. V koži bolo nájdených 0,19–1,25 mg.kg⁻¹ DBP a 0,63–2,94 mg.kg⁻¹ DEHP pôvodnej vzorky. V tkanivách s rozdielnym obsahom tuku bol štatisticky preukázaný rozdiel ($p < 0,05$) vo výskyte DBP i DEHP. Po celú dobu experimentu bol pozorovaný významný rozdiel ($p < 0,05$) medzi koncentráciou DBP a DEHP v rámci jedného tkaniva.

Vo všetkých sledovaných tkanivách bola preukázaná klesajúca tendencia ($p < 0,05$) nameraných hodnôt DBP medzi I. a III. meraním (teda medzi 3. a 9. mesiacom skladovania). U DEHP bola preukázaná stúpajúca tendencia ($p < 0,05$) vo vzorkách svaloviny a vnútorného tuku. V svalovine stúpol obsah DEHP z hodnoty 0,08 na hodnotu 0,24 mg.kg⁻¹, teda 3 krát. Vo vnútornom tuku z hodnoty 3,09 na hodnotu 6,64 mg.kg⁻¹, teda 2,2 krát. Stúpajúca tendencia ($p < 0,05$) bola tiež preukázaná u celkového obsahu ftalátov (DBP + DEHP) vo vzorkách vnútorného tuku.

Potvrdený bol lipofilný charakter DBP a DEHP, kumulácia v živočíšnych tkanivách, migrácia ftalátov z obalu do mrazeného kurčaťa však potvrdená nebola.

V súčasnej dobe nie je dostatok informácií o kontaminácii potravín ftalátmi ani o ich obsahu v potravinárskych obaloch. Vzhľadom na ich negatívny vplyv na zdravie ľudí je žiaduce prijať všetky potrebné legislatívne opatrenia na zníženie prenikania ftalátov do prostredia a potravín, a tým znížiť expozíciu ľudí ftalátmi.

LITERATÚRA

Api, A.M. (2001): Toxicological profile of diethyl phthalate: a vehicle for fragrance and cosmetic ingredients. *Food Chem. Toxicol.* 39, 97-108.

Calafat A. M., Needham L. L. (2008): Factors affecting the evaluation of biomonitoring data for human exposure assessment. *International Journal of Andrology*, 31 (2), 139–143.

Dobiáš J., Voldřich M., Prokš M. (1996): Migrace oligomerů polyetylenftalátu z obalů do modelových roztoků potravin. *Potravinářské vědy*, 14 (1), 25–32. ISSN 0862-8653.

Gómez-Hens A., Aguilar-Caballos M. P. (2003): Social and economic interest in the control of phthalic acid esters. *Trends in Analytical Chemistry*, 22 (11), 847–857.

Grob, K. (2008): Analytical chemistry does not support the food safety consumers expect. In *Abstract book of the 32nd ISSC and 5th GCxGC symposium, Italy: Riva del Garda*, 44-45.

Harázím J., Jarošová A., Krátká L., Stancová V., Suchý P. (2008): Contamination of feedstuffs with phthalic acid esters. *Toxicology Letters*, 180 (1), 67.

Heudorf U., Mersch-Sundermann V., Angerer J. (2007): Phthalates: Toxicology and exposure. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 210 (5), 623–634.

Jarošová A., Gajdůšková V., Raszyk J., Ševela K. (1998): Determination of phthalic acid esters (PAEs) in biological materials by HPLC. *Czech Journal Food Sciences*, 16, 122–130.

Jarošová A., Gajdůšková V., Raszyk J., Ševela K. (1999): Di-2-ethylhexyl phthalate and di-n-butyl phthalate in the tissues of pigs and broiler chicks after their oral administration. *Veterinární Medicína*, 44 (3), 61–70.

Jarošová A. (2000): Ftaláty v potravním řetězci a jejich toxicita. *Výživa a potraviny*, 55 (2), 34–35. ISSN 1211-846X.

Jarošová A., Harázím J., Suchý P., Krátká L., Stancová V. (2009): The distribution and accumulation of phthalates in the organs and tissues of chicks after the administration of feedstuffs with different phthalate concentrations. *Veterinární Medicína*, 54 (9), 427–434.

Jarošová, A. (2010): Výskyt ftalátu v potravním řetězci. *Sborník XXXVI. Semináře o jakosti potravin a potravinových surovin – „Ingrový dny“*, Brno, 11–19. ISBN 978-80-7375-384-9.

Gen J. F., Liu T. CH. (2006): Determination of phthalate esters from food-contacted materials by on-line microdialysis and liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1130 (1), 28–33.

Latini G. (2005): Monitoring phthalate exposure in humans. *Clinica Chimica Acta*, 361 (1–2), 20–29. ISSN 0009-8981.

Lottrup G., Andersson A. M., Leffers H., Mortensen G. K., Toppari J., Skakkebaek N. E., Main K. M. (2006): Possible impact of phthalates on infant reproductive health. *International Journal of Andrology*, 29 (1), 172–180.

Matsumoto M., Hirata-Koizumi M., Ema M. (2008): Potential adverse effects of phthalic acid esters on human health: A review of recent studies on reproduction. *Regulatory Toxicology Pharmacology* 50 (1), 37–49.

Page B. D., Lacroix G. (1992): Studies into the transfer and migration of phthalate esters from aluminium foil-paper laminates to butter and margarine. *Food Additives Contaminants*, 9 (3), 197–212.

Raszyk J., Gajdůšková V., Jarošová A., Salava J., Palác J. (1998): Occurrence of phthalic acid esters (PAEs) in combined feedstuffs and adipose tissues of swine and cattle. *Veterinární Medicína*, 43, 93–5.

THE BIOGENIC AMINES CONTENT OF CHEESE RIPENING UNDER THE SMEAR DURING PRODUCTION

Rejchrtová E., Zemánek L., Sládková P., Komprda T.

Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xpetirov@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The biogenic amines (BA) are low-molecular basic nitrogen substances produced in food by bacteria possessing decarboxylase activity. Some BAs have important physiological functions in a human organism (nitrogen source, hormone precursors etc.). However, they can induce toxic effects when ingested in greater quantities in food. Samples of cheese ripening under the smear produced during a spring period were used. The samples were obtained during the production process, including samples from the raw materials. Biogenic amines (tyramine, histamine, phenylethylamine, cadaverine, putrescine, spermidine, spermine) were detected by the HPLC method (High Pressure Liquid Chromatography). The content of histamine and tyramine respectively did not exceed 100 mg.kg⁻¹. Content of the sum of BA raw material was 9.7 mg.kg⁻¹. Content of the sum of BA was significantly ($P < 0.05$) influenced by the product shape, an effect of the cheese position in the ripening room on the sum of BA was not established, there was only tendency ($P > 0.05$) to higher values regarding cheeses ripening in a great distance from the ripening room door.

Key words: biogenic amine, HPLC, cheese

ÚVOD

Biogenní aminy (BA) jsou nízkomolekulární bazické dusíkaté látky vznikající v potravinách a potravinových surovinách nejčastěji dekarboxylací aminokyselin působením dekarboxylačních enzymů. Některé z biogenních aminů mají v organismu člověka či živočichů i významné fyziologické funkce např. slouží jako zdroj dusíku nebo jako prekurzory některých hormonů. Jakmile jsou však aminy přijímány potravou v nadměrném množství, mohou vyvolat řadu nepříznivých reakcí (KALÁČ et. KRŮŽEK, 2002). Toxické dávky BA je obtížné stanovit. Velice závisí na individuálních rozdílech mezi lidmi a na přítomnosti různých BA v potravě. Mezi toxikologicky nejvýznamnější biogenní aminy patří tyramin a histamin (Bover-Cid et al., 2000). U nefermentovaných potravin mohou být biogenní aminy indikátorem nežádoucí mikrobiální činnosti.

Vedle ryb jsou sýry nejčastěji uváděnou potravinou spojovanou s intoxikací BA. Sýry představují ideální prostředí pro tvorbu BA (Halász et.al,1994) a mohou obsahovat i významná množství biogenních aminů. Tvorba BA v sýrech je závislá na koncentraci volných aminokyselin nebo peptidů, na přítomnosti bakterií schopných dekarboxylovat aminokyseliny, pH, koncentraci solí a vodní aktivitě.

MATERIÁL A METODIKA

V experimentu byly použity vzorky sýrů zrajících pod mazem odebírané během jarního období. Vzorky byly odebírány během výrobního procesu, a to včetně vzorků vstupní suroviny. Vzorky byly odebírány ve fázi vstupní suroviny (průmyslový tvaroh), upravené vstupní suroviny (nasolený průmyslový tvaroh), po formování. Zvolený druh sýrů je tzv. sýr zrající, proto byl další odběr prováděn během zrání, při fázi osušení a odvětrání. Poslední odběr byl proveden před balením výrobku, tedy po ukončení zrání ve zracích místnostech. V experimentu byl sledován vliv dvou různých tvarů výrobku (kolečka, tyčinky) stejného typu sýru a vliv různého umístění zracích stojanů ve zracích místnostech.

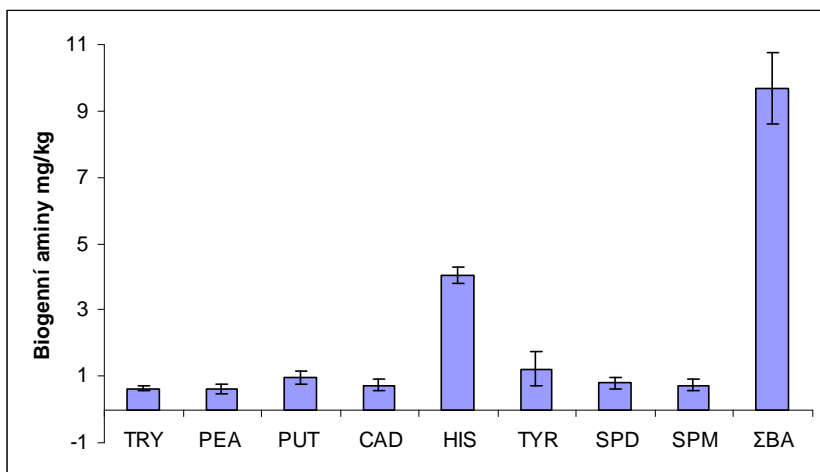
Po homogenizaci bylo od každého vzorku naváženo 10g (± 1 mg) do 85 ml zkumavky, do níž bylo dále přidáno 0,5 ml vnitřního standardu (1,7-diaminoheptanu o koncentraci 1mg/ml) a vzorky byly extrahovány 2 minuty s 30 ml 0,1 M HCl. Vzniklá suspenze byla centrifugována po dobu 10 minut při 4° C a při 3000 otáčkách /min (HETTICH Universal 32R, Hettich, Německo). Supernatant byl filtrován přes papírový filtr a pevný podíl byl opět extrahován. Spojené supernatanty byly doplněny na 50 ml 0,1 M HCl. Z extraktu byl odebrán 1 ml do vialky (8 ml) k němu bylo přidáno 0,5 ml nasyceného Na₂CO₃ a 1 ml derivatizačního činidla dansylchloridu (5-dimethylaminoheptan-sulfonil chlorid, DCL), směs byla promíchána 1 minutu (MS2 Minishaker IKA, IKA Werme GmbH, Staufen, Německo). Derivatizace probíhala 1 hodinu při 40 °C. Po té došlo k přidání 0,250 ml roztoku NH₃ a k promíchání vzniklé suspenze. NH₃ zreagoval se zbytkem dansylchloridu, hydrofobní deriváty aminů byly pak následně extrahovány 3 krát 1 ml diethyletheru. Organická fáze byla odpařena dosucha dusíkem a vzniklý odparek byl rozpuštěn v 1 ml acetonitrilu (ACN).

Roztok byl zfiltrován přes nylonový membranový filtr 0,45 μm a nastříknut na chromatografickou kolonu. BA byly separovány pomocí kapalinového chromatografu HP 1100 (Agilent Technologies, Wilmington, USA) složeného z kvartérní pupy (G1311A), vakuového degaseru (G1322A), autosampleru (G1313A) a UV/VIS detektoru s proměnou vlnovou délkou (G1314A). Separace po derivatizaci DCL byla provedena pomocí gradientové eluce $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}$ na koloně Zorbax Elipse XDB C18 s předkolonou Meta Gard ODS-2 při průtoku $0,8 \text{ ml min}^{-1}$ s použitím fotometrického UV/VIS detektoru při 245 nm. Byly stanoveny biogenní aminy: tyramin, histamin, phenylethylamin, kadaverin a polyaminy: putrescin, spermin a spermidin. Výsledky byly zpracovány a vyhodnoceny metodou jednoduchého třídění analýzy rozptylu (v programu Statistika verze 9 StatSoft.).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Obsah BA ve vstupní surovině je uveden na Obr.1. Množství jednotlivých stanovovaných BA se pohybovala okolo 1 mg.kg^{-1} , výjimku tvořil histamin jehož hodnota překročila 4 mg.kg^{-1} . Celková suma BA ve vstupní surovině byla $9,7 \text{ mg.kg}^{-1}$.

Obr.1 Obsah biogenních aminů ve vstupní surovině

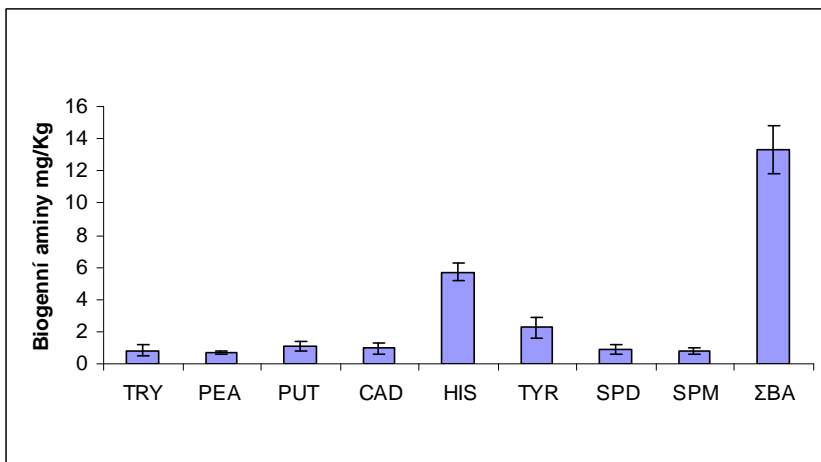


TRY - tryptamin, PEA - fenyletylamin, PUT - putrescin, CAD - kadaverin, HIS - histamin, TYR - tyramin, SPD - spermidin, SPM - spermin, ΣBA – Suma biogenních aminů

Obsah BA ve vzorcích po nasolení tvarohu je znázorněn na Obr.2. U jednotlivých biogenních aminů docházelo k mírnému navýšení

(o $0,08 - 0,2 \text{ mg.kg}^{-1}$), výrazněji vzrostl pouze obsah tyraminu a histaminu. Jako příčinu vyšší četnosti otrav biogenními aminy uvádí KALACĚ et KŘÍŽEK (2005) vysoké obsahy tyraminu a nebo histaminu. Vyšší obsahy těchto aminů jsou v sýrech zrajících pod mazem a v sýrech poloměkkých a plísňových.

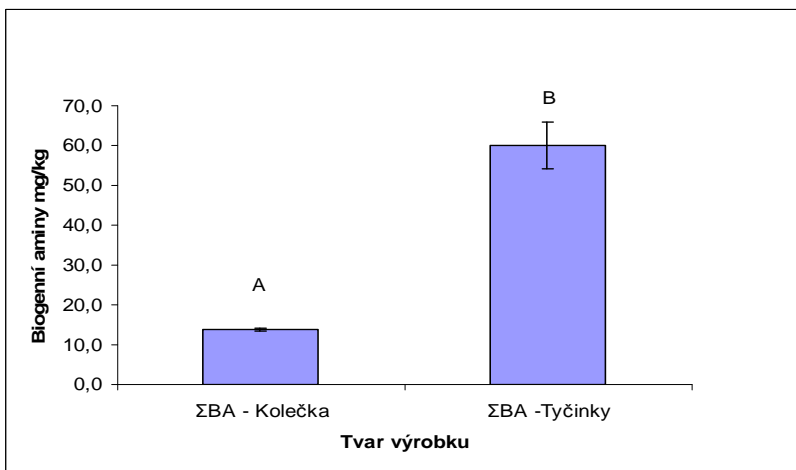
Obr.2 Obsah biogenních aminů v surovině po nasolení



TRY - tryptamin, PEA - fenyletylamin, PUT - putrescin, CAD - kadaverin, HIS - histamin, TYR - tyramin, SPD - spermidin, SPM - spermin, ΣBA – Suma biogenních aminů

Porovnáním dvou různých tvarů výrobků (Obr.3) jsme prokázali ($P < 0,05$) vyšší obsah sumy BA u tyčinek.

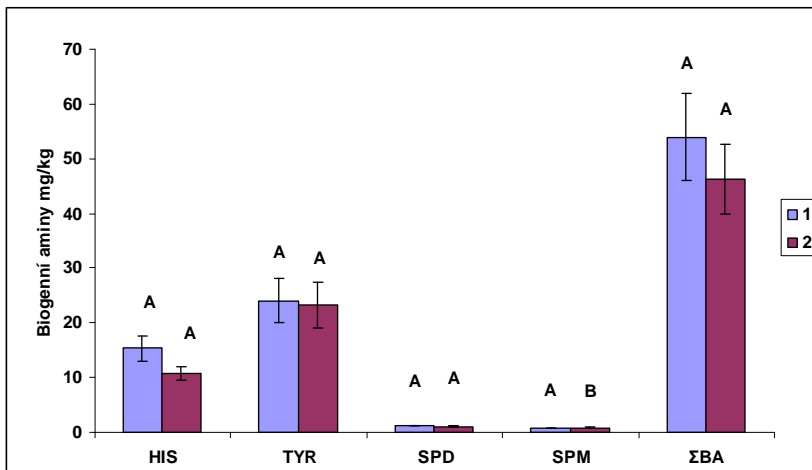
Obr.3 Vliv tvaru výrobků na obsah biogenních aminů



Průměry označené různými písmeny (A,B) se pro dané aminy průkazně liší ($P < 0,05$)

Sýry zrající pod mazem jsou po formování umístěny do zratic místností. Součástí našeho experimentu bylo také zjištění vlivu umístění výrobku ve zratic místnostech na obsah BA. Stojan 1 byl umístěn co nejdále od dveří a stojan 2 naopak co nejbliže. Z Obr.4 plyne, že vzorky zrající dále ode dveří (1) jevívaly tendenci ($P > 0,05$) k vyšším obsahům BA ve srovnání se vzorky zrajícími blíže dveří (2). V případě sperminu byl tento rozdíl průkazný ($P < 0,05$).

Obr.4 Vliv umístění výrobků ve zratic místnostech na obsah biogenních aminů



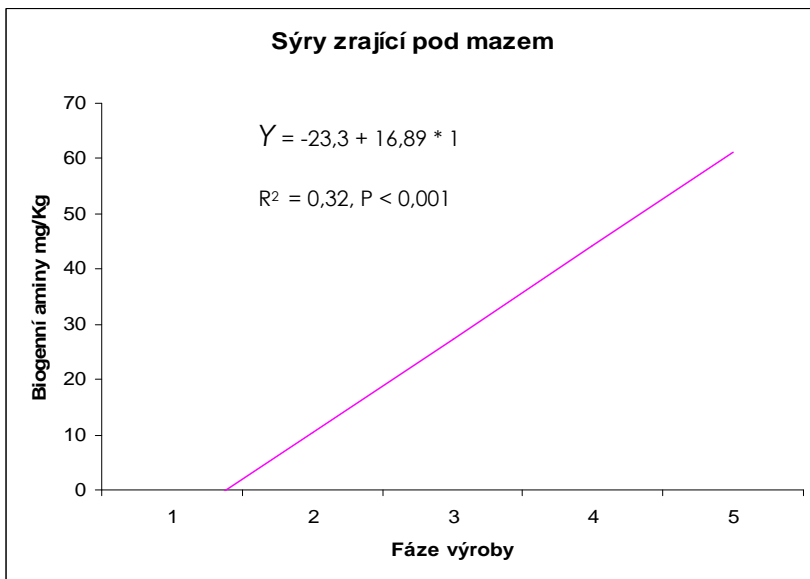
HIS - histamin, TYR - tyramin, SPD - spermidin, SPM - spermin, ΣBA – Suma biogenních aminů

Průměry označené různými písmeny (A,B) se pro daný amin průkazně liší ($P < 0,05$)

1 - stojan stojící ve zratic místnostech co nejdále od dveřím, 2- stojan stojící ve zratic místnostech co nejbliže u dveřím,

K nejdůležitějším faktorům ovlivňujícím množství BA ve fermentovaných výrobcích patří doba skladování patří doba skladování: s rostoucí dobou skladování se obsah BA v potravě zvyšuje (KOMPRDA,2005). V souladu s tímto zjištěním docházelo i v našem experimentu v průběhu výrobního procesu u sýrů zrajících pod mazem ke zvyšování obsahu BA (Obr.5). Ani ve fázi výroby 5 však ani obsah histaminu ani obsah tyraminu nepřekročili toxikologický limity (100 mg/kg).

Obr.5 Obsah biogenních aminů v průběhu výroby



1 - vstupní surovina, 2 – vstupní surovina po nasolení, 3 – formování, 4 – po sušení a odvětrání, 5 – po zrání (před balením výrobku)

ZÁVĚR

Sýry jsou dobrým substrátem pro tvorbu biogenních aminů, ale minimální výskyt otrav z nich ukazuje, že při zachování správných technologických postupů se možnosti tvorby BA minimalizují (Gorner et. Valík, 2004). V našem experimentu bylo potvrzeno, že obsah biogenních aminů během výrobního procesu narůstal avšak toxikologicky významné BA (histamin, tyramin) nepřekročily hodnoty

100 mg.kg⁻¹. Suma obsahu BA ve vstupní surovině byla 9,7 mg.kg⁻¹. Z toho hodnota histaminu dosáhla 4 mg.kg⁻¹, zatímco ostatní sledované BA se pohybovaly okolo hodnoty 1mg.kg⁻¹. Bylo statisticky prokázáno (P< 0,05), že obsah BA byl ovlivněn tvarem výrobku, což se výrazně projevilo na konci zrání (před balením výrobků), kdy se hodnoty BA u tyčinek a koleček lišily u některých BA až o desítky mg.kg⁻¹. Vliv umístění sýrů ve zracích místnostech na obsah BA se neprokázal, i když hodnoty ze stojanů **1** jeví tendenci k vyšším hodnotám (P>0,05).

LITERATURA

Bover-cid, S., Huga, M., Izquierdo-Pulido, M., Vidal-Carou, M.C. (2000): Amino-acid decarboxylase aktivita of bacteria izolátér from fermented pork sausages. InternationalJ. Food Mikrobiology, vol. 6, p. 185-189

Gorner, F., Valík, L.: Aplikovaná mikrobiologie poživatin, Malé centrum Bratislava 2004, 528 stran

Halász, A., Baráth, A., Simon-Sarkadi, L., Holzapfel, W. (1994). Biogenic amines and their production by microorganisms. Trends Food Sci Technik ;5:42-49

Kalač, P., Křížek, M.(2002): Biogenní aminy a polyamidy v potravinách, Výživa a potraviny 12 - 13:53-56

Kalač, P., Křížek, M.(2005): Biogenní aminy a polyamidy v potravinách a jejich vliv na lidské zdraví, Výživa a potraviny 40 – 42:53-56

Komprda, T.: Obecná hygiena potravin, MZLU v Brně, 146 stran

Roig-Sagués, A. X., Molina, A. P., Hernández-Herrero, M. (2002): Histamine and tyramine forming microorganisms in Spanish traditional cheese .Eur Food Res Technol;25:95-100.

WESTERN BLOT ANALYSIS OF CELIAC ACTIVE PROTEINS

Socha P., Mickowska B., Urminská D.

Department of Biochemistry and Biotechnology, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, 949 76, Nitra, Slovakia

E-mail: ing.peter.socha@gmail.com

ABSTRACT

Celiac disease is an inflammatory disorder of the small intestine in genetically susceptible individuals caused by ingestion of wheat gluten and corresponding prolamins from rye and barley. The aim of our study was examined immunoreactivity of some varieties of cereals and pseudocereals with polyclonal antibody raised against wheat gluten by Western blot analysis. We also compared SDS-PAGE gels with blotted proteins on membranes after immunoblotting. Immunological reaction was positive for all varieties of wheat, spelt wheat, barley, triticale, oat and foxtail millet. Almost no reaction with used antibody was obtained for buckwheat, quinoa and rice. There were no significant differences in immunogenicity between varieties. Western blot analysis after SDS-PAGE is suitable method for assess of prolamins in cereal and pseudocereal grains. Our results confirm that wheat, spelt wheat, barley and triticale are not suitable for celiac patients and must be replaced products from pseudocereals (buckwheat, quinoa, foxtail millet) and rice.

Key words: prolamins, Western blot, cereals, celiac disease

Acknowledgments: This work was realized under the direction of supervisor Dr. Barbara Mickowska on University of Agriculture in Krakow, Faculty of Food Technology, Malopolska Centre of Food Monitoring and Certification.

ÚVOD

Celiakálne ochorenie, známe tiež aj ako celiakálna sprue alebo gluténsenzitívna enteropatia, je jednou z najčastejších sa vyskytujúcich potravinových intolerancií vo svete. Je definované ako zápalové ochorenie horných častí tenkého čreva (duodenum, jejunum) u geneticky predisponovaných jedincov spôsobené príjmom pšeničných, ražných, jačmenných a ovsených produktov (Wieser, Koehler, 2008). Je všeobecne známe, že prolamíny sú hlavným spúšťajúcim faktorom celiakie. Pšeničný lepok obsahuje dve hlavné bielkovinové frakcie, gliadíny a gluteníny, ktoré sú aktivátormi ochorenia (Hill, McMillan, 2006). Jedinou efektívnou liečbou celiakálneho ochorenia je celoživotná bezlepková diéta. Pacienti musia z potravy vylúčiť všetky výrobky z cereálií, ktoré obsahujú múku z pšenice (vrátane pšenice kamut, tvrdej a špaldovej), raže, jačmeňa, triticales a ovsu (Pruska-Kędzior et. al., 2008). Podľa Codex Alimentarius Commission, ktorý bol v roku 2008 zrevidovaný, sú bezlepkové potraviny (tzv. „gluten-free“) definované ako potraviny obsahujúce menej než 20 ppm ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) bielkovín z pšenice, jačmeňa, raže a/alebo akýchkoľvek ich hybridných druhov (Weber et. al., 2009). Naopak, vhodnými pre potreby bezlepkovej diéty sú niektoré ďalšie plodiny, pričom najčastejšie využívanými sú kukurica, ryža a sója. V súčasnej dobe sa pre potreby bezlepkovej diéty stále väčšia pozornosť venuje využívaniu tzv. pseudocereálií, a to pre ich vysoký obsah plnohodnotných bielkovín, tukov, minerálnych a balastných látok a obsahu škrobu. Môžu sa využívať aj ako čiastočná náhrada chlebového obilia (Cooper et. al., 1998; Zingone et. al., 2010).

Cereálie obsahujú v endosperme zrna frakcie zásobných bielkovín, ktoré sa rozdeľujú do štyroch skupín na základe ich rozpustnosti v rôznych rozpúšťadlách: albumíny, globulíny, prolamíny a glutelíny (Ciccocioppo et. al., 2005). Bielkoviny typu albumínov a globulínov sú dobre rozpustné vo fyziologických roztokoch a ľahko hydrolyzovateľné proteolytickými enzýmami. Tieto vlastnosti predurčujú ich dobrú stráviteľnosť. Prolamíny a glutelíny sú lokalizované v škrobnatom endosperme a plnia zásobnú funkciu (Michalík, 1994). Prolamíny sa u jednotlivých plodín nazývajú nasledovne: v pšenici gliadíny, v jačmeni hordeíny, v raži sekalíny a v ovse aveníny. Glutelíny sa v pšenici nazývajú gluteníny. Hlavný rozdiel medzi gliadínmi a glutenínmi pšenice je v analýze ich funkčnosti. Gliadíny sú monomérne polypeptidové reťazce o molekulovej hmotnosti 30-80 kDa a gluteníny sú viacerázcové štruktúry polypeptidov navzájom pospájané disulfidickými väzbami o molekulovej hmotnosti 15-150 kDa (Gianibelli et. al., 2001; van Eckert et. al., 2010). Vysoký obsah aminokyselín glutamínu a prolínu v gliadínoch, sekalínoch a hordeínoch môže byť jedným z faktorov v patogenéze celiakie, čo robí tieto bielkoviny relatívne rezistentné voči proteolytickému tráveniu črevnými enzýmami. To vyúsťuje do tvorby peptidov bohatých na glutamín a prolín (Hill, McMillan, 2006).

Pšeničné gliadíny a gluteníny plnia významnú úlohu aj z hľadiska reologických vlastností cesta, pritom ich funkcia je odlišná. Hydratované gliadíny sú viac elastickejšie a menej kohézne ako gluteníny a majú

predovšetkým vplyv na viskozitu (rozťažnosť) cesta. Hydratované gluteníny sú kohézne, aj elastické a sú zodpovedné za pevnosť a elasticitu cesta (Starovičová et. al., 2003; Puppo et. al., 2005; Wieser, 2007). Takto hydratované gliadíny a gluteníny majú schopnosť vytvárať súvislú lepidlivú mriežkovitú štruktúru, označovanú ako lepok (glutén). Tento jav je dôležitý z hľadiska prípravy kysnutého cesta a pečených produktov (Petr et. al., 2003).

Dôležitým kritériom pre stanovenie prítomnosti a obsahu prolaminov v zrne cereálií je výber vhodnej analytickej metódy (Ebo, Stevens, 2001). Základnými metódami sú frakcionácia cereálnych bielkovín na základe ich rozdielnej rozpustnosti a elektroforetická separácia bielkovín v polyakrylamidových géloch (Urminská et. al., 2009). V súčasnosti sa čoraz viac stávajú populárnymi imunochemické metódy, a to ELISA (enzýmová imunoabsorbentná analýza) a imunobloting po SDS-PAGE (elektroforéza v polyakrylamidovom géli v prostredí dodecylsírany sodného) (Battais et. al., 2003). Tieto metódy poskytujú dôležité informácie ako pre medicínsky výskum, tak aj pre oblasť cereálnej chémie. Poukazujú na imunoafinitu bielkovín k sérovým protilátkam a na vzťahy medzi štruktúrnymi vlastnosťami bielkovín a ich alergenicitou (Waga, Zientarski, 2007). Tieto imunologické metódy sú založené na princípe špecifickej reakcie medzi protilátkami (imunoglobulínmi), ktoré sú produkované imunizáciou na zvieratách (napr. králikoch alebo myšiach) a antigénmi (v prípade celiakie sú to celiakálne aktívne peptidy) (Wieser, Koehler, 2008).

Cieľom tejto práce bolo analyzovať prolaminový komplex zrna cereálií a pseudocereálií pomocou základnej biochemickej metódy - elektroforézy SDS-PAGE a následne porovnať odlišnosti v imunologickej reakcii na použitú polyklonálnu protilátku medzi druhmi a odrodami prostredníctvom metódy Western blot.

MATERIÁL A METODIKA

Rastlinný materiál bol získaný z génovej banky semenných druhov Slovenského centra poľnohospodárskeho výskumu – Výskumného ústavu rastlinnej výroby v Piešťanoch a na analýzy boli použité: pšenica letná (*Triticum aestivum*), pšenica špaldová (*Triticum spelta*), jačmeň siaty (*Hordeum vulgare*), tritikale (*Triticosecale*), ovos siaty (*Avena sativa*), pohánka jedlá (*Fagopyrum esculentum*), mohár taliansky (*Setaria italica*), quinoa (*Chenopodium quinoa*) a ryža siata (*Oryza sativa*).

Obilniny boli zomleté na celozrnný šrot na laboratórnom mlyne. Zomleté cereálie boli extrahované pomocou magnetického miešadielka s 15 ml rozpúšťadla/g vzorky po dobu 1 hod. pri laboratórnej teplote. Albumíny a globulíny boli extrahované 0,5 M NaCl (dvakrát), zvyšky NaCl boli premyté destilovanou vodou a prolaminy boli extrahované 70% etanolom. Supernatant bol zakaždým centrifugovaný a prolaminy lyofilizované.

SDS-PAGE elektroforéza bola vykonaná podľa metodiky Schägger, von Jagov, 1987. Elektrotransfer bielkovín na PVDF membránu ImmobilonP^{SQ} prebiehal 1,5 hod. pri 170 mA s použitím pufru CAPS

podľa postupu výrobcu (Millipore, USA). Bielkoviny na membráne boli vizualizované pomocou reverzibilnej farbičky Ponceau S.

Western blot:

1. blokovanie membrány 1 hod. (1% bovinný sérový albumín v TBS pufrí s pH 7,6)
2. premytie membrány TBS pufrom 4-krát po 15 min.
3. inkubácia s primárnou protilátkou 1,5 hod. (riedenie 1:1000)
4. premytie membrány TBS pufrom 5-krát po 15 min.
5. inkubácia so sekundárnou protilátkou 1 hod. (riedenie 1:2000)
6. premytie membrány TBS pufrom 6-krát po 15 min.
7. detekcia bielkovín na membráne pomocou 3,3'-diaminobenzidínu podľa odporúčania výrobcu (Sigma, USA)

Primárna anti-gluténová polyklonálna protilátka proti pšeničnému gluténu bola od firmy USBiological (USA) a sekundárna HRP protilátka pripravená imunizáciou na králikoch pochádzala od firmy BD Pharmigen (USA).

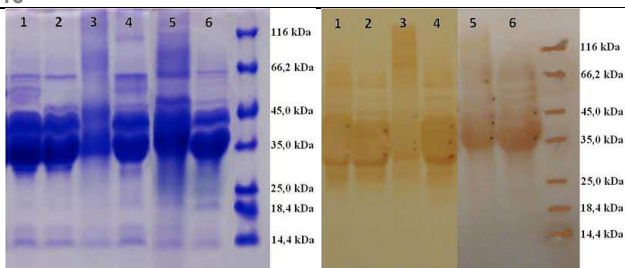
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Cieľom tejto práce bolo elektroforeticky a imunologicky analyzovať celiakálne aktívne frakcie bielkovín extrahovaných zo zrna vybraných druhov cereálií a pseudocereálií. Proteíny po SDS-PAGE elektroforéze boli vizualizované pomocou Coomassie Brilliant Blue. Následne boli vystavené elektrotransferu na PVDF membránu, kde boli farbené reverzibilnou farbičkou Ponceau S. Bielkovinové bandy na géloch boli identické s tými na membráne po transfere. Prolamíny viazané na membráne boli potom inkubované s primárnou anti-gluténovou protilátkou a detekované sekundárnou protilátkou značenou enzýmom chrenovou peroxidázou. Po imunoblate boli bielkoviny vizualizované diaminobenzidínom a tie sa porovnávali s bandmi na polyakrylamidových géloch. Oproti gélom boli blotované proteínové bandy mierne rozsiahlejšie, ale vo všeobecnosti boli identické.

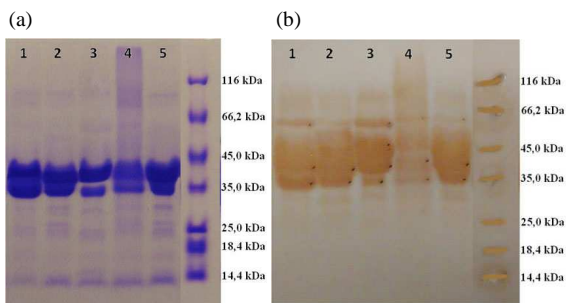
Výsledky z elektroforeogramov pri všetkých odrodách pšenice letnej (*Triticum aestivum*) a pšenice špaldovej (*Triticum spelta*) poukazujú na to, že bielkovinové bandy medzi nimi sa výrazne neodlišujú a sú spravidla rovnaké. Na základe použitého markera pre SDS-PAGE môžeme určiť aj ich molekulové hmotnosti. Pri pšenici sa prolamínová frakcia bielkovín nazýva gliadíny. Van Eckert et. al., (2010) udáva molekulové hmotnosti gliadínov nasledovne: 32 000 Da pre α -gliadíny, 38 000-42 000 Da pre γ -gliadíny, 55 000-79 000 Da pre ω -gliadíny a 90 000-124 000 Da pre HMW glutenínové podjednotky. Celiakálne aktívne bielkoviny sú prítomné v tejto gliadínovej frakcii a zo zdravotného hľadiska je najviac riziková frakcia s molekulovou hmotnosťou okolo 20-30 kDa, nazývaná α -gliadíny, ktorá je aktivátorom celiakálneho ochorenia (Petr et. al., 2003; Urminská et. al., 2009). Práve tieto sú najviac zastúpené vo všetkých odrodách pšenice letnej a špaldovej. Nevýrazné rozdiely môžeme nájsť v kvantite jednotlivých subfrakcií, čo závisí od odrody pšenice (obr. 1a). Podobné výsledky z SDS-PAGE boli získané aj pri všetkých odrodách jačmeňa siateho (*Hordeum vulgare*), kde hlavný bielkovinový band má molekulovú hmotnosť okolo 30-45 kDa (obr. 2a).

(a)

(b)



Obr. 1 (a) SDS-PAGE elektroforéza a (b) Western blot prolamínov pšenice letnej (*Triticum aestivum*) a pšenice špaldovej (*Triticum spelta*): 1. pšenica letná Hana, 2. pšenica letná Vlada, 3. pšenica letná Granny, 4. pšenica letná Saxana, 5. pšenica špaldová Rubiota, 6. pšenica špaldová Ceralio.

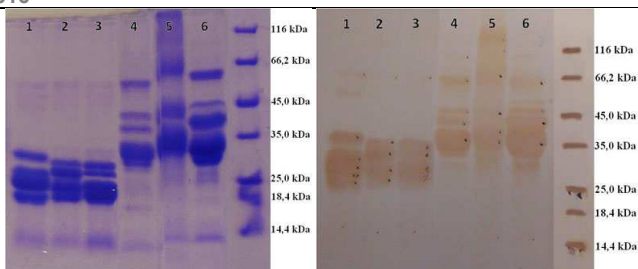


Obr. 2 (a) SDS-PAGE elektroforéza a (b) Western blot prolamínov jačmeňa siateho (*Hordeum vulgare*): 1. Sladar, 2. Amsterdam, 3. Babette, 4. Gerlach, 5. Luran.

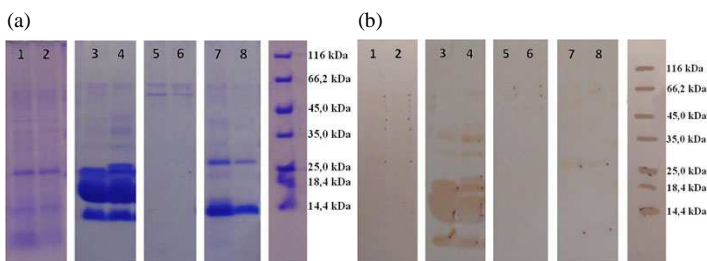
Tritikale je medzidruhový kríženec pšenice a raže (*Triticum a Secale*). Z výsledkov elektroforetických profilov vyplýva, že hlavný bielkovinový band má molekulovú hmotnosť okolo 30-45 kDa (podobne ako v pšenici) a druhý band má molekulovú hmotnosť okolo 60 kDa. Keďže tento je pri pšenicách menej výraznejší, môžeme predpokladať, že sa jedná o frakciu prolamínov, ktorá sa vo väčšom množstve vyskytuje v raži (obr. 3a). Ovos patrí spolu s pšenicou, ražou, tritikale a jačmeňom medzi zakázané suroviny vo výžive celiatiakov. Naše výsledky z SDS-PAGE poukazujú, že ovos siaty (*Avena sativa*) ako jediný spomedzi týchto cereálií má hlavné prolaminové subfrakcie s molekulovou hmotnosťou nižšou ako 35 kDa (obr. 3a). Zo skúmaných pseudocereálií je na prolaminovú frakciu najbohatší mohár taliansky (*Setaria italica*), v ktorom sa nachádzajú tri bandy s molekulovou hmotnosťou nižšou ako 25 kDa (obr. 4a). Pohánka jedlá (*Fagopyrum esculentum*) a quinoa (*Chenopodium quinoa*) obsahujú iba malé množstvá prolamínov, na čo poukazuje prítomnosť a počet slabších bandov na polyakrylamidovom gély. Pri quinoe môžeme pozorovať dokonca iba dva slabšie bandy na úrovni 60 kDa. Ryža z pohľadu elektroforetického profilu obsahuje prolaminovú frakciu s nízkou molekulovou hmotnosťou (≈ 15 kDa) a ďalší menej výraznejší band má veľkosť asi 25 kDa (obr. 4a).

(a)

(b)



Obr. 3 (a) SDS-PAGE elektroforéza a (b) Western blot prolamínov ovsa siateho (*Avena sativa*) a tritikale (*Triticosecale*): 1. ovos Ardo, 2. ovos Atego, 3. ovos Detvan, 4. tritikale Kendo, 5. tritikale Kinerit, 6. tritikale Wanad.



Obr. 4 (a) SDS-PAGE elektroforéza a (b) Western blot prolamínov pohánky jedlej (*Fagopyrum esculentum*), mohára talianskeho (*Setaria italica*), quinoi (*Chenopodium quinoa*) a ryže siatej (*Oryza sativa*): 1. pohánka FAG 120/82, 2. pohánka Pyra, 2. mohár Čiernoklas, 3. mohár Friderika, 4. quinoa Faro, 5. quinoa Baer, 6. ryža lúpaná gulatozrná, 7. ryža natural.

Ďalej sme posudzovali reakciu blotovaných bielkovín s polyklonálnou protilátkou. Pri všetkých odrodách pšenice, vrátane pšenice špaldovej protilátka rozpoznala všetky prolamínové frakcie s molekulovou hmotnosťou vyššou ako 30 kDa. Reakcia nebola pozorovaná jedine pri frakciách s nižšou molekulovou hmotnosťou ($\approx 14-25$ kDa) a to vo všetkých odrodách pšenice (obr. 1b). Podobné výsledky boli získané aj u jačmeňa siateho. Prolamínové frakcie s veľkosťou viac ako 35 kDa vykázali veľmi pozitívnu imunologickú reakciu s použitou polyklonálnou protilátkou, okrem fragmentov s veľkosťou približne 14-30 kDa, podobne ako v pšenici. Blotované bielkoviny sa výrazne nelíšili medzi skúmanými odrodami jačmeňa a boli takmer identické (obr. 2b). V prípade tritikale protilátka reagovala silno pozitívne s frakciami o veľkosti viac ako 30 kDa a nereagovala s frakciami s molekulovou hmotnosťou okolo 14-25 kDa, rovnako ako v prípade pšenice a jačmeňa (obr. 3b). Podľa autorov Wieser a Koehler (2008) patria α/β - a γ -gliadíny a LMW-GS pšenice, γ -hordeíny a B-hordeíny jačmeňa a aveníny ovsa do skupiny LMW bielkovinových frakcií s nižšou molekulovou hmotnosťou ($\approx 32-42$ kDa), ktoré sú bohaté na glutamín, prolín a aromatické aminokyseliny s množstvom cysteínových zvyškov. Naproti tomu do skupiny HMW bielkovinových frakcií s vyššou molekulovou hmotnosťou (≈ 90 kDa a viac) zaraďujú HMW-GS pšenice a D-hordeíny jačmeňa. Z našich výsledkov teda vyplýva, že polyklonálna protilátka najpozitívnejšie reagovala s frakciou α/β -gliadínov (v pšenici a tritikale) a frakciou γ -hordeínov (v jačmeni). Tieto frakcie o veľkosti ≈ 35 kDa vykazujú

najvýraznejšiu celiakálnu aktivitu. Protilátka tiež reagovala aj s frakciami s väčšou molekulovou hmotnosťou, hoci reakcia nebola až taká výrazná.

Polyklonálna protilátka rozpoznala aj prolamíny v ovse (o molekulovej hmotnosti približne 20-30 kDa), hoci vieme, že bielkoviny ovsu nemajú epitopy, ktoré reagujú s monoklonálnou protilátkou (obrázok 3b). Napríklad monoklonálna protilátka R5 používaná pri sendvičovej ELISA analýze nevykazuje žiadnu krížovú reakciu s bielkovinami ovsu a taktiež ryže, pohánky a quinoi. Táto protilátka reaguje s epitopmi QQPFP, QQQFP, LQPFP a QLPPF (van Eckert et. al., 2010), ktoré sa vo veľkom množstve vyskytujú v sekvenciách prolamínov pšenice, raže, tritikale a jačmeňa. Polyklonálne protilátky rozpoznávajú viac epitopov, čiže existuje pri nich väčšia pravdepodobnosť krížových reakcií. Podľa niektorých autorov je konzumácia čistých ovsených produktov bezpečná pre pacientov s celiakiou, kým názory ďalších autorov sú rozdielne a výrobky z ovsu vylučujú z bezpečkovej diéty (Størsrud et. al., 2003; Silano et. al., 2007).

Mohár, ktorý obsahuje bielkovinové frakcie s nižšou molekulovou hmotnosťou (< 30 kDa), vykázal dobrú imunologickú reakciu s použitou protilátkou (obr. 4b). Na rozdiel od gliadínov pšenice, prolamíny mohára nevykazujú celiakálnu aktivitu a môže byť použitý v bezpečkovej diéte. V pohánke, quinoi a ryži nebola pozorovaná takmer žiadna imunologická odpoveď na reakciu s protilátkou, čo môžeme potvrdiť neprítomnosťou bandov po imunoblottingu na rozdiel od rozseparovaných prolamínov na polyakrylamidovom gély (obr. 4b). Aj napriek tomu, že pohánka, quinoa a ryža obsahujú minimálne množstvo prolamínov, tieto sa polyklonálnej protilátke nepodarilo detekovať, čo svedčí o ich vynikajúcich imunochemických vlastnostiach v porovnaní s ostatnými cereáliami. Z toho dôvodu, pohánka, quinoa a ryža sú vhodnými surovinami pre potreby bezpečkovej diéty.

ZÁVER

Na základe získaných výsledkov detekcie celiakálne aktívnych bielkovín v zrne cereálií a pseudocereálií pomocou metódy Western blot s využitím polyklonálnej protilátky, môžeme konštatovať, že použitá metóda je vhodná na stanovenie prítomnosti prolamínových frakcií v sledovanom rastlinnom materiály. V nami analyzovaných vzorkách bola pozitívne potvrdená reakcia s použitou polyklonálnou protilátkou vo všetkých odrodách pšenice, vrátane pšenice špaldovej, jačmeňa, tritikale, ovsu a mohára. Naopak, žiadna alebo len veľmi nepatrná reakcia bola pozorovaná v zrne pohánky, quinoi a ryže. Prezentované výsledky potvrdili, že pseudocereálie (pohánka, quinoa alebo mohár) a ryža sú vhodnými surovinami pre potreby bezpečkovej diéty.

LITERATÚRA

Battais F., Pineau F., Popineau Y., Aparicio C., Kanny G., Guerin L., Moneret-Vautrin D. A., Denery-Papini S. (2003): Food allergy to wheat: identification of immunoglobulin E and immunoglobulin G-binding proteins with sequential extracts and purified proteins from wheat flour. *Clinical & Experimental Allergy*, 33(7): 962-970.

Ciccocioppo R., Di Sabatino A., Corazza G. R. (2005): The immune recognition of gluten in celiac disease. *Clinical and Experimental Immunology*, 140(3): 408-416.

Cooper H. D., Spillane C., Kermali I., Anishetty N. M. (1998): Harnessing plant genetic resources for sustainable agriculture. *Plant Genetic Resources Newsletter*, 114: 1-8.

Ebo D. G., Stevens W. J. (2001): IgE-mediated food allergy – extensive review of the literature. *Acta Clinica Belgica*, 56(4): 234-247.

Eckert van R., Bond J., Rawson P., Klein Ch. L., Stern M., Jordan T.W. (2010): Reactivity of gluten detecting monoclonal antibodies to a gliadin reference material. *Journal of Cereal Science*, 51(2): 198-204.

Gianibelli M. C., Larroque O. R., MacRitchie F., Wrigley C. W. (2001): Biochemical, genetics and molecular characterization of wheat endosperm proteins [online review]. Dostupné na internete: <<http://www.aaccnet.org/cerealchemistry/freearticle/gianibelli.pdf>>

Hill P. G., McMillan S. A. (2006): Anti-tissue transglutaminase antibodies and their role in the investigation of coeliac disease. *Annals of Clinical Biochemistry*, 43(2): 105-117.

Michalík I. (1994): Charakteristika cereálních bílkovin, ich výživná kvalita a vplyv na zdravotný stav. *Výživa a zdravie*, 39(8): 159-160.

Petr J., Michalík I., Tlaskalová H., Capouchová I., Faměra O., Urmínská D., Tučková L., Knoblochová H. (2003): Extention of the spectra of plant products for the diet in coeliac disease. *Czech Journal of Food Sciences*, 21(2): 59-70.

Pruska-Kędzior A., Kędzior Z., Gorący M., Pietrowska K., Przybylska A., Sychalska K. (2008): Comparison of rheological, fermentative and baking properties of gluten-free dough formulations. *European Food Research and Technology*, 227(5): 1523-1536.

Puppo M. C., Calvelo A., Anón M. C. (2005): Physicochemical and rheological characterization of wheat flour dough. *Cereal Chemistry*, 82(2): 173-181.

Schägger H., von Jagow G. (1987): Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. *Analytical Biochemistry*, 166(2): 368-379.

Silano M., Benedetto R., Maialetti F., Vincenzi A., Calcaterra R., Cornell H. J., Vincenzi M. (2007): Avenins from different cultivars of oats elicit response by coeliac peripheral lymphocytes. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 42(11): 1302-1305.

Starovičová M., Gálová Z., Knoblochová H. (2003): Identification of glutenin markers in cultivars of three wheat species. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 39(2): 51-57.

Størsrud S., Hulthén L. R., Lenner R. A. (2003): Beneficial effects of oats in the gluten-free diet of adults with special reference to nutrient status, symptoms and subjective experiences. *British Journal of Nutrition*, 90(1): 101-107.

Urmínská D., Socha P., Vollmannová A. (2009): ELISA and PAGE analysis of protein determinants from cereal and pseudocereal grain causing human coeliac disease. *FEBS Journal*, 276(1): 94.

MENDELNET 2010

Waga J., Zientarski J. (2007): Isolation and purification of individual gliadin proteins by preparative acid polyacrylamide gel electrophoresis (A-PAGE) for allergenic research. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 57(1): 91-96.

Weber D., Cl eroux Ch., Godefroy S. B. (2009): Emerging analytical methods to determine gluten markers in processed foods – method development in support of standard setting. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 395(1): 111-117.

Wieser H. (2007): Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiology*, 24(2): 115-119.

Wieser H., Koehler P. (2008): The biochemical basis of celiac disease. *Cereal Chemistry*, 85(1): 1-14.

Zingone F., Capone P., Ciacci C. (2010): Celiac disease: Alternatives to a gluten free diet. *World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics*, 1(1): 36-39.

ANALYSIS OF CADMIUM AND NICKEL ENTRY FROM SOIL TO PLANT PRODUCTION AFTER THE APPLICATION OF BIOSLUDGE ON VPP KOLÍŇANY

Tóth J., Tóth T., Bončíková B., Szabóová G., Árvay J.

Department of Chemistry, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

E-mail: JurecLBF@centrum.sk

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the level of risk elements of the transition observed soil-plant system after application of biosludge as a potential source of heavy metals. The content of the elements in the soil, we have obtained analysis prescribed by the relevant legislation. The total content of cadmium in the soil exceeded the limit value in almost all scenarios. In the case of nickel we did not exceed the limit value in either scenario. Exceeding the critical value of mobile forms of nickel was recorded in either variant. Level shift monitoring of risk elements from soil to crops was different depending on the type of crops and alternative fertilization. Although our results indicate a possible risk of entry of hazardous elements in soil, application of this method biosludge fertilization is not generally possible risk.

Key words: biosludge, heavy metals, mobility

Acknowledgments: The project was financed by the project VEGA n. 110339108

ÚVOD

Pôdu chápeme ako živý a neustále sa vyvíjajúci trojrozmerný prírodno – historický útvar, ktorý vznikol vplyvom pôsobenia atmosféry, biosféry, hydrosféry a litosféry. Z hľadiska využívania pôdy a z ekologického hľadiska môže pôda zahrňovať aj permeabilný materiál podložia, ktorý môže byť aj rezervoárom pozemných vôd. Takto definovaná pôda môže dosahovať značné hĺbky a v tomto kontexte sa pod pojmom pôda môže rozumieť aj územie – krajina (**Hronec et al., 2002**).

Aplikácia biokalu v tekutej forme, alebo vo forme odvodnených kalov na ornú pôdu je možná, avšak je nutné zohľadniť nároky poľnohospodárskych plodín, ako aj pôdy musia vyhovovať určitým kritériám, t.j. vhodné pH, sorpčná kapacita, obsah škodlivín v pôde i v kaloch a pod. Jedným zo spôsobov pri využívaní alternatívnych zdrojov energie je aplikácia vyhnitého substrátu po kontinuálnej výrobe bioplynu a následne sledovanie jeho komplexného vplyvu na stav pôdnej hygieny so zreteľom na vstup ťažkých kovov. (**Chlpík, Pospíšil, 2004**).

Ťažké kovy patria medzi nedegradovateľné kontaminanty, ktoré sa vyznačujú rozdielnym zdrojom pôvodu, vlastnosťami ako aj pôsobením na živé organizmy (**Tóth et al., 2005**). K ťažkým kovom patria biologicky nezastupiteľné mikroelementy (napr. Cu, Zn, Fe). Ako i početné neesenciálne chemické prvky (Cd, Pb, Cr, atď.). Toxické su aj biologicky nezastupiteľné mikroelementy, ak prekročia určitú koncentráciu (**Tomáš et al., 2001; Tóth et al., 2000**). Z hľadiska obsahu rizikových prvkov sa kladú vysoké nároky najmä na produktívne časti rastlín, ktoré sa využívajú vo výžive ľudí.

MATERIÁL A METODIKA

Obsah kadmia a niklu v pôde aplikáciou biokalu získaného po kontinuálnej kofermentácii živočíšnych odpadov a energetických plodín sme zisťovali v podmienkach poloprevádzkového pokusu na Výskumnej báze SPU v Kolíňanoch. Záujmová plocha je situovaná východne od obce Kolíňany na parcele „Letisko“. Severnou hranicou je štátna cesta Nitra – Zlaté Moravce, východnou hranicou letisko VPP a juhozápadnou hranicou je koryto miestneho potoka. Výskum aplikácie biokalu po výrobe bioplynu z rastlinných a živočíšnych odpadov pri zachovaní udržateľnosti pestovateľských technológií.

Tab. 1 Lokalizácia odberu pôdnych vzoriek a ich charakteristika

Označenie	Lokalita	BPEJ	Pôdny typ	Pôdny druh	Parcela
K 1	Kolíňany	0244402	HMa - hnedozem kultizemná	stredne ťažká	Letisko
K 2	Kolíňany	0244402	HMa - hnedozem kultizemná	stredne ťažká	Letisko
K 3	Kolíňany	0244402	HMa - hnedozem kultizemná	stredne ťažká	Letisko
K 4	Kolíňany	0244402	HMa - hnedozem kultizemná	stredne ťažká	Letisko

Varianty pokusu :

- Kontrola : bez aplikácie biokalu
- Variant 1 : aplikácia biokalu na jeseň – 50 t.ha⁻¹
- Variant 2 : aplikácia biokalu na jar – 50 t.ha⁻¹

Realizácia výskumu v roku 2009/2010 prebiehala podľa harmonogramu prác v súlade s vytýčenými cieľmi .

Odber a úprava pôdných vzoriek

Pri výbere a identifikácii lokalít, odbere a úprave pôdných a rastlinných vzoriek sme postupovali podľa Závazných metodík rozborov pôd, ČMS – Pôda, (Fiala et al. 1999). V jednotlivých horizontoch a na rôznych pestovateľských plochách sme uskutočnili chemické analýzy na obsah rizikových prvkov (Ni a Cd). Pôdne vzorky sme odoberali pedologickou sondou z troch hĺbok 0 – 0,1 m; 0,20 – 0,30 m a 0,35 – 0,45 m.

Rastlinný materiál

Vzorky rastlinného materiálu sme odoberali v plnej zrelosti a analyzovali sme produktívne časti pestovaných plodín podľa osevného postupu. Odber vzoriek rastlinného materiálu sme uskutočnili z toho istého miesta, z ktorého sme odobrali pôdne vzorky. Vzorky sme vysušili (pri 106 °C) a pred analyzovaním zhomogenizovali pomletím. V rastlinných vzorkách sme následne stanovili obsahy sledovaných ťažkých kovov (Cd a Ni) po predchádzajúcej mineralizácii suchou cestou plameňovou AAS.

Odber vzoriek rastlinného materiálu sme uskutočnili v plnej zrelosti a obsah rizikových prvkov sme stanovovali v produktívnych častiach :

- jačmeň – zrno,
- slnečnica – nadzemná biomasa,
- cukrová repa – buľvy, nadzemná biomasa,
- kukurica na siláž – nadzemná biomasa.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Hodnotenie rizikových prvkov v aplikovanom biokale

Rozbor aplikovaného biokalu sa uskutočnil pred jeho aplikáciou do pôdy. Analýza obsahu sledovaných rizikových prvkov preukázala, že medzná hodnota stanovená zákonom nebola prekročená ani u jedného z dvoch prvkov (tab.2).

Tab. 2 Obsah ťažkých kovov v aplikovanom biokale a porovnanie s medznými hodnotami (podľa Zákona 188/2003 Z.z.) v mg.kg⁻¹

	Popol %	Sušina %	Ni	Cd
vstup	27,31	4,72	9,7	0,74
výstup	47,98	7,12	10,5	1,41
medzná hodnota			300	10

Vstup – nevyhnutý substrát **Výstup** – vyhnitý substrát

V substráte, získanom po kontinuálnej výrobe bioplynu sme zistili, že v procese „vyhňívania“ prišlo k nárastu podielu popola a sušiny. V prípade rizikových prvkov sme zistili, že zastúpenie niklu a kadmia bolo vo vyhnitom substráte vyššie ako vo vstupnom substráte. Priemerný obsah kadmia v biokale predstavuje 10,75 % podiel z medznej hodnoty. Obsah niklu v biokale je rádovo nižší ako je medzná hodnota. Z vyššie uvedeného vyplýva, že aplikovaný biokal z hľadiska obsahu kadmia a niklu spĺňal legislatívne stanovené limitné hodnoty a je vhodný na aplikáciu do poľnohospodárskej pôdy.

Hodnotenie obsahu rizikových prvkov v pôdach

Obsah sledovaných rizikových prvkov v pôde stanovených vo výluhu lúčavky kráľovskej je uvedený v tabuľke č. 3. Pri hodnotení získaných výsledkov sme zaznamenali prekročenie maximálnych obsahov kadmia v pôde. Prekročenie limitnej hodnoty sme zaznamenali na úrovni 101,7 % u kadmia. Priemerný obsah kadmia v pôde je 0,71 mg.kg⁻¹.

Obsah niklu je nižší ako je limitná hodnota pre jeho obsah v pôde stanovená v zákone č. 220/2004. Úroveň obsahu niklu je 65,1 % z limitnej hodnoty.

Pri hodnotení novej kontaminácie dopestovanej produkcie je dôležitý obsah mobilných foriem rizikových prvkov v pôde. (tab. 3). Obsah kadmia dosahuje úroveň 39,6 % limitnej hodnoty s priemerným obsahom v pôdach 0,040 mg.kg⁻¹. Obsah niklu je veľmi nízky, nedosahujúci ani 10 % z limitnej hodnoty. Ani v tom to prípade sme nezaznamenali významný vplyv aplikácie biokalu na obsah rizikových prvkov v pôde v porovnaní sledovaných variantov pokusu.

Tab. 3 Obsah rizikových prvkov v pôde stanovených vo výluhu lúčavky kráľovskej a výluhu 1 mol.dm⁻³ NH₄NO₃ v porovnaní s limitnými hodnotami (podľa Zákona č. 220/2004) v mg.kg⁻¹

(V – variant pokusu : A : kontrola B : kal aplikovaný na jeseň, C : kal aplikovaný na jar)

označenie	lokalita	parceta	H	pH/KCl	Ni (výluh lúčavky kráľovskej)	Cd (výluh lúčavky kráľovskej)	Ni(Výluh 1 mol.dm ⁻³ NH ₄ NO ₃)	Cd (Výluh 1 mol.dm ⁻³ NH ₄ NO ₃)
K1	Kolíňany	Letisko	A	3,40	33,00	0,78	0,125	0,035
			B	4,60	34,80	0,80	0,065	0,029
			C	4,70	33,90	0,79	0,145	0,032
K2	Kolíňany	Letisko	A	4,70	34,20	0,81	0,140	0,038
			B	6,43	33,90	0,78	0,105	0,034
			C	6,30	32,50	0,70	0,115	0,032
K3	Kolíňany	Letisko	A	5,80	34,00	0,82	0,120	0,042
			B	5,94	33,40	0,79	0,105	0,040
			C	5,40	30,50	0,69	0,050	0,040
K4	Kolíňany	Letisko	A	6,43	31,50	0,70	0,160	0,049
			B	6,45	30,60	0,64	0,150	0,043
			C	5,89	29,60	0,66	0,135	0,042
Limitná hodnota					50	0,7	1,5	0,1
Priemerný obsah v celom súbore pôd					32,51	0,71	0,131	0,040
% pomer vo vzťahu k limitnej hodnote					65,1	101,7	8,8	39,6

Obsah rizikových prvkov v produktívnych častiach rastlín

Cieľom sledovania kontaminácie pôd ťažkými kovmi je aj predikcia ich vstupu do potravinového reťazca. Z hľadiska obsahu rizikových prvkov sa kladú vysoké nároky najmä na produktívne časti rastlín, ktoré sa využívajú vo výžive ľudí ako rastlinné produkty, suroviny potravinárskeho priemyslu, krmoviny, z ktorých ťažké kovy prechádzajú do rôznych živočíšnych produktov. (Merian, 1991; Tomáš, 2003; Hronec et al, 2002). Najvyššie prípustné množstvá niklu a kadmia sú uvedené v tabuľke č. 4.

Tab. 4 Najvyššie prípustné množstvá v rastlinách v mg.kg⁻¹

plodina	Ni	Cd	
obilniny	3,0	0,1	Potravinový kódex SR
olejniny	x	0,5	Potravinový kódex SR
cukrová repa	x	0,1	Potravinový kódex SR
krmoviny	5,0	1,0	Vyhláška MP SR č. 3158/2003

Hodnotenie obsahu rizikových prvkov v rastlinnej produkcii

Z hľadiska hygienického hodnotenia sme posudzovali obsahy sledovaných rizikových prvkov v porovnaní so Zákonom o potravinách č. 152/1995, Potravinárskym kódexom SR a Výnosom MP SR 1497/1997-100 o krmovinách

Problematikou kontaminácie pôdneho fondu a vstupu rizikových prvkov na Výskumnej báze SPU v Kolíňanoch v rámci riešenia projektov VEGA zaoberali mnohí autori, ako Pospíšil et al. (2004), Chlpík et al. (2004), Tóth et al. (2005).

Obsah sledovaných rizikových prvkov v produktívnych častiach rastlín v pestovateľskom roku 2009 je uvedený v tabuľke č. 5.

Tab. 5 Obsah těžkých kovů pestovatel'ských plodinách v $mg.kg^{-1}$

variant		Plodina		Ni	Cd
1	kontrola	slnečnica	nadzemná biomasa	2,40	0,93
2	kal jeseň			3,00	0,85
3	kal jar			2,70	0,91
4	kontrola	jačmeň	zrno	0,55	0,15
5	kal jeseň			0,35	0,19
6	kal jar			0,40	0,10
7	kontrola	cukr.repa	buľvy	2,20	0,31
8	kal jeseň			1,10	0,22
9	kal jar			2,05	0,35
10	kontrola	cukr.repa	listy	3,70	1,21
11	kal jeseň			4,00	0,76
12	kal jar			3,00	1,08
13	kontrola	kukurica	siláž	3,10	0,25
14	kal jeseň			2,00	0,22
15	kal jar			2,10	0,24

Slničnica siata

Pre posudzovanie obsahu rizikových prvkov v slnečnici platia limitné hodnoty : Cd : 1,0 mg.kg⁻¹, Ni : 5,0 mg.kg⁻¹. Z porovnaní vyplýva, že obsah niklu je vo všetkých variantoch pod stanovenou hodnotou. Najvyšší obsah bol u kadmia, kde sa zaznamenali prekročenie limitnej hodnoty o 0,1 mg.kg⁻¹ oproti limitnej hodnote. Kadmium malo zvýšený obsah v pôde, čo sa prejavilo aj jeho zvýšeným príjmom slnečnicou.

Jačmeň jarný

Ak by sme predpokladali využitie dopestovaného jačmeňa na sladovnícke účely, musíme ho posudzovať z hľadiska obsahu rizikových prvkov na základe Potravinárskeho kódexu SR, kde sú stanovené tieto hodnoty najvyšších prípustných množstiev (NPM) : Cd : 0,1 mg.kg⁻¹, Ni : 6,0 mg.kg⁻¹. Z tabuľky 5 vyplýva, že obsah niklu je pod hodnotou NPM pre tento prvok. Priemerný obsah kadmia v pôde je 0,15 mg.kg⁻¹, čo je prekročenie NPM o 44 %. Zvýšený príjem kadmia jačmeňom je dôsledok jeho vysokého obsahu v pôde, ako aj výrazného zastúpenia mobilných foriem Cd v pôde. Z hygienického hľadiska dopestovaný jačmeň nie je vhodný na potravinárske a sladovnícke využitie v dôsledku zvýšeného obsahu kadmia v zrne.

Cukrová repa

U cukrovej repy sme hodnotili obsah rizikových prvkov v listoch aj v bulvách a zistili sme, že rastliny cukrovej repy kumulujú v nadzemnej biomase v priemere o 95 % viac rizikových prvkov ako v bulvách. Z hľadiska hodnotenia listov cukrovej repy vychádzame zo skutočnosti, že skrojky cukrovej repy sa využívajú ako krmivo, resp. ako súčasť siláže, preto sme obsahy rizikových prvkov hodnotili z krmovinnárskeho hľadiska. Limitné hodnoty podľa Vyhlášky MP SR sú : Cd : 1,0 mg.kg⁻¹, Ni : 5,0 mg.kg⁻¹. Obsah niklu je nižší, ako je stanovené legislatívou, avšak obsah kadmia je vyšší ako je stanovená legislatívne hodnota (1,0 mg.kg⁻¹). Priemerný obsah Cd v listoch cukrovej repy je 1,24 mg.kg⁻¹, čo je viac o 24 % ako je limitná hodnota. Bulvy cukrovej repy sme posudzovali podľa Potravinárskeho kódexu SR, kde sú stanovené tieto hodnoty najvyšších prípustných množstiev (NPM) : Cd : 0,1 mg.kg⁻¹ a Ni : 6,0 mg.kg⁻¹. K prekročeniu NPM došlo v prípade a kadmia. Vo všetkých variantoch bolo prekročené NPM pre obsah kadmia, a to v priemere o 224 % ! Dopestovaná cukrová repa z hygienického hľadiska nie vhodná ani na prípravu krmív ani na ďalšie spracovanie v cukrovarníckom priemysle

Kukurica na siláž

Biomasu silážnej kukurice sme posudzovali z hľadiska jej využitia na priame skrmovanie, resp. ako silážnej plodiny, tj. ako krmovinu, kde sú stanovené tieto limitné hodnoty : 100 mg.kg⁻¹, Cd : 1,0 mg.kg⁻¹, Ni : 5,0 mg.kg⁻¹. Obsahy niklu a kadmia sú nižšie ako je limitná hodnota. Z pohľadu hodnotenia biomasy silážnej kukurice možno konštatovať, že z hľadiska obsahu kadmia a niklu nie je zvýšený obsah týchto prvkov v nadzemnej biomase. Aplikácia biokalu nemala žiadny vplyv na príjem týchto prvkov rastlinami kukurice. Podobne ako v prípade cukrovej repy, tak aj u pestovanej kukurice sa javí aplikácia biokalu na jeseň vhodnejšia ako na jar, nakoľko príjem kadmia a niklu je nižší u variantu s jesennou aplikáciou biokalu.

ZÁVER**Na základe analýzy rastlinnej produkcie vyplýva, že :**

- obsah Cd v biomase sľečnice je vyšší ako je limitná hodnota,
- z hygienického hľadiska dopestovaný jačmeň nie je vhodný na potravinárske a sladovnícke využitie v dôsledku zvýšeného obsahu kadmia v zrne,
- dopestovaná cukrová repa z hygienického hľadiska nie vhodná ani na prípravu krmív ani na ďalšie spracovanie v cukrovarníckom priemysle,
- vzhľadom k tomu, že neboli prekročené limitné hodnoty je možné použiť biomasu silážnej kukurice na priame skrmovanie.

LITERATÚRA

1. CHLPÍK, J., POSPÍŠIL, R. 2004. Plošná charakteristika mechanických a chemických vlastností pôdy na Výskumnej báze Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre, lokalita Koliňany. In : Acta fytotechnica et zootechnica, roč. 7, 2004, č 1., s. 6-10.
2. FIALA, K., KOBZA, J., MATÚŠKOVÁ, J. BREČKOVÁ, V., MAKOVNÍKOVÁ, J., BARANČIKOVÁ, G., BŮRIK, V., LITAVEC, T., HOUŠKOVÁ, B., CHROMANIČOVÁ, A., VÁRADIOVÁ, D., PECHOVÁ, B. 1999. Závažné metódy rozborov pôd – čiastkový monitorovací systém – pôda. Bratislava. Výskumný ústav pôdozvedectva a ochrany pôdy, 1999, 139 s.. ISBN 80-85361-55-8
3. HRONEC, O., TÓTH, J., TOMÁŠ, J. 2002. Cudzorodé látky a ich riziká. Košice: Harlequin Quality, 2002, 200 s. ISBN80-968824-0-4
4. MERIAN, E. 1991. Metals and Their Coumpounds in the Environment. Occurence, Analysis and Biological Relevance. Weinhein: VCH Verlag GmbH., 1991, 1438 p. ISBN 3-527-26521-X
5. TOMÁŠ, J., TÓTH, J., LAZOR, P. 2001- Heavy Metals Content and Distribution in Soils in Relation to Soil Hygiene. In *Polnohospodárstvo*, vol 47, (1), 2001, p. 11 – 26
6. TÓTH, T., POSPÍŠIL, R., PARILÁKOVÁ, K., MUSILOVÁ, J., BYSTRICKÁ, J. 2005. Distribúcia ťažkých kovov v pôdach aplikáciou substrátu po výrobe biokalu. In *ChemZi*, vol. 1 (1), 2005, p. 108 – 109.
7. TÓTH, J., TOMÁŠ, J., LAZOR, P. 2000. Hodnotenie bioprístupnosti kadmia, olova, medi, zinku a chrómu v silne kontaminovanej fluvizemi. In *Acta fytotechnica et Zootechnica*, vol. 3, (1), 2000, p. 25 – 28.
8. TOMÁŠ, J., VOLLMANNOVÁ, A., TÓTH, T. a i. 2003. Liming of extremmly acid soil in relation to soil hygiene. In: *Chemické listy*, roč. 97, 2003, č. 8 s. 801

THE INFLUENCE OF STRIGOLACTONE ON AUXIN TRANSPORT EXPRESSION OF ELIPS AT DIFFERENT LIGHT CONDITIONS IN *ARABIDOPSIS THALIANA* WITH ELEVATED CYTOKININ LEVELS

Baldrianová J., Brzobohatý B.

Department of Molecular Biology and Radiobiology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: baldrianova@ibp.cz

ABSTRACT

Cytokinins (CKs) are plant hormones that play important roles during plant growth and development. In particular, they influence chloroplast development, nutrient mobilization, cell cycle and senescence. Light quality and intensity are important factors that affect a range of plant processes. Early light induced proteins (ELIPs) belong to the superfamily of Chlorophyll *a*-binding proteins (CABs). They are expressed and accumulated during early phase of deetiolation and stress conditions. It is assumed that ELIPs play a photoprotective function under high light intensity. Some effects of CKs and light are identical. This fact led us to set up our experiments, whose aim is to identify changes at ELIP protein level in plants with elevated CK levels grown under different light intensities (100 and 330 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). In our work we revealed positive effect of CKs on ELIPs accumulation in light dependent manner. ELIPs accumulation was elevated in CK treated plants under used light conditions. We suppose, CKs and light action is additive.

Key words: cytokinins, ELIPs, western blot.

Acknowledgments: This work was supported by grants 1M06030 and LC06034 (Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic)

MODERN PROTEOMICS IN PLANT SCIENCE**Černý M., Brzobohatý B.**

Department of Molecular Biology and Radiobiology, Faculty of Agriculture, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: martincerny83@gmail.com

ABSTRACT

Arabidopsis as the first established model plant worldwide belongs among the most intensively studied organism in science. While its entire genome sequence has been available for last ten years, map of Arabidopsis proteome is still mostly blind. It is estimated that there is at least 100, 000 gene products for approximately 25, 000 genes in Arabidopsis genome. However, best proteomic experiments are covering only about 10% of this number. Major problem with uncovering new proteins is their low abundance in the sample. Here we show advantages of modern isolation procedures design to uncover the hidden proteome.

Key words: proteomics, 2D PAGE, plants

Acknowledgments: Supported by grants IAA600040701, LC06034, 1M06030, GACR 206/09/2062, AV0Z50040507, AV0Z50040702 and AV0Z40310501

ÚVOD

Huseníček rolní (*Arabidopsis thaliana*) je první rostlinou se známou genomovou sekvencí. I dnes, deset let od dokončení sekvenování, patří *Arabidopsis* mezi nejvíce studované organismy. Zatímco genomová sekvence známá je, mapa proteomu je stále z velké části prázdná. Nejnížší odhady předpokládají, že k přibližně 25 000 genů existuje minimálně 100 000 různých proteinů. Tento téměř řádový rozdíl je způsoben jak alternativním sestřihem genu, kdy jeden gen může mít několik různých produktů-proteinů, tak především post-translačními modifikacemi proteinu. Mezi nejznámější post-translační modifikace patří částečná proteolýsa, fosforylace, glykosylace, ale existuje i celá řada dalších, které byly již v proteinech nalezeny. Post-translační modifikace významně ovlivňují chování daného proteinu (Černý et al., 2010a). Pro samotnou fosforylací se odhaduje, že minimálně 10-30 % všech proteinů v buňce je fosforylovaných a to třeba i mnohanásobně. Různé modifikace se navíc mohou kombinovat, čímž dramaticky roste počet různých proteinů a lze odhadovat, že skutečný rozdíl mezi počtem genů a počtem různých proteinů v buňce bude i několik řádů. Základní problém dnešní proteomiky je rozlišení, s jakým je schopna pracovat. Nejlepší práce nepřesahují 10 000 identifikovaných proteinů a běžné studie s limitním množstvím materiálu se pohybují v tisících detekovaných proteinů, což při nejnižších odhadech počtu možných proteinů v buňce nepřesahuje 5-10 % zachycených proteinů. Jedním z důvodů, proč jsou počty sledovaných proteinů tak nízké, je přítomnost majoritních proteinů, které znemožňují detekci proteinů o nižších koncentracích. Příkladem takového proteinu u rostlin je RUBISCO, které je považováno za nejrozšířenější protein v přírodě a v běžném zeleném pletivu je jeho obsah okolo 45%. Pokud by se nám podařilo takovéto majoritní proteiny odfiltrovat, rozlišení proteomických map by značně vzrostlo.

MATERIÁL A METODIKA

V experimentu bylo použito metodiky popsané v práci Černý et al., (2010b) pro izolaci proteomu a fosfoproteomu s drobnými modifikacemi a manuály výrobců a statistické analýzy popsané v Skalák et al., (2010)

VÝSLEDKY A DISKUZE

Porovnali jsme využití několika separačních technik pro sledování proteomu rostlin. Jako nejnáročnější na spotřebu materiálu se jeví izolace fosfoproteomu, kdy z jedné izolace získáme pouze 2 malé gely (cca 300 µg proteinu z 350 mg semenáčků). Naopak nejlepší výtěžek proteinu poskytuje aceton/TCA extrakce (2100 µg proteinu z 350 mg semenáčků), která však neřeší problém

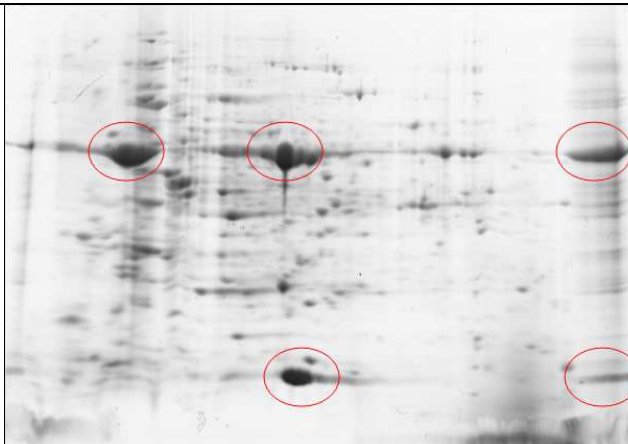


Fig. 1 2D mapa proteomu *Arabidopsis* (aceton/TCA extrakce) s vyznačenými spoty obsahujícími RUBISCO

s majoritními proteiny a velkou část 2D mapy pokrývá RUBISCO (Fig. 1) a další vysoko abundanční proteiny.

Částečným kompromisem se zdá být odstranění RUBISCO pomocí afinitní chromatografie (Seppro), kdy je výtěžek izolace dostačující (450 μ g proteinu z 875 mg semenáček). Aplikaci analýzy obrazu popsané v Skalák et al. (2010) jsme zhodnotily jako nejvýhodnější izolaci s odstraněním RUBISCO.

ZÁVĚR

Provedli jsem porovnání několika izolačních metod. Samotné porovnání kvality obrazu ukázalo jako nejvýhodnější metodu izolace izolaci s odstraněním RUBISCO, která je i po stránce nároku na množství vzorku kompromisem mezi běžnou izolací a izolací pomocí purifikačních kitů (např. purifikace fosfoproteomu). Nicméně dokud nebude provedena identifikace všech detekovaných spotů, aby bylo možné porovnat zastoupení nízkou a vysoko abundančních proteinů, nelze říci, zda je tato izolace pro sledování proteomu výhodnější, než jiné metody navržené k obohacování proteomu.

LITERATURA

Černý M., Doubnerová V., Müller K., Ryšlavá H. (2010): Characterization of phosphoenolpyruvate carboxylase from mature maize seeds: Properties of phosphorylated and dephosphorylated forms

MENDELNET 2010

- Černý M., Dyčka F., Bobáľová J., Brzobohatý B. (2010): Early cytokinin response proteins and phosphoproteins of *Arabidopsis thaliana* identified by proteome and phosphoproteome profiling
- Skalák J., Černý M., Mitošinková I., Brzobohatý B. (2010): Komparace 2D elektroforetických přístupů pro sledování proteomického profilování rostlin

ANALYSIS OF THE DEVELOPMENT OF TRANSGENIC *NICOTIANA TABACUM* SEEDLINGS OVERPRODUCING THE CYTOKININ-GLUCOSIDE SPECIFIC BETA-GLUCOSIDASE ZM-P60.1

Chmelík D.¹, Dubová J.¹, Kiran N.S.², Brzobohatý B.²

¹Department of Experimental Biology, Faculty of Science, Masaryk University, Kamenice 753/5, 625 00 Brno, Czech Republic

²Department of Molecular Biology and Radiobiology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: chmelikd@seznam.cz

ABSTRACT

Reversible glucosylation of zeatin-type cytokinins is important for the homeostasis of active cytokinin (CK) forms at certain developmental stages. Using the zeatin-*O*-glucoside (ZOG)-specific β -glucosidase Zm-p60.1, we have been able to disrupt the zeatin metabolic network during early tobacco seedling development.

The maize β -glucosidase Zm-p60.1 was localized in meristematic root cells of young seedlings of *Zea mays*, it supplements the developing embryo with active CK. This work will deepen our understanding of the phenotype of plants over-expressing the extracellular version of β -glucosidase Zm-p60.1 on medium containing exogenous zeatin. Zm-p60.1 was chosen as a suitable molecular tool for detecting changes in zeatin metabolism.

Transgenic variants of *Nicotiana tabacum* L. over-expressing Zm-p60.1 in the extracellular space were chosen for this work. There were no readily observable morphological differences between transgenic seedlings and wild-type seedlings. When grown on medium containing zeatin, transgenic plants did not accumulate fresh weight as observed in other variants of Zm-p60.1. However, when grown on medium without supplement, transgenic plants were significantly heavier than wild-type three weeks after sowing. RT-PCR confirmed the expression of Zm-p60.1 in transgenic plants. Zm-p60.1 enzyme was histochemically localised in cotyledons, leaves and ectopic structures at the base of the hypocotyl using an indigogenic substrate for β -glucosidase.

Database searches were conducted to look for *N. tabacum* orthologues to Arabidopsis response regulators, the effector molecules in cytokinin signal transduction. We used EST databases (*N. tabacum* L. taxid 4097) and the receiver domain amino acid sequence as a query. Three suitable candidates were found and primers designed to monitor expression of these genes in the transgenic variants mentioned above.

Key words: β -glucosidase, cytokinin metabolism, hormone conjugates, *t*-zeatin, zeatin-*O*-glucoside, extracellular space

Acknowledgments: This work was supported by grant nos. LC06034 from Ministry of Education Youth and Sports of the Czech Republic and 204/09/P289 from the Grant Agency of the Czech Republic.

ÚVOD

Cytokinin (CK) patří mezi klasické rostlinné hormony se schopností vyvolat buněčné dělení spolu s auxinem. Podílejí se na regulaci mnoha fyziologických procesů, jako je diferenciacie chloroplastů, příjem a translokace živin, klíčení semen, růst a senescence listů (Haberer a Kieber, 2002). Z chemického hlediska se jedná o *N6*-substituenty adeninu, v závislosti na postranním řetězci se dělí na izoprenoidní a aromatické. Vyjimku tvoří syntetické molekuly difenyl-močoviny, thidiazuronu a jejich deriváty. Nejběžnější jsou zastoupeny CK izoprenoidní z nichž nejjednodušší je isopentenyladenin, jehož hydroxylovaná forma je *t*-zeatin, nejhojněji zastoupen v rostlinách ze všech přirozených CK (Yonekura-Sakakibara a kol., 2004). Rozlišujeme dva izomery zeatinu *cis*- a *trans*-. Inaktivace zeatinu je možná buď konjugací nebo degradací. Zeatin může konjugovat na purinovém kruhu v pozici *N7* a *N9* nebo na OH-skupině izoprenoidního řetězce. *N9* atom je schopný konjugace s glukosou, ribosou a aminokyselinami. Možná je i oxidativní degradace způsobená CK oxidasou/dehydrogenasou a redukce na dihydrozeatin (Mok a Mok, 2001).

Monosacharidový konjugát *t*-Zeatin-*O*-glukosid (ZOG) je rezistentní k působení CK oxidasy/dehydrogenasy a zřejmě slouží jako zásobní a transportní forma zeatinu. *O*-glukosidový konjugát může být převeden na aktivní formu pomocí CK specifické β -glukosidasy (Armstrong, 1994; Letham, 1994). Rostlinný genom kóduje velké rodiny β -glukosidas s různou substrátovou specifitou. Zm-p60.1 reprezentuje doposud nejlépe charakterizovaný enzym vhodný jako molekulární nástroj ke studiu CK *O*-glukosilace v rostlinách. Aplikací zeatin-*O*-glukosid specifické β -glukosidasy Zm-p60.1. během časného vývoje semenáčků, narušíme jejich metabolickou síť (Brzobohatý a kol., 1993; Kiran a kol., 2006).

Cytokininová signální dráha je podobná bakteriální dvoukomponentní signální dráze, tvořenou receptorovou histidin kinázou (HK), fosfotransferovým proteinem (HP) a response regulátorem (RR). CK receptory u *Arabidopsis* jsou hybridní histidin kinázy AHK2, AHK3, AHK4. Obsahují extra-celulární doménu vážící CK – CHASE domain, histidin kinázovou doménu a receiver doménu. HP jsou u *Arabidopsis* kódovány pěti geny, zprostředkovávají vedení signálu od histidin kináz k response regulátorům (Suzuki a kol., 2001).

U *Arabidopsis* najdeme 32 response regulátorů, rozdělených do tří hlavních skupin: typ-A, typ-B a pseudo-response regulátory. Typ-A je tvořen jednoduchou receiver doménou obsahující konzervovanou oblast s motivem D-D-K, kde druhý aspartátový zbytek získává fosforylovou skupinu z fosfotransmiteru (Hwang a kol., 2002; Kakimoto, 2003). Pouze typ-A je transkripčně regulován cytokininy, a negativně reguluje svojí vlastní CK indukovanou expresi. Odpověď na CK nastává do deseti minut a vrcholí do 40 min (Brandstatter a Kieber, 1998). Typ-B má velkou

N-terminální receiver doménu následovanou velkým C-terminálním rozšířením bohatým na glutamin (transkripčně aktivační funkce) a obsahujícím GARP DNA-vázací doménu (Hosoda a kol., 2002). Mnoho typ-B regulátorů se ukázalo jako pozitivní regulátory typ-A ARR (Hwang a Sheen, 2001; Sakai a kol., 2000). Pseudo-response regulátory mají atypickou receiver doménu bez D-D-K motivu (Hutchison a Kieber, 2002).

MATERIÁL A METODIKA

Rostlinný materiál

Byly zvoleny transgenní linie rostliny *Nicotiana tabacum* L. B10.8 a B10.7 nadprodukcující cytokinin specifické β -glukosidasy. Pro tyto linie je konečným úložištěm β -glukosidasy extracelulární prostor. Jako kontrolní varianta byl zvolen *Nicotiana tabacum* cv Petit Havana SR1.

Růstové medium a podmínky kultivace

Na každou Petriho misku bylo vyseto deset semínek transgenní linie a deset z SR1. Semínka byla vyseta na živné MS medium s přísadkou 15g.l⁻¹ sacharózy, 2,5 μ M *t*-zeatin a 0,8% agaru pro ztužení. Misky byly umístěny do kultivační komory ve vertikální poloze a inkubovány za konstantních podmínek při režimu 8h světlo/16h tma; 21/19 °C, den/noc; a při osvětlení 80 μ mol fotonů na m⁻².s⁻¹. Jednotlivé odběry byly po 14, 21, 28 a 32 dnech po vysetí (DAS). U jednotlivých odběrů byla nejprve stanovena FW a získaný materiál byl podroben dalším analýzám (CK analýza, imunolokalizace, histochemické barvení β -glukosidasy, RT-PCR).

Stanovení přítomnosti β -glukosidasy

K histochemické detekci β -glukosidasy bylo použito dvoustupňové indigogenní reakce využívající jako substrát 5-brom-4-chlor-3-indolyl- β -D-glukopyranosid (X-Glc). Barvicí směs obsahovala 0,4 M citrát-fosfát pufru (pH 5,6), 500 μ M K₄[Fe(CN)₆], 500 μ M K₃[Fe(CN)₆] a 0,1 mg.ml⁻¹ X-Glc. Semenáčky byly barvivem prosycovány 3 x 5 min ve vakuu a následně inkubovány čtyři hodiny při 30 °C. Po inkubaci byly semenáčky opláchnuty ve vodě a odbarveny 70% ethanolom.

K potvrzení overexprese extracelulární β -glukosidasy Zm-p60.1 u zvolených linií sloužilo RT-PCR. Jako loading-control byl použit tubulin.

Hmotnostní analýza – stanovení čerstvé hmotnosti (FW)

Pro tuto analýzu byly pěstovány rostliny na výše zmíněném mediu (MS) a i na mediu s přísadkou zeatinu (Z). Semenáčky byly váženy po pěti. Po zvážení došlo k jejich hlubokému zamražení v tekutém dusíku a následnému uložení do mrazícího boxu pro pozdější CK analýzu.

Vyhledávání v EST databázích

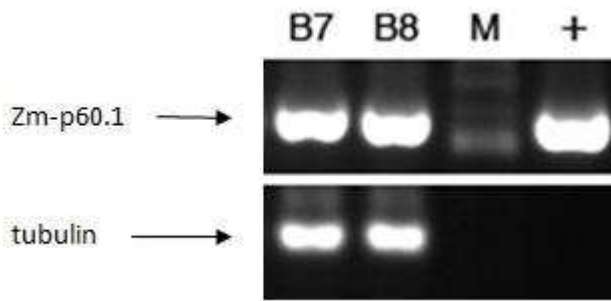
MENDELNET 2010

Postup pro vyhledávání tabákových ortologů k typu-A Arabidopsis response regulatorů (ARRs) byl zvolen podle Cortizo a kol., 2010, kteří stejným postupem hledali typ-A response regulátory u *Pinus pinea* L. K vyhledávání bylo použito šest předloh ARRů – ARR3, ARR4, ARR5, ARR6, ARR7, ARR15. U těchto šesti proteinů byl na aminokyselinové úrovni stanoven sekvenční konsenzus. Největší shoda byla v oblasti úseku receiver domény, charakteristické konzervované aminokyselinové zbytky D-D-K, které jsou konzervované ve všech response regulátorech. Vyhledávání proběhlo v EST databázích *N. tabacum taxid 4097* pomocí protokolu tblastn na NCBI, hledána byla konzervovaná oblast receiver domény s konzervovanými zbytky D-D-K.

VÝSLEDKY A DISKUZE

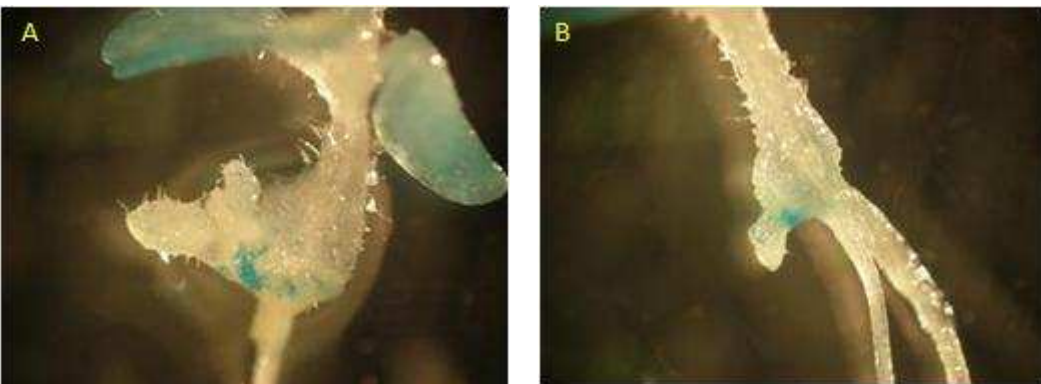
Monitorování exprese

Na základě výsledků RT-PCR extracelulární Zm-p60.1 byla zjištěna stejná hladina exprese u obou analyzovaných variant (Obr.1).



Obr. 1. RT-PCR extracelulární Zm-p60.1 - Výrazné proužky odpovídají Zm-p60.1 cDNA přítomné pouze u transformantů (B10.8, B10.7) Jako kontrola byla použita amplifikace tubulinové cDNA.

Na médiu s přidavkem zeatinu došlo u transgenních i standartních rostlin kolem 21 dne růstu k formování ektopických výrůstků v oblasti báze hypokotylu, které již 28 den byly znatelně viditelné. Vývoj těchto výrůstků byl u transgenních variant pokročilejší než u SR1. V této oblasti byla na základě indigogenního histochemického barvení používající X-Glc, prokázána přítomnost enzymu Zm-p60.1 (Obr. 2A, 2B). Spojení mezi hypokotylem a kořenem je jedno z míst akumulace auxinů (Ni a kol., 2001) a současná dostupnost aktivních cytokininů může vést k aditivnímu efektu na jeho vývoj (Rashotte a kol., 2005). To může být možnou příčinou proč ektopické struktury vznikají v tomto místě (Kiran a kol., 2006). Dále byla Zm-p60.1 u linií B10.8 a B10.7 detekována v listech, zde však bez morfologického projevu. Listy obvykle neakumulují auxin a tak nedochází k tvorbě ektopických výrůstků jako u hypokotylu.



Obr.2. – Histochemické barvení β -glukosidasy Zm-p60.1 u semenáčků *N. tabacum L.*, 28DAS.

(A, B)-transgenční linie akumulující Zm-p60.1 extracelulárně

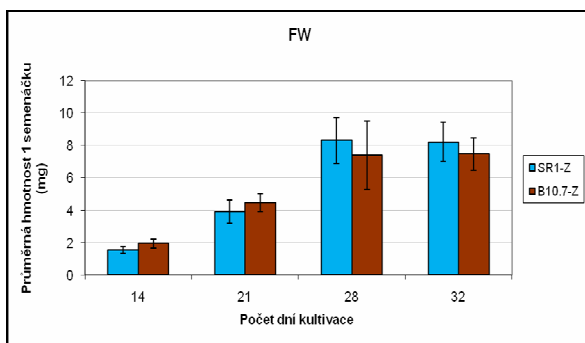


Obr.2. – Histochemické barvení β -glukosidasy Zm-p60.1 u semenáčků *N. tabacum L.*, 28DAS. (C) - SRI, detail stonkové apikální části; (D) – SRI, detail báze hypokotylu. Žádné viditelné indigogenní zbarvení \rightarrow Zm-p60.1 není v rostlině přítomná

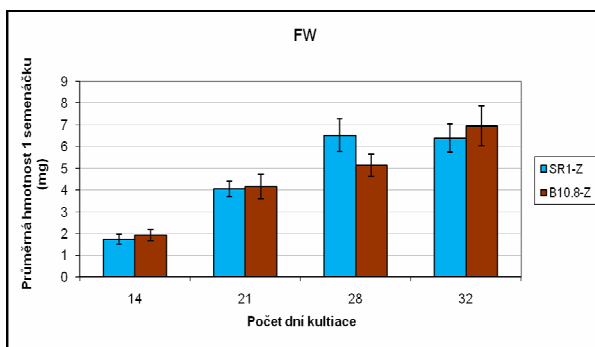
Fenotypová analýza

Linie B10.8 a B10.7 rostoucí na Z mediu nevykazovaly žádné signifikantní rozdíly v čerstvé hmotnosti v porovnání s SRI (Obr. 3A, 3B).

Obr. 3A. FW linie B10.7 pěstované na Z mediu

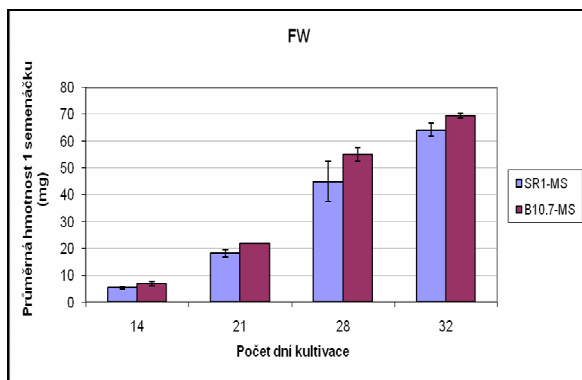


Obr. 3B. FW linie B10.8 pěstované na Z mediu

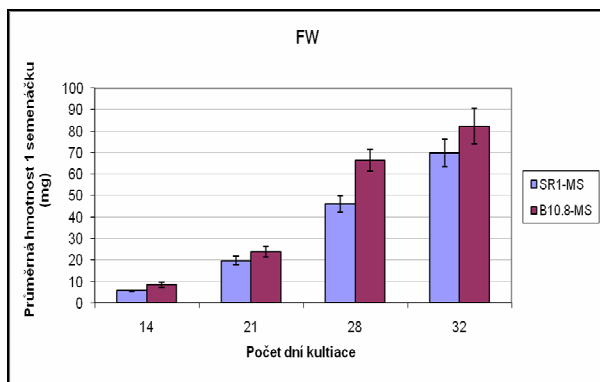


Během kultivace extracelulárních linií na MS mediu byl již pozorován statisticky významný signifikantní rozdíl nárůstu FW mezi transgenními liniemi a SR1 (Obr.4A, 4B).

Obr.4A. FW linie B10.7 pěstované na MS mediu



Obr.4b. Fw linie b10.8 pěstované na MS mediu

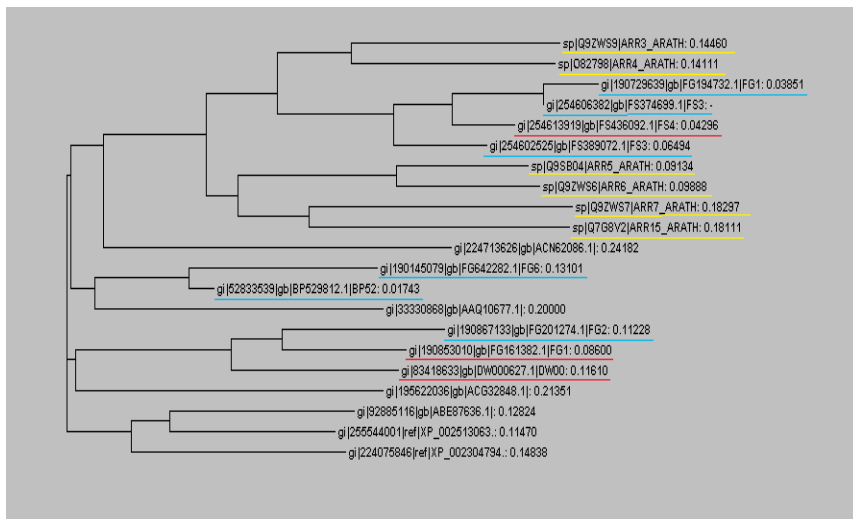


Stejný trend nárůstu FW u dvou nezávislých linií pěstovaných na MS je pravděpodobně způsoben schopností transgenických linií převadět pomocí extracelulární Zm-p60.1 větší množství zeatin-O-glukosid na aktivní zeatin, rostliny tedy disponují větším množstvím aktivního zeatinu oproti SR1. Tento jev není pozorovatelný při kultivaci na Z mediu, neboť přirozený metabolický nárůst cytokininů během kultivace je zastíněn exogenně přidaným zeatinem již od počátku kultivace.

Vyhledávání v EST databázích

Na základě vyhledaných výsledků pomocí protokolu **tblastn** bylo vybráno devět možných kandidátů (gi|83418633, gi|52833539, gi|190853010, gi|190729639, gi|190867133, gi|190145079, gi|254606382, gi|254606382, gi|254602525, gi|254613919) jako ortologů k šesti zvoleným typ-A ARR. Pro vybrané EST byl charakteristický různý stupeň konzervovanosti. Získané EST byly porovnány na základě nukleotidových sekvencí s konzervovanou oblastí receiver domény typ-A response regulátorů (Obr.5), pomocí nástroje **ClustalW2**. Následkem tohoto alignmentu došlo k vyloučení šesti (gi|52833539, gi|190729639, gi|190867133, gi|190145079, gi|254606382, gi|254602525) z devíti kandidátů. U gi|190729639, gi|190145079, gi|254606382, gi|254602525 nebyl zachován aminokyselinový motiv v oblasti konzervovaného lysinu. U gi|52833539 a gi|190867133 byl pozorován frame-shift krátce po konzervovaném lysinu, jehož důsledkem byla koncová část receiver domény těchto dvou sekvencí odlišná od hledaného původního aminokyselinového konsenzu.

Pro zbylé kandidáty (gi|83418633, gi|190853010, gi|254613919) charakteristické vysokým stupněm konzervovanosti byly navrženy primery za účelem monitorování exprese genů výše zmíněných linií. Pro gi|254613919 bylo navíc nutné navrhnout forward primer s vazebným místem pro enzym HIND III nebo ECOR I, protože tento EST nemá stop kodon, který je nutné dohledat.



Obr. 5 Fylogenetický strom sestavený na základě alignmentu z vybraných typ-A response regulátorů: *Arabidopsis thaliana* (sp|Q9ZWS9, sp|O82798, sp|Q9SB04, sp|Q9ZWS6, sp|Q9ZWS7, sp|Q7G8V2), *Catharantus roseus* (gi|33330868), *Medicago truncatula* (gi|92885116), *Populus trichocarpa* (gi|224075846), *Ricinus communis* RR8 (gi|255544001), *Zea mays* (gi|195622036), *Nicotiana tabacum* L. (gi|83418633, gi|52833539, gi|190853010, gi|254613919, gi|190729639, gi|190145079, gi|254606382, gi|254602525, gi|190867133).

Položky podtržené žlutě jsou typ-A response regulátorů *Arabidopsis thaliana*, modré podtržení zvýrazňuje položky vyřazené z prvního souboru výsledků získaných na základě hledání pomocí tblastn , červeně jsou podtržené finálně vybrané položky s nejvyšším stupněm konzervovanosti receiver domény. Položky bez podtržení byly vybrány na základě práce Cortizo a kol.,2010.

ZÁVĚR

Z výše diskutovaných výsledků lze odvodit: I mírný nárůst zeatinu v extracelulárním prostoru může mít signifikantní vliv na nárůst hmotnosti extracelulárních variant semenáčků, z čehož plyne, že Zm-p60.1 je aktivní i v extracelulárním prostoru. U těchto variant lze z morfologického hlediska nalézt Zm-p60.1 na bázi hypokotylu a v listech.

Předpokládá se, že se zvýšenou expresí Zm-p60.1, dochází k pozměnění i CK metabolismu. S touto změnou souvisí pravděpodobně i změna exprese response regulátorů u transgenních variant v porovnání s SR1. Tento jev se snažíme dokázat pomocí vyhledávání tabákových ortologů k ARR5.

LITERATURA

- Brandstatter I, Kieber J.J. (1998): Two genes with similarity to bacterial response regulators are rapidly and specifically induced by cytokin in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 10:1009-1020.
- Cortizo M., Álvarez J.M., Rodríguez A., Fernández B., Ordás R.J. (2010): Cloning and characterization of a type-A response regulator differentially expressed during adventitious shoot formation in *Pinus pinea* L. *Journal of Plant Physiology*, 167: 1023-1026.
- Haberer G, Kieber J.J. (2002): Cytokinins. New insights into a classic phytohormone. *Plant Physiology* 128, 354–362.
- Hosoda K., Imamura A., Katoh E., Hatta T., Tachiki M., Yamada H., Mizuno T., Yamazaki T. (2002): Molecular structure of the GARP family of plant Myb-related DNA binding motifs of the *Arabidopsis* response regulators. *Plant Cell* 14: 2015-2029.
- Hutchison C.E., Kieber J.J. (2002): Cytokinin signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 14: S47-59.
- Hwang I., Sheen J. (2001): Two-component circuitry in *Arabidopsis* signal transduction. *Nature* 413: 383-389.
- Hwang I., Chen H-C, Cheen J. (2002). Two-component signal transduction pathway in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 129:500-515.
- Kakimoto T. (2003): Perception and signal transduction of cytokinins. *Annu. Rev. Plant Biol.* 54: 605-627.
- Nagavalli S. Kiran, Lenka Polanská, Radka Fohlerová, Pavel Mazura, Martina Válková, Miloslav Šmeral, Jan Zouhar, Jiří Malbeck, Petre I. Dobrev, Ivana Macháčková a Břetislav Brzobohatý (2006): Ectopic over-expression of the maize b-glucosidase. *Zm-p60.1* perturbs cytokinin homeostasis in transgenic tobacco. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 57, No. 4, pp. 985–996.
- Ni DA, Wang LJ, Ding CH, Xu ZH. (2001): Auxin distribution and transport during embryogenesis and seed germination of *Arabidopsis*. *Cell Research* 11, 273–278.
- Sakai H., Aoyama T., Oka A. (2000): *Arabidopsis* ARR1 and ARR2 response regulators operate as transcriptional activators. *Plant J.* 24: 703-711.
- Suzuki T., Miwa K., Ishikawa K., Yamada H., Aiba H., Mizuno T. (2001): The *Arabidopsis* sensor His-kinase, AHK4, can respond to cytokinin. *Plant Cell Physiol.* 42: 107-113.
- Rashotte A.M., Chae H.S., Maxwell B.B., Kieber J.J. (2005): The interaction of cytokinin with other signals. *Physiol. Plant.* 123: 184-194.
- Yonekura-Sakakibara K., Kojima M., Yamaya T., Sakakibara H. (2004): Molecular characterization of cytokinin-responsive histidine kinases in maize. Differential ligand preferences and response to *cis*-zeatin. *Plant Physiol.* 134: 654-661.

INTENSITY OF WHITE LIGHT MODULATES PHOSPHOPROTEOME DYNAMICS IN RESPONSE TO CYTOKININ TREATMENT IN *ARABIDOPSIS*

Divíšková E., Brzobohatý B.

Department of Molecular Biology and Radiobiology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: eva.diviskova@mendelu.cz

ABSTRACT

In plants, cytokinins (CKs) have been implicated in many developmental processes and responses to environmental cues. Light and 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 quantity of white light at the phosphoproteomic level, we employed phosphoproteome isolation followed by 2-DE and image analysis to compare changes in phosphoproteome dynamics in *Arabidopsis thaliana* seedlings in response to CK treatment 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. We followed phosphoproteomic changes in course of 2, 6 and 15 minutes intervals of CK treatment. 34 differentially expressed phosphoprotein spots (representing about 8 % of detected spots) were found. Out of the 34 phosphoprotein spots, 5 were regulated in a comparable fashion at both light intensities, while opposing regulation was found for 15 phosphoprotein spots at the two light intensities. 3 phosphoprotein spots were differentially regulated at only standard or decreased light intensity, respectively.

Key words: cytokinin, phosphorylation, posttranslation modification

Acknowledgments: This work was supported by the Internal Grant Agency of the Faculty of Agronomy of the Mendel University in Brno, Czech Republic (IGA 2/2010), the Ministry of Education of the Czech Republic (1M06030), and the Grant Agency of the Academy of Sciences of the Czech Republic (IAA600040701).

DESIGNING RECOMBINANT MAIZE β -GLUCOSIDASE Zm-p60.1: DEVELOPMENT OF NOVEL ENZYMES MODULATING CYTOKININ METABOLISM

Filipi T.¹, Mazura P.¹, Dopitová R.², Janda L.², Damborský J.³, Kiran N.S.¹, Brzobohatý B.¹

¹Department of Molecular Biology and Radiobiology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

²Department of Functional Genomics and Proteomics, Masaryk University, Kamenice 5, 625 00 Brno, Czech Republic

³Loschmidt Laboratories, Masaryk University, Kamenice 5, 625 00 Brno, Czech Republic

E-mail: filipi@biomed.cas.cz

ABSTRACT

Maize β -glucosidase Zm-p60.1 is one of many enzymes which are important for plant development. It liberates free zeatin from its transport and/or storage form zeatin-*O*-glucoside. Using an adapted site specific non-saturated random mutagenesis approach, it were prepared five multi-site mutants surrounding the active site (W373K/M376L, W373K/P372S/M376L, W373K/P372T/M376L, W373K/P372S and W373K/P372T) derived from the single mutant W373K to study the effect(s) of amino-acid changes on substrate specificity towards natural (*trans*-zeatin-*O*- β -D-glucopyranoside and *cis*-zeatin-*O*- β -D-glucopyranoside) and artificial (4-nitrophenyl-*O*- β -D-glucopyranoside and 4-methylumbelliferyl *O*- β -D-glucopyranoside) substrates. Kinetic and substrate specificity studies confirmed large differences among set of mutated enzymes. All enzymes surprisingly preferred *cis*-zeatin-*O*- β -D-glucopyranoside over *trans*-zeatin-*O*- β -D-glucopyranoside, whereas differences in hydrolytic efficiencies are considerable. Quantitative TLC confirmed the best *cZOG*/*tZOG* hydrolysis ratio toward *cis*-zeatin-*O*- β -D-glucopyranoside in the triple mutant W373K/P372T/M376L. Moreover, it was also confirmed that only wild-type hydrolyzed *trans*-zeatin-*N*9- β -D-glucopyranoside. No known plant β -glucosidase hydrolyzes this substrate. Hydrolysis of *trans*-zeatin-*N*7- β -D-glucopyranoside was not observed at all.

Key words: Zm-p60.1, β -glucosidase, maize, *tZOG*, *cZOG*, cytokinin, protein evolution, protein mutagenesis

Acknowledgments: Research is supported by grant LC 06034.

ÚVOD

Metabolismus cytokininů společně s dalšími metabolickými drahami fytohormonů rostlin ovlivňuje celou řadu vývojových procesů. Fytohormony bývají dočasně, nebo trvale inaktivovány konjugací s monosacharidy, aminokyselinami atd. V případě cytokininů existují dvě možnosti jejich deaktivace – *N*-glukosylace vytváří trvale inaktivované glukosidy, které jsou dále enzymaticky definitivně eliminovány, zatímco *O*-glukosylace vytváří glukosidy, které mohou být v případě potřeby pomocí specifické β -glukosidasy opět uvolněny (Sakakibara, 2006). Kukuřičná β -glukosidasa Zm-p60.1 je schopna štěpit kinetin-*N*3- β -D-glukospyranosid a *trans*-zeatin-*O*- β -D-glukopyranosid (Brzobohatý et al., 1993). Struktura a funkce Zm-p60.1 byla podrobně studována (Rotrekl et al., 1999; Zouhar et al. 2001; Kiran et al., 2006; Dopitová et al., 2008). Studium aktivního centra enzymu odhalilo řadu aminokyselin, které se podílejí na interakci se substrátem (Rotrekl et al., 1999; Zouhar et al., 2001; Dopitová et al., 2008).

Řešená práce představuje analýsu substrátové specifity pěti nových vícenásobných mutantů W373K/M376L, W373K/P372S/M376L, W373K/P372T/M376L, W373K/P372S a W373K/P372T, odvozených z mutanty W373K (Dopitová et al., 2008), vůči přirozeným (*trans*-zeatin-*O*- β -D-glukopyranosid, *cis*-zeatin-*O*- β -D-glukopyranosid) a umělým (4-nitrofenyl-*O*- β -D-glukopyranosid a 4-methylumbellyferyl-*O*- β -D-glukopyranosid) substrátům.

MATERIÁL A METODIKA

Řízená mutagenese, purifikace rekombinantních proteinů, enzymová kinetika, kvantitativní TLC

VÝSLEDKY A DISKUZE

Bylo zjištěno, že všechny nové mutanty, včetně W373K a WT, více preferují *c*ZOG než *t*ZOG jako substrát. Mutanta W373K/P372T/M376L vykazuje největší posun v hydrolytické preferenci vůči oběma přirozeným substrátům. Zatímco hydrolysa *t*ZOG je oproti WT velmi redukována, schopnost hydrolysy *c*ZOG je snížena podstatně méně.

ZÁVĚR

Specifickou změnou aminokyselin v okolí aktivního centra β -glukosidasy Zm-p60.1 lze cíleně měnit hydrolytické parametry vůči svým substrátům. Touto cestou je tedy možné vytvářet molekulární nástroje pro jemné ovlivňování cytokininového metabolismu rostlin.

LITERATURA

- B. Brzobohatý, I. Moore, P. Kristoffersen, L. Bako, N. Campos, J. Schell, K. Palme: Release of active cytokinin by β -glucosidase localized to the maize root meristem, *Science*, **262**, 1051-1054, (1993).
- R. Dopitová, P. Mazura, L. Janda, R. Chaloupková, P. Jeřábek, J. Damborský, T. Filipi, N. S. Kiran, B. Brzobohatý: Functional analysis of the aglycone-binding site of the maize β -glucosidase Zm-p60.1, *FEBS Journ.*, **275**, 6123-6135, (2008).
- N. S. Kiran, L. Polanská, R. Föhlerová, P. Mazura, M. Válková, M. Šmeral, J. Zouhar, J. Malbeck, P. I. Dobrev, I. Macháčková, B. Brzobohatý. Ectopic over-expression of the maize β -glucosidase Zm-p60.1 perturbs cytokinin homeostasis in transgenic tobacco, *J. Exp. Bot.*, **57**, 985-996, (2006).
- V. Rotrekl, E. Nejedlá, I. Kučera, F. Abdallah, K. Palme, B. Brzobohatý. The role of cysteine residues in structure and enzyme activity of a maize β -glucosidase, *Eur. J. Biochem*, **266**, 1056-1066, (1999).
- H. Sakakibara: CYTOKININS: Activity, biosynthesis, and translocation, *Annu. Rev. Plant Biol.*, **57**, 431-449, (2006).
- J. Zouhar, J. Vévodová, J. Marek, J. Damborský, Xiao-Dong Su and B. Brzobohatý. Insights into the functional architecture of the catalytic center of a maize β -glucosidase Zm-p60.1, *Plant Physiol.*, **127**, 973-985, (2001).

EFFECT OF DECREASED LIGHT INTENSITY ON ARABIDOPSIS RESPONSIVENESS TO INCREASED LEVELS OF ENDOGENOUS CYTOKININS – A PROTEOMIC ANALYSIS

Jajtnerová M.¹, Dyčka F.², Bobařová J.², Brzobohatý B.¹

¹Mendel University in Brno & Institute of Biophysics AS CR, Brno, Czech Republic

²Institute of Analytical Chemistry AS CR, 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 quantity of white light at the proteomic level, we used 2-DE followed by image analysis and MALDI-TOF/TOF MS to compare 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 activation of the CK-biosynthetic gene *ipt*, we followed proteomic changes during subsequent 5 days of cultivation. 61 differentially expressed protein spots (representing about 12% of detected spots) were found. 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 56 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, 1M06030, AV0Z50040507, AV0Z50040702 and AV0Z40310501.

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, podléjí se na regulaci organogeneze a regeneraci rostlin. 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. 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.

THE RNA ISOLATION FROM GENETIC RESOURCES OF COLOURED GRAIN WHEAT

Musilová M., Trojan V., Vyhnánek T., Havel L.

Department of Plant Biology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: milena.musilova@mendelu.cz

ABSTRACT

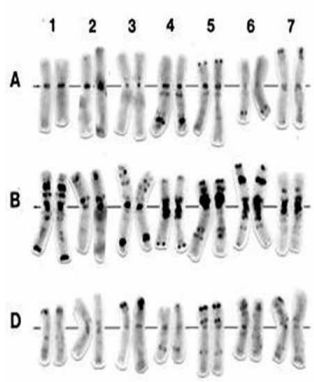
There are several genotypes of wheat with different, genetically determined, grain colour: purple, blue yellow and white. These coloured grain wheat was obtained through wide hybridization among common wheat (*Triticum* L., $2n=42$) and other related genotypes, such as *Agropyron elongatum*, purple-grained tetraploid wheats from Ethiopia etc. The grown common wheat has red coloured grain. The different coloured grains can be used in food industry for a production of new products which could be not only attractive for consumers but they would be also good for their health. The purple and blue forms content different anthocyanins, compounds well known as antioxidants. Our objective based on flavonoid biochemical pathway was to find genes responsible for different grain coloration in a group of 5 genotypes. The first procedure of the analyses was the RNA isolation, a very important step to manage the whole experiment. The isolation of intact, functional total RNA from coloured-grained wheat containing high levels of starches, polysaccharides, and flavonoids was extremely difficult, that is why were used 3 commercial isolation kits (NucleoSpin RNA Plant - Macherey-Nagel, RNeasy Plant Mini Kit - Qiagen, UltraClean Plant RNA Isolation Sample Kit - MO BIO). There is very important to obtain enough RNA of good quality by the isolation, because there is requested at least $125 \text{ ng} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ of RNA for RT PCR (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction). The range of isolated RNA number is optimal from $125\text{-}150 \text{ ng} \cdot \mu\text{l}^{-1}$. According to the results from 3 different isolations 1 kit was chosen. The amount of RNA isolated by the kit UltraClean Plant RNA Isolation Sample Kit (MO BIO) was $530.3 \text{ ng} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ of purity 2.1.

Key words: wheat, coloured grain, RNA isolation

Acknowledgments: This study was supported by project IGA FA MENDELU No. TP 1/2010.

ÚVOD

Předmětem práce je na základě biosyntetické dráhy flavonoidů vyhledat geny zodpovědné za zbarvení obilek a provést jejich sekvenční porovnání v souboru 5 genotypů pšenice s diferencovaným zabarvením obilek. Pěstované odrůdy pšenice seté (*Triticum aestivum*) mají červené zbarvení obilky. Existují však i odrůdy nebo genotypy, které mají zbarvení obilky odlišné – purpurové, modré, žluté a bílé. Z biochemického hlediska jde o to, že z flavonoidů vznikají mimo jiné flavan-4-oly a dihydroflavonoly, z nichž poté vznikají leukoanthokyaniny. Z těchto se pak leukoanthokyanidin reduktázou odvozuje flavan-3-oly, které mají žlutou a bílou barvu a na druhé straně enzym leukoanthokyanidin dioxygenáza katalyzuje tvorbu 3-hydroxy anthokyanů, z nichž za účasti 3 enzymů (O-metyl transferáza, flavonoid glukosyl transferáza, rhamnosyl transferáza) vznikají další typy anthokyanů (modré, purpurové aj.) Tato zbarvení jsou podmíněna přítomností příslušných genů. V případě purpurových a modrých obilek se jedná o antokyany. U žlutých obilek je to zvýšený obsah karotenoidů. U bílých obilek jde o redukcí exprese genů, které podmiňují tvorbu enzymů katalyzujících vznik flavonoidů (Himi a Noda, 2005). Nejběžnější, červené, zbarvení je způsobeno deriváty katechinu a taninu. Tyto látky nejen podmiňují zbarvení obilek, ale některé jejich vlastnosti, např. antioxidační účinky, mohou výrazně ovlivňovat dietetickou hodnotu výsledných potravinářských produktů. K expresi těchto genů nedochází v celé obilce. Tvorba jednotlivých barviv je pak omezena na jednotlivé části obilky. Purpurová barviva jsou obsažena v perikarpu a testě obilky, modrá jsou v aleuronové vrstvě a žlutá v endospermu. Geny zodpovědné za tzv. netradiční zbarvení obilek byly lokalizovány na různých chromozomech genomu pšenice (obr. 1) (Trojan et al., 2010).



Karyogram hexaploidní pšenice je rozdělen do čtyř skupin (A, B, D) a sedmi párů (1-7). Každý pár chromozomů je barevně označen podle genů zodpovědných za zbarvení obilek. Skupina A obsahuje chromozomy 7B, 7A a 2A. Skupina B obsahuje chromozomy 4BL a 4A. Skupina D obsahuje chromozomy 7A, 7B, 5A a 5B. Každý chromozom je spojen s konkrétním označením genu.

CHROMOZOM	OZNÁČENÍ GENU
PURPUROVÁ BARVA	
7B	<i>Pp1</i>
7A	<i>Pp2</i>
2A	<i>Pp3a, Pp3b</i>
MODRÁ BARVA	
4BL	<i>Ba1</i>
4A	<i>Ba2</i>
ŽLUTÁ BARVA	
7A	<i>Psy1-A1</i>
7B	<i>Psy1-B1</i>
5A	<i>Psy2-A1</i>
5B	<i>Psy2-B1</i>
ČERVENÁ BARVA	
3AL	<i>R-A1</i>
3BL	<i>R-A2</i>
3DL	<i>R-A3</i>

Obr. 1 Chromozomy hexaploidní pšenice, geny odpovědné za zbarvení obilek a jejich umístění

RNA, kterou izolujeme z obilek, je nutno reverzní transkripční přepsat do cDNA, tuto pak amplifikovat pomocí degenerovaných primerů. Získané amplikony se po přečistění naklonují do vektoru a budou podrobeny následné sekvenaci. Získané sekvence budou porovnány se sekvencemi genů databáze NCBI (National Centre for Biotechnology Information). Získané sekvence budou využity i pro návrh specifických primerů umožňující studium exprese v průběhu zrání obilky.

Kvalita izolovaného materiálu často rozhoduje o úspěšnosti navazujících postupů. Cílem extrakčních a purifikačních procesů je získat nukleovou kyselinu v nativním stavu v dostatečném množství a čistotě. Metody izolace nukleových kyselin využívají rozdílné rozpustnosti biologických makromolekul, adsorpce na pevný podklad nebo ultracentrifugace v gradientních roztocích. Výběr metody purifikace DNA nebo RNA závisí na způsobu její následné analýzy (Šmarda et al., 2005).

MATERIÁL A METODIKA

Soubor genotypů s rozdílným zbarvením obilek byl poskytnut ze ZVÚ Kroměříž, s.r.o. Jedná se o 5 vzorků ('ANK-28B', 'Abyssinskaja Arreseita', 'UC 66049', 'Tschermaxs Blauörniger Sommerweizen' a 'Heroldo'). Jelikož se příslušné geny různého zbarvení obilek exprimují v době jejich dozrávání (mléčná zralost, cca 20 dní *post anthesis*), nebylo možno RNA izolovat z listů či kořínků. Odběry z polních podmínek v ZVÚ Kroměříž proběhly v termínech 2., 15. a 19. 7.2010. Po extirpaci obilek byly vzorky uskladněny v hlubokomrazicím boxu při -70°C. Izolace RNA se provedly pomocí 3 komerčních kitů (NucleoSpin RNA Plant f. Macherey-Nagel, RNeasy Plant Mini Kit f. Qiagen, UltraClean Plant RNA Isolation Sample Kit f. MO BIO). Izolace celkové rostlinné RNA se skládá z několika kroků. Nejdříve je potřeba rostlinný materiál homogenizovat. Byly zvoleny 2 způsoby, drcení vzorků celých obilek o hmotnosti do 100 mg zmrazených tekutým dusíkem jednorázovými drátky přímo v Eppendorf zkumavkách nebo tloučkem v třecí misce prostředkem RNase Zap. Po homogenizaci následuje po přidání pufrů buněčná lyze a filtrace tohoto lyzátu. Po úpravě podmínek etanolem dojde k navázání RNA na silikagelovou membránu kolonky. Tato membrána se MDB (Membráně Desalting Buffer) pufrům odsolí, aby mohla následně proběhnout enzymatická reakce DNázou. Při tomto kroku se degraduje DNA, tudíž na membráně zůstává už jen RNA, kterou pomocí promývacích pufrů vyvážeme z membrány a v posledním kroku tuto RNA vymyjeme vody, která neobsahuje RNázu.. Takto vyzolovanou RNA dále uchováваме krátkodobě při -20°C, dlouhodobě při -80°C. Dalším postupem je reverzní transkripce vyzolované RNA do cDNA. Pro účely této reakce byl vybrán taktéž komerční kit (Enhanced Avian HS RT-PCR-100 Kit f. Sigma-Aldrich). Výrobce tohoto kitu deklaruje optimální množství RNA pro přepis 125 ng.µl⁻¹. Kontrola přítomnosti, výtěžnost a kvalita získané RNA byla měřena na spektrofometrických přístrojích Picodrop a Nanodrop 2000.

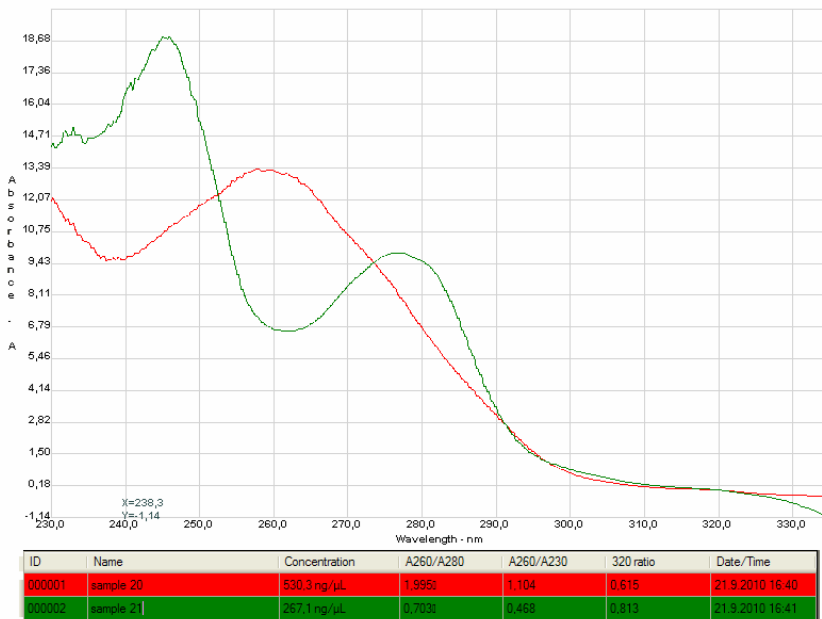
VÝSLEDKY A DISKUZE

Při studiu regulace vzniku flavonoidů a jejich lokalizace v určitých částech rostlin, byly izolovány a popsány klony genomové cDNA, kódující většinu genů podléhajících se na biosyntéze flavonoidů. Studie časové a prostorové exprese některých z těchto genů přinesly velmi cenné informace o jejich důležitosti při regulaci biosyntézy flavonoidů, ve vztahu ke specifické akumulaci těchto flavonoidů v určitých pletivech a orgánech v průběhu vývoje rostliny a k adaptaci rostliny k rozmanitým vnějším stresům. Analýzy prokázaly úzký vztah mezi aktivitou enzymů a akumulací flavonoidů

(Koorneef 1990; Shirley et al. 1995). Při mapování těchto genů je potřeba získat z materiálu dostatečné množství RNA o odpovídající čistotě.

Jak uvádí Gao et al. (2001) je izolace RNA tradičními metodami z materiálů s vysokým procentem škrobu velice obtížná. Z důvodů nedostatečné čistoty a nízké výtěžnosti (max. $50 \text{ ng} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ pomocí kitů f. Macherey-Nagel a f. Qiagen) byl k izolaci použit ještě kit f. MO BIO.

Ribonucleic Acid



Graf. 1 Koncentrace RNA ve vzorcích modrých (20) a purpurových (21) obílek po izolaci kitem fi. MO BIO, měřena na přístroji Picodrop

Dosažená výtěžnost při izolaci tímto kitem byla $267,1$ a $530,3 \text{ ng} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ (graf 1), tudíž dostatečná pro přepis do cDNA, která je v našem případě $125 \text{ ng} \cdot \mu\text{l}^{-1}$. Gao et al. (2001) použitím metody izolace SDS/fenol dosáhl stabilní výtěžnosti z navážky 1 g v rozmezí od $350 - 400 \text{ ng} \cdot \mu\text{l}^{-1}$. V našem případě jsou výsledky o to uspokojivější, že nebylo potřeba tolik rostlinného materiálu, přičemž výtěžnost je velice dobrá. Škrob, ale také jiné polysacharidy a flavonoidy se mohou vázat nebo srážet s RNA, což činí izolaci RNA z pletiv obílek pšenice obzvláště obtížnou (Salzman et al., 1999). Při použití tohoto kitu byl také nejvíce eliminován problém s mazováním škrobu ve fázi buněčné lyze. Čistota RNA, tedy poměr absorbance při λ 260 nm (A260) a 280 nm (A280) odpovídal u vzorku modrého genotypu hodnotě 2,1. Výrobce kitu f. MOBIO pro přepis z RNA do cDNA deklaruje hodnoty mezi 1,9 až 2,1 jako optimální čistotu RNA. Vzorek č. 21 s purpurovou barvou obílek byl v průběhu izolace zkontaminován neznámou látkou o λ 240 nm, jak je patrné ze

zelené křivky grafu 1. Poměr absorbancí A260/ A280 ukazuje hodnotu 0,70; čili nedostatečně čistou RNA.

ZÁVĚR

Detailní znalosti o umístění a složení genů podmiňujících tvorbu anthokyanů a karotenoidů v obilkách pšenice jsou nezbytné pro cílené šlechtění této důležité obilniny. Poznatky o expresi genů zodpovědných za biochemické dráhy, které podmiňují tvorbu jednotlivých barviv v obilce, a lokalizaci této exprese, umožní regulovat produkci těchto metabolitů, a tak bude možné vhodnou volbou suroviny (celé nebo části obilky) ovlivňovat dietetickou hodnotu vyráběných potravinářských produktů.

Na základě zkušeností a výsledků získaných při izolaci RNA z odlišně zbarvených obilek pšenice se osvědčila homogenizace vzorků na třecí misce tloučkem. K izolaci RNA z rostlinných materiálů s vysokým obsahem škrobů doporučuji komerční izolační kit UltraClean Plant RNA Isolation Sample Kit f. MO BIO, neboť výtěžnost RNA a její čistota jsou dostatečné k přepisu RNA do cDNA pomocí RT PCR.

LITERATURA

- Gao JI., Liu JI., Li B., Li Z. (2001): Isolation and Purification of Functional Total RNA from Blue-grained Wheat Endosperm Tissues Containing High Levels of Starches and Flavonoids. *Plant Molecular Biology Reporter* 19: 185a – 185i.
- Himi E., Noda K. (2005): Red braun colour gene (R) of wheat is a Myb-type transcription factor, - *Euphytica*, 143: 239-242.
- Koorneef M. (1990): Mutation affecting the testa color in *Arabidopsis*. *Arabidopsis Inf Serv*, 28: 1 – 4.
- Salzman R.A., Fujita T., Zhu-Salzman K., Hasegawa P.M. and Bressan R.A. (1999): An improved RNA isolation method for plant tissues containing high levels of phenolic compounds or carbohydrates. *Plant Molecular Biology Reporter*, 17: 11-17.
- Shirley B. W., Kubasek W. L., Storz G., Bruggeman E., Koorneef M., Ausubel F. M., Goodman H. M. (1995): Analysis of *Arabidopsis* mutants deficient in flavonoid biosynthesis. - *Plant J.*, 8: 659 – 671.
- Trojan V., Bartl P., Musilová M., Vyhnanek T., Martinek P., Tremlová B. (2010): Barevné pšenice - genetika, šlechtění a potravinářské využití. In *HYGIENA ALIMENTORUM XXXI*. 1. vyd. Košice, Slovensko: Univerzita veterinárského lékařstva a farmácie v Košiciach, 5. – 7. 5. 2010: 335-337.
- Winkel - Shirley, B. (2001): Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. – *Plant Physiology*, 26 (2): 485 – 493.

HEAVY- METAL TOLERANCE IN GENUS *SILENE* – PLAY METALOTHIONEINS A CRUCIAL ROLE?

Nevertalová E., Hobza R.

Department of Plant Biology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: nevertalova@ibp.cz

ABSTRACT

Phenomenon of heavy metal tolerance was described in genus *Silene* for the first time. Up to now there is not enough evidence to explain physiological or genetic mechanisms that enable survival of plant genera, as well as genus *Silene*, in metalliferous sites like copper contaminated areas. On the basis of new investigation in other tolerant species it is proposed metallothioneins (MTs) are key compounds of copper tolerant homeostatic network. MTs are small metal binding proteins encoded in genome a lot of organisms. We discovered two new *MT3* genes in *Silene vulgaris* genome.

Key words: metallothioneins, *Silene vulgaris*, heavy metal tolerance

Acknowledgments: This work was supported by the IGA FA MENDELU No. TP 1/2010.

INTRODUCTION

Plant adaptation to soils with heavy metal contamination is a well-known ecological phenomenon. But only a minority of plant species can grow on metalliferous soils. Red campion (*S. dioica* L.) is used in geology as a bioindicator of high concentrations of copper (Martinka and Lux, 2006). Copper homeostasis consisted of several components for example copper reductases, copper transporters and metallothioneins (MTs). Recent genetic studies of heavy metal plant models have shown MTs are 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 a significant role in maintaining intracellular metal homeostasis, eliminating metal toxication and protecting against intracellular oxidative damages (Zhou *et al.*, 2006). The genes encoding MTs occur both in eukaryotes and prokaryotes. The similarity among *MT* genes within one species is often high (Hudspeth *et al.*, 1996). Some findings suggest that gene amplification is one of the mechanisms that play an important role in evolution of these genes (van Hoof *et al.*, 2001). This work was performed to isolate and characterize *MT* genes of *S. vulgaris* accessions and investigate their role in copper homeostasis.

MATERIAL AND METHOD

Seeds of tolerant *S. vulgaris* plant were collected from copper mines near Spiania Dolina. Hydroponic culture was used for test of tolerance, where tolerant and non-tolerant plants were exposed to linearly increasing concentrations of Cu^{2+} in the test solution ($200\mu\text{M}$ $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$) in defined light and temperature conditions. RNA was isolated using TRIzol reagent. Single-strand cDNA was prepared from $2\mu\text{g}$ of RNA. To amplify candidate *MT* genes from cDNA we used specific primers designed based on sequences from cDNA databases of several *Silene* species. After purification and sequencing candidate *MT* genes NCBI database was searched by BLAST program. From our data set we chose two new sequences belonging to *MT3* type. Radioactively labelled probe was constructed by random priming method and incorporation of $[\alpha\text{-P}^{32}]\text{dATP}$ and the *S. vulgaris* BAC library was screened. One BAC clone was finally selected and sequenced by 454 sequencing method. The expression of *MT3* genes was measured by qPCR.

RESULTS AND DISCUSSION

We measured a level of copper accumulation (Fig. 1). Surprisingly, copper accumulation is higher in copper sensitive accession. However this accession can not tolerate excess of copper in tissues and after achievement of limiting concentration plants died (Fig. 2). Copper tolerant accession accumulated lower copper in their tissues than non-tolerant plants. However level of accumulation is very high in both populations. The most interesting discovery is a presence of local duplication *MT3* genes in BAC clone (Fig. 3). We suppose the duplication plays a role in evolution of copper

tolerance. We have characterized flanking regulatory region of the *MT3A* gene and we found insertion of a retrotransposon in its promoter sequence. This *S. vulgaris* locus can be very crucial for copper homeostasis, our hypothesis is supported by occurrence of other genes associated with copper metabolism and collinearity with *Arabidopsis thaliana* locus. RT - qPCR of *MT3A* gene in leaves indicates unstable level of expression under linearly increasing concentrations of copper cations in solutions. The expression pattern can be influenced by different activation of retrotransposon. Root expression increases in excess of copper. Root expression correlates with root accumulation but not copper resistance. We indicated unequal expression level in tolerant and sensitive accessions. Up to now the biggest difference in expression of the *MT3* gene in the resistant and non resistant accessions was found by Hassinen *et al.* (2009) in *T. caerulescens*. *MT3* protein of *S. vulgaris* showed a high amino acid sequence identity with the *MT3* protein of *Brassica juncea*, *Typha angustifolia*, *Tamarix androssowii* and *Arabidopsis thaliana*, particularly in the cysteine-rich N-terminal and C-terminal sectors (Fig. 5). A copper sensitive yeast strain transformed with *MT3A* gene was able to grow at 75 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, whereas untransformed mutant died.

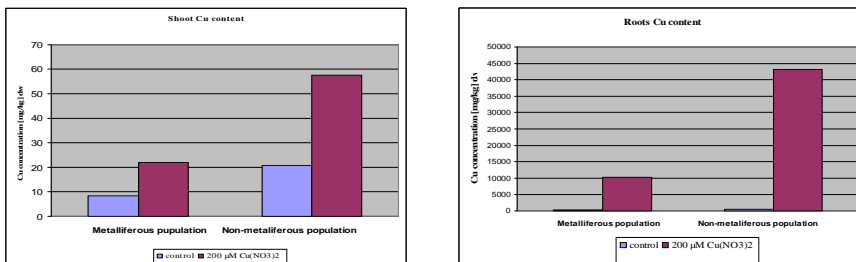
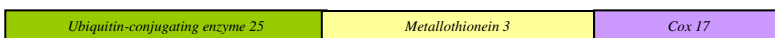


Fig. 1 Measurement of accumulation and tolerance

Arabidopsis thaliana locus



Silene vulgaris locus

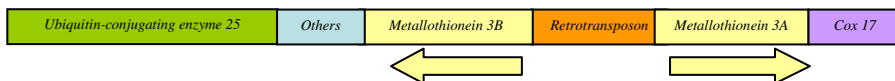


Fig. 2 The comparison of the *S.vulgaris* and *A. thaliana* locus containing *MT3* genes



Fig. 3 Dead copper-sensitive plant

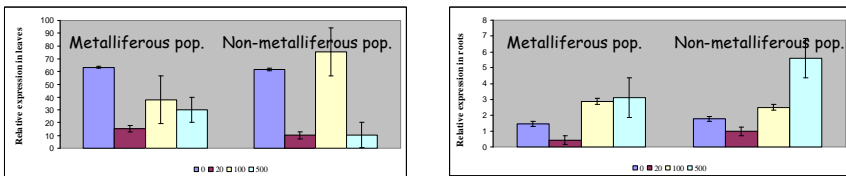


Fig. 4 Expression of MT3A gene in plants treated with different concentrations of $Cu(NO_3)_2$

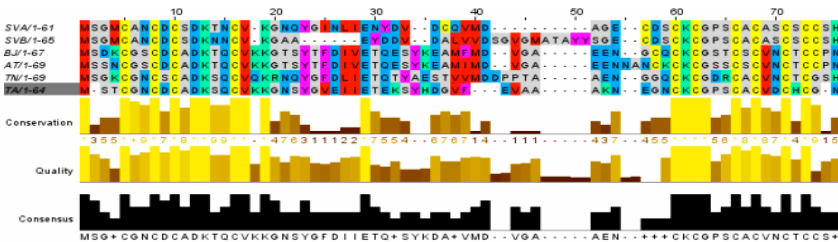


Fig. 5 Alignment of MT3 proteins of BJ=Brassica juncea, TA=Typha angustifolia, TN=Tamarix androssowii, SV=Silene vulgaris, AT=Arabidopsis thaliana

CONCLUSION

We isolated and characterised two MT3 genes. These genes are duplicated locally in genomic locus of *S. vulgaris*. Deduced protein of MT3A showed a deletion of ten amino acids. Another feature of the MT3A in *S. vulgaris* is a presence of higher number of cysteine residues that are important parts of metal binding domains. It is likely this specific protein structure can enable better chelated function.

LITERATURE CITED

COBBETT, Christopher, GOLDSBROUGH, Peter. Phytochelatins 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.

INCREASED LEVELS OF CYTOKININS INDUCE HR-LIKE CELL DEATH

Novák J.¹, Pavlů J.¹, Novák O.², Brzobohatý B.¹

¹Laboratory of Plant Molecular Biology, Mendel University in Brno and Institute of Biophysics AS CR, v.v.i, Brno, Czech Republic

²Palacký University & Institute of Experimental Botany, Olomouc, Czech Republic

E-mail: jan.novak@mendelu.cz

ABSTRACT

Cytokinins (CKs) can, among others, positively regulate shoot development and delay onset of senescence. However, recently opposite effects of CK action, namely promotion of programmed cell death, and cytotoxic effects of over-expression of the CK-biosynthetic gene *ipt* in tobacco, were recognized. Here we investigated effects of *ipt* expression in tobacco in detail. We show that hypersensitive response like cell death in expanded tobacco leaves proceeds shortly after *ipt* induction – the first lesions accompanied with huge wilting being observed in app. 60 hours after induction of *ipt* expression, and lesions can spread over the entire leaf area within 4 days after induction. Formation of visible lesions was preceded by increase in reactive oxygen species and membrane damage. Further, we demonstrate that lesion formation is a light-dependent process as it is prevented by shading. The level of key redox regulator glutathione was also diminished after *ipt* expression. Furthermore we show that expression of *ipt* is followed by stomata closure but resulting decrease in pore conductivity couldn't fully explain extent of damage to leaves as revealed by application of lanolin on surface of the leaves.

Key words: cytokinins, *ipt*, cell death, oxidative stress

Acknowledgments: Work was supported by grant 1M06030 from the Czech Ministry of Education, Youth and Sports.

PREPARATION OF CONSTRUCTS TO INDUCE VIRAL RESISTANCE IN PEA

Rohrer M., Hanáček P., Reinöhl V., Procházka S.

Department of Plant Biology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: m.rohrer@seznam.cz

ABSTRACT

The most common viruses that attack peas grown in the Czech Republic are – pea enation mosaic virus (PEMV) and Pea seed-borne mosaic virus (PSbMV). These viruses can cause serious economic losses in the cultivation. This work is focused on creating vector constructs that induce resistance to viral diseases in plants and the subsequent transformation of pea plants. CP cDNA fragment of both viruses (PEMV and PSbMV) and cDNA fragment of Cell to Cell movement protein (PEMV) were inserted in sense/antisense orientation between the 35S promoter and OCS terminator in the plasmid pHannibal and cloned into tDNA region of the vector system pGreen. Sense/antisense orientation should be transcribed to hairpin RNA (hpRNA) which leads to post-transcriptional gene silencing inducing resistance to both viruses (PEMV and PSbMV). Plasmid pGreen also contains a reporter gene for GUS histochemical test (uidA) and selection gene for resistance to the herbicide phosphinotricin (bar). This construct was introduced by electroporation into *Agrobacterium tumefaciens* which included pSoup (binary vector). The ability of the construct to transform plants will be tested by transformation of tobacco leaf discs. The aim of this work is to prepare transgenic pea plant resistant to PEMV and PSbMV.

Key words: transformation, *A. tumefaciens*, post-transcriptional gene silencing

Acknowledgments: This work was supported by a grant IGA AF MENDELU Nr. TP1/2010.

ÚVOD

Při pěstování zemědělských plodin dochází kvůli virózám ke značným ekonomickým ztrátám. Zmírnit výskyt viróz lze hubením přenašečů, pěstováním zdravého osiva a pěstováním rezistentních nebo tolerantních odrůd. V moderním šlechtění se stále častěji objevují metody a přístupy genového inženýrství.

U hrachu pěstovaného v České republice se nejčastěji vyskytují virus výrůstkové mozaiky hrachu (PEMV) a virus semenem přenosné mozaiky hrachu (PSbMV). Jednou z metod používanou genovým inženýrstvím pro tvorbu rezistentních rostlin je využívání posttranskripčního utišení genů invertovanými sekvencemi (IR-PTGS). Při vnesení fragmentů genů virů do genomu rostlin v sense/antisense orientaci dojde k vytvoření vlásenkové hairpinRNA (hpRNA). Jako vnašené sekvence se nejčastěji využívají fragmenty genů pro plášťové proteiny viru. Vzniklá dvouvláknová hpRNA je štěpena dsRNázou na 21–23 nukleotidové siRNA (small interfering RNA). SiRNA je poté začleněna do nukleázového komplexu RISC (RNA-induced silencing complex), který podle siRNA sekvence degraduje ssRNA se stejnou sekvencí. Tím by se měla indukovat virová rezistence u rostlin.

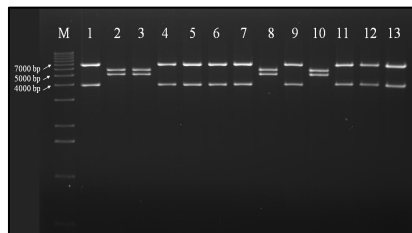
Cílem této práce je vytvořit konstrukt pro navození rezistence k PEMV a PSbMV. Používané metody transformace hrachu mají dosud velmi nízkou účinnost. Tabák, jako modelová rostlina pro transformaci pomocí *Agrobacterium tumefaciens*, se transformuje snadněji než hrách, a proto je účinnost konstruktů testována pomocí transformace listových disků tabáku. Poté bude přistoupeno k transformaci hrachu, což by u něj mělo navodit rezistenci k PEMV a PSbMV.

MATERIÁL A METODIKA

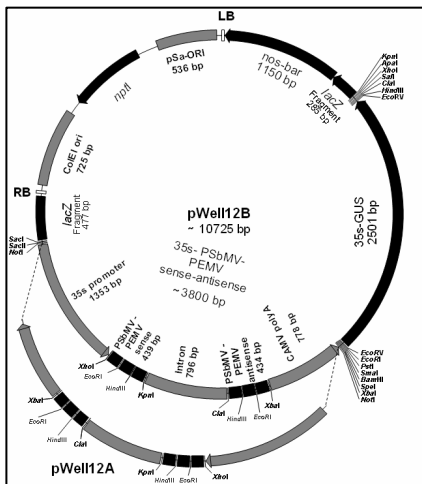
Pro tvorbu konstruktů indukujících rezistenci k PEMV a PSbMV u rostlin hrachu byly vybrány sekvence cDNA obou virů s ohledem na ustálenost sekvencí u různých kmenů virů a s ohledem na použité restrikční enzymy a to: fragmenty cDNA genů pro CP virů PEMV (131 bp) a PSbMV (137 bp) a fragment cDNA genu cell to cell movement protine PEMV (149 bp). Ty byly amplifikovány pomocí PCR za použití primerů obsahujících přídavné cílové sekvence pro vhodné restrikční endonukleázy. Produkty byly po agaróзовé elektroforéze purifikovány z gelu pomocí kitu Invisorb Fragment CleanUp a koncentrace DNA byla stanovena fluorimetricky. Každý fragment byl poté ligován s pGEM-T vektorem a klonován v *Escherichia coli* kmen *Top 10* kultivované při 37°C na médiu LB s ampicilinem a X-gal (5-bromo-4-chloro-3-indolyl-beta-galaktopyranosid), což je aktivní složka při modrobílé selekci, pomocí které byly vybrány pozitivní kolonie *E. coli*. Ty byly přeneseny do roztoku Tris/MgCl₂ (50mM MgCl₂, 50 mM Tris Cl pH 7), ve kterém byly jednotlivé kmene *E. coli* krátkodobě uchovány a zároveň posloužily jako templát pro kontrolní PCR. Vybrané kolonie byly namnoženy pro izolaci plazmidové DNA (GeneJET Plasmid Miniprep Kit). Izolované

plazmidy byly testovány nejprve pomocí PCR, dále pomocí restrikční analýzy a poté byly sekvenovány.

Z pGEM-T byly postupně všechny tři fragmenty cDNA vyštěpeny a vneseny do vektoru pBluescript SK+ mezi restrikční místa *XbaI*, *EcoRI*, *EcoRI*, *HindIII* a *HindIII*, *Clal*. Po klonování v *E. coli* byl rekombinantní plazmid pBluescript izolován. Pomocí PCR byly spojené fragmenty amplifikovány za použití primerů s odlišnými přidavnými restrikčními sekvencemi (*XbaI* a *Clal* byly nahrazeny *XhoI* a *KpnI*) a klonovány v *E. coli*. Průběžně byly dělány testy pomocí PCR a restrikční analýzy pro ověření správného začlenění fragmentů do plazmidového vektoru.



Obr. 1: Restrikční analýza (*XhoI*)
M – velikostní marker 1kb ladder
1,4,5,6,7,9,11,12,13 – pWell12A
2,3,8,10 – pWell12B



Obr. 2: mapa plazmidu pWell12A a 12B

PWell12 byl pomocí elektroporace vložen do *Agrobacterium tumefaciens* kmene *EHA 105* spolu s plazmidem pSoup (pGREEN II je binární vektorový systém). Transformace *A. tumefaciens* byla provedena pomocí PCR. Vytvořený konstrukt pWell12 byl ověřen pomocí transformace listových disků tabáku, které byly 1 minutu máčeny v tekutém LB mediu s *A. tumefaciens* obsahující plazmid pWell12.

Oba spojené fragmenty cDNA byly vyštěpeny a vneseny do vektorového systému pHannibal v sense/antisense orientaci mezi 35S promotor a OCS terminátor tak, aby mezi nimi byl intron (větší účinnost PTGS). Po klonování v *E. coli* byl celý úsek vyštěpen pomocí restrikční endonukleázy *NotI* a vložen mezi restrikční místo *NotI* vektorového systému pGreen II, který již obsahoval selekční gen bar (rezistence vůči fosfotricinu) a reportérový gen uidA (histochemický GUS test). Plazmid byl opět klonován v *E. coli*. Z vybraných kolonií byla izolována plazmidová DNA. Pomocí restrikční analýzy (štěpení restrikční endonukleázou *XbaI*) (Obr. 1) byly vybrány kolonie s inzerty vloženými oběma směry (pWell12A a pWell12B) (Obr. 2) a ty byly sekvenovány.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Byly vytvořeny konstrukty pWell12A a pWell12B, které obsahují fragmenty cDNA genů pro CP virů PEMV a PSbMV a fragment cDNA genu cell to cell movement proteine PEMV v sense/antisense orientaci mezi 35S promotorem a OCS terminátorem. Dále obsahuje reportérový gen uidA pro histochemický GUS test, selekční gen bar navozující rezistenci k herbicidům s účinnou látkou fosfintocrin, gen *NptI* pro bakteriální rezistenci k antibiotiku kanamycin, lacZ gen kódující β-galaktosidázu pro modrobílou selekci a dále obsahuje mnohonásobné klonovací místo (polylinker) a ori místa (počátky replikace u *A. tumefaciens* a *E. coli*). PWell12B má oproti pWell12A otočený směr čtení úseku mezi promotorem 35S a OCS terminátorem. Pomocí těchto konstruktů byly transformovány listové disky tabáku, na kterých byl proveden histochemický GUS test s pozitivním výsledkem (Obr. 3).



Obr. 3: Pozitivní GUS test

ZÁVĚR

Vytvořeným konstruktem pWell12 lze transformovat listové disky tabáku. V budoucnu budou regenerovány a dopěstovány transgenní rostliny tabáku a dále budou transformována klíčnice rostliny hrachu *in vivo* metodou (Švábová et al., 2005).

LITERATURA

Švábová L., Smýkal P., Griga M., Ondřej V. (2005): Agrobacterium-mediated transformation of *Pisum sativum* *in vitro* and *in vivo*. *Biol. Plant*, 49: 361-370.

METHODS OF PROTEOME ANALYSIS IN INVESTIGATION OF HORMONAL REGULATIONS IN PLANTS

Skalák J., Černý M., Jedelský P., Brzobohatý B.

Department of Molecular Biology and Radiobiology, Faculty of Agriculture, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: skalak.jan7@gmail.com

ABSTRACT

The subject of thesis is the employment of 2D electrophoresis in study of effect of plant hormones cytokinins on tobacco proteome. The experimental part is based on previous work at LPMB MENDELU and studies effects of inducibly-increased levels of endogenous cytokinins on tobacco proteome. The optimal conditions for tobacco proteome separation were found and method for proteome-quality evaluation was developed. Protein spots were classified according to their profiles in transgenic plants with increased levels of endogenous cytokinins and control plants SR1. The presented results will help to bring deeper insight into molecular mechanism of cytokinin action.

Key words: cytokinins, proteomics, elektroforetic analysis of proteins, mass spectrometry, *Nicotiana tabacum*, *Arabidopsis thaliana*

Acknowledgments: This research was financially supported by grants LC06034 and 1M06030 (Ministry of Education, Youth and Sports), IAA600040701 (GA CR) and 206/09/2062 (GA CR).

ÚVOD

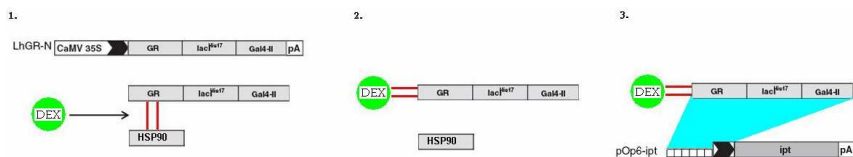
Cytokiny jsou rostlinné hormony, které hrají důležitou roli v molekulární odpovědi buňky na vnější i vnitřní stimulus. Studium jejich funkce, metabolismu a biosyntézy zaznamenalo již několik zásadních objevů, i tak je tato problematika prozkoumána pouze z části.

Jedním z oborů, které dávají možnost sledování molekulárních procesů buňky je proteomika. Tento vědní obor nabízí široké spektrum metod, kterými lze zkoumat jednu ze základních složek těchto procesů – proteiny. Právě tyto biopolymery se podílejí na celé řadě funkcí, ať už signální, regulační, stavební, katalytické, obranné, transportní nebo zásobní (Murray a spol., 2003).

Jednou ze základních separačních technik proteomiky je 2D polyakrylamid gelová elektroforéza (2D PAGE). Gelová elektroforéza je již několik desítek let osvědčeným separačním nástrojem a do dnes se vyvinulo několik jejích modifikací (Blue native PAGE, SDS-PAGE, 2D DIGE, a další). Kromě technik založených na polyakrylamidovém gelu existuje i několik dalších (2D-LC, iTRAQ). Všechny tyto techniky mají však specifické nároky a limity.

MATERIÁL A METODIKA

Rostliny tabáku pro proteomickou analýzu poskytl Mgr. Jan Novák. Kultivace byla následující: v substrátu byli pěstováni jedinci tří linií *Nicotiana tabacum* za standardních světelných podmínek, a to dvou transgenních linií (303, 307) a dále odpovídají rodičovská linie *L. cv. Petit Havana SR1*. Linie 303 a 307 jsou geneticky modifikované rostliny obsahující pOp6-ipt/LhGR-N (viz. Obr. 1), což je systém regulovaný dexamethasonem (DEX). Linie 303 a 307 jsou dva nezávisle připravení transformanti, které mají zařazené konstrukty na různých místech chromozomu. Linie SR1 jsou geneticky nemodifikované rostliny sloužící jako kontroly, tzv. wild type. Po uplynutí čtyř týdnů byly všechny linie ošetřeny zálivkou 50 ml obsahující 20 μ M DEX. Po 4 dnech po aktivaci byly odebrány vzorky, vždy 2 g listů z jedince, a ihned zamrazeny v tekutém dusíku.



Obr. 1: Schematické znázornění systému indukce exprese genu *ipt* v transgenních rostlinách 303 a 307. Navázáním DEX na vazebnou doménu glukokortikoidního receptoru (1.) se receptor uvolní z vazby s HSP90 (2.) a může tak začít exprese genu *ipt* (3.). (Šámalová a spol., 2005).

MENDELNET 2010

Postup separace byl proveden podle návodu popsaneho Lochmanovou a kol., 2008. Vzorky byly naneseny v mnozstvi 500 µg na 18 cm či 150 µg na 7 cm strip s linearnim pH gradientem 4-7 či nelineranim gradientem 3-10. Po 16 hodinach rehydratace byly vzorky podrobeny izoelektrické fokusaci na PROTEAN IEF Cell Unit (Bio-Rad).

Po ukonení druhé fáze 2D PAGE byly gely 3x promyty destilovanou vodou a následně obarveny koloidní Bio-Safe Coomassie G-250 (Bio-Rad). Následovalo skenování Bio-rad GS-800 kalibroványm Densitometrem (700 dpi pro malé gely a 400 dpi pro velké gely). Gely byly analyzovány Decodon Delta 2D softwarem (<http://www.decodon.com>).

Proteomická odpověď na oxidační stres vyvolaný cytokininy byla považována za signifikantní, pokud se shodně projevila alespoň ve 2 z celkového počtu 3 biologických opakování. Za signifikantní projev byla stanovena hodnota poměru relativního objemu spotů aktivovaný:kontrolní vzorek ± 1,4x pro proteinové spoty splňující hodnotu T-testu ≥95%.

Vyhodnocené spoty, kde byl zaznamenán signifikantní projev, byly vyřezány a zaslány na analýzu hmotnostní spektrometrie (MS).

VÝSLEDKY A DISKUZE

V rámci přípravných prací byla vypracována metoda pro rychlou analýzu rozdělení proteomu, využitelná při porovnávání kvalit rozdělení proteomu. Sledované parametry shrnuje Tabulka 1:

Parametr	Název
N	Počet detekovaných spotů
V	Celkový objem všech detekovaných spotů
V _{%min}	Počet spotů s relativním objemem menším než 0,05%
V _{%mix}	Hraniční relativní objem rozděleného spotu
V _{%max}	Počet spotů s relativním objemem větším než V _{%mix}
Ā	Střední šedá hodnota
Δ	Podíl střední šedé hodnoty a počtu kvalitních spotů

Tab 1: Parametry vhodné pro porovnávání 2D map proteomu

Při hledání optimálních podmínek byly porovnány 4 varianty 2D PAGE: 7 cm pI 4-7, 18 cm pI 4-7, 7 cm pI 3-10 a pI 4-7.

Rozdělení v pI 4-7 (7 cm, ~150 µg proteinu, A): N: 500 spotů; V: 3500; V_{%min}: 204; V_{%mix}: 1,0; V_{%max}: 22; Ā: 237; Δ: 0,9. Rozdělení v pI 4-7 (18 cm, ~500 µg proteinu): N: 1146 spotů; V: 12200; V_{%min}: 700; V_{%mix}: 0,4; V_{%max}: 43; Ā: 200; Δ: 0,5; význam parametrů, viz. Tab. 3. Rozdělení v pI 3-10 (7 cm, ~150 µg proteinu): N: 462 spotů; V: 5037; V_{%min}: 203; V_{%mix}: 0,6; V_{%max}: 62; Ā: 217; Δ: 0,9. Rozdělení v pI 4-7 (7 cm, ~150 µg proteinu): N: 500 spotů; V: 3500; V_{%min}: 204; V_{%mix}: 1,0; V_{%max}: 22; Ā: 237; Δ: 0,8; význam parametrů, viz. Tab. 1.

Před samotnou analýzou vlivu zvýšených hladin endogenních cytokininů v rostlinách 303 a 307 byly porovnány mapy proteomu jednotlivých rostlin 303, 307 a SR1.

Pro statistické zpracování byly použitelné vždy minimálně 2 z 3 gelů. Bylo nalezeno celkem 882 spotů, z nichž 137 jeví významné odchylky. Proto těchto 137 spotů bylo sledováno v 2. a 3. opakování. Ve všech opakováních bylo nalezeno celkem 37 odlišně regulovaných spotů. Ty byly podle tendence nárůstu či poklesu koncentrací zařazeny do 4 profilových skupin.

ZÁVĚR

Při sledování okamžité odpovědi organismu na stimulus je stále jasnější, že nejvýznamnější část okamžité reakce probíhá na úrovni proteomu. Příkladem jsou post-translační regulace enzymů hrající významnou roli v mnoha aktivačních drahách. Proteomické studie však mají význam i při studiu dlouhodobých dějů, kdy můžeme sledovat jevy nezávislé na regulaci genové exprese. Nevýhodou však zůstává omezený počet proteinů, které jsou experimenty schopné pokrýt. Pro dosažení většího počtu sledovatelných proteinů se proto musí proteomické techniky stále vyvíjet a optimalizovat.

Na základě analýzy proteomu rostlin tabáku bylo nalezeno 37 proteinových spotů, které se zdají být regulované zvýšenou hladinou cytokininů. Proteinové spoty byly roztříděny do 4 základních skupin podle svého profilu v transgenních liniích 303, 307 a kontrolních rostlinách SR1.

LITERATURA

Lochmanová, G., Zdráhal, Z., Konečná, H., Koukalová, Š., Malbeck, J., Souček, P., Válková, M., Nagavalli, S. K. a Brzobohatý, B. (2008) *Cytokinin-induced photomorphogenesis in dark-grown Arabidopsis: a proteomic analysis*. Journal of Experimental Botany, **59**: 3705-3719.

Novák, J., Pavlů, J. a Brzobohatý, B. (2009) *P6-9 oxidative stress in Nicotiana tabacum with elevated level of cytokinins*. In ACPD 2009, **9**: 98.

Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A. & Rodwell, V.W. (2003): *Harper's Illustrated Biochemistry*. Medical Publishing Division.

Šámalová, M., Brzobohatý, B. a Moore, I. (2005) *pOp6/LhGR: a stringently regulated and highly responsive dexamethasone inducible gene expression system for tobacco*. The Plant Journal, **41**: 919-935.

THE GENETIC VARIABILITY OF COLOURED GRAIN WHEAT COLLECTION

Trojan V., Musilová M., Vyhnánek T., Havel L.

Department of Plant Biology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: vaclav.trojan@mendelu.cz

ABSTRACT

Genetic variability of 24 genotypes of common wheat (*Triticum aestivum* L., $2n = 6x = 42$, BBAADD) and one genotype tall (rush) wheatgrass (*Thinopyrum ponticum* (Podp.) Barkworth & D. R. Dewey, $2n = 10x = 70$, JJJJJJ⁸J⁸J⁸) was studied using the SSR markers. Genotypes with purple, blue, yellow, and red caryopses were analysed. SSR markers localized on chromosomes of A and B genome were chosen from the literature for the analysis. Based on 18 SSR markers a dendrogram was calculated, which highly significantly differentiates *Thinopyrum ponticum*. The high differences show 3 genotypes from the group of genotypes with purple pericarp, especially the 'Abyssinskaya Arraseita', 'Purple', 'Purple feed' and 1 genotype with blue aleuron layer named UC66049. Remaining genotypes are split into two clusters and then into two sub-clusters. The minor sub-cluster contains only genotypes with blue aleuron layer. There was identified a high genetic similarity of isogenic lines of wheat 'Novosibirskaya 67' and ANK genotypes with red grain in the major sub-cluster. The genotypes with yellow endosperm gathered into the major sub-cluster show the high genetic similarity. The results suggest that SSR markers can be used for the detection of variability and purity of the analysed samples in breeding programs.

Key words: genetic variability, SSR marker, *Thinopyrum ponticum*, *Triticum aestivum* wheat, wheatgrass

Acknowledgments: This study was supported by project IGA FA MENDELU No. IP 1/2010.

ÚVOD

U pšenice seté (*Triticum aestivum* L., $2n = 6x = 42$, BBAADD), jejíž obilky jsou běžně zbarveny červeně, byly popsány i genotypy s jiným zbarvením obilky (purpurovým, modrým, žlutým a bílým). Toto zbarvení je způsobeno tvorbou pigmentů ze skupiny anthokyanů (purpurové a modré) nebo karotenoidů (žluté) v různých částech obilky – perikarpu, testě, aleuronové vrstvě a endospermu. V bílých obilkách se pigmenty netvoří. Obilka se zvýšeným obsahem přírodních barviv by mohla být vhodná pro výrobu funkčních potravin, které by měly mít kromě prosté výživné hodnoty i příznivý účinek na zdraví konzumenta. V případech uvedených barviv se jedná zejména o antioxidační aktivitu (Trojan et al., 2010). Při šlechtění je důležitým krokem charakteristika genetické variability genotypů požadovaných vlastností. K tomuto účelu je možné využít morfologické markery, proteinové markery a DNA markery. V rámci DNA markerů jsou zvláště vhodné mikrosatelitní markery (SSRs – Simple Sequence Repeats), které mají vysoký stupeň polymorfismu a kodominantní charakter dědičnosti. Tyto mikrosatelitní markery jsou v současnosti široce používány při genetickém mapování různých druhů obilovin, tudíž i pšenice (Röder et al., 1998). Jsou navrženy tak, aby poskytovaly více informací právě při zkoumání hexaploidních pšenic (Song et al., 2005). Cílem naší práce bylo zhodnotit genetickou variabilitu v kolekci genotypů pšenic se standardním i nestandardním zbarvením obilky pomocí mikrosatelitních markerů a zjistit jejich příbuznost s planým druhem *Thinopyrum ponticum* (Podp.) Barkworth & D. R. Dewey ($2n = 10x = 70$, JJJJJJ⁶J⁵J⁶). Tento druh je předpokládáným donorem modrého zbarvení obilky pšenice (Suneson and Pope, 1946).

MATERIÁL A METODIKA

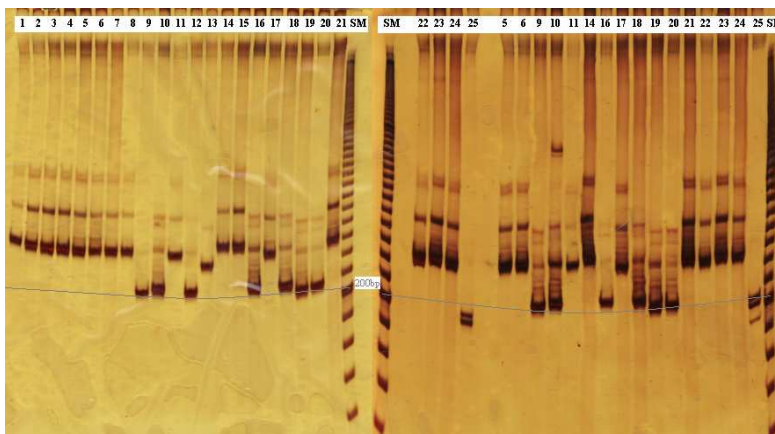
Kolekce 24 genotypů pšenice seté (*Triticum aestivum* L.) se standardním i nestandardním zbarvením obilek byla doplněna o jeden genotyp *Thinopyrum ponticum* (Podp.) Barkworth & D. R. Dewey. (tab. 1). Těchto 25 genotypů bylo podrobeno analýzám pomocí 20 SSR (mikrosatelitních) markerů (*Xbarc163*, *Xbarc195*, *Xbarc003*, *Xbarc077*, *Xgwm861*, *Xbarc176*, *Xbarc170*, *Xgwm122*, *Xgwm294*, *Xgwm445*, *Xgwm328*, *Xgwm356*, *Xwmc428*, *Xgwm666b*, *Xcfa2134*, *Xgwm636*, *Xgwm674*, *Xgwm276*, *Xgwm181*, *Xgwm340*) lokalizovaných v místech genů determinující odchylky v zbarvení obilek, které byly popsány v literatuře u pšenice a tritikale (Khlestina et al., 2004; Kuelung et al. 2006).

Tab. 1 Charakteristika analyzovaného souboru genotypů

Název odrůdy, genotypu nebo druhu	Zbarvení obilky	Forma	Zdroj
Novosibirskaya 67, ANK-1A, ANK-1B, ANK-1C, ANK-1D, ANK-1E	červené	jamí	ZVU Kroměříž, s.r.o.
ANK-28A, ANK-28B, Abyssinskaya araseita, Konini, Purple, Purple feed	purpurové	jamí	ZVU Kroměříž, s.r.o.
UC66049, Tchemmaks Blaukömiger Sommerweizen, Tchemmaks Blaukömiger	modré	jamí	ZVU Kroměříž, s.r.o.
48M, RU 440-5, RU 440-6, Barevná 9, Barevná 25	modré	ozimá	ZVU Kroměříž, s.r.o.
Indigo	purpurové	ozimá	ZVU Kroměříž, s.r.o.
Citrus, Luteus, Bona Dea	žluté	ozimá	ZVU Kroměříž, s.r.o.
<i>Thinopyrum ponticum</i>	donor modré	ozimá	GB VURV, v.v.i.

MENDELNET 2010

Z rostlin ve fázi prvního listu (5-7 dní staré rostliny) byla izolována genomová DNA pomocí izolačního kitu DNeasy Plant Mini Kit (f. Qiagen) Reakční směs o celkovém objemu 25 μ l obsahuje: 30 ng templátové DNA, 0,5 U *Taq* polymerázy (Promega, USA), 1x odpovídající pufr, 7,5 μ M každého primeru a 100 μ M každého dNTP. Teplotní a časový profil reakce byl: 1 cyklus 93°C – 120 s; 30x (93°C – 60 s, 54°C – 120 s, 72°C – 120 s). Po proběhlé vertikální elektroforéze (při 300 V) v 8 % nedenaturovaném polyakrylamidovém (PAA) gelu v TBE pufru bylo použito pro vizualizaci produktů barvení 0,2 % dusičnanem stříbrným (obr. 1). Výsledky molekulárních analýz byly vyhodnoceny pomocí binární matice, kde 1 znamená přítomnost produktu a 0 absenci produktu. Tyto hodnoty byly dále statisticky zpracovány pomocí programu FreeTree a graficky zpracovány do podoby dendrogramu pomocí programu TreeView. Pro jednotlivé SSR markery byly vypočteny statistické hodnoty DI (index diversity), PI (pravděpodobnost identity) a PIC (polymorfní informační obsah) (Russell et al. 1997).



Obr. 1: Ukázka elektroforetické separace SSR markeru (*Xbarc176*) na PAA gelu

VÝSLEDKY A DISKUSE

Velikost amplifikovaných produktů se pohybovala v rozmezí od 100 do 260 bp. Při využití uvedených 20 SSR markerů, které jsou specifické pro chromozómy A a B, bylo detekováno 94 alel. V průměru tedy připadá 5 alel na jeden mikrosatelitní lokus. Největší počet alel byl detekován pomocí primeru *Xbarc163*. Nejvyšší variabilita byla zaznamenána u primerů *Xbarc176* a *Xbarc077* (tab. 2). Khlestkina et al., 2004 a Kuelung et al., 2006 uvádějí přítomnost nulových alel, kterou jsme zjistili i my. Nejvíce nulových alel bylo zaznamenáno u druhu *Thinopyrum ponticum*. Tento genotyp totiž nemá homologii s chromozomy pšenice, přičemž použité SSR markery jsou specifické pro chromozómy sad A a B u tohoto druhu. V našich analýzách se jednalo o mikrosatelitní lokusy *Xbarc003*, *Xbarc077*, *Xgwm340*, které se u pšenice nacházející na chromozómech 3B, 4A a 6A. Průměrná hodnota DI byla 0,51; průměrná hodnota PI byla 0,29 a pro ukazatel PIC byla vypočítána průměrná hodnota 0,49 (tab. 2). Statistické hodnoty vyjadřují vysoký stupeň variability ve studované kolekci genotypů barevných pšeníc, který byl zjištěn již při použití 10 SSR markerů (Musilová et al., 2010) a který je srovnatelný s Holtonem et al. (2004). Při použití

20 SSR markerů byla získána data k podrobnější charakterizaci analyzované kolekce. Větší množství SSR markerů se projevilo v rozlišení některých izogenních materiálů.

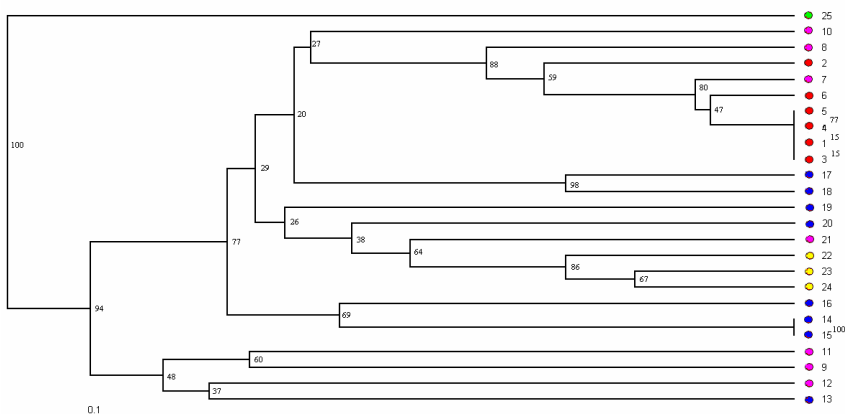
Tab. 2 Statistické zhodnocení analyzovaných SSR markerů

SSR marker	Lokalizace	Počet alel	DI	PI	PIC
<i>Xbarc163</i>	4B	8	0,52	0,23	0,52
<i>Xbarc195</i>	6A	4	0,51	0,3	0,44
<i>Xbarc003</i>	6A	6	0,64	0,09	0,64
<i>Xbarc077</i>	3B	6	0,72	0,05	0,72
<i>Xgwm861</i>	7A,7B	6	0,67	0,11	0,65
<i>Xbarc176</i>	7B	7	0,59	0,16	0,58
<i>Xbarc170</i>	4A	7	0,56	0,22	0,52
<i>Xgwm122</i>	2A	7	0,52	0,23	0,51
<i>Xgwm294</i>	2A	4	0,65	0,16	0,60
<i>Xgwm445</i>	2A	6	0,60	0,17	0,58
<i>Xgwm528</i>	2A	1	0,07	0,86	0,07
<i>Xgwm556</i>	2A	1	0,07	0,86	0,07
<i>Xvmo428</i>	2A	5	0,69	0,09	0,68
<i>Xgwm666b</i>	3A	3	0,41	0,37	0,39
<i>Xcfa2134</i>	2A	2	0,20	0,65	0,19
<i>Xgwm636</i>	2A	6	0,77	0,03	0,76
<i>Xgwm674</i>	3A	3	0,41	0,36	0,38
<i>Xgwm276</i>	7B	3	0,36	0,42	0,34
<i>Xgwm181</i>	3B	5	0,76	0,04	0,75
<i>Xgwm340</i>	3B	4	0,69	0,07	0,68
Průměr		5	0,51	0,29	0,49

Statistické vyhodnocení umožnilo sestavení dendrogramu podobnosti analyzovaných genotypů pšenice seté s různým zabarvením obilky (UPGMA, Jaccardův koeficient) (obr. 2). Z dendrogramu je patrná silná odlišnost genotypu *Thinopyrum ponticum*. Dále se dendrogram dělí na dva klastery, přičemž menší klaster obsahuje jen část genotypů s purpurovým perikarpem ('Abyssinskaya

MENDELNET 2010

Arraseita ´, Purple´ a Purple feed ´) a jeden genotyp s modrým zbarvením (´UC66049´). Druhý klaster se dále dělí na menší a větší subklaster. Do menšího subklasteru se zařadily další genotypy modrého zbarvení. Je zde patrné, že genotypy ´Tschermacks Blaukörniger´ a ´Tschermaks Blaukörniger Sommerweizen´ se vyznačují vysokým stupněm podobnosti. S největší pravděpodobností se jedná o stejný vzorek pocházející ze dvou různých zdrojů, což se domnívá i kurátor kolekce Ing. Martinek (ZVÚ Kroměříž, s.r.o.). Z jeho informací víme jen, že ´Tschermaks Blaukörniger Sommerweizen´ pochází z IPK Gatersleben. Zbývající genotypy znázorňují svou příbuznost ve větším subklasteru. Nachází se zde izogenní linie genotypů s červeným zbarvením obílek přičemž jeden genotyp (´ANK-1A´) se podařilo odlišit od zbývajících izogenních linií ANK. Skupina genotypů se žlutým endospermem nacházející se také ve větším subklasteru vykazuje vyšší stupeň podobnosti. V případě ´Citrus´ a ´Luteus´ je to dáno společnými předky v rodokmenu. Obě odrůdy pochází od prof. dr. Wilhelma Jahn-Deesbacha z Německa a mají následující rodokmen: Citrus ´/(Sunnan ´ x Monopol) x Stamm GI 912/´ a Luteus ´/(Sunnan ´ x Monopol) x Giessener Stamm/´ (ÚKZÚZ, ústní sdělení). Důležitou otázkou zůstává, jaký zdravotní, případně nutriční význam by mělo pěstování těchto netradičních pšenic ve větším rozsahu. Vzhledem k tomu, že úloha antokyanů je ze zdravotního pohledu obecně prospěšná (Lila, 2004) mohou být uváděné netradiční pšenice zdrojem nových vhodných látek. Přírodní barviva se obvykle vyznačují antioxidační aktivitou. Strava bohatá na antioxidanty typu antokyanů, flavonoidů a karotenoidů působí preventivně mimo jiné na výskyt aterosklerózy, ischemické choroby srdeční, zánětlivých procesů, zlepšuje funkci zraku a pozitivně ovlivňuje ochranné procesy v organismu (srov. Lachman et al., 2003).



Obr. 2: Dendrogram genetické variability 20 mikrosatelitních markerů

Číselné označení genotypů

1 Novosibirskaya 67	6 ANK-1E	11 Purple	16 48M	21 Indigo
2 ANK-1A	7 ANK-28A	12 Purple feed	17 RU 440-6	22 Citrus
3 ANK-1B	8 ANK-28B	13 UC66049	18 RU 440-5	23 Luteus
4 ANK-1C	9 A. Arreseita	14 T. B. Sommerweizen	19 Barevná9	24 Bona Dea
5 ANK-1D	10 Konini	15 T. Blaukörniger	20 Barevná25	25 T. ponticum

ZÁVĚR

Pomocí SSR markerů se podařilo statisticky významně rozlišit tři genotypy pšenice s purpurovými obilkami společně s jedním genotypem modrého zabarvení obilky od ostatních genotypů. Byla také potvrzena příbuznost pšenice se žlutým endospermem. Rozložení dalších analyzovaných genotypů v dendrogramu potvrzuje genetickou podobnost pšenice s modrými obilkami, nevykazují však takovou podobnost s genotypem *Thinopyrum ponticum*, jak se předpokládalo. Samostatná skupina pšenice s červenou obilkou i přes mírnou variabilitu jednoho genotypu potvrzuje jejich izogenní charakter. Výsledky této práce budou doplněny o další mikrosatelitní markery lokalizované v blízkosti genů zodpovědných za příslušné zabarvení obilky. Získané výsledky budou využity ve šlechtitelském programu pšenice s využitím genotypů jednotlivých zabarvení obilky. Společně se studiem genetické variability je realizováno i studium komparativní genomiky genů zodpovědných za syntézu barevných pigmentů u pšenice.

LITERATURA

- Holton T.A., Christopher J.T., McClure L., Harker N., Henry R. J. (2004): Identification and mapping of polymorphic SSR markers from expressed gene sequences of barley and wheat. *Molecular Breeding*, 9: 63-71.
- Khlestkina E.K., Than M.H.M., Pestsova E.G., Röder M.S., Malyshev S.V., Korzun V., Börner A. (2004): Mapping of 99 new microsatellite-derived loci in rye (*Secale cereale* L.) including 39 expressed sequences tags. *Theoretical and Applied Genetics*, 109: 725-732.
- Kuelung C., Baezinger P.S., Kachman S.D., Dweikat I. (2006): Evaluating the genetic diversity of triticale with wheat and rye SSR markers. *Crop Science*, 46: 1692-1700.
- Lachman J., Dudjak J., Orsák M., Pivec V. (2003): Effect of accelerated ageing on the content and composition of polyphenolic complex of wheat (*Triticum aestivum* L.) grains. *Plant, Soil and Environment*, 49: 1-7.
- Lila A.M. (2004): Anthocyanins and human health: An *in vitro* investigative approach. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2004: 306-313.

- Musilová M., Trojan V., Vyhnánek T., Havel L. (2010): Polymorfismus DNA u donorů nestandardního zabarvení obilek využitelných ve šlechtění potravinářské pšenice. Hygiena a technologie potravin, XL. Lenfeldovy a Höklovy dny. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 14.10.-15.10.
- Röder M.S., Korsun V., Wendehake K., Plaschke J., Tixier M.H., Leroy P., Ganal M.W. (1998): A microsatellite map of the wheat genome. *Genetics* 149:2007–2023.
- Russell J., Fuller J., Young G., Thomas B., Taramino G., Macaulay M., Waugh R., Powell W. (1997): Discriminating between barley genotypes using microsatellite markers. *Genome*, 40: 442-450.
- Song Q. J., Shi Č J. R., Singh Č S., Fickus Č E. W., Costa J. M., Lewis Č J., Gill Č B. S., Ward Č R., Cregan P. B. (2005): Development and mapping of microsatellite (SSR) markers in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 110: 550–560.
- Suneson, C.A., and Pope, W.K. (1946). Progress with *Triticum* × *Agropyron* crosses in California. *J. Am. Soc. Agron.* 38: 956-963.
- Trojan V., Bartl P., Musilová M., Vyhnánek T., Martinek, P., Tremlová B. (2010): Barevné pšenice - genetika, šlechtění a potravinářské využití. In *HYGIENA ALIMENTORUM XXXI*. 1. vyd. Košice, Slovensko: Univerzita veterinárského lekárstva a farmácie v Košiciach, 5. – 7. 5. 2010: 335-337.

MC4R, LPIN1 AND SERCA1 POLYMORPHISMS AND THEIR ASSOCIATION WITH MEAT QUALITY IN CZECH LARGE WHITE PIG BREED

Chalupová P.¹, Knoll A.¹, Urban T.¹, Gregor T.², Šulcerová H.², Sedláčková T.¹, Weisz F.¹, Sláma P.¹

¹Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

²Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: pavla.chalupova@mendelu.cz

ABSTRACT

Meat quality parameters are important part of pork production effectiveness. These traits are influenced by many genes. *MC4R* (Melanocortin 4 receptor) plays role in metabolism regulation, food intake and obesity. *LPIN1* (Lipin1) has an influence to adipose tissue development and lipid metabolism. *SERCA1* (Sarcoendoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase 1) affects i.a. skeletal muscle relaxation. Our objective was to analyze polymorphisms in *MC4R*, *LPIN1* and *SERCA1* and assess association with meat quality parameters (intramuscular fat and fatty acids content). In total, 44 Czech Large White pigs were genotyped. Samples were tested for polymorphisms previously described: G>A polymorphism in *MC4R* (codon 298), C93T (exon 2) in *LPIN1* and C66T (exon 8) in *SERCA1*. *MC4R* and *LPIN1* were genotyped by PCR-RFLP (*TaqI*). *SERCA1* was genotyped by sequencing. Moreover, two other polymorphisms in *SERCA1* were found: A56G and C180T (exon 8). Relative frequency of allele A and C (*MC4R*, *LPIN1*) was 0.7 and 0.84 respectively. Relative frequencies of *SERCA1* alleles G, C and C were following: 0.91; 0.89 and 0.66 (A56G, C66T and C180T respectively). No association was found between tested polymorphisms and intramuscular fat content. Non significant differences were found in *MC4R* and fatty acid content (stearic, oleic and linolic). Genotype *TT* was associated with higher stearic acid content when compared to *CC* ($P \leq 0.05$). and *CT* ($P \leq 0.05$). Results should be verified in other populations. Number of samples tested will be extended, research continues.

Key words: pig, *MC4R*, *LPIN1*, *SERCA1*, polymorphism, meat quality, association

Acknowledgments: This study was supported by the IGA TP 9/2010.

ÚVOD

Kvalita masa je limitujícím faktorem pro úspěch produktu na trhu.

Lze ji definovat jako součet nutričních (výživná hodnota), senzorických (barva, chuť a vůně, šťavnatost a křehkost), technologických (vhodnost masa ke zpracování, podíl masa, tuku) a hygienicko-toxických vlastností (škodlivé látky, celkový zdravotní stav a welfare) (Bečková *et Václavková*, 2009). Kvalita masa je ovlivňována genetickými faktory i vnějším prostředím.

Snahou o zvýšení podílu svaloviny došlo k výraznému snížení podílu tukové tkáně i k poklesu obsahu intramuskulárního tuku, který podstatně ovlivňuje právě senzorické vlastnosti masa (Bečková *et Václavková*, 2009). Dostatečné množství intramuskulárního tuku je pro zajištění poptávky po produktech z vepřového masa nezbytné. V současné době se na tuto vlastnost ve zvýšené míře zaměřují šlechtitelské programy (Schwab *et al.*, 2009).

Vlastnosti tuku z hlediska výživového i fyzikálního určuje zastoupení mastných kyselin, především pak vzájemný poměr nasycených (s vyššími body tání) a nenasycených (s nízkými body tání). Z hlediska výživy je v tuku žádoucí vyšší obsah nenasycených mastných kyselin (olejová, linolová, linolenová) (Bečková *et Václavková*, 2009).

Gen *SERCA1* (sarcoendoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase 1) kódující kanál transportující Ca^{2+} , hraje klíčovou roli při relaxaci kosterních svalů prostřednictvím transportu cytosolického Ca^{2+} do sarkoplazmatického retikula. V exonu 8 byl nalezen SNP (C>T), který lze detekovat pomocí ARMS-PCR (amplification refractory mutation system). *SERCA1* má vliv na obsah intramuskulárního tuku (Chai *et al.*, 2010). Nachází se v oblasti 3p16-17 (Ciobanu *et al.*, 2002).

LPIN1 (Lipin1) hraje roli v metabolismu lipidů, rozvoji tukové tkáně a je asociován s množstvím intramuskulárního a útrobního tuku. *LPIN1* je kandidátním genem lipodystrofie u člověka (He *et al.*, 2009).

MC4R (Melanocortin 4 receptor) ovlivňuje mj. metabolismus, příjem potravy, rychlost růstu a obezitu (Kim *et al.*, 2000).

Cílem práce je analyzovat polymorfismy v genech *MC4R*, *LPIN1* a *SERCA1* na aktuálním souboru prasat plemene bílé otcovské a zhodnotit asociaci s ukazateli kvality masa.

MATERIÁL A METODIKA

Bylo analyzováno 44 prasat plemene bílé otcovské, pocházejících z jednoho chovu.

DNA byla izolována z periferní krve pomocí QIAamp[®] DNA Blood Mini Kit (QIAGEN) v souladu s protokolem výrobce. Izolace byla provedena automaticky pomocí přístroje QIAcube (QIAGEN).

MC4R

Složení PCR reakční směsi

MC4R F: 5'- TACCCTGACCATCTTGATTG - 3'.

MC4R R: 5'- ATAGCAACAGATGATCTCTTTG - 3' (Kim *et al.*, 2000).

Celkový objem 12,5 μ l

9,4 μ l H₂O, 1,25 μ l Taq PCR buffer complete (Top-Bio), 0,25 μ l 10 mM dNTP mixu (Fermentas), 0,25 μ l primeru MC4R F (10 pmol/ μ l), 0,25 μ l primeru MC4R R (10 pmol/ μ l), 0,1 μ l Taq DNA polymerázy (5 U/ μ l) (Top-Bio), 1 μ l templátové DNA.

Teplotní profil PCR reakce

PCR reakce byla optimalizována pro termální cykler GeneAmp[®] PCR System 2400 (Applied Biosystems).

95 °C/2 min

35 \times (95 °C/30 s; 58 °C/30 s; 72 °C/30 s)

72 °C/10 min

LPIN1

Složení PCR reakční směsi

LPIN1 F 5'- GTTTGTCACCGTGAAGGA - 3'

LPIN1 R 5'- AAGCCACAGTAATCAGAACA - 3' (He *et al.*, 2009).

Celkový objem 12,5 μ l

9,4 μ l H₂O, 1,25 μ l Taq PCR buffer complete (Top-Bio), 0,25 μ l 10 mM dNTP mixu (Fermentas), 0,25 μ l primeru LPIN1 F (10 pmol/ μ l), 0,25 μ l primeru LPIN1 R (10 pmol/ μ l), 0,1 μ l Taq DNA polymerázy (5 U/ μ l) (Top-Bio), 1 μ l templátové DNA.

Teplotní profil PCR reakce

PCR reakce byla optimalizována pro termální cykler GeneAmp[®] PCR System 2400 (Applied Biosystems)

95 °C/4 min

33 \times (95 °C/35 s; 58 °C/35 s; 72 °C/25 s)

72 °C/3 min

Stanovení genotypů MC4R a LPIN1

PCR produkty byly následně štěpen přes noc restriční endonukleázou *TaqI* (1 U) při 37 °C (He *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2000). Fragmenty byly elektroforeticky separovány na 3% agarózovém gelu (TBE pufr). Vizualizace fragmentů proběhla pomocí ethidium bromidu za použití UV světla.

SERCA1**Složení PCR reakční směsi**

SERCA1 F 5' CAAGGGGCATCACCCGACT 3'

SERCA1 R 5' CTGGAATTGCAGCCACAGC 3' (Chai *et al.*, 2010).

Celkový objem 12,5 µl

4,75 µl H₂O, 0,25 µl primeru F (10 pmol/µl), 0,25 µl primeru R (10 pmol/µl), 6,25 µl Hot Star Taq™ Master Mix (QIAGEN), 1 µl templátové DNA.**Teplotní profil PCR reakce**

PCR reakce byla optimalizována pro termální cyklyer GeneAmp® PCR System 2400 (Applied Biosystems)

95 °C/15 min

33 × (95 °C/40 s, 56 °C/30 s, 72 °C/20 s)

72 °C/10 min

Složení sekvenační reakční směsi

Sekvenační reakce byla provedena v termálním cyklyeru GeneAmp® PCR System 9700 (Applied Biosystems)

Celkový objem 10 µl. Modifikováno dle standardního protokolu. Ředěno 8krát.

7,09 µl H₂O, 0,5 µl reagentu (Sequencing RR-100), 1,75 µl 5x Sequencing Buffer, 0,5 µl PCR produktu, 0,16 µl primeru F**Teplotní profil sekvenační reakce**

96 °C/1 min

25 × (96 °C/10 s; 50 °C/5 s; 60 °C/4min)

Purifikace sekvenační reakce

Sekvenační reakce byla purifikována pomocí BigDye® XTerminator™ Purification Kit (Applied Biosystems) v souladu s protokolem výrobce.

Analýza na automatickém sekvenátoru

Sekvence byla analyzována pomocí 4-kapilárového automatického sekvenátoru

ABI PRISM® 3100-Avant

Stanovení kvalitativních parametrů masa

Obsah intramuskulárního tuku - extrakce xylenem v Soxhletově extrakčním přístroji po dobu 3 h.

Stanovení mastných kyselin - celkové lipidy, metylestery MK – plynová chromatografie FISON 800.

Statistická analýza

Analýza byla provedena v programu SAS v 9.1.4 pomocí procedury GLM s pevnými efekty:

$$Y_{ijklmn} = \mu + MC4R_i + LPIN1_j + SERCA1_k + SERCA1_l + SERCA1_m + e_{ijklmn}$$

Y_{ijklmn} – fenotypová hodnota analyzovaného znaku

μ – průměr populace

$MC4R_i$ – pevný efekt genotypu *MC4R*

$LPIN1_j$ – pevný efekt genotypu *LPIN1*

$SERCA1_k$ – pevný efekt genotypu *SERCA1 A56G*

$SERCA1_l$ – pevný efekt genotypu *SERCA1 C66T*

$SERCA1_m$ – pevný efekt genotypu *SERCA1 C180T*

e_{ijklmn} – náhodná chyba pozorování

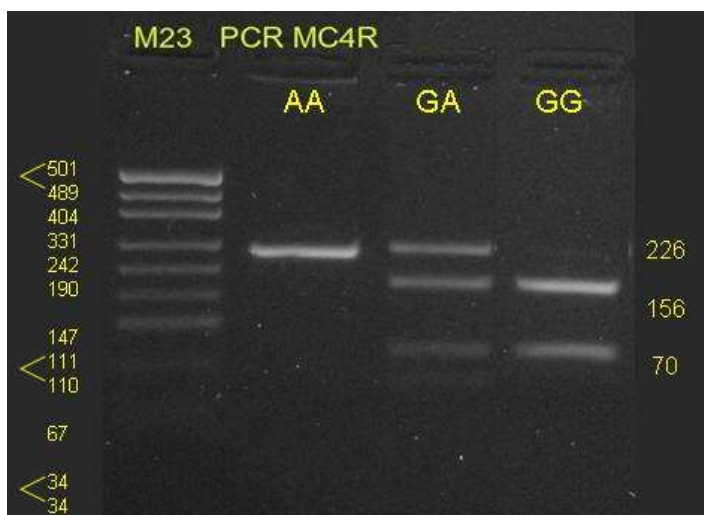
VÝSLEDKY A DISKUZE**Stanovení polymorfizmu *TaqI* v genu *MC4R***

PCR produkt (226 bp) tvoří po štěpení restriční endonukleázou *TaqI* dle genotypu fragmenty následujících velikostí:

AA – 226 bp (neobsahuje *TaqI* štěpné místo)

GA – 226, 156 a 70 bp

GG – 156 a 70 bp



Obr. 1 Stanovení genotypů – polymorfismus *TaqI* v genu *MC4R*.

Stanovení polymorfismu *TaqI* v genu *LPIN1*

PCR produkt (316 bp) tvoří po štěpení restriční endonukleázou *TaqI* dle genotypu fragmenty následujících velikostí:

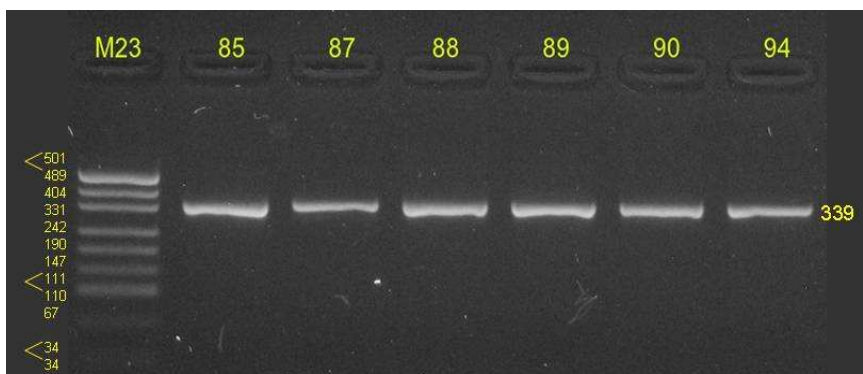
TT – 316 bp (genotyp nebyl v souboru detekován)

CT – 316, 256 a 60 bp

CC – 256 a 60 bp



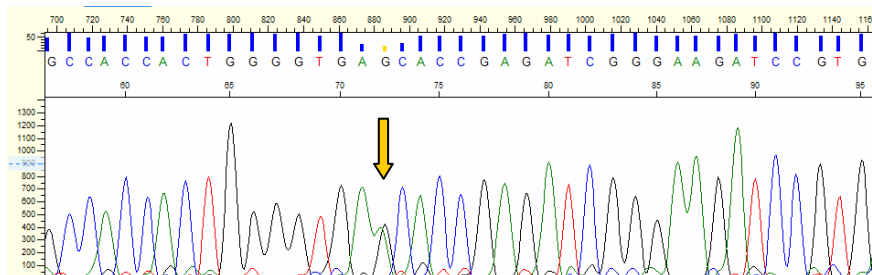
Obr. 2 Stanovení genotypů – polymorfismus *TaqI* v genu *LPIN1*.

Vizualizace PCR reakce *SERCA1*

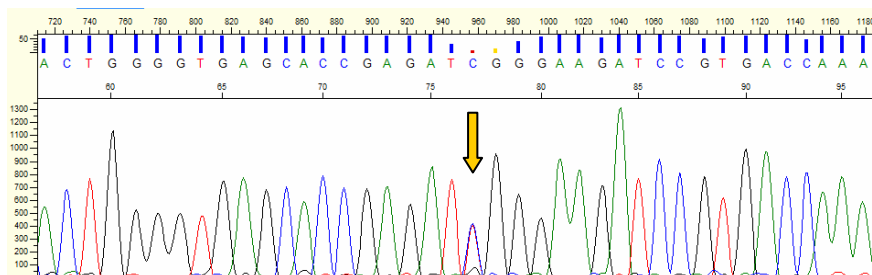
Obr. 3 Ověření kvality PCR produktu genu *SERCA1*.

Sekvenování PCR produktu – detekce polymorfismů

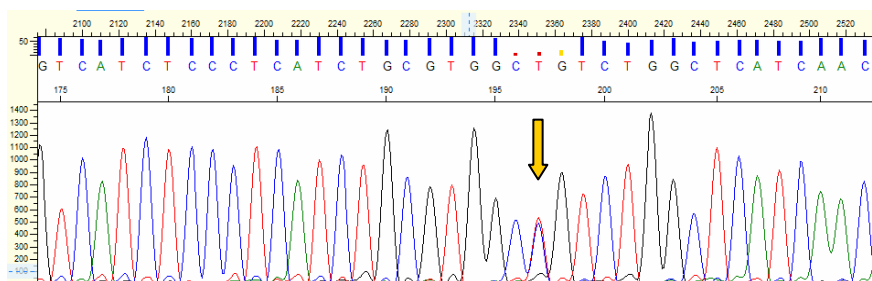
Kromě polymorfismu C66T v exonu 8, který popisují Ciobanu *et al.*, 2002 a Chai *et al.*, 2010 byly sekvenováním objeveny další dva SNP (A56G a C180T v exonu 8). Nelze vyloučit, že jsou shodné s polymorfismy uvedenými Ciobanu *et al.*, 2002 – nejsou označeny konkrétní SNP ani pozice.



Obr. 4 Výsledek sekvence – polymorfismus A56G v exonu 8 (Sequence Scanner v1.0).



Obr. 5 Výsledek sekvence – polymorfismus C66T v exonu 8 (Sequence Scanner v1.0).



Obr. 6 Výsledek sekvence – polymorfismus C180T v exonu 8 (Sequence Scanner v1.0).

Výpočet frekvence genotypů a alelTab. 1 Frekvence genotypů *MC4R* a *LPIN1*.

	MC4R			LPIN1		
genotyp	AA	GA	GG	TT	CT	CC
četnost absolutní	23	16	5	0	14	30
četnost relativní	0,52	0,36	0,11	0	0,32	0,68
Σ	44			44		

Tab. 2 Frekvence genotypů *SERCA1*.

	SERCA1 A56G			SERCA1 C66T			SERCA1 C180T		
genotyp	AA	AG	GG	CC	CT	TT	CC	CT	TT
četnost absolutní	0	8	36	35	8	1	17	24	3
četnost relativní	0	0,18	0,82	0,80	0,18	0,02	0,39	0,55	0,06
Σ	44			44			44		

Tab. 3 Frekvence alel *MC4R* a *LPIN1*.

	MC4R		LPIN1	
alela	A	G	C	T
četnost absolutní	62	26	74	14
četnost relativní	0,70	0,30	0,84	0,16
Σ	88		88	

Tab. 4 Frekvence alel *SERCA1*.

	<i>SERCA1 A56G</i>		<i>SERCA1 C66T</i>		<i>SERCA1 C180T</i>	
alela	A	G	C	T	C	T
četnost absolutní	8	80	78	10	58	30
četnost relativní	0,09	0,91	0,89	0,11	0,66	0,34
Σ	88		88		88	

Genotyp *TT* polymorfismu *SERCA1 C66T* byl v souboru detekován pouze u jednoho vzorku, proto byl tento jedinec z následné asociační analýzy vyloučen. V případě asociace s obsahem intramuskulárního tuku je tedy kalkulováno se 43 jedinci.

Hodnoty mastných kyselin jsou prozatím k dispozici jen u 30 zvířat, z tohoto důvodu je asociace s MK na tyto vzorky omezena.

Asociační analýzaTab. 5 Asociace polymorfizmů v genech *MC4R*, *LPIN1* a *SERCA1* s obsahem intramuskulárního tuku (LSM ± SE).

MC4R	AA(23)	GA(16)	GG(4)
% intramuskulárního tuku	3,43 ± 0,33	3,74 ± 0,43	3,91 ± 0,57
LPIN1	TT(0)	CT(14)	CC(29)
% intramuskulárního tuku	–	3,99 ± 0,42	3,40 ± 0,37
SERCA1 A56G	AA(0)	GA(8)	GG(36)
% intramuskulárního tuku	–	3,87 ± 0,52	3,52 ± 0,30
SERCA1 C66T	TT(1)	CT(8)	CC(36)
% intramuskulárního tuku	–	3,88 ± 0,49	3,50 ± 0,29
SERCA1 C180T	TT(3)	CT(25)	CC(16)
% intramuskulárního tuku	3,55 ± 0,67	3,71 ± 0,35	3,82 ± 0,33

Hodnoty se stejnými exponenty v řádku vykazují následující statisticky významné rozdíly:

** $P \leq 0,01$, * $P \leq 0,05$, ^a blížící se průkaznosti, LSM – průměrný nejmenší čtverec, S_E – střední chyba průměru.

Chai *et al.*, 2010 uvádí, že jedinci genotypu *CC* (*SERCA1* C66T) vykazovali nižší obsah intramuskulárního tuku a vyšší obsah vody než *CT* a *TT*. Alela *T* vykazuje asociaci se zvýšeným obsahem intramuskulárního tuku a sníženým obsahem vody.

He *et al.*, 2009 popisuje průkazně nižší obsah intramuskulárního tuku u prasat genotypu *CC* oproti *CT* (*LPIN1*).

V námi zkoumaném souboru nebyly u obsahu intramuskulárního tuku mezi uvedenými genotypy *MC4R*, *LPIN1* a *SERCA1* zjištěny průkazné rozdíly.

Tab. 6 Asociace polymorfizmů v genech MC4R, LPIN1 s obsahem mastných kyselin (LSM ± SE).

	MC4R			LPIN1		
	AA(17)	GA(10)	GG(3)	TT(0)	CT(11)	CC(19)
kyselina palmitová	27,72 ± 0,55	28,01 ± 0,68	28,40 ± 0,84	–	28,29 ± 0,62	27,80 ± 0,56
kyselina stearová	15,57 ± 0,49	15,87 ± 0,60 ^a	14,39 ± 0,74 ^a	–	15,33 ± 0,55	15,22 ± 0,49
kyselina olejová	49,91 ± 0,85 ^a	49,71 ± 1,06 ^b	52,55 ± 1,31 ^{ab}	–	50,75 ± 0,97	50,70 ± 0,87
kyselina linolová	6,81 ± 0,63 ^a	6,39 ± 0,78	4,68 ± 0,97 ^a	–	5,61 ± 0,72	6,31 ± 0,64

Hodnoty se stejnými exponenty v řádku vykazují následující statisticky významné rozdíly:

**P ≤ 0,01, * P ≤ 0,05, ^a blíží se průkaznosti, LSM – průměrný nejmenší čtverec, S_E – střední chyba průměru

Tab. 7 Asociace polymorfizmů v genu SERCA1 s obsahem mastných kyselin (LSM ± SE).

	SERCA1 A56G			SERCA1 C66T			SERCA1 C180T		
	AA(0)	GA(7)	GG(23)	TT(0)	CT(5)	CC(25)	TT(2)	CT(17)	CC(11)
kyselina palmitová	–	28,07 ± 0,73	28,02 ± 0,46	–	28,40 ± 0,76	27,69 ± 0,43	28,01 ± 1,07	27,94 ± 0,51	28,18 ± 0,55
kyselina stearová	–	15,20 ± 0,65	15,35 ± 0,41	–	14,96 ± 0,67	15,59 ± 0,38	16,71 ± 0,95 ^{*112}	14,58 ± 0,45 ^{*2}	14,54 ± 0,49 ^{*1}
kyselina olejová	–	50,81 ± 1,14	50,64 ± 0,72	–	50,48 ± 1,19	50,97 ± 0,67	48,93 ± 1,66	51,68 ± 0,79	51,56 ± 0,87
kyselina linolová	–	5,95 ± 0,85	5,98 ± 0,54	–	6,15 ± 0,88	5,77 ± 0,50	6,39 ± 1,24	5,78 ± 0,58	5,72 ± 0,64

Hodnoty se stejnými exponenty v řádku vykazují následující statisticky významné rozdíly:

**P ≤ 0,01, * P ≤ 0,05, ^a blíží se průkaznosti, LSM – průměrný nejmenší čtverec, S_E – střední chyba průměru

MENDELNET 2010

V případě genu *MC4R*, jedinci genotypu *GA* vykazovali vyšší obsah kyseliny stearové oproti zvířatům *GG* (blíží se průkaznosti). Genotyp *GG* je asociován s vyšším zastoupením kyseliny olejové (oproti *GA* a *AA*; blíží se průkaznosti). Vyšší obsah kyseliny linolové byl zjištěn u jedinců *AA* oproti *GG* (blíží se průkaznosti).

U genu *LPINI* nebyly zjištěny mezi genotypy průkazné rozdíly. Genotyp *TT* nebyl v souboru detekován.

Genotyp *TT* (*SERCA1* C180T) je asociován s vyšším obsahem kyseliny stearové oproti *CT* a *CC* ($P \leq 0,05$). U polymorfismů A56G a C66T (*SERCA1*) nebyly mezi genotypy zjištěny průkazné rozdíly.

ZÁVĚR

V souboru prasat plemene bílé otcovské byly testovány polymorfismy v genech *MC4R*, *LPINI* (PCR-RFLP) a *SERCA1* (sekvenování). Byla provedena asociční analýza s vybranými parametry kvality masa – obsahem intramuskulárního tuku a mastných kyselin (palmitová, stearová, olejová, linolová). V našem souboru nebyla zjištěna asociace obsahu intramuskulárního tuku s žádným z testovaných polymorfismů. U genu *MC4R* byly zjištěny rozdíly (blíží se průkaznosti) v obsahu mastných kyselin (stearová, olejová, linolová). Detekovaný polymorfismus C180T v exonu 8 genu *SERCA1* je asociován s obsahem kyseliny stearové. Zastoupení genotypů bylo v nerovnoměrné. Soubor zvířat bude rozšířen, výzkum pokračuje.

LITERATURA

Bečková, R., Václavková, E. *Vepřové maso* [online] 2009 [cit. 2010-10-03] © AGROVENKOV

Dostupné z: <<http://www.agrovenkov.cz/default.asp?ids=3069&ch=445&typ=1&val=91865>>.

Ciobanu, D.C., Zhang, Y., Rothschild, M.F. Rapid communication: Mapping of the Ca²⁺ ATPase of fast twitch 1 skeletal muscle sarcoplasmic reticulum (ATP2A1) gene to porcine chromosome 3. *J. Anim. Sci.*, 2002. Vol. 80. p. 1386-1387.

He, X. P., Xu, X. W., Zhao, S. H., Fan, B., Yu, M., Zhu, M. J., Li, C. C., Peng, Z. Z., Liu, B. Investigation of *Lpin1* as a candidate gene for fat deposition in pigs, *Mol. Biol. Rep.*, 2009. Vol. 36. p. 1175-1180.

Chai, J., Xiong, Q., Zhang, P. P., Shang, Y. Y., Zheng, R., Peng, J., Jiang, S. W. Evidence for a new allele at the *SERCA1* locus affecting pork meat quality in part through the imbalance of Ca²⁺ homeostasis, *Mol. Biol. Rep.*, 2009.

MENDELNET 2010

Kim, S.K., Larsen, N., Short, T., Plastow, G., Rothschild, M.F. A missense variant of the porcine melanocortin-4 receptor (MC4R) gene is associated with fatness, growth and feed intake traits. *Mammalian Genome*, 2000. Vol. 11, p. 131-135.

Schwab, C.R., Mote, B.E., Du, Z.Q., Amoako, R., Baas, T.J., Rothschild, M.F. An evaluation of four candidate genes for use in selection programmes aimed at increased intramuscular fat in Duroc swine, *J. Anim. Breed. Genet.*, 2009. Vol. 126, p. 228-236.

MILK COMPOSITIONS AND BLOOD METABOLITES OF HOLSTEIN DAIRY COWS DURING IMPORTANT STAGES OF LACTATION

Filipejová T.¹, Kováčik J.¹, Kirchnerová K.²

¹Department of Animal Physiology, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agricultural in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

²Institute of Nutrition, Animal Production Research Centre, Nitra, Slovakia

E-mail: filipejova@gmail.com

ABSTRACT

The aim of our study was to determine selected parameters of Holstein dairy cows in the blood plasma, changes of milk during important stage of lactation. Fifteen dairy cows from selected agricultural farm were divided into three groups as follow: group I: 3-4 weeks after calving (the beginning of lactation), group II: 3-4 months after calving (the middle of lactation), group III: 2-3 weeks before calving (the dry period). Concentrations of selected parameters of energy profile: glucose (GLU), cholesterol (CHOL) and nitrogenous profile: bilirubin, urea, total proteins (TP) in blood plasma were measured. Significant differences among groups of dairy cows were evaluated by statistical programme Sigma Plot 11.0. Differences among the groups at $p < 0.05$ and $p < 0.01$ using test ANOVA one way were considered as significant. In conclusion, we detected some significant differences, especially concentration of bilirubin was higher statistically significant at the beginning of lactation ($6.50 \pm 5.89 \mu\text{kat.l}^{-1}$; $p < 0.05$) in comparison to group during dry period ($0.92 \pm 0.29 \mu\text{kat.l}^{-1}$; $p < 0.05$). Consequently, concentration of total proteins was significantly higher in the middle lactation ($87.60 \pm 6.54 \text{ g.l}^{-1}$; $p < 0.05$) in comparison with beginning lactation ($71.40 \pm 4.98 \text{ g.l}^{-1}$; $p < 0.05$). Concerning energy profile, the cholesterol concentration was significantly higher in the middle lactation ($3.54 \pm 0.73 \text{ mmol.l}^{-1}$; $p < 0.05$) in comparison to dry period ($2.58 \pm 0.39 \text{ mmol.l}^{-1}$; $p < 0.05$) and following the beginning of lactation ($1.92 \pm 0.49 \text{ mmol.l}^{-1}$; $p < 0.05$). In addition, we detected significant differences of glucose concentration in the middle lactation ($3.97 \pm 0.19 \text{ mmol.l}^{-1}$; $p < 0.01$) and at the beginning of lactation ($2.84 \pm 0.51 \text{ mmol.l}^{-1}$; $p < 0.01$) and following group of dry period ($3.86 \pm 0.25 \text{ mmol.l}^{-1}$; $p < 0.05$). Based on the analysis of milk indicators, an another statistically difference ($p < 0.05$) was detected for lactose in the dairy cows at the beginning of lactation ($4.71 \pm 0.06 \text{ g.100g}^{-1}$; $p < 0.05$) in comparison to the middle of lactation ($5.00 \pm 0.09 \text{ g.100g}^{-1}$; $p < 0.05$). Furthermore, Fat/Protein ratio was lower than optimum in both groups, which lead to sub-clinical acidosis. The present observation confirm, that some symptoms leading to sub-clinical diseases, besides worsening the technological quality of the cow milk.

Key words: blood plasma, milk, dairy cows, Fat/Protein ratio, biochemical parameter

Acknowledgments: This study was supported by project KEGA 101-001SPU-4/2010

INTRODUCTION

The quality of milk and its nutritional value influenced by many factors (Tančín et al., 2006). Specifically, the nutrition and health status are major factors in determining cow milk characteristics. Metabolic perturbations, lack of nutrition and sub-clinical disorders could be detected by measuring some metabolic parameters in the blood, urine and milk (Slanina et al., 1992). At the beginning of lactation, dairy cows have to cope with the high energy and protein demands for milk synthesis at the time when nutrient intake is low. In an effort to obtain the energy necessary for milk production, the cows use up their bodily reserves, predominately fats. An energy deficit at the beginning of lactation negatively impacts, health efficiency and reproduction performance of dairy cows (Lubojacká et al., 2005). Mobilizing energy and protein from body tissue stores and repartition of nutrients away from extra-mammary tissues are the primary alternatives to supply sufficient nutrients for milk production during the first weeks of lactation. Excessive body reserves, especially fat, can cause a series of metabolic disorders (acidosis, ketosis, fat cow syndrome) and consequent production losses (Fourichon et al., 1999). A dry period is necessary for involution of the mammary gland and maximizing milk yield in the subsequent lactation in cattle (Cameron et al., 1998; Rastani et al., 2005). In recent years, the production efficiency of dairy cows has constantly been increasing, which has led to higher demands on the supply of their nutrients. The most difficult problems have been encountered in early lactation period when dairy cows have a negative energy balance. The main problem of that period is the limited intake capacity for dry matter, as a consequence of which dairy cows are unable to cover their energy need from feeds.

The aim of our study was to determine blood metabolites of dairy cows, basic milk composition and changes of milk, Fat/ Protein content in individual milk samples of cows during important stage of lactation.

MATERIAL AND METHODS

Fifteen dairy cows from selected agricultural farm were divided into three groups: group I: 3-4 weeks after calving (the beginning of lactation), group II: 3-4 months after calving (the middle of lactation), group III: 2-3 weeks before calving (the dry period). Blood samples for biochemical analysis were taken from *vena jugularis* 2 hours after morning feeding. The blood plasma was separated from whole blood by centrifugation at 3000 rpm for 30 minutes and samples were stored at - 18 °C. Selected biochemical parameters in blood plasma bilirubin, urea, total proteins (TP), glucose (GLU) and cholesterol (CHOL) were analyzed using semi-automated clinical chemistry analyzer Microlab 300 Vilat Scientific, Dieren, The Netherlands) (Filipejová and Kováčik, 2009).

Samples of milk were cooled down until 6 °C was reached. Samples were kept at the same temperature during the determination of milk quality parameters: Content of fat, proteins and lactose (by infrared analyzer Milcoscan FT 120; ISO 9622:1999 Whole milk – Determination of

milk fat, protein and lactose content), Non-Fat-Solis and solids (by the MilkoScan apparatus). Consequently Fat/Protein ratio was evaluated. Samples were analysed in the Institute of Nutrition in the Animal Production Research Centre in Lužianky near Nitra. Significant differences among groups of dairy cows were evaluated by using Sigma Plot 11 statistical programme. Statistical analysis was done using one-way analysis of variance (ANOVA). Differences among the groups at $p < 0.05$ and $p < 0.01$ were considered as significant.

RESULTS AND DISCUSSION

Determination of indicators of the metabolic profile in course of the breeding season helps to diagnose the metabolic problems of the animals (Verheyen et al., 2007). The metabolic profile test indicates the balance of some metabolic pathways, and together with animal, diet and body condition score assessment, is a useful tool for nutritional evaluation in dairy herds (Van Saun and Wustenberg 1997, Whitaker 2000). Changes in various biochemical constituents have been blamed for reproductive failures. Thus, serum biochemical profile might be a potential aid in characterizing these problems (Ahmad et al., 2004). In the metabolic profile test reference values are defined as mean values and ranges of standard deviation. Thus, values from blood analysis are compared with the population average or ranges of reference values (Herd, 2000). Our results of concentrations of blood plasma parameters of dairy cows are shown in the table 1 and milk composition are shown in the table 2 and table 3.

Tab. 1 Concentration of AST, urea, total proteins, glucose, cholesterol in blood plasma of dairy cows at the beginning of lactation, in the middle of lactation and during dry period

	Parameter	x	Minimum	Maximum	S.D.	CV (%)
BL	BIL($\mu\text{mol.l}^{-1}$)	6.50 ^a	2.10	13.30	5.89	7.32
	Urea (mmol.l^{-1})	3.88	2.47	6.03	1.37	1.71
	TP (g.l^{-1})	71.40 ^a	68.00	80.00	4.98	6.18
	GLU(mmol.l^{-1})	2.84 ^{Aa}	2.22	3.70	0.51	0.64
	CHOL (mmol.l^{-1})	1.92 ^a	1.40	2.60	0.49	2.90
ML	BIL ($\mu\text{mol.l}^{-1}$)	2.48	0.50	4.00	1.36	1.68
	Urea (mmol.l^{-1})	3.61	1.97	6.47	1.69	2.09
	TP (g.l^{-1})	87.60 ^a	82.00	98.00	6.54	8.12
	GLU(mmol.l^{-1})	3.97 ^A	3.68	4.15	0.19	0.24
	CHOL (mmol.l^{-1})	3.54 ^a	2.80	4.40	0.73	0.91
DP	BIL ($\mu\text{mol.l}^{-1}$)	0.92 ^a	0.70	1.40	0.29	0.36
	Urea (mmol.l^{-1})	4.56	3.77	5.43	0.74	0.92
	TP (g.l^{-1})	81.20	66.00	93.00	11.47	14.24
	GLU(mmol.l^{-1})	3.86 ^a	3.70	4.30	0.25	0.32
	CHOL (mmol.l^{-1})	2.58 ^a	1.90	2.90	0.39	0.49

BL-beginning of lactation, ML-middle of lactation, DP-dry period BIL-bilirubin, TP-total proteins, GLU-glucose, CHOL-cholesterol, x -mean, S.D.-standard deviation, CV-coefficient of variation, significant differences among the groups ($p < 0.05$) presented as equal letters (a-a, b-b; $p < 0.05$); (A-A; $p < 0.01$)

In our observation, we detected concentration of bilirubin was higher statistically significant at the beginning of lactation ($6.50 \pm 5.89 \mu\text{kat.l}^{-1}$; $p < 0.05$) in comparison to group during dry period ($0.92 \pm 0.29 \mu\text{kat.l}^{-1}$; $p < 0.05$) (Tab 1). Total bilirubin value is a sensitive indicator of liver damage. The bilirubin value found in group at the beginning of lactation exceeded the physiological range of $0.17\text{-}5.13 \mu\text{mol.l}^{-1}$, which implies it may indicate steatosis of liver, because these results are similar to Pechová et al. (2003). Bilirubin increasing after parturition may indicate especially liver load, event of damage to liver tissue, but also increased during starvation, particularly in negative energy balance (Kraft and Dürr, 2001).

Consequently, concentration of total proteins was significantly higher in the middle lactation ($87.60 \pm 6.54 \text{ g.l}^{-1}$; $p < 0.05$) in comparison with beginning lactation ($71.40 \pm 4.98 \text{ g.l}^{-1}$; $p < 0.05$), while dry period ($81.20 \pm 11.47 \text{ g.l}^{-1}$) was without significant differences ($p > 0.05$) (Table 1) According to Pechová (2003) reference range of total proteins in blood plasma should be $60\text{-}80 \text{ g.l}^{-1}$, which implies, group in the middle lactation and dry period were increased in comparison to Pechová reference range. No significant differences in urea was detected.

Moreover, energy profile was measured. We detected the highest significant differences of glucose concentration in the middle lactation ($3.97 \pm 0.19 \text{ mmol.l}^{-1}$; $p < 0.01$) and at the beginning of lactation ($2.84 \pm 0.51 \text{ mmol.l}^{-1}$; $p < 0.01$) and following group of dry period ($3.86 \pm 0.25 \text{ mmol.l}^{-1}$; $p < 0.05$) (Table 1). Results of glucose concentration were similar to Slanina et al. (1992), likewise Doubek et al (2010) reference range.

In addition, the cholesterol concentration was significantly higher in the middle lactation ($3.54 \pm 0.73 \text{ mmol.l}^{-1}$; $p < 0.05$) in comparison to dry period ($2.58 \pm 0.39 \text{ mmol.l}^{-1}$; $p < 0.05$) and following the beginning of lactation ($1.92 \pm 0.49 \text{ mmol.l}^{-1}$; $p < 0.05$) (Table 1). The cholesterol concentration in blood plasma is characteristic its content in feeding dose, when increased values of cholesterol are detected by feeding supplemental fat, moreover synthetic possibility of liver, because liver is only one organ, which is able to cholesterol synthesis (Pechová et al., 2003).

Tab. 2 Concentration of fats, proteins, lactose, Non-fat-solids, urea, in the milk of dairy cows during beginning a middle lactation

	Variable	x	Minimum	Maximum	S.D.	CV (%)
BL	Fats ($\text{g.}100\text{g}^{-1}$)	1.94	1.32	2.68	0.65	1.04
	Proteins ($\text{g.}100\text{g}^{-1}$)	4.07	3.62	5.01	0.66	1.04
	Lactose ($\text{g.}100\text{g}^{-1}$)	4.71 ^a	4.65	4.79	0.06	0.09
	Non Fat Solids ($\text{g.}100\text{g}^{-1}$)	9.10	9.06	10.53	0.66	1.05
	Urea (mmol.l^{-1})	6.07	4.11	7.67	1.60	2.55
ML	Fats ($\text{g.}100\text{g}^{-1}$)	1.61	1.33	2.37	0.51	0.82
	Proteins ($\text{g.}100\text{g}^{-1}$)	3.61	3.59	3.63	0.02	0.03
	Lactose ($\text{g.}100\text{g}^{-1}$)	5.00 ^a	4.89	5.09	0.09	1.15
	Non Fat Solids ($\text{g.}100\text{g}^{-1}$)	9.37	9.24	9.45	1.32	0.14
	Urea (mmol.l^{-1})	5.90	4.22	7.40	1.62	2.58

BL-beginning of lactation, ML-middle of lactation, a-a ($p < 0.05$)

The milk yield is an important economic and health factor closely connected with the health status of dairy cows, their reproduction performance, longevity and milk composition and properties (Janů et al., 2007). Concerning the milk composition, we detected higher significant differences of lactose content in the middle lactation ($5.00 \pm 0.09 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$; $p < 0.05$) in comparison to the beginning of lactation ($4.71 \pm 0.06 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$; $p < 0.05$) (Table 2). No significant differences in fats, proteins, Non-Fat-Solids and urea in both groups were detected.

Tab. 3 Changes in Fat/Protein ratio and milk fat and protein content during lactation

Stage of lactation	Fat	Proteins	F/P ratio
BL	1.94	4.07	0.48
ML	1.61	3.61	0.45

Metabolic disorders can reflected chemical-technological characteristics of milk and thus we focused on the changes of milk fat and protein content in individual milk samples of Holstein cows during lactation. Milk fat can increase or decrease depending on ration composition. It is not uncommon for two metabolic disorders and / or nutritional problems to act in opposition to one another within the same group of cows. For example early lactation cows have a tendency to mobilize body reserves while ingesting rations that are low in effective fiber. Mobilization of body fat tends to increase whereas lack of effective fiber will tend to decrease milk fat levels (Eicher, 2004). The changes of their mutual ratio which can suggest nutritional deficiencies. In order to evaluate nutrition, conversion of nutrients and metabolism is important to analyse milk fat to milk protein ratio. The optimum Fat/Protein ratio is 1.2 – 1.4 (Haas and Hoffrek, 2004).

In this study, as it is shown in Table 3, Fat/Protein ratio was lower than optimum at the beginning of lactation (0.48), but also in the middle lactation (0.45) as well. Lower values are likely to lead to sub-clinical rumen acidosis which can endanger reproduction performance of cows and enhance a possible development of mineral metabolism disorders (Richardt, 2004). Furthermore, Richardt (2004) confirms that the F/P ratio higher than 1.5 can indicate sub-clinical ketosis whereas the F/P ratio lower than 1.1 can mean suspected rumen acidosis.

CONCLUSION

In conclusion, deficiency in dairy cow's nutrition may influence many biochemical and physiological processes. In this study, blood metabolites and milk composition of Holstein dairy cows were analysed. We detected concentration of bilirubin was higher statistically significant at the beginning of lactation ($p < 0.05$) in comparison to group during dry period ($p < 0.05$). Consequently, concentration of total proteins was significantly higher in the middle lactation ($p < 0.05$) in comparison with beginning lactation ($p < 0.05$). Furthermore, the highest significant differences of glucose concentration in the middle lactation ($p < 0.01$) and at the beginning of lactation ($p < 0.01$) and following group of dry period ($p < 0.05$). Likewise the cholesterol concentration was significantly higher in the middle lactation ($p < 0.05$) in comparison to dry period ($p < 0.05$) and following the beginning of lactation ($p < 0.05$). Concerning the milk composition, we detected higher significant differences of lactose content in the middle lactation ($p < 0.05$) in

comparison to the beginning of lactation ($p < 0.05$). The present observation confirm that important stage of lactation, especially critical biological stages of dairy cows change blood metabolites and influence milk composition.

REFERENCES

- Ahmad, I., Lodhi, L.A., Qureshi, Z.I., Younis, M. 2004. Studies on blood glucose, total proteins, urea and cholesterol levels in cyclic, non-cyclic and endometritic crossbred cows. In *Pakistan Veterinary Journal*, vol.24, 2004, no.2, p. 92-94
- Cameron, R. E., P. B. Dyke, T. H. Herdt, J. B. Kaneene, R. Miller, H. F. Buckholz, J. S. Liesman, M. J. Vandehaar, and R. S. Emery. 1998. Dry cow diet, management, and energy balance as risk factors for displaced abomasum in high producing dairy herds. In *Journal of Dairy Science*, vol. 81, p. 132–139.
- Doubek, J., Šlosárková, S., Řeháková, K., Bouda, J., Scheer, P., Piperisová, I., Tomenendálová J., Matalová E. 2010. Interpretace základních biochemických a hematologických nálezů u zvířat. 2 dopl.vyd. Noviko, Brno, 70 s. ISBN 978-80-86542-22-5.
- Filipejová, T., Kováčik, J. 2009. Evaluation of selected biochemical parameters in blood plasma, urine and milk of dairy cows during the lactation period. In *Slovak Journal of Animal Science*, vol. 42, 2009, no.1, p. 8 -12. ISSN 1337-9984.
- Fourichon, C. H. - Seegers, Bareille, N. - Beaudeau, F. 1999. Effects of disease on milk production in dairy cow: A review. In: *Preventive Veterinary Medicine*, vol. 41, p. 1–35.
- Haas, D., Hofírek, B. 2004. The diagnostic importance of milk components for a human and cows' health. CUA Prague, Proceedings of contributions: Milk day 2004, p. 26 – 29.
- Herdt, T, H. 2000. Variability characteristics and test selection in herd level nutritional and metabolic profile testing. In *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, vol. 16, 2000, p. 387-403.
- Janů, L., Hanuš, O., Frelich, J., Macek, A., Zajičková, I., Genčurová, V., Jedelská, R. 2007. Influences of Different Milk Yields of Holstein Cows on Milk Quality Indicators in the Czech Republic, In: *Acta Veterinaria Brno*, vol. 76, 2007, p. 553-561.
- Kraft, W., Dürr, U. 2001. Klinická laboratórna diagnostika vo veterinárnej medicíne. 1 vyd.; preklad 5. orig. vyd, Bratislava, Hajko & Hajková, 380s.
- Lubojacká, V. Pechová, A., Dvořák, P., Drastich, V., Kummer, J, Poul. 2005. Liver steatosis Following supplementation with Fat in Dairy Cows Diets. *Acta Veterinaria Brno*, vol.74, p.217-224.
- Pechová, A., Dvořák, R., Pavlata, L. 2003. Diagnostika a výskyt hepatopatií u dojníc. In *Zdravotní problematika přežvýkavců. Produkční a metabolické choroby skotu*. Sborník referátů z odborného semináře, Brno, 2003, s. 80.

Rastani, R. R., R. R. Grummer, S. J. Bertics, A. Gumen, M. C. Wiltbank, D. G. Mashek, and M. C. Schwab. 2005. Reducing dry period length to simplify feeding transition cows: Milk production, energy balance, and metabolic profiles. In *Journal of Dairy Science*, vol. 88, p. 1004–1014.

Richardt, W. 2004. Milk composition as an indicator of nutrition and health. In *The Breeding I*, 2004, vol.11, p. 26–27.

Slanina, L., Beseda, I., Hlinka, D., Illek, J., Kováč, G., Kroupová, V., Lehocký, J., Michna, A., Rossow, N., Sokol, J., Vajda, V. 1992. Metabolický profil hovädzieho dobytku vo vzťahu k zdraviu a produkci. 1992, ŠVS SR, Bratislava, 2 vyd., 115 s. ISBN 80-7148-001- 0.

Tančin, V., Kirchnerová, K., Foltýs, V., Mačuchová, L., Tančinová, D. 2006. Microbiological contamination and somatic cell count of bovine milk stripped before and after udder preparation for milking. In *Slovak Journal of Animal Science*, vol. 39, 2006, no.4, p. 214 – 217.

Van Saun, R.J, Wustemberg, M 1997. Metabolic profiling to evaluate nutritional and disease status. In *Bovine Practice*, vol. 31, 1997, p. 37-42.

Verheyen, A.J.N., Maes, D. G. D., Mateusen, B., Deprez, P., Janssens, G.P.J., De Lange, L., Counotte, G. 2007. Serum biochemical reference values for gestating and lactating sows. In *Veterinary Journal*, vol. 174, 2007, p. 92-98

Whitaker, D.A. 2000. Use and interpretation of metabolic profiles. In Andrews A H (ed). *The health of dairy cattle*. Blackwell Science, Oxford, UK, 2000, p 89-93.

COMPARISON OF FIVE SELECTED SITES IN TERRITORIES SVRATKA 7-8 ACCORDING TO SELECTED INDICATORS FOR EVALUATION FISH COMMUNITIES

Grmela J., Spurný P.

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

E-mail: xgrmela@node.mendelu.cz

ABSTRACT

Our goal was to conduct a detailed Ichthyological exploration of five sites selected for ground Svratka7-8 in the diploma work. The collected data then determine the value of abundance, biomass, diversity, diversity index and evenness, and according to these parameters to compare between different localities with respect mainly to the presence of trout and grayling. Fish were caught by electric shock method of double pass. All fish caught were measured, the mass was detected and subsequently released back into the ground. The highest abundance and biomass of trout at the site was number 3 - 1519.2 units per ha and 116.1 kg per hectare. The highest abundance and biomass of grayling were found at the site 3 - 510.5 pieces per hectare and 85.5 kg per hectare. Values of biomass and abundance decreasing from center to both ends of the district. Diversity index values decrease with increasing altitude towards upstream. The maximum stocking density of the main economic species in the middle ground.

Key words: ground, electrofishing, abundance, biomass

ÚVOD

Sportovní rybářství je celosvětově oblíbený způsob odpočinku a pro některé i zajímavým a výdělečným povoláním. V České republice je rybaření již po mnoho let tradiční způsob trávení volného času a věnuje se mu téměř čtyři sta tisíc Čechů. Stejně jako vybavenost a informovanost samotných rybářů tak i management hospodaření na revírech je na velmi vysoké úrovni. Při dnešním vysokém rybářském tlaku na revíry a současně se všemi problémy, které přináší rostoucí populace rybožravých predátorů, je nezbytně nutné pečlivě a svědomitě se starat o populace ryb žijících ve volných vodách a průběžně provádět kontroly jejich stavu. Zvýšenou péčí je nutno věnovat zejména pstruhovým revírům, které jsou v tomto ohledu nejzranitelnější. Z pravidla jsou dobře dostupné pro sportovní rybáře i ryby

MATERIÁL A METODIKA

V rámci tvorby diplomové práce zaměřené na zhodnocení rybářského managementu, byl proveden ichtyologický inventarizační průzkum na řece Svratce v úseku mezi obcí Březina a Nedvědice. Tento úsek je obhospodařován Moravským rybářským svazem a je veden jako Pstruhový revír Svratka 7-8. Bylo vytipováno 5 výzkumných lokalit rovnoměrně rozmístěných po celém revíru. Na každé z nich byl proveden podrobný kvantitativní průzkum pomocí elektrického agregátu.

Stejněsměrný pulzující proud používaný při elektrolovu má na ryby narkotizující účinky. Dle Spurného (1998) má fyziologické působení stejnosměrného proudu na rybí organismus čtyři fáze. První z nich je excitace, kdy ryba jeví neklid a má snahu uniknout z elektrického pole. Poté nastává druhá fáze, kdy excitace zesiluje a ryba se otáčí hlavou ve směru siločar elektrického pole. Ve třetí fázi dochází k tzv. galvanotaxi, což znamená že ryba je přitahována hlavou k anodě, kterou představuje lovičí tyč. V bezprostřední blízkosti anody dojde ke čtvrté fázi označované jako galvanonarkóza, kdy nastává svalová křeč a samotná narkóza. Takto omráčená ryba se zotaví zhruba za 20 sekund po přerušení elektrického pole. Při odlovu bylo použito zařízení od firmy Bednář z Olomouce. Jako zdroj elektřiny sloužil benzínový agregát značky Honda 20i.

Elektrolov probíhal dle metody dvojitého průchodu. Při kvantitativním odlovu elektrickým agregátem se daná lokalita proloví dvakrát za sebou tak, aby bylo uloveno maximální množství ryb (Holčík, Hensel, 1972). Ulovené ryby byly přechovávány v haltýři mimo dosah lovičího zařízení. Po prolovení úseku řeky byly ryby spočítány, zjištěny jejich délkohmotnostní parametry a poté opět vysazeny zpět do revíru. Účinnost odlovu byla odhadnuta přímo na místě. Ichtologický průzkum byl primárně zaměřen na sledování populací chladnomilných druhů ryb a to především na pstruha obecného a lipana podhorního. Každá lokalita byla zaměřena pomocí přístroje GPS a následně zjištěna její plocha. Ze zjištěných údajů v terénu pak byly následně vypočítány jednotlivé charakteristiky pro hodnocení rybích společenstev.

Abundance vyjadřuje počet jedinců všech druhů vztahující se na jednotku plochy nebo objemu. Protože je nemožné sledovat kompletní ichtyocenózu, odlovují se jen vzorky z reprezentativních

ploch či objemů. U vzorků se pak vypočítávají abundance jednotlivých druhů, které po sečtení dávají abundanci celkovou. U společenstev ryb se používá jednotka ks.ha⁻¹ (LOSOS, 1985).

Biomasa je kvantitativní populační ukazatel udávající hmotnost všech jedinců vyskytujících se v zoocenóze v určitém čase. Vztahuje se na jednotku plochy nebo objemu. Pro rybí populace je používána jednotka kg.ha⁻¹ (LOSOS, 1985). Odhaduje se společně s odhadem početnosti. Může být vztažena na jednotlivé populace nebo případně na celé rybí společenstvo. Její výpočet získáme vynásobením abundance určité skupiny ryb její průměrnou hmotností. Biomasa celé ichyocenózy je součet hodnot biomasy dílčích populací (SPURNÝ, 1998).

Dominance představující důležitý relativní kvantitativní znak z hlediska zastoupení jednotlivých rybích druhů v populaci vyjadřující procentický podíl druhových populací (SPURNÝ, 1998). Vypočítává se z absolutních nebo relativních hodnot abundance.

Dále byl vypočítán index diverzity (H'), který charakterizuje druhovou rozmanitost celého společenstva neboli diverzitu. Vyjadřuje se poměrem počtu druhů k celkovému počtu jedinců (SPURNÝ, 1998).

Ekvitabilita (E), neboli vyváženost společenstva vyjadřuje poměrné rozdělení všech jedinců společenstva na zastoupené druhy (SPURNÝ, 1998).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Tab. 1 Údaje o lokalitách

Lokalita	Popis	Délka v m	Šířka v m	Prolovená plocha v m ²
Lok 1	Tišnov	86	15-28	2043,0
Lok 2	Štěpánovice	69	18-20	1221,0
Lok 3	Borač	72	16-18	968,0
Lok 4	Doubravník	85	21-35	1868,0
Lok 5	Černvír	80	17-18	1294,0

Lokalita číslo 1 se nachází u Tišnova nedaleko kynologického klubu pod silničním mostem Tišnov Hradčany. Odloveno bylo 10 druhů ryb z 5 čeledí v celkovém počtu 314 kusů.

Celková abundance této lokality byla 2895 ks.ha⁻¹. Z toho abundance lipana podhorního činila 86 ks.ha⁻¹ a pstruha obecného 441 ks.ha⁻¹. Zákonné lovné míry dosáhli 3 kusy lipana a 3 kusy pstruha obecného.

Celková biomasa na této lokalitě dosáhla hodnoty 131,56 kg.ha⁻¹, lipan podhorní zde tvořil biomasu 12,79 kg.ha⁻¹ a pstruh obecný 39,72 kg.ha⁻¹. Z ostatních druhů zde byl uloven hrouzek obecný, jelec tluušť, mník jednovousý, ostroretka stěhovavá, ouklejka pruhovaná, parma obecná, plotice obecná a vranka obecná. Účinnost odlovu elektrickým agregátem byla stanovena na 80%, jen u vranky na 10% a u ouklejky pruhované na 50%.

Z pohledu početní dominance je nejvíce zastoupena ouklejka pruhovaná, jako eudominantní druh se 46% z celkové abundance. Lipan podhorní je subdominantním druhem se zastoupením 2,97 % a pstruh obecný je na této lokalitě eudominantním druhem s 15,23% zastoupením viz. Graf 1.

Co se týká hmotnostní dominance byl zde nejdominantnějším druhem pstruh obecný (30,19%), následovaný jelcem tluuštěm a ouklejkou pruhovanou, lipan podhorní je zde s 9,72 % zastoupením dominantním druhem

Lokalita 2 – Štěpánovice

Úsek se nachází u sportovního areálu v obci Štěpánovice.

Na této lokalitě bylo odloveno 131 kusů ryb představujících 11 druhů ze 6 čeledí. Z hospodářsky významných chladnomilných druhů zde byl uloven lipan podhorní (25 ks) a pstruh obecný (41 ks).

Celková abundance na této lokalitě byla 2390 ks.ha⁻¹. Abundance lipana byla 241 ks.ha⁻¹ a abundance pstruha obecného 395 ks.ha⁻¹. Na této lokalitě bylo uloveno 5 ks lipanů a 4 ks pstruhů o. dosahujících nejmenší lovné velikosti. Abundance mírových lipanů byla 48 ks.ha⁻¹ a pstruhů o. 39 ks.ha⁻¹.

Celková biomasa zde dosahovala 133,34 kg.ha⁻¹, z toho lipan tvořil 41,05 kg.ha⁻¹ a pstruh o. 39,86 kg.ha⁻¹. Mimo těchto druhů, zde byla zjištěna přítomnost druhů jelec tluušť, karas obecný, okoun říční, ostroretka stěhovavá, ouklejka pruhovaná, parma obecná, plotice obecná a vranka obecná. Účinnost elektrolovu byla stanovena na 85%, pro vranku na 20%.

Početně nejdominantnějším druhem na této lokalitě byla vranka obecná se 61,67 % zastoupením, druhým eudominantním druhem zde byl pstruh obecný 16,53%, lipan podhorní s 10 % se řadí mezi dominantní druhy.

Dle klasifikace hmotnostní dominance zde byl na prvním místě lipan podhorní eudominantním druh se 24,53% zastoupením v celkové biomase. Pstruh obecný byl rovněž eudominantním druhem s 23,82% biomasy. Významnou část biomasy na této lokalitě tvořil jelec tluušť s 21%.

Lokalita 3 – Borač

Lokalita se nachází nad silničním mostem přes řeku v obci Borač.

Při průzkumu této lokality bylo odloveno celkem 179 zástupců 5 druhů ze 4 čeledí ryb. Z chladnomilných druhů se zde vyskytoval lipan podhorní (uloveno 42 ks) a pstruh o. (uloveno 125 ks).

Celková abundance ryb této lokality byla 2193 ks.ha⁻¹. Z toho abundance lipana podhorního byla 510 ks.ha⁻¹ a pstruha o. 1519 ks.ha⁻¹. Bylo uloveno 8 ks lipana a 5 ks pstruha o., kteří dosahovali nejmenší lovné délky. Abundance mírových lipanů byla 97 ks.ha⁻¹ a mírových pstruhů o. 61 ks.ha⁻¹.

Celková biomasa zjištěná na této lokalitě byla 206,35 kg.ha⁻¹. Ostatní druhy ulovené na této lokalitě byly jelec tloušť, ouklejka pruhovaná a vranka obecná. Účinnost odlovu el. agregátem byla 85%, pro vranku 50%.

Početně nejdominantnějším druhem zde byl pstruh o. s 69% zastoupením z celkové abundance. Společně s lipanem podhorním, který zde byl početně zastoupen z 23 % , jsou dvěma jedinými eudominantními druhy na této lokalitě. Hmotnostní dominance byla největší u pstruha o. s 56,28 % zastoupením v biomase. Lipan podhorní byl v biomase zastoupen z 41,44 %. Oba jsou klasifikováni jako eudominantní.

Lokalita 4 – Doubravník

Úsek se nachází u ČOV u obce Doubravník. Pomocí elektrolovu zde byly odloveny 4 druhy ryb ze 3 čeledí. Z hospodářsky významných chladnomilných rybích druhů se zde vyskytoval pstruh obecný (159 ks), lipan podhorní (59 ks) a pstruh duhový (2 ks).

Celková abundance pro tuto lokalitu byla 1469 ks.ha⁻¹. Abundance lipana podhorního byla 359 ks.ha⁻¹, abundance pstruha obecného byla 1001 ks.ha⁻¹ a abundance pstruha duhového byla 13 ks.ha⁻¹. Nejmenší lovné velikosti na této lokalitě dosahovaly 3 kusy lipana a 4 kusy pstruha o. Abundance mírových lipanů byla 19 ks.ha⁻¹, pstruha o. 25 ks.ha⁻¹ a u pstruha duhového 13 ks.ha⁻¹.

Celková biomasa na této lokalitě činila 118,82 kg.ha⁻¹. Biomasa lipana zde byla 48,44 kg.ha⁻¹, biomasa pstruha obecného byla 64,52 kg.ha⁻¹ a u pstruha duhového byla biomasa 3,67 kg.ha⁻¹. Kromě těchto druhů zde byla odlovena ještě vranka obecná. Účinnost odlovu byla 85%, pro vranku obecnou 50%.

Početně nejdominantnějším druhem na této lokalitě byl pstruh obecný, který zde tvořil 68,14 % celkové abundance, a byl zde eudominantním druhem. Lipan podhorní byl zde také eudominantním druhem s 24,44 % zastoupením v celkové abundanci, pstruh duhový s 6,54% byl dominantním druhem.

Z hlediska hmotnostní dominance byl nejvíce zastoupen pstruh obecný tvořící 54, 76% biomasy ryb. Lipan podhorní tvořil 41,11% a pstruh duhový 3,12%.

Lokalita 5 – Černvív

Lokalita se nachází pod historickou lávkou přes řeku. Bylo zde odloveno 72 ks ryb zastupujících 4 rybí druhy ze 4 čeledí. Hospodářsky významné chladnomilné druhy byly lipan podhorní v počtu 16 ks a pstruh obecný v počtu 44 ks.

Celková abundance na této lokalitě byla 709 ks.ha⁻¹. Abundance pstruha o. tady dosáhla 358 ks.ha⁻¹ a lipana podhorního 130 ks.ha⁻¹. Na lokalitě byli uloveni 3 míroví lipani a 2 míroví pstruzi o. Abundance lipana dosahujícího nejmenší lovnou délku byla u lipana 24 ks.ha⁻¹ a u pstruha o. 16 ks.ha⁻¹.

Celková biomasa ichtyocenózy na této lokalitě dosáhla 60,12 kg.ha⁻¹. Biomasa pstruha obecného byla 34,43 kg.ha⁻¹ a biomasa lipana podhorního činila 21,77 ks.ha⁻¹. Dalšími zjištěnými druhy byl okoun říční a vranka obecná.

Početně nejdominantnějším druhem zde byl pstruh obecný, který tvořil 50,49 % celkové abundance (eudominantní druh). Lipan podhorní byl s 18,34 % také eudominantní druh.

Z hlediska hmotnostní dominance byl nejvíce zastoupen pstruh obecný, tvořil 57,28% biomasy ryb, klasifikován jako eudominantní druh. Lipan podhorní tvořil 36,22% biomasy, také jako eudominantní druh.

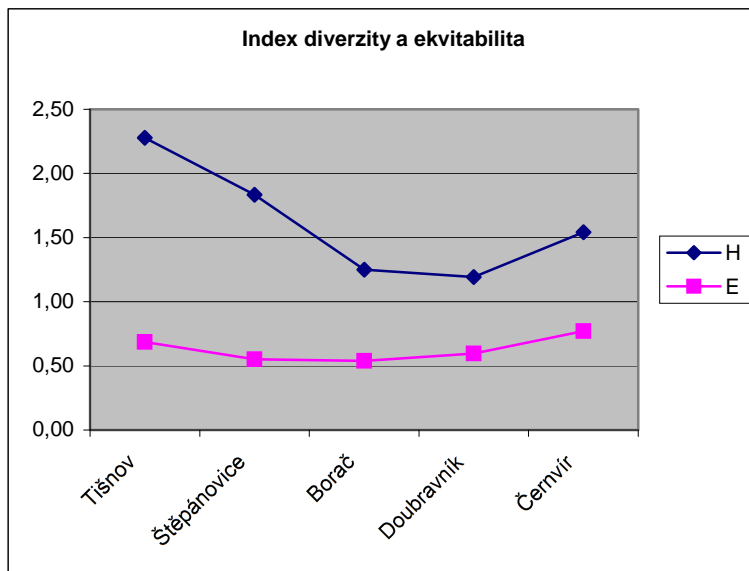
Tab. 2 Abundance a biomasa celková

	Abundance	Biomasa
	ks.ha ⁻¹	kg.ha ⁻¹
Lok 1	2895	131,5
Lok2	2390	133,3
Lok3	2193	206,3
Lok4	1469	117,8
Lok 5	709	60,1

Tab. 3 Abundance a biomasa Pstruha o. a lipana

	Abundance ks.ha ⁻¹		Biomasa kg.ha ⁻¹	
	Pstruh o.	Lipan	Pstruh o.	Lipan
Lok 1	440,5	85,7	39,7	12,8
Lok 2	395,0	240,9	39,9	41,0
Lok 3	1519,2	510,5	116,1	85,5
Lok 4	1001,4	359,0	64,5	48,4
Lok 5	357,9	130,2	34,4	21,8

Graf 1 Index diverzity a ekvitabilita



Pokles diverzity odpovídá změnám charakteru toku a nadmořské výšce. V Tišnově se mění charakter toku z lipanového na parmové pásmo.

ZÁVĚR

Na všech pěti lokalitách bylo uloveno celkem 113 druhů ryb ze 6 čeledí. Z hospodářsky významných druhů zde byl uloven pstruh obecný, lipan podhorní a pstruh duhový.

Nejvyšší abundance pstruha obecného byla zjištěna na lokalitě číslo 3 a 4, a to 1519,2 ks a 1001,4 ks na hektar. Naopak nejnižší abundanci vykazaly lokality číslo 2 a 5. Baruš a Oliva (1995) uvádějí neběžnější abundanci ve pstruhových vodách ČR v rozmezí 500 až 4000 kusů pstruha obecného na hektar. Nejvyšší abundance lipana podhorního byla zjištěna na lokalitě číslo 3. Dle tabulky číslo 3 je patrné že od středu revíru směrem k jeho koncům biomasa klesá. Hodnoty biomasy pstruha obecného kopírují údaje o abundanci. Nejvyšší byla zaznamenána na lokalitě č.3 a nejnižší hodnoty byly zjištěny na okrajích revíru. Biomasa lipana podhorního měla podobnou tendenci jako biomasa pstruha obecného kdy nejvyšší hodnota byla zjištěna ve střední části revíru a na jeho okrajích byla naopak nejnižší. Index diverzity klesá zároveň s rostoucí nadmořskou výškou. To odpovídá měnícímu se charakteru toku kdy v nejnižší položené části můžeme hovořit o parmovém pásmu, a tak i druhové složení je zde poměrně pestřejší než ve výše položených lokalitách.

LITERATURA

BARUŠ V., OLIVA O.: *Mihulovci a ryby*. Academia, Praha 1995. 623 s. ISBN 80-200-0500-5

HOLČÍK J., HENSEL K.: *Ichtyologická příručka*. Obzor, Bratislava 1972. 220 s.

SPURNÝ P.: *Ichtyologie (systematická část)*. Skripta MZLU Brno 1998. 138 s.

ISBN 80-157-41-8.

SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IN *LCAT*, *HMGCR*, *CTSZ* AND *TCF7L2* GENES WITH INFLUENCE ON MEAT QUALITY TRAITS IN CZECH LARGE WHITE PIGS

Kaplanová K., Bryndová M., Weisz F., Urban T., Šulcerová H., Jůzl M., Sláma P.

Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, Faculty of Agriculture, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, Brno, Czech Republic

E-mail: katerina.kaplanova@mendelu.cz

ABSTRACT

In this part of our project we focused on some meat quality traits (cholesterol content in blood plasma and meat colour) and actual candidate genes for pork quality. We investigated the effects of 4 markers (*LCAT* - lecithin cholesterol acyltransferase, *HMGCR* - 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase, *CTSZ* - cathepsin Z and *TCF7L2* - transcription factor 7-like 2 genes) in commercial breed population of 83 Czech Large White pigs (sows). The blood and tissue samples (*m.longissimus lumborum et thoracis*) were obtained from one commercial herd, fed with the same diet. Animals were slaughtered at average 91.2 kg of live weight in the same abattoir. The measured phenotypes were cholesterol level in blood plasma (mmol/l) and L* (lightness), a* (redness), b* (yellowness) for meat colour determination. Genotypes of SNPs in candidate genes *LCAT*, *HMGCR*, *CTSZ*, *TCF7L2* were determined by previously reported PCR-RFLP assays. The statistical analysis was performed by the general linear model (GLM) by SAS for Windows 9.1.4.

All analysed polymorphisms were polymorphic in our population of Czech Large White, but allele *G* of *LCAT* gene was observed in very small rate. Our study revealed significant ($P < 0.05$) association of c.266G>C polymorphism of *LCAT* gene to cholesterol level in blood plasma, genotype *GC* was associated with higher level of cholesterol, unfortunately no genotype *GG* was observed to verify the effect of allele *G* on higher cholesterol level in blood plasma, but no significant association between polymorphism c.807A>C of *HMGCR* and cholesterol level content, on the other hand high significant associations between SNP in *HMGCR* gene and meat colour characteristic were showed. But we observed no significant association of *CTSZ* gene and analysed traits. Our study revealed significant association ($P < 0.05$) of SNP c.646+154A>G in *TCF7L2* gene with cholesterol content in blood plasma (genotype *AA* was associated with lower cholesterol level) and also associations redness and yellowness of meat.

However number of pigs analysed in this part of our project is limited further investigation is required with higher number of pigs to confirm the associations and higher number of analysed traits.

Key words: *LCAT*, *HMGCR*, *TCF7L2*, *CTSZ*, Czech Large White pigs

Acknowledgments: This project was supported by Internal Grant Agency of Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, project no. TP9/2010.

INTRODUCTION

Pork quality comprises a set of key fresh meat quality, processing, and sensory characteristics that are important for the future profitability and competitiveness of the swine industry. These include intramuscular fat content, cholesterol, ultimate pH, colour, water-holding capacity or drip loss, tenderness, cooking loss, and sensory traits involving taste. Improving meat quality genetically is difficult by standard selection methods, but possible if the genes responsible for meat quality variability are identified and mapped (Malek *et al.*, 2001). Genetic markers associated with all these traits are of interest to the pig industry because, when used in combination with performance data, they may allow faster improvement of the traits of economic importance without decline of meat quality (Ramos *et al.*, 2009).

In this part of our project we focused on some meat quality traits (cholesterol content in blood plasma and meat colour) and actual candidate genes for pork quality. We investigated the effects of 4 markers (*LCAT*, *HMGCR*, *CTSZ* and *TCF7L2* genes) in commercial breed population of Czech Large White pigs.

Porcine *LCAT* (lecithin cholesterol acyltransferase) is a soluble enzyme that converts cholesterol and lecithins to cholesteryl esters and lysolecithins on the surface of high density lipoprotein (HDL) and plays an important role in lipoprotein metabolism, especially in the process termed 'reverse cholesterol transport'. This enzyme is synthesized in liver, but circulates in blood plasma as a complex with components of HDL and lack of *LCAT* causes accumulation of free cholesterol tissues and cholesterol level in the blood (Qiao *et al.*, 2010). Porcine *LCAT* gene has been mapped on pig chromosome 6p13 by Frengen *et al.* (1997). In this study the single nucleotide polymorphism G/C in intron 1 at position 266 of *LCAT1* gene was analysed.

The *HMGCR* (3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase) is rate-limiting enzyme in de novo biosynthesis of cholesterol, this enzyme catalyses step which converts HMG-CoA into mevalonate (Friesen and Rodwell, 2004). The polymorphisms on the human *HMGCR* gene have been associated with changes in plasma cholesterol and triglyceride levels and in pigs *HMGCR* gene displays a relationship with not only lipid serum traits but also with commercially important pig meat quality trait (Tong *et al.*, 2004, Canovas *et al.*, 2010). Porcine *HMGCR* gene has been mapped on SSC2 and the single nucleotide polymorphism *HMGCR*:c.807A>C situated in exon 9 was studied in our study.

Cathepsins are lysosomal proteinases with a broad spectrum of functions and high cathepsin activities of porcine skeletal muscle have been correlated to defects with excessive meat softness or dark colour (Russo *et al.*, 2008). *CTSZ* (cathepsin Z) gene is located in QTL for meat quality on SSC17 and impacted on meat colour, with less favourable genotype for growth being associated with darker meat, both visula scoring of meat colour and the objective measure of meat colour (Russo *et al.*, 2008, Ramos *et al.*, 2009, Fan *et al.*, 2010). The single nucleotide polymorphism *CTSZ*:g.557A>G (p.Arg64Lys) in exon 2 was analysed.

TCF7L2 (transcription factor 7-like 2) has been implicated in glucose homeostasis through the regulation of pro-glucagon gene expression, which encodes glucagon-like peptide 1 in intestinal cells (Shu *et al.*, 2008). The *TCF7L2* has been identified as one of the most promising candidates associated with type II diabetes in humans (Grant *et al.*, 2006). In pigs *TCF7L2* gene is located on porcine chromosome 14 and *TCF7L2* mutations were associated with backfat or meat colour traits (Du *et al.*, 2009, Fan *et al.*, 2010). For our analysis we used polymorphism *TCF7L2*:c.646+154A>G in intron 10 which may be in linkage disequilibrium with causative variant with additive effects on backfat traits and total lip percentage (Du *et al.*, 2009).

MATERIALS AND METHODS

Blood and tissue samples

The blood and tissue samples were obtained from 83 Czech Large White purebred pigs (sows) from one commercial herd, fed with the same diet. Animals were slaughtered at average 91.2 kg of live weight in the same abattoir.

Immediately after slaughter the blood of animals was collected and blood plasma was prepared by spinning a tube of fresh blood with heparin in a centrifuge and was stored at -20°C until cholesterol level measuring. A portion of blood was stored with EDTA at 8°C until genomic DNA purification. Automated purification of DNA was realised by QIAmp DNA Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) on QIAcube® (QIAGEN, Hilden, Germany). Purified DNA was stored at -20°C until SNPs genotyping. The tissue samples of *m.longissimus lumborum* et *thoracis* were collected from each individual after slaughter during the cutting.

SNP genotyping

Single nucleotide polymorphisms in candidate genes *LCAT*, *HMGCR*, *CTSZ*, *TCF7L2* and their PCR-RFLP assays were previously reported by Qiao *et al.* (2010), Canovas *et al.* (2010), Ramos *et al.* (2009) and Fan *et al.* (2010), respectively. Detailed information about these SNPs and respective PCR-RFLP genotyping approach are listed in Table 1. DNA fragments (visualised by ethidium bromide) after digestion were separated on 2-3% agarose gels after the electrophoresis.

Tab. 1 Detailed information about 4 SNPs in 4 candidate genes analysed in this study

Gene	SNP	Position	Primer sequence (5'-3')	T _m (°C)	Restriction enzyme	PCR-RFLP pattern (bp)	Ref.
<i>LCAT</i>	c.266G>C	Intron 1	GCTCCTCAATGTGCTCTTC CATCTAGCGTGGCTTTCC	64	<i>PvuII</i>	535/ 193+342	Qiao <i>et al.</i> (2010)
<i>HMGCR</i>	c.807A>C	Exon 9	CAAATCCTGTACTCAGAGAG CAGGAGCATAGCGTTATG	56	<i>HhaI</i>	650/ 450+200	Canovas <i>et al.</i> (2010)
<i>CTSZ</i>	g.557A>G	Exon 2	GGCATTGGGGCATCTGGG ACTGGGGGATGTGCTGGTT	62	<i>AlwNI</i>	330/ 260+70	Ramos <i>et al.</i> (2009)
<i>TCF7L2</i>	c.646+154 A>G	Intron 10	AGAAAGGAAAGGGTGCAGGT GCGATAACTTGTCAGCACGA	60	<i>BsrI</i>	314/ 192+122	Fan <i>et al.</i> (2010)

Analysed traits and statistical analysis

The measured phenotypes were cholesterol level in blood plasma (mmol/l) and L^* (lightness), a^* (redness), b^* (yellowness) for meat colour determination. Cholesterol level in blood plasma was determined on Thermo Scientific* Konelab 20XT Clinical Chemistry Analyzer (Thermo Scientific, Bremen, Germany). Meat colour was determined by spectrophotometry on CM-3500d (KONICA MINOLTA) according to CIELAB (L^* , a^* , b^*).

The statistical analysis was performed by the general linear model (GLM) by SAS for Windows 9.1.4. The genotypes of relevant genes ($G_{i..}$) were used as fixed effects. The model used to analyze the data was assumed to be: $y_{ijklm} = \mu + G_i + G_j + G_k + G_l + e_{ijklm}$, where y_{ijklm} is the observation or the trait, μ is the population mean, $G_{i, j, k, l}$ is the effect of i, j, k, l -th genotype, e_{ijklm} is the random residue.

RESULTS AND DISCUSSION

Genotypes frequencies

All analysed polymorphisms were polymorphic in our population of Czech Large White, but allele G of *LCAT* gene was observed in very small rate and genotype GG of *LCAT* gene was not determined (see Tab. 2). Qiao *et al.* (2010) characterized this SNP in porcine *LCAT* gene and revealed also very low frequency of allele G in Yorkshire or Landrace population (allele G in Yorkshire was not observed) however allele G was in majority in Meishan population used in their study. So it is possible analogous tendency of low occurrence of one allele in western breeds but high rate of the same allele in Chinese breeds (Shan *et al.*, 2009, Xu *et al.*, 2010). Fan *et al.* (2010) published similar results of Yorkshire pigs as our frequencies in Czech Large White pigs of *TCFL7L2* and *CTSZ* genes. Russo *et al.* (2008) studied polymorphisms in cathepsins genes in different pig populations – they revealed no allele G of *CTSZ* gene in Meishan, but in western breeds (Duroc, Pietrain, Hampshire and Italian Large White) they observed the occurrence of allele G and the results of Italian Large White were similar to our investigation. In *HMGCR* polymorphism $c.807A>C$ Canovas *et al.* (2010) published intermediate frequency of allele G for Large White compared to no segregation of allele G in other population where either allele A (Iberian, Duroc lines) or allele G (Mesihan pigs) was fixed. Our results were similar to results of Canovas *et al.* (2010) in Large White.

Tab. 2 Frequency of genotypes, number of observations and the allele frequency for different markers used in this study

Gene	Genotype frequency (no. of animals)			Allele frequency	
	AA	AC	CC	A	C
HMGCR	39.76 (33)	51.81 (43)	8.43 (7)	0.66	0.34
	AA	AG	GG	A	G
TCF7L2	12.05 (10)	56.63 (47)	31.33 (26)	0.40	0.60
	AA	AG	GG	A	G
CTSZ	13.25 (11)	68.67 (57)	18.07 (15)	0.48	0.52
	CC	GC	GG	C	G
LCAT	91.57 (76)	8.43 (7)	0	0.96	0.04

Associations of genotypes with the traits

Table 3 shows results corresponding to the association study between polymorphisms in candidate genes (*LCAT*, *HMGCR*, *CTSZ*, *TCF7L2*) and cholesterol content and meat colour characteristic in Czech Large White population.

Qiao *et al.* (2010) studied *LCAT* gene and revealed that SNP c.266G>C in intron 1 was significantly associated with ratio of lean fat, leaf fat weight or carcass length in Yorkshire, Landrace and Meishan pigs. *LCAT* gene or lecithin cholesterol acyltransferase is a key enzyme of reverse cholesterol transport, converts cholesterol and lecithins to cholesteryl esters and lysolecithins on the surface of high density lipoproteins and a lack of *LCAT* activity would be lead to accumulation of free cholesterol in the tissues, *LCAT* is a key enzyme in cholesterol homeostasis and regulating its transport in blood (Qiao *et al.*, 2010). Our study revealed significant ($P<0.05$) association of c.266G>C polymorphism to cholesterol level in blood plasma, genotype *GC* was associated with higher level of cholesterol, unfortunately no genotype *GG* was observed to verifying the effect of allele *G* on higher cholesterol level in blood plasma.

Tab. 3 Association analysis between *LCAT*, *HMGCR*, *CTSZ*, *TCF7L2* genes and meat colour and cholesterol level in blood plasma

Marker	Analysed traits (LSM (Least square mean value) ± SE (standard error))			
	Cholesterol content (mmol/l)	L*	a*	b*
HMGCR				
AA (33) ¹	2.65±0.16	55.52±1.04	2.13±0.85a	11.19±0.62
AC (43)	2.59±0.16	56.58±1.02	4.3±0.83a	12.77±0.61a
CC (7)	2.54±0.25	58.23±1.62	2.76±1.32	12.68±0.97a
TCF7L2				
AA (10)	2.32±0.22b	56.63±1.42	2.95±1.16	12.13±0.85
AG (47)	2.81±0.15b	57.23±0.98	4.15±0.80b	12.84±0.59b
GG (26)	2.65±0.17	56.45±1.08	2.10±0.88b	11.66±0.65b
CTSZ				
AA (11)	2.72±0.22	56.86±1.38	2.59±1.13	11.94±0.83
AG (57)	2.58±0.16	57.51±1.02	3.07±0.83	12.46±0.61
GG (15)	2.48±0.19	55.95±1.19	3.54±0.97	12.23±0.71
LCAT				
CC (76)	2.32±0.12b	57.64±0.78	2.31±0.63	12.04±0.47
GC (7)	2.87±0.24b	55.91±1.54	3.83±1.25	12.39±0.96

b - significant difference between genotypes ($P < 0.05$), a - high significant difference between genotypes ($P < 0.01$), cholesterol content in plasma (mmol/l), meat colour characteristic L* (lightness), a* (redness), b* (yellowness)

1 - number of animals with mentioned genotype

HMGCR gene is the rate-limiting enzyme in the biosynthesis of cholesterol. Canovas *et al.* (2010) revealed that allele A of c.807A>C in *HMGCR* gene showed significant association with intramuscular fat content or with higher oleic and lower linoleic acid level in fat so they supposed that *HMGCR* could be shown as an interesting candidate gene assisted selection in commercial important meat quality. Our study revealed no significant association between polymorphism c.807A>C and cholesterol level content, on the other hand high significant associations ($P < 0.01$) between SNP in *HMGCR* gene and meat colour characteristic (redness and yellowness) were showed. *HMGCR* gene has been intensively studied in human and its polymorphisms were associated with changes in plasma or triglyceride levels and statins, known as *HMGCR* inhibitors, are the standard treatment for hypercholesterolemic patient (Tong *et al.*, 2004, Osborne *et al.*, 2004). Porcine *HMGCR* gene was presented as a source of genetic variation for traits related to serum lipid level levels and fat deposition in pigs. In physiological function of *HMGCR* gene there is no obvious reason of meat colour influencing. These results suggest there is common pathway or network regulating fatness of energy balance.

Cathepsin Z and SNP g.557A>G within it and polymorphism c.646+154A>G in *TCF7L2* were associated with both visual meat colour scoring and objective L-value measure of meat colour in purebred Yorkshire (Fan *et al.*, 2010). In addition Ramos *et al.* (2009) revealed impact of g.557GG of *CTSZ* on slower growth and darker meat colour. In fact, Ramos *et al.* (2009) mentioned that g.557A was associated with faster growth, but to the contrary to this study Russo *et al.* (2008) observed opposite tendency in Italian Large White and allele g.557G was the preferred allele for daily gain. It indicated that the effects of *CTSZ* gene may differ between different populations. But we observed no significant association of *CTSZ* gene and analysed traits. In addition to associations with meat colour *TCF7L2* gene has been identified as promising candidate associated with type II diabetes in humans (Grant *et al.*, 2006). In pigs mutations were associated with backfat and meat colour (Du *et al.*, 2009). Our study revealed significant association ($P < 0.05$) of SNP c.646+154A>G in *TCF7L2* gene with cholesterol content in blood plasma (genotype AA was associated with lower cholesterol level) and also associations redness and yellowness of meat. Interestingly the LSM of heterozygotes AG was always higher than those of homozygotes for this SNP.

CONCLUSION

In summary, for the present study, we analysed previously reported polymorphisms of *LCAT*, *HMGCR*, *CTSZ*, *TCF7L2* actual candidate genes in population of Czech Large White pigs. We revealed significant associations between *LCAT* and *TCF7L2* genes and cholesterol level and associations between *HMGCR* and *TCF7L2* and redness and yellowness of meat. These results are very interesting because they suggest possible involvement of *HMGCR* gene in physiological pathway influenced with meat colour. However number of pigs analysed is limited further investigation is required among other populations of pigs to confirm the associations between *HMGCR* polymorphism and meat colour and the others previously reported associations.

The authors would thank to Z. Vyslouzilova for measuring of cholesterol level in plasma. This project was supported by Internal Grant Agency of Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, project no. TP9/2010.

REFERENCES

- Canovas A., Quinranilla R., Gallardo D., Diaz I., Noguera J.L., Ramirez O., Pena R.N. Functional and association studies on the pig *HMGCR* gene. a cholesterol-synthesis limiting enzyme. *Animal*, 2010, vol.4, no.2, p.224-233.
- Du Z.Q., Fan B., Zhao X., Amoako R., Rothschild M.F. Association analyses between type 2 diabetes genes and obesity traits in pigs. *Obesity*, 2009, vol.17, no.2, p.323-9.
- Fan B., Lkhagvadorj S., Cai W., Young J., Smith R.M., Dekkers J.C.M., Huff-Loneragan E., Lonergan S.M., Rothschild M.F. Identification of genetic markers associated with residual feed intake and meat quality traits in the pig. *Meat Science*, 2010, vol84, p.645-650.

MENDELNET 2010

Frengen E., Thomsen P.D., Brede G., Solheim J., de Jong P.J., Prydz H. The gene cluster containing the LCAT gene is conserved between human and pig. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 1997, vol.76, no.1-2, p.53-57.

Friesen J.A., Rodwell V.W. The 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) reductases. *Genome Biology*, 2004, vol.5, 248.1-248.7.

Grant S.F.A., Thorleifsson G., Reynisdottir I., Benediktsson R., Manolescu A., Sainz J., Helgason A., Stefansson H., Emilsson V., Helgadóttir A., Styrkarsdóttir U., Magnusson K.P., Walters G.B., Palsdóttir E., Jonsdóttir T., Gudmundsdóttir T., Gylfason A., Saemundsdóttir J., Wilensky R.L., Reilly M.P., Rader D.J., Bagger Y., Christiansen C., Gudnason V., Sigurdsson G., Thorsteinsdóttir U., Gulcher J.R., Kong A., Stefansson K. Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes. *Nature Genetics*, 2006, vol.38, p.320-323.

Malek M., Dekkers J.C.M., Lee H.K., Baas T.J., Prusa K., Huff-Lonergan E., Rothschild M.F. A molecular genome scan analysis to identify chromosomal regions influencing economic traits in the pig. II. Meat and muscle composition. *Mammalian Genome*, 2001, vol.12, p.637-645.

Osborne A.R., Pollock V.V., Lagor W.R., Ness G.C. Identification of insulin-responsive regions in the HMG-CoA reductase promoter. *Biochemistry and Biophysics Research Communications*, vol.318, p.814-818.

Qiao M., Wu H.Y., Li F.E., Jiang S.W., Xiong Y.Z., Deng C.Y. Molecular characterization, expression profile and association analysis with carcass traits of porcine LCAT gene. *Molecular Biology Report*, 2010, vol.37, no.5, p.2227-34.

Ramos A.M., Bastiaansen J.W.M., Plastow G.S., Rothschild M.F. genes located on SSC17 meat quality QTL region are associated with growth in outbred pig populations. *Animal Genetics*, vol.40, p.774-778.

Russo V., Fontanesi L., Scotti E., Beretti F., Davoli R., Nanni Costa L., Virgili R., Buttazzoni L. Single nucleotide polymorphisms in several porcine cathepsin genes are associated with growth, carcass, and production traits in Italian Large White pigs. *Journal of Animal Science*, 2008, vol.86, p.3300-3314.

Shan T.L., Li K., Tang Z.L., Yang S.L., Ma Y.H., Guan W.J. Full-length coding sequences, polymorphism and chromosomal localizations of the porcine EDG4 and EDG7 genes. *Molecular Biology Reports*, 2009, vol.36, no.4, p.751-756.

Shu L., Sauter N.S., Schulthess F.T., Matveyenko A.V., Oberholzer J., Maedler K. Transcription Factor 7-Like 2 Regulates - Cell Survival and Function in Human Pancreatic Islets. *Diabetes*, 2008, vol.57, p.645-653.

Tong Y., Zhang S., Li H., Su Z., Kong X., Liu H., Xiao C., Sun Y., Shi J.J. 8302A/C and (TTA)_n polymorphisms in the MHG-CoA reductase gene may be associated with some plasma lipid metabolic phenotypes in patient with coronary heart disease. *Lipids*, vol.39, p.239-241.

Xu X., Qiu H., Du Z.-Q., Fan B., Rothschild M.F., Yuan F., Liu B. Porcine CSR3P3: polymorphism and association analyses with meat quality traits and comparative analyses with CSR1 and CSR2. *Molecular Biology Reports*, 2010, vol.37, no.1, p.451-459.

THE EFFECT OF TOXIC CONCENTRATIONS OF COPPER ON THE CELL VIABILITY IN VITRO

Kňažická Z., Tvrdá E., Lukáč N., Forgacs Z., Kerti A.

Department of Animal Physiology, Faculty of Biotechnology and Food Science, Slovak Agricultural University, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

E-mail: zuzanaknazicka25@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the effects of copper on the bovine sperm motility and viability of the cells isolated from the cell line H295R. In a more detailed analysis we examined how the concentration or toxic doses of copper (62.5; 125; 250; 500; 1000 $\mu\text{M}\cdot\text{ml}^{-1}$) chosen by us affects the parameters during different time periods of in vitro cultivation. We compared the control group (physiological solution without copper) with the experimental groups (exposed to different concentrations of $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$). The motility was determined using the Sperm VisionTM CASA system. At time 0hrs, the highest motility $90.30 \pm 4.22\%$ was detected in the control group. In the experimental groups the bovine sperm motility decreased significantly ($P < 0.001$) in comparison with the control. All chosen concentrations of copper inhibited the monitored indicator during all time periods. The second analysed parameter was the cell viability, which was determined by MTT Cell Proliferation Assay. After a 48-hour-cultivation with $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ we proved that the cell viability decreased proportionally to the increasing concentration of this essential trace element. All concentrations reduced significantly ($P < 0.001$) the survival of these cells. The decrease in the viability was already found at the minimal copper concentration of $62.5 \mu\text{M}\cdot\text{ml}^{-1}$ and it was $73.96 \pm 10.39\%$. The lowest cell viability was detected at the highest concentrations of copper ($500 \mu\text{M}\cdot\text{ml}^{-1}$ and $1000 \mu\text{M}\cdot\text{ml}^{-1}$), which was probably caused by the high toxicity of these concentrations and the cell was no longer able to resist them. These concentrations may lead to reproductive toxicity, which can be strongly reflected in the process of spermatogenesis.

Key words: copper, bovine sperm, cell line H295R, motility, viability, CASA, MTT assay, toxicity

Acknowledgments: This study was supported by the KEGA grant No. 101-001SPU-4/2010 and the APVV project No. SK-HU-0005-08.

ÚVOD

Ťažké kovy resp. stopové rizikové prvky sú veľmi diskutovanou témou, nakoľko svojimi účinkami pôsobia na živočíšne systémy resp. na reprodukciu. Mnohé z nich v tomto extrémne citlivom procese vyvolávajú subfertilné a infertilné stavy.

V súčasnej dobe sa do popredia záujmu výskumu zaraďuje aj esenciálny stopový prvok ako meď, ktorá má mimoriadny význam pre organizmus v rade enzymatických, aktivačných a regulačných procesoch. V organizme je rozhodujúca pre správnu funkčnosť aktívneho centra mnohých enzýmových systémov (cytochromoxidáza, diamínoxidáza, spermínoxidáza) (Gaetke a Chow, 2003) a vyznačuje sa vysokou antioxidačnou aktivitou (Cu/Zn superoxidázmutáza) (Agarwal et al., 1990). Redukuje oxidačné procesy a spotrebu glukózy, čím znižuje alebo zastavuje pohyblivosť spermií (Skandhan, 1992). Práve motilita spermií je jednou zo základných selekčných kritérií na hodnotenie kvality ejakulátu. Energia potrebná pre tento pohyb sa akumuluje v mitochondriálnej pošve bičička, ktorá sa získava štiepením ATP. Ak sa spotrebuje exogénny zdroj energie, a rýchlo sa zmetabolizujú vlastné energetické zásoby, spermia po krátkom čase odumiera (Breuer a Wells, 1977). Tento významný biogénny prvok zohráva podstatnú úlohu aj v spermatogenéze, ktorá predstavuje extrémne komplikovaný proces vývoja vysokošpecializovanej samčej pohlavnej bunky. Podlieha svojim zákonitostiam, a je mimoriadne senzitívna na rôzne vplyvy, ktoré ju ľahko narušia. Oster a Salgo (1979) naznačili, že na potlačenie spermatogenézy majú výrazný vplyv chelátové komplexy medi.

Môžeme poznamenať, že meď na jednej strane pôsobí ako esenciálny prvok pre organizmus, pričom na opačnej strane je jej pôsobenie vo vysokých koncentráciách až toxické (Lukáč et al., 2007). Toto poznanie predurčuje výskum v danej oblasti a umožňuje odhaliť jej negatívne pôsobenie na subcelulárnej a celulárnej úrovni. Prejavy jej toxického účinku sú závislé od dávky expozície ako aj od typu buniek, ktoré poškodzujú (Kováč et al., 1997). Na špecifikáciu toxického účinku medi sme v experimente použili bunky z veľmi stabilnej bunkovej línie H295R, ktorá je derivovaná z ľudského karcinómu kôry nadobličiek (Gazdar et al., 1990; Staels et al., 1993; Harvey a Everett, 2003). Línia disponuje kompletnou sadou kľúčových enzýmov potrebných k steroidogenéze, vďaka čomu je veľmi dobre sledovaná interferencia xenobiotík v podmienkach *in vitro* (Sanderson, 2006; Hecker et al., 2007). Cytotoxický účinok tohto stopového prvku sme sledovali práve v týchto bunkách, nakoľko sa vyznačujú menšou senzibilitou k cytotoxicite v porovnaní s ostatnými bunkovými líniami (Gazdar et al., 1990; Sanderson et al., 2002).

V súvislosti s týmito spomínanými skutočnosťami sme v našej predkladanej práci zisťovali vplyv medi na motilitu boviných spermií a životaschopnosť buniek vyizolovaných z bunkovej línie

H295R. V detailnejšej analýze sme skúmali, ako vplyvajú nami stanovené koncentrácie resp. toxické dávky medi na sledované parametre počas rôznej doby *in vitro* kultivácie.

MATERIÁL A METODIKA

1 Biologické materiály

1.1 Bovinné spermie

Na analýzu motility sme použili ejakuláty pohlavne dospelých plemenných býkov (n=10), ktoré boli získané rutinnými metódami z insemináčnej stanice býkov. Hodnotené vzorky museli spĺňať základné kritéria kladené pre daný druh hospodárskeho zvieratá. Čerstvý ejakulát sa získaval odberom do umelej vagíny valcovitého tvaru. Následne bol spracovaný v laboratóriu, kde bolo vykonané základné vyšetrenie a štandardne posúdený objem (ml), koncentrácia ($\times 10^9 \text{ ml}^{-1}$) a pH podľa Gamčíka et al., (1992). Po spracovaní sa ejakuláty riedili fyziologickým roztokom (sodium chloride 0,9 % w/v, Bieffe Medital, Italia) v pomere 1:40 resp. v závislosti od hustoty ejakulátu. Ako kultivačné médium sme použili fyziologický roztok, do ktorého sa s rôznymi koncentraciami (62,5; 125; 250; 500; 1000 $\mu\text{M}\cdot\text{ml}^{-1}$) aplikovala meď vo forme $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich, St.Louis, USA). Kontrolná skupina predstavovala čistý fyziologický roztok bez použitej medi. Následne sa spermie spolu so semennou plazmou (ako súčasť ejakulátu) a meďou kultivovali pri laboratórnej teplote (22 °C).

1.2 Adrenokarcinómové bunky

Na stanovenie životaschopnosti buniek bola použitá ľudská bunková línia adrenokarcinómových buniek H295R získaná od ATCC (American Type Culture Collections, Manassas, VA, USA), ktorá bola zmrazená a uskladnená v tekutom dusíku (-196 °C) do vykonania analýz. Pred samotným experimentom boli bunky z tejto línie rozmrazené, vyzolované, kultivované podľa protokolu Hilscherová et al. (2004) a pasážované podľa Heckera et al. (2006). Akonáhle sme dosiahli požadovaný počet bunkových suspenzií, tak sme nariedili výslednú koncentráciu t.j. 200 000-300 000 buniek/ml. Takto pripravené bunky sa nechali kultivovať v CO_2 inkubátore (37 °C, vlhkej atmosfére 95 %, 5 % CO_2) po dobu 24 hodín, aby došlo k ich opätovnému prisadnutiu na dno kultivačných platničiek. Po tejto inkubácii sme kultivačné médium vymenili za nové, obsahujúce už meď vo forme $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich, St.Louis, USA), ktorú sme rozpustili v kultivačnom médiu a zriedili na požadované koncentrácie (62,5; 125; 250; 500; 1000 $\mu\text{M}\cdot\text{ml}^{-1}$). Takto pripravené nariedené roztoky sa následne pridali k bunkám, ktoré prešli 48-hodinovou kultiváciou v CO_2 inkubátore (37 °C, vlhkej atmosfére 95 % vzduchu a 5 % CO_2).

2 Analytické metódy

2.1 Motilita spermíí

Po *in vitro* inkubácií sme základné parametre pre pohybovú aktivitu boviných spermíí sledovali pomocou systému CASA (Computer assisted/automated semen analysis) s využitím SpermVision™ (MiniTüb, Germany) programu s optickým mikroskopom Olympus BX 51 (Olympus, Japan). Jedná sa o systém pozostávajúci z mikroskopu a počítačovej zostavy, kde sa pomocou vysokofrekvenčnej kamery a softwaru vykoná analýza. Prímárne sa hodnotia ukazovatele identifikácie rýchlosti pohybu analyzovaných spermíí a sekundárne overovanie kvality parametrov spracovaných ejakulátov. Kvalitatívne parametre resp. fyziologické prejavy spermíí sa posudzovali ihneď po pridaní medi (0h), ale i v ďalších časových intervaloch (1h, 2h, 24h). V každej analýze sa zhodnotilo 1000–1500 spermíí.

2.2 Cytotoxicita

Cytotoxicitu buniek vystavených rôznym koncentráciám medi *in vitro* sme stanovovali mitochondriálnym toxickým testom (MTT) podľa Mosmanna (1983). Princíp tejto kolorimetrickej metódy spočíva v meraní konverzie rozpustnej žltej tetrazoliovej soli (3-(4,5-dimetyltiazol-2-yl)-2,5-difenyln tetrazoliumbromid) na modrofialový, vo vode nerozpustný formazán. Reakcia prebieha za prítomnosti mitochondriálnej dehydrogenázy vitálnych buniek. Množstvo zreagovaného MTT je úmerné počtu buniek, ktoré nám prežili (Mosmann, 1983).

MTT test sme najprv rozpustili v sterilnom PBS (Dulbecco's Phosphate Buffer Saline, Sigma, St. Louis, USA) s výslednou koncentráciou 1,5 mg.ml⁻¹. Odmerná banka bola obalená alobalom, aby sa zabránilo k prístupu svetla a uchovaná pri teplote 4 °C. Následne sa bunky v množstve 2x10⁵ inkubovali v 96-jamkových platničkách (Grainer, Germany) s testovanými koncentráciami medi v celkovom objeme 100 µl/jamku. Po ukončení kultivácie sme pipetou dané množstvo odstránili. Následne sa do každej titračnej jamky pridalo 10 µl žltej tetrazoliovej soli MTT (Sigma, St. Louis, USA). Po 3-hodinovej kultivácii v CO₂ inkubátore (37 °C, 95 % atmosfére a 5 % CO₂) sa bunky a formazánové kryštáliky rozpustili pridaním silného detergentu t.j. 180 µl/jamku oksyleného (0,08 N HCl) izopropanolu, čím sa reakcia zastavila. Absorbancia sa determinovala spektrofotometricky pri vlnovej dĺžke 570 nm oproti 630 nm podľa referencie na mikroplatničkovom snímači ELISA Readeru (Anthos MultiRead 400, Austria).

3 Štatistická analýza

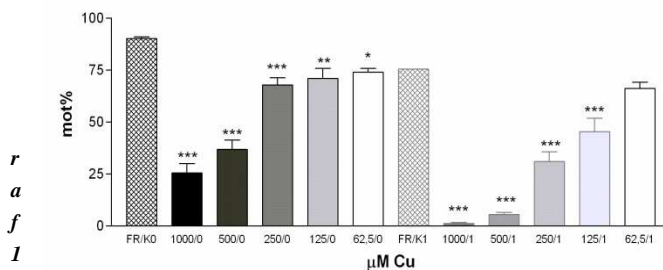
Dosiahnuté výsledky boli spracované počítačovým štatistickým programom GraphPad Prism 3.02 (GraphPad Software Incorporated, San Diego California USA) a pomocou MS Excel 2003 (Microsoft Corporation, USA) sme vypočítali základné štatistické ukazovatele (aritmetický priemer, minimálnu a maximálnu hodnotu, smerodajnú odchýlku a variačný koeficient). Signifikantnosť rozdielov medzi kontrolou a pokusnými skupinami bola zistená t-testom na hladine štatistickej významnosti alfa = 99,99.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Experiment 1: Motilita spermíí inkubovaných s meďou

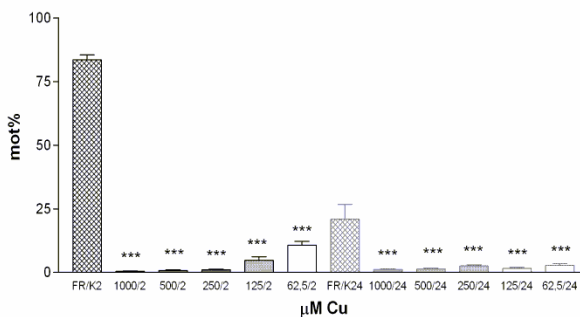
Problematika vplyvu stopových rizikových prvkov na prežívateľnosť spermíí je v súčasnosti veľmi diskutovanou témou. Patrí k nim aj meď, ktorá zohráva zásadnú úlohu v procese spermatogenézy a v infertilitě (Aydemir et al. 2006). Sledovaným ukazovateľom bola pohyblivosť býčích spermíí resp. percentuálna motilita spermíí priamočiaro za hlavičkou ($>5\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$), ktorá sa merala po kultivácii s meďou. Výsledky tejto *in vitro* inkubácie prezentujeme v tabuľke 1. Porovnávali sme kontrolnú skupinu (fyziologický roztok bez aplikácie $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$) s pokusnými skupinami (vystavené účinku $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ s rôznymi koncentraciami) v rôznych časových intervaloch (0h, 1h, 2h, 24h).

Na začiatku pokusu (0h) bola zistená v kontrolnej skupine (K) priemerná hodnota motility $90,30\pm 4,22\%$, čo zároveň predstavovala najvyššiu hodnotu zo všetkých sledovaných skupín. V tomto časovom intervale sme najvýraznejší pokles percentuálnej pohyblivosti v porovnaní s kontrolou, zaznamenali v pokusnej skupine A $25,64\pm 2,11\%$, kde sa aplikovala najvyššia koncentrácia meďi ($1000\mu\text{M}\cdot\text{ml}^{-1}$). Pri porovnaní K:A, K:B a K:C sa preukáže znížila motilita spermíí ($P<0,001$). Najvyššia hodnota sledovaného ukazovateľa bola detekovaná v skupine E $74,06\pm 9,30\%$ s použitím minimálnej koncentrácie meďi ($62,5\mu\text{M}\cdot\text{ml}^{-1}$). Zároveň bola skupina štatisticky preukazná ($P<0,05$) v porovnaní s kontrolou. Po uplynutí 60 minútovej kultivácie kontrolná skupina dosiahla pokles pohyblivosti spermíí na hodnotu $75,53\pm 16,26\%$. Pri porovnávaní výsledkov s 0h začala životaschopnosť spermíí v pokusných skupinách zreteľne klesať. Najnižšia pohyblivosť boviných spermíí $1,26\pm 1,98\%$ bola zaznamenaná v skupine A s maximálnou koncentráciou meďi ($1000\mu\text{M}\cdot\text{ml}^{-1}$). Znížená tendencia sledovaného ukazovateľa bola detekovaná aj v experimentálnych skupinách B $5,53\pm 5,16\%$ C $31,03\pm 22,96\%$ a D $45,35\pm 32,59$. Počas tejto krátkodobej kultivácie sa v skupine E s najnižšou koncentráciou meďi, dosiahla najvyššia vitalita boviných spermíí, a to $66,20\pm 14,56\%$. Pri testovaní závislosti sme zistili vysokú signifikantnosť ($P<0,001$) sledovaného ukazovateľa medzi K:A, K:B, K:C a K:D. Skupina E nebola štatisticky preukazná ($P>0,05$) v porovnaní s kontrolou.



Vplyv meďi na motilitu spermíí v časovom intervale 0h a 1h

Po 120 minútach inkubácie so síranom meďnatým ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) sme zistili stúpajúcu hodnotu motility v kontrolnej skupine $83,55 \pm 8,94\%$, čo mohlo byť spôsobené tým, že spermie na začiatku neadekvátne spotrebovali vlastné energetické zásoby. Táto energetická potreba resp. metabolická energia, ktorú deponujú vo forme ATP, vyžadujú pre široké spektrum svojich funkcií, ale predovšetkým na podporu motility (Breuer a Wells, 1977). V tomto časovom intervale bola zaznamenaná vo všetkých pokusných skupinách preukazne znížená motilita boviných spermií ($P < 0,001$). Najvýraznejší inhibičný účinok bol detekovaný pri najvyšších toxických koncentráciách medi ($500 \mu\text{M} \cdot \text{ml}^{-1}$ a $1000 \mu\text{M} \cdot \text{ml}^{-1}$), ktorých hodnoty boli pomerne vyrovnané. Určitá životaschopnosť boviných spermií, tak ako aj predchádzajúcich časových intervaloch bola detekovaná v skupine E s minimálnou koncentráciou medi, a to $10,72 \pm 7,52\%$.



Graf 2 Vplyv meď na motilitu spermií v časovom intervale 2h a 24h

Počas dlhodobej kultivácie (24h) bola priemerná motilita kontrolnej vzorky $20,87 \pm 28,50\%$. Zreteľný bol časovo závislý pokles tohto ukazovateľa v kontrolnej skupine pri porovnaní s ostatnými časovými intervalmi. Pohyblivosť spermií v pokusných skupinách bola v porovnaní s kontrolou veľmi znížená. Najnižšiu hodnotu motility sme zaznamenali v skupine A, a to $1,13 \pm 1,72\%$. Zároveň sa dokázala vysoká signifikantnosť ($P < 0,001$) percentuálnej motility medzi kontrolou a všetkými pokusnými skupinami. Podobnou experimentálnou prácou sa zaoberali Roychoudhury a Massanyi (2008), ktorý sledovali v tých istých časových intervaloch (0h, 1h, 2h) pohybové parametre králičích spermií. Boli kultivované s $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, ktorá sa pridala k ejakulátu v 5% roztoku a zriedovala v pomere 1:1-10. V 0h bola v kontrolnej skupine zaznamenaná najvyššia motilita. V pokusných skupinách dochádzalo k významnému ($P < 0,05$) poklesu pohyblivosti spermií. Najnižšiu hodnotu posudzovaného ukazovateľa zaznamenali v skupine s najvyššou koncentráciou meď. Zistenými údajmi dokázali, že vysoké koncentrácie mali negatívny efekt na motilitu spermií, čo potvrdzujú aj výsledky našej práce. Roychoudhury et al. (2010) svojou ďalšou experimentálnou prácou zistili, že už pri koncentrácii $4,85 \mu\text{g CuSO}_4 \cdot \text{ml}^{-1}$, dochádza k negatívemu

MENDELNET 2010

efektu vo vzťahu k motilite, morfológií a membránovej integrite. Množstvo medi v ejakulátoch je u jednotlivých druhov zvierat rozdielne. Pri porovnaní hladín tohto stopového rizikového prvku u rôznych druhoch zvierat boli zaznamenané experimentálnych prácach Lukáča et al. (2007) významné medzidruhové rozdiely. Najvyššie množstvo bolo zistené v insemináčnych dávkach králikov ($20,10 \pm 4,09 \text{ mg.kg}^{-1}$).

Mnohé odborné práce poukazujú na negatívne účinky medi na spermiiach aj v podmienkach *in vitro*. Rozsah poškodenosti však závisí od toho, či ejakulát resp. spermie sú zbavené semennej plazmy, ktorá plní ochrannú funkciu proti nepriaznivým exogénnym vplyvom prostredia. Scielli a Zinaman (1993) poukázali na fakt, že spermie bez semennej plazmy sú senzibilnejšie na tento stopový prvok. Katayose et al. (2004) potvrdili svojou experimentálnou prácou, že vyššie koncentrácie medi v semennej plazme mali nepriaznivé vplyvy na pohyblivosť spermii, pričom poznamenali, že metabolické pochody práve závisia od energetických zdrojov nachádzajúcich sa v spojovacom oddieli bičička spermie a v semennej plazme.

Tabuľka 1 Základné štatistické ukazovatele motility boviných spermii pri rôznych koncentráciách medi v rôznych časových intervaloch

Skupina	K	62,5	125	250	500	1000
μM Cu.ml ⁻¹						
0 h						
x	90,30	74,06 ^C	71,11 ^B	67,86 ^A	36,98 ^A	25,64 ^A
minimum	81,94	50,00	21,42	30,43	5,55	0,00
maximum	96,55	87,12	92,68	89,51	75,71	68,42
S.D.	4,22	9,30	23,43	17,02	21,48	22,11
CV (%)	4,68	12,56	32,95	25,08	58,09	86,27
1 h						
x	75,53	66,20	45,35 ^A	31,03 ^A	5,532 ^A	1,26 ^A
minimum	40,00	40,00	0,00	0,00	0,00	0,00
maximum	96,51	88,23	84,21	61,90	19,44	7,50
S.D.	16,26	14,56	32,59	22,96	5,16	1,98
CV (%)	21,53	22,00	71,86	73,98	93,36	156,98
2 h						
x	83,55	10,72 ^A	4,83 ^A	1,06 ^A	0,78 ^A	0,43 ^A
minimum	57,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
maximum	96,66	30,30	19,23	4,76	4,25	2,89
S.D.	8,94	7,52	6,57	1,27	1,31	0,88
CV (%)	10,70	70,25	136,03	119,86	166,98	202,90
24 h						
x	20,87	2,78 ^A	1,58 ^A	2,49 ^A	1,28 ^A	1,13 ^A
minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
maximum	84,78	15,38	8,33	9,09	11,11	6,06
S.D.	28,50	3,69	2,05	2,50	2,35	1,72
CV (%)	136,59	132,67	129,35	100,40	183,04	153,07

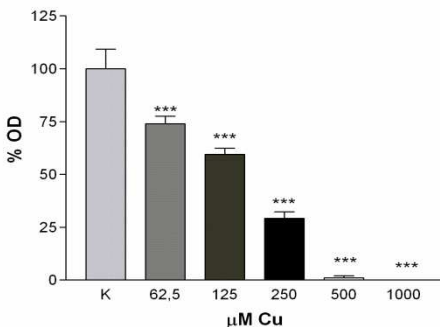
x – aritmetický priemer, S.D. – smerodajná odchýlka, CV (%) – variačný koeficient

^A P<0.001, ^B P<0.01, ^C P<0.05

Experiment 2: Životaschopnosť buniek inkubovaných s meďou

Druhým sledovaným parametrom bola viabilita buniek, ktorú sme hodnotili po 48-hodinovej kultivácii s meďou. Vychádzali sme z bunkovej línie H295R, ktorá je v poslednej dobe najúspešnejšou používanou líniou pre výskum (Heneweer et al. 2004; Hilscherová et al. 2004; Lee et al. 2005). Cytotoxický účinok sledovaného prvku sme stanovovali v podmienkach *in vitro* pomocou proliferačného MTT testu, ktorého základné štatistické ukazovatele prezentujeme v tabuľke 2. Výsledky sme vyjadrili v percentách kontroly (100%). Ako kontrolná skupina (K) nám slúžili bunky, ktoré boli inkubované bez prítomnosti medi (optická denzita formazánu z buniek nevystavená účinku testovaného prvku). Vo všetkých pokusných skupinách bola zistená vysoká preukaznosť rozdielov ($P < 0,001$) v sledovanom ukazovateli v porovnaní s kontrolnou skupinou. Prežiteľnosť buniek po inkubácii s meďou sme zaznamenali v grafe 3.

Stanovenie životaschopnosti buniek je veľmi dôležité pre *in vitro* podmienky. V súčasnosti sa používajú mnohé metódy, ktoré zaručujú, že bunky zostanú neporušené. V našej experimentálnej práci sme použili kolorimetrickú metódu, založenú na využití soli tetrazolia MTT, ktorá je redukovaná mitochondriovou dehydrogenázou do častíc formazánu (Mosmann, 1983). Neporušenosť a aktivita mitochondrií je interpretovaná ako stupeň životaschopnosti buniek, ktorá umožňuje bunkám redukovať tetrazoliové soli. Po 48-hodinovej kultivácii s $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ sme MTT testom dokázali, že životaschopnosť buniek získaných z veľmi stabilnej bunkovej línie H295R, nadobúdala celkovo klesajúcu tendenciu v porovnaní s kontrolnou skupinou. Všetky nami sledované koncentrácie signifikantne ($P < 0,001$) znižovali prežívanie týchto buniek. Pokles viability bol už pri minimálnej koncentrácii medi ($62,5 \mu\text{M} \cdot \text{ml}^{-1}$), a to na $73,96 \pm 10,39\%$, pričom hodnota priamoúmerne klesala so zvyšovaním koncentrácie tohto prvku. Najnižšia životaschopnosť buniek bola detekovaná pri najvyšších koncentráciách medi ($500 \mu\text{M} \cdot \text{ml}^{-1}$ a $1000 \mu\text{M} \cdot \text{ml}^{-1}$), čo bolo pravdepodobne spôsobené vysokou toxicitou týchto dávok, ktorým sa už bunka nedokázala ubrániť. Tým sa nám potvrdil predpoklad, že meď v týchto koncentráciách poškodzuje a znižuje aktivitu mitochondrií, ktoré už nedokážu zabezpečiť energiu potrebnú pre zachovanie životných procesov bunky.



Graf 3 Vplyv medi na viabilitu buniek po 48-hodinovej kultivácii (MTT redukčný test)

Tabuľka 2 In vitro cytotoxicita medi na životaschopnosť buniek vyjadrenú v % kontroly

Skupina	K	62,5	125	250	500	1000
	µM Cu.ml ⁻¹					
48 h						
x	100,0	73,96 ^A	59,52 ^A	29,17 ^A	1,042 ^A	0,00 ^A
minimum	66,67	58,33	50,00	16,67	0,00	0,00
maximum	150,0	91,67	75,00	41,67	8,33	0,00
S.D.	29,40	10,39	7,49	8,90	2,94	0,00
CV (%)	29,40	14,04	12,59	30,54	282,72	0,00

x – aritmetický priemer, S.D. – smerodajná odchýlka, CV (%) – variačný koeficient

^A P<0.001, ^B P<0.01, ^C P<0.05

ZÁVĚR

Z vyplývajúcich výsledkov našej analýzy môžeme skonštatovať, že meď v týchto sledovaných koncentráciách negatívne ovplyvňovala sledované parametre t.j. motilitu spermií a viabilitu buniek.

Ako stopový rizikový prvok pôsobí inhibične na percentuálnu pohyblivosť spermií vo všetkých nami sledovaných časových periódach. Aj keď najnižšia koncentrácia medi (62,5 µM Cu.ml⁻¹) pôsobila z pokusných skupín najviac stimulačne, neovplyvňovala sledovaný ukazovateľ výrazne. Dosiahnuté hodnoty motility boli relatívne nízke. Najvýraznejšie inhibičné účinky na celkovú aktivitu boviných spermií sme zaznamenali pri aplikácii najvyšších koncentrácií medi (500 µM.ml⁻¹ a 1000 µM.ml⁻¹), čím sa nám potvrdil ich silný toxický účinok. Sledované koncentrácie vedú k reprodukčnej toxicite, čo je dokázané v spermatogéneze. Z našich výsledkov môžeme potvrdiť tento negatívny efekt na parametroch pohyblivosti spermií.

Pri druhom sledovanom ukazovateli, životaschopnosť buniek priamo úmerne klesala so zvyšovaním koncentrácie tohto prvku. Usudzujeme, že to bolo spôsobené vysokou toxicitou týchto dávok, ktoré pôsobili deštruktívne na mitochondrie resp. na enzymatický komplex, prostredníctvom ktorého dochádzalo k tvorbe energií. Bunky už nedokázali využiť túto energiu, ktorá je potrebná pre zachovanie ich činnosti. Zároveň sa nám potvrdilo, že tieto koncentrácie medi nemali proliferačný efekt na bunku.

Prejavy toxického účinku medzi sú relatívne závislé od koncentrácie, preto predmetom ďalších výskumných prác by mali byť aj nižšie dávky, ktoré by priniesli ďalšie pozoruhodné výsledky v tejto oblasti. Zároveň by sme tým získali ucelenejší pohľad o účinku medi v pohlavných bunkách, a tým aj v reprodukčnom systéme. Závěry z tejto experimentálnej práce by mohli byť využité ako podkladový materiál pre ďalší výskum pri prevencii alebo liečbe problémov spojených s infertilitou.

LITERATURA

- Agarwal, K., Sharma, A., Talukder, G. (1990): Clastogenic effects of cooper sulphate on the bone marrow chromosomes of mice *in vivo*. In *Mutat. Res.*, vol. 243, 1990, pp. 1–6.
- Aydemir, B., Kiziler, A.R., Onaran, I., Alici, B., Ozkara, H., Akyolcu, M.C. (2006): Impact of Cu and Fe concentration on oxidative damage in male infertility. In *Biol Trace Elem Res*, vol. 112, 2006, pp. 193-203.
- Breuer, D.J., Wells, M.E. (1977): Effect of *in vitro* Incubation of Bovine Spermatozoa in Bovine Follicular Fluid. In *J. Anim. Sci.*, vol. 44, 1977, pp. 262–265.
- Gaetke, L.M., Chow, C.K. (2003): Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. In *Toxicology*, vol. 189, 2003, pp. 147-163.
- Gamčík, P., Kozumolík, J., Mesároš, P., Schvarc, F., Vlček, Z., Zibrín, M. (1992): *Andrológia a inseminácia hospodárskych zvierat*. Bratislava : Príroda, 1992. 299 s. ISBN 80-07-00540-4.
- Gazdar, A.F., Oie, H.K., Shackleton, C.H. et al. (1990): Establishment and Characterization of a Human Adrenocortical Carcinoma Cell-Line That Expresses Multiple Pathways of Steroid-Biosynthesis. In *Cancer Research*, vol. 50, 1990, no.17, pp. 5488-5496.
- Harvey, P.W., Everett, D.J. (2003): The adrenal cortex and steroidogenesis as cellular and molecular targets for toxicity: critical omissions from regulatory endocrine disrupter screening strategies for human health. In *Journal Appl. Toxicol.*, vol. 23, 2003, no. 2, pp.81-87.
- Hecker, M., Hollert, M., Cooper, R. et al. (2007): The OECD validation program of the H295R steroidogenesis assay for the identification of *in vitro* inhibitors or inducers of testosterone and estradiol production. Phase 2: inter laboratory pre-validation studies. In *Env. Sci. Pollut. Res.*, vol. 14, 2007, pp. 23-30.
- Hecker, M., Newsted, J.L., Murphy, M.B., Higley, E.B. et al. (2006): Human adrenocarcinoma (H295R) cells for rapid *in vitro* determination of effects on steroidogenesis: Hormone production. In *Toxicology and Applied Pharmacology*, vol. 217, 2006, pp. 114-124.
- Heneweer, M. et al. (2004): A comparison of human H295R and rat R2C cell lines as *in vitro* screening tools for effects on aromatase. In *Toxicology Letters*, vol. 146, 2004, no. 2, pp. 183-194.
- Hilscherová, K., Jones, P.D., Gracia, T. et al. (2004): Assessment of the effects of chemicals on the expression of ten steroidogenic genes in the H295R cell line using real-time PCR. In *Toxicological Science*, vol. 81, 2004, no.1, pp. 78-89.

Katayose, H., Shinohara, A., Chiba, M., Yamada, H., Tominaga, K., Sato, A. et al. (2004): Effects of various elements in seminal plasma on semen profiles. In *J Mam Ova Res*, vol. 21, 2004, pp. 141-148.

Kováč, G., Baldovič, R., Mudroň, P., Bartko, P. et al. (1997): Koncentrácia Al v krvnom sére hovädzieho dobytku v závislosti na veku, gravidite a sezóne. In *Aktuálne problémy šľachtění, zdraví, růstu a produkce skotu*. České Budějovice, 1997, s. 277-278.

Lee, S.K., Owens, G.A. et al. (2005): Exposure to low concentrations of di-n-butyl phthalate during embryogenesis reduces survivability and impairs development of *Xenopus laevis* frogs. In *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, vol. 68, 2005, no. 10, pp. 763-772.

Lukač, N. et al. (2007): *Stopové prvky a kvalita spermií*. 1. vyd. Nitra : SPU, 2007. 118 s. ISBN 978-80-8069-904-8.

Mosmann, T. (1983): Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. In *Journal Immunol Methods*, vol. 65, 1983, pp. 55 – 63.

Oster, G., Salgo, M.P. (1979): Copper in mammalian reproduction. In *Adv Pharmacol Chemother*, vol. 14, 1979, pp. 327–409.

Roychoudhury, S., Massanyi, P. (2008): *In vitro* copper inhibition of the rabbit spermatozoa motility. In *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, vol. 43, 2008, pp.651-656.

Roychoudhury, S., Massanyi, P., Bulla, J., Choudhury, M.D. et al. (2010): In vitro copper toxicity on rabbit spermatozoa motility, morphology and cell membrane integrity. In *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, vol. 45, 2010, pp. 1482-1491.

Sanderson, J.T. (2006): The steroid hormone biosynthesis pathway as a target for endocrine-disrupting chemicals. In *Toxicological Sciences*, vol. 94, 2006, no. 1, pp. 3-21.

Sanderson, J.T., Boerma, J., Lansbergen, G. et al. (2002): Induction and inhibition of aromatase (CYP19) activity by various classes of pesticides in H295R human adrenocortical carcinoma cells. In *Toxicology and Applied Pharmacology*, vol. 182, 2002, no. 1, pp. 44-54.

Scialli, R.A., Zinaman, J.M. (1993): *Reproductive toxicology and infertility*. McGraw-Hill, New York, 1993, p. 338.

Skandhan, K.P. (1992): Review on copper in male reproduction and contraception. In *Rev. Fr. Gynecol. Obstet.*, vol. 87, 1992, no. 12, pp. 594-608.

Staels, B., Hum, D.W., Miller, W.L. et al. (1993): Regulation of Steroidogenesis in Ncl-H295 Cells – a Cellular-Model of the Human Fetal Adrenal. In *Molecular Endocrinology*, vol. 7, 1993, no. 3, pp. 423-433.

WOLF SPIDERS (*ARANEAE*, *LYCOSIDAE*) OF EASTERN PART OF HUSTOPEČE BIOREGION

Košulič O., Hula V.

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

E-mail: ondra.kosulic@seznam.cz

ABSTRACT

This publication informs about wolf-spider species composition in the eastern Hustopeče region. The collection of spiders was conducted using pitfall traps and individual collection in the years 2007 and 2009. For the research, four protected areas of the Hustopeče region were selected - a nature reserve of Kamenný vrch u Kurdějova, a nature reserve of Louky pod Kumstátem, nature reserve of Hrádek and natural monument of Jesličky. There were also evaluated two anthropically affected sites - terraces of vineyards called Vinice and a reclaimed landfill near the village of Morkůvky. A total number of 1320 specimens were captured, including 530 juveniles and 790 adult spiders that were determined and categorized into 23 species. The most significant findings were the following species: *Alopecosa aculeata*, *A. solitaria*, *A. striatipes*, *Arctosa figurata* and *Pardosa bifasciata*.

Key words: Araneida, Lycosidae, xerothermic, faunistics, South Moravia

Acknowledgments: This study was supported by projects IGA MENDELU Brno TP7/2010.

ÚVOD

V letech 2007 a 2009 byl prováděn výzkum arachnocenóz slíďákovitých pavouků vybraných lokalit na území Hustopečska. V této oblasti se nachází několik cenných xerothermních biotopů, které dosud nebyly arachnologicky prozkoumány. Poměrně známou a oblíbenou lokalitou je označován Kamenný vrch u Kurdějova, z kterého jsou uváděny pravidelné nálezy vzácných a ohrožených druhů slíďáků (HULA, 2006). Ovšem žádné nálezy nejsou publikovány z typických jihomoravských stepí, přírodních rezervací Louky pod Kumstátem, Hrádek, Jesličky aj. Proto byl náš výzkum zaměřen na tyto lokality s přihlédnutím k přírodně zajímavým biotopům v okolí obce Morkůvky. Všechny zkoumané lokality vytváří reprezentativní zastoupení biotopů typických pro panonskou oblast jižní Moravy, která je bohatá na nálezy vzácných teplomilných slíďáků. Tito pavouci jsou hlavní epigeickou složkou naší arachnofauny. Všichni jsou draví a během svého života zahubí veliké množství hmyzu, čímž na principu ekologické rovnováhy významně přispívají k optimálnímu vývoji přírodních poměrů. Sami jsou důležitou potravou pro mnoho jiných členovců, ptáků, plazů a savců. Díky tomu hrají nezastupitelnou roli v potravním řetězci. Další důležitou vlastností je jejich využití jako modelové skupiny pro bioindikaci hodnocení. Mezi epigeickými druhy je téměř 50 % druhů vázáno na původní stanoviště, mnohé druhy jsou rozšířené v širokém areálu, ale přitom jsou úzko vázané na svoje prostředí a jsou poměrně lehce monitorovatelní pomocí metody zemních pastí a individuálního sběru. Díky těmto vlastnostem jsou vhodnou indikační skupinou živočichů, díky kterým můžeme hodnotit stav a změny probíhající na zkoumaných lokalitách (BUCHAR, 1983).

MATERIÁL A METODIKA

Sběr pavouků byl na vybraných lokalitách Vinice, Rýny a Hrádek (v průběhu března – října 2007) prováděn metodou individuálního sběru dle daného transektu. Tato metoda se na sběr slíďákovitých pavouků posoudila jako značně neefektivní. Proto na zbylé přírodní rezervace Kamenný vrch u Kurdějova, Louky pod Kumstátem a přírodní památku Jesličky (v průběhu dubna – října 2009) byla zvolena metoda formalinových zemních pastí, která zachycuje především epigeickou složku arachnofauny, tedy tu, která obsahuje většinu ochranně významných druhů (ŘEZÁČ, 2004). Veškerý materiál pavouků byl determinován do druhů pomocí základní determinační arachnologické literatury (ALMQUIST, 2005; MILLER, 1971; NETWIG ET AL., 2003; ROBERTS, 1995) a hodnocen dle reliktnosti druhů BUCHARA (1983), který rozdělil druhy pavouků do skupin podle jejich vztahu k původnosti (narušenosti) biotopů do 3 skupin (RI - relikť I. řádu, RII - relikť II. řádu, E - expanzivní druh).

Pro arachnologický výzkum byly vybrány následující lokality:

1. PR Kamenný vrch u Kurdějova – Významná stepní lokalita ležící asi 1,5 km severozápadně od Kurdějova chránící typickou vegetaci drnové stepi a teplomilných trávníků s bohatým výskytem stepních rostlin a živočichů.
 - A) Vrchol kopce (GPS 48°57'57.605"N, 16°45'8.471"E). Jihovýchodně orientovaný svah na vrcholu kopce zahrnující biotopy bývalých těžebních jam charakterickými svým sypkým, obnaženým a výhřevným substrátem. Na lokalitě probíhá aktivní management (kosení a pastva ovcí).
 - B) Černá hora (GPS 48°57'55.088"N, 16°45'12.121"E). Jižně orientovaná louka, která vytváří hranici přírodní rezervace, z východu ohraničena významným krajinným prvkem Černá hora. Bohatý porost stepních travin se solitérními keři. Na lokalitě probíhá aktivní management (kosení a pastva ovcí).
2. PR Louky pod Kumstátem – Xerothermní svahové louky na hlubokých půdách, 0,5 km severovýchodně od obce Krumvíř. PR se sestává ze dvou navzájem oddělených částí vzdálených navzájem asi 200 m.
 - A) Východní část (GPS 48°59'46.52"N, 16°55'16.55"E). Jihozápadně orientovaný prudký svah s bohatým podrostem širokolistých suchých trávníků *Bromion erecti*. Na lokalitě probíhá aktivní management (kosení).
 - B) Západní část (48°59'36.577"N, 16°55'20.499"E). Samostatně oddělená louka s jižní expozicí obklopena lesním lemem, křovinami a ze spodní části ohraničená polem (v roce 2009 pšenice). Porost stepní vegetace je méně zapojený než na předchozí ploše, místy s narušeným drnem.
3. PR Jesličky (GPS 48°56'33.965"N, 16°50'21.58"E) - Lokalita leží u vesnice Němčičky u Hustopečí. Jedná se o pravý jihovýchodně orientovaný svah údolí se zvlněnými úpady, na kterých se vytvořila teplomilná drnová step přecházející do šípákových doubrav na severním okraji lokality. Aktivní management v podobě podzimního kosení jednotlivých částí lokality.
4. PR Hrádek (GPS 48°57'19.107"N, 16°50'59.337"E) - Komplex teplomilných doubrav mezi vesnicemi Morkůvky, Boleradice a Němčičky. Výskyt charakteristických „stepních ok“ na prudkých jižně orientovaných svazích – plochy, které nebyly nikdy zalesněny mají stepní až lesostepní charakter. Bez aktivního managementu.
5. Vinice (GPS 48°58'20.423"N, 16°52'17.121"E) - Vinohradnické terasy, které se nachází nedaleko za obcí Morkůvky, asi 1 km směrem k obci Brumovice. Vysoce svazité svahy s jižní orientací, velmi výhřevné s výskytem ruderálních ale i xerothermních vzácnějších rostlin (*Nonea pulla*, *Inula* sp.). Obhospodařování vinice probíhá v rámci integrované ochrany révy vinné.

6. Rýny – skládka (GPS 48°57'44.258"N, 16°51'12.293"E) – Lokalita, která se nachází cca 1 km jihozápadně od obce Morkůvky uprostřed zhruba 50 ha zemědělského pozemku. Původně neobdělávatelná přírodní strž, která se v minulých letech využívala jako černá skládka domovního odpadu. V roce 1993 proběhla částečná rekultivace a odpadový materiál byl navezen orníci. Okolí skládky odpovídá vegetace narušených a ruderalních lokalit.

VÝSLEDKY A DISKUZE

V rámci arachnologického průzkumu vybraných lokalit bylo posbíráno celkem 1320 kusů slíďáků. Z tohoto celkového počtu bylo determinováno 790 dospělých jedinců, kteří byli determinováni a rozříděni do šesti rodů *Alopecosa*, *Arctosa*, *Aulonia*, *Pardosa*, *Trochosa* a *Xerolycosa*. Celkem bylo zaznamenáno 23 druhů, kteří vytváří třetinu všech slíďákovitých pavouků vyskytujících se na území České republiky. Nejpočetnějšími druhy zjištěnými na zkoumaných lokalitách jsou slíďáci rodu *Alopecosa* – hojně sušších luk a nezalesněných biotopů – *Alopecosa accentuata* a *Alopecosa cuneata*. Vysokých počtů dosahují i vzácné reliktní druhy – *Alocosa sulzeri*, *Alopecosa striatipes* a *Alopecosa solitaria*. Z rodu *Pardosa* je nejpočetnějším druhem typický obyvatel lesostepních stráni a okrajů listnatých lesů slíďák hájový (*Pardosa alacris*). Menšími nálezy jsou zastoupeny i rody *Xerolycosa* (*X. miniata* a *X. nemoralis*) a hojně druhy rodu *Trochosa*, jejichž zástupci byli zjištěni na všech zkoumaných lokalitách.

Z hlediska reliktnosti je nasbíraný materiál z 35% (8 druhů) tvořen relikty I. řádu (RI). Tyto většinou vzácné a méně hojně druhy obývají výhradně nenarušované přirozené biotopy. Relikty II. řádu (druhy obývající polopřirozené, mírně narušené biotopy) jsou zastoupeny 6 druhy tvořících 30% zjištěných druhů. Zbytek materiálu (8 druhů, 35%) náleží k expanzivním druhům. Mezi tyto slíďáky patří druhy se širokou ekologickou valencí, proto je můžeme nacházet na klimaxových nenarušených lokalitách odkud pronikají do prostředí polokulturních až kulturních, značně narušených biotopů, s vysokým stupněm disturbance. Většina reliktních druhů byla zjištěna na přírodních rezervacích, kde dokonce vytvářely dominantní složku zjištěných druhů (PR Hrádek a PP Jesličky – *Alopecosa sulzeri*, PR Louky pod Kumstátem – *Alopecosa solitaria*, PR Kamenný vrch – *Alopecosa solitaria* společně s druhem *Alopecosa striatipes*!). Naopak zastoupení druhů na biotopech Vinice a Rýny je tvořeno především expanzivní složkou s výskytem jediného reliktního druhu *Alopecosa aculeata*, který byl zjištěn na obou lokalitách.

Na zkoumaných lokalitách byly zjištěny významné nálezy druhů *Alopecosa solitaria* a *A. striatipes*, kteří jsou zařazeni do Červeného seznamu ohrožených druhů České republiky RŮŽIČKA, 2005) a nález vzácných druhů pro oblast jižní Moravy, *Arctosa figurata* a *Alopecosa aculeata*. Slíďák *Arctosa figurata* byl nalezen na obou částech lokality Louky pod Kumstátem. BUCHAR & RŮŽIČKA (2002) uvádí nálezy tohoto druhu na 26-ti mapovacích čtvercích, z nichž naprostá většina leží na území západní části českého termofytika. RŮŽIČKA (2000) uvádí nálezy z hraniční oblasti termo a mezofytika středních Čech na přírodní rezervaci Nezabudické skály. Z jižní Moravy je uváděn pouze jediný nález na lokalitě Boří les, který se nachází v lesním komplexu lednicko-valtického

areálu (BRYJA ET AL., 2005). Nález *Arctosa figurata* na lokalitě Louky pod Kumstátem je významným faunistickým údajem o rozšíření tohoto vzácného termofilního druhu. Dalším zajímavým faunistickým údajem je nález druhu *Alopecosa aculeata* na antropogenně narušených lokalitách Rýny a Vinice a na přírodní rezervaci Jesličky. Tento vzácnější druh mezofytika je dle BUCHARA & RŮŽIČKY (2002) zmapován především na území Čech, kde je zaznamenán na 14-ti čtvercích. Zajímavý nález uvádí KŮRKA (1997), který determinoval tohoto slíďáka na zachovalém rašeliništi Národní přírodní rezervace Břehyně BUCHAR (1999) potvrzuje nálezy *Alopecosa aculeata* i ve vyšší nadmořské výšce horského údolí Obřítí důl na úpatí Sněžky. Z oblasti jižní Moravy uvádí BRYJA ET AL. (2005) pouze jediný nález na lokalitě Slanisko u Nesytu. Nálezy na lokalitách Rýny a Vinice můžou potvrzovat rozšiřování i na stanoviště, která jsou člověkem narušená s vyšším podílem přirozené či antropogenní disturbance. Mezi nejvýznamnější nálezy zkoumaného území patří objev ohrožených druhů slíďáků *Alopecosa solitaria* a *Alopecosa striatipes* na lokalitách Louky pod Kumstátem a Kamenný vrch. Oba dva druhy jsou zapsány v Červeném seznamu ohrožených druhů České republiky v kategorii ohrožený (Endangered) (RŮŽIČKA, 2005). První zmiňovaný druh je dle BUCHARA & RŮŽIČKY (2002) zmapován pouze na 5-ti čtvercích, z toho 2 čtverce jsou evidovány pouze před rokem 1951 a dále již nálezy nebyly potvrzeny. BRYJA ET AL. (2005) uvádí poněkud početnější nálezy především na lokalitách přírodní rezervace Dunajovické kopce a Svatý kopeček. V mém materiálu měl dominantní zastoupení na 2. linii lokality Louky pod Kumstátem a 2. linii Kamenný vrch u Kurdějova. *Alopecosa striatipes* je dle BUCHARA & RŮŽIČKY (2002) zmapován pouze na 3 faunistických čtvercích (lokality Velké Meziříčí, Mohelenská hadcová step a Brtnice-Střížov). Z oblasti jižní Moravy je uváděn nález pouze na přírodní rezervaci Dunajovické kopce (BRYJA ET AL., 2005). Na zkoumané lokalitě Kamenný vrch měl tento druh výrazně dominantní zastoupení v okolí biotopu bývalých těžebních jam. Zde byly nálezy potvrzeny inventarizací (HULA, 2006) a mým výzkumem v roce 2007 a 2009. Velmi překvapivým je rozšíření *A. striatipes* i do stanovišť xerothermních travníků a křovin v západní okrajové části rezervace (hraniční linie s významným krajinným prvkem Černá hora), kde výskyt tohoto slíďáka nebyl dříve potvrzen.

Legenda ke zkratkám zjištěných druhů slíďáků:

Al_acc	<i>Alopecosa accentuata</i> (Latreille, 1817)
Al_acu	<i>Alopecosa aculeata</i> (Clerck, 1757)
Al_cun	<i>Alopecosa cuneata</i> (Clerck, 1757)
Al_pul	<i>Alopecosa pulverulenta</i> (Clerck, 1757)
Al_sol	<i>Alopecosa solitaria</i> (Herman 1879)
Al_str	<i>Alopecosa striatipes</i> (C. L. Koch, 1837)
Al_sul	<i>Alopecosa sulzeri</i> (Pavesi, 1873)
Al_tra	<i>Alopecosa trabis</i> (Clerck, 1757)
Arc_fig	<i>Arctosa figurata</i> (Simon 1876)
Au_alb	<i>Aulonia albimana</i> (Walckenaer, 1805)
Pa_agr	<i>Pardosa agrestis</i> (Westring, 1861)
Pa_ala	<i>Pardosa alacris</i> (C. L. Koch, 1833)

Pa_ame	<i>Pardosa amentata</i> (Clerck, 1757)
--------	--

MENDELNET 2010

Pa_bif	<i>Pardosa bifasciata</i> (C.L. Koch 1834)
Pa_hor	<i>Pardosa hortensis</i> (Thorell, 1872)
Pa_lug	<i>Pardosa lugubris</i> (Walckenaer, 1802)
Pa_pul	<i>Pardosa pullata</i> (Clerck, 1757)
Pa_rip	<i>Pardosa riparia</i> (C.L. Koch 1833)
Tr_rob	<i>Trochosa robusta</i> (Simon 1876)
Tr_rur	<i>Trochosa rurricola</i> (De Geer 1778)
Tr_ter	<i>Trochosa terricola</i> (Thorell 1856)
Xe_min	<i>Xerolycosa miniata</i> (C.L. Koch 1834)
Xe_nem	<i>Xerolycosa nemoralis</i> (Westring 1861)

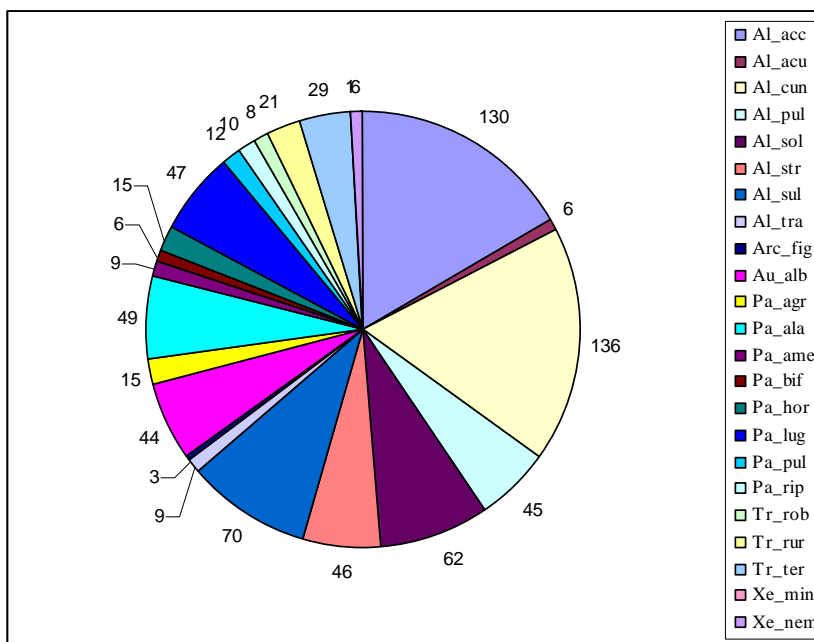
Tab. 1 Tabulka lokalit a nalezených druhů

	Hrádek	Jesličky	Kv A	Kv B	Louky A	Louky B	Rýny	Vinice
Al_acc	1	38	51	5	2	16	0	17
Al_acu	0	3	0	0	0	0	2	1
Al_cun	0	8	14	39	49	16	0	0
Al_pul	0	0	0	9	25	11	0	0
Al_sol	0	0	51	0	0	11	0	0
Al_str	0	0	40	6	0	0	0	0
Al_sul	4	66	0	0	0	0	0	0
Al_tra	2	4	3	0	0	0	0	0
Arc_fig	0	0	0	0	1	2	0	0
Au_alb	0	2	0	14	12	15	1	0
PaAgr	0	0	0	0	0	0	15	0
Pa_ala	0	20	1	7	8	11	0	0
Pa_ame	1	0	0	0	0	0	8	0
Pa_bif	0	0	4	2	0	0	0	0
Pa_hor	0	29	3	2	4	0	0	5
Pa_lug	12	25	0	3	3	4	0	0
Pa_pul	0	0	0	0	8	4	0	0
Pa_rip	0	0	0	5	2	3	0	0
Tr_rob	0	0	1	0	1	6	0	0
Tr_rur	0	8	0	0	4	9	0	0
Tr_ter	0	10	0	6	5	7	0	0
Xe_min	0	0	0	0	0	1	0	0
Xe_nem	0	4	0	0	2	0	0	0

Tab 2 Absolutní a relativní druhové zastoupení expanzivních a reliktních složek slídků na sledovaných lokalitách

Lokalita	RI		RII		E		S
	n	%	n	%	n	%	
Hrádek	4	20	14	70	2	10	20
Jesličky	69	32	84	39	64	29	217
Kv A	96	58,2	4	2,4	65	39,4	165
Kv B	13	12,3	34	32	59	55,7	106
Louky A	4	3,2	29	23	93	73,8	126
Louky B	23	20,5	30	26,8	59	52,7	112
Rýny	2	7,6	1	3,8	23	88,6	26
Vinice	1	4,3	5	21,8	17	74	23

Graf 1 Početní zastoupení jednotlivých druhů během sledovaného období 2007 a 2009



ZÁVĚR

V letech 2007 a 2009 byl prováděn odchyt slíďákových pavouků na vybraných lokalitách východní části hustopečského regionu. Celkem bylo odchyceno 1320 jedinců (z toho 530 juvenilních a 790 dospělých pavouků), kteří byli determinováni a rozříděni do šesti rodů *Alopecosa*, *Arctosa*, *Aulonia*, *Pardosa*, *Trochosa* a *Xerolycosa*. Na sledovaných lokalitách bylo zjištěno bohaté spektrum většiny slíďákových druhů vyskytujících se na xerothermních stepních biotopech, které vytváří důležitou součást přírody jižní Moravy. Celkem bylo zaznamenáno 23 druhů, což je více jak třetina všech slíďákových pavouků vyskytujících se na území České republiky. Z bioindikačního hlediska obsahoval materiál celkem 70 % reliktních druhů prvního a druhého řádu, což svědčí o vysoké přírodní hodnotě a nenahraditelnosti neporušených biotopů pro arachnocenózy přirozených stepí. Byly zaznamenány druhy relativně vzácné, jejichž výskyt je lokalizován především na území Čech a které mají na území Moravy jen velmi málo nálezů. Je to především slíďák borový (*Alopecosa aculeata*) a slíďák suchomilný (*Arctosa figurata*). Nejvýznamnějším faunistickým údajem je nález vzácných a ohrožených druhů – slíďáka suchopárového (*Alopecosa striatipes*) a slíďáka bradavčitého (*Alopecosa solitaria*) na přírodní rezervaci Kamenný vrch u Kurdějova a Louky pod Kumstátem. Oba dva druhy se na zkoumaných lokalitách vyskytovaly v dominantním počtu a jedná se o vůbec první doklad výskytu těchto druhů na výše zmíněných přírodních rezervacích. Tyto druhy jsou kromě své vzácnosti i velmi významnými bioindikačními prvky zachovalosti a původnosti stepních společenstev, kde žijí.

Všechny zmíněné nálezy výrazně zpestřují znalosti o rozšíření těchto druhů a jednoznačně prokazují nenahraditelnost neporušených stepních biotopů jižní Moravy pro arachnocenózy slíďákových pavouků.

LITERATURA

ALMQUIST, S., 2005: Swedish Araneae, part 1 families Atypidae to Hahnidae (Linyphiidae excluded). *Insect Systematic & Evolution, Supplement*, 62: 1-284 (in English).

BRYJA, V., SVATONĚ, J., CHYTL, J., MAJKUS, Z., RŮŽIČKA, V., KASAL, P., DOLANSKÝ, J., BUCHAR, J., CHVÁTALOVÁ, I., ŘEZÁČ, M., KUBCOVÁ, L., ERHART, 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 (in English, Czech summary).

BUCHAR, J., 1983: Die Klassifikation der Spinnenarten Böhmens als ein Hilfsmittel für die Bioindikation der Umwelt, 8: 119-135. (in Czech, German summary).

BUCHAR, J., 1997: Změny ve složení arachnofauny Mohelenské hadcové stepi v letech 1942 až 1995. *Přírodovědný sborník západomoravského muzea v Třebíči*, 28: 1-28 (in Czech).

BUCHAR, J., 1999: Supplement to wolfspiders (Araneae: Lycosidae) grid mapping in Bohemia. *Acta Universitatis Carolinae, Biologica*, 43: 135-154 (in English).

BUCHAR, J., & RŮŽIČKA, V., 2002: Catalogue of Spiders of the Czech Republic. Peres, Praha, 351 pp (in English and Czech).

CULEK, M., 1995: Biogeografické členění České republiky. Enigma, Praha, 347 pp (in Czech).

HULA, V., 2006: Výsledky inventarizačního průzkumu arachnofauny a fauny denních motýlů PR Kamenný vrch u Kurdějova. Závěrečná zpráva, deponováno na Referátu životního prostředí Jihomoravského kraje, 23 pp (in Czech).

KŮRKA, A., 1997: Arachnofauna vojenského výcvikového prostoru Ralsko. Vlastivědný sborník Českolipska, Bezděz 5: 237-265 (in Czech).

MILLER, F., 1971: Řád Pavouci – Araneida, s. 51-306. In: DANIEL, M., & ČERNÝ, V., 1971: Klíč zvířeny ČSSR, díl IV – Želvušky, jazyčnatky, klepítkatci: sekáči, pavouci, štírci, roztoči. ČSAV, Praha, 603 pp (in Czech).

ROBERTS., M., 1995: Spiders of Britain & Northern Europe. Harper Collins Publishers, London, 383 pp (in English).

RŮŽIČKA, V., 2000: Spiders in Rocky Habitats in Central Bohemia. Journal of Arachnology, 28(2): 217-222 (in English).

RŮŽIČKA, V., 2005: Araneae (pavouci), 76-82. In: FARKAČ J., KRÁL D. & ŠKORPÍK M. [eds.]: Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Bezobratlí. Red list of threatened species in the Czech Republic. Invertebrates, AOPK ČR, Praha, 760 pp (In Czech, English summary).

ŘEZÁČ, M., 2004: Nástin standardizované metodiky sběru epigeických skupin pavouků (Araneae) pomocí zemních pastí. Manuscript, AOPK ČR, Praha, 185-190 (in Czech).

ANALYSIS OF THE ASSOCIATION SINGLE NUCLEOTID POLYMORPHISM IN THE GENE PDK4 WITH MEAT PERFORMANCE

Kratochvílová L., Knoll A.

Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, Faculty of Agronomy,
Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xkratoc4@node.mendelu.cz

ABSTRACT

This work deals with the possible impact of selected single-nucleotide polymorphism in the gene PDK4 on three parameters of pig meat production. These are backfat thickness, average daily gain and lean meat content. Testing took place on a set of 71 pigs of Large White breed. PCR (polymerase chain reaction) and RFLP (restriction fragment length polymorphism) were used as the polymorphism detection methods.

Frequency of genotypes was calculated in the test group and subsequently was performed association analysis of commercial properties. This demonstrated statistically significant increase/decrease in average daily growth of backfat between genotypes AA and AB and also increase/decrease of meat lean content between genotypes AA and BB.

Key words: candidate gene, QTL, meat production, PDK4, pig.

ÚVOD

Od dob domestikace hospodářských zvířat lidé manipulovali s geny těchto zvířat pomocí selektivního páření tj. výběru rodičovských párů na základě exteriéru. Na počátku dvacátého století vznikla s pomocí biometrie a mendelistickej genetiky genetika kvantitativních znaků, která se stala základem pro teorii šlechtění. Ta je úspěšná pro zvyšování užitkovosti a zároveň dokáže eliminovat některé nežádoucí doprovodné projevy. Analýza genomu pomocí DNA technologie umožňuje identifikaci jednotlivých genů podmiňujících užitkové vlastnosti a tím také efektivnější pozitivní selekci požadovaných vlastností a negativní selekci vlastností nežádoucích (ŠPRYCL, 2002).

Při mapování prasečího genomu bylo nalezeno mnoho genů, u nichž se předpokládá nebo je již potvrzen vliv na nějakou vlastnost. Pokud je např. pomocí komparativního mapování identifikován gen, u něhož se předpokládá vliv na nějakou důležitou vlastnost, je tento gen testován. Možným způsobem testování asociace daného genu s už konkrétními vytipovanými vlastnostmi je provedení asociací analýzy.

Gen *PDK4* kóduje enzym pyruvátdehydrogenázu 4, u něhož se předpokládá, že může mít velký význam pro kontrolu činnosti pyruvátdehydrogenázového komplexu ve svalch. Gen *PDK4* byl v minulosti zkoumán ve velké míře hlavně u člověka, mnoho prací se zabývalo jeho vlivem na Diabetes Mellitus 2. stupně a inzulínovou rezistencí. Prasečí gen *PDK4* se stal objektem zkoumání vědeckých týmů o něco později než ten lidský. Nejčastěji bývá zkoumána exprese *PDK4* v různých tkáních např. při hladovění (WU a kol., 2000), dále byl tento gen dáván do souvislosti s hybernací u savců. Několik prací se též zabývá ovlivňováním exprese genu *PDK4* glukokortikoidy a inzulínem. Prasečí gen *PDK4* byl lokalizován na chromozomu 9 (9q12 ± 1/3q21) (DAVOLI a kol. 2000). Kóduje 407 aminokyselin a jeho molekulární hmotnost je 46,17 kDa.

MATERIÁL A METODIKA

Testovaná skupina: jednalo se o skupinu prasnic plemene české bílé ušlechtilé, u nichž se v letech 1992 – 1997 sledoval průměrný denní přírůstek (g) od narození do hmotnosti 90 kg. In vivo se měřila výška hřbetního tuku (cm), zjištěn byl obsah libového masa (%) pomocí ultrasondy PIGLOG 105 (SFK, Soborg, Denmark) (Tab. 1). Případné odchylky se přepočítávaly pomocí regresní křivky. DNA byla získána z krve těchto zvířat. Laboratorní práce byla provedena ve výukové laboratoři Ústavu morfologie, fyziologie a genetiky Mendelovy univerzity v Brně.

Tab. 1 Popisná charakteristika zkoumaného souboru prasnic plemene bílé ušlechtilé

Znak	n	průměr	s_d	min	max
Průměrný denní přírůstek	71	596,97	40,79	484,00	667,00
Výška hřbetního tuku	71	1,002	0,14	0,71	1,33
Obsah libového masa	71	59,25	1,59	54,20	63,00

Výška hřbetního tuku měřená v centimetrech, obsah libového masa v gramech, průměrný denní přírůstek v %, s_d – směrodatná odchylka, min – minimální hodnota, max - maximální hodnota sledovaných znaků.

PCR: probíhala na termálním cyklu Gene AMT PCR System 2004 (AB Applied Biosystems).

Složení reakční směsi je zobrazeno v tabulce 2. Teplotní profil je popsán v tabulce 3. Po proběhnutí amplifikace byla provedena kontrola pomocí gelové elektroforézy na 3% gelu. Pro PCR byly použity markery od firmy Fermentas.

PCR optimalizovaná pro termální cyklus:

Použité primery: TCA TTG CTT ATC CAT TCC AAA GA PDK4 F (23-mer)

GGC AAA TGA ATC AGG ACA CTG A PDK4 R (22-mer)

Tab. 2 Optimalizovaná reakční směs pro PCR: metodika dle Zrůstové (2010)

HotStarTaq Master Mix (Qiagen)	7,5 μ l
H ₂ O	5,9 μ l
Primer PDK4 F	0,3 μ l
Primer PDK4 R	0,3 μ l
Templátová DNA	1 μ l
Celkový objem	15 μ l

Tab. 3 Teplotní profil PCR

Počáteční denaturace		95°C/ 15 min.
Denaturace		95°C/ 20 s.
Annealing	35 cyklů	58°C/ 30 s
Elongace		72°C/ 30 s.
Závěrečná elongace		72°C/ 7 min
Konečné zchlazení		4°C/ ∞

PCR_RFLP:

Detekce polymorfizmu v genu PDK4: testováno metodou PCR – RFLP. Byla použita restriční endonukleáza BseRI (odvozená od *Bacillus species*).

Restriční místo *BseRI*:

5'...GAGGAG(N)₁₀▼...3'

3'...CTCCTC (N)₈▼...5'

SNP bylo identifikováno na pozici 647 v intronu 10 (647G>A). Alela A má v této pozici adenin a neobsahovala restriční místo a tedy nedocházelo ke štěpení a velikost jediného fragmentu (shodného s velikostí PCR produktu) byla 298 bp. Alela B měla v tomto místě guanin, obsahovala štěpné místo a po naštěpení restriční endonukleázou BseRI vznikly dva fragmenty o velikosti 167 a 132 bp (ZRŮSTOVÁ, 2010). Pro ověření byly vybrané vzorky sekvenovány.

Složení reakční směsi a pořadí je popsáno v tabulce 4.

Tab. 4 *Složení reakční směsi pro RFLP*

H ₂ O	8,25 µl
Pufr N2	1,5 µl
<i>BseRI</i>	0,25 µl
PCR produkt	5 µl
Celkový objem	15 µl

Sekvenování: Sekvenační směs (Tab.5) byla připravena z přečištěného PCR produktu, (přečištěný pomocí QIAGEN - MinElute Reaction Cleanup Kit), specifického primeru a kitu Big Dye Terminator Cycle Sequencing v1.1 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) doplněná destilovanou vodou na celkový objem reakce 20 µl. Sekvenační reakce probíhala v amplifikátoru GeneAmp®PCR System 9700 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) za následujících teplotních a časových podmínek: 96 °C/1 min – (96 °C/10s – 50 °C/5s – 60 °C/4min) 25x – 4/∞.

Tab. 5 *Reakční směs pro sekvenační PCR*

BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit v1.1 (Applied Biosystems)	4µl
Pufr	2 µl
Primer PDK F	0,32 µl
Destilovaná H ₂ O	12,68 µl
PCR produkt	1 µl
Celkový objem	20 µl

Asociační analýza: byla provedena pomocí programu SAS for Windows 9.1.4. (SAS Institute Inc., 2004). Využita byla metoda GLM – obecný lineární model umožňující zkoumání vlivu jednoho nebo více faktorů na několik proměnných současně. Pro výpočet asociací byla použita rovnice:

$$y_{ijkl} = \mu + \text{gen}_i + o_j + m_k + e_{ijkl}$$

μ = průměr

gen_i = pevný efekt genotypu ($i = AA, AB, BB$)

o_j = náhodný efekt j -tého otce

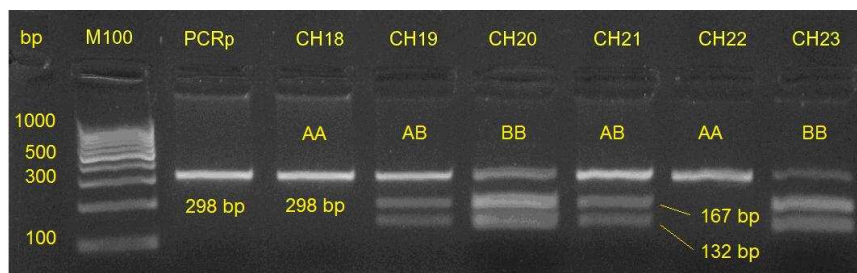
m_k = náhodný efekt k -té matky

e_{ijkl} = reziduum

VÝSLEDKY A DISKUZE

Pomocí PCR byl amplifikován příslušný úsek DNA o velikosti 298 bp. PCR produkt byl vizualizován EtBR na 3% agarózovém gelu. Jako velikostní standard byl využit marker Fermentas. PCR produkt byl štěpen restriční endonukleázou *BseRI* a inkubován při 37°C 24 hodin..

Naštěpené fragmenty byly separovány pomocí agaróзовé gelové elektroforézy a vizualizovány EtBR



(Obr.1 Genotypy genu *PDK4* štěpené restriční endonukleázou *BseRI* na 3% agarózovém gelu)

M100 – velikostní standard

PCRp – PCR produkt o velikosti 298 bp

Genotypy: AA, AB, BB

U zkoumané skupiny prasat byly pozorovány tyto ukazatele: průměrný denní přírůstek (g) a to do hmotnosti 90 kg, výška hřbetního tuku (cm) a obsah libového masa (%).

Vypočítaná hodnota testového kritéria označená * značí průkaznost při hladině významnosti $P \leq 0,05$, označena ** značí průkaznosti při hladině významnosti $P \leq 0,01$ (STÁVKOVÁ, 2001).

Užitkovost prasat byla popsána běžnými statistickými charakteristikami – aritmetický průměr, střední odchylka od průměru a minimum a maximum (Tab.6).

Tab. 6 Hodnoty masné užitkovosti rozdělené dle genotypů

		průměr	s_d	min	max
Genotyp AA	Přírůstek	577,93	43,85	484,00	640,00
	Hřbetní tuk	1,05	0,17	0,76	1,33
	Obsah LM	58,80	1,99	54,20	61,50
Genotyp AB	Přírůstek	602,45	42,07	491,00	667,00
	Hřbetní tuk	1,01	0,11	0,71	1,24
	Obsah LM	59,14	1,39	56,00	62,10
Genotyp BB	Přírůstek	605,20	26,19	562,00	656,00
	Hřbetní tuk	0,93	0,13	0,74	1,18
	Obsah LM	60,03	1,52	57,30	63,00

LM – libové maso, s_d – směrodatná odchylka, min – minimální hodnota, max - maximální hodnota sledovaných znaků.

Tab. 7 Porovnání genotypů metodou nejmenších čtverců

Sledované vlastnosti	Genotypy		
	AAxAB	AAxBB	BBxAB
Přírůstek	0,0453*	0,0643	0,8197
Hřbetní tuk	0,3544	0,0182*	0,0510
Libové maso	0,4804	0,0348*	0,0633

* $P \leq 0,05$ statistiky průkazný rozdíl, $P \leq 0,1$ blížící se průkaznosti

GLM analýzou byly vyhodnoceny parametry masné užitkovosti plemene české bílé ušlechtilé u jednotlivých genotypů. Při hladině významnosti $P \leq 0,05$ se jako statisticky průkazný jeví rozdíl v hodnotách mezi genotypy AA a AB u průměrného denního přírůstku.

Dále byl stanoven průkazný rozdíl mezi genotypy AA a BB u výšky hřbetního tuku, vyšší hodnoty vykazoval genotyp AA (Tab. 10). Zjištěná hodnota průkaznosti se blíží vysoce průkaznému rozdílu $P \leq 0,01$.

Pro obsah libového masa byl statisticky průkazný rozdíl mezi genotypy AA a BB ($P \leq 0,05$), vyšší hodnoty vykazoval genotyp BB. Rozdíl mezi genotypy AB a BB se statistické průkaznosti blíží ($P \leq 0,1$) (Tab.7).

V této práci byl testován jednonukleotidový polymorfismus v genu *PDK4*, nacházející se v intronu 10 v pozici 674A>G na prasečím chromozomu 9 (SSC9). Asociační analýza souboru 71 prasnic se třemi znaky masné užitkovosti prokázala průkazné rozdíly mezi genotypy AA a AB pro průměrný denní přírůstek, ve prospěch heterozygotního genotypu. SSC9 zkoumali ve své práci též Quintanilla a kol. (2001), na křížencích plemene Large White a Meishan. U testovaných QTL na tomto chromozomu zjistili statisticky průkazný vliv na průměrný denní přírůstek a též na váhu těla v 22 týdnech věku.

U výšky hřbetního tuku jsem zjistila statisticky průkazný rozdíl mezi genotypy AA a AB, vyšší hodnoty vykazoval homozygotní genotyp AA, což je možno porovnat s výsledky Lan a kol. (2009), kde vyšší hodnoty pro výšku hřbetního tuku vykazoval též homozygotní genotyp GG. Zde se však jednalo o křížence Large White a čínského plemene Meishan, což je původní čínské plemeno s vysokou plodností, pomalým růstem a silnou protučněností. Vlastní naměřené hodnoty se tedy značně liší, což je způsobeno právě touto odlišností.

Lan a kol. (2009) též uvádějí, že selekce na větší množství masa může vést ke snížení jeho kvality, stejné stanovisko ve své práci uvedli v roce 2000 Davoli a kol.

U obsahu libového masa jsem zjistila statisticky průkazný rozdíl mezi genotypy AA a BB, vyšší hodnoty měl genotyp BB. Rozdíl mezi genotypy AB a BB se statistické průkaznosti blíží. Lan a kol. (2009) zkoumal poměr mezi masem a tukem a došli k závěru, že vyšší poměr, tedy větší obsah masité části vykazoval genotyp GA. Tento genotyp však měl též vyšší hodnoty intramuskulárního tuku a nižší výšku hřbetního tuku.

Zrůstová (2010) testovala větší soubory, konkrétně 216 jedinců plemene české bílé ušlechtilé, 105 jedinců české landrase a 96 přeštických černostrakatých prasat. Právě velikost souboru (také náhodnost výběru jedinců do těchto souborů) je možno považovat za jednu z příčin nesouladu u některých posuzovaných hodnot. Tato analýza zahrnovala gen *PDK4*, konečné fenotypové vlastnosti a tedy i naměřené a vypočtené hodnoty mohly být ovlivněny jinými geny a také zde mohlo mít vliv prostředí.

ZÁVĚR

Ze zde prezentovaných výsledků je patrné že, kauzální gen, u kterého by se potvrdil vliv na některé z vlastností masné užitkovosti v této oblasti nebyl dosud nalezen. Je tedy nadále nutné podrobovat tuto oblast prasečího genomu dalšímu zkoumání. Nicméně vzhledem k charakteru testovaného

polymorfizmu (leží v nekódující oblasti) je možné usuzovat na vazbu polymorfních míst a tato nalezená polymorfní místa využít jako možné markery.

Gen *PDK4* byl zkoumán jako kandidátní gen pro vlastnosti masné užitkovosti prasat. Byla zde testována asociace jednonukleotidového polymorfizmu 674A>G v intronu 10 s těmito vlastnostmi: výška hřbetního tuku (cm), průměrný denní přírůstek (g) a obsah libového masa (%). Detekce polymorfizmu byla provedena metodou PCR – RFLP. Příslušný úsek DNA o velikosti 298 bp byl amplifikován pomocí PCR a dále štěpen restrikční endonukleázou *BseRI*. Na základě přítomnosti polymorfního místa se odlišily dvě alely. Alela *A* neobsahovala restrikční místo a zůstala tedy po působení *BseRI* nerozštěpená. Alela *B* obsahovala restrikční místo a štěpila se na dva fragmenty o velikosti 164 a 132 bp.

Statistickou analýzou pomocí programu SAS byl vyhodnocen vliv SNP 674A>G v genu *PDK4* na tři vybrané ukazatele masné užitkovosti prasat. Byla použita GLM analýza a metoda nejmenších čtverců.

Vliv genu *PDK4* byl shledán jako statisticky průkazný ($P \leq 0,05$) u průměrného denního přírůstku mezi genotypy *AA* a *AB*, u obsahu libového masa mezi genotypy *AA* a *BB*. U výšky hřbetního tuku byla nalezena statistická průkaznost mezi genotypy *AA* a *BB*, rozdíl mezi genotypy *AB* a *BB* se statistické průkaznosti blíží ($P \leq 0,01$). Z výsledků této práce nelze usuzovat na jednoznačný pozitivní vliv alel *A* nebo *B* na sledované parametry masné užitkovosti. Nabízí se zde tedy možnost dalšího testování možných polymorfních míst tohoto genu a celého SSC9, využití větších souborů prasat a zahrnutí více parametrů masné užitkovosti, ve snaze objevit příčinný gen, jež by významnou měrou přispěl k úspěšné selekci prasat.

LITERATURA

- ARAKI M., MOTOJIMA K. *Identification of ERRalpha as a specific partner of PGC-1alpha for the activation of PDK4 gene expression in muscle*. FEBS Journal [online]. 2006, 8, 273, [cit. 2010-04-27]. Dostupný z WWW: <<http://www3.interscience.wiley.com/journal/118635129>>.
- DAVOLI R., BIGI D., FOUNTANESI L., ZAMBONELLI P., YERLE M., ZIJLSTRA C., BOSMA A. A., ROBIC A., RUSSO V. *Mapping of 14 expressed sequenced tags (ESTs) from porcine skeletal muscle by somatic cell hybrid analysis*. Animal Genetics [online]. 2000, 31, 6, [cit. 2010-04-22]. Dostupný z WWW: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11167527>>.
- KNOLL A., URBAN T. ., *Aktuální metody používané v molekulární genetice zvířat*. In Genetické dny : Sborník referátů XX. Brno : MZLU, 2002. s. 31-34. ISBN 80-7157-607-7.
- LAN J., LEI M., ZHANG Y., WANG J., FENG X., XU D., GUI J., XIONG Y. *Characterization of the porcine differentially expressed PDK4 gene and association with meat quality*. Molecular biology reports. Springer Netherlands. Volume 36, Number 7 / September, 2009. ISSN 1573-4978.

QUINTANILLA R, MILAN D, BIDANEL JP. *A further look at quantitative trait loci affecting growth and fatness in a cross between Meishan and Large White pig populations. Genetics Selection Evolution* [online]. 2002, 34, [cit. 2010-04-27]. Dostupný z WWW: <<http://www.gsejournal.org/content/34/2/193>>.

ROSYPAL S., DOŠKAŘ J., PETRZIK K., RŮŽICKOVÁ V. *Úvod do molekulární biologie. čtvrtý díl, Molekulární biologie rostlinných virů, priony, molekulární evoluce, vznik života, metody molekulární biologie, genové inženýrství*. GRAFEX, Blansko, 2002, ISBN 80-902562-4-4

SAS Institute Inc., 2004, SAS/STAT 9.1 User's guide, 2004, SAS Institute Inc., Cary, NC.

STÁVKOVÁ J., DUFEK J. *Biometrika*, MZLU Brno, 2001, dotisk 2005, 194 stran, ISBN 80-7157-486-4

ŠPRYCL M., STUPKA R., *Genetika v chovu prasat: Speciál plus, Je genetika a reprodukce alfou a omegou chovu zvířat?*. Farmář, leden 2002, str. 44-45, ISSN 1210-9789

WU P., BLAIR P. V., SATO J., POPOV, K. M., HARRIS M. A. *Starvation Increases the Amount of Pyruvate Dehydrogenase Kinase in Several Mammalian Tissues*. *Biochemistry and Biophysics* [online]. 2000, 381, 1, [cit. 2010-04-26]. Dostupný z WWW: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11019813>>.

ZRŮSTOVÁ J., *Analýza genů PBEF1, PDK4 a PRKAR2B na chromozómu 9 asociovaných s tukem u prasat*. Disertační práce, Brno, Mendelu, 2010 (neuveřejněno)

THE EFFECT OF T-2 TOXIN, HT-2 TOXIN AND DEOXYNIVALENOL ON THE SECRETION ACTIVITY OF PORCINE OVARIAN GRANULOSA CELLS

Maruniakova N., Medvedova M., Kolesarova A., Capcarova M., Sirotkin A.V., Bulla J.

Department of Animal Physiology, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia

E-mail: noramaruniakova@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this *in vitro* study was to examine the secretion of progesterone by porcine ovarian granulosa cells after T-2 toxin, HT-2 toxin and deoxynivalenol addition *in vitro*. Ovarian granulosa cells were incubated with T-2, HT-2 toxin and deoxynivalenol for 24h: 10, 100 and 1000 ng.ml⁻¹, while the control group received no trichothecenes. Progesterone was determined by RIA. Progesterone release was stimulated by T-2 toxin and deoxynivalenol (at 1000 ng.ml⁻¹ but not at 10 and 100 ng.ml⁻¹). After addition of HT-2 toxin the release of progesterone was stimulated (at 100 and 1000 ng.ml⁻¹ but not at 10 ng.ml⁻¹). Our *in vitro* results represent, that T-2 toxin, HT-2 toxin and deoxynivalenol have a dose-dependent effect on the secretion activity of porcine ovarian granulosa cells.

Key words: T-2 toxin, HT-2 toxin, deoxynivalenol, progesterone

Acknowledgments: The authors are thankful to Romer Labs Division Holding GmbH, Tulln, Austria for provided mycotoxin and colleagues from the Institute for Genetics and Reproduction of Farm Animals, Animal Production Research Centre Nitra, particularly to Mrs. Katarina Tothova and Ing. Zofia Kuklova for their skillful technical assistance. This work was financially supported by the Slovak Research and Development Agency project no. 0299-06, the Ministry of Education of the Slovak Republic project no. 1/0696/08 and no. 1/0834/08.

ÚVOD

Mikroskopické huby z rodu *Fusarium* sú častými producentmi mykotoxínov zo skupiny trichotecénov (Eriksen a Alexander, 1998). Trichotecény sú klasifikované do štyroch skupín (typ A, B, C, D) na základe ich chemickej štruktúry ako aj ich producentov. Diacetoxyscirpenol (DAS) a T-2 toxín patriace do skupiny A trichotecénov a deoxynivalenol (DON) a nivalenol (NIV) zo skupiny B trichotecénov, sú známe ako najčastejšie sa vyskytujúce a silné trichotecény (Ueno, 1985, Rocha et al., 2005). Trichotecény sú skupinou štruktúrálnu príbuzných mykotoxínov vzájomne sa odlišujúcich silou cytotoxického účinku (WHO, 1990). Vyznačujú sa karcinogénnymi, genotoxickými, mutagénnymi, cytotoxickými, antibiotickými, protivírusovými, insekticídnymi, antileukemickými, imunosupresívnymi a kancerostatickými účinkami (Betina, 1990).

T-2 toxín je ľahko metabolizovaný na HT-2 toxín a rozdiel v štruktúre je len vo funkčnej skupine v polohe C4 (Canady et al., 2010). Výskumy preukazujú výskyt T-2 a HT-2 toxínu v obilninách (pšenica, kukurica, ovos, jačmeň, ryža, fazuľa) ako aj v niektorých produktoch z obilnín (Creppy, 2002). Vystavenie T-2 toxínu spôsobuje precitlivenosť pokožky, svrbenie, začervenanie, pľuzgieriky, šupanie pokožky, nauzeu, stratu telesnej hmotnosti, zvracanie a hnačku. Pri ťažších otravách dochádza ku kolapsom, slabosti, ataxii, k zníženej srdcovej činnosti, šoku a k smrti (WHO, 2001). T-2 toxín je silným inhibítorom syntézy proteínov *in vivo* aj *in vitro* podmienkach (Creppy, 2002). Orálne podanie 10 mg.kg⁻¹ T-2 toxínu u myši viedlo k apoptóze lymfocytov v tkanive týmusu, lymfatických uzlinách a v Peyerových plakoch (Nagata et al., 2001). Leukopénia, granulopénia, strata kostnej drene, progresívna lymfocytóza sú patologickými symptómami otravy T-2 toxínom (Islam et al., 1998). Deoxynivalenol je odolný voči mechanickému spracovaniu obilnín, zvýšenej teplote a rýchlo vstupuje do potravinového reťazca (Fink-Gremmels, 1999). DON je jedným z najčastejšie sa vyskytujúcich mykotoxínov v obilninách (Rotter et al., 1996), dominantne sa vyskytuje v pšenici, jačmeni, kukurici a menej často v ovsi, ryži, čiroku a tritikale (Creppy, 2002). Vyznačuje sa silným akútnym aj chronickým účinkom v závislosti od použitej dávky. Je rýchlo absorbovaný po orálnom podaní, pasívne je absorbovaný v celom tráviacom trakte a aktívne v obličkách (Marquardt and Frohlich, 1992), pečeni, svaloch, tukovom tkanive (Gareis and Scheuer, 2000) a v tkanivách reprodukčnej sústavy (Ranzenigo et al., 2008). DON spôsobuje ochorenia a smrť u hospodárskych aj experimentálnych zvierat inhibíciou syntézy proteínov (Rotter et al., 1996). Ošipané sú obzvlášť citlivé na pôsobenie deoxynivalenolu (Rotter et al., 1996). Prvotne zasiahnutý účinkom DON-u je imunitný systém (monocyty, makrofágy ako aj T a B lymfocyty) (Pestka et al., 2004).

Steroidný hormón progesterón je hlavným ovariálnym hormónom (Arnhold et al., 2009, Kolesárová et al., 2008), ktorý je popisovaný v granulóznych bunkách vaječnícov prasičiek (Kolesárová et al., 2008), v ovariálnych folikuloch ošipovaných (Skarzynski et al., 2008) a v žltom teliesku (Gregoraszczuk, 1997). Mykotoxíny spôsobujú zmeny granulóznych buniek, ovplyvňujú produkciu steroidných hormónov, vývoj oocytov (Alm et al., 2002; Minervini et al., 2001), ovuláciu (Kumagai and Shimizu, 1982), funkciu reprodukčnej sústavy a priebeh gravidity (D'ello et al., 1999; Alm et al., 2002). Cieľom *in vitro* štúdie bolo skúmať vplyv vybraných trichotecénov T-2, HT-2 a DON na sekreciu steroidného hormónu progesterónu ovariálnymi granulóznymi bunkami prasičiek.

MATERIÁL A METODIKA

Vaječníky získané pri zabití zvierat od necyklujúcich pubertálnych prasičiek plemena biela ušľachtilá sme individuálne uskladnili v termoske s fyziologickým roztokom pri izbovej teplote a spracovali maximálne do 6 hodín od zabitia zvierat. Ovariálne granulózne bunky sme izolovali metódou aspirácie zo stredne veľkých folikulov (3-5 mm). Suspenziu granulóznych buniek sme odstreďovali (1500 ot. min⁻¹, 10 minút) za účelom oddelenia od folikulovej tekutiny s následným premývaním pomocou sterilného kultivačného média DMEM/F12 1:1 (BioWhittakerTM, Verviers, Belgium) doplneného 10 % fetálnym teľacím sérom (BioWhittakerTM) a antibiotikom – antimykotikom (Sigma, St. Louis, MO, USA). Pomocou hemocytometra sme počítali bunky a upravili koncentráciu buniek na potrebnú (10⁶ buniek.ml⁻¹ média). Bunkovú suspenziu riedenú kultivačným médiom sme kultivovali (37 °C, 5 % CO₂) v kultivačných platničkách (1 ml.kultúra⁻¹). Po 5-7 dňoch kultivácie, keď bunky vytvorili na 75 % súvislú monovrstvu, sme médium nahradili čerstvým médiom s 10 % fetálnym teľacím sérom, bez prítomnosti antibiotík a bez (kontrola)/s prídavkom vybraných trichotecénov: T-2, HT-2, DON (Romer Labs Division Holding GmbH, Tulln, Rakúsko) v rôznych koncentráciách 10, 100 a 1000 ng.ml⁻¹. Po 24 h kultivácii sme injekčnou striekačkou odobrali médium z kultivačných platničiek a uskladnili pri teplote -70 °C až do doby rádioimunoanalýzy (RIA). Koncentrácie progesterónu boli stanovené metódou RIA v 25-100 µl inkubačného média. Tieto látky boli naviazané použitím RIA kitov (Immunotech SAS, Marseille Cedex, France) podľa inštrukcií výrobcu (Makarevich a Sirotkin, 1999). Všetky RIA súpavy boli určené pre použitie vzoriek kultivačného média. Štatistické rozdiely medzi kontrolnou skupinou (bez pôsobenia T-2/HT-2 toxínu a DON) a experimentálnou skupinou vystavenou pôsobeniu T 2/HT-2/deoxynivalenolu boli hodnotené Two Way ANOVA test, použitím štatistického programu Sigma Plot 11.0 (Jandel, Corte Madera, USA). Hodnoty predstavujú priemer ± SEM. Signifikantnosť rozdielov medzi skupinami bola určená na úrovni p<0,05.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V našej *in vitro* štúdií sme skúmali sekrečnú schopnosť ovariálnych granulóznych buniek so zameraním na uvoľnenie progesterónu po experimentálnom podaní vybraných mykotoxínov T-2, HT-2 toxínu a deoxynivalenolu. Po aplikácii rôznych dávok T-2, HT-2 toxínu a DON sme

zaznamenali diferencie v sekrécii steroidného hormónu progesterónu medzi kontrolnou a experimentálnymi skupinami.

Vplyv T-2 a HT-2 toxínu na sekréciu progesterónu.

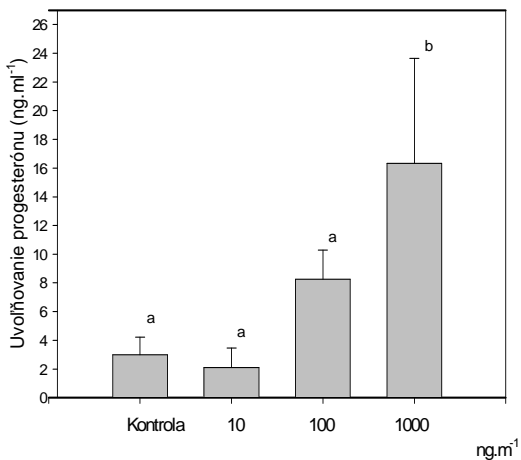
T-2 toxín v dávke 1000 ng.ml⁻¹ signifikantne zvyšoval ($p < 0,05$) sekréciu progesterónu v porovnaní s kontrolnou skupinou, pričom po podaní dávok 10 a 100 ng.ml⁻¹ neboli zaznamenané signifikantné rozdiely (Obr. 1). T-2 toxín má priamy účinok na steroidogézu a proliferáciu granulóznych buniek ošpaných v závislosti od použitej dávky (Caloni et al., 2009), čo je v súlade s našou štúdiou. U samičiek králikov boli zaznamenané nízke koncentrácie progesterónu v krvnej plazme a poruchy funkcií vaječníkov vplyvom T-2 toxínu (Fekete et al., 1992). Podobne Glavits et al. (1983) uvádzajú, že T-2 toxín spôsobuje zmeny v reprodukčnej sústave a možné aberácie reprodukčnej sústavy prasničiek. K zastaveniu dozrievania folikulov vo vaječníkoch husí a degenerácii folikulov došlo po podávaní T-2 toxínu (Vanyi et al., 1994). U prasničiek T-2 toxín môže vyvolať neplodnosť a po parenterálnom podávaní počas posledného trimestra gravidity je schopný vyvolať potraty v priebehu 48 hodín (Weaver et al., 1986). Miller-Patric et al. (1988) uvádzajú, že podávanie T-2 toxínu *in vivo* signifikantne redukovalo koncentráciu proteínov v ovariálnych granulóznych bunkách potkanov.

HT-2 toxín v dávke 100 a 1000 ng.ml⁻¹ signifikantne stimuloval ($p < 0,05$) sekréciu progesterónu v porovnaní s kontrolnou skupinou (Obr. 2). Nesignifikantné diferencie ($p < 0,05$) boli sledované vplyvom HT-2 toxínu v dávke 10 ng.ml⁻¹. Caloni et al. (2009) popisujú inhibíciu produkcie progesterónu o 30 % po podaní T-2 toxínu v dávke (1 ng.ml⁻¹). Naše výsledky poukazujú na možný dávkovo-závislý účinok A-trichotecénov.

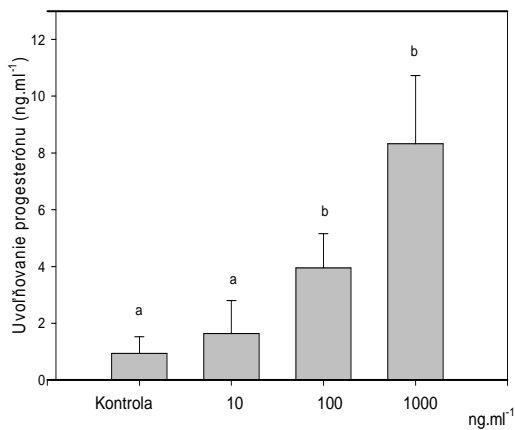
Vplyv deoxynivalenolu na sekréciu progesterónu

Deoxynivalenol v dávke 1000 ng.ml⁻¹ signifikantne stimuloval uvoľňovanie progesterónu ovariálnymi granulóznymi bunkami prasničiek. Po podaní 10 a 100 ng.ml⁻¹ DON neboli zaznamenané signifikantné zmeny medzi pozorovanými skupinami (Obr. 3). Účinky deoxynivalenolu na reprodukčnú sústavu samcov potkanov skúmali Sprando et al. (2005), ktorí zaznamenali zvýšené koncentrácie folikulostimulačného (FSH) a luteinizačného hormónu (LH), a zároveň zaznamenali znížené koncentrácie testosterónu v sére v závislosti od použitých koncentrácií daného toxínu. Podobne aj v prípade zearalenonu, patriaceho do skupiny trichotecénov, boli zaznamenané hormonálne zmeny v koncentracii progesterónu v závislosti od použitej dávky (Gajacka et al., 2008). Podľa Ranzenigo et al. (2008) ktorí po podávaní DON-u zaznamenali odlišné výsledky, kedy DON inhiboval produkciu progesterónu pri 100 a 1000 ng.ml⁻¹. Pri aplikácii 10 ng.ml⁻¹ autori nezaznamenali preukazné rozdiely, čo je v súlade s naším zistením. DON negatívne ovplyvňoval graviditu ošpaných v smere inhibície dozrievania oocytov a následne funkciu reprodukčnej sústavy (Alm et al., 2002, 2006). Naše výsledky poukazujú na možný dávkovo-závislý účinok B-trichotecénov na ovariálne bunky.

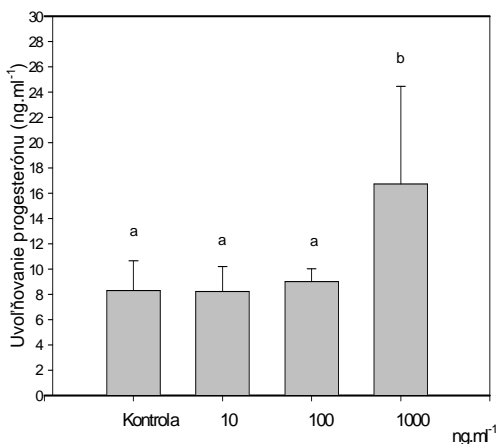
Graf 1 Vplyv T-2 toxínu na uvoľňovanie progesterónu granulóznymi bunkami vaječníkov ($\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$), a,a- nesignifikantné rozdiely ($p>0,05$), a,b - signifikantné rozdiely ($p<0,05$)



Graf 2 Vplyv HT-2 toxínu na uvoľňovanie progesterónu granulóznymi bunkami vaječníkov ($\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$), a,a- nesignifikantné rozdiely ($p>0,05$), a,b - signifikantné rozdiely ($p<0,05$)



Graf 3 Vplyv DON na uvoľňovanie progesterónu granulóznymi bunkami vaječníkov ($\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$), a, a - nesignifikantné rozdiely ($p>0,05$), a,b - signifikantné rozdiely ($p<0,05$)



ZÁVER

Naše zistenia poukazujú na možný účinok prírodných toxínov T-2, HT-2 toxínu a deoxynivalenolu na sekrečnú schopnosť granulóznych buniek vaječníkov prasničiek v závislosti od použitej dávky, a preto sú nevyhnutné ďalšie štúdie pre bližšie objasnenie účinku trichotecénov na granulózne bunky prasničiek.

LITERATÚRA

Alm H., et al. (2002): The influence of the mycotoxins deoxynivalenol and zearalenol on in vitro maturation of pig oocytes and in vitro culture of pig zygotes. *Toxicol in vitro.*, 16 (6): 643–648.

Alm H. et al. (2006): Influence of Fusarium-toxin contaminated feed on initial quality and meiotic competence of gilt oocytes. *Reproductive Toxicology.*, 22: 44–50.

Arnhold I.J, Lofrano-Porto A., Latronico A.C. (2009): Inactivating mutations of luteinizing hormone beta-subunit or luteinizing hormone receptor cause oligoamenorrhea and infertility in women. *Hormone Research*, 71: 75-82.

Betina, V. (1990): Mykotoxíny, chémia – biológia-ekológia. Bratislava: ALFA, 1990. 288 s. ISBN 80-05-00631-4.

Caloni F. et al. (2009): Effects of a trichothecene, T-2 toxin, on proliferation and steroid production by porcine granulosa cells. *Toxicol.* 337-344.

Canady A. R. et al. (2010): T-2 and HT-2 toxins. IPCS Inchem home. [online], b. v., 2010. [cit. 2010-09-04]. Dostupné na: <<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je06.htm>>.

Creppy E.E. (2002): Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. In *Toxicology Letters*, 127: 19-28.

D'mello J.P.F., Placinta C.M., Macdonald, A.M.C. (1999): Fusarium mycotoxins, a review of global implications for animal health, welfare and productivity. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 80: 183–205.

Eriksen G.S. – Alexander J. (1998): Fusarium toxins in cereals – a risk assessment. Nordic Council of Ministers, Tema Nord 1998, 502, Copenhagen.

Fekete S. et al. (1992): Effect of long-term feeding of sublethal quantities of T-2 toxin upon the ovarian activity of the rabbit. *J. Appl. Rabbit Res.*, 15: 583-593.

Fink-Gremmels J. et al. (1999): Mycotoxins: their implications for human and animal health. *Vet. Q.*, 21: 115-120.

Gajecka M. et al. (2008): Influence of long-term zearalenone intoxication on the concentration of progesterone and 17 β -oestradiol in blood plasma in bitches. *Bull. Vet. Ins. Pulawy*, 52: 405-409.

Gareis M., Scheuer, R. (2000): Ochratoxin A in meat and meat products. *Archiv für Lebensmittelhygiene*, 51: 102–104.

Glavits R. (1983): Reproductive disorders caused by trichothecene mycotoxins in a large-scale pig herd. *Acta Veterinaria Hungarica*. 31: 173-180.

Gregoraszcuk E.L. (1997): Progesterone, androgen and estradiol production by porcine luteal cell subpopulations: dependence on cell composition and periods of luteal phase. *Endocrine Regulation.*, 31: 41–46.

Islam Z. et al. (1998): T-2 toxin induces thamic apoptosis in vivo in mice. *Toxicol. Applied Pharmacol.*, 148: 205-214.

Kolesárová A., Sirotkin A., Kováčik J. (2008): Endokrinné a vnútrobunkové mechanizmy pohlavného dospievania prasničiek. Vedecká monografia. Nitra : SPU, 131 s. ISBN 978-80-552-0109-2.

Kumagai S., Shimizu T. (1982): Neonatal exposure to zearalenone causes persistent anovulatory estrus in the rat. *Arch. Toxicol.*, 50: 279–286.

Makarevich A., Sirotkin A. (1999): Development of sensitive radioimmunoassay for IGF-I determination in samples from blood plasma and cell-conditioned medium. *Veterinarna Medicina.*, 44: 71–78.

Marquardt R.R., Frohlich, A.A. (1992): A review of recent advances in understanding ochratoxicosis. *Journal of Animal Science*. 70: 3968–3988.

Miller-Patrick K. et al. (1988): Cytophotometric assessment of granulosa cell protein and nucleic acid levels during their estrous cycle in rats treated with T-2 toxin. *Life Sci.*, 43: 2231-2239.

- Minervini F. (2001): Toxic effects of the mycotoxin zearalenone and its derivatives on in vitro maturation of bovine oocytes and 17 β -estradiol levels in mural granulosa cell cultures. *Toxicol in vitro.*, 15: 489–495.
- Nagata T. et al. (2001): Development of apoptosis and changes in lymphocyte subsets in thymus, mesenteric lymph nodes and Peyer's patches of mice orally inoculated with T-2 toxin. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 53: 309–315.
- Pestka J.J. et al. (2004): Cellular and molecular mechanisms for immune modulation by deoxynivalenol and other trichothecenes : unraveling a paradox. *Toxicol. Lett.*, 153: 61-73.
- Ranzenigo G. et al. (2008): Effects of Fusarium mycotoxins on steroid production by porcine granulosa cells. *Anim. Reprod. Sci.*, 107 (1–2): 115–130.
- Rocha O. et al. (2005): Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells. *Food Addit. Contam.*, 22: 369-378.
- Rotter B.A. et al. (1996): Toxicology of deoxynivalenol (vomitoxin). *J. Toxicol. Environ. Health.*, 48: 1-34.
- Skarzynski D.J. et al. (2008): In vitro Assessment of Progesterone and Prostaglandin E (2) production by the Corpus Luteum in Cattle Following Pharmacological Synchronization of Estrus. *The Journal of Reproduction and Development*, 29. [Epub ahead of print].
- Sprando, R. et al. (2005): Characterization of the effect of deoxynivalenol on selected male reproductive endpoints. *Food and Chemical Toxicology*. 43: 623–635.
- Vanyi A. et al. (1994): Pathomorphological changes caused by T-2 trichothecene fusariotoxin in geese. *Acta Vet. Hung.*, 42: 447-457.
- Weaver G.A. et al. (1986): Effect of zearalenone on the fertility of virgin dairy heifers. *Am. J. Vet. Res.*, 47: 1395-1397.
- World Health Organization (2001): Food Additives Series 47, FAO Food and Nutrition Paper 74, Presented at the 56th Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), WHO, Geneva, p. 557.
- World Health Organization, I.P.C.S., (1990): Trichothecenes. Selected Mycotoxins: Ochratoxins, Trichothecenes, Ergot. World Health Organization, Geneva.
- Ueno Y. (1985): The toxicology of mycotoxins. *Crit. Rev. Toxicol.*, 14: 99-132.

ANALYSIS OF *EEF1A2* GENE POLYMORPHISM IN PIGS

Pavelková M., Knoll A., Svobodová K.

Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, Faculty of Agronomy,
Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: xpavelk7@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate association analysis between *EEF1A2* gene polymorphism and pig meat performance characteristics (backfat thickness, average daily gain and lean meat percentage). The polymorphism was analysed in a population of 69 Czech Large White pigs. Individual genotypes were detected using PCR and RFLP methods with use of restriction endonuclease *Hin6I*. Association analysis between genotypes and individual performance characteristics using the SAS 9.1.4 software was carried out after frequencies of genotypes and alleles were counted. The genotype frequencies were 26.09% GC and 73.91% CC. No GG genotype was observed. A low frequency of allele G (0.1304) and a high frequency of allele C (0.8696) were found. In the association analysis between individual genotypes (GC and CC) and meat performance characteristics there was no significant difference ($p \leq 0.05$) and no traits approached to significant level ($p \leq 0.1$)

Key words: *EEF1A2*, polymorphism, meat performance, Czech Large White

ÚVOD

Gen *EEF1A2* je v této práci zkoumán jako kandidátní gen ovlivňující parametry masné užitkovosti u prasat. Identifikace genů, které ovlivňují užitkovost hospodářských zvířat, přispívá k rozšíření znalostí o genetické podmíněnosti masné užitkovosti a nabízí perspektivu využití těchto poznatků ve šlechtění. Poznátky molekulární genetiky již přispěly a nadále mohou přispívat významnou měrou k úspěšnému naplnění nových cílů ve šlechtění prasat podle požadavků spotřebitelů a technologií a ke snížení doprovodných nedostatků.

MATERIÁL A METODIKA

Zkoumaný soubor tvořily prasnice plemene české bílé ušlechtilé. Do asociační studie bylo zahrnuto 69 vzorků. Výsledky testování parametrů masné užitkovosti jednotlivých zvířat byly získány z databáze Ústavu morfologie, fyziologie a genetiky zvířat Agronomické fakulty Mendelovy univerzity v Brně.

Polymerázová řetězová reakce (PCR)

Metodika PCR i RFLP byla zpracována dle Svobodové et al. (dosud nepublikováno). Složení reakční směsi pro PCR je uvedeno v tabulce 1.

Byly použity primery:

11A: CTG AGG TGA AGT GGG TGG AGA TG přímý

11B: CGC TGC CTG GGA AGA CGG zpětný

Tab.1: Složení reakční směsi pro PCR o objemu 25 μ l

Chemikálie	Množství (μ l)
destilovaná H ₂ O	9,5
DNA	2
primer A	0,5
primer B	0,5
HotStar mix (Qiagen)	12,5

Podmínky pro amplifikaci zkoumaného úseku DNA:

Vlastní PCR probíhala v termálním cykleru PTC-200TM, MJ Research, Inc. Teplotní profil PCR byl dodržen přesně dle původní metodiky autorů: počáteční denaturace 95 °C / 15 min.;

MENDELNET 2010

vlastní PCR: 30 cyklů – denaturace 95 °C / 20s, annealing 64 °C / 20 s, elongace 72 °C / 10s; závěrečná elongace 72 °C / 10 min.

Po skončení PCR byla provedena kontrola kvality PCR produktu. Na 3% agarózový gel (Serva) s přísadkou ethidiumbromidu (0,1 µg na 1 ml gelu) bylo nanášeno 5 µl PCR produktu smíchaného s nanášecím pufrům (40% sacharóza a bromfenolová modř). PCR produkt byl následně vizualizován prostřednictvím transiluminátoru a fotografován. Byla hodnocena jeho kvalita, výskyt nespecifických fragmentů a množství amplifikované DNA.

Polymorfismus délky restrikčních fragmentů (RFLP)

PCR produkt byl štěpen v restrikční směsi skládající se z destilované vody, pufru a restrikční endonukleázy. Složení reakční směsi uvádím v tabulce 2. Štěpení probíhalo v termostatu při 37 °C po dobu 12 hodin.

Tab.2: Složení reakční směsi pro RFLP

Chemikálie	Množství (µl)
destilovaná H ₂ O	3,3
pufr Y ⁺ /Tango TM (Fermentas)	1,5
restrikční endonukleáza <i>Hin6I</i> (Fermentas)	0,2
PCR produkt	10

Následně byla provedena elektroforéza na 4% agarózovém gelu obsahujícím barvivo GelStar® Nucleic Acid Gel Stain (FMC Corporation, Philadelphia), které se ukázalo být pro vizualizaci vhodnější než ethidiumbromid. Výsledek štěpení byl vizualizován pod UV světlem a fotografován. Po vizualizaci pod UV světlem byly odečteny jednotlivé genotypy.

Odečítání genotypů v polymorfním místě bylo prováděno dle následujícího klíče:

212 bp dlouhý PCR produkt je štěpen na fragmenty 173 bp a 39 bp (alela C) či zůstává neštěpen (alela G)

Elektroforéza pro ověření výsledku PCR i RFLP probíhala v TBE pufru při napětí 100 V po dobu 30 až 40 minut. Pro ověření velikosti fragmentů byl použit marker M100 (GeneRulerTM 100 bp DNA Ladder).

Statistické vyhodnocení asociační analýzy

Pro statistické vyhodnocení asociace mezi jednotlivými genotypy a masnou užitkovostí byl použit program SAS pro Windows 9.1.4. Byla hodnocena asociace mezi genotypy a jednotlivými ukazateli masné užitkovosti, mezi něž byl zahrnut přírůstek, výška hřbetního tuku a procento libové svaloviny.

Pomocí programu SAS pro Windows 9.1.4. byl vypočítán průměr nejmenších čtverců (least squares means) a střední chyba odhadu (standard error) pro jednotlivé parametry masné užitkovosti a genotypy.

Byla použita metoda odhadu REML (restringovaná metoda maximální věrohodnosti). Pro výpočet byla použita smíšená rovnice:

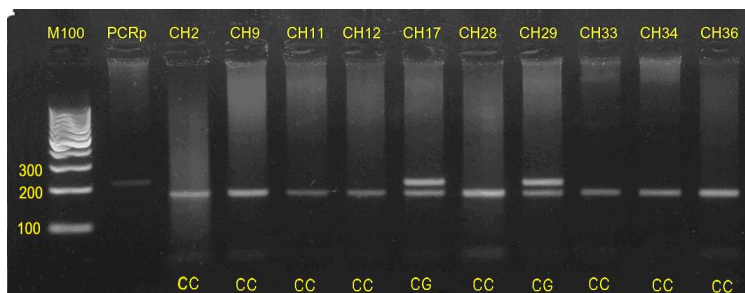
$$y_{ijkl} = \mu + G_i + O_j + M_k + e_{ijkl}$$

Kde:

- y_{ijkl} jsou pozorované úrovně znaků
- μ je průměrná hodnota u sledovaného znaku
- G_i je pevný efekt, genotyp zvířete v genu *EEF1A2*
- O_j je náhodný efekt j-tého otce
- M_k náhodný efekt k-té matky
- e_{ijkl} jsou náhodné reziduální efekty

VÝSLEDKY A DISKUZE

Po štěpení restriktivní endonukleázou *Hin6I* byla detekována alela G, která se něštěpí (212 bp), a alela C obsahující štěpné místo (173 a 39 bp), viz. obrázek 1.



Obr.1: Genotypy genu *EEF1A2* po štěpení 212 bp PCR produktu restriktivní endonukleázou *Hin6I*. (PCRp- neštěpený PCR produkt)

MENDELNET 2010

V souboru 69 prasnic byl genotyp GC zastoupen u 18 zvířat, genotyp CC u 51 zvířat, genotyp GG nebyl pozorován. Na základě těchto absolutních frekvencí genotypů byly vypočítány relativní frekvence genotypů a absolutní a relativní frekvence alel, které jsou uvedeny v tabulkách 3 a 4.

Tab.3: *Frekvence genotypů*

Genotyp	Frekvence absolutní	Frekvence relativní
GG	0	0
GC	18	0,2609
CC	51	0,7391
Σ	69	1

Tab.4: *Četnosti alel*

Alela	Frekvence absolutní	Frekvence relativní
G	18	0,1304
C	120	0,8696
Σ	138	1

V testu byly sledovány asociace genotypů v genu *EEF1A2* s následujícími parametry masné užitkovosti prasat: výška hřbetního tuku, průměrný denní přírůstek a podíl libové svaloviny. K tomu byl využit software SAS, metoda odhadu REML. Výsledky asociací analýzy jsou shrnuty v tabulce 5.

V asociční analýze mezi genotypy zjištěnými ve studovaném souboru (GC a CC) a parametry masné užitkovosti nebyla zjištěna statistická průkaznost ($p \leq 0,05$) ani statistický rozdíl blízký se průkaznosti ($p \leq 0,1$).

Tab.5: *Asociace genotypů genu EEF1A2 s parametry masné užitkovosti*

Znak	Genotyp GC (n = 18) LMS±SE	Genotyp CC (n = 51) LMS±SE	Průkaznost GC-CC
PRIR (g)	593,35±15,08	594,66±13,54	0,8863
HRTUK (cm)	0,99±0,04	1,01±0,03	0,6714
LS (%)	59,37±0,48	59,01±0,37	0,4130

Kde PRIR je průměrný denní přírůstek, HRTUK je výška hřbetního tuku, LS je podíl libové svaloviny, n je počet zvířat, LMS \pm SE je průměr nejmenších čtverců (least squares means) \pm střední chyba (standard error).

V předkládané práci byly u souboru prasat plemene české bílé ušlechtilé zjištěny tyto frekvence genotypů: 26,09 % GC a 73,91 % CC. Genotyp GG nebyl u studovaných zvířat pozorován, tudíž byla zjištěna nízká frekvence alely G (0,1304) a vysoká frekvence alely C (0,8696).

Vliv polymorfizmu v genu *EEF1A2* na parametry masné užitkovosti prasat byl doposud studován pouze v jediné práci (Svobodová et al., dosud nepublikováno).

Ve zmíněné práci byly zkoumány frekvence alel celkem u osmi plemen, avšak zahrnuto bylo pouze 14 jedinců plemene české bílé ušlechtilé. Zaznamenané frekvence alel u tohoto plemene byly 0,14 pro alelu G a 0,86 pro alelu C. Nebyl přítomen žádný jedinec plemene české bílé ušlechtilé s genotypem GG, stejně jako v mnou testovaném souboru. Genotyp GG byl však zjištěn u zástupců jiných plemen prasat (duroc, meishan, hampshire) (Svobodová et al., dosud nepublikováno).

Vzhledem k úloze genu *EEF1A2* v metabolismu, k jeho funkcím popsaným u člověka (Knudsen et al., 1993), myši (Lee et al., 1994) a některých jiných druhů živočichů (Lee et al., 1993; Kahns et al., 1998) a také jeho lokalizaci na 17. chromozomu prasat (Svobodová et al., dosud nepublikováno), kde byly objeveny QTL pro vlastnosti masné užitkovosti prasat (Animalgenome), bychom mohli předpokládat jeho asociaci s masnou užitkovostí. V předkládané práci však nebyla v asociční analýze mezi jednotlivými zaznamenanými genotypy (GC a CC) a parametry masné užitkovosti (výška hřbetního tuku, průměrný denní přírůstek a podíl libové svaloviny) zjištěna statistická průkaznost ($p \leq 0,05$) ani statistický rozdíl blízký se průkaznosti ($p \leq 0,1$).

Součástí srovnávané práce (Svobodová et al., dosud nepublikováno) byla asociční analýza genu *EEF1A2* s parametry masné užitkovosti prasat. Do této analýzy bylo zahrnuto 313 prasat druhé filialní generace kříženců plemen meishan a pietrain. Mezi studované parametry masné užitkovosti, u nichž byl zjištěn průkazný rozdíl mezi genotypy, patřily: hmotnost vnějšího tuku nad kýtou (ham external fat weight), hmotnost hřbetního tuku (back fat weight), ořezy tuku (fat cuts), výška bederního tuku (loin fat depth), průměrná výška hřbetního tuku (average back fat depth), hmotnost kýty v poměru k jatečné půlce (weight of ham meat relative to half carcass) a hmotnost slaniny v poměru k libovým částem (weight of bacon meat relative to lean cuts).

U všech zmíněných parametrů byl zjištěn průkazný rozdíl ($p \leq 0,05$) mezi genotypy GG a CC. Ve všech těchto ukazatelích byl také zjištěn průkazný rozdíl mezi genotypy GG a GC, vyjma hmotnosti vnějšího tuku nad kýtou (ham external fat weight), kde nebyl průkazný rozdíl zjištěn, a hmotnosti hřbetního tuku (back fat weight) a ořezů tuku (fat cuts), kde byl zjištěn rozdíl blízký se průkaznosti ($p \leq 0,1$). Pouze u parametru hmotnost vnějšího tuku nad kýtou (ham external fat weight) byl zjištěn rozdíl blízký se průkaznosti také mezi genotypy GC a CC.

MENDELNET 2010

Je důležité zmínit fakt, že gen *EEF1A2* leží 8,8 cM distálně od *GNAS* complex locus (guanine nucleotide binding protein, alpha stimulating complex locus) (Svobodová et al., dosud nepublikováno). Gen *GNAS* kóduje extracelulární transportní protein, který přenáší informační molekuly z transmembránových receptorů k cílovým proteinům (efektorům) (Carel et al., 1999). Tento gen byl popsán a je nadále zkoumán v souvislosti se vznikem obezity a ukládáním tuku (Carel et al., 1999; Weinstein et al., 2010). Vazba mezi geny *EEF1A2* a *GNAS* by mohla ovlivňovat průkaznost asociačních studií *EEF1A2* ve vztahu k masné užitkovosti. Bylo by vhodné provést další studie, které prozkoumají vliv vazby s genem *GNAS*.

ZÁVĚR

V asociační analýze mezi jednotlivými genotypy (CG a CC) a parametry masné užitkovosti nebyla zjištěna statistická průkaznost ($p \leq 0,05$) ani statistický rozdíl blízkící se průkaznosti ($p \leq 0,1$). Přesto nemůžeme zavrhnout *EEF1A2* jako kandidátní gen pro masnou užitkovost, neboť výsledky této práce jsou patrně ovlivněny malým souborem prasat použitým pro analýzu. Nepřítomnost genotypu GG ve studovaném souboru znemožnila vzájemné srovnání asociační analýzy pro jednotlivé genotypy, ve studii byly srovnány pouze genotypy GC a CC, výsledky jsou tudíž neúplné. Proto by bylo vhodné provést další testování vlivu genu *EEF1A2* na ukazatele masné užitkovosti s větším souborem zvířat a vyrovnanějším zastoupením genotypů.

LITERATURA

Animalgenome, Pig QTL Database, National animal genome research program, [cit. 2010-03-21], dostupné z WWW: <<http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/SS/index>>.

Carel, J.,C., Le Stunff, C., Condamine, L., Mallet, E., Chaussain, J., L., Adnot, P., Garabedian, M., Bougneres, P. (1999): Resistance to the lipolytic action of epinephrine: a new feature of protein GS deficiency. J. Clin. Endocr. Metab., 84, p. 4127-4131.

Kahns, S., Lund, A., Kristensen, P., Knudsen, C., R., Clark, B., F., C., Cavallius, J. and Merrick, W., C. (1998): The elongation factor 1 A-2 isoform from rabbit: cloning of the cDNA and characterization of the protein, Nucleic Acids Research, vol. 26, no. 8, p. 1884-1890.

Knudsen, S., M., Frydenberg, J., Clark, B., F., C., Leffers, H. (1993): Tissue-dependent variation in the expression of elongation factor-1a isoforms: isolation and characterisation of a cDNA encoding a novel variant of human elongation-factor 1a. Eur. J. Biochem., vol.215, p. 549-554.

Lee, S., Wolfrain, L.,A.,Wang, E. (1993): Differential expression of S1 and elongation factor-1 alpha during rat development. J. Biol. Chem., vol.268, p. 24453-24459.

Lee, S., Ann, D., K., Wang, E. (1994): Cloning of humane and mouse brain cDNAs coding for S1, the second member of the mammalian elongation factor-1 alpha gene family: analysis of a possible evolutionary pathway. Biochem. Biophys. Res. Commun, vol.203, p. 1371-1377.

MENDELNET 2010

Svobodová, K., Horák, P., Stratil, A., Knoll, A., Van Poucke, M., Bartenschlager, H., Chalupová, P., Peelman, L., J., Knorr, C., and Geldermann, H., Comparative analysis of porcine *EEF1A1* and *EEF1A2* genes: structure, polymorphism, mapping and expression, dosud nepublikováno, citováno na základě osobního sdělení

Weinstain, L., S., Xie, T., Qasem, A., Wang, J., Chen, M. (2010): The role of GNAS and other imprinted genes in the development of obesity. Intern. J. of Obesity, vol 4, p.6-17.

UPTAKE AND ELIMINATION OF RADIOCESIUM IN FISH

Růžičková E.

Department of Molecular Biology and Radiobiology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xruzic13@mendelu.cz, poschl@mendelu.cz

ABSTRACT

The Chernobyl accident led to widespread contamination among others with radiocaesium (^{137}Cs). 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 (tank) with definable conditions can provide new information about the ^{137}Cs fate in the aquatic environment.

This paper describes the uptake and elimination of ^{137}Cs in the fish species *Poecilia reticulata* after 96-hour experimental contamination with $^{137}\text{CsCl}$ (1.0 kBq l^{-1}) in standard water condition of small laboratory tanks. The ^{137}Cs radioactivity concentration was observed *in vivo* during 96-hour radiocaesium retention and 33-day decontamination (cultivation of the contaminated fish in radiocaesium free water) periods. Measurements of ^{137}Cs activity were carried out using gamma-spectrometric system with HPGe detector and standard geometry of 500ml-Marinelli bakers.

Rapid uptake of radiocaesium dissolved in water and also rapid loss of the radionuclide from contaminated fish kept in the radiocaesium free conditions were found out. The ^{137}Cs concentration in fish kept in contaminated water reached the same concentration as in the water during 90-hour contamination period, and then the retention of ^{137}Cs proceeded further with the similar tendency. In the decontamination period, the initial biological half-life of ^{137}Cs in fish was ca 14 days. More than 65 % of the starting value of the radiocaesium in fish body was excreted after 33-day-keeping of the contaminated fish in uncontaminated water.

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 in Brno.

ÚVOD

Ochrana životního prostředí je v současnosti stále více diskutované téma. Jednou z částí, které je věnována pozornost, je i problematika věnující se biogenní migraci radionuklidů v prostředí. Pozornost se zaměřuje na radiocesium, u kterého existuje potenciální možnost kontaminace potravinových zdrojů.

Akumulace radiocesia rybami je komplexní dynamický proces, který je určen environmentálními a fyziologickými faktory, jako jsou znečištění potravy, intenzita krmení, pozice v potravním řetězci atd. (Kryšev and Ryabov 2000).

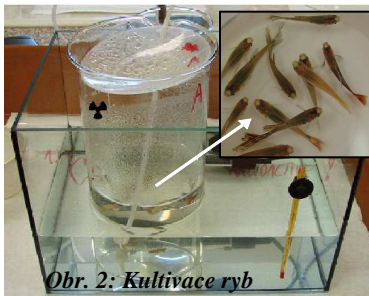
Schopnost vodních organismů vázat radiocesium je výrazně ovlivňováno obsahem solí ve vodě. U mořských organismů jsou díky vyššímu obsahu kationtů několikanásobně nižší koncentrační faktory, než u organismů sladkovodních (Kohehmainen et al., 1967; Komarov a Bennett, 1983; Svadlenkova et al., 1989; Hakanson, 1991). Akumulaci radiocesia také výrazně ovlivňuje retenční doba Cs^+ ve vodě. Čím delší dobu je organismus v prostředí s radiocesiumem, tím větší pravděpodobnost příjmu Cs^+ nastane (Hakanson, 1991).

Převážná většina publikovaných studií sleduje kinetiku radiocesia u vodních živočichů, nejvíce u ryb, a to monitorováním v přírodních podmínkách, většinou jako následek kontaminace po černobylské havárii. Studií zahrnujících problematiku kinetiky příjmu a vylučování radiocesia ve sladkovodním prostředí v kontrolovaných laboratorních podmínkách je velmi málo. Sledováním u některých druhů akvarijních ryb (*Carassius auratus*, *Brachydanio rerio*) se zabývali např. Srivastava et al. (1990,1994).

V souvislosti se sledováním zákonitostí distribuce a transferu radiocesia (^{137}Cs) u drobných živočichů (akvarijních ryb rodu *Poecilia reticulata*) v modelovém vodním prostředí byla práce zaměřena na sledování příjmu a vylučování radiocesia u ryb.

MATERIÁL A METODIKA

V experimentu byly použity ryby rodu *Poecilia reticulata* (samci - váha $0,2 \div 0,3$ g; délka cca 3 cm) (obr. 1).

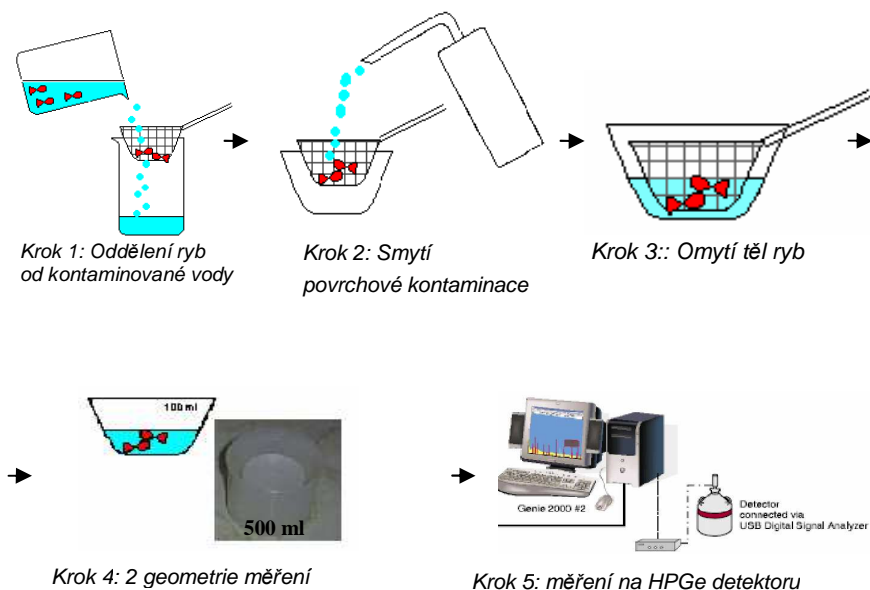


Práce byla rozdělena na dvě části. V první části byl sledován příjem radiocesia rybami, v druhé části jeho vylučování.

Pro sledování příjmu byly ryby kultivovány ve vodě uměle kontaminované $^{137}\text{CsCl}$ ($1,5 \text{ l H}_2\text{O}$, $1,0 \text{ kBq.l}^{-1}$). Kultivace ryb s kontinuální aeraací probíhala celkem 96 hodin (obr. 2). Voda byla temperována na 26°C . Ve 24-hodinových intervalech od počátku kultivace byly ryby měřeny v uspořádání *in vivo* s využitím gamaspektrometrické trasy s HPGe detektorem. Měření probíhalo v geometrii 500 ml (v Marinelliho nádobě) po dobu 30 minut. Měření probíhalo za kontinuálního vduchování.

Druhá část (dekontaminační) následovala po 96 hodinách kultivace. Po změření byly ryby umístěny do čisté nekontaminované vody a průběžně, po dobu 33 dní, byl sledován úbytek radiocesia z ryb při použití stejné geometrie měření. Experimentální postup je znázorněn na obrázku 3.

Obr. 3 Experimentální postup



VÝSLEDKY A DISKUZE

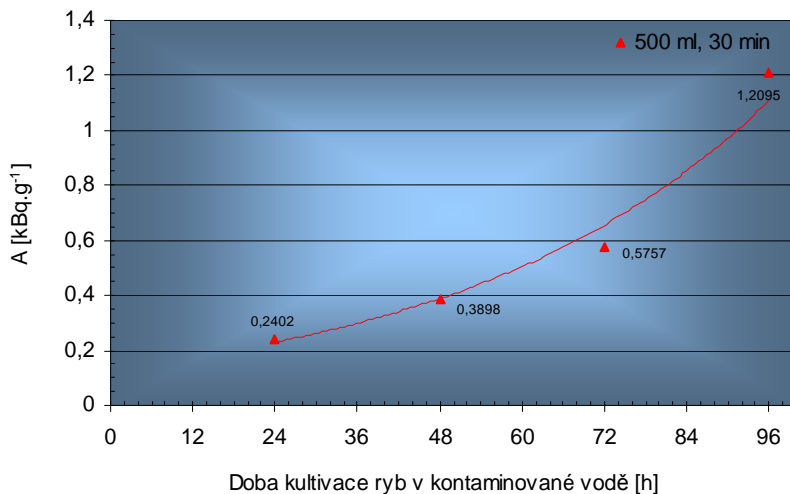
Zjištěné hodnoty hmotnostní aktivity ^{137}Cs v rybách jsou uvedeny v tabulkách 1 (kultivace ryb v kontaminované vodě) a 2 (dekontaminace ryb v čisté vodě). Biologický poločas přeměny T_{BIOL} je uveden v tabulce 3.

Zvolený experimentální postup (Obr. 2 a 3) se ukázal jako velmi dobře proveditelný a opakovatelný.

Tabulka 1 Aktivita ^{137}Cs - příjem rybami

Doba kultivace [h]	Aktivita ^{137}Cs [$\text{kBq}\cdot\text{g}^{-1}$]
24	0.2402
48	0.3898
72	0.5757
96	1.2095

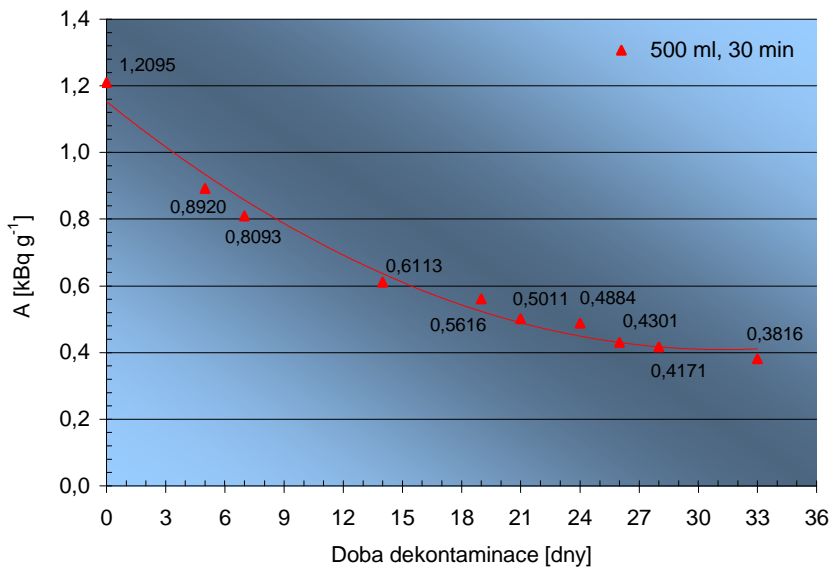
Graf 1 Příjem radiocesia rybami



Tabulka 2 Aktivita ^{137}Cs - úbytek radiocesia v rybách

<i>Doba dekontaminace [h]</i>	<i>Aktivita ^{137}Cs [$\text{kBq}\cdot\text{g}^{-1}$]</i>
0	1,2095
5	0,8920
7	0,8093
14	0,6113
19	0,5616
21	0,5011
24	0,4884
26	0,4301
28	0,4171
33	0,3816

Graf 2 Úbytek radiocesia v rybách



Tabulka 3 *Biologický poločas*

<i>Aktivita ¹³⁷Cs</i> <i>[kBq.g⁻¹]</i>	<i>Aktivita ¹³⁷Cs</i> <i>[kBq.g⁻¹]</i>	<i>T_{BIOL}</i> <i>[dny]</i>
<i>den 0</i>	<i>den 33</i>	
1,2095	0,3816	14

ZÁVĚR

Bylo potvrzeno, že aplikovaná metoda sledování kontaminace radiocesiumem v uspořádání *in vivo* malých akvarijních ryb je možná a spolehlivá. Geometrie 500 ml (Marinelli) poskytuje dobré výsledky pro citlivost a přesnost měření aktivity radiocesia v rybách v daném uspořádání.

Byly zjištěna velmi rychlá retence radiocesia (¹³⁷Cs) rozpuštěného ve vodě a též poměrně rychlé uvolňování daného radionuklidu z těla ryb chovaných v nekontaminovaném prostředí. Během 90 hodin dosáhla hmotnostní aktivita radiocesia v těle ryb aktivity v kultivační vodě a tato tendence příjmu dále pokračovala. V dekontaminační fázi - chov kontaminovaných ryb v nekontaminovaném vodním prostředí - byl zjištěn počáteční biologický poločas 14 dní a více než 65 % počátečního obsahu radiocesia v rybách bylo z ryb uvolněno po 33 dnech.

LITERATURA

Hakanson, L. Radioactive caesium in fish in Swedish lakes after Chernobyl – geographical distributions, trends, models and remedial measures. In *The Chernobyl Fallout in Sweden*, ed. L. Moberg. Swedish Radiation Protection Institute, Stockholm, 1991, p. 239-281.

Koehmainen, S., Hasanen, E., Miettinen, J.K. ¹³⁷Cs in fish, plankton and plants in Finnish lakes during 1964-1965. In *Radioecological Concentration Processes*, ed. B. Aberg & F. P. Hungate. Pergamon Press, 1967, Oxford, p. 913-919.

Komarov, E., Bennett, B. G. Selected Radionuclides. World Health Organization, 1983, Geneva.

Kryshev, A. I. and I. N. Ryabov (2000). "A dynamic model of Cs-137 accumulation by fish different age classes." *Journal of Environmental Radioactivity*, vol. 50, iss. 3, p. 221-233.

Růžičková E. The standardization of radiospektrometric assesment of radiocesium (¹³⁷Cs) in fish *in vivo* in a model aquatic environment. In *MendelNet'09 Agro. Proceedings of International Ph.D. Students Conference*. 1. vyd. Brno: MZLU v Brně, 2009, s. 144. ISBN 978-80-7375-352-8.

Růžičková E., Pöschl M. Reliability and sensitivity of the *in vivo* measurement of radiocaesium activity in aquarium fish. In BALLA, J. -- REINÖHL, V. *Book of abstracts of The XXXIXth Annual Meeting of ESNA*. 1. vyd. Brno: Editorial Center MUAF Brno, 2009, s. 30. ISBN 978-80-7375-319-1.

Srivastava, A., Denschlag, H.O., Kelber, O., Urich, K. Accumulation and discharge behavior of Cs-137 by zebra fish (*Brachydanio rerio*) in different aquatic environments. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 1990, vol. 138, iss. 1, p. 165-170.

Srivastava, A., Reddy, S.J., Kelber, O., Urich, K., Denschlag, H.O. Uptake and release kinetics of Cs-134 by goldfish (*carassius-auratus*) and Cs-137 by zebra fish (*brachydanio-rerio*) in controlled aquatic environment. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 1994, vol. 182, iss. 1, p. 63-69.

Svadlenkova, M., Zdenek, D., Slivik, O. A mathematical model for ¹³⁷Cs uptake and release by filamentous algae. *Internationale Revue gesamten Hydrobiologie*, 1989, vol. 74, p. 461-469.

ASSOCIATION ANALYSIS OF GENE H-FABP IN A GROUP OF PIGS CZECH LARGE WHITE BREED TO MEAT QUALITY

Sedláčková T.¹, Urban T.¹, Gregor T.², Chalupová P.¹, Kaplanová K.¹, Sláma P.¹

¹Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

²Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: SedlacT@seznam.cz, xchalup1@mendelu.cz

ABSTRACT

Heart fatty acid-binding protein (*H-FABP*) belongs to the FABP family of genes. Fatty acid binding proteins (FABPs) play a crucial role in intracellular fatty acid transport by binding and properly targeting long-chain fatty acids to their correct metabolic sites (Chmurzynska, 2006). This gene is one important of candidate genes of intramuscular fat (IMF). Positioning of the gene is on the 6th chromosome of pig. A total of 44 pigs Czech Large White pigs were used. Localization of the first polymorphism is at the X98558:g.1321G>C, exon 1 and second is at Y16180:g.1811 G>C in intron 2. Both polymorphisms were detected by PCR-RFLP. The PCR products were digested with *Hinf*I and *Hae*III. Primers sequence. The frequencies of allele H and A of polymorphism of H-FABP determined by *Hinf*I are 0.38 and 0.62, respectively. These polymorphisms of H-FABP determined by *Hae*III have frequencies of allele D and G, 0.61 and 0.39, respectively. The *Hinf* I polymorphism in H-FABP gene: *DG* genotype had higher with higher amounts of intramuscular fat ($P \leq 0.01$) compared to *GG* genotype. *DD* genotype in comparison to *DG* genotype associated with higher levels of stearic and oleic acid ($P \leq 0.01$). *DD* genotype was associated with higher amounts of stearic acid ($P \leq 0.05$) than *GG*.

Key words: H-FABP gene, PCR-RFLP, association analysis

Acknowledgments: This work was supported by a grant of IGA MENDELU (No. TP 9/2010) Brno, Czech Republic.

ÚVOD

Cílem této práce bylo vypracování asociační analýzy dvou polymorfismů genu *H-FABP* s množstvím intramuskulárního tuku (IMT) a obsahem mastných kyselin ve vepřovém masu. Gen *H-FABP* (Heart fatty acid-binding protein) patří do rodiny FABP a významně ovlivňuje ukládání intramuskulárního tuku. Tento gen vytváří vazebné proteiny mastných (FABPs) a ty hrají klíčovou roli v transportu intracelulárních mastných kyselin a jejich správné zařazení do metabolického cyklu (Chmurzynska, 2006). Tyto proteiny se podílí na přepravě mastné kyseliny z buněčné membrány do místa oxidace mastných kyselin a syntézy triglyceridů a fosfolipidů (Gerbens *et al.* 1999). U prasete je lokalizován na šestém chromozomu a je jedním z kandidátních genů pro intramuskulární tuk. IMT je jeden z hlavních faktorů ovlivňujících senzoricou a chuťovou kvalitu masa. Studium tohoto genu nám umožňuje zjistit, jakým způsobem je možné ovlivnit kvalitu a množství IMT ve svalu. Při správném poměru mastných kyselin a následně obsahu intramuskulárního tuku můžeme zvýšit senzoricou kvalitu a tím přispět k vyšší konkurenceschopnosti na trhu s vepřovým masem.

MATERIÁL A METODIKA

V této studii bylo použito cekem 44 jedinců prasat plemene bílé otcovské. První polymorfismus byl lokalizován na X98558: g.1321G> C, exonu 1 a druhý je na Y16180: g.1811 G>C v intronu 2 (Pang *et al.*, 2006). Oba polymorfismy byly detekovány pomocí PCR-RFLP. Sekvence primerů (Pang *et al.*, 2006) a velikost PCR produktu jsou uvedené v tabulce 1.

Složení reakční směsi: celkový objem 13,5 μ l; 1 μ l templátové DNA, 9,5 μ l H₂O, 1,5 μ l Taq Unis PCR buffer complete (Top-Bio), 0,25 μ l 10 mM dNTP mixu, 0,25 μ l primeru F (10 pmol/ μ l), 0,25 μ l primeru R (10 pmol/ μ l), 0,1 μ l Taq Unis DNA polymerázy (5 U/ μ l) (Top-Bio). Podmínky pro amplifikaci byly: 3 min. denaturace při 94°C, 94°C/1 min., 62°C/1 min., 72°C/2 min. a 72°C/10min. PCR produkty byly štěpeny pomocí *Hinf*I a *Hae*III endonukleazami. Fragменты byly vizualizovány a výsledky analyzovány na 3% agarózovém gelu (Obr. 1 a 2).

Tab. 1: PCR-RFLP, Primery sekvence, PCR produkt velikosti

PCR-RFLP	Primer	Velikost produktu (bp)
<i>Hinf</i> I	5'-GGACCCAAGATGCCTACGCCG-3'	693
	5'-CTGC AGCTTTGACCAAGAGG-3'	
<i>Hae</i> III	5'-ATTGCTTCGGTGTG'GAG-3'	816
	5'-TCAGGAATGGGAGTTATTGG-3'	

Statistická analýza

Analýza byla provedena v programu SAS v 9.1.4 pomocí procedury GLM:

$$Y_{ijk} = \mu + H - FABP_i + H - FABP_j + e_{ijk}$$

Y_{ijk} – fenotypová hodnota analyzovaného znaku

μ – průměr populace

$H-FABP_i$ – pevný efekt genotypu $H-FABP$ 1. polymorfizmus

$H-FABP_j$ – pevný efekt genotypu $H-FABP$ 2. polymorfizmus

e_{ijk} – náhodná chyba pozorování

VÝSLEDKY A DISKUZE

Polymorfismus G>C ($H-FABP$) na pozici 1321 bp byl štěpen pomocí restričního enzymu *Hinf*I na alelu H (339, 172, 98, 59, a 25 bp fragmentů) a alelu A (339, 231, 98 a 25 bp fragmentů). U prvního polymorfizmu (1 321 bp G> C) bylo 27 zvířat homozygotních AA a u 17 byl zjištěn genotyp HH (obr. 1). Relativní frekvence alel H a A polymorfismu $H-FABP$ štěpeného *Hinf*I jsou 0,32 a 0,62 (tab. 3). Polymorfismus G>C ($H-FABP$) na pozici 1 811 bp byl štěpen pomocí *Hae*III endonukleázy. Alela G (405, 278, 117, a 16 bp fragmentů) a alela D (683, 117 a 16 bp). Relativní četnosti alely G a D byly vypočítány jako 0,39 a 0,61 (tab. 3). V polymorfismu *Hae*III G> C bylo

MENDELNET 2010

detekováno 15 prasat jak homozygoti *GG*, 23 heterozygoti *DG* a 6 jedinců bylo homozygotních *DD* (obr. 2).

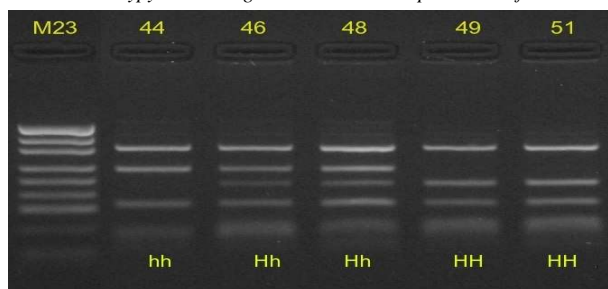
Tab. 2: frekvence genotypů: *H-FABP X98558: G.1 321 G>C a Y16180: G.1 811 G>C*

genotype frequency	<i>H-FABP</i> polymorphism 1 21 <i>G>C</i>			<i>H-FABP</i> polymorphism 1 811 <i>G>C</i>		
	<i>AA</i>	<i>AH</i>	<i>HH</i>	<i>GG</i>	<i>DG</i>	<i>DD</i>
absolute	27	0	17	15	23	6
relative	0.61	0.00	0.34	0.34	0.52	0.13

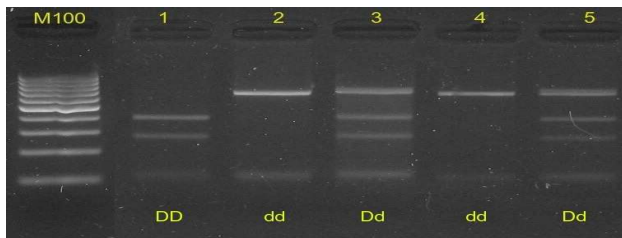
Tab. 3: Frekvence alel: *H-FABP X98558:g.1 321 G>C a Y16180:g.1 811 G>C*

allele frequency	<i>H-FABP</i> polymorphism 1 321 <i>G>C</i>		<i>H-FABP</i> polymorphism 1 811 <i>G>C</i>	
	<i>A</i>	<i>H</i>	<i>G</i>	<i>D</i>
absolute	54	34	53	35
relative	0.62	0.38	0.39	0.61

Obr. 1: Genotypy: *X98558:g.1321G>C* SNP štěpeného *Hinf*I PCR-RFLP



Vzorky :44: *hh*; 46, 48: *Hh*; 49, 51: *HH*;



Vzorky: 1: DD; 2,4: dd; 3,5:Dd;

Asociační analýza

Celkově bylo asociováno 44 jedinců plemene bílé ušlechtilé s intramuskulárním tukem a 31 jedinců téhož plemene s obsahem různých mastných kyselin (palmitic, stearic, oleic, linouc). Třináct jedinců muselo být vyřazeno pro nedostatek dat pro asociaci s kyselinami.

Tab.4: Asociace polymorfizmu X98558:g.1321G>C SNP štěpeného Hinf I (LSM \pm S_E).

	AA(27)	HH(17)
IMT ¹	3,35 \pm 0,19	3,19 \pm 0,25
palmitic	27.226 \pm 0.34	27.24 \pm 0.44
stearic	14.38 \pm 0.32	14.54 \pm 0.41
oleic	52.32 \pm 0.51	51.72 \pm 0.65
linolic	6.03 \pm 0.40	6.47 \pm 0.52

Hodnoty se stejnými exponenty v řádku vykazují následující statisticky významné rozdíly:

**P \leq 0,01, * P \leq 0,05, LSM – průměrný nejmenší čtverec, S_E – střední chyba průměru.

IMT¹ - bylo použito 31 jedinců; genotyp AH byl určen jen jeden, proto byl s asociací

Vliv polymorfizmu X98558:g.1321G>C v genu *H-FABP* nebyl statistický průkazný se žádnou z měřených vlastností (intramuskulární tuk, kyselina palmitová, sterová, olejová a linolová).

Tab.5: Asociace polymorfizmu Y16180:g. 1 811 G>C SNP štěpeného *HaeIII* ($LSM \pm S_E$).

	<i>DD</i> (6)	<i>DG</i> (23)	<i>GG</i> (15)
IMT ¹	3,03 ± 0,41	3,01 ± 0,20**	3,91 ± 0,24**
palmitic	26.56 ± 0.87	27.68 ± 0.29	27.46 ± 0.34
stearic	12.98 ± 0.80**/*	15.27 ± 0.27**	15.12 ± 0.31*
oleic	54.04 ± 1.29**	50.38 ± 0.43**	51.64 ± 0.50
linolic	6.37 ± 1.02	6.64 ± 0.34	5.74 ± 0.40

Hodnoty se stejnými exponenty v řádku vykazují následující statisticky významné rozdíly:

**P ≤ 0,01, * P ≤ 0,05, ^a blížíci se průkaznosti, LSM – průměrný nejmenší čtverec, S_E – střední chyba průměru.

IMT¹- bylo použito 31 jedinců

Výsledky ukazují, že polymorfismus genu *H-FABP* Y16180:g. 1 811 G>C je asociován s množstvím intramuskulárního tuku u souboru prasat plemene bílé otcovské. Tyto zjištěné výsledky jsou v souladu s ostatními asociačními studiemi u prasat, týkajících se genů ovlivňujících ukládání tuku v těle prasete (Gerbens *et al.* 1999; Nechtelberger *et al.* 2001; Urban *et al.* 2002; O'Vilo *et al.* 2002, Switonski *et al.* 2010). U polymorfizmu *Hinf I* v genu *H-FABP* (tab.5), vykazovali jedinci s genotypem *DG* vyšší množství intramuskulárního tuku (P ≤ 0,01) v porovnání s genotypem *GG*. Genotyp *DD* byl oproti genotypu *DG* asociován s vyšším obsahem kyseliny stearové a olejové (P ≤ 0,01). Genotyp *DD* byl asociován s vyšším množstvím kyseliny stearové (P ≤ 0,05), než-li genotyp *GG*.

ZÁVĚR

U souboru 44 jedinců prasat plemene české bílé ušlechtilé byly testovány metodou PCR-RFLP dva polymorfizmy: X98558:g.1321G>C SNP štěpeného *Hinf I* a Y16180:g. 1 811 G>C SNP štěpeného *HaeIII*. U polymorfizmu Y16180:g. 1 811 G>C SNP štěpeného *HaeIII* genu *H-FABP* byly zjištěny vysoce průkazné rozdíly (P ≤ 0,01) u intramuskulárního tuku, množstvím kyseliny stearové a olejové. U dalších námi zkoumaných parametrů nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. Rovněž u polymorfizmu genu X98558:g.1321G>C SNP *Hinf I* nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. Pro více vypovídající analýzu by bylo vhodné soubor zkoumaných jedinců rozšířit a ověřit výsledky na dalších populacích. Výzkum stále pokračuje a výsledky budou rozšířeny.

LITERATURA

Gerbens F, Rettenberg G, Lenstra JA, Veerkamp JH, te Pas MFW. : Characterization, chromosomal localization and genetic variation of the porcine heart fatty acid-binding protein gene. *Mamm Geonome*, 1997; 8:328–332.

Gerbens F., van Erp A.J.M., Harders F.L., Verburg F.J., Meuwissen T.H.E., Veerkamp J.H., te Pas M.F. Effect of genetic variants of the heart fatty acid-binding protein gene on intramuscular fat and performance traits in pigs. 1999, *J. Anim. Sci.*, 77, 846–852.

Chmurzynska A. The multigene family of fatty acid-binding proteins (FABPs): Function, structure, and polymorphism. *J Appl Genet*, 2006; 47:39–48.

Nechtelberger D., Pires V., Solkner J., Stur I, Brem G., Mueller M., Mueller S. intramuscular fat kontent and genetic variants at fatty acid-binding protein loci in Austrian pigs. *J. Anim. Sci.*, 79, 2001, 2798–2804.

O`vilo C., Oliver A., Noguera J.L., Clop A., Barragan C.,Varona L., Rodriguez C., Toro M., Zanchez A., Perez- Enciso M., Silio L. Test for positional candidate genes for body composition on pig chromosome 6. *Genet. Sel. Evol.*, 2002, 34, 465–479.

Switonski M., Stachowiak M., Cieslak J., Bartz M., Grzes M.: Genetics of fat tissue accumulation in pigs: a comparative approach. *Appl Genet* 51(2), 2010, 153–168

Urban T., Mikolasova R., Kuciel J., Ernst M., Ingr I. A study of association of the FABP3 genotypes with fat and meat production of pigs. *J. Appl. Genet.*, 2002, 43, 505–509.

Yang X, Deignan JL, Qi H, Zhu J, Qian S, Zhong J, et al.. Validation of candidate causal genes for obesity that affect shared metabolic pathways and networks. *Nat Genet*, 2009, 41: 415–423.

BIOINDICATIONS OF MOTHS (*LEPIDOPTERA*) FOR MAINTAINING BIODIVERSITY IN THE LANDSCAPE AN AFFINITY TO THEIR HABITAT

Šafář J.

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

E-mail: jardasafar@centrum.cz

ABSTRACT

This work summarizes all data available to the moths Lepidoptera included to the Red List of Invertebrates of the Czech Republic. I analysed mainly an affinity to their habitat (34 habitats). The main result is that most of the extinct species preferred mixed montane forest (18%), but 13% lived on rocky habitats and 13% on forest edges. In contrast to it, most common species (still surviving) live mainly on steppe biotope (17%). Main factor involving Lepidoptera fauna is relative openness of habitat – 68% of endangered species of the Czech Republic live on open non-forest habitats. Rest of species live on forest habitats (28%) and anthropogenic habitats (4%).

Key words: Moths, Lepidoptera, Central Europe, Bioindication, Biodiversity of Landscape

Acknowledgments: This project is financed from IGA Mendelu No. 3/2010 and IGA Mendelu No. 7/2010

ÚVOD

V dnešní době jsou snahy v ochraně přírody směřovány zejména k zastavení ochuzování biodiverzity. Vynikající bioindikační skupinou oproti savcům, ptákům, vyšším rostlinám, střevočlůvkům a pavoukům jsou motýli. Jsou stále užívanější bioindikační skupinou. Zcelující se poznatky o fauně denních motýlů prokázali otřesné počty o ochuzování naší přírody (Konvička et al 2005, 2006).. Situace je taková, že druhy nejenže vymírají ale dokonce i hojně druhy mají řidší populace. Druhy ohrožené a chráněné jsou v tzv. Červeném seznamu České republiky. Tento seznam obsahuje z řádu motýli (Lepidoptera) 332 druhů (Farkač et al 2005). Vznikl na základě emailové konference a jedná se o konsensus téměř všech aktivních lepidopterologů ČR. Ze všech uvedených druhů (332) je 222 druhů převážně s noční aktivitou a ti přísluší k 30 čeledím (Geometridae, Drepanidae, Sphingidae, Lemonidae Saturniidae, Noctuidae, Lasiocampidae, Pyralidae, Tortricidae, Carposinidae, Pterophoridae, Choreutidae, Brachodidae, Cosmopterigidae, Amphibastidae, Coleophoridae, Caprosaridae, Cossidae, Oecophoridae, Lyonetiidae, Bucculatricidae, Tineidae Gelechiidae, Amphibastidae, Yponomeutidae, Gracillaridae, Depresaridae, Ethmidae, Arctiidae, Notodontidae). Všechny druhy v rámci jednotlivých čeledí jsou zařazeny do 5-ti kategorií ohrožení dle IUCN: vymizelé (EX), kriticky ohrožené (CR), ohrožené (EN), zranitelné (VU) a téměř ohrožené (NT). Dodnes nikdo v podmínkách České republiky nezpracoval, na který typ biotopů je vázáno největší množství ohrožených druhů. Taková analýza se přitom již několik let nabízí a první takové zpracování je možné najít v práci Beneše et al. (2002) pro denní motýli. Zde je upozorňováno na ohroženost společenstev motýlů díky změnám v krajině, které proběhly relativně nedávno k homogenizaci, fragmentaci, izolovanosti přírodních biotopů a zrušily mozaikovitost. Samotná ochrana v rezervacích není pravděpodobně příliš efektivní, druhy s částečně otevřenými populacemi obývají velké krajinné celky (například velikosti jižní Moravy), a i zde nám ovšem druhy nadále vymírají. Tyto trendy lze demonstrovat na příkladech dvou dříve široce rozšířených denních druhů: žluťáčka *Colias myrmidone* (Konvička 2005) a okáče *Chazara bryseis* (Kadlec et al 2010). Pro zpomalení poklesu biodiverzity ohrožených a chráněných druhů je proto nutné využít i náhradní biotopy uprostřed zemědělské krajiny, které mohou sloužit jako refugia ohrožených a vzácných druhů a společenstev živočichů. Abychom zlepšily stav biodiverzity, je nutné aby bylo hospodaření v zemědělské krajině tak aby existovala co nejvyšší propojitelnost mezi biotopy a dnes po změně krajiny, začaly izolované populace druhů opět spolu komunikovat. V podmínkách jižní Moravy se naskytá ideální možnost něco na tomto negativním trendu změnit. V rámci evropských dotačních programů probíhá úprava hospodaření na vinicích a sadech tak, aby byla podpořena biodiverzita. Tyto plochy často doslova sousedí s nejcennějšími stepními a lesostepními rezervacemi. V rámci výše zmíněných dotací je možné

upravit hospodaření na mezířádcích vinic a sadů tak, aby vyhovovalo celé řadě organizmů, především však ohroženým bezobratlým. Toto je ale pouze jeden z příkladů možností zlepšení. Pro to, abychom věděli, na které biotopy je nutné se zaměřit a stanovit si časový plán, je nutné analyzovat, na které biotopy je vázáno největší množství našich ohrožených druhů.

MATERIÁL A METODIKA

• ZPŮSOB VYHODNOCENÍ STAVU OHROŽENOSTI

Na základě různých literárních pramenů (Beneš & Konvička 2002, Elsner et al 1999, Emmet 1996, Emmet & Langmaid 2002a, 2002b, Fajčík 1998, 2002, Gielis 1996, Hausmann, 2004, Králíček & Gottwald 1984, 1985, 1987, Razowski 2001, Skala 1912-1913, 1936, Slamka 1997, Tokár et al 2005) byly jednotlivé druhy zařazeny do kategorií biotopů (viz níže). Dohromady bylo cca 15 000 záznamů, které jednotlivé druhy charakterizovali. Druhy byly dle jejich afinity ohodnoceny koeficientem dle jejich vazby k biotopu – silná vazba 100 %, částečná vazba 50 % a žádná 0%. Biotopů do, kterých byly druhy zařezeny bylo 34: ruderální biotop; úhor; vodní litorál a rákosiny; industriální území; zahrady, extravilán obcí, parky, sady, aleje; intenzivní agrocenózy; intenzivní zemědělské louky a pastviny; extenzivní vlhčí květnaté louky a pastviny; eutrofní mokřady; zrašeliněné louky/pastviny; rašeliniště; slaniska; aluvia pahorkatin a hor; alpské hole; skalnatá a vyhřátá stanoviště; váté písky; vřesoviště; stepi, teplé luční biotopy; křoviny; lesní okraje a lemy; světlé lesy nížin; světlé horské lesy; lužní lesy; listnaté lesy nížin; listnaté lesy hor; smíšené lesy nížin; smíšené lesy hor; jehličnaté lesy; borovicové lesy světlé; zapojený bor; bučiny; dubiny; jedlové lesy; zapojené lesní monokultury. Tato matrice byla předána odborníkům, kteří vznesli námítky a dle jejich doporučení byli data upraveny stejně tak jako u biotopových preferencí u druhů u nichž z literárních pramenů nebyla afinita k biotopům jasná (Zdeněk Laštůvka, Vladimír Hula, Jaroslav Marek).

Vyhodnocení zkoumaných nočních motýlů

V Červeném seznamu ohrožených a chráněných živočichů je pro faunu nočních motýlů nejvyšší podíl druhů vázán na stepi a teplé luční biotopy (jedná se hlavně o krátkostěbelné a vysokostěbelné stepi, protože podrobnější specifikace afinity k biotopům, než ty které jsou užity, se v literatuře nekomentují). Takže k stepním biotopům byla afinita okolo 16 % druhů (Graf 1), dále mají silnou vazbu k skalnatým a vyhřátým stanovištím 9 %, lesním okrajům a lemům 8 %, křovinám 7 %, světlé lesy nížin 8 % a vátým pískům 6 %. Je nutno zdůraznit, že jde o celkovou obsazenost biotopů včetně vymizelých druhů. Tento podíl vazby na biotopy se víceméně nemění v jednotlivých kategoriích tzn. ostatních kategorií. Pokud ovšem pomineme kategorii vymizelých druhů.

Vyhodnocení jednotlivých kategorií Červeného seznamu

Co se týče ostatních kategorií (Graf 2) tzn. mimo vymizelých druhů nočních (jedná se o kriticky ohrožené, ohrožené, zranitelné a téměř ohrožené), nejsou tedy rozdíly velice významné mezi přeživšími druhy. U vymizelých druhů je jak bylo řečeno situace úplně jiná (viz níže). S klesajícím ohrožením klesala zároveň i vazba k stepním biotopům, tedy v nejnižší kategorii ohrožení je mnohem menší podíl k tomuto biotopu (11 %) stepních druhů než v kategoriích ohroženějších druhů např. v kategorii druhů kriticky ohrožených (17 %).

Vymizelé druhy

Velice zajímavý výsledek byl u vymizelých druhů, kteří jak bylo řečeno měli úplně jinou afinitu k biotopům než ohrožené druhy. V ČR vyhynulo celkem 13 nočních druhů (viz Graf 3) nočních motýlů z Červeného seznamu. Nejvíce druhů z vymizelých připadá na smíšené lesy hor (18 %), dále skalnatá (vyhřátá) stanoviště a lesní okraje a lemy (po 13 %), dále vodní litorál a rákosiny, zahrady, eutrofní mokřady, slaniska, váte písčité, listanté a smíšené lesy hor (po 8 %).

Kriticky ohrožené druhy

Nejvíce druhů této kategorie připadá samozřejmě na stepní biotopy (17 % druhů), vzápětí jsou zde nejvíce zastoupeny druhy skalnatých a vyhřátých stanovišť (8%), eutrofních mokřadů, křovin, lužních lesů, pro tyto tři biotopy se zastoupení druhů v nich cca okolo 7 %. Dále pak zrašeliněných travních biotopů, slanisk a lesních okrajů (6 %). Dle literatury je ovšem zařazení druhů z lesních okrajů problematické, protože tento biotop může být záměněn se světlými lesy nížin a případně s lesy výmladkového původu (střední a nízké lesy).

Ohrožené druhy

Zde je největší podíl druhů z kategorie ohrožených vázán na stepní stanoviště a to 19 %. Stepních ohrožených druhů je bezmála je dle relativních čísel pětina ze všech ohrožených druhů. Obsazenost biotopů je následující (seřazeny sestupně): váte písčité 9 %, vřesoviště 8 %, skalnatá a vyhřátá stanoviště 7 % a lesní okraje a lemy 6%, dále 5% hranici přesáhli jen druhy extenzivních květnatých luk.

Zranitelné druhy

Druhy této kategorie mají nepatrný rozdíl mezi stepními druhy s 10 % zastoupení a u druhů následujících dvou biotopů tzn. s druhy rašelinišť, lesních okrajů a lemů, kde je zastoupení dokonce až 9 %. Velice se takblíží svým podílem stepním druhům. Druhy skalnatých

a vyhřátých stanovišť a světlých lesů nížin je vazba okolo 7 % . Dále stojí za zmínku skupina druhů alpských holí a křovin, kterých je nad 6 %

Téměř ohrožené

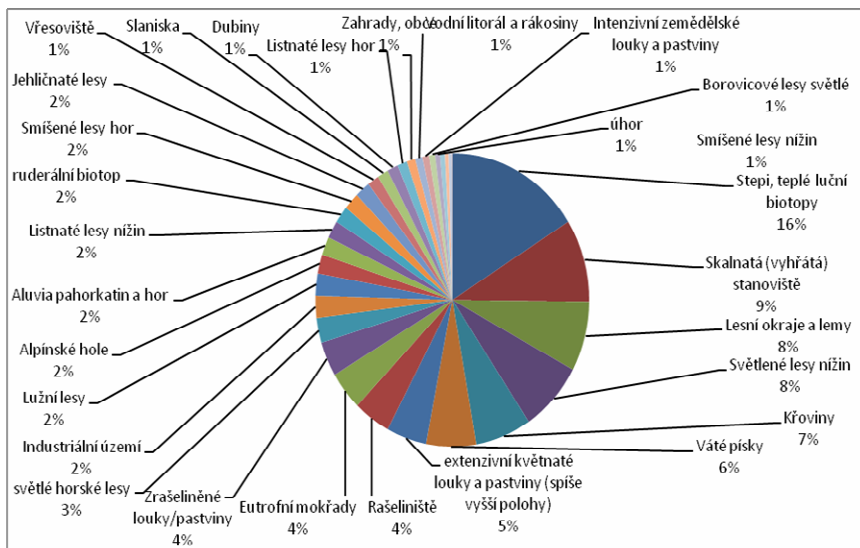
Druhy téměř ohrožené měli vazbu opět nejvyšší u stepních druhů 11 % . Ovšem je zde nepatrný rozdíl mezi stepními druhy a druhy lesních okrajů a lemů, u kterých je zastoupení tohoto biotopu 10 % . Dále vyšší zastoupení je u druhů zrašelinělých luk či pastvin a světlých nížinných lesů 7%, a u druhů křovin, skalnatých (vyhřátých) stanovišť a rašelinišť je preference k biotopům okolo 6 % .

Druhy otevřených a uzavřených biotopů

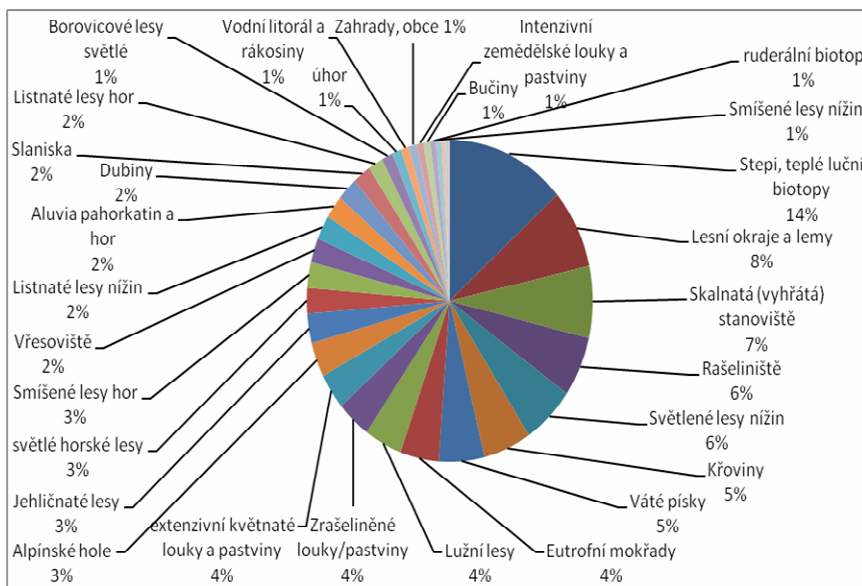
Po výsledcích vazby druhů na jednotlivé biotopy jsem zkusil druhy rozdělit dle vazby na biotopy silně ovlivněné člověkem a hlavně na druhy preferující otevřené či uzavřené biotopy. Tyto biotopy ovšem musíme konkretizovat tak, že druhy otevřených biotopů jsou druhy bezlesí, či velice světlých lesních prostředí. Druhy uzavřených biotopů jsou druhy, které se vyskytují v jiných lesích. Výsledkem bylo zjištění, že 68 % druhů preferuje otevřené biotopy (28 % uzavřené lesní biotopy, 4 % různé antropogenně ovlivněné – industriály, parky a pod.) (viz Graf 4).

Grafy:

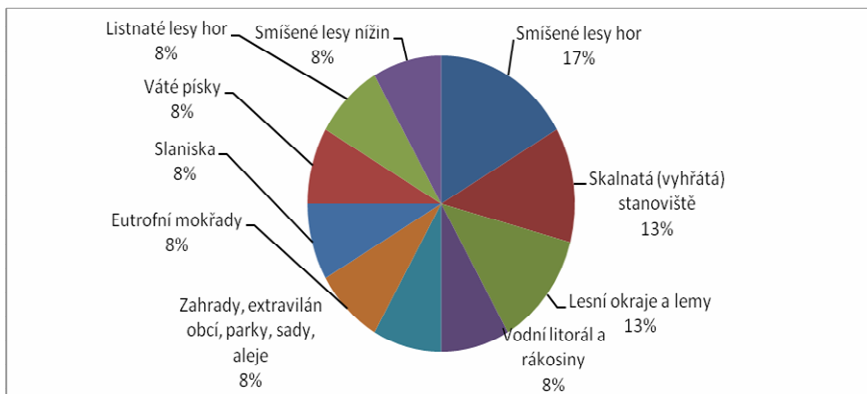
Graf. 1 Biotopová preference nočních motýlů z Červeného seznamu (> 1 %)



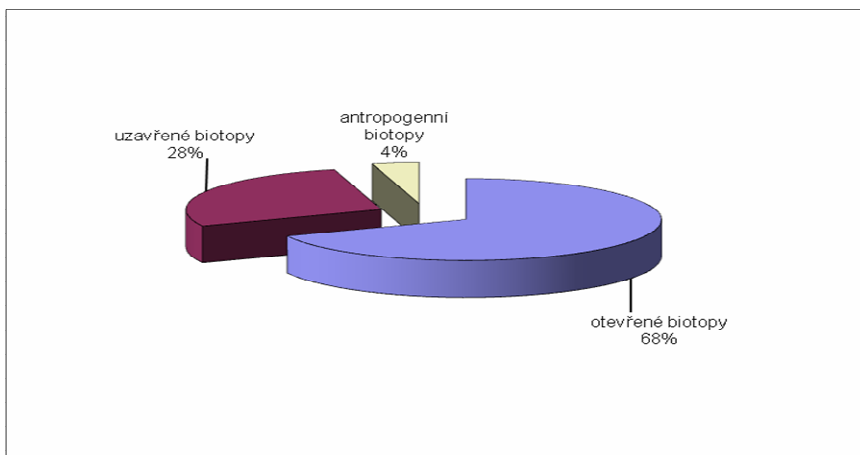
Graf 2: Biotopová preference nočních motýlů z Červeného seznamu mimo vymřelých (> 0 %)



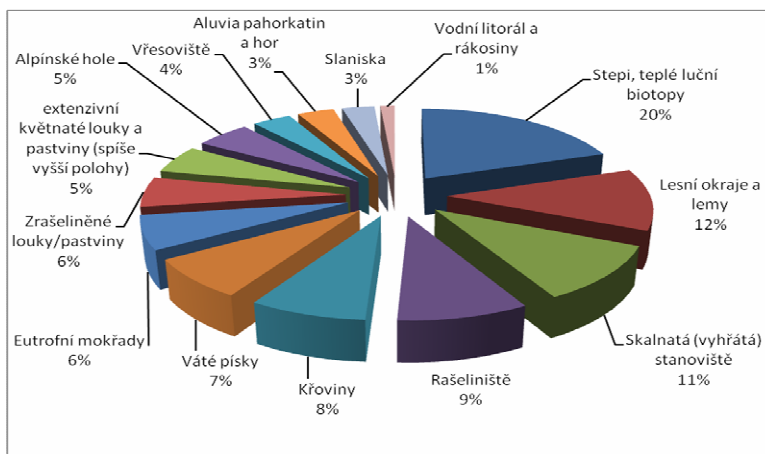
Graf 3: Biotopová preference vymizelých druhů nočních motýlů v ČR (> 1 %)



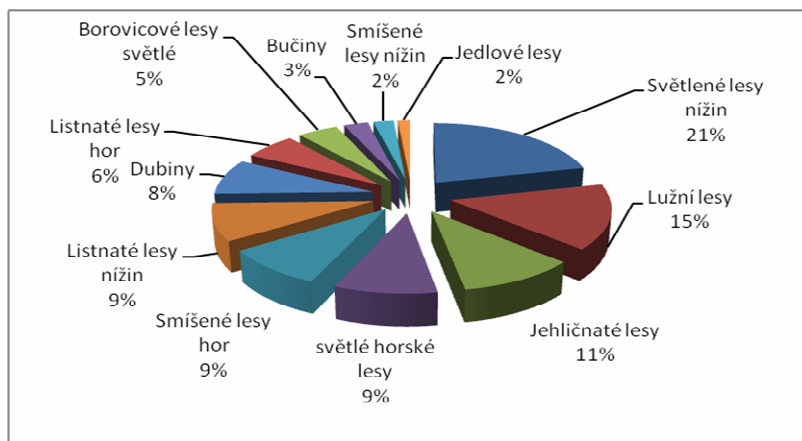
Graf 4: Preference nočních motýlů dle otevřenosti biotopů



Graf 5: Druhy nočních motýlů a jejich preference v otevřených biotopech (> 1 %)



Graf 6: Druhy motýlů a jejich biotopová preference v uzavřených biotopech



ZÁVĚR

Z výsledků vyplývá, že nejvíce vymřelých nočních druhů žilo především v horských smíšených lesích a pak na lesních okrajích a skalách. Dnes je málo pravděpodobné, že vymřelé druhy lesního prostředí smíšených lesů rychle navrátí, protože před 50-ti a více lety prodělal tento biotop změnu skladby dřevin k jehličnatým lesům. Ovšem můžeme situaci změnit na lesních okrajích tím, že by

mezi lesním a nelesním prostředím byl pozvolný přechod a co se týče skal tak ty by neměly být záměrně zalesňovány. Stejně tak jsou velice diskutabilní rekultivace lomů především vápencových lomů, protože z pohledu diverzity nočních motýlů tyto lomy fungují jako refugia v přírodě s raně sukcesním stádiem vegetace v iniciální fázi a prostředím pro organismy, které běžné hospodářské postupy ve volné krajině ničí.

Je jednoznačné, že ohrožené noční druhy preferují z drtivé většiny (68 % druhů) otevřené biotopy. Zde se ovšem naskytá určitá problematika. Druhy světlých lesů mohou ovšem být druhy částečně otevřeného prostředí. Tudíž je podíl druhů v otevřené krajině ještě vyšší. Druhy uzavřených biotopů je cca 28 % a k antropogenně silně ovlivněným biotopům inklinuje jen okolo 4 % druhů z celkového výčtu (jsou to hlavně druhy úhorů, zahrad, intenzivních luk, industriálů a ruderalů).

V otevřených biotopech (Graf 5) jsou nejvýznamnější stepní druhy, kterých je 20 %. Pro tyto druhy můžeme využít meziřadí vinic a sadů tím, že v nich vytvoříme rostlinný porost druhově podobný stepním oblastím. Dále druhy otevřených biotopů preferují skalnatá a výhřevná stanoviště a váté písčiny. Z uzavřených biotopů (Graf 6) je nejvyšší vazba druhů na světlé lesy nížin (skoro jedna čtvrtina). Z antropogenně silně ovlivněných území připadá dokonce bezmála čtvrtina na druhy zahrad, extravilánu obcí, parků nebo alejí.

LITERATURA

- BĚLÍN V., 2003: *Noční motýli České a Slovenské republiky*. Nakladatelství Kabourek, Zlín, 206 pp.
- BENEŠ J. & KONVIČKA M., (eds.), 2002: *Motýli České republiky: Rozšíření a ochrana I, II*. Společnost pro ochranu motýlů, Praha, 857 s.
- ELSNER G., HUEMER P. & TOKÁR Z., 1996: *Die Palpenmotten (Lepidoptera, Gelechiidae) Mitteleuropas*. Bratislava, 208 s.
- EMMET A. M. 1996: *The moths and Butterflies Great Britain and Ireland*. Volume 3 (Yponomeutidae to Elachistidae). Harley Books Cochester, 452 s.
- EMMET A. M. & LANGMAID J. R. (eds.) 2002a: *The moths and Butterflies Great Britain and Ireland*. Volume 4 Part 2 (Gelechiidae): Harley Books Cochester, 278 s.
- EMMET A. M. & LANGMAID J. R. (eds.) 2002b: *The moths and Butterflies Great Britain and Ireland*. Volume 4 Part 1 (Oecophoridae to Scythrididae, excluding Gelechiidae), Harley Books Cochester, 326 s.
- FAJČÍK J., 1998: *Motýle strednej Európy, II zväzok. Určovanie, rozšírenie stanovišťa, bionómia: Noctuidae*. Jaroslav Fajčík, Bratislava, 1998, 232 s.
- FAJČÍK J., 2003: *Motýle strednej a severnej Európy. Určovanie, rozšírenie stanovišťa, bionómia*. 1 sväzok. Drepanidae, Geometridae, Lasiocampidae, Endromidae, Lemoniidae, Saturniidae, Sphingidae, Notodontidae, Lymantriidae, Arctiidae. Jaroslav Fajčík, Bratislava, 2003, 272 s.

- GIELIS C., 1996: *Pterophoridae*. In: HUEMER P., KARSHOLT O., LYNEBORG L. (eds.): *Microlepidoptera of Europe*. 1: 1 – 222 s.
- HAUSSMANN A., 2004: *Sterrhinae*. In: HAUSMANN A. (ed.). *The Geometrid Moths of Europe* 2, 600 s.
- KADLEC T., VRBA P., KEPKA P., SCHMITT & KONVIČKA M., 2010: *Tracking the decline of the once-common butterfly: delayed oviposition, demography and population genetics in the hermit Chazara briseis*. *Animal Conservation* (13): 172-183.
- KONVIČKA M., ČÍŽEK L. & BENEŠ J., 2006: *Ohrožený hmyz nížinných lesů: ochrana a management*. Sagittaria Olomouc, 76s.
- KONVIČKA M., BENEŠ J. & ČÍŽEK L., 2005: *Ohrožený hmyz nelesních stanovišť: Ochrana a Management*. Sagittaria Olomouc, 128 s.
- KRÁLÍČEK M., GOTTWALD A., 1984: *Motýli jihovýchodní Moravy I*. Muzeum J. A. Komenského Uherský Brod, 112 s.
- KRÁLÍČEK M., GOTTWALD A., 1985: *Motýli jihovýchodní Moravy II*. Muzeum J. A. Komenského Uherský Brod, 142 s.
- KRÁLÍČEK M., GOTTWALD A., 1987: *Motýli jihovýchodní Moravy III*. Muzeum J. A. Komenského Uherský Brod, 256 s.
- LAŠTŮVKA Z., 1994: *Motýli rozšířeného území CHKO Pálava*. AF VŠZ Brno, Brno, 119 s.
- LAŠTŮVKA Z. & LIŠKA J., 2005: *Seznam motýlů České republiky*. Databáze online. Dostupné na: <http://www.lepidoptera.wz.cz/>. Poslední aktualizace 16-05-2009
- LAŠTŮVKA Z. & MAREK J., 2002: *Motýli (Lepidoptera) Moravského krasu – diverzita, společenstva a ochrana*. Korax, Blansko, 124 s.
- MACEK J., DVOŘÁK J., TRAXLER L. & ČERVENKA V. 2008: *Motýli a housenky střední Evropy, noční motýli II. – můrovití*. Academia, Praha, 491 s.
- RAZOWSKI J., 2001: *Die Tortriciden (Lepidoptera, Tortricidae) Mitteleuropas*. Bratislava, 303 s.
- SKALA H., 1936: *Zur Lepidopteren fauna Mährens und Slesiens*, Verh. Naturforsch. Ver. Brünn, 199 s.
- SKALA H., 1912-1913: *Die Lepidopteren fauna Mährens*, Verh. Naturforsch. Ver. Brünn, 51: 115-359 s.
- SLAMKA F., 1997: *Die Zünslerartigen (Pyraloidea) Mitteleuropas*. Bratislava, 112 s.
- TOKÁR Z., LVOVSKY A., HUEMER P., 2005: *Die Oecophoridae Mitteleuropas*. Bratislava, 113 s.
- VRABEC V., LAŠTŮVKA Z., BENEŠ J., ŠUMPICH J., KONVIČKA M., FRIC Z., HRNČÍŘ J., MATOUŠ J., MAREK S., KURAS T., HULA V. & HEŘMAN P., 2005: *Lepidoptera (motýli)*, 172-237. In: FARKAČ, J., KRÁL, D., ŠKORPÍK, M. (eds.): *Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Bezobratlí*. Agentura ochrany přírody a krajiny ČR, Praha 760 s.

BIOCHEMICAL PROFILE OF EFFECT OF DEOXYNIVALENOL SUPPLEMENTED BY MOULDY CEREALS ON RATS

Šobrová P.¹, Vašátková A.², Křížková S.¹, Zeman L.², Adam V.¹, Kizek R.¹

¹Department of Chemistry and Biochemistry, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

²Department of Animal Nutrition and Forage Production, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: papaya1@seznam.cz, kizek@sci.muni.cz

ABSTRACT

The aims of this thesis consisted of investigating the impact mouldy grain contaminated with deoxynivalenol (DON) on the health status of rats and their ability to resist oxidative stress. Rats were 28 days feeding of diet supplemented with DON and others (organic and inorganic zinc, the addition of vitamins and mycosorb). Among the factors determining the levels of defences include peptides and proteins (glutathione, metallothionein (MT)). The highest concentration of MT was found in the tissues providing detoxification of xenobiotics, such as kidney (6.69 +/- 0.05 µg/ml) and liver (6.06 +/- 0.05 µg/ml). Half concentration was detected in heart, brain, testes and muscle (app. 3.0 µg/ml). In conclusion, the MT may play an important role in the detoxification of mycotoxins. Its role is not fully understood, but this protein is most likely associated with the redistribution of ions important for transcription factors and its interaction with reactive oxygen species that can form mycotoxins.

Key words: metallothionein, zinc prostate cancer, magnetic particles, PC-3, PNT1A, tumor marker

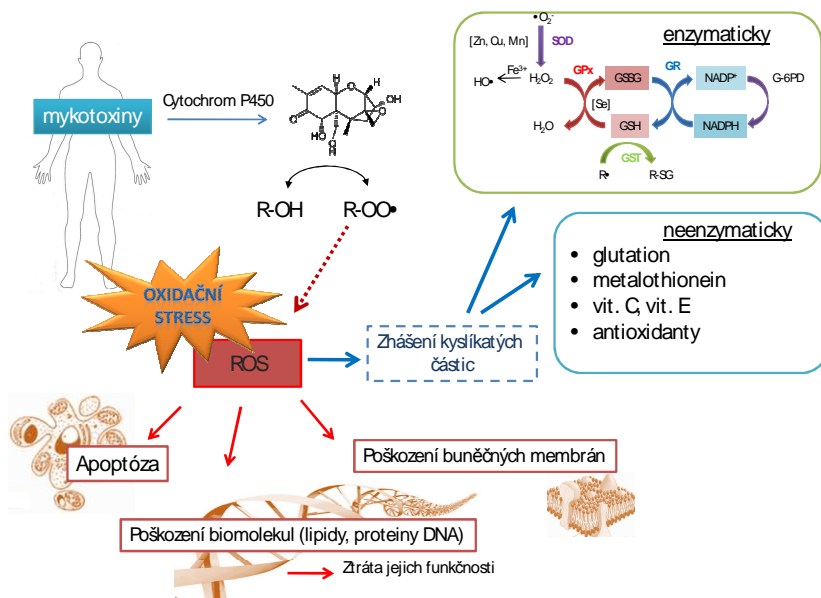
Acknowledgments: Financial support from the following grants GACR 301/09/P436, IGA MZ 10200-3 is highly acknowledged.

ÚVOD

Mykotoxiny jsou sekundární metabolity plísní vyskytující se na zemědělských plodinách a následně i v konečných produktech určených k výživě lidí a zvířat (Jajic a kol., 2008). Podle údajů Organizace pro výživu a zemědělství (FAO) je ročně kontaminováno mykotoxiny až 25 % světových zásob (Atrosi a kol., 2002). Největší skupinou rostlinných patogenů jsou fusáriové mykotoxiny, a to zejména *Fusarium graminearum* a *F. culmorum* (Razzazi-Fazeli a kol., 2003). Oba tyto druhy jsou významnými producenty toxinu zvaného deoxynivalenol (DON) neboli vomitoxin, který vzhledem ke své vysoké toxicitě patří u nás k zdravotně nejzávažnějším mykotoxinům. DON si své jméno získal díky jeho emetickým účinkům, které byly pozorovány u krav po požití zaplísněného obilí (Kushiro, 2008; YazaraOmurtag, 2008). Další neméně významný účinek DONu vyskytující se při dlouhodobém požívání je jeho imunotoxicita týkající se především změny rezistence hostitele na humorální a buněčné přenosové odezvy, zvýšená hladina IgA, IgA spojený s nefropatií, exprese cytokininu a apoptóza lymfatických tkání (PestkaBondy, 1990; Pestka a kol., 2004). Dále se u DONu projevují reprodukční a teratogenní účinky (Debouck a kol., 2001), cytotoxicita a genotoxicita (Li a kol., 2000; Sun a kol., 2002). Karcinogenní účinky nebyly prozatím prokázány a podle IARC (The International Agency for Research on Cancer) patří do skupiny karcinogenity III, tedy nekarcinogenní pro člověka (Iverson a kol., 1995).

Při vstupu mykotoxinů do organismu se aktivuje v těle řada mechanismů za účelem snížení jejich toxicity a následného vyloučení. Jedním ze základních mechanismů je reakce cytochromu P450, který zvyšováním polaritě daného xenobiotika umožňuje jeho snadnější vylučování. Tento mechanismus však může mít i výsledek přesně opačný. Deoxynivalenol ve své struktuře obsahuje velké množství volných –OH skupin, které při jeho metabolizaci pomocí cytochromu P450 mohou být hydroxylovány za vzniku hydroperoxidů, což má za následek řetězovou reakci a tím tvorbu dalších kyslíkových radikálů (Rizzo a kol., 1994). Po expozici mnoha druhů xenobiotik vzniká oxidativní stres, který je dán následkem nerovnováhy mezi reaktivními kyslíkatými částicemi (ROS) a antioxidanty, neboli látkami pomáhajícími ROS odstranit. Při oxidativním stresu dochází k oxidativnímu poškození biomolekul, jako jsou lipidy, DNA a proteiny, což vede ke změně jejich struktury a zejména biologické funkce. Tyto změny jsou dávány do souvislosti s patogenezí celé řady procesů (Valko a kol., 2006). Pro zhasení kyslíkových radikálů slouží antioxidační reakce, které mohou být enzymatického či neenzymatického charakteru. Mezi enzymy zabezpečující antioxidační reakce patří zejména glutathionperoxidáza, kataláza, superoxidismutáza aj. K neenzymatickým antioxidantům se řadí vitamín E, kyselina askorbová (vitamín C), glutathion (GSH) či metalothionein (MT) (Sobrova a kol., 2010; Vasatkova a kol., 2009).

Interakce mykotoxinů s biomolekulami byly intenzivně zkoumány a základní metabolické cesty jsou zobrazeny na obrázku 1.



Obr. 1: Základní schéma detoxifikačního metabolismu mykotoxinů v organismu. Po vstupu mykotoxiny do organismu dochází k jeho odbourávání pomocí skupiny enzymů cytochromu P450. Vlivem velkého množství volných –OH skupin u DONu dochází paradoxně ke zvýšení toxicity, a to tvorbou velkého množství hydroperoxidů, které náleží mezi ROS. Pokud jsou ROS v nadbytku, mohou způsobovat oxidační stres buňky, který má za následek poškození biomolekul, zejména lipidů, proteinů a DNA, poškození buněčných membrán, které mohou vést až k buněčné smrti. Obranným mechanismem buňky proti oxidačnímu stresu slouží řada mechanismů, které mohou být enzymatické či neenzymatické povahy. Mezi nejvýznamnější neenzymatické zhaščeče patří glutation, metalothionein a vitamíny skupiny C a E. Neenzymatické mechanismy zahrnují řadu enzymatických reakcí. ROS ve formě superoxidu je přeměňován na peroxid vodíku superoxididismutázou (SOD). Peroxid je rozkládán glutationperoxidázou (GPX) za spotřeby redukovaného glutationu (GSH). Obnovu z jeho oxidované formy (GSSG) na redukovanou zajišťují enzymy glutationreduktáza (GR) a glukosa-6-fosfátdehydrogenáza. Glutation-S-transferáza může přímo přenášet GSH na radikál a tak ho inaktivovat.

V naší práci jsme se věnovali sledování vlivu plísněmi kontaminované potravy na hladinu proteinu metalothioneinu v krvi a tkáních potkanů *Wistar albino*. V závislosti na hladině MT se pak porovnávala schopnost bránit se organismu oproti oxidačnímu stresu a to nejen z pohledu celého organismu ale i z hlediska jednotlivých orgánů. Navíc byl sledován efekt přídatku vitamínů a různých forem zinku k takto kontaminovanému krmivu.

MATERIÁL A METODIKA

Chemikálie

$\text{Co}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$, MT a další použité chemikálie byly zakoupeny od Sigma Aldrich (St. Louis, USA). K přípravě pufrů a standardních roztoků MT byla použita voda ACS čistoty od Sigma Aldrich. Při přípravě pufrů byly pH hodnoty měřeny pomocí přístroje WTW inoLab Level 3 (Weilheim, Německo), řízeného počítačem se softwarem (MultiLab Pilot, Weilheim, Německo).

Bilogický materiál

Pokus byl proveden v experimentálním zařízení Ústavu výživy zvířat a pícninářství AF MENDELU v Brně (v souladu se Zákonem na ochranu zvířat proti týrání č. 246/1992 Sb). V pokusu bylo zařazeno celkem 80 samců laboratorního potkana kmene *Wistar albino* ve věku 28 dní, kteří byli po osmi rozřazeni do 10 experimentálních skupin. První pěti skupin byl podáván nekontaminovaný ječmen a druhé pěti skupin byl podáván ječmen kontaminovaný DONem ($80 \pm 5 \mu\text{g}$ na kilogram zaplísněného ječmene). Obě tyto skupiny byly dále rozděleny do pěti paralelních podskupin s rozdílným složením krmných směsí s vyšším obsahem zinku (anorganická a chelátovaná forma) a vitamínu C. První, kontrolní skupina, obsahovala pouze vitamínový a minerální premix (3 g na 100 g pokusné krmné směsi) vypočítaný dle výživových požadavků u potkanů (NRC). Další čtyři skupiny byly obohaceny, kromě minerálního premixu, ještě anorganickou (12 mg/kg krmné směsi) a organickou formou zinku (12 mg/kg krmné směsi) a mycosorbem.

Příprava vzorku

Pro analýzu byly použity vzorky plné krve a tkáně (játra, ledviny, slezina, srdce, stehenní sval, mozek, varle, oko) potkanů. Svalová tkáň byla nejprve homogenizována pomocí poloautomatického homogenizátoru (Schutt homogen plus, Německo) a následně převedena do roztoku pomocí fosfátového pufru o $\text{pH} = 6,8$. Vzorky pro stanovení MT byly nejprve denaturovány 15 min. při 99°C . Zde se využívá termostabilita MT, kdy dojde k zdenaturování proteinů a MT zůstává nezdenaturovaný v supernatantu (Petrlova a kol., 2006).

Elektroanalytické stanovení metalothioneinu

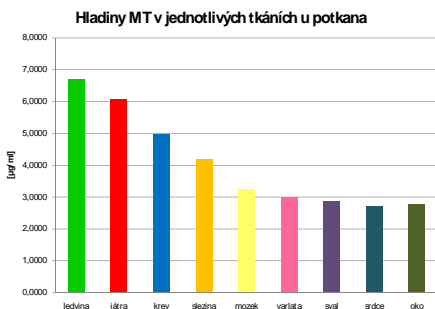
Vzorky byly analyzovány na přístroji AUTOLAB Analyser (EcoChemie, Nizozemí) ve spojení s VA-Stand 663 (Metrohm, Švýcarsko) v klasickém tříelektrodovém uspořádání. Pracovní

elektrodou byla visící rtuťová kapková elektroda (HMDE) s plochou kapky 0,4 mm²; referenční elektrodou byla Ag/AgCl/3M KCl a pomocnou grafitová elektroda. Základní elektrolyt (1 mmol.dm⁻³ Co(NH₃)₆Cl₃ a 1 mol.dm⁻³ amonný pufr; NH₃(aq) + NH₄Cl (Sigma Aldrich, ACS), pH = 9,6) byl po každých 3 analýzách vyměněn. AdTS DPV parametry byly následující: čas akumulace 120 s, počáteční potenciál -0,6 V, konečný potenciál -1,6 V, modulační čas 0,057 s, časový interval 0,2 s, potenciálový krok 1,05 mV/s, modulační amplituda 250 mV, Eads = 0 V, teplota 20 °C.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Výsledky získané elektrochemickou analýzou jsme porovnávali z hlediska obsahu MT. Při porovnání hladiny MT v krevním séru v závislosti na krmné skupině je rozdíl mezi skupinou vystavenou mykotoxinu a kontrolou statisticky nevýznamný. Příjem mykotoxinu způsobil u plazmy zvýšení hladiny MT o 30 %. Z původních 4,98 µg/ml na 6,16 µg/ml. Mimo to, že se hladiny MT u jednotlivých orgánů lišily, bylo vždy zaznamenáno mírné zvýšení hladin MT u skupin, který byly krmeny ječmenem kontaminovaným oproti nekontaminovanému. Nejvyšší hladinu v každé skupině vždy vykazovali jedinci, jejichž strava byla obohacena chelátovanou formou zinku. Anorganická forma zinku také zvyšovala expresi MT, ale už nedosahovala hodnot zinku organického. Vitamíny suplementovaná strava neodrážela výrazný efekt vlivu po podání. V případě podávání mykosorbu byly hodnoty blízké kontrole dané skupiny.

Při porovnání průměrných hladin MT v jednotlivých orgánech je zřejmé, že se tyto hladiny lišily (Obr. 2). Nejvyšší množství bylo obsaženo v játrech (6,7 µg/ml) a ledvinách (6,1 µg/ml) jakožto orgánech zabezpečující detoxifikaci xenobiotik. Jejich množství bylo až dvojnásobné oproti ostatním orgánům. Zvýšenou hladinu taktéž vykazovala plazma (4,9 µg/ml) a slezina (4,2 µg/ml). Podobná hladina je nejspíše dána funkcí sleziny jako rezervoáru krve. Slezina se téže podílí na imunitní obraně organismu, a v ní detekovaná zvýšená hladina MT může být odezvou na imunosupresivní vlastnosti DONu. Hladiny MT obsaženy ve zbývajících orgánech se už příliš nelišily a pohybovaly se v rozmezí 3,0±0,1 µg/ml. Koncentrace MT v mozku se pohybovala okolo 3,1 µg/ml. Tato hladina odpovídá pouze izoformě MT-3, která se jediná vyskytuje v mozku. Hodnota MT srdečního svalu (bez krve) je blízká hodnotě MT ve svalu z důvodů jejich podobné fyziologické funkce činnosti svalové tkáně. Zajímavá je korelace výskytu DONu v tělních orgánech v porovnání s množstvím MT. Jak již bylo popsáno v mnoha pracích, dochází po expozici DONu k jeho distribuci do tělních orgánů. Bylo popsáno, že po 30 minutové expozici DONu (25mg/kg) se DON rychle rozšířil do orgánů: ledviny (5,68 µg/g) > srdce (4,53 µg/g) > krev (4,43 µg/g) > játra (3,90 µg/g) > brzlík (3,64 µg/g) > slezina (2,90 µg/g) > mozek (0,73 µg/g) [88]. Hodnoty, kde docházelo k zvýšené distribuci DON, korelovaly i se zvýšenou hladinou MT.



Obr. 2 Hladiny MT v jednotlivých orgánech a krvi potkana (krev odpovídá hodnotě 0,73µM).

ZÁVĚR

Závěrem lze říci, že MT může hrát důležitou roli při detoxifikaci mykotoxinů. Jeho přesná role zatím není zcela objasněna, ale tento protein je s největší pravděpodobností spojen s redistribucí důležitých iontů k transkripčním faktorům a jeho interakce s reaktivními kyslíkatými částicemi, které mykotoxiny mohou tvořit.

Poděkování: práce na tomto příspěvku byla podpořena projekty MSMT 6215712402 a GA AV IAA401990701

LITERATURA

- Atroshi F., Rizzo A., Westermarck T., Ali-Vehmas T. (2002): Antioxidant nutrients and mycotoxins. *Toxicology* 180(2):151-167.
- Debouck C., Haubruge E., Bollaerts P., van Bignoot D., Brostaux Y., et al. (2001): Skeletal deformities induced by the intraperitoneal administration of deoxynivalenol (vomitoxin) in mice. *International Orthopaedics* 25(3):194-198.
- Iverson F., Armstrong C., Nera E., Truelove J., Fernie S., et al. (1995): Chronic feeding study of deoxynivalenol in B6C3F1 male and female mice. *Teratogenesis Carcinogenesis and Mutagenesis* 15(6):283-306.
- Jajic I., Juric V., Glamočić D., Abramovic B. (2008): Occurrence of Deoxynivalenol in Maize and Wheat in Serbia. *International Journal of Molecular Sciences* 9(11):2114-2126.
- Kushiro M. (2008): Effects of Milling and Cooking Processes on the Deoxynivalenol Content in Wheat. *International Journal of Molecular Sciences* 9(11):2127-2145.

- Li S.G., Ouyang Y.L., Yang G.H., Pestka J.J. (2000): Modulation of transcription factor AP-1 activity in murine EL-4 thymoma cells by vomitoxin (deoxynivalenol). *Toxicology and Applied Pharmacology* 163(1):17-25.
- Pestka J.J., Bondy G.S. (1990): Alteration of immune function following dietary mycotoxin exposure. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 68(7):1009-1016.
- Pestka J.J., Zhou H.R., Moon Y., Chung Y.J. (2004): Cellular and molecular mechanisms for immune modulation by deoxynivalenol and other trichothecenes: unraveling a paradox. *Toxicology Letters* 153(1):61-73.
- Petrova J., Potesil D., Mikelova R., Blastik O., Adam V., et al. (2006): Attomole voltammetric determination of metallothionein. *Electrochimica Acta* 51(24):5112-5119.
- Razzazi-Fazeli E., Bohm J., Adler A., Zentek J. (2003): Fusarium mycotoxins and their significance in animal husbandry. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift* 90(8):202-210.
- Rizzo A.F., Atroshi F., Ahotupa M., Sankari S., Elovaara E. (1994): Protective effect of antioxidants against free radical-mediated lipid-peroxidation induced by DON or T-2 toxin. *Journal of Veterinary Medicine Series a-Zentralblatt Fur Veterinarmedizin Reihe a-Physiology Pathology Clinical Medicine* 41(2):81-90.
- Sobrova P., Adam V., Vasatkova A., Beklova M., Zeman L., et al. (2010): Deoxynivalenol and its toxicity. *Interdisc. Toxicol.* 3(3):101-106.
- Sun X.M., Zhang X.H., Wang H.Y., Cao W.J., Yan X., et al. (2002): Effects of sterigmatocystin, deoxynivalenol and aflatoxin G(1) on apoptosis of human peripheral blood lymphocytes in vitro'. *Biomedical and Environmental Sciences* 15(2):145-152.
- Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M. (2006): Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* 160(1):1-40.
- Vasatkova A., Krizova S., Adam V., Zeman L., Kizek R. (2009): Changes in Metallothionein Level in Rat Hepatic Tissue after Administration of Natural Mouldy Wheat. *International Journal of Molecular Sciences* 10(3):1138-1160.
- Yazar S., Omurtag G. (2008): Fumonisin, Trichothecenes and Zearalenone in Cereals. *International Journal of Molecular Sciences* 9(11):2062-2090.

BOVINE SERUM ALBUMIN AS A POTENTIAL PROTEIN SUPPLEMENT FOR *IN VITRO* CULTIVATION OF SPERMATOZOATvrdá E.¹, Kňáždická Z.¹, Massányi P.¹, Stawarz R.², Formicki G.², Lukáč N.¹¹Department of Animal Physiology, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovakia²Instytut Biologii Uniwersytet Pedagogiczny 31-054 Kraków ul. Podbrzezie 3, PolandE-mail: evina.tvrda@gmail.com

ABSTRACT

Bovine serum albumin (BSA) appears to be a good protein substrate for spermatozoa cultivation because of its stability, good amino acid profile and protective functions. Therefore, the aim of our study was to analyse the influence of different BSA concentrations used in culture medias on the viability and motility of bull spermatozoa during a 24-hour *in vitro* cultivation. We compared native samples (N) with samples to which a commercial egg yolk medium and medias with different BSA concentrations were added. The analysis was carried out during three time periods (time 0, time 1 hour and time 24 hours) using Sperm Vision™ CASA system. Our experimental study shows an obvious time-dependent decrease of the spermatozoa motility in all experimental groups cultured for 24 hours. The highest inhibition of spermatozoa motility was detected in the native group (28.86±9.087%), followed by groups B (42.89±13.17%) and A (52.28±16.12%) containing a.o. 10% BSA. The highest motility value was found in group D (20% BSA and 5% glucose; 66.46±9.986%) and group R (egg yolk medium; 62.81±8.044%). Based on our experiments we may assume that BSA is a good protein alternative for a long-term *in vitro* spermatozoa cultivation.

Key words: bovine serum albumin, culture media, bovine spermatozoa, motility**Acknowledgments:** This work was supported by the Scientific Agency of the Slovak Republic VEGA no. 1/0696/08 and by the Cultural and Educational Grant Agency of the Slovak Republic KEGA no. 101-001SPU-4/2010.

INTRODUCTION

Artificial insemination has become one of the most important pillars in animal biotechnology. Especially in the cattle artificial insemination (AI) industry, bull semen quality is highly important to ensure a good biological material for breeding as well as a certain biodiversity protection (Ibrahim et al., 2000; Lukáč et al., 2007). Before preservation and distribution for use in AI, several laboratory tests are routinely conducted in an attempt to predict the fertility of the processed semen. Such tests include but are not limited to sperm motility (Ibrahim et al., 2000). Working with semen samples in laboratory environment requires a provision of optimal conditions for their *in vitro* cultivation.

Sperm *in vitro* cultivation is a relatively complicated process, since the sperm cells are extremely sensible to *ex vivo* conditions. Semen cultivation media usually contain glucose or fructose as an energetic substrate, egg yolk as a protein supply and glycerol (McPhie et al., 2000; Matsuoka et al., 2006). However, preparation of a uniform semen cultivation media may vary because of the quality of the egg yolk. Therefore, investigations have been conducted to find an alternative protein substrate for the sperm cultivation (Muller-Schlosser et al., 1995).

Bovine serum albumin (BSA) has been used recently as a protein alternative to egg yolk. Most previous studies have reported that the role of albumin appears to be protective as a result of its "general capacity and ability to trap toxic substances in the culture media" (Yamane et al., 1976) and lipid binding properties (Fox and Flynn, 2003). Investigations using semen from various mammalian species have indicated that bovine serum albumin stimulates sperm motility by an unknown mechanism (Harrison et al., 1982; Klem et al., 1986).

However, there is a lack of information about the influence of BSA as a culture medium component on the general spermatozoa *in vitro* viability. Therefore, this study was designed to test the effects of two levels of BSA concentration on the bovine spermatozoa motility during a 24 hour *in vitro* cultivation.

MATERIAL AND METHODS

Bull semen samples were obtained from 15 adult breeding bulls (Slovak Biological Services, Nita, Slovak Republic). The samples had to accomplish the basic criteria given for the corresponding breed.

After collecting the samples were stored in the laboratory at room temperature (22-25 °C) and basic measurements were performed – volume (ml), pH and concentration ($\times 10^9 \text{ ml}^{-1}$) were determined. Each sample was diluted in physiological saline solution (sodium chloride 0.9% w/v, Bieffe

Medital, Italia), using a dilution ratio of 1:39, 1:50 and 1:60 respectively, depending on the original spermatozoa concentration. We used heterospermy for the experimental cultivation.

Six cultivation medias were prepared with a different composition (Table 1), five of them containing BSA (Fluka, Sigma-Aldrich, USA). Heterospermy was added to the medias and cultivated in an incubator (37°C) for 24 hours.

Motility analysis was carried out using a CASA system – SpermVision™ (MiniTüb, Tiefenbach, Germany) with Olympus BX 51 phase microscope (Olympus, Japan) at cultivation time 0 hour, 1 hour and 24 hours. Each sample was placed into Makler Counting Chamber (deph 10 µm, Sefi-Medical Instruments, Izrael) and percentage of motile spermatozoa (motility > 5µm/s) was evaluated.

Obtained data were statistically analyzed with the help of PC program GraphPad Prism 3.02 (GraphPad Software Incorporated, San Diego California USA). Descriptive statistical characteristics were evaluated (mean, minimum, maximum, standard deviation and coefficient of variation).

Tab. 1 Culture media used for the experiment

GROUP	COMPOSITION
N - Native group	Native sample with physiological saline solution,
R - Commercial medium	Triladyl, egg yolk and redistilled water,
A	Triladyl, 10% BSA, 5% glucose (D-glukosa monohydrat p.a, Penta, Chrudim) and distilled water,
B	Triladyl, 10% BSA, 5% glucose (D-glukosa monohydrat p.a, Penta, Chrudim), 1% trehalose (D(+)-trehalose, Fluka, Sigma-Aldrich, USA) and distilled water,
C	Triladyl, 20% BSA and distilled water,
D	Triladyl, 20% BSA, 5% glucose (D-glukosa monohydrat p.a, Penta, Chrudim) and distilled water,
E	Triladyl, 20% BSA, 5% glucose (D-glukosa monohydrat p.a, Penta, Chrudim), 1% trehalose (D(+)-trehalose, Fluka, Sigma-Aldrich, USA) and distilled water.

RESULTS AND DISCUSSION

In vitro effects of different BSA concentrations on the bovine spermatozoa motility were analysed in three time periods (time 0 hours, 1 hour, 24 hours). We especially focused on comparing the motility results of every used medium containig different BSA concentrations with the native sample and the sample containing egg yolk medium (Table 2).

Initial (time 0) spermatozoa motility in the native N group was $87.31 \pm 5.162\%$, however, the lowest motility was detected in group R containing the egg yolk commercial medium, $83.86 \pm 6.567\%$. The motility was significantly ($P < 0.001$) high in group D containing 20% BSA, and 5% glucose, compared to group R. Apart from group D, a relatively high motility was detected in group C (containing 20% BSA), $96.15 \pm 1.491\%$. This observation could be explained by an originally high concentration of energetic and protein substrate in the medium.

MENDELNET 2010

After 1 hour of cultivation, we observed a slight decrease of the spermatozoa motility in the native sample, $85.66 \pm 2.350\%$. Similar tendency was detected in groups B (containing 10% BSA, 5% glucose and 1% trehalose), C, and D. However, the highest motility rate was found again in group D; $91.29 \pm 3.767\%$. On the other hand an increase of spermatozoa vitality was detected in groups A (with 10% BSA and 5% glucose), E (with 20% BSA, 5% glucose and 1% trehalose) and R containing the egg yolk medium. Therefore we may assume that 10% BSA and egg yolk may stimulate the spermatozoa metabolism for a short period and therefore may be used for a short time cultivation.

Evaluation of the percentage of motile spermatozoa showed decreased values in all experimental groups cultured for 24 hours. The highest inhibition of spermatozoa motility after 24 hours was detected in group N ($28.86 \pm 9.087\%$), followed by group B ($42.89 \pm 13.17\%$). The highest motility value was found in group D ($66.46 \pm 9.986\%$) and group R ($62.81 \pm 8.044\%$). However, no statistical significance was found.

Tab. 2 Spermatozoa motility (%) in groups and time periods

Group	N/MOT	R/MOT	A/MOT	B/MOT	C/MOT	D/MOT	E/MOT
0 h							
x	87.31	83.86	89.99	92.62	96.15	97.39 ^A	87.46
minimum	82.22	70.83	85.85	85.84	93.85	93.54	82.35
maximum	97.22	92.85	94.44	95.45	98.12	100.0	92.59
S.D.	5.162	6.567	2.960	3.373	1.491	2.030	3.666
CV (%)	5.91	7.83	3.29	3.64	1.55	2.08	4.19
1 h							
x	85.66	87.23	91.07	83.25	84.43	91.29	89.17
minimum	82.35	79.34	81.57	75.00	62.50	83.33	82.22
maximum	89.01	97.46	94.73	92.10	100.0	95.23	95.00
S.D.	2.350	5.278	4.123	5.810	13.15	3.767	4.390
CV (%)	2.74	6.05	4.53	6.98	15.57	4.13	4.92
24 h							
x	28.86	62.81	52.28	42.89	55.41	66.46	57.75
minimum	21.15	51.85	22.22	20.00	31.25	53.12	36.84
maximum	44.00	78.43	78.57	60.00	72.00	78.94	82.14
S.D.	9.087	8.044	16.12	13.17	13.96	9.986	12.87
CV (%)	31.49	12.81	30.84	30.72	25.19	15.03	22.30

x – mean, S.D. – standard deviation, CV (%) – coefficient of variation

^A P<0.001, ^B P<0.01, ^C P<0.05

The use of a protein source has been extensively employed as a supplement of culture media for handling and culture of spermatozoa, gametes and embryos. Protein molecules provide nutrients and protection to the cell, behave as colloids in solution and contribute to the osmotic pressure of fluids (Correa-Pérez et al., 2003; Gebauer et al., 1970).

The discovery that egg yolk has a beneficial effect on fertility led to its widespread use in bull semen extenders (Pace and Graham, 1974). However, it is difficult to produce semen diluents of uniform quality, because of individual quality differences inherent in egg yolk. Egg yolk is also relatively unstable for extended periods of time because of high content of fatty acids sensitive to degradation. Therefore, it seems that removal of chicken egg yolk from semen diluents produces several advantages, such as improvement of consistency in the components of semen diluents and elimination of various pathogens (Matsuoka et al., 2006; Muller-Schlosser et al., 1995).

BSA could be a good protein alternative because of its stability, good amino acid profile and protective functions. There are several authors who had been studying the possible effects of BSA on the sperm viability of different animal species (Bakst and Cecil, 1992).

Matsuoka et al. (2006) studied the effects of different BSA concentrations on the post-thaw viability of ram spermatozoa. The rates of progressive motility were significantly higher ($P < 0,05$) in the 10% and 15% BSA groups than in the tris-fructose-egg yolk control group. Also, the viability of post-thaw spermatozoa with BSA was significantly improved and the rates of swollen tails and intact acrosomes were also higher.

The aim of the investigation of Serniene et al. (2001) was to study the effect on semen quality caused by the addition of bovine serum albumin (BSA) to boar semen and to determine the optimal dose of the BSA. The analysis revealed that addition of BSA, sperm storage time and their interaction had significant effect only on agglutination rate. The effect of addition of BSA and sperm storage time was significant for sperm motility, vigor rate and a number of viable/nondamaged spermatozoa per ejaculation.

Our experiment indicates similar results agreeing with the stimulating function of BSA towards several measurable characteristics describing bull sperm motility. Based on our results we can assume that the optimal concentration of BSA for sperm cultivation is 20%, since medias containing 20% BSA presented overall best sperm viability results. 10% BSA medias had moreless average quality. There are questions about the maximum concentration of BSA a sperm cultivation, since high concentrations of any substance may be toxic.

CONCLUSION

This study demonstrates that BSA could be a good protein supplement for a long-term bull spermatozoa cultivation. There are still questions about the optimal BSA concentration and whether BSA could be used also for further processing and cryoconservation of bull spermatozoa.

We also have to be aware on the fact that a proper protein supplementation is not the only factor crucial for a good *in vitro* sperm motility and viability. An appropriate energetic substrate and minerals, as well as optimal laboratory conditions are equally important for a successful *in vitro* spermatozoa cultivation.

REFERENCES

- Bankst, M. R., Cecil, H. C. (1992): Effect of bovine serum albumin on motility and fecundity of turkey spermatozoa before and after storage. *J. Reprod. Fert.*, 94: 287-293.
- Correa-Pérez, J. R., Fernández-Pelegrina, R., Zarmakoupis-Zavos, P. N., Zavos, P. M. (2003): The effect of colloid osmotic pressure in human spermatozoa exposed to hypoosmotic conditions. *Andrología*, 35 (3): 117-120.
- Fox, P. F., Flynn, A. (2003): Biological properties of milk proteins. In *Advanced Dairy Chemistry, Vol. 1: Proteins, Parts A & B*. 3rd Edition. London: Elsevier, 1349 p. ISBN: 978-0-306-47271-8.
- Gebauer, M. R., Pickett, B. W., Komarek, R. J., Gaunya, W. B. (1970): Motility of Bovine Spermatozoa Extended in "Defined" Diluents. *Reprod. Fertil.*, 49: 277-284.
- Harrison, R. A., Dott, H. M., Foster, C. G. (1982): Bovine serum albumin, sperm motility, and the "dilution effect." *Jour. Exp. Zool.*, 222(1): 81-88.
- Ibrahim, N. M., Gilbert, G. R., Loseth, K. J., Grabo, B. G. (2000): Correlation Between Clusterin-Positive Spermatozoa Determined by Flow Cytometry in Bull Semen and Fertility. *Journal of Andrology*, 21: 887-894.
- Klem, M. E., Kreider, J. L., Pruitt, J. B., Potter, G. D. (1986): Motility and Fertility of Equine Spermatozoa Extended in Bovine Serum Albumin and Sucrose. *Theriogenology*, 26: 569-576.
- Lukáč, N. et al. (2007): Stopové prvky a kvalita spermíí. Nitra: SPU, 118 s. ISBN 978-80-8069-904-0.
- Matsuoka, T., Imai, H., Kohno, H., Fukui, Y. (2006): Effects of Bovine Serum Albumin and Trehalose in Semen Diluents for Improvement of Frozen-Thawed Ram Spermatozoa. *J. Reprod. Dev.*, 52: 675 – 683.
- McPhie, C. A., Evans, G., Maxwell, W. M. C. (2000): Effects of supplementation of fresh and frozen-thawed semen with seminal plasma on fertility of ewes after cervical and intrauterine insemination. 14th International Congress on Animal Reproduction, 2: 78.
- Muller-Schloser, F., Hinsch, E., Bohm, J., Schill, W. B., Hinsch, K. D. (1995): Investigations on egg yolk-free diluting medium for the cryopreservation of bull spermatozoa. *Tierarztl Prax*, 23: 363-366.
- Pace, M. M., Graham, E. F. (1974): Components in Egg Yolk which Protect Bovine Spermatozoa during Freezing. *J Anim Sci*: 1144-1149.
- Serniene, L., Gedgaudas, E., Zilinkas, H. (2001): Effect of Bovine Serum Albumin on Diluted with BTS Boar Semen Quality. *Veterinarjia ir Zootechnika*, 13: 35.
- Yamane, I., Murakami, O., Kato, M. (1976): „Serum-free“ Culture of Various Mammalian Cells and the role of Bovine Albumin. *Cell Structure and Function*, 1: 279-284.

ASSOCIATION ANALYSIS OF GENES *CSRP3*, *EDG4* A *PRKAG3* WITH MEAT QUALITY IN CZECH LARGE WHITE PIGS

Weisz F., Kaplanová K., Šulcerová H., Jůzl M., Urban T., Sláma P.

Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: fillip.weisz@mendelu.cz

ABSTRACT

In this part of our project we focused on pH and meat colour and three actual candidate genes (*CSRP3*, *EDG4* and *PRKAG3*). Their mutations were chosen for investigating the effect and influence of these three markers on pork quality in commercial breed population of Czech Large White pigs.

The blood and tissue samples (*m.longissimus lumborum et thoracis*) were collected from a purebred population of 86 Czech Large White sows. All animals were from one breed, fed using standard commercial protocol and slaughtered at average 91.2 kg of live weight in the same abattoir. Genotypes in actual candidate genes for meat quality *EDG4*, *CSRP3* and *PRKAG3* were determined by previously reported PCR-RFLP assays. The measured phenotypes were pH ultimate and meat colour characteristics L* (lightness), a* (redness), b* (yellowness). The statistical analysis was performed by the general linear model (GLM) by SAS for Windows 9.1.4.

All markers were polymorphic in our Czech large White population but for *CSRP3* and *PRKAG3* markers only two genotypes were observed, homozygous animals *TT* and *GG* in *CSRP3* and *PRKAG3*, respectively, were not observed. We revealed no significant associations between *EDG4*, *CSRP3*, *PRKAG3* and meat colour or pH ultimate. These results can be influenced by limited number of animals included in this preliminary study. In next part of our project we focus on another meat quality traits in larger number of animals to confirm previously reported association of mentioned genes.

Key words: Czech Large White pigs, *CSRP3*, *EDG4*, *PRKAG3*

Acknowledgments: This project was supported by Internal Grant Agency of Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, project no. TP9/2010.

INTRODUCTION

The pig, a representative of the artiodactyla clade, is one of the first animals domesticated, and has become an important agriculture animal as one of the major human nutritional sources of animal based protein (Chen *et al.*, 2007). Meat production and quality traits in pigs are largely affected by genetic factors that have been the matter of an increasing number of studies aimed at identifying the causative mutations responsible for their intra and inter line or breed variability (Rothschild, Hu and Jiang, 2007). In this part of our project we focused on pH and meat colour and three actual candidate genes (*CSRP3*, *EDG4* and *PRKAG3*). Their mutations were chosen for investigating the effect and influence of these three markers to pork quality in commercial breed population of Czech Large White pigs.

EDG4 (endothelial cell differentiation gene 4) is identified as cellular receptors for lysophosphatidic acid (LPA), belonging to the endothelial cell differentiation gene (EDG) family of G protein-coupled receptors (GPCR) which play an important role in the function of LPA. *EDG4* couples with three types of G proteins to mediate LPA-induced cellular signaling (Contos, Ishii, and Chun, 2000). Radiation hybrid mapping data indicated that *EDG4* gene maps to q2.1 of pig chromosome 2 (SSC2). This gene contains three exons and two introns and cDNA consists of 1,621 bp that contains an open reading frame (ORF) of 1,056 bp encoding a protein of 351 residues (Shan *et al.*, 2009). In this study the single nucleotide polymorphism C/T in exon 2 of *EDG4* gene was analysed.

CSRP3 (cysteine and glycine-rich protein 3) is the muscle-specific form of the cysteine and glycine-rich protein family and plays an important role in myofiber differentiation. The cytoplasmic *CSRP3* plays as a scaffold protein, interacts and co-localizes with alphaactinin, beta-spectrin and telethonin (T-cap) overlying the Z- and M-lines of myofibrils (Xu *et al.*, 2010). *CSRP3* is expressed only in striated muscle and its expression coincides with myogenic differentiation (Arber, Halder and Caroni, 1994). Porcine *CSRP3* gene was assigned to SSC2p14-17 and consisted of six exons and five introns (Xu *et al.*, 2010). In this study the single nucleotide polymorphism C1924T in exon 4 of *CSRP3* gene was analysed.

PRKAG3 (protein kinase adenosine monophosphate-activated, gamma 3 subunit) gene encodes a muscle specific isoform of the regulatory γ -subunit of the adenosine monophosphate-activated protein kinase, an enzyme that has a key role in regulating energy metabolism (Škrlep *et al.*, 2009). Further analysis of the *PRKAG3* signaling pathway may provide insights into muscle physiology as well as the pathogenesis of noninsulin-dependent diabetes mellitus in humans, a metabolic disorder associated with impaired glycogen synthesis (Milan *et al.*, 2000). Porcine *PRKAG3* gene affects the glycogen content in muscle and in general the meat quality of pigs that include ultimate pH and

colour measures and that are correlated with water-holding capacity, drip loss, tenderness and cooking loss (Ciobanu *et al.*, 2001). In this study the single nucleotide polymorphism A/G which changes amino acid in protein (Ile199Val) of *PRKAG3* gene was analysed.

MATERIALS AND METHODS

Animals and samples

A purebred population of 86 Czech Large White sows was used in this study. All animals were from one breed, fed using standard commercial protocol with the same diet and slaughtered at average 91.2 kg of live weight in the same abattoir. The blood and tissue samples (*m.longissimus lumborum et thoracis*) from each individual were collected immediately after slaughter and during the cutting, respectively. The blood was stored with EDTA at 8°C until automated purification.

Genotypes detection

DNA purification was realised by QIAmp DNA Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) on QIAcube® (QIAGEN, Hilden, Germany). Purified DNA was stored at -20°C until SNPs genotyping.

Genotypes in actual candidate genes for meat quality *EDG4*, *CSRP3* and *PRKAG3* were determined by PCR-RFLP as described by Shan *et al.* (2009), Xu *et al.* (2010) and Ciobanu *et al.*, (2001), respectively. Restriction enzymes, primer sequences and PCR-RFLP patterns are listed in Table 1. DNA fragments after digestion were separated on 2-3% agarose gels after the electrophoresis and visualised by ethidium bromide.

Tab. 1 Detailed information about 3 SNPs in *EDG4*, *CSRP3* and *PRKAG3* genes

Gene	SNP	Loc.	Primer sequence (5'-3')	Tm (°C)	Restr. enzyme	PCR-RFLP pattern (bp)	Ref.
EDG4 (LPAR2)	c.236C>T	exon 2	GCCAGTGCTACTACAATGAG CCCAGAATGATGACAACAG	59	<i>Mbo</i> I	729 509/220	Shan <i>et al.</i> (2009)
CSRP3	c.1924 C>T	exon 4	GGTACTGTTCGCCAAGGAGA TCCAGGAAAAGTGGGTGAAGA	60	<i>Taq</i> I	344 138/206	Xu <i>et al.</i> , (2009)
PRKAG3	A>G	Ile199 Val	GGAGCAAATGTGCAGACAAG CCCACGAAGCTCTGCTTCTT	57	<i>Bsa</i> HI	49/ 91/118 91/167	Ciobanu <i>et al.</i> , (2001)

Analysed traits and statistical analysis

The following traits were analysed: meat colour and pH ultimate. Meat colour was determined by spectrophotometry on CM-3500d (KONICA MINOLTA) according to CIELAB (L*, a*, b*) and pH ultimate by Portamess® 911 pH (KNICK).

MENDELNET 2010

The statistical analysis was performed by the general linear model (GLM) by SAS for Windows 9.1.4. The genotypes of relevant genes ($G_{i,k}$) were used as fixed effects. The model used to analyze the data was assumed to be: $y_{ijkl} = \mu + G_i + G_j + G_k + e_{ijkl}$, where y_{ijkl} is the observation or the trait, μ is the population mean, $G_{i,j,k}$ is the effect of i, j, k -th genotype, e_{ijkl} is the random residue.

RESULTS AND DISCUSSION

In Table 2 the frequency of genotypes and alleles for three markers (*EDG4*, *CSRP3* and *PRKAG3*) are shown. For *CSRP3* and *PRKAG3* markers only two genotypes were observed, homozygous animals *TT* and *GG* in *CSRP3* and *PRKAG3*, respectively, were not observed.

Tab. 2 Frequency of genotypes, number of observations and the allele frequency for different markers used in this study

Gene	Genotype frequency (no. of animals)			Allele frequency	
<i>EDG4</i>	CC	CT	TT	C	T
	60.47 (52)	36.05 (31)	3.49 (3)	0.78	0.22
<i>CSRP3</i>	CC	CT	TT	C	T
	79.31 (69)	20.69 (17)	0	0.90	0.1
<i>PRKAG3</i>	AA	AG	GG	A	G
	65.52 (56)	34.48 (30)	0	0.83	0.17

Results of association analysis between meat quality traits (pH ultimate and meat colour) and polymorphisms in actual candidate genes are listed in Table 3.

Shan *et al.* (2009) reported new polymorphism c.236C>T in exon 2 of porcine *EDG4* gene. This polymorphism is in coding region but it does not alter the amino acid sequence of the protein. Shan *et al.* (2009) genotyped this SNP in 7 breeds (5 Chinese indigenous and 2 commercial breeds) and showed great variation in allele frequency, in 2 Chinese breeds allele *T* is dominant and on the other hand allele *C* is dominant in introduced commercial breeds (0.62 – 0.65). Our results obtained from Czech Large White pigs are in accordance with Shan *et al.* (2009), SNP in *EDG4* gene were polymorphic in our population with dominance of allele *C* (0.78). The exact function and influence over the phenotypic variation of *EDG4* is not obvious, to these days Shan *et al.* (2009) revealed that porcine *EDG4* is mainly expressed in brain, liver, spleen, lung, kidney, intestine, but absent in muscle tissue of pigs and Contos *et al.* (2002) that targeted deletion of the *EDG4* gene in mice does not affect reproductive function. However Shan *et al.* (2009) published association between polymorphism c.236C>T and drip loss and carcass length in experimental population consisting of Tongcheng, Landrace, Yorkshire and two crossbred porcine populations. Our preliminary study of *EDG4* effect revealed no association between c.236C>T and meat colour or pH in Czech Large White pigs.

Tab. 3 Association analysis between *EDG4*, *CSRP3*, *PRKAG3* genes and meat colour and pH ultimate

Marker/ Trait	Genotype (Least square mean value \pm SE)		
<i>EDG4</i>	CC (n = 52)	CT (n = 31)	TT (n = 3)
L*	57.385 \pm 0.676	57.864 \pm 0.916	57.495 \pm 2.576
a	3.807 \pm 0.541	2.497 \pm 0.732	1.462 \pm 2.061
b	12.873 \pm 0.395	12.038 \pm 0.535	10.407 \pm 1.506
pHul	5.661 \pm 0.024	5.673 \pm 0.032	5.581 \pm 0.091
<i>CSRP3</i>	CC (69)	CT (17)	
L	56.843 \pm 0.911	58.319 \pm 1.422	
a	2.3 \pm 0.729	2.878 \pm 1.138	
b	11.308 \pm 0.532	12.237 \pm 0.831	
pHul	5.661 \pm 0.032	5.615 \pm 0.049	
<i>PRKAG3</i>	AA (56)	AG (30)	
L	58.093 \pm 0.990	57.069 \pm 1.282	
a	1.964 \pm 0.792	3.213 \pm 1.025	
b	11.616 \pm 0.579	11.928 \pm 0.749	
pHul	5.637 \pm 0.035	5.640 \pm 0.045	

* meat colour characteristic L (lightness), a (redness), b (yellowness), pHul = pH ultimate
n = number of animals with mentioned genotype

The *PRKAG3* 200Q mutation responsible for the RN⁻ allele has been identified only in the Hampshire breed or in pig lines with Hampshire blood (Fontanesi *et al.*, 2008). But also other mutation, e.g. I199V, have been suggested to affect muscle glycogen content, glycolytic potential, pH, meat colour and drip loss (Ciobanu *et al.*, 2001; Fontanesi *et al.*, 2008). Our results are different to previously reported frequencies of Ciobanu *et al.* (2001) or Fontanesi *et al.* (2008) where allele 199I occurred in frequency 0.22 or 0.17, respectively in Berkshire x Yorkshire and Italian Large White pigs. Fontanesi *et al.* (2008) revealed significant association between polymorphism I199V and pH₁ (2 hours post-mortem), on the other hand Otto *et al.* (2007) confirmed that initial pH value did not differ between genotypes of this SNP in commercial lines of PIC pigs whereas pigs of the homozygous genotype *II* showed significantly higher ultimate pH value compared with those of genotype *VV* and pH₂₄ measured in the ham was significantly different between all genotypes. Unfortunately in our preliminary study no significant associations of I199V of *PRKAG3* gene were observed for any traits.

Xu *et al.* (2010) identified synonymous mutation C1924T substitution recognized by *TaqI* in exon 4 of porcine *CSRP3* gene by comparative sequencing. Genotyping of this SNP by Xu *et al.* (2010) revealed that Chinese pig breeds had higher frequencies for the allele *T*, whereas the western breeds appeared to have lower frequencies and most individuals were *CC* or *CT* genotypes and only few *TT* homozygous individuals had been detected. Our results suggested analogous tendency, because we detected no *TT* homozygous animal and allele *C* was in majority (Tab. 2). Association study of

MENDELNET 2010

Xu *et al.* (2010) performed on Chinese pig breeds, Landrace, Duroc and Berkshire x Yorkshire F₂ population indicated that animals of *CC* genotype had much more desirable meat quality and it was revealed that the substitution of C1924T had significant associations with firmness, pH, flavor score and water holding capacity so Xu *et al.* (2010) suggested that *CSRP3* is a functional candidate gene affecting pig meat quality. This gene was probably involved in regulation of muscle development and regulation of myofiber distribution and the investigation of the porcine *CSRP3* gene will probably provide some evidence about its influence on meat quality. However we revealed no association of C1924T polymorphism and pH or meat colour in Czech Large White pigs.

CONCLUSION

For the present study, we analysed previously reported polymorphisms of *EDG4*, *CSRP3*, *PRKAG3* actual candidate genes in population of Czech Large White pigs. We revealed no significant associations between *EDG4*, *CSRP3*, *PRKAG3* and meat colour or pH ultimate. These results can be influenced by limited number of animals included in this preliminary study. In next part of our project we focus on another meat quality traits in larger number of animals to confirm previously reported association of mentioned genes.

This project was supported by Internal Grant Agency of Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, project no. TP9/2010.

REFERENCES

- Arber S., Halder G., Caroni P. Muscle lim protein, a novel essential regulator of myogenesis, promotes myogenic differentiation. *Cell*, 1994, vol.79, p.221-231.
- Ciobanu D., Bastiaansen J., Malek M., Helm J., Woollard J., Plastow G., Rothschild M. Evidence for new alleles in the protein kinase adenosine monophosphate-activated gamma(3)-subunit gene associated with low glycogen content in pig skeletal muscle and improved meat quality. *Genetics*, 2001, vol.159, no.3, p.1151-62.
- Contos J.J., Ishii I., Chun J. Lysophosphatidic acid receptors. *Molecular Pharmacology*, 2000, vol.58, no.6, p.1188-1196.
- Contos J.J., Ishii I., Fukushima N., Kingsbury M.A., Ye X., Kawanura S., Brown J.H., Chun J. Characterization of lpa(2) (Edg4) and lpa(1)/lpa(2) (Edg2/Edg4) lysophosphatidic acid receptor knockout mice: signaling deficits without obvious phenotypic abnormality attributable to lpa(2). *Molecular Cell Biology*, 2002, vol.22. p.6921–6929.
- Fontanesi L., Davoli R., Nani Costa L., Beretti F., Scotti E., Tazzoli M., Tassone F., Colombo M., Buttazzoni L., Russo V. Investigation of candidate genes for glycolytic potential of porcine skeletal

MENDELNET 2010

muscle: Association with meat quality and production traits in Italian Large White pigs. *Meat Science*, 2008, vol.80, p.780-787.

Chen K., Baxter T., Muir W.M., Groenen M.A., Schook, L.B. Genetic Resources, Genome Mapping and Evolutionary Genomics of the Pig (*Sus scrofa*). *International Journal of Biological Sciences*, 2007, vol.3, no.3, p.153-165.

Milan D., Jeon J.T., Looft C., Amarger V., Robic A., Thelander M., Rogel-Gaillard C., Paul S., Iannuccelli N., Rask L., Ronne H., Ludstrom K., Reinsch N., Gellin J., Kaml E., Roy P.L., Chardon P., Andersson L. A mutation in PRKAG3 associated with excess glycogen content in pig skeletal muscle. *Science*, 2000, vol.288, p.1248-51.

Otto G., Roehe R., looft H., thoelking L., knap P.W., Rothschild M.F., Plastow G.S., Kaml E. Association of DNA markers with meat quality traits in pigs with emphasis on drip loss. *Meat Science*, 2007, vol.75, p.185-195.

Rothschild M.F., Hu Z.-I. and Jiang Z. Advances in QTL mapping in pigs. *International Journal of Biological Sciences*, 2007, vol.3, p.192-197.

Shan T.L., Li K., Tang Z.L., Yang S.L., Ma Y.H., Guan W.J. Full-length coding sequences, polymorphism and chromosomal localizations of the porcine EDG4 and EDG7 genes. *Molecular Biology Reports*, 2009, vol.36, no.4, p.751-756.

Škrlep M., Kavar T., Santé-L'Houtellier V., Andek-Potokar M.Č. Effect of I199V polymorphism on PRKAG3 gene on carcass meat quality traits in Slovenian commercial pigs. *Journal of Muscle Foods*, 2009, vol.20, is.3, p.367-376.

Xu X., Qiu H., Du Z.-Q., Fan B., Rothschild M.F., Yuan F., Liu B. Porcine CSRP3: polymorphism and association analyses with meat quality traits and comparative analyses with CSRP1 and CSRP2. *Molecular Biology Reports*, 2010, vol.37, no.1, p.451-459.

**METALLOTHIONEIN – ZINC – PROSTATE CANCER:
PATHOGENESIS AND DIAGNOSTIC USE****Gumulec J.¹, Cernei N.², Zítka O.², Masařík M.¹, Babula P.³, Adam V.¹, Kizek R.¹**¹Department of Pathological Physiology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Komenského náměstí 2, 662 43 Brno, Czech Republic²Department of Chemistry and Biochemistry Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic³Department of Natural Drugs, Faculty of Pharmacy, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Palackého 1-3, 612 42 Brno, Czech RepublicE-mail: j.gumulec@mail.muni.cz, kizek@sci.muni.cz

ABSTRACT

Prostate cancer (PCa) is one of the most frequent cancer and one of the most frequent cancer-related cause of death among men. Therefore, early diagnosis, differentiation between risky and relative benign forms and understanding of pathogenesis of disease for further therapeutic approaches is highly desirable. Healthy prostate is unique in zinc accumulation. Zinc is (mostly) buffered by cysteine-rich low molecular protein metallothionein (MT). In contrast, PCa has altered zinc metabolism and elevated MT. In PCa patients, MT is elevated even in serum and can therefore be used as potential tumor marker due to high specificity to PCa. This could be very desirable because of inaccuracies of current prostatic specific antigen (PSA) screening. The aims of this study is (1) to analyze MT-zinc relation on cell lines: to determine zinc and MT levels in cell lines PC-3 (cancer) and PNT1A (control), (2) to find relations between MT and PSA, (3) to describe potential effects of MT and/or zinc on prostate cancer pathogenesis, (4) to determine serum MT level, (5) to find relations between MT level and patient's disease grading. We used (1) optimized fully automated immunochemical methods for detection of serum PSA in serum, (2) protein separation with paramagnetic microparticles modified with antibody against PSA and MT, (3) PAGE gel silver and coomassie staining and colorimetric detection. We found (1) statistically significant ($p=0.001$) MT elevation in PCa lines and in PCa serum, (2) significant PSA elevation in cell lines, (3) strong correlation between intracel. zinc and MT, (4) no correlation between disease grading/patient's history, PSA level and MT level. We found MT/zinc play a role in PCa pathogenesis, further understanding may have therapeutic implications. By our findings, MT is a good candidate for new marker for PCa screening, developing of automated diagnostic methods is highly desirable.

Key words: metallothionein, zinc prostate cancer, magnetic particles, PC-3, PNT1A, tumor marker**Acknowledgments:** Financial support from the following grants GACR 301/09/P436, IGA MZ 10200-3 is highly acknowledged.

ÚVOD

V řadě rozvinutých zemí jsou nádory prostaty nejčastějším nádorovým onemocněním mužů a druhou nejčastější s nádorem spojenou příčinou smrti (WitaSternberg, 2009). Výskyt těchto nádorů je významně spjat s vyšším věkem pacientů, objevují se převážně u mužů nad 50 let. Až v 90% se jedná o acinární adenokarcinomy, proliferující nádory s infiltrativním růstem a různým stupněm diferenciací (BéginBismar, 2009). Zbýlých 5 % tvoří adenokarcinomy duktální, acinózní, malobuněčné, dlaždicobuněčné přechodné karcinomy aj. (BéginBismar, 2009; WitaSternberg, 2009). Adenokarcinomy prostaty jsou obvykle bezpříznakovými nádory, často diagnostikovány až při sekci zemřelých na jinou příčinu. Malá část adenokarcinomů je agresivnější – metastazuje do lymfatického systému a do kostí.

Vzhledem k vysoké incidenci a mortalitě je žádoucí diagnostikovat toto onemocnění co nejdříve, rozpoznat vysoce agresivní formy od klinicky němých a pochopit patogenezi onemocnění s typickými metabolickými odlišnostmi (jsou-li nějaké) se záměrem vyvinout specificky cílenou terapii.

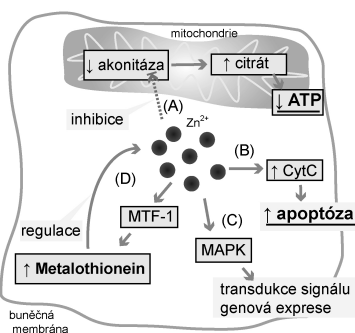
Současné diagnostické metody karcinomu prostaty je možné rozdělit na metody vedoucí k podezření na karcinom (vyšetření per rectum a stanovení hladiny prostatického specifického antigenu, PSA) a na metody diagnózu potvrzující (transrektální sonografie s biopsií prostaty) (AdamaVorlíček, 2002). Zvyšující se množství karcinomů je detekováno v současné době právě díky stanovování nádorového markeru prostatického specifického antigenu (PSA). Detekce pomocí PSA je velmi senzitivní, dosahuje až 91%. Významné zvýšení specifity – až na hladinu 80% – přináší stanovování poměru mezi volným a celkovým PSA v séru – „free/total PSA ratio“. I přes tyto vysoké hodnoty senzitivity i specifity není PSA ideálním markerem tohoto onemocnění; řada pacientů je indikována na zbytečnou vyšetření a zatížena tak zbytečnému fyziologickému a psychickému stresu (HumbertaChevette, 2009). Mimoto hladina PSA nevyovídá o stupni agresivity karcinomu. (Študent a kol., 2006)

Podobně jako u jiných nádorových onemocnění, také pro adenokarcinom prostaty je typická genová nestabilita projevující se zvýšením a/nebo snížením exprese řady genů, jejichž proteinové produkty se mohou podílet na patogenezi onemocnění jako protoonkogeny, resp. tumor supresorové geny. Identifikace takovýchto genů u konkrétního pacienta může (a) předvídat reakce na konkrétní druh léčby (HumbertaChevette, 2009), (b) začít terapii právě na tyto dysregulované látky a – (c) řada genů, jejichž exprese je zvýšena a jsou specifické pro karcinom prostaty, mohou být použity jako nádorový marker tohoto onemocnění, (d) či jako imunohistochemická metoda biotických vzorků. Řadu těchto kritérií splňuje skupina nízkomolekulárních proteinů metalothioneinů (MT). MT jsou významné ve vztahu ke karcinomu prostaty, resp. ke zdravé prostatické tkáni zejména pro atypický

metabolismus zinku v této tkáni; metalothionein váží volné zinečnaté ionty a fungují jako labilní pool těchto iontů.

Sekretorické buňky fyziologické prostatické tkáně jsou schopny akumulovat zinek v až desetinásobně větší koncentraci oproti jiným buňkám lidského těla. (FranklinaCostello, 2009) Zvýšené hladiny zinku v těchto buňkách mají vliv na řadu kaskád (Gumulec, Masarik a kol., 2010); je ovlivněno energetické hospodaření buněk a metabolismus organických kyselin (cestou inhibice oxidace a zabráněním utilizace citrátu v krebsově cyklu), jsou ovlivněny apoptické mechanismy (proapoptické působení), je ovlivněna exprese řady genů. (Formigare a kol., 2007; Thirumoorthy a kol., 2007) Karcinom však schopnost akumulace zinku ztrácí, popsané vlivy zinku proto mizí. (CostelloFranklin, 2006; OteizaMackenzie, 2005) Některé mechanismy – například snížení proapoptického působení – se zřejmě mohou významným mechanismem podílet na patogenezi onemocnění. (Masarik a kol., 2010; Plum a kol., 2010)

Metalothioneiny jsou skupinou proteinů s vysokým obsahem cysteinu o molekulární hmotnosti 6 – 10 kDa. Ty jim (díky thiolovým vazbám mezi cysteiny) propůjčují schopnost vázat řadu kovů. Metalothioneiny proto hrají klíčovou roli v transportu těžkých kovů, jejich detoxikaci a v ochraně buněk před oxidativním stresem (Eckschlagler a kol., 2009). Funkce těchto proteinů zasahují také do regulace apoptózy – zvýšené hladiny metalothioneinu mají antiapoptické působení – metalothionein reguluje hladinu, aktivitu a buněčnou lokalizaci transkripčního faktoru NF-κB. (Formigare a kol., 2007) NF-κB zajišťuje ochranu buněk před apoptózou aktivací antiapoptických genů a protoonkogenů Bcl-2, c-myc a TRAF-1 (viz Obrázek 1). Tuto antiapoptickou kaskádu využívají některé nádory (Krizkova a kol., 2009). V posledních letech byla popsána souvislost se zvýšením hladin těchto proteinů u řady nádorů. (FanaCherian, 2002; Jin a kol., 2002; Penkowa a kol., 2009; Wei a kol., 2008)



Obr. 1 Funkce zinku a metalothioneinu.

MATERIÁL A METODIKA

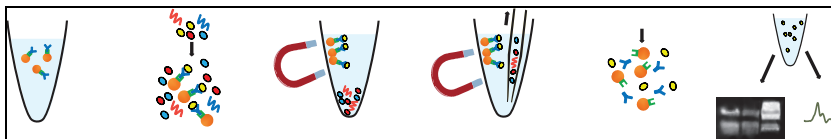
V této studii byly použity tři buněčné linie: (a) kontrolní, PNT1A, lidská buněčná linie získaná imortalizací normálních prostatických epiteliálních buněk 35letého muže post mortem, (b) PC-3 buněčná linie získaná z grade 4 androgen-nezávislého adenokarcinomu 62letého muže z kostních metastáz. Tyto buněčné linie byly zakoupeny u HPA Culture Collections (Salisbury, UK).

V dalších fázích experimentů byla testována lidská séra, 20 kontrolních a 70 s bioticky verifikovaným adenokarcinomem prostaty. Testovaná séra byla získána z Urologické kliniky nemocnice U svaté Anny v Brně.

Proteiny z těchto linií a z testovaných vzorků sér byly získávány jednak RIPA puřem, jednak mechanickou homogenizací a tepelnou lyzací (99°C) buněk. Proti metalothioneinu 1/2 byla použita polyklonální králíčí protilátka (Santa Cruz biotechnology, USA), proti AMACR polyklonální králíčí protilátka (Clonestar, CZ), proti PSA monoklonální myší protilátka (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, USA). Je známo, že nádorově změnéné buňky mají utlumený mechanismus importu zinečnatých iontů do buněk prostaty. Linie byly proto inkubovány v médiu se zvyšujícím se množstvím těchto iontů; koncentrace tohoto kovu se v médiu pohybovala v rozmezí 0 – 500 $\mu\text{M/L}$. V těchto koncentračních řadách (každá linie pěstována současně v pěti vzestupných koncentracích) byla stanovována hladina mRNA a proteinu MT a PSA a hladina intracelulárního zinku volného a vázaného zinku.

U linií byla stanovena hladina mRNA metalothioneinů MT1A a MT2A a PSA; Real-time PCR byla vyhotovena komparativní metodou; Hodnoty Ct byly standardizovány vůči beta-aktinu.

Během experimentů byla zjištěna úskalí detekce metalothioneinu; protein tvoř polymery a má řadu nespecifických interakcí s řadou substancí ve vzorku. Z toho důvodu bylo žádoucí odseparovat ostatní složky séra/lyzátu. Byla proto použita imunoseparace pomocí protilátkou změnéných magnetických částic (viz Obrázek 3). Tato metoda umožní separovat vybrané proteiny dle zvolené protilátky (která je svým Fc fragmentem navázána na protein G částic).



Obr. 2 Separace pomocí protilátkou změnéných magnetických částic

Následně byly vzorky elektroforeticky separovány na 10% SDS-PAGE gelech a výsledky barveny coomassie modří, stříbrem, nebo převedeny na nitrocelulóзовou membránu a imunodetekovány. Pro rychlou orientaci Byly používány dot-bloty. MT byl souběžně detekován elektrochemicky. Elektrochemická detekce MT se provádí na přístroji AUTOLAB Analyser v klasickém tříelektrodovém uspořádaní pomocí tzv. Brdičkovy reakce. Právě Rudolf Brdička před více než 70 lety objevil katalytické vylučování vodíku ze základního elektrolytu v přítomnosti proteinů. Tato metoda byla později vylepřena a využita pro analýzu proteinů krevních sér pacientů s rakovinou.

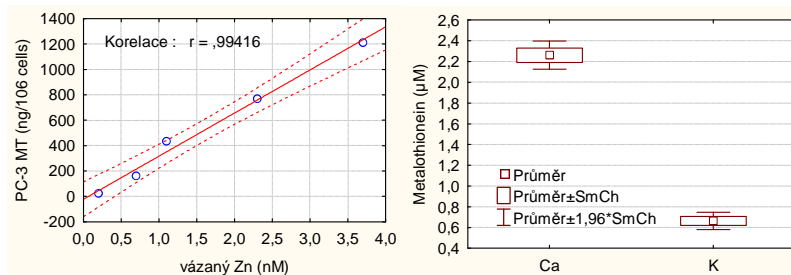
Dlouho nebylo jasné, které proteiny se této reakce účastní, ale později bylo zjištěno, že jsou to právě látky obsahující –SH skupiny, mezi které patří i MT. Měření probíhá tak, že na pracovní elektrodu, kterou je visící rtuťová elektroda dochází k akumulaci vzorku a stanovení probíhá v základním elektrolytu, obsahujícím kobaltitou sůl v amonném pufru s pH 9.6.

Výsledky byly vyhodnocovány v software Statistica 9. Byly prováněny t-testy a korelační matrice. Byla stanovena hladina významnosti $p=0,05$.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Z experimentu inkubace buněčných linií v médiu s obsahem zinku je zřejmá silná závislost hladiny PSA, volného PSA a metalothioneinu na množství zinku v médiu (viz Obrázek 3); U „karcinomové“ linie PC-3 dosahuje korelační koeficient pro závislost přidaný zinek - metalothionein až hodnoty 0,9 a je statisticky významný na hladině $p=0,05$. U zmíněné linie je popsána také statisticky významná závislost hladiny metalothioneinu na hladině PSA. V „karcinomové“ linii PC-3 je popsáno statisticky významné zvýšení hladin PSA i metalothioneinu oproti kontrolní linii PNT1A. Z analýzy mRNA byla zjištěna elevace třídy metalothioneinu MT2A u linie PC-3 oproti MT1A. Třída MT1A byla naopak elevována u kontrolní linie PNT1A.

V sérech bylo zjištěno statisticky významné zvýšení hladiny metalothioneinu (viz Obr). Pro metalothionein je – oproti PSA – typické mnohem menší rozptyl hodnot. Oproti výsledkům v buněčných liniích je ale pozorována mnohem menší závislost mezi hodnotami PSA a metalothioneinu.



Obr. 3 závislost hladiny metalothioneinu na hladiny zinku v médiu

Obr. 4 hladina metalothioneinu v séru karcinom/kontrola

ZÁVĚR

Hladina intracelulárního MT a intracelulárního zinku se signifikantně liší u linie odvozené od karcinomu a u linie kontrolní. Intracelulární MT i intracelulární zinek je u obou linií indukovatelný zvýšením množství zinku v médiu, v „karcinomové“ linii je dosahováno nižších hladin intracelulárního zinku. Vzhledem k alteraci antiapoptických/proapoptických mechanismů zinku

a metalothioneinu a jejich popsané změně hladin je možné očekávat působení na patogenezi onemocnění. (Gumulec, Cernei a kol., 2010) Je žádoucí dále zkoumat procesy způsobující snížení intracelulární hladiny zinku – zejména zinkové transportní mechanismy (a odlišit tak příčinu a následek) a dále procesy, jimiž zinek a metalothionein působí u karcinomu patogenezi.

MT v séru pacientů s histologicky ověřeným adenokarcinomem prostaty je signifikantně zvýšena, MT je proto nadějným kandidátem na post nového markeru adenokarcinomu prostaty. Je ovšem nutné optimalizovat a případně automatizovat jejich detekční algoritmus pro snadnější využití v rutinní praxi a stanovit možné případy falešné pozitivivity, resp. negativity.

Poděkování: výzkum této problematiky je podporován granty GACR 301/09/P436, IGA MZ 10200-3 a 9/2010/FaF.

LITERATURA

Adam Z., Vorlíček J.: Speciální onkologie. Brno: Masarykova univerzita, 2002.

Bégin L.R., Bismar T.A.: Prostate Cancer: Pathological Perspective, in Male Reproductive Cancers Epidemiology, Pathology and Genetics. Edited by Foulkes WD, Cooney KA. New York, Dordrecht, Heidelberg, London, Springer Verlag, 2009.

Costello L., Franklin R. (2006): The clinical relevance of the metabolism of prostate cancer; zinc and tumor suppression: connecting the dots. *Molecular Cancer* 5(1):17.

Eckschlager T., Adam V., Hrabeta J., Figova K., Kizek R. (2009): Metallothioneins and cancer. *Current Protein and Peptide Science* 10(4):360-375.

Fan L.Z., Cherian M.G. (2002): Potential role of p53 on metallothionein induction in human epithelial breast cancer cells. *British Journal of Cancer* 87(9):1019-1026.

Formigare A., Irato P., Santon A. (2007): Zinc, antioxidant systems and metallothionein in metal mediated-apoptosis: Biochemical and cytochemical aspects. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology* 146(4):443-459.

Franklin R., Costello L. (2009): The important role of the apoptotic effects of zinc in the development of cancers. *Journal of cellular biochemistry* 106(5):750-757.

Gumulec J., Cernei N.V., Zitka O., Masarik M., Babula P., et al.: Zinc, Metallothionein and Prostate Tumour Cells - Is There Any Relation?, in 10th International Nutrition & Diagnostics Conference. Edited by. Prague, CZ, 2010, pp. 46.

Gumulec J., Masarik M., Hrabec R., Rovny A., Binkova H., et al. (2010): Zinek a jeho vztah k nádorům prostaty. *Praktický lékař* 90(8):455-459.

Humbert L., Chevrette M.: Somatic Molecular Genetics of Prostate Cancer, in Male Reproductive Cancers Epidemiology, Pathology and Genetics. Edited by Foulkes WD, Cooney KA. New York, Dordrecht, Heidelberg, London, Springer Verlag, 2009.

- Jin R.X., Chow V.T.K., Tan P.H., Dheen S.T., Duan W., et al. (2002): Metallothionein 2A expression is associated with cell proliferation in breast cancer. *Carcinogenesis* 23(1):81-86.
- Krizkova S., Fabrik I., Adam V., Hrabeta P., Eckschlagler T., et al. (2009): Metallothionein - a promising tool for cancer diagnostics. *Bratislavské Lekárske Listy* 110(2):93-97.
- Masarik M., Gumulec J., Kuchtickova S., Kudlackova V., Jurajda M., et al. (2010): Determination of novel tumor markers in prostate carcinoma. *FEBS Journal* 277(s.1):188-188.
- Oteiza P., Mackenzie G. (2005): Zinc, oxidant-triggered cell signaling, and human health. *Molecular Aspects of Medicine* 26(4-5):245-255.
- Penkowa M., Srensen B.L., Nielsen S.L., Hansen P.B. (2009): Metallothionein as a useful marker in Hodgkin lymphoma subclassification. *Leukemia & Lymphoma* 50(2):200-210.
- Plum L.M., Rink L., Haase H. (2010): The Essential Toxin: Impact of Zinc on Human Health. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 7(4):1342-1365.
- Študent V., Grepl M., Král M., Hartmann I. (2006): Má vyšetření PSA stále význam při vyhledávání karcinomu prostaty? *Urologie pro Praxi* 5(5):214-218.
- Thirumoorthy N., Kumar K.T.M., Sundar A.S., Panayappan L., Chatterjee M. (2007): Metallothionein: An overview. *World Journal of Gastroenterology* 13(7):993-996.
- Wei H., Desouki M.M., Lin S., Xiao D., Franklin R.B., et al. (2008): Differential expression of metallothioneins (MTs) 1, 2, and 3 in response to zinc treatment in human prostate normal and malignant cells and tissues. *Molecular Cancer* 7(-).
- Wit R.d., Sternberg C.N.: *Cancers of the Genitourinary Tract*, in *Textbook of medical oncology*. Edited by Cavalli F, Hansen HH, Kaye SB. London, Informa Healthcare, 2009.

DYNAMICS OF A WHEAT CYTOKININ-BINDING PROTEIN DURING SEED GERMINATION

Klásková J.¹, Chamrád I.², Simerský R.¹, Švehlová L.², Šebela M.², Spíchal L.¹, Lenobel R.¹, Strnad M.¹

¹Laboratory of the Growth Regulators, Palacký University & Institut of Experimental Botany AS CR, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc, Czech Republic

²Department of Biochemistry, Faculty of Science, Palacký University, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc, Czech Republic

E-mail: jana.klaskova@upol.cz

ABSTRACT

Cytokinins are plant hormones involved in regulation of many important processes in plant growth and development. Notwithstanding much effort have been made into research of these important molecules, several outstanding issues connected with them have still remained. Undoubtedly, one of them is the exact function of cytokinin-binding proteins. One of the most examined members of this protein family is wheat cytokinin-binding factor 1 (CBF-1). CBF-1 was published to be embryo-specific trimeric protein having remarkable affinity for aromatic cytokinins. Based on its behaviour during embryogenesis and germination, CBF-1 has been assumed to act as a regulator of N⁶-benzyladenin-type cytokinin levels. The main aim of our work was to revise CBF-1 dynamics upon cereal seed germination using advanced proteomic methods. For this purpose, target proteomic approach utilizing mass spectrometry and selected reaction monitoring was used. Then, classical two-dimensional electrophoresis followed by imunodetection of CBF-1 was applied as an independent proteomic tool suitable for verifying of achieved results. Simultaneously, cytokinin-binding activity was monitored employing equilibrium dialysis. Surprisingly, data obtained from initial experiments indicate that CBF-1 remains at the same level within first four days of germination. This finding is in sharp contrast to information published earlier and sheds brand new light on this interesting protein.

Key words: cytokinin-binding protein, wheat, seed germination, proteomic approaches

Acknowledgement: This work was supported by the Grant Agency of the Czech Republic (No. 522/09/1576) and by the Ministry of Education of the Czech Republic (No. MSM 6198959216).

METALLOMIC STUDY OF EFFECT OF CADMIUM IONS ON PLANT TISSUE CULTURES OF SUNFLOWER

Kryštofová O., Zehnálek J., Adam V., Kizek R.

Department of Chemistry and Biochemistry, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: olga.krystofova@seznam.cz, kizek@sci.muni.cz

ABSTRACT

In the eight-days-long experiment, we investigated the influence of cadmium(II) ions (0, 5, 10, 50, 100 and 500 μM) on sunflower callus culture. We mainly focussed our attention on the growth. The obtained results were evaluated using the standard procedure, in which dependence of the fresh weight on the applied concentration was determined. We also used linear regression to evaluate the obtained results. Based on the slopes of the lines, we determined the degree of inhibition of growth in various experimental variants. The results obtained suggest that sunflower callus growth was most inhibited by concentrations of 500 μM of cadmium(II) ions and slightly stimulated by 10 μM of cadmium(II) ions compared with control.

In the second part of our work, we optimized the determination of antioxidant activity of three different techniques (DPPH, and ABTS free radicals). The optimization were compared two types of standard (gallic acid and trolox). The results obtained were found to be more appropriate standard for evaluating antioxidant activity in real samples, gallic acid.

Key words: sunflower, callus, cadmium, phytoremediation

Acknowledgments: This work was supported by grant IGA MENDELU IP 7/2010, REMEDTECH GA ČR 522/07/0692 and IGA MENDELU TP 1/2010

ÚVOD

Z médií zaznívají čím dál častěji debaty o klimatických změnách. Velmi často bývá při těchto debatách diskutována souvislost mezi znečištěním životního prostředí a přirozeným během. Je pravdou, že znečišťujících látek v životním prostředí přibývá a ovlivňují tak kvalitu našeho života. Způsobů, jak jejich množství snížit, známe hned několik. Prvním a nejdůležitějším je lidské uvědomění, ukázněná a chuť následky své činnosti řešit. Druhým je vyvíjet pro řešení následků účinné dekontaminační techniky, které jsou vůči životnímu prostředí šetrné. Mezi takové techniky patří remediace. Remediace jsou ozdravným procesem využívajícím fyzikální, chemické a biologické principy. Za nejšetrnější lze považovat principy biologické. Ty využívají k nápravě životního prostředí jak mikroorganismů (rhizoremediace), tak rostlin (fytoremediace). Každý z uvedených principů je schopen fungovat samostatně i ve společné kombinaci. Lze jimi odstraňovat kontaminanty organické i anorganické povahy. Mezi nejzávažnější kontaminanty anorganické povahy patří těžkými kovy. Těžké kovy jsou dle jedné z mnoha definic chemické prvky, mezi které patří zejména přechodné kovy, některé polokovy, lanthanoidy a aktinoidy. Ukládají se v živých organismech (rostlinách i živočiších) a vstupují tak do potravního řetězce, kde se mohou kumulovat až do koncentrací, které jsou pro organismu smrtelné (Kryštofova a kol., 2009). Příkladem toxického těžkého kovu je kadmium. Jeho nebezpečnost spočívá ve vysoké afinitě k síře, a protože není esenciálním prvkem, může při zvýšené koncentraci na organismus působit toxicky. Jeho příjem rostlinou nezávisí pouze na přirozených metabolických systémech, ale také na jeho vstupu přes mechanismy určené pro příjem jiných esenciálních kovů (Kryštofova a kol., 2010). To, do jaké míry je kadmium schopno kumulovat se v rostlinných pletivech, nezávisí jen na metabolických systémech, ale také na rostlinném druhu a koncentraci živin v půdě potřebných rostlinný růst (Hagemeyer a kol., 1993; Prasad, 1995). Důsledkem toxického působení kadmia na rostliny může být narušení fotosyntézy, respiračního řetězce, narušení příjmu živin, listová nekróza či celkový pokles biomasy s potenciálním snížením výnosnosti u zemědělských plodin o 5 až 22 % (Makovnikova a kol., 2006). Existuje mnoho studií zabývajících se vlivem kadmia na rostliny, avšak jen velmi málo z nich se zabývá jeho vlivem na slunečnici (Azevedo a kol., 2005). Tyto práce se převážně zabírají hledáním odolného kultivaru slunečnice, který bude mít zároveň dobré akumulaci vlastnosti. Při výzkumech se nejčastěji aplikují dva pohledy jak posoudit vhodnost rostliny pro akumulaci kadmia a to i) srovnáváním schopnosti různých kultivarů slunečnice hromadit ve svých pletivech kadmium a ii) výběrem kultivarů ovlivněných kadmii s nejlepšími morfogenetickými znaky. Díky těmto dvěma směrům bude jednou možné zvolit vhodný genotyp, který může být použitelný pro fytoremediace kadmia, nebo napomohou ke zvolení vhodných rodičů pro vývoj lepších kultivarů (dos Santos a kol., 2000; C. V. Santos a kol., 2002).

Většina výzkumných prací je prováděna na celistvých rostlinách a jen málo je známo o vlivu kadmia na *in vitro* kultury. Přesto studium *in vitro* kultur by mohlo být přínosné nejen z důvodu navržení genetických modifikací za účelem zvýšení fytořediačních schopností slunečnice, ale také umožňuje snadnější testování rostlin za velmi dobře definovaných podmínek (Diopan a kol., 2008; Kaiser a kol., 2009; Kotrba a kol., 2009; Krystofova a kol., 2009; Macek a kol., 2008; Macek a kol., 2007; Mackova a kol., 2007). Za další výhodu při práci *in vitro* kulturami je použití geneticky jednotného materiálu, což nám umožňuje v protetických a genomických studiích lépe pochopit rozdíly mezi liniemi na kadmium tolerantními a na kadmium citlivými (Azevedo a kol., 2005).

V naší práci jsme se zabývali vlivem různých koncentrací kadmnatých iontů (0, 5, 10, 50, 100 a 500 μM) na růst kalusů slunečnice roční kultivaru Aloha a na změny jejich antioxidační aktivity.

MATERIÁL A METODIKA

Příprava kalusových kultur

Kalusové kultury byly odvozeny následujícím způsobem. Namožené komerčně dodávané sačky slunečnice roční kultivaru Aloha byly vydezinfikovány v roztoku Sava (20% v/v, po dobu 20 min.), následně několikrát omyty ve sterilizované destilované vodě a vysazeny na kultivační médium Murashige a Skoog (MurashigeaSkoog, 1962) bez růstových regulátorů podle Santos a Caldeira (C. SantosCaldeira, 1998). Osm dnů stará rostlina byla rozdělena na části (kořeny, hypokotyl) a ty byly pěstovány na modifikované MS médium doplněném o 5 g/l KNO_3 , 0,5% (w/v) polyvinylpyrrolidonu (PVP), 2,7 μM α -naftyloctovou kyselinu (NAA), 2,2 μM 6-benzylaminopurin (BAP), a 0,2 μM gyberelovou kyselinu (GA3), upraveného na pH 5,7. Kalusy byly kultivovány při 24 ± 1 °C s fotoperiody na 16 h a intenzita světla 93 ± 1 $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$. Shluky měsíc starých kalusů (přibližně stejných rozměrů) byly pasážovány na modifikované MS medium obsahující 0, 5, 10, 50, 100 nebo 500 μM kadmium dodané v podobě $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$. Tyto kalusy byly kultivovány v kultivačním boxu za stejných podmínek, jak je uvedeno výše u podmínek pro odvozování kalusů.

Antioxidační aktivita u kalusů vystavených působení kadmnatých iontů byla měřena třemi různými technikami. Postupy byly následující:

Stanovení antioxidační aktivity pomocí DPPH[•] testu

Tato metoda je považována za jednu ze základních metodik pro posouzení antioxidační aktivity čistých látek i různých směsných vzorků. Spočívá v reakci testované látky se stabilním radikálem difenylpicrylhydrazylem – DPPH (1,1-difeny-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazyl), kdy při reakci dochází k redukci radikálu za vzniku DPPH-H.

Postup měření pro automatický analyzátor: Do plastových kyvet bylo pipetováno 200 μl $9.5 \cdot 10^{-5}$ M roztoku DPPH, následně bylo přidáno 20 μl vzorku či standartu (kyselina gallová, trolox) a vše bylo pečlivě promícháno. Po dobu 25 minut byla zaznamenávána v 15 sekundových intervalech

absorbance při vlnové délce $\lambda = 515$ nm. Výsledná hodnota antioxidační aktivity se vypočítá dle vzorce: změna absorbance (%) = $100 - [(A_{25}/A_0) \times 100]$.

Stanovení antioxidační aktivity pomocí metody ABTS

Metoda pomocí ABTS radikálu, literárně též označovaná jako „Trolox Equivalent Antioxidant Capacity“ (TEAC), je jednou z nejčastěji používaných metod k určení koncentrace radikálů. Je založena na neutralizaci radikálkationtu vzniklého jedno elektronovou oxidací syntetického chromoforu ABTS[•] (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonátu) na radikál ABTS^{•-} – e-ABTS^{•+}.

Postup měření pro automatický analyzátor: Do plastových kyvet bylo pipetováno 245 μ l roztoku 7 mM ABTS[•] s 4.95 mM peroxodisíranem draselným, následně bylo přidáno 5 μ l vzorku či standartu (kyselina gallová, trolox) a vše bylo pečlivě promícháno. Po dobu 25 minut byla zaznamenávána v 15 sekundových intervalech absorbance při vlnové délce $\lambda = 670$ nm. Výsledná hodnota antioxidační aktivity se vypočítá dle vzorce: změna absorbance (%) = $100 - [(A_{25}/A_0) \times 100]$.

Stanovení antioxidační aktivity pomocí metody Free Radicals

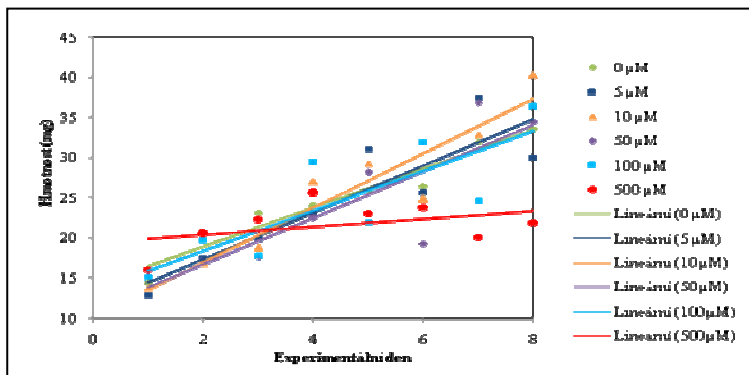
Stanovení volných radikálů je založeno na schopnosti chlorofylinu (sodno-měďnatá sůl chlorofylu) přijímat a odevzdávat elektrony za současné stabilní změny absorpčního maxima. Tento efekt je podmíněn alkalickým prostředím a přidavkem katalyzátoru.

Postup měření pro automatický analyzátor: Pro stanovení byl použit komerčně dodávaný kit od firmy Sedium, který obsahoval reakční pufr, koncentrát chlorofilu a katalyzátor. Tyto roztoky byly smíchány v poměru dle příbalového letáku. Do plastových kyvet bylo pipetováno 200 μ l připravené reagentie, následně bylo přidáno 8 μ l vzorku či standartu (kyselina gallová, trolox) a vše bylo pečlivě promícháno. Absorbance byla měřena po dobu 10 minut a zaznamenávána v 15 sekundových intervalech při $\lambda = 450$ nm. Získané výsledky byly vyhodnoceny pomocí kalibrační křivky.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Kalusy slunečnice roční kultivaru Aloha byly po dobu osmi dnů vystaveny působení kadmnatých iontů o koncentracích 0, 5, 10, 50, 100 a 500 μ M. Každý den bylo odebráno a zváženo deset shluků z každé experimentální varianty. Průměrný denní přírůstek hmotnosti pro jednotlivé varianty se pohyboval v prvních čtyřech dnech experimentu v rozmezí 0,5 – 4 mg a v období 4. až 8. dne experimentu v rozmezí 1 – 6 mg (Obr. 1). V časovém úseku prvních čtyř dnů vykazovaly kalusy v porovnání s kontrolou pro aplikované koncentrace kadmia 5, 10, 50 a 100 μ M inhibici růstu. Výjimkou byla koncentrace 500 μ M, která ve 2. až 4. dnu experimentu rostla lépe než kontrola a to o 1 až 2 mg za den. Od 4. dne experimentu nastala stimulace růstu v porovnání s kontrolou u kalusů vystavených 5, 10, a 50 μ M koncentrací kadmia a u kalusů vystavených koncentracím 100 a 500 μ M byl růst zpomalen až zastaven. Tento trend se již do konce experimentu neměnil. Ze získaných výsledků bylo zjištěno, že i přes zpomalení růstu v prvních čtyřech dnech experimentu

působí kadmium na kalusy vystavených koncentraci 5, 10 a 50 μM stimulačně a na kalusy vystavené působení koncentraci 100 a 500 μM .

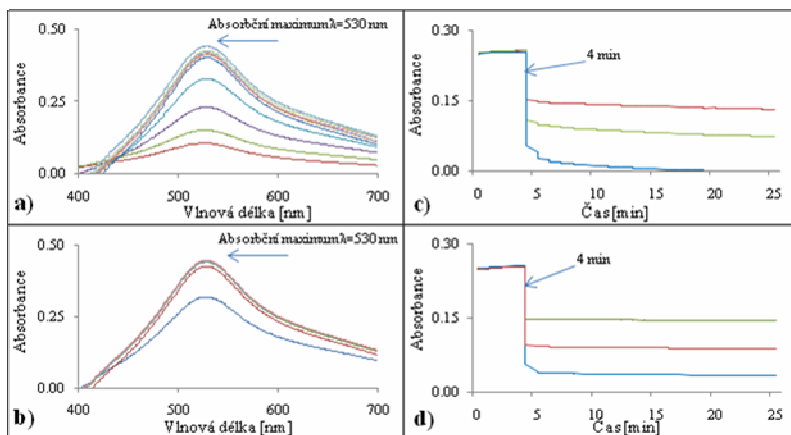


Obr. 1 Vliv kadmia na růst kalusů slunečnice roční kultivaru Aloha po dobu osmidenního experimentu.

V další části práce jsme se zabývali optimalizací tří různých metod pro stanovení antioxidační aktivity. V procesu optimalizace jsme porovnávali odezvy dvou typů standardů (kyselina gallová a trolox) a následně optimalizované metody použili pro stanovení v reálných vzorcích.

Cílem bylo stanovit omezení, časové průběhy reakcí, reakční kinetiku, tří rozdílných fotometrických testů - DPPH, ABTS a Free Radicals při plně automatizovaném uspořádání. Na spektrofotometru (SPECORD 210) byly stanoveny nejvhodnější vlnové délky pro měření antioxidační aktivity pomocí jednotlivých metod a na automatickém analyzátoru byly pro všechny metody zaznamenány časové průběhy reakcí a jejich reakční kinetika.

Stanovení nejvhodnější vlnové délky pro měření bylo vyzkoušeno na patnácti různých koncentracích standardu. Jak můžeme vidět na obrázku 2a) a 2b) oba použité standardy mají shodné absorpční maximum, ale je vidět že u většiny koncentrací troloxu (2b) dochází k překrývání absorpčních průběhů což má asi i vliv na časové průběhy reakcí jak můžeme vidět na obrázku 2c) a 2d). U časového průběhu troloxu, kde oproti průběhům standardům kyseliny gallové jsou křivky blíže u sebe a může nastat jejich překrytí a tak i nesprávné stanovení antioxidační aktivity a reakční kinetiky u reálných vzorků.



Obr. 2 Optimalizace stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH. **a)** Stanovení absorpčního maxima na kyselinou galovou **(b)** na trolox. Časový průběh reakce antioxidační aktivity pro DPPH **c)** u kyseliny gallové a **d)** u troloxu pro koncentrace standardu 0.1; 1 a 100 mg/ml.

ZÁVĚR

Ze získaných výsledku vyplývá, že ionty kadmia vyskytující se v životním prostředí mohou být akumulovány do rostlin a ovlivňovat tak jejich růst. Při pokusech na explantátových kulturách slunečnice roční byla prokázána počáteční inhibice růstu, ale to jen do té doby, než došlo k adaptaci explantátové kultury, poté již docházelo ke stimulaci růstu. Ke stimulaci růstu již však nedochází po účinku příliš vysokých koncentrací kadmiových iontů (500 μ M a více). Tyto koncentrace prokazovaly nejvyšší inhibici růstu. V další části naší práce jsme na základě optimalizačních analýz zjistili, že kyselina gallová je vhodnějším standardem k porovnávání antioxidačních aktivit u reálných vzorků.

Poděkování: výsledky byly získány za laskavé podpory projektů IGA MENDELU IP 7/2010, REMEDTECH GA ČR 522/07/0692 a IGA MENDELU TP 1/2010.

LITERATURA

- Azevedo H., Pinto C.G.G., Santos C. (2005): Cadmium effects in sunflower: Nutritional imbalances in plants and calluses. *J. Plant Nutr.* 28(12):2221-2231.
- Diopan V., Shestivska V., Adam V., Macek T., Mackova M., et al. (2008): Determination of content of metallothionein and low molecular mass stress peptides in transgenic tobacco plants. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 94(3):291-298.
- dos Santos C.L.V., Gomes S., Caldeira G. (2000): Comparative responses of *Helianthus annuus* plants and calli exposed to NaCl: II. Selection of stable salt tolerant calli cell lines and evaluation of osmotic adjustment and morphogenic capacity. *J. Plant Physiol.* 156(1):68-74.

Hagemeyer J., Lohrmann D., Breckle S.W. (1993): Development of annual xylem rings and shoot growth of young beech (*Fagus-sylvatica* L) grown in soil with various Cd and Zn levels. *Water Air Soil Pollut.* 69(3-4):351-361.

Kaiser J., Galiova M., Novotny K., Cervenka R., Reale L., et al. (2009): Mapping of lead, magnesium and copper accumulation in plant tissues by laser-induced breakdown spectroscopy and laser-ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Spectrosc. Acta Pt. B-Atom. Spectr.* 64(1):67-73.

Kotrba P., Najmanova J., Macek T., Ruml T., Mackova M. (2009): Genetically modified plants in phytoremediation of heavy metal and metalloid soil and sediment pollution. *Biotechnol. Adv.* 27(6):799-810.

Krystofova O., Shestivska V., Galiova M., Novotny K., Kaiser J., et al. (2009): Sunflower Plants as Bioindicators of Environmental Pollution with Lead (II) Ions. *Sensors* 9(7):5040-5058.

Krystofova O., Zehnalek J., Adam V., Trnkova L., Babula P., et al. (2010): Effect of cadmium(II) ions on sunflower callus culture. *Listy Cukrov. Reparske* 126(11):400-400.

Macek T., Kotrba P., Svatos A., Novakova M., Demnerova K., et al. (2008): Novel roles for genetically modified plants in environmental protection. *Trends Biotechnol.* 26(3):146-152.

Macek T., Rezek J., Vrchatova B., Beranova K., Uhlík O., et al. (2007): Phytoremediation. *Lis. Cukrov. Repar.* 123(9-10):312-314.

Mackova M., Francova K., Najmanova J., Lovecka P., Novakova M., et al. (2007): Molecular aspect of phytoremediation. *Lis. Cukrov. Repar.* 123(9-10):315-319.

Makovnikova J., Barancikova G., Dlapa P., Dercova K. (2006): Inorganic contaminants in soil ecosystems. *Chem. Listy* 100(6):424-432.

Murashige T., Skoog F. (1962): A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15(3):473-497.

Prasad M.N.V. (1995): Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants. *Environ. Exp. Bot.* 35(4):525-545.

Santos C., Caldeira G. (1998): Callus formation and plant regeneration from protoplasts of sunflower calli and hypocotyls. *Acta Soc. Bot. Pol.* 67(1):31-36.

Santos C.V., Falcao I.P., Pinto G.C., Oliveira H., Loureiro J. (2002): Nutrient responses and glutamate and proline metabolism in sunflower plants and calli under Na₂SO₄ stress. *J. Plant Nutr. Soil Sci.-Z. Pflanzenernahr. Bodenkd.* 165(3):366-372.

ISOELECTRIC PH FIELD STEP FOCUSING

Šišperová E., Glovinová E., Pospíchal J.

Department of Chemistry and Biochemistry, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: el.siska@seznam.cz

ABSTRACT

The capillary electrophoretic method/procedure for the focusing and selective pre-concentration of ampholytes in non-symmetrical pH field step gradient with subsequent on-line ITP analysis was developed and verified. The method is based on creation/formation of stationary neutralization reaction boundary in the column, where ampholytes are selectively focused.

Non-symmetrical pH field step gradient was realized by addition /use/ of ampholyte with convenient properties to the buffer on one side of the neutralization reaction boundary, whereas the second side contained only simple non-ampholytic buffers.

Such electrolyte system has more convenient properties for the focusing over classical simple buffer systems. The pH span of this system can be easily lowered on one half, i.e. from neutral to alkaline, and/or acidic region, which brings more selectivity in focusing, whereas the buffered systems must cover all pH from alkaline to acidic region.

The electrolytes can be set up such a way, that the pH on the ampholyte side can be constant, whilst the pH on the buffered side can be changed, still keeping boundary stationary. This is great advantage especially during the continuous dosing, where dosing electrolyte must have constant pH to keep the reproducibility /– constant fluxes of dosed ions/ and opposite-primary electrolyte can vary pH to set up selectivity.

For the verification of the method, synthetic low-molecular pI markers were selectively pre-concentrated from the mixture and analyzed by ITP [1]. At pH 6.95 of dosing electrolyte, ampholyte of pI 8.6 was pre-concentrated 14.4 times, ampholyte of pI 7 was pre-concentrated 4.1 times and ampholyte of pI 6.2 was pre-concentrated only 1.4 times in the time of 7000sec.

Key words: ITP, Isoelectric focusing, field step gradient focusing

Acknowledgments: This work was supported by Internal Grant Agency of Mendel University in Brno, Czech Republic, Grant No. TP 1/2010 and Grant Agency of Czech Republic No. 06/10/1219.

ÚVOD

Rozvoj analytických metod je v posledních letech spjat především s potřebou analyzovat složité vzorky biologického charakteru. Tato matrice je pro běžné analytické metody poměrně složitá a z tohoto důvodu dochází k vývoji nových separačních metod a jejich kombinací. Mezi nejpokročilejší metody patří elektromigrační separační metody, které umožňují provést v jednom analytickém běhu nejenom vlastní analýzu-separaci, ale také předkoncentraci a předseparaci. Cílem naší práce bylo vyvinout takovouto ideální analytickou metodu se selektivní on-line předkoncentrací a předseparací založenou na výhodných analytických vlastnostech stojícího neutralizačního rozhraní – pH skoku.

Pro stanovení a úspěšné zakoncentrování jednotlivých amfolytů byl vyvinut vhodný elektrolytový systém, vytvářející neutralizační rozhraní. Toto neutralizační rozhraní vzniká mezi kyselou a zásaditou částí elektrolytu pomocí H^+ a OH^- iontů. Dochází zde k selektivní předkoncentraci jednotlivých amfolytů, podle jejich rozličných pI bodů. Na základě pI jsou amfolyty zakoncentrovány více, méně, či vůbec. Pokud pI jednotlivých amfolytů spadá mezi hodnoty pH obou krajních elektrolytů dojde k jejich úspěšnému zafokusování. Ostatní amfolyty pak rozhraním buď procházejí nebo do něho nedomigrují.

Jsou-li analyzované amfolyty přítomny v části elektrolytového systému - v tzv. dávkovacím elektrolytu, 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 rozdílným pI jednotlivých amfolytů a zvoleným pH obou krajních elektrolytů, tvořících neutralizační rozhraní - pH skok. Z matematického modelu popisujícího neutralizační rozhraní vyplývá, že v doposud popsané elektrolytové systémy, založené na jednoduchých anorganických solích, musí mít symetrický rozsah pH krajních elektrolytů se středem pH 7,12. Pro zvýšení selektivity předkoncentrace jsme vyvinuli elektrolytový systém s nízkomolekulárním amfolytem, který umožňuje použít asymetrický rozsah pH krajních elektrolytů se středem v kyselé oblasti pH.

MATERIÁL A METODIKA

Elektrolyty - Elektrolyty byly vyvinuty a pufrovány 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 terminátoru při mobilisaci. Zvolené pH bylo nastaveno s ohledem na nejlepší pufrovací schopnost na hodnotu pK protiionu.

Základní elektrolyty pro tvorbu neutralizačního rozhraní se skládají z alkalické a kyselé části. Jako alkalický základní elektrolyt byl zvolen octan amonný upravený hydroxidem amonným na

MENDELNET 2010

pH=8,62. Kyselá část elektrolytu - octan amonný upravený kyselinou octovou má mít standardně hodnotu pH 5,4. Při těchto hodnotách pH elektrolytů jsou velikosti opačných toků H^+ a OH^- iontů v rovnováze a neutralizační rozhraní stojí. Přídavkem vhodné koncentrace aminokyseliny histidinu do kyselého elektrolytu dojde ke zvýšení pH na hodnotu 6,95 a zároveň k vázání solvolytického toku H^+ iontu na histidinový kation, při zachování jeho velikosti a směru pohybu. To umožní i při změně pH jednoho elektrolytu zachovat stojící neutralizační rozhraní. Místo H^+ iontů jsou neutralizovány histidinové kationy za tvorby zwitterionového histidinu s efektivním nulovým nábojem.

Přídavkem vzorku do jednoho elektrolytu / v našem případě do elektrolytu s histidinem / se tento stává dávkovacím elektrolytem a působením elektrického proudu jsou z něj elektrokinetiky dávkovány jednotlivé amfolyty. Systém byl přizpůsoben tak, aby se z dávkovacího elektrolytu, umístěného v terminační komůrce, o pH 6,95, selektivně nadávkovaly jen některé amfolyty, k čemuž přispívá zvolené pH elektrolytu. Takový systém umožní mobilizaci a identifikaci jednotlivých amfolytů ve vytvořených barevných zónách analyzovaných v detektoru.

Jako mobilizační elektrolyt pak může sloužit pro kationtovou mobilizaci H^+ iont, tedy kyselina octová, pro aniontovou mobilizaci OH^- iont, tedy hydroxid amonný. V našem případě jsme používali pouze kationtovou mobilizaci.

Povrchově aktivní látka, polyethylenglykol (PEG) - Umožňuje zvýšit viskozitu, což omezí elektroosmózu roztoku a dosažení ostřejších zón.

Vzorek – Nízkomolekulární syntetická barviva o pI 8,6, 7 a 6,2.

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 dávkuje 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 250 μA a 75 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 elektrolytu 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 iontů 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 v zónách na pozitivní, 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 izotochoforetickou analýzu.

VÝSLEDKY A DISKUZE

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 k rozdílnému zakoncentrování jednotlivých barevných amfolytů. Amfolyt o pI 8,6 prokazuje, že délka zóny přímo úměrně závisí na dávkovacím čase. Další barevný amfolyt o pI 7 se zakoncentrovává již méně díky jeho nižšímu pI a amfolyt o pI 6,2 se nezakoncentrovává již skoro vůbec. Z toho plyne, že pokud bychom použili amfolyt ještě o nižším pI nejenom že by nedošlo k zafokusování, ale jeho množství by se ještě snížilo o proti původní koncentraci, což by bylo způsobeno jeho migrací pryč opačným směrem z rozhraní.

Složení elektrolytů:

Vedoucí elektrolyty: L1: 0,01M NH₄OH + 0,01M NH₄Ac + 1% PEG + 400ppm povrchově aktivní látky, pH=8,62

L2: 0,01M NH₄Ac + 1% PEG + 400ppm povrchově aktivní látky, pH=6,75

Zakončující a mobilizační elektrolyt: T2: 0,03M HAc, pH=3,12

Dávkovací elektrolyt: T1: 0,002M HIS + 0,01M NH₄Ac + vzorek amfolytů, pH=6,95

Vzorek: nízkomolekulární syntetické barvy o pI=8.6+7+6.2

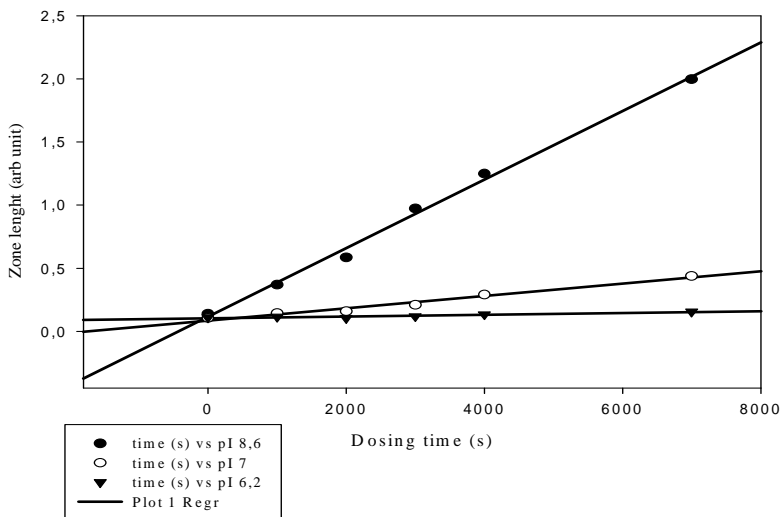
Tab 1: Závislost délky zóny na dávkovacím čase

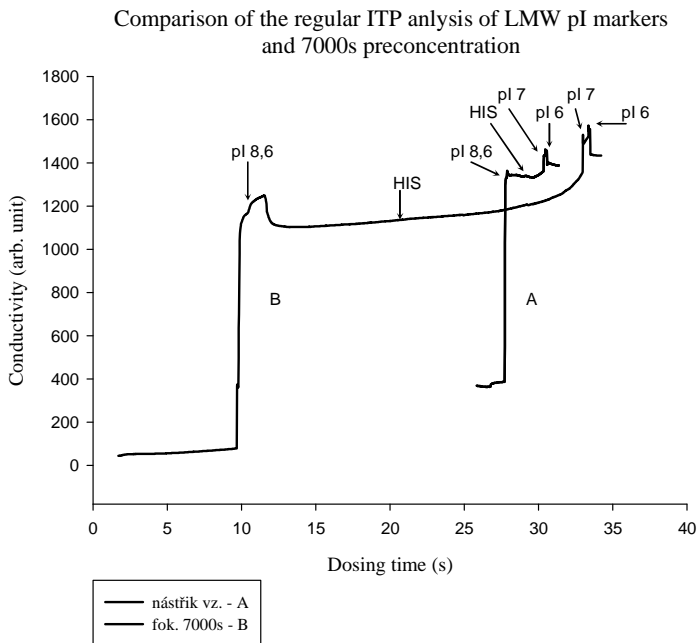
čas dávkování (s)	pI 8,6	pI 7	pI 6,2
0	0,139	0,106	0,109
1000	0,369	0,142	0,115
2000	0,585	0,158	0,105
3000	0,972	0,208	0,118
4000	1,248	0,29	0,134
7000	1,997	0,438	0,156

$$r^2 = 0,995$$

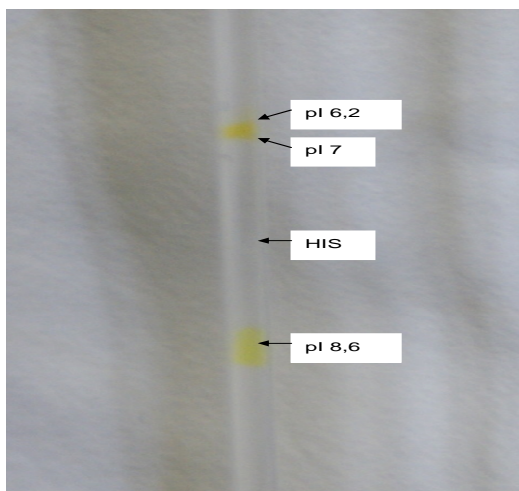
Obr. 1: Závislost délky zóny na dávkovacím čase

Dependence of the zone length
on the dosing time/constant conc of LMW pI markers
(8.6,7,6.2)





Obr. 3: Fokusované zóny



Viditelné rozhraní mezi jednotlivými zónami, vzniklé zóny jsou dokonale oddělené a čisté.

ZÁVĚR

Byl vytvořen elektrolytový systém a metoda fokusace v asymetrickém skokovém gradientu pH, který byl ověřen na modelových nízkomolekulárních syntetických barevných amfolytech. Dosažený stupeň zakoncentrování závisí na pI jednotlivých amfolytů a době fokusace, za dobu 7000 sec. došlo k zakoncentrování amfolytů o pI 8,6 14,4krát, pI 7 4,1krát a pI 6,2 1,4krát . Tím jsme prokázali správnost a účinnost metody. Tato metoda řádově rozšiřuje analytické schopnosti standardních elektromigračních metod a může najít uplatnění při pokročilých analýzách biologických vzorků.

LITERATURA

Pospíchal J., Glovinová E. (2001): Analytical Aspects of Carrier Free Isoelectric Focusing, Journal of Chromatography, 918(1): 195-203.

Slais, K., Friedl, Z. (1994): Low-Molecular-Mass pI Markers For Isoelectric-Focusing , Journal of Chromatography A, 661 (1-2): 249-256.

THE USE OF μ ELUTION PLATE AS A PART OF HYPHENATED EXTRACTION METHOD FOLLOWED BY RRLC-MS-MS ANALYSIS FOR THE ISOLATION AND DETERMINATION OF PHENOLIC COMPOUNDS IN SEA ALGAE

Šnóblová M.¹, Plaza M.², Lojková L.¹, Valentová E.¹, Vlček J.¹, Klejduš B.¹

¹Department of Chemistry and Biochemistry, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

²Laboratory of Foodomics, Institute of Industrial Fermentations (CSIC), Juan de la Cierva 3, 28006 Madrid, Spain

E-mail: xsnoblov@node.mendelu.cz

ABSTRACT

Development and application of μ Elution plate for the extraction of phenolic compounds from sea algae and their analysis using RRLC/MS/MS is described. The extraction and identification of phenolic compounds is presented from five different sea algae samples, two brown algae (*Cystoseira abies* + *Cystoseira abies* dried with nitrogen, *Undaria pinnatifida*) and two red algae (*Sargassum muticum*, *Chondrus crispus*) via solid phase extraction (SPE) using Oasis μ Elution plate. Selected groups of benzoic acid derivatives (*p*-hydroxybenzoic, protocatechuic, gallic, vanillic and syringic acid), hydroxybenzaldehydes (4-hydroxybenzaldehyde and 3,4-dihydroxybenzaldehyde) and cinnamic acid derivatives (*o*-coumaric, *p*-coumaric, caffeic, ferulic, sinapic and chlorogenic acid) were investigated.

Recoveries in range 96–100% were obtained, with LOQs 0.01–2.1 pg/inj and LODs 0.03–7.1 pg/inj, i.e. in the range of low μ m. The μ SPE enabled to avoid the evaporation step and pre-concentrate the analytes directly. The applied method allowed a simultaneous determination of phenols in less than 5 minutes. Thus, the analysis of different plant species containing trace amounts of polar phenols became possible.

Phenolic compounds contained in algae were extracted using Oasis μ Elution plate for its increased sensitivity and pre-concentration effect – extract volume is only 500 μ l. Robotic mechanism of the HPLC instrument is able to use the μ Elution plate trapping part directly and take samples from it.

Key words: μ Elution plate, hyphenated techniques, sea algae, phenolic compounds

Acknowledgments: The work has been supported by grants No. 525/07/0338 and 525/08/P540 from Czech Science Foundation and by the grant of the IGA AF Mendelu in Brno no. TP 1/2010. Merichel Plaza thanks CSIC for her I3P fellowship.

INTRODUCTION

In the last years, the development of a systematic, high-throughput analysis that optimizes sample preparation and chromatography to minimize matrix effects in bioanalytical LC/MS/MS assays is increasingly to the fore of interest. The recent introduction of the Waters Oasis μ Elution SPE plate and Rapid Resolution Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Analysis has become widely spread technique and new trend in separation sciences. The advantages of Oasis μ Elution plate for the rapid isolation of analytes from complex matrices are that it can perform for clean-up and pre-concentration with very small sample volumes. Produced extracts can be directly injected, eliminating the time-consuming evaporation and reconstitution steps. Reversed-phase and polymeric mixed-mode SPE sorbents (both reversed phase and ion exchange retention mechanisms) produce cleaner extracts and reduce matrix effects without losing the searched analytes. One of the aims of the methodology was to advance various solid phase extractions and selected the one with the best reproducible and recovery results in quantifying a high range of phenolic compounds from different sea algae. Comparisons were made among several sorbents, including mixed-mode sorbents and SampliQ sorbents. First, in hyphenated series of experiments the procedures of samples preparation on Ika Ultra-Turrax® Tube Drive, the extraction techniques pressurized-liquid extraction (PLE) and ultrasound-assisted extraction are described. Used techniques were the off-line combined with Oasis μ Elution plate.

Phenolic compounds are one of the most widely occurring groups of bioactive compounds and algae can be their a very interesting natural source. Phenols are classified as secondary metabolites derivates of the pentose phosphate, shikimate, and phenylpropanoid pathways in plants [9]. These compounds are considered to have important physiological and morphological roles in plants; they also play an important role in growth and reproduction, providing protection against pathogens and predators [2]. They can provide physiological benefits, such as anti-atherogenic [6], anti-inflammatory [7], antimicrobial [11], antioxidant [8], anticarcinogenic [7] effects, among others [3, 10]; for instance, they have been associated with the health benefits derived from consuming high levels of fruits and vegetables, which have been attributed to their antioxidant activity [1]. Nowadays, there has been a growing interest in research, development and commercialization of algae as functional food ingredients. These materials are preferred by consumers to have a natural origin (i.e. non-synthetic origin) being commonly extracted from natural sources, such as macroalgae and microalgae, plants and other organisms. Algae contain a secondary metabolism products that induce physiological effects in mammals including human. Many of them possess antioxidant, antimicrobial and antiviral activities. In fact, several researchers have reported the relationship between phenolic content and the antioxidant capacity of micro- and macro-algae [4, 5,

8]. The discovery of new extraction techniques and analytical methods is important for the study of metabolites in algae and similar organisms with respect to their applications in the pharmacology and the food industry. The goal of this work was to report results of methodology available to concentrate analytes using Oasis μ Elution plate, identification and quantitative LC/MS/MS determination of phenolic compounds from marine algal material.

MATERIALS AND METHODS

Chemicals, standards and solvents

Standards of phenolic compounds were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MI, USA) and Fluka (Deisenhofen, Germany). Hydrochloric acid and ammonia were purchased from Penta. Acetic acid was purchased from Fluka and ascorbic acid from Sigma-Aldrich. HPLC grade acetonitrile, methanol and other organic solvents were obtained from Sigma-Aldrich (St. Louis, MI, USA). The standard of phenolic compounds was prepared by dissolution in acetonitrile (5%, v/v) with 0.2% acetic acid aq (95%, v/v). The solutions were stored in darkness at 4 °C. All reagents and standard solution were prepared using MilliQ deionised water (Millipore, Bedford, USA).

Real samples

Sea algae samples (*Sargassum muticum*, *Undaria pinnatifida*, *Chondrus crispus* and *Cystoseira abies*) were obtained from the Laboratory of Foodomics, Institute of Industrial Fermentations, Madrid, Spain. All real samples were obtained in lyophilized and homogenized form in more than sufficient quantity.

Extraction techniques

Ika Ultra-Turrax® Tube Drive

50 mg of algae with 20 mg ascorbic acid and 5 ml aqueous methanol (80%, v/v) was extracted on Ika Ultra-Turrax® Tube Drive, filtered and concentrated to 1 ml on rotary vacuum evaporator (IKA RV 05-ST) with an HB 4 water bath (IKA-Werke). Extracts were used for series of alcalic and acid hydrolysis. The produced extracts were purified using Oasis μ Elution plate.

The same algae samples were sonicated 1 min before extraction on Ika Ultra-Turrax® Tube Drive, though two series of samples were gained. One of them without and one with usage of ultrasound.

Pressurized liquid extraction (PLE)

This technique has received different names, such as pressurized liquid extraction (PLE), accelerated solvent extraction (ASE), and pressurized solvent extraction (PSE).

Pressurized liquid extraction (PLE) is a registered technique that combines elevated temperature and pressures with liquid solvents to achieve efficient and fast extraction. This procedure can be used for the analytes from the solid and semi-solid samples matrix.

The instrument, an extractor PSE-one from Applied Separations (USA) was used for pressurized solvent extraction of phenolic compounds in algae. The extraction technique was based on a two-step elution with aqueous methanol (80 %, v/v). First 50 mg of sample of alga with 20 mg ascorbic acid and 300 μ L aqueous methanol (90%, v/v) was sonicated 15 min and than packed into a filter paper and placed into a 10 ml stainless steel extraction cell. The extraction was conducted under the following condition: pre-heating period: 5 min; the solvent 80 % methanol in water (v/v); extraction volume: 10 ml; temperature: 130 °C; pressure: 130 bar; static time: 10 min; 1 min using pressurized nitrogen; static cycle: 2. Both the PLE extracts were collected in glass vials with PTFE coated rubber caps.

Extracts were concentrated to 1 ml and used for series of alcalic and acid hydrolysis.

Ultrasound-assisted extraction

50 mg of sample of algae with 20 mg ascorbic acid were sonicated 1, 2, 3, 4, 5, 8 and 10 min with 1 ml aqueous methanol (80%, v/v) at room temperature using a Bandelin Sonopuls - Ultrasonic homogenisers (Bandelin GmbH & Co. KG, Germany). The obtained extracts were refilled to 5 ml, filtered and concentrated to 1 ml. Extracts were used for series of alcalic and acid hydrolysis. The best results were recognized with 8 min of sonication.

Stationary methanol samples, passive leaching extraction

50 mg of sample of algae with 20 mg ascorbic acid and 5 ml aqueous methanol (80%, v/v) was extracted for 10 min at 5°C. The obtained extracts were filtered and concentrated to 1 ml. Extracts were used for series of alcalic and acid hydrolysis.

The same algae samples were sonicated 1 min before 10 min extraction at 5°C. The obtained extracts were filtered and concentrated to 1 ml. Extracts were used for series of alcalic and acid hydrolysis.

Alcalic and acid hydrolysis

This method was modified according to method used by Ayaz (2007). Samples concentrated under vacuum were acidified by 6 M HCl to pH 2 and refilled with MilliQ water onto 4,5 ml. The aqueous phase was divided into three aliquots, one of which was hydrolysed with 2 M NaOH for 4h under a nitrogen atmosphere at room temperature. After acidification to pH 2 (6 M HCl), phenolic acids released from the soluble esters were extracted at μ Elution plate. To the second aliquot, 6 M HCl was added and the medium was hydrolysed under a nitrogen atmosphere for 1h in a boiling water bath. Phenolic acids released from soluble glycosides were also separated at μ Elution plate. The third aliquot was extracted at μ Elution plate and free phenolic acids were obtained. The solid residue obtained after filtration was dissolved in 2 M NaOH for 4h and, after acidification to pH 2

(6 M HCl), phenolic acids released from methanol-insoluble ester-bound acids were extracted at μ Elution plate.

Oasis μ Elution plate

Discovery Oasis μ Elution plate with different cartridges were used for the efficient extraction of phenolic compounds from the sea algae. The used cartridges were filled with a macroporous copolymers with reversed-phase capability. The specification of five different sorbents in SPE cartridges is presented in **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.** The interaction between phenolic compounds and *N*-vinylpyrrolidone-divinylbenzene copolymer is based on reversed-phase and mixed mode exchanges mechanisms. For optimization the isolation of the substances the elution study was performed. The elution study allowed to find the best conditions in individual washing and elution steps for the maximum separation selectivity of analytes. Selection of pH was assayed because retention of an analyte depends on the acidic/basic character of a substance and organic solvent concentration. Both parameters were combined to optimize the method. The elution procedure was applied as follows: The sorbents were conditioned with 50 μ l 100% methanol and equilibrated with 50 μ l MilliQ water than standard solution (500 μ l) diluted with 2 M HCl was applied. Interferences at MCX, WAX and HLB were washed with aqueous methanol (% , v/v) with the increasing methanol content (5 – 100% methanol) containing 2% acetic acid. The analytes of interest were eluted with aqueous methanol (% , v/v) with the increasing methanol content (5 – 100% methanol) containing 2% ammonium hydroxide. For MAX and WCX plates wash and elution solutions were swapped. One of the results of the elution studies for the phenolic compounds are presented in Fig. 1 and Fig. 2. All fractions were collected in the collection plates and directly injected into the RRLC-MS/MS system. Blank extractions were performed to test analyte residues in the system. Developed, optimized, and validated extraction method using Oasis μ Elution plate was applied for real samples.

Tab. 1 Different sorbents in Oasis μ Elute Plate

Commercial name	Sorbent type	Particle size/sorbent weight	Supplier
HLB	N-vinylpyrrolidone-divinylbenzene copolymer	30 μ m/2 mg	Waters
MCX	Mixed mode Cation-eXchange and reversed-phase (N-vinylpyrrolidone-divinylbenzene copolymer)	30 μ m/2 mg	Waters
MAX	Mixed-mode Anion-eXchange and reversed-phase sorbent	30 μ m/2 mg	Waters
WCX	Mixed-mode Weak Cation-eXchange and reversed-phase sorbent.	30 μ m/2 mg	Waters
WAX	Mixed-mode Weak Anion-eXchange and reversed-phase sorbent	30 μ m/2 mg	Waters

Instrumentation

As a chromatography analytical tool was used Agilent 1200 Series Rapid Resolution LC system (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) consisted of on-line degasser, binary pumps, high performance SL autosampler, thermostated column compartment, photodiode array UV-VIS detector. The ChemStation software was utilized for chromatography development. The system was coupled on-line to MS detector Agilent Technologies 6460 Triple quad LC/MS. MRM transitions were monitored for the compounds of interest. For identification and quantification of compounds quasi-molecular ions $[M-H]^-$ and specific fragments were analysed by quadrupole mass spectrometry analyzer. Final optimized conditions were reached on Zorbax SB-C18 column (2.1 x 50mm, 1.8 μ m). Phenols were separated at flow rate of 0.8 ml/min with linear gradient of mobile phase acetonitrile (% , v/v) with 0.2% acetic acid aq (% , v/v) set according to the following profile: 0 min 8% ACN, 0.79 min 8% ACN, 1.19 min 20% ACN, 1.99 min 20% ACN, 3.0 min 25% ACN, 3.5 min 8% ACN. Capillary voltage was 4 kV. Fragmentation (V) and collision energy (eV) are as follows: 80, 100, 120 V and 10, 20 eV.

Chromatography:

Column: Zorbax SB-C18, 2.1x50 mm, 1.8 μ m

Temperature: 26°C

Mobile Phase: acetonitrile/0.2 % acetic acid (v/v)

Flow: 0,8 ml/min

Gradient: 0 min 8% ACN, 0.79 min 8% ACN, 1.19 min 20% ACN, 1.99 min 20% ACN, 3.0 min 25% ACN, 3.5 min 8% ACN

Stop time: 4.5 min

Post time: 3 min

 λ of detection: 254, 210, 280 nm

Mass spectrometry:

Source parameters:

Gas temperature: 350°C

Gas flow: 12 l/min

Nebulizer gas pressure: 50 psi

RESULTS AND DISCUSSION

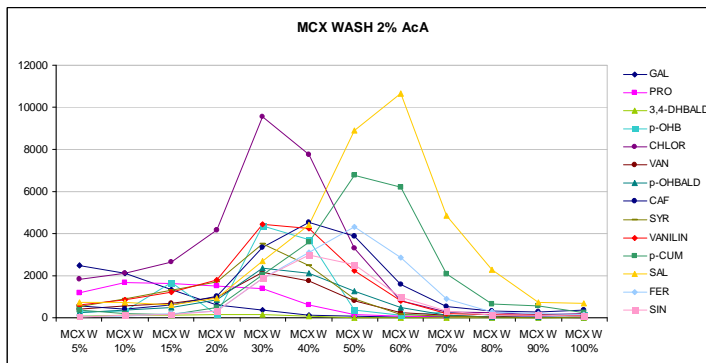


Fig. 1. Elution study of phenolic compounds with MCX μ Elution plate - % of methanol with 2% acetic acid

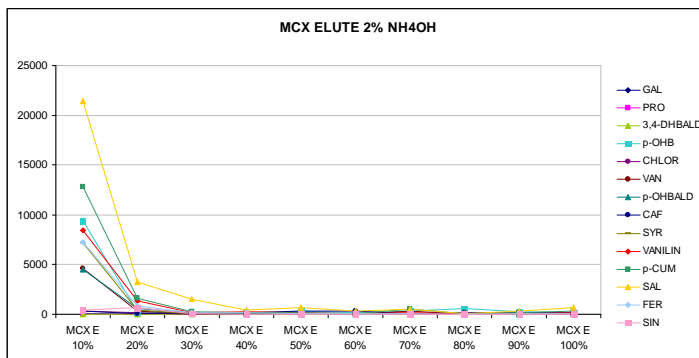


Fig. 2. Elution study of phenolic compounds with MCX μ Elution plate - % of methanol with 2% ammonium hydroxide

Table 2. Phenolic acids contents ($ng \cdot g^{-1} DW$) in fractions of sample alga – *Cystoseira abies*

	GAL	PRO	3,4DHBALD	POH	CHLOR	VAN	POHALD	CAF	SYR	VANIL	PCUM	SAL	FER	SIN
1 F	210.85	399.63	254.53	2278.85	367.13	2402.90	1035.53	25.70	145.51	1958.57	21.88	291.02	31.71	0.00
2 F	721.12	2053.64	361.24	2670.16	18.60	2343.80	1284.45	361.56	221.66	2241.42	77.50	1623.68	108.83	9.47
3 F	496.99	1048.57	202.08	4836.46	198.36	3103.48	1111.37	345.30	202.94	1699.24	52.54	479.68	64.61	0.00
4 F	0.00	23.37	0.00	136.97	60.74	743.80	128.60	0.00	42.39	630.40	4.99	129.83	23.05	0.00

MENDELNET 2010

Table 3. Phenolic acids contents (ng.g⁻¹ DW) in fractions of sample alga – *Chondrus crispus*

	GAL	PRO	3,4DHBALD	POH	CHLOR	VAN	POHALD	CAF	SYR	VANIL	PCUM	SAL	FER	SIN
1 F	58.26	596.98	288.81	1797.10	249.38	2770.22	2652.67	38.72	154.52	2843.03	75.42	511.27	59.04	2.82
2 F	56.39	689.66	289.00	1630.93	107.33	1788.90	1943.22	216.40	163.17	2588.49	46.54	596.84	58.41	0.00
3 F	259.58	30151.8	528.31	2304.47	44.92	2821.58	2818.29	366.04	215.59	3926.99	88.23	1813.02	122.91	0.00
4 F	0.00	20.50	0.00	134.21	44.81	843.02	128.86	0.00	42.25	641.63	4.19	99.12	18.48	0.00

Table 4. Phenolic acids contents (ng.g⁻¹ DW) in fractions of sample alga – *Sargassum muticum*

	GAL	PRO	3,4DHBALD	POH	CHLOR	VAN	POHALD	CAF	SYR	VANIL	PCUM	SAL	FER	SIN
1 F	678.98	665.81	197.89	20186.22	290.41	1929.63	1528.66	9.75	116.33	1947.26	33.22	436.07	48.38	0.00
2 F	5640.71	4044.99	490.49	21752.56	261.82	2545.98	1927.06	279.64	189.07	2072.19	141.07	1617.69	123.48	0.00
3 F	3255.60	2021.79	468.87	37505.36	55.88	2047.99	1248.41	454.10	140.79	1829.56	39.34	611.91	27.45	0.00
4 F	0.00	62.25	0.90	345.06	40.48	759.98	185.01	0.00	30.67	1325.73	20.10	89.28	22.14	0.00

Table 5. Phenolic acids contents (ng.g⁻¹ DW) in fractions of sample alga – *Cystoseira abies* N₂

	GAL	PRO	3,4DHBALD	POH	CHLOR	VAN	POHALD	CAF	SYR	VANIL	PCUM	SAL	FER	SIN
1 F	171.91	309.63	118.27	860.14	328.06	1404.41	980.00	3.62	118.27	1600.97	34.93	308.21	11.20	0.00
2 F	2981.74	3511.61	498.60	1706.86	198.22	2372.83	1888.50	608.65	221.99	2513.91	174.85	2278.46	86.70	0.00
3 F	1711.73	1207.89	304.34	1924.90	129.55	1858.69	979.43	344.83	161.08	1625.10	81.78	683.20	11.00	0.00
4 F	0.00	51.98	32.04	99.81	13.96	664.95	140.85	0.00	16.80	1336.95	21.67	225.02	6.69	0.00

Table 6. Phenolic acids contents (ng.g⁻¹ DW) in fractions of sample alga – *Undaria pinnatifida*

	GAL	PRO	3,4DHBALD	POH	CHLOR	VAN	POHALD	CAF	SYR	VANIL	PCUM	SAL	FER	SIN
1 F	137.01	400.74	181.66	720.54	1170.06	1252.48	1397.01	12.17	104.32	1772.19	34.32	3020.44	21.77	0.00
2 F	1692.01	1659.93	491.92	1327.02	221.71	1569.41	1320.05	403.65	181.40	1774.98	97.08	960.13	16.44	0.00
3 F	3425.86	3613.12	393.73	1076.42	44.05	1277.66	1421.29	684.21	159.95	2069.67	137.69	818.89	94.90	0.00
4 F	0.00	74.11	67.71	273.33	96.76	280.21	67.84	0.00	16.44	947.13	12.95	148.83	1.79	0.00

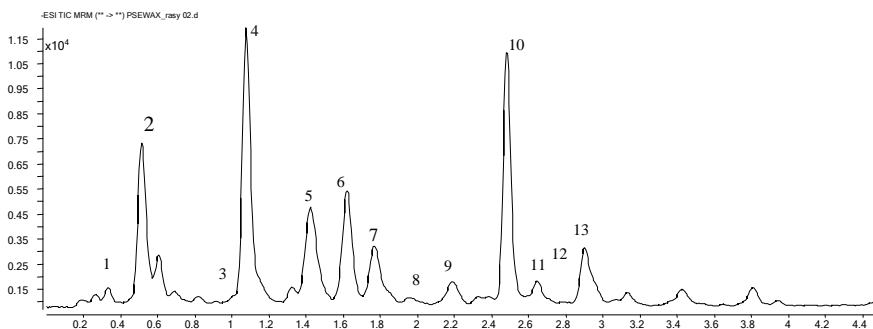
1 F - Fractions free acids

2 F - Fractions soluble esters

3 F - Fractions glycosides

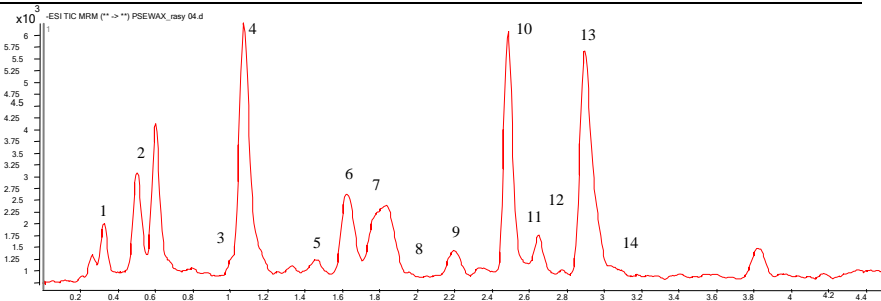
4 F - Fractions insolubles esters

Used method: UAPLE_μSPE – cartridge WAX

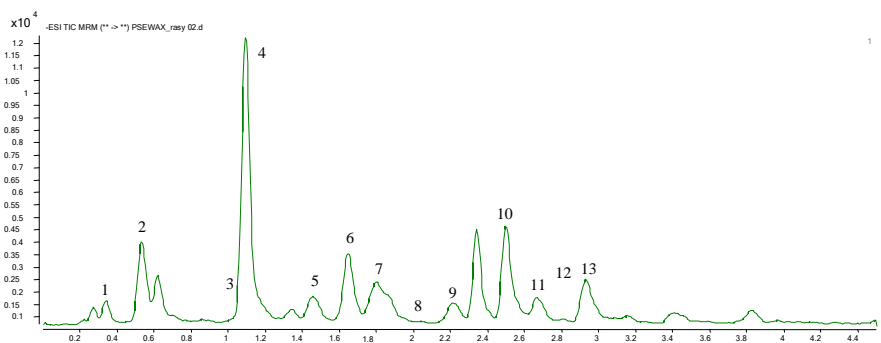


(A)

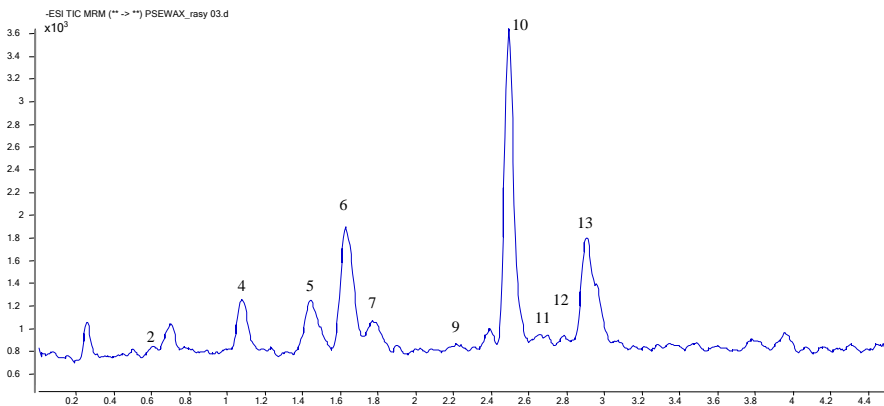
Counts vs. Acquisition Time (min)



(B) Counts vs. Acquisition Time (min)



(C) Counts vs. Acquisition Time (min)



(D) Counts vs. Acquisition Time (min)

Fig. 3. Full-scan total ion chromatograms (TIC) for particular fractions of sea alga sample – *Cystoseira abies*. (A) 1. Fraction free acids, (B) 2. Fraction soluble esters, (C) 3. Fraction glycosides, (D) 4. Fraction insolubles esters. Peak identification: 1. Gallic acid, 2. Protocatechuic acid, 3. 3,4-Dihydroxybenzaldehyde, 4. *p*-Hydroxybenzoic acid, 5. Chlorogenic acid, 6. Vanillic acid, 7. *p*-hydroxybenzaldehyde, 8. Caffeic acid, 9. Syringic acid, 10. Vanilin, 11. *p*-Coumaric acid, 12. Ferulic acid, 13. Salicylic acid, 14. Sinapic acid.

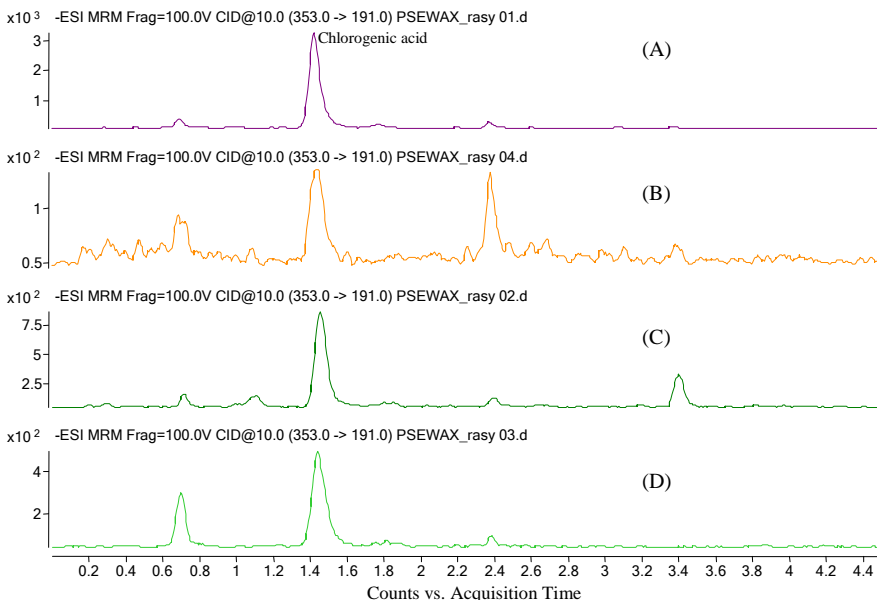


Fig. 4. MRM chromatograms of sea alga sample - *Cystoseira abies* for chlorogenic acid in particular fractions: (A) 1. Fraction free acids, (B) 2. Fraction soluble esters, (C) 3. Fraction glycosides, (D) 4. Fraction insolubles esters.

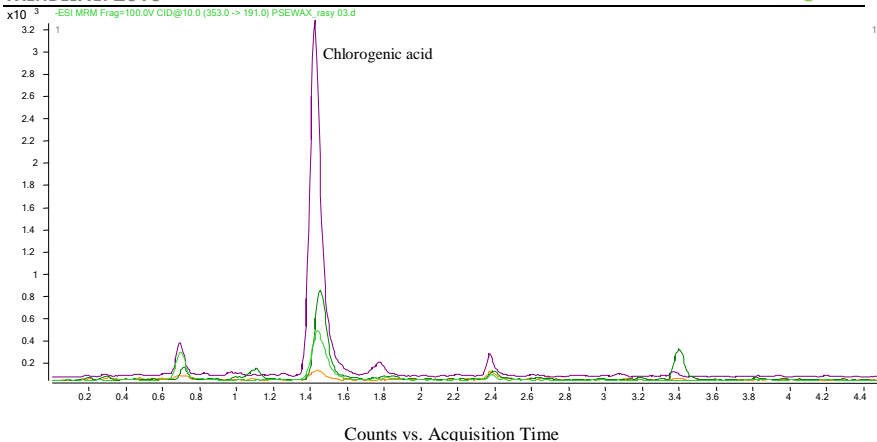


Fig. 5. Comparison of MRM chromatograms of sea alga sample - *Cystoseira abies* for chlorogenic acid in particular fractions: (A) 1. Fraction free acids, (B) 2. Fraction soluble esters, (C) 3. Fraction glycosides, (D) 4. Fraction insolubles esters.

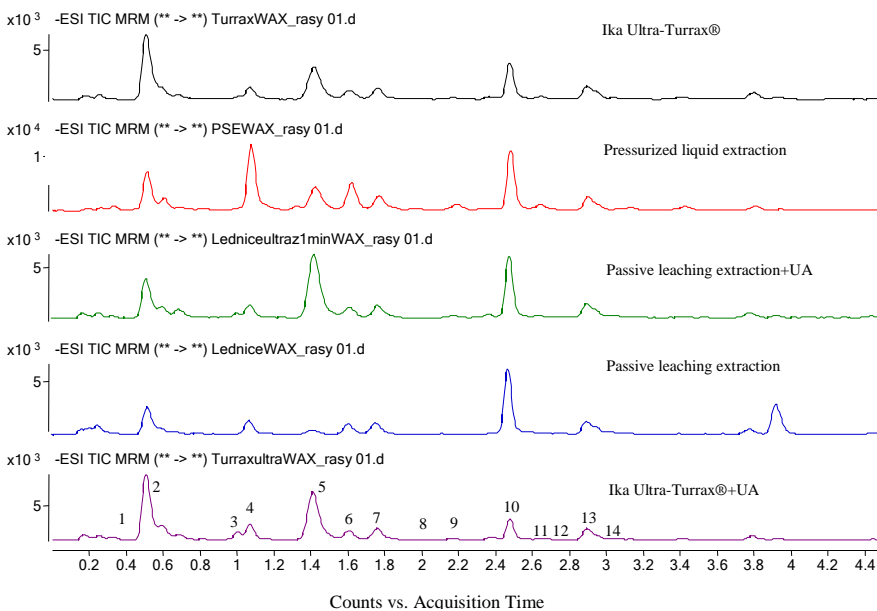


Fig. 6. Comparison of full-scan total ion chromatograms (TIC) of phenolic compounds in different used methods - Ika Ultra-Turrax® Tube Drive, Ika Ultra-Turrax® Tube Drive+Ultrasound-

assisted extraction, Passive leaching extraction, Passive leaching extraction+Ultrasound-assisted extraction, Pressurized liquid extraction (UAPLE μ SPE) (cartridge WAX) for *Cystoseira abies*.

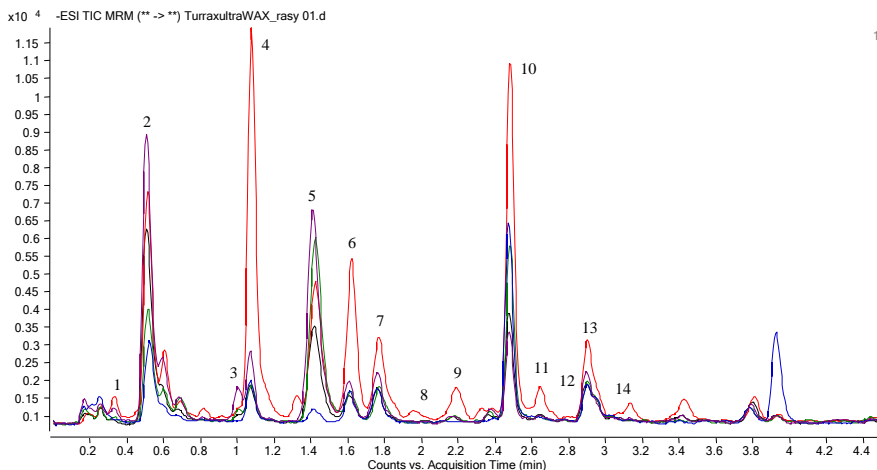


Fig. 7. Comparison of full-scan TIC of phenolic compounds in different used methods - Ika Ultra-Turrax® Tube Drive, Ika Ultra-Turrax® Tube Drive+Ultrasound-assisted extraction, Passive leaching extraction, Passive leaching extraction+Ultrasound-assisted extraction, Pressurized liquid extraction (UAPLE μ SPE) (cartridge WAX) for *Cystoseira abies*.

Table 7. Parameters of MRM transition (negative ESI mode).

Name of phenolic compound	MRM transition (m/z)	Product ions	Fragmentation [V]	Collision energy [eV]
chlorogenic acid	353→191	[M-H] ⁻ →[M-H-caf] ⁻	100	10
syringic acid	197→182	[M-H] ⁻ →[M-H-CH ₃] ⁻	100	10
ferulic acid	193→134	[M-H] ⁻ →[M-H-CO ₂ -CH ₃] ⁻	100	10
caffeic acid	179→135	[M-H] ⁻ →[M-H-CO ₂] ⁻	100	10
gallic acid	169→125	[M-H] ⁻ →[M-H-CO ₂] ⁻	100	10
vanilic acid	167→152	[M-H] ⁻ →[M-H-CH ₃] ⁻	80	10
<i>p</i> -coumaric acid	163→119	[M-H] ⁻ →[M-H-CO ₂] ⁻	100	10
protocatechuic acid	153→109	[M-H] ⁻ →[M-H-CO ₂] ⁻	100	10
vanillin	151→136	[M-H] ⁻ →[M-H-CH ₃] ⁻	100	10
3,4-dihydroxybenzaldehyde	137→108	[M-H] ⁻ →[M-H-COH] ⁻	120	20
salicylic acid	137→93	[M-H] ⁻ →[M-H-CO ₂] ⁻	100	10
<i>p</i> -hydroxybenzoic acid	137→93	[M-H] ⁻ →[M-H-CO ₂] ⁻	100	10
<i>p</i> -hydroxybenzaldehyde	121→92	[M-H] ⁻ →[M-H-COH] ⁻	120	20

Tab. 8: Analyzed compounds and their retention times and quantitative parameters.

R. T. (min)	Compound	LOD ^a (pg/inj)	LOQ ^b (pg/inj)
0.34	gallic acid	2,10	7,01
0.62	protocatechuic acid	0,01	0,03
1.03	3,4-dihydroxybenzaldehyde	0,04	0,14
1.09	<i>p</i> -hydroxybenzoic acid	0,10	0,33
1.42	chlorogenic acid	0,03	0,08
1.63	vanillic acid	0,05	0,15
1.79	<i>p</i> -hydroxybenzaldehyde	0,05	0,16
1.85	caffeic acid	0,24	0,80
2.19	syringic acid	0,03	0,10
2.50	vanillin	0,12	0,41
2.66	<i>p</i> -coumaric acid	0,09	0,30
3.04	ferulic acid	0,11	0,35
3.12	salicylic acid	0,06	0,19
3.13	synapic acid	0,98	2,94

CONCLUSION

The application of new extraction strategies and analytical methodologies applicable for the study of these components of algae is one of the main goals in current natural compounds research. In this paper we have described several methods for quantitative extraction of phenols in algae. The results showed the possibilities of the application of PLE- μ Elute plate with ultrasound-assisted extraction and tandem mass spectrometry for analysis of phenolic compounds in selected algal species in sub-nanomolar concentrations (corresponding to the sub-nanogram level). Using optimal extraction conditions, the average recovery for studied phenols was 96%. The hyphenated methods PLE- μ Elute plate with ultrasound-assisted extraction enabled to avoid the evaporation step and pre-concentrate the analytes directly. The applied method allowed a simultaneous determination of phenols in less than 5 minutes. We concluded that our proposed extraction procedures can be useful for the rapid extraction of bioactive phenols in various algae materials and their food products.

REFERENCES

- [1] Balasundram, N.; Sundram, K.; Samman, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem.* 2006, 99, 191-203.
- [2] Bravo, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr. Rev.* 1998, 56, 317-333.
- [3] Jung, H.J.; Choi, J.; Nam, J.H.; Park, H.J. Anti-ulcerogenic effects of the flavonoid-rich fraction from the extract of *Orostachys japonicus* in mice. *J. Med. Food.* 2007, 10, 702-706.

- [4] Klejdus, B.; Kopecký, J.; Benešová, L.; Vacek, J. Solid-phase/supercritical-fluid extraction for liquid chromatography of phenolic compounds in freshwater microalgae and selected cyanobacterial species. *J. Chromatogr. A* 2009, 1216, 763-771.
- [5] Li, H.B.; Cheng, K.W.; Wong, C.C.; Fan, K.W.; Chen, F.; Jiang, Y. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chem.* 2007, 102, 771-776.
- [6] Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C.; Rémésy, C.; Jiménez, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* 2004, 79, 727-747.
- [7] Middleton, E.; Kandaswami, C.; Theoharides, T.C. The effects of plants flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol. Rev.* 2000, 52, 673-751.
- [8] Onofrejšová, L.; Vašíčková, J.; Klejdus, B.; Stratil, P.; Mišurcová, L.; Kráčmar, S.; Kopecký, J.; Vacek, J. Bioactive phenols in algae: The application of pressurized-liquid and solid-phase extraction techniques. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2010, 51, 464-470.
- [9] Randhir, R.; Lin, Y.T.; Shetty, K. Phenolics, their antioxidant and antimicrobial activity in dark germinated fenugreek sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 2004, 13, 295-307.
- [10] Riviere, C.; Richard, T.; Vitrac, X.; Merillon, J.M. New polyphenols active on beta-amyloid aggregation. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008, 18, 828-831.
- [11] Singh, M.; Govindarajan, R.; Rawat, A.K.S; Khare, P.B. Antimicrobial flavonoid rutin from *Pteris vittata* L. against pathogenic gastrointestinal microflora. *Am. Fern J.* 2008, 98, 98-103.

DESIGNING MOLECULAR TOOLS FOR DISCOVERING AND MODULATING PLANT HORMONE SYSTEM

Turek D., Mazura P.

Department of Molecular Biology and Radiobiology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: dusanturek@seznam.cz

ABSTRACT

Development and growth of the plant is mostly controlled by plant hormones (phytohormones), whose concentration is regulated by enzymes. One of the enzymes that are involved in this regulation is the maize Zm-p60.1 β -glucosidase. Protein engineering offers a means to change the substrate specificity of this enzyme. Changes in substrate specificity of enzymes can be achieved by mutations at the DNA level. Introduced mutation may have destructive side effects on protein structure. One of the ways to avoid these negative impacts of mutation is to increase the structural strength of the enzyme by adding new hydrogen bonds, whose side effect is an increase in thermostability of the enzyme.

The aim was to study available informations on the Glycoside Hydrolase 1 family (at www.CAZy.org), to subjugate selected group of enzymes to bioinformatic analysis and on that basis to propose another possible direction of research, the enzyme Zm-p60.1 β -glucosidase (EC 3.2.1.21) from maize (*Zea mays*). Based on the analysis of publications and informations contained in the CAZy database this work proposes to increase enzyme thermostability Zm-p60.1 by introducing single point mutations D112K, which should lead to new hydrogen bonds, which would contribute to the stabilization of the protein. New, more stable enzyme Zm-p60.1 should be the default option for the preparation of the next generation of enzymes with modified substrate specificity towards cytokines conjugates.

Key words: β -glucosidase, thermostability, hydrogen bonds

ÚVOD

Databáze CAZY (www.cazy.org) popisuje skupinu enzymů, jejichž společnou vlastností je, že degradují, upravují nebo vytváří glykosidickou vazbu mezi sacharidy a jejich konjugáty. CAZY navíc třídí tyto enzymy i podle jejich strukturální podobnosti do 14 klanů. Enzym Zm-p60.1 β -glukosidasa z kukuřice (EC 3.2.3.21) patří do rodiny GH1, kde všichni její členové sdílí stejný strukturální motiv – $(\beta/a)_8$. Databáze CAZY je dobrým zdrojem informací, porovnávalme-li vlastnosti podobných enzymů. Jednou z takových vlastností může být termostabilita. Cílem práce bylo najít v databázi CAZY skupinu podobných β -glukosidas a zjistit (z databáze UNIPROT), u kterých byla provedena mutagenese zaměřená na termostabilitu. Dalším krokem bylo odhadnout, zda je možné tyto mutace přenést na Zm-p60.1. Důvodem, proč vytvářet termostabilnější rostlinný enzym, je to, že zavádění nových vodíkových vazeb, disulfidických vazeb, solných můstků či hydrofobních aminokyselin vede také k celkovému zpevnění struktury proteinu. Tato nová pevnější struktura se pak může stát novou generací rostlinných enzymů, které budou mutovány ve smyslu změny substrátové specificity. V současné době měly některé nové mutace u β -glukosidasy destruktivní charakter a nebylo tedy možné charakterizovat tyto mutanty. Výsledkem této práce je navržení nových mutací, jež zpevní proteinovou strukturu enzymu β -glukosidasy.

MATERIÁL A METODIKA

Bioinformatická analýza sekvencí (Clustal W) a strukturálních dat (UCSF Chimera).

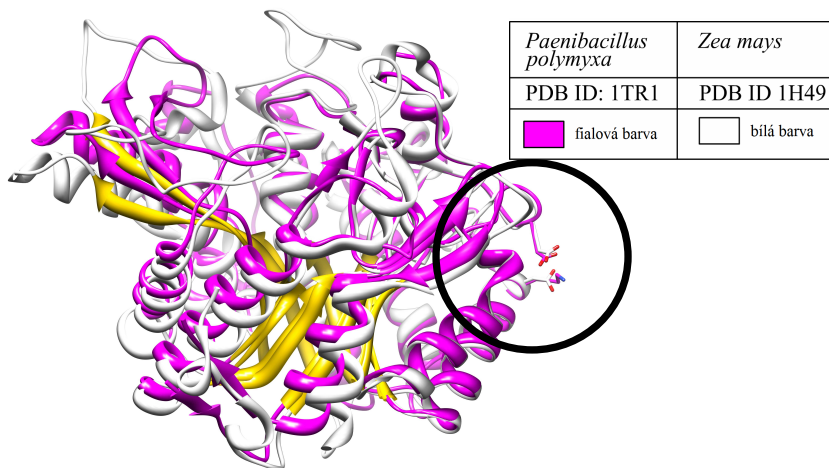
VÝSLEDKY A DISKUZE

Z GH1 rodiny obsahující více než 2200 záznamů bylo nalezeno 1200 enzymů, jež jsou detailněji popsány v databázi UNIPROT. Na základě referencí byla určena skupina 12-ti inženýrovaných enzymů. Z této skupiny byly mutovány celkem tři různé enzymy za cílem získat termostabilnější varianty. Z detailnější sekvenční a strukturální analýzy těchto enzymů s β -glukosidasou z kukuřice vyplývá, že mutace provedené na enzymu β -glukosidasa A (BglA) z bakterie *Paenibacillus polymyxa* je přenositelná na Zm-p60.1:

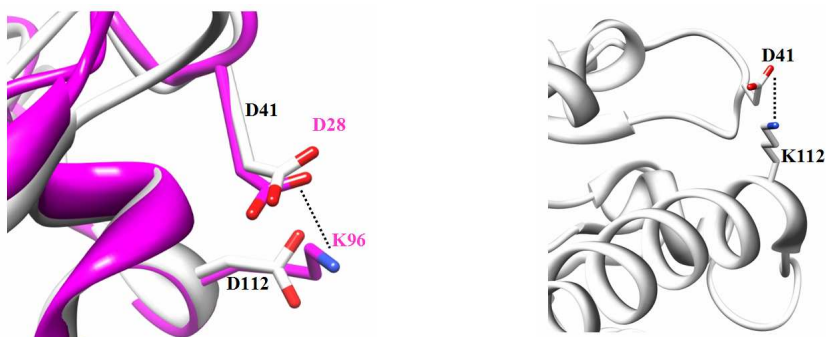
Pozice	96	106	116
Zachovalost	****:*:*	:* :*	*:*. **
Bgl A	WPRIFPNG--	DGEVQKGLD	YYH
Zm-p60.1	WPRILPKGTK	EGGINPDGIK	YYR

Obr. č. 1 – Srovnání aminokyselin enzymů Zm-p60.1 (*Zea mays*) a BglA (*Paenibacillus polymyxa*) ukazuje, že okolí centra mutace je zachovalé. Šipka značí mutaci na pozici 112 u Zm-p60.1.

Dalším důkazem přenositelnosti mutace je strukturální analýza, která potvrdila, že vytipované pozice aminokyselin si odpovídají polohou v prostoru (Obr. č. 2). Zvětšená oblast je ukázána na Obr. č. 3.



Obr. č. 2. - Strukturní přeložení kukuřičné β -glukosidasy Zm-p60.1 (PDB ID: 1HXJ, bílá) a β glukosidasy z *Paenibacillus polymyxa* (PDB ID: 3CMJ, fialová). Ve vyznačeném kruhu je vidět, že pozice (K96, D112) si v enzymech odpovídají.



Obr. č.3.a – Naznačená vodíková vazba (tečky) v enzymu BglA (PDB ID: 3CMJ, fialová) vzniká mezi D28 a K96. Současný stav u Zmp60.1 (PDB ID: 1HXJ, bílá) neumožňuje vzniku vodíkového můstku mezi aminokyselinou D41 a D112. V části 3.b je zobrazen teoretický model mutace D112K u Zm-p60.1. Je pravděpodobné, že dojde ke vzniku vodíkové vazby.

ZÁVĚR

Porovnání enzymů GH1 rodiny s β -glukosidasou z kukuřice vedlo k nalezení jednobodové mutace D112K, jež je odvozena od příbuzného enzymu Bgl A. Mutace pravděpodobně vytvoří nový vodíkový můstek zpevňující proteinovou kostru enzymu. V současné době dochází k charakterizaci tohoto mutanta.

Name of publication:	MendelNet 2010"– Proceedings of International Ph.D. Students Conference
Editors:	Ing. Petr Škarpa, Ph.D.; Ing. Radim Cerkal, Ph.D.; Assoc. Prof. Ing. Pavel Ryant, Ph.D.; Mgr. Marie Konečná; Ing. Gabriela Růžičková, Ph.D.; Ing. Petr Sláma, Ph.D.; Ing. Ivo Vyskočil; Ing. Jaromír Kovárník; Ing. Martin Hajzler; Ing. Vít Mareček.
Number of pages:	1016
Publisher:	Mendel University in Brno, Faculty of Agronomy Zemědělská 1, 613 00 Brno Czech Republic
ISBN:	978-80-7375-453-2

Contributions are published in original version, without any language correction.

www.af.mendelu.cz/mendelnet