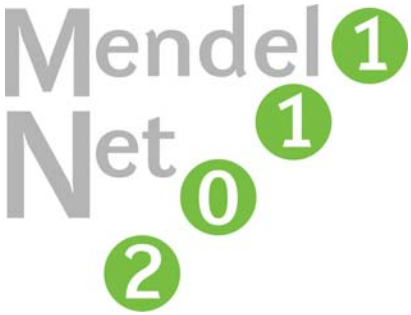
MENDEL UNIVERSITY IN BRNO

Faculty of Agronomy



Proceedings of International Ph.D. Students Conference

2011, November 23rd

BRNO

MendelNet 2011

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.
Assoc. Prof. 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 2011

Brno, Czech Republic

2011, November 23rd

Organizer

Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno

Acknowledgement:

The Conference MendelNet 2011 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.¨

ISBN: 978-80-7375-563-8

Scientific Committee

Assoc. Prof. Ing. Josef Filípek, CSc.
Prof. Ing. Gustav Chládek, CSc.
Prof. RNDr. Bořivoj Klejdus, Ph.D.
Assoc. Prof. RNDr. Jana Kotovicová, Ph.D.
Assoc. Prof. Ing. Radovan Pokorný, Ph.D.
Assoc. Prof. Ing. Jan Pospíchal, CSc.
Mgr. Vilém Reinöhl, CSc.
Prof. MVDr. Zbyšek Sládek, Ph.D.
Assoc. Prof. RNDr. Antonín Vaishar, CSc.

Organizing Committee

Assoc. Prof. Ing. Pavel Ryant, Ph.D.
Ing. Petr Škarpa, Ph.D.
Mgr. Marie Konečná, Ph.D.
Assoc. Prof. 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, Ph.D.
Ing. Petr Hlavinka, Ph.D.
Ing. Hana Středová, Ph.D
Ing. Miroslav Jůzl, Ph.D.
Nagavalli Subbanna Kiran, Ph.D.
doc. Ing. Tomáš Urban, 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 facultie'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 2011 Conference** is an ideal form for scientific survey acquirement in a given specialization.

Prof. Ing. Ladislav Zeman, CSc.

Dean of FA MENDELU

Content

Section Plant Production

COMPARISON OF WEED SPECTRUM IN CHOSEN VEGETABLE FIELDS AND FIELDS OF CROPS
CHOVANCOVÁ S., WINKLER J. 16

WEED SPECIES SPECTRUM OF CHOSEN FIELD CROPS
DOLEŽAL J., WINKLER J. 25

ASSESSMENT OF WEED SPECTRUM IN SELECTED VINEYARDS
JAKABOVÁ L., WINKLER J. 36

IMPACT OF THE APLICATION OF FOLIAR FERTILIZERS CONTAINING SELENIUM ON THE YIELD INDICATORS IN POTATOES
JANEČKA L., JŮZL M., ELZNER P., DRÁPAL K., MAREČEK V. 50

EVALUATION OF WEED SPECTRUM IN *PAPAVER SOMNIFERUM*
JONAŠOVÁ K., WINKLER J. 57

COMPARISON OF THE LEAF AREA INDEX AND THE ROOT SYSTEM SIZE IN SELECTED VARIETIES OF SPRING BARLEY
KOVÁRNÍK J., CERKAL R. 65

INSECTICIDAL EFFECTS OF SELECTED PLANT EXTRACTS AGAINST *TRIBOLIUM CONFUSUM* (COL., TENEBRIONIDAE)
LUKEŠOVÁ K., HRUDOVÁ E. 71

USE COATED SEED IN GRASSLAND
MIKEL O., SKLÁDANKA J., KOHOUTEK A. 104

THE CROP ROTATION INFLUENCE OF THE WEED INFESTATION AT THE WINTER WHEAT CROP
NEISCHL A., ZELENÁ V., WINKLER J., HLEDÍK P. 109

VARIABILITY OF ESSENTIAL OIL CONTENT IN CULTIVATED HOPS VARIETIES
PLUHÁČKOVÁ H., EHRENBERGEROVÁ J., FOJTOVÁ J. 116

EFFECT OF EXPLOITATION INTENSITY AND FERTILISATION LEVEL ON YIELDS AND QUALITY OF THE MEADOW FODDER
RAUS J., KNOT P. 124

INTENSITY OF GARLIC INFESTATION WITH PATHOGEN *PUCCINIA ALLII* IN SOUTH-EAST AND CENTRAL MORAVIA
SAPÁKOVÁ E., ŠEFROVÁ H. 129

EVALUATION OF WEED INFESTATION OF CHOSEN FIELD CROPS
SCHILLER J., WINKLER J. 135

EFFICACY OF FUNGICIDES ON SELECTED *COLLETOTRICHUM ACUTATUM* ISOLATES
STAŇKOVÁ B., VÍCHOVÁ J., POKORNÝ R., VEJRAŽKA K. 147

HETEROGENEITY OF WEED INFESTATION IN SPRING BARLEY
STUDNIČKOVÁ T., WINKLER J. 152

EFFECT OF SULFUR APPLICATIONS ON GRAIN YIELD, NITROGEN SUBSTANCES CONTENT, DIMETHYLSULFID AND ITS PRECURSORS IN MALTING BARLEY
SYROVÁ H., RYANT P. 158

SPECIES SPECTRUM OF POLLEN BEETLES FROM GENUS *MELIGETHES* AT SELECTED LOCALITIES OF THE CZECH REPUBLIC IN YEAR 2010
TÓTH P., HRUDOVÁ E., SAPÁKOVÁ E., SEIDENGLANZ M., POSLUŠNÁ J. 170

INFLUENCE OF GENOTYPE AND ENVIRONMENT ON SEED VIGOUR OF BARLEY
ULLMANNOVÁ K., CHLOUPEK O. 176

INFLUENCE OF GLADIOLUS THRIPS ON FLOWERING AND FLOWER QUALITY OF SELECTED VARIETIES OF GLADIOLI
VLACHOVÁ P., SVITÁČKOVÁ B. 184

THE INFLUENCE OF SOIL AND FOLIAR APPLICATION OF MAGNESIUM FERTILISERS ON YIELD AND QUALITY OF GRAPEVINE
ZATLOUKALOVÁ A., LOŠÁK T. 195

Section Animal Production

EFFECT OF PHYLOGENETICAL ORIGIN OF HORSES ON MEASUREMENT AND FORM OF CHESTNUTS
BIHUNCOVÁ I., JISKROVÁ I. 205

ETHOLOGICAL STUDY OF FOOD HABITS IN FOALS OF THOROUGHBRED
ČERNOHORSKÁ H., JISKROVÁ I. 214

MILK PRODUCTION AND CONTENT COMPONENTS, DEPENDING ON THE ORDER OF LACTATING DAIRY COWS OF CZECH PIED CATTLE BREED
ČERNÝ T., FALTA D., ZEJDOVÁ P., POLÁK O., VEČEŘA M., CHLÁDEK G. 220

BROILER SMALL INTESTINAL MORPHOLOGY IN DEPENDING ON THE CONTENT OF THERMAL MODIFIED AND RAW FULL FAT SOYBEAN IN THE DIET
FOLTYN M., RADA V., LICHOVNÍKOVÁ M. 226

EVALUATION OF REPRODUCTIVE PERFORMANCE IN CATTLE
FRÖHDEOVÁ M., HAVLÍČEK Z. 232

USING THE WOOD MODEL FOR DESCRIBING THE SHAPE OF LACTATION CURVE OF CZECH FLECKVIEH COWS BY LACTATION AND YEAR OF BIRTH
KOPEC T., KUČERA J., CHLÁDEK G., VERNER M. 239

EVALUATION OF BASIC BODY MEASUREMENTS IN DONKEY POPULATION IN CZECH REPUBLIC
KOSŤUKOVÁ M., JISKROVÁ I. 245

INFLUENCE OF PARITY AND STAGE OF LACTATION ON SOMATIC CELL AND BACTERIA COUNTS IN RAW SHEEP MILK
KRÁLÍČKOVÁ Š., KUCHTÍK J. 253

ETHOLOGICAL STUDY OF HORSES AT THE POLICE SERVICE
KRÁLOVÁ B., JISKROVÁ I. 261

EFFECT OF FEEDING MYCOTOXIN-CONTAMINATED TRITICALE FOR HEALTH, GROWTH AND PRODUCTION PROPERTIES OF LABORATORY RATS
KROBOT R., ZEMAN L. 264

EVALUATION OF QUALITY FEED FOR ROE-DEER FROM MICROBIOLOGY PERSPECTIVE
MLEJNKOVÁ V., HRBEK J., KALHOTKA L., DOLEŽAL P., PŘICHYSTALOVÁ J. 273

INFLUENCE OF BREEDING CONDITIONS RAINBOW TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) TO ITS NUTRITIONAL VALUE
PAVLÍK M., BRABEC T., LANG Š., KOPP R., MAREŠ J. 278

DIFFERENCE OF EXTERIOR BETWEEN AMERICAN QUARTER HORSE AND AMERICAN PAINT HORSE
PETLACHOVÁ T., JISKROVÁ I., SOBOTKOVÁ E. 285

EVALUATION OF BASIC BODY MEASURE TO MOVEMENT OF THE WELSH PONIES AND COBS
PÍŠOVÁ M., JISKROVÁ I. 294

EFFEC OF FEEDING CORN DISTILLERS DRIED GRAINS WITH SOLUBLES ON PERFORMANCE, ABDOMINAL FAT CONTENT AND THE PECTORAL MUSCLE COLOR OF BROILER CHICKENS
RADA V., FOLTÝN M., DRAČKOVÁ E., LICHOVNÍKOVÁ M. 300

EFFECT OF CARCASS WEIGHT ON ITS CONFORMATION AND FATNESS IN BULLS OF THE CZECH FLECKVIEH BREED
STUDENÝ S., FALTA D., VEČEŘA M., ZEJDOVÁ P., POLÁK O., ČERNÝ T., CHLÁDEK G. 306

THE USE OF CLAY MINERALS IN POULTRY
ŠKARKOVÁ M., HAVLÍČEK Z. 310

PREFERENCE OF CUBICLE-ROW IN STABLE BY DAIRY COWS AFTER RETURNING FROM MORNING MILKING
VEČEŘA M., FALTA D., ZEJDOVÁ P., POLÁK O., STUDENÝ S., CHLÁDEK G. 318

EFFECT OF AIR FLOW RATE ON RESTING BEHAVIOUR OF DAIRY COWS
ZEJDOVÁ P., FALTA D., VEČEŘA M., POLÁK O., STUDENÝ S., CHLÁDEK G. 323

Section Agroecology

DETERMINATION OF THE MINERALIZATION OF SOIL ORGANIC MATTER AND NITROGEN NITRIFICATION UNDER EXTREME CLIMATIC CONDITIONS IN NATIONAL PARK PODYJI
ALBA MEJÍA J. E., ZÁHORA J., SKLÁDANKA J. 331

MICROBIAL SOIL ACTIVITY IN SOILS SPONTANEOUSLY EMERGING ON NAKED ROCKS
CHMELÁR Š., ZÁHORA J. 338

WATER QUALITY OF SELECTED TRIBUTARIES OF THE RIVER SVRATKA UNDER THE VÍR DAM
GRMELA J., KOPP R. 349

RESULTS OF PEDOLOGICAL RESEARCHS AT ARCHAEOLOGICAL SITE MIKULČICE-VALY
HLADKÝ J. 357

VERIFICATION OF DEGRADATION OF PACKAGES AVAILABLE ON CZECH REPUBLIC AND POLAND MARKETS UNDER GARDEN COMPOSTING CONDITIONS
HLISNIKOVSKÝ L., KOTOVICOVÁ J. 367

INFLUENCE OF CARBON ON THE AVAILABILITY OF SOIL NITROGEN IN THE ALPINE MEADOW- A METHODOLOGICAL APPROACH
KINTL A., ZÁHORA J., TŮMA I. 372

EVALUATION OF RENDZINAS SOIL CHARACTERISTICS ABERRATION IN BLANSKO DISTRICT
KŘENOVSKÁ I., VLČEK V. 378

POSSIBILITIES OF BIODIVERSITY ASSESSMENT ON A FARM
MARADA P. ....**CHYBA! ZÁLOŽKA NENÍ DEFINOVÁNA.**388

ESTIMATED SIZE OF MAMMALS MORTALITY ON CZECH ROADS BY QUESTIONNAIRE FOR DRIVERS - PRELIMINARY RESULTS
MRTKA J., BORKOVCOVÁ M. 399

COLONIZATION OF THE LIMESTONE QUARRY SPIDERS – THE INFLUENCE OF MARGINAL EFFECT
NOVOTNÁ L., VÍTKOVÁ Z., HULA V., ŠŤASTNÁ P. 405

OBSERVATION OF SPECIES OF AMPHIBIANS (*AMPHIBIA*) AND REPTILES (*REPTILIA*) IN THE DISTRICT KARVINÁ
NYTRA L. 413

PARASITIZATION OF THE SECOND EUROPEAN CORN BORER GENERATION (*OSTRINIA NUBILALIS* HBN.) BY *LYDELLA THOMPSONI* HERTING AT THE LOCATION GABČÍKOVO
PERNIŠ M., CAGÁŇ Ľ. 433

THE RATE OF UNWANTED DASHES IN SEPARATED BIODEGRADABLE WASTE
PLOŠEK L., STEJSKAL B. 442

EFFECT OF AGRICULTURAL CROPS ON SURFACE RUNOFF IN CONDITIONS OF ČESKOMORAVSKÁ VRCHOVINA
SOCHOREC M., HEJDUK S. 448

DYNAMIC OF PHYTOPLANKTON OF THE BRNO RESERVOIR DURING THE MEASURES AGAINST CYANOBACTERIA
STRAKOVÁ L., KOPP R. 454

WIND EROSION APPEARANCE AND INTENSITY
URBAN T., GREŠOVÁ L. 459

RELATIONSHIP OF THE CORPORATE SOCIAL RESPONSIBILITY AND ORGANIC AGRICULTURE FOR SPECIFIC EXAMPLE
VÁLOVÁ A. 465

Section Rural Development

ENVIRONMENTAL ASPECTS OF DEVELOPMENT AND OPERATION OF WIND POWER STATIONS
FRÝŽELKOVÁ L., KNOTEK J., BORKOVCOVÁ M. 477

THE COMPARATIVE ANALYSIS OF CHOSEN SMALL TOWNS OF MATROPOLITAN AND PERIFERIAL COUNTRYSIDE IN SOUTH MORAVIAN REGION - INITIAL ANALYSIS
KNIEZKOVÁ T., PÁKOZDIOVÁ M. 482

STRATEGIC PLANNING IN THE MINING MICROREGION SOKOLOV - EAST
LIPOVSKÁ Z. 495

INNOVATION OF RURAL SOCIOLOGY COURSE
NOVOTNÁ K., LIPOVSKÁ Z. 511

POTENTIAL OF THE RURAL DEVELOPMENT ON THE CASE STUDY OF MICRO-REGION ROVINA
PAVLIČKOVÁ K., MOLITORIS Ľ. 520

POSSIBILITIES FOR UTILIZATION OF THE DISPERSED SETTLEMENT POTENTIAL OF NOVÁ BAŇA "ŠTÁL" AREA
ŠUHAJDOVÁ L., HAMADA M. 531

PRECONDITIONS FOR THE DEVELOPMENT OF A RURAL MICROREGION SITUATED IN AN INNER PERIPHERY – CASE STUDY OF JEVÍČKO
ŽITŇÁKOVÁ J., VAISHAR A. 539

Section Food Technology

PROTEIN PROFILE OF *TENEBRIO MOLITOR*
BEDNÁŘOVÁ M., ADAM V., JELEN F., BORKOVCOVÁ M. 549

TOTAL POLYPHENOLS CONTENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY IN CHOICE VARIETY PEARS AND APPLES
BONČÍKOVÁ D., TOMÁŠ J., TÓTH J. 555

QUALITY OF SUGAR BEET AND DYNAMICS OF CHANGES DURING VEGETATION IN THE REGION OF MIDDLE MORAVIA
CHODUROVÁ M., HŘIVNA L. 561

BAKING QUALITY OF WHEAT-RYE MIXTURES
DVOŘÁKOVÁ P., BUREŠOVÁ I., KRÁČMAR S., MATOUŠEK T., PNÍŽIL P., KUČEROVÁ J., FAMĚRA O. 568

EFFECT OF CONSUMPTION OF PROBIOTICS AND SYNBIOTICS ON THE COMPOSITION OF INTESTINAL MICROFLORA
KOLÁŘOVÁ M., SLÁDKOVÁ P., KOMPRDA T., ROŽNOVSKÁ D. 579

COMPARISON OF DIFFERENT TECHNIQUES OF MEASUREMENT OF QUALITATIVE PARAMETERS WITH USING NEAR INFRARED SPECTROSCOPY
KOZELKOVÁ M., ŠUSTOVÁ K., LUŽOVÁ T. 586

EFFECT OF BARN MICROCLIMATE ON MILK CONTENT AND TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF BULK TANK SAMPLES IN CZECH FLECKVIEH COWS DURING THE WHOLE YEAR
POLÁK O., FALTA D., ZEJDOVÁ P., VEČEŘA M., STUDENÝ S., CHLÁDEK G. 593

THE DYNAMIC OF MICROBIAL DEVELOPMENT IN THERAPEUTIC AGENT MADE OF ALOE
PŘICHYSTALOVÁ J., KALHOTKA L., PELLIZZONI M., RŮŽIČKOVÁ G. 602

THE IMPACT OF WINTER STORAGE OF LIVING CARPS ON CONTENT OF DI-N-BUTYL PHTHALATE AND DI-2-ETHYLHEXYL PHTHALATE FROM FARMED SOUTH MORAVIA
PUŠKÁROVÁ L., JAROŠOVÁ A., MAREŠ J. 611

DETERMINATION OF DEKARBOXYLASE ACTIVITY THE SELECTED BACTERIA HAZARRDOUS
REJCHRTOVÁ E., SLÁDKOVÁ P., KOMPRDA T., ZORNÍKOVÁ G. 624

EFFECT OF FATTY ACIDS IN THE REPRESATION OF QUAIL EGGS BY SAGE SPANISH
ROZÍKOVÁ V., ZORNÍKOVÁ G., GREGOR T., PRZYWAROVÁ A. 630

COMPARISON OF CHEMICAL ANALYSIS OF „OLOMOUCKÉ TVARŮŽKY“ ACCORDING TO THEIR LOCATION DURING THE PROCESS OF RIPENING
STRNADOVÁ D., KONEČNÁ H., ŠUSTOVÁ K. 640

Section Plant Biology

PROTEOME AND PHOSPHOPROTEOME ANALYSIS OF BUTENOLIDE ARABIDOPSIS THALIANA TREATED PLANTS
BALDRIANOVÁ J., JEDELSKÝ P., BRZOBOHATÝ B. 647

YIELD AND QUALITY OF SPRING BARLEY IN RELATION TO ROOT SYSTEM SIZE
KLIMEŠOVÁ J., STŘEDA T., HAJZLER M. 648

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF PEA SEED-BORNE MOSAIC VIRUS (PSBMV) RESISTANCE GENE
KONEČNÁ E., HANÁČEK P., SMÝKAL P. 656

UPTAKE AND TRANSPORT OF PAH FLUORANTHENE IN PEA
KŘÍŽOVÁ B., ZEZULKA Š. 663

THE USE OF *LEMNA MINOR* FOR EVALUATION OF FLUORANTHENE TOXICITY
MAJEROVÁ A., KUMMEROVÁ M. 667

POLYMORPHISMUS OF STORAGE PROTEIN GENES IN WHEAT (*T. AESTIVUM* L.) WITH DIFFERENT COLOUR OF KERNEL
MUSILOVÁ M., TROJAN V., VYHNÁNEK T., HAVEL L. 672

THE ROLE OF SOIL MICROORGANISMS IN THE CARBON CYCLE ON ALPINE MEADOWS
NAWRATH A., TŮMA I., SKLÁDANKA J. 679

ROLE OF ROOTS IN HYPOCOTYL ELONGATION
NOVÁK J., BRZOBOHATÝ B. 687

TRANSPIRATION AND BIOMASS INCREMENT IN SHORT ROTATION POPLAR COPPICE
ORSÁG M., TRNKA M. 688

MAIZE GERMINATION: A PROTEOMIC ANALYSIS
PAVELKOVÁ R., ČERNÝ M., BRZOBOHATÝ B. 694

INDUCTION OF VIRAL AND INSECTS RESISTANCE IN PEA THROUGH TRANSGENESIS
ROHRER M., BŘUSKOVÁ H., HANÁČEK P., REINÖHL V., PROCHÁZKA S. 698

THE EFFECT OF COLD ACCLIMATIZATION AND DROUGHT ON *COR/LEA* GENES EXPRESSION LEVEL IN WINTER WHEAT
RYŠKOVÁ T., SMUTNÁ P., HOLKOVÁ L. 706

MODULATION OF HEAT-STRESS RESPONSIVE PROTEOME IN TRANSGENIC *ARABIDOPSIS THALIANA* PLANTS WITH INDUCIBLY-INCREASED LEVELS OF ENDOGENOUS CYTOKININS
SKALÁK J., ČERNÝ M., JEDELSKÝ P., VAŇKOVÁ R., BRZOBOHATÝ B. 707

EFFECT OF CADMIUM ON TOBACCO CELL SUSPENSION BY-2
ŠTĚPÁN Z., KLEMŠ M., ZÍTKA O., HAVEL L. 712

INPUT OF HEAVY METALS INTO SOIL IN GROWED PLANTS AFTER THE BIOSLUDGE APPLICATION ON VPP KOLÍŇANY
TÓTH J., TÓTH T., BONČÍKOVÁ D., ÁRVAY J. 718

STORAGE OF ANTHOCYANINS IN CARYOPSES OF COMMON WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.)
TROJAN V., MUSILOVÁ M., VYHNÁNEK T., HAVEL L. 726

Section Animal Biology

RUMEN BIOPSY IN RUMEN-CANNULATED DAIRY COWS
ČERMÁKOVÁ J., DOLEŽAL P., GOSELINK R.M.A.., VAN KNEGSEL A.T.M. 735

THE INFLUENCE OF THE CZECH FLECKVIEH BULL INDIVIDUALITY AND PREPARATION METHOD TO THE SPERM ACTIVITY
HANULÁKOVÁ Š., MÁCHAL L. 741

THE EFFECT OF DIFFERENT LEVELS OF THE CHROMIUM (PICOLINATE) ON THE LABORATORY VALUE OF EJACULATE BY BREADING BOARS
HORKÝ P., JANČÍKOVÁ P., ZEMAN L. 749

EVALUATION OF HAIR, BLOOD PLASMA AND FAECES AS INDICATORS OF MINERAL STATUS IN HORSES AFTER ADDITION OF DIFFERENT COPPER SOURCES INTO FEED RATION
JANČÍKOVÁ P., HORKÝ P., ZEMAN L. 756

ASOCIATION ANALYSIS IN HMGCR, TCFL, H-FABP AND FTO GENES WITH MEAT PRODUCTION OF PIGS
KRATOCHVÍLOVÁ L., PAVELKOVÁ M., VYKOUKALOVÁ Z., URBAN T., SLÁMA P., ŠULCEROVÁ H., JŮZL M., GREGOR T., ROZÍKOVÁ V., KNOLL A. 763

THE INFLUENCE OF REARING TECHNOLOGY AND PHYSICO-CHEMICAL PARAMETRES OF WATER TO PLASMATIC IONS IN BLOOD OF RAINBOW TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)
LANG Š., KOPP R., MAREŠ J. 774

GENETIC MARKERS *MYF4* AND *FSHB* IN RELATION TO PERFORMANCE OF BOARS
MILAKOVIĆ I., URBAN T., MACHAL L. 783

FACTORS EFFECTING SPERMATOZOA MOTILITY IN TURKEY – TEMPERATURE AND DILUENT
SLANINA T., PETROVIČOVÁ L., MASSÁNYI P. 793

MAINTAINING BIOLOGICAL DIVERSITY OF MOTHS IN VINEYARDS
ŠAFÁŘ J. 802

INFLUENCE OF FOREST CLEARINGS ON THE DIVERSITY OF MOTHS
ŠAFÁŘ J. 808

VARIOUS ELECTROCHEMICAL TECHNIQUES FOR PRION PROTEIN DETERMINATION
ŠOBROVÁ P., ADAM V., KIZEK R. 813

THE SEMEN QUALITY EVALUATION FOR CONSERVATION IN HUNTING DOGS
VÁGENKNECHTOVÁ M., HOŠEK M., MÁCHAL L., HORSKÝ R. 819

Section Techniques and Technology

WEAR AND DEGRADATION OF CUTTING KNIVES IN HARVESTING CUTTERS
BEDNÁŘ R., VOTAVA J., ČERVINKA J. 828

DESIGN OF MODULAR DEVICE FOR RAPID-PROTOTYPING AND ITS APPLICATIONS
DURKÁČ M., MAREČEK J. 840

ANALYSE OF BIOGAS PRODUCTION FROM ENERGY MAIZE VARIETIES
HAITL M., VÍTĚZ T. 846

POSSIBILITIES OF HERMETIA ILLUCENS OF TREATMENT BIOWASTE
KALOVÁ M., BORKOVCOVÁ M. 856

AUTOMOTIVE SENSORS AND MEASURING THEIR SIGNALS
KOLÁČEK S., ČERNÝ M. 862

QUANTI-QUALITATIVE ANALYSIS OF ANAEROBIC FERMENTATION OF NEW ENERGY VARIETIES OF SORGHUM
KOUTNÝ T., VÍTĚZ T., HAITL M. 873

A STUDY OF BUS TRAJECTORY DURING THE DECELERATE PASSAGE THROUGH A CURVE
KRUMPHOLC T., BARTOŇ S. 879

LIFETIME EXTENSION OF ENGINE OIL USING ADDITIVES
KUMBÁR V., SEVERA L., GLOS J., ČORŇÁK Š. 905

USING CAD MODELS AND POLYGONAL SCAN FOR EVALUATION OF ABRASIVE FRICTION PARTS
LIŠKA J., FILÍPEK J. 915

USE OF RUBBER MOLDS FOR DUPLICATION AND MAKING METAL CASTINGS IN RENOVATIONS
LUKŮVKA R., FILÍPEK J., VOTAVA J. 923

MONITORING OF ENGINE LOAD IN OPERATION
POLCAR A., KUMBÁR V. 931

EFFECT MACHINES WITH VARYING INTENSITY PROCESSING OF LAND ON SPRING BARLEY YIELDS
SVOBODA M., PROCHÁZKOVÁ B., HLEDÍK P. 940

ANALYSIS USING OF STARCH WASTE BY ANAEROBIC FERMENTATION
SZABÓ T., GRODA B. 945

MONITORING OF CORROSION ATTACK BY MEANS OF NDT METHOD – ACOUSTIC EMISSION
TLAČBABA J., ČERNÝ M. 957

COMPARISON OF ALTERNATIVE METHODS OF OPERATION AND MONITORING FUNCTIONS DEODORISING FILTERS
URBAN L., MARADA P., MAREČEK J. 966

MONITORING OF ACOUSTIC EMISSION DURING STATIC BENDING TEST OF WOOD SPECIMENS
VARNER D., ČERNÝ M. 974

THE INFLUENCE OF MECHANICAL DISINTEGRATION ON THE PROCESS OF STABILIZATION OF BIODEGRADABLE MATERIAL
VOCILKOVÁ P., MAREČEK J. 981

INFLUENCE OF CONSTRUCTION OF TRANSMISSION ON ECONOMIC PARAMETERS OF TRACTOR SET TRANSPORT
VYKYDAL P., ŽÁK M. 986

Section Applied Chemistry and Biochemistry

SARCOSINE AS POSSIBLE TUMOUR MARKER OF PROSTATE TUMOURS - ANALYTICAL STUDY
CERNEI N., ZITKA O., SOCHOR J., ADAM V., KIZEK R. 994

OPTIMIZATION CHROMATOGRAPHIC ISOLATION OF ANTHOCYANINS
CHABINOVÁ J., ZÍTKA O., HÚSKA D., KLEJDUS B., KIZEK R. 1003

PREPARATION OF BIOTIN-GLUTATHIONE COATED QUANTUM DOTS
JANŮ L., RYVOLOVÁ M., CHOMOUCKÁ J., DRBOHLAVOVÁ J., HUBÁLEK J., ADAM V., KIZEK R. 1011

STUDY OF CADMIUM AND ZINC INTERACTION IN MAIZE
KLECKEROVA A., SOBROVA P., KRYSTOFOVA O., SOCHOR J., ZITKA O., ADAM V., BABULA P., DOČEKALOVÁ H., KIZEK R. 1019

NOVEL PROSTATE CANCER TUMOUR MARKERS IN A CELL LINE MODEL
SZTALMACHOVÁ M., GUMULEC J., CERNEI N., ZÍTKA O., MASAŘÍK M., BABULA P., ADAM V., KIZEK R.....1029

COMPARISON OF TWO DIFFERENT PROCEDURES FOR FLUORESCENT LABELING OF DNA USED TO IDENTIFY THE ALLERGEN OF CELERY
ŠKULTÉTY O., ŽIDEK R. 1036

CREATING MUTANT LIBRARY OF THE MAIZE B-D-GLUCOSIDASE ZM-P60.1
TUREK D., FILIPI T., 1MAZURA P., BRZOBOHATÝ B. 1046

ANALYSIS OF POLYPHENOLICS IN VITICULTURAL MATERIAL
ROBLOVÁ V., BITTOVÁ M., KUBÁŇ V. 1051

A NOVEL METHOD FOR ANALYSIS OF PLANTS' RESISTANCE TO HEAVY METALS
ZITKA O., KRYSTOFOVA O., SOBROVA P., ZEHNALEK J., BEKLOVA M., ADAM V., KIZEK R.....1060

Section – Plant Production

COMPARISON OF WEED SPECTRUM IN CHOSEN VEGETABLE FIELDS AND FIELDS OF CROPS

Chovancová S., Winkler J.

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

E-mail: chovancova.svetlana@seznam.cz

ABSTRACT

The aim of bachelor work was to compare weed infestation of vegetables and field crops. Evaluation was carried out counting methods in celery, pepper, winter wheat and winter oilseed rape. RDA method was used for evaluation of obtained results. *Amaranthus retroflexus, Setaria glauca, Elytrigia repens* were the most often weed species in pepper; *Cirsium arvense, Echinochloa crus-gali, Tripleurospermum inodorum* in celery. Species *Atriplex patula* was occurred in both vegetables, but was not in field crop stands. *Cardaria draba, Galium aparine* were weed species in winter wheat, *Euphorbia helioscopia, Papaver rhoeas, Veronica persica* were in winter oilseed rape. Other weed species were less occurred in vegetables, but they were more often in field crops.

Key words: field crops, weeds, vegetables

Acknowledgement: The results in paper are output of project of Internal Grant Agency, FA MENDELU, No. TP 3/2011 “Optimalization of crop management practices in areas threatened by drought”.

ÚVOD

Dvořák a Smutný (2003) uvádějí, že škodlivost plevelných rostlin se od ostatních škodlivých organizmů liší. Na rozdíl od chorob a živočišných škůdců, které přímo napadají a devastují plodiny, plevelné rostliny kulturu přímo nepoškozují. Výjimku tvoří poloparazitické a parazitické druhy. Stávají se škodlivými zhoršováním životního prostředí a odčerpáváním vegetačních faktorů. Plevele patří mezi nejvýznamnější škodlivé činitele v České republice.

Petříková (2006) uvádí, že u zeleniny bývá míra škod vyšší, než je tomu u polních plodin. Jedná se o poškození působením chorob, škůdců, či plevelů. V podmínkách kontinentální Evropy jde až o jednu třetinu potencionálního výnosu. Jestliže by se ochrana neprováděla vůbec, škody by byly dvojnásobné.
Z dlouhodobého hlediska, jak uvádí Kohout (1996) jsou právě preventivní metody regulace nejúčinnější a nejlevnější. Jde o boj se škodlivým přemnožením plevelných druhů, způsobem hospodaření, strukturou rostlinné výroby, střídání plodin a používání těch technologií, které omezují růst plevele, ale růst kulturních plodin podporují. Jde především o výběr čistého osiva, zabránění vysemenění plevelů při sklizni, aj.

To platí zejména na zelinářských a zahrádkářských pozemcích, kde využití chemických prostředků přichází v úvahu až jako konečná varianta (Ackermann, 2004).

Podle Juráška (1997) i agrotechnické prvky prošly vývojem. Z původní jednotvárnosti se stále více rozvíjí dle přírodních a ekonomických podmínek. Avšak tyto nové směry mohou přicházet do konfliktu se současnými metodami pěstování plodin. Každá nová změna se proto musí starostlivě zvážit a komplexně řešit.

MATERIÁL A METODIKA

Zemědělský podnik, ve kterém jsem získala údaje pro vyhodnocení výsledků z polních plodin, se nachází v obci Skalice. Tato vesnice se nachází v okrese Znojmo, kraji Jihomoravském. Ze severu ji obtéká řeka Rokytná, z jihu pak říčka Jevišovka. Celé pěstební území je situováno v nížinách Dyjskosvrateckého úvalu. Nadmořská výška daného okolí je 230 m n. m. Průměrná roční teplota zde dosahuje 8,5°C a roční úhrn srážek je 470 mm. Údaje pro Tab. 1 a Tab. 2 jsem čerpala z dat Českého hydrometeorologického ústavu z meteorologické stanice Kuchařovice.

Soukromý statek Skalice byl založen roku 1992 a od té doby prošel nejen velkým pozemkovým vývojem, ale především technologickým. V minulosti se zabýval rostlinou i živočišnou výrobou. V současné době od živočišné výroby upustil a věnuje se pouze pěstování obilovin. Na 268 ha obdělávané půdy se pěstuje převážně pšenice a řepka, méně často kukuřice.

Soukromý pěstitel, pan Rudolf Míča, mi poskytl průzkum pozemků k vyhodnocení složení plevelů v oblasti zelinářské výroby. Jeho obdělávaná půda se nachází v okolí obce Božice. Stejně jako tomu u prvního podniku, Božice se rovněž nachází v okrese Znojmo, kraj Jihomoravský. Řeka Jevišovka jimi tentokrát přímo protéká. Nadmořská výška se pohybuje okolo 195 m n. m. Průměrná roční teplota dosahuje 8,5 °C a ročně naprší 470 mm. Klimatologické údaje pro Božice jsou shodné s údaji pro obec výše uvedenou. Pan Míča je pěstitelem různých druhů zeleniny. Do jeho hlavní produkce patří paprika, z košťalovin především květák, zelí, kapusta, z plodových zelenin rajčata, okurky a z kořenové především mrkev, petržel a celer. Realizuje zásobování maloodběratelů, v současné době i některých velkoobchodních skladů v České Republice. Jeho působnost je dlouholetá. I přesto, že přímo v Božicích se nachází ještě jeden nemalý konkurent, jeho existence v ohrožení není.

Zaplevelení ve vybraných polních plodinách a zeleninách bylo provedeno početní metodou. Při každém sledování byly sečteny jedinci každého druhu plevele. Sledování počtu plevelných rostlin probíhalo na 1m^2 a mělo 12 opakování v každé polní plodině a zelenině. Jednotlivá opakování byla plošně rozmístěna na vybraném pozemku. Sledovanými plodinami byly *Triticum aestivum, Brassica napus, Capsicum Annám a Apium graveolens.*

České a latinské názvy druhů plevelů byly použity podle Kubáta (2002)

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*). 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

Vyhodnocení zaplevelení bylo provedeno ve dvou polních plodinách a ve dvou zeleninách. Zastoupení jednotlivých druhů plevelů, které byly zaznamenány v ozimé pšenici (*Triticum aestivum*) jsou uvedeny v Tab. 1. Další polní plodinou, ve které bylo provedeno hodnocení zastoupení byla ozimá řepka (*Brassica napus*). Počty jednotlivých druhů plevelů jsou uvedeny v Tab. 2.

Tab. 1 Počet plevelů v plodině Triticum aestivum

Latinský název	Opakování (ks.m^{-2})											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Cardaria draba	4										3	1
Lamium amplexicaule	1							1	1			1
Capsella bursa-pastoris	1	1			1		1				2	1
Consolida orientalis	1	1	1		1		1	2	1	2		
Silybum marianum			1									
Veronica hederifolia				1		2						
Viola arvensis		1		2		1	1		2	3		
Galium aparine					2	3	2	2	4	1		
Veronica persica											2	

Tab. 2 Počet plevelů v plodině Brassica napus

Latinský název	Opakování (ks.m^{-2})											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Lamium purpureum												1
Lamium amplexicaule	1										1	
Euphorbia helioscopia				2				1	1	2	2	
Papaver rhoeas	2	5	1	1	2	5	1	1	1		2	
Consolida orientalis	3	2	1		1				1	1		
Capsella bursa-pastoris	1		2		1		1		1			
Triticum aestivum	10	4				2						
Thlaspi arvense				1						1	2	
Viola arvensis				2		3		4	2	2		
Veronica persica					1		3				1	
Erodium cicutarium		1									1	1

Zastoupení jednotlivých druhů plevelů, které byly zaznamenány v paprice roční (*Capsicum annuum*) jsou uvedeny v Tab. 3. Další zeleninou, ve které bylo provedeno hodnocení zastoupení byl celer (*Apium graveolens*). Počty jednotlivých druhů plevelů jsou uvedeny v Tab. 4.

Tab. 3 Počet plevelů v zelenině Capsicum annuum

Latinský název	Opakování (ks.m^{-2})											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Amaranthus retroflexus	1	1	2	2	1			2	1	1		1
Setaria glauca	2	1	1	1		1				1	2	1
Elytrigia repens	3	1	1			2	1			2	1	
Cirsium arvense		2			2				2			
Atriplex patula						3	2	1	1	2		2
Stellaria media	1									1		

Tab. 4 Počet plevelů v zelenině Apium graveolens

Latinský název	Opakování (ks.m^{-2})											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Cirsium arvense	1	2	1		1		1			1	1	
Atriplex patula	1	1		1			1				1	
Echinochloa crus-gali		1				1					1	
Tripleurospermum inodorum		1		1						1		1

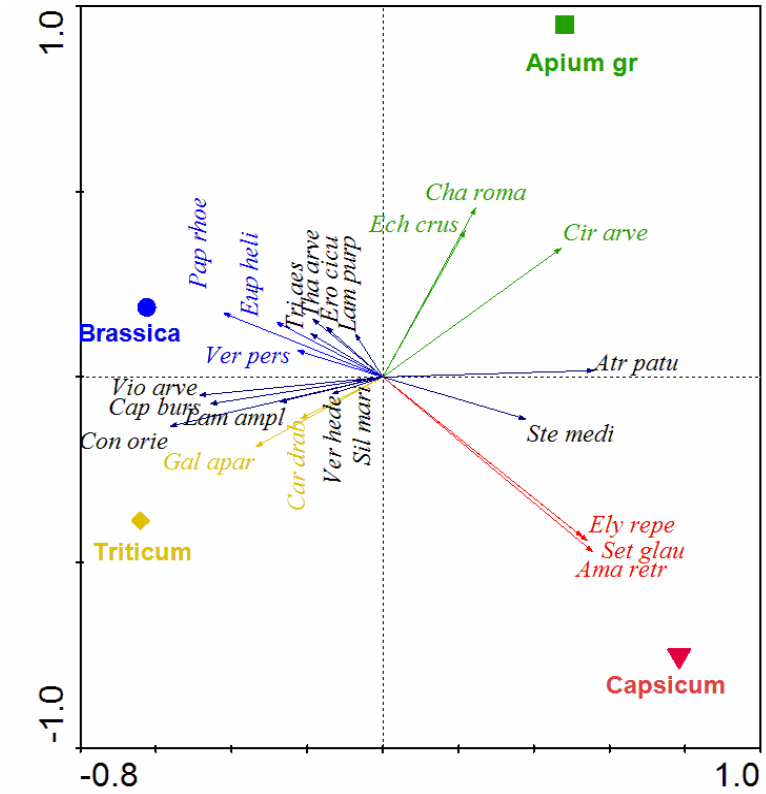
Analýza DCA stanovila délku gradientu na 0,389 pro data zjištěná ve vybraných plodinách, proto byla zvolena pro další zpracování dat redundanční analýza (RDA). U analýzy RDA jsou druhy vyjádřeny pomocí vektorů (šipek), u kterých je důležitá délka a směr. Jednotlivé plodiny (faktory) jsou vyjádřeny pomocí bodů. Délka a směr vektorů jsou důležité pro určení vztahu jednotlivých druhů plevelů a plodin. Pokud vektor směřuje k bodu určité plodiny, je výskyt tohoto druhu především v této plodině. Výsledky analýzy RDA jsou signifikantní na hladině významnosti $\alpha = 0{,}002$, pro všechny kanonické osy. Prostorové uspořádání jednotlivých druhů a plodin stanovené pomocí analýzy RDA je vyjádřeno ordinačním diagramem (Obr. 1).

Z ordinačního diagramu je patrné, že druhy, které byly označeny červeně, se častěji vyskytovaly v paprice roční. Byly to druhy: *Amaranthus retroflexus*, *Setaria glauca*, *Elytrigia repens*. Druhy označené zelenou barvou se více vyskytovaly v celeru, byly to: *Cirsium arvense*, *Echinochloa crus-gali*, *Tripleurospermum inodorum.* Druh *Atriplex patula* se vyskytoval v obou zeleninách, ale nebyl nalezen v porostech polních plodin.

Žlutá barva byla určena pro druhy plevelů, které se vyskytovaly v ozimé pšenici. Jedná se o tyto druhy: *Cardaria draba*, *Galium aparine*. V porostu ozimé řepky byly především zastoupeny druhy

označené modrou barvou (*Euphorbia helioscopia, Papaver rhoeas, Veronica persica*). Ostatní druhy plevelů se velmi málo vyskytovaly v porostech zelenin a byly převážně zastoupeny v polních plodinách.

Obr. 1 Ordinační diagram vyjadřující zastoupení jednotlivých plevelů v porostech vybraných polních plodin a zelenin



Vysvětlivky k ordinačnímu diagramu: **Triticum – ozimá pšenice *(Triticum aestivum)*, Brassica – ozimá řepka *(Brassica napus)*, Capsicum – paprika roční *(Capsicum annuum)*, Apium gr – celer *(Apium graveolens)***

Zkratky vybraných druhů: *Amaranthus retroflexus – Ama retro, Atriplex patula – Atr patu, Capsella bursa-pastoris – Cap burs, Cardaria draba – Car drab, Cirsium arvense – Cir arve, Tripleurospermum inodorum– Cha roma, Consolida orientalis – Con orie, Echinochloa crus-gali – Ech crus, Elytrigia repens – Ely repe, Erodium cicutarium – Ero cicu, Euphorbia helioscopia – Eup heli, Galium aparine – Gal apar, Lamium amplexicaule – Lam ampl, Lamium purpureum – Lam purp, Papaver rhoeas – Pap rhoe, Setaria glauca – Set glau, Silybum marianum – Sil mari, Stellaria media – Ste medi, Thlaspi arvense – Tha arve, Triticum aestivum – Tri aes, Veronica hederifolia – Ver hede, Veronica persica – Ver pers, Viola arvensis – Vio arve.*

Porovnáme-li zaplevelení vybraných polních plodin a zelenin, zjistíme, že počet plevelů v zeleninách je nižší. Převážnou zásluhu má na nižším zaplevelení svědomitější plnění preventivních opatření a regulace plevelů. Vyzdvihla bych dodržování dostatečného časového odstupu mezi shodnými a botanicky příbuznými plodinami na jednom pozemku, dodržení vhodných termínů výsadeb a výsevů, neméně důležitá je včasná likvidace plevelů a v neposlední řadě správný výběr pozemku.

Druhy plevelů převažující ve sledovaných zeleninách patří především do skupiny pozdně jarních (*Amaranthus retroflexus, Atriplex patula, Setaria glauca, Echinochloa crus-gali*) nebo do skupiny vytrvalých plevelů (*Cirsium arvense, Elytrigia repens*). Naopak u vybraných polních plodin převažují (viz. Přílohy Graf 2 – 3) druhy ozimé, nebo-li přezimující (*Capsella bursa-pastoris, Consolida orientalis, Galium aparine, Lamium amplexicaule, Lamium purpureum Papaver rhoeas, Viola arvensis*). Podle Kühna (1993), který uvádí termíny klíčení většiny významných druhů plevelů, se termíny klíčení nalezených druhů překrývají s termíny setí nebo sazení sledovaných plodin. Je tedy pravděpodobné, že později sázené zeleniny budou více zapleveleny pozdně jarními druhy, naopak ozimé druhy plevelů se v těchto podmínkách prosadí jen omezeně.

Dalším faktorem, který mohl ovlivnit výskyt plevelů v zeleninách je hnojení chlévským hnojem. Na tento významný způsob rozšiřování upozorňuje i Remešová (2000), ovšem v podmínkách pěstování polních plodin, ale můžeme předpokládat, že je uplatnitelný i v podmínkách sledovaného zelinářství. Je pravděpodobné, že se to týká především druhu *Atriplex patula*, který bývá často zastoupen na hnojištích.

Srovnáme-li údaje o zaplevelení papriky roční, které uvádí Raus (2008), zjistíme, že výrazně vyšší dominantní postavení zde měly především druhy *Galinsoga parviflora* a *Digitaria sanguinalis*. U těchto druhů Hron, Kohout (1988) uvádějí, že se jedná o druhy především zahrad a zahradnictví. Na našich sledovaných pozemcích tyto druhy nalezeny nebyly.

V celeru byla zaplevelenost nejnižší, k nejčastějším patří velmi obtížně hubitelný druh *Cirsium arvense*, který patří k vytrvalým druhům a je výrazněji vázán na pozemek výskytu.

Výsledky druhového složení plevelů z porostů ozimé řepky, které uvádějí Winkler a Zelená (2006), přibližně odpovídají námi zjištěnými údaji o druhové složení porostu řepky. V obou případech převažovali ozimé druhy plevelů (*Galium aparine, Papaver rhoeas, Viola arvensis*). V ozimé řepce měl výrazné zastoupení výdrol ozimé pšenice.

Ve sledovaném porostu ozimé pšenice byl nejčastěji zastoupen ozimý druh plevele *Galium aparine.* Tento druh je podle Winkler (2008), velmi častý a to především v případě vysoké koncentrace obilnin v osevním postupu.

Za velmi škodlivé plevelné druhy v zeleninách považuji především druhy *Elytrigia repens*, *Amaranthus retroflexus* a *Cirsium arvense*. Značně obtížná je ochrana plodin proti pýru. Je nutné omezit vysemenění a vegetativní množení rostlin na poli a tím zabránit jejich šíření. Osvědčily se metody jako pravidelná hluboká orba, intenzivní předseťová příprava v systému zpracování půd.

Stejně je to mu i při ochraně plodin proti laskavci ohnutému. Navíc je v tomto případě vhodné užití přímých metod. Jde o vhodnou skladbu meziplodin v meziporostním období, okopávku a plečkování. Důsledné uplatnění agrotechnických i speciálních opatření je nutné při ochraně proti pcháči. U všech zmiňovaných je možná i ochrana chemická. Výběr herbicidů je druhově odlišný.

ZÁVĚR

Při pěstování zeleniny *Capsicum annuum* se vyskytovaly plevelné rostliny *Amaranthus retroflexus, Atriplex patula, Cirsium arvense, Elytrigia repens, Setaria glauca, Stellaria media*. V zelenině *Apium graveolens* byly zastoupeny v pleevlném spektru *Atriplex patula, Cirsium arvense, Echinochloa crus-gali, Tripleurospermum inodorum*. V polní plodině *Triticum aestivum* se nacházely plevele *Capsella bursa-pastoris, Cardaria draba, Consolida orientalis, Galium aparine, Lamium amplexicaule, Silybum marianum, Veronica hederifolia, Veronica persica, Viola arvensis.* U polní plodiny *Brassica napus* byly zjištěny plevelné druhy *Capsella bursa-pastoris, Consolida orientalis, Erodium cicutarium, Euphorbia helioscopia, Lamium amplexicaule, Lamium purpureum, Papaver rhoeas, Thalspi arvense, Veronica persica, Viola arvensis* a významné zastoupení měl výdrol *Triticum aestivum*.

Zastoupení jednotlivých druhů plevelných rostlin bylo ve sledovaných zelinářských kulturách odlišné. V kultuře *Capsicum annuum* se nejhojnějším zastoupením vyznačovaly *Amaranthus retroflexus, Elytrigia repens a Atriplex patula*. U kultury *Apium graveolens* se taktéž vyskytl plevelný druh *Atriplex patula*, avšak množství *Cirsium arvense* převažovalo. Zastoupení zde měly i *Tripleurospermum inodorum* a *Echinochloa crus-gali*, které se v *Capsicum annuum* nevyskytovaly.

I přesto, že v polní plodině *Brassica napus* prvenství získalo zastoupení *Papaver rhoeas* a významnou část zaujal výdrol plodiny *Triticum aestivum*, hodnoty zastoupení pro plevelné druhy jako *Consolida oreintalis* a *Viola arvensis* byly podobné pro obě pěstované kulturní plodiny. Nezanedbatelnou část v plodině *Triticum aestivum* tvořily plevelné druhy *Cardaria draba* a *Galium aparine*.

Mezi významně škodící plevelné druhy na zelinářských pozemcích rozhodně patří *Elytrigia repens*. Jeho působnost je široká, zapleveluje všechny jednoleté, víceleté i vytrvalé plodiny a ochrana proti němu je obtížná. Nepřehlédnutelným zástupcem škodlivých plevelů je *Amaranthus retroflexus*, už jen pro jeho hojnost výskytu od nížin až do podhůří. A nesmím zapomenout na rozšířený plevelný rod *Atriplex*, nejrozšířenějším druhem *Atriplex patula*, který zapleveluje především zeleninu a okopaniny.

LITERATURA

Ackermann, P. (2004): *Metodiky ochrany zahradních plodin pro zahradníky a zahrádkáře.* Nakladatelství Květ, Praha 2004, 303 s., ISBN 80-85362-50-3

Dvořák, J., SMUTNÝ, V. (2003): *Herbologie - Integrovaná ochrana proti polním plevelům*, 1.vyd. Skriptum MZLU, Brno, 186 s.

Hron, F., Kohout, V. (1988): *Polní plevele – speciální část*, 1. vyd. Skriptum VŠZ, Praha, 146 s.

Jurášek, P. (1997): *Svetové poľnohospodárstvo, 1.diel*. AT PUBLISHING, Bratislava, 262 s., ISBN 80-967812-0-0

Kohout, V. (1996): *Herbologie – Plevele a jejich regulace*. ČZU, Praha 1996, 115 s. ISBN80-213-0308-5

Kubát, K. (ed.), (2002): *Klíč ke květeně České republiky*. Academia, Praha, 927 s. ISBN 80-200-0836-5.

Kühn, F. (1993): *Germination calender of weeds*. Acta univ. agric., fac. agron., Brno, XXXXI, (1-2), s. 39 – 46.

Petříčková, K. (2006): *Zelenina – Pěstování, ekonomika, prodej*. Profi Press, Praha, 237 s., ISBN 80-86726-20-7

Raus, J. (2008): *Vyhodnocení druhového složení plevelů v zahradních kulturách*. Bakalářská práce, MZLU v Brně, s. 38.

Remešová, I. (2000): The viability of weed seeds in farming manure. *Rostlinná výroba*, 46 (11), s. 515 – 520.

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, 1998.

Winkler, J. (2008): Vliv rozdílné koncentrace obilnin v osevním postupu na plevele v ozimé pšenici. In: Badalíková, B. (Ed.): *Aktuální poznatky v pěstování, šlechtění, ochraně rostlin a zpracování produktů*, Vědecká příloha časopisu Úroda, Brno 6. - 7. 11. 2008, s. 233 – 236, ISSN: 0139-6013.

Winkler, J., Zelená, V. (2005): Vliv rozdílné technologie zpracování půdy na druhové spektrum plevelů v ozimé řepce. Acta univ. agric et silvic. Mendel. Brun., LIII, No. 5, pp 187 – 194. ISSN 1211-8516.

WEED SPECIES SPECTRUM OF CHOSEN FIELD CROPS

Doležal J., Winkler J.

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

E-mail: xdolez27@node.mendelu.cz

ABSTRACT

Aim of this work was to assess actual weed infestation in crop stand of oilseed rape and winter wheat in field conditions of agricultural enterprise in Olbramkostel. Observed fields are located in South Moravia region in dry and warm climatic region. Intensity of weed infestation was carried out in chosen fields using counting method on area of 1 m^2 in 16 replications. Evaluation in winter wheat was done on April, 10, 2009 and in oilseed rape on April 11, 2009. The obtained results were analysed using Canonical Correspondence Analysis. Volunteer oilseed rape was the most often plant species in winter wheat stand. Other weed species were: *Taraxacum officinale, Tripleurospermum maritimum, Echinochloa crus-galli, Stellaria media, Cirsium arvense, Capsella bursa-pastoris* and *Galium aparine. Viola arvensis* was the most frequent weed species in winter oilseed rape. Other species were: *Tripleurospermum maritimum, Thlaspi arvense, Capsella bursa-pastoris, Lamium purpureum* and *Cirsium arvense*.

Key words: weeds, oilseed rape, wheat

Acknowledgement: The results in paper are output of project of Internal Grant Agency, FA MENDELU, No. TP 3/2011 “Optimalization of crop management practices in areas threatened by drought”.

ÚVOD

Zemědělec se na svých pozemcích setkává s rostlinami, které mu svojí přítomností a životními projevy ztěžují práci a snižují výkonnost pěstovaných plodin. Těmto rostlinám říkáme plevele. Za plevele považujeme rostliny, které rostou na stanovištích kulturních rostlin proti vůli pěstitele (Kostelanský et al., 2006).

O plevelech je známo, že každoročně způsobí více jak 10% ztráty na rostlinné produkci a odplevelení porostů vyžaduje značné náklady. Náklady na herbicidy představují celosvětově přes 60 % celkových nákladů na pesticidy (Kohout, 1993).

Podle Deyla a Ušáka (1964) nejsou plevele jen škodlivé rostliny, naopak v mnoha směrech jsou jistým přínosem. Mohou sloužit jako zelené hnojivo, mnohé poskytují pastvu včelám, to zejména na strništích v nejteplejším území čistec roční *(Stachys annua)*, ten dává dobrou pozdní snůšku medu v době, kdy jiných medonosných rostlin je nedostatek. Některé druhy mohou sloužit i jako indikátory stanoviště, to zejména klimatických činitelů, chemického a fyzikálního složení půdy a způsobu obhospodařování.

MATERIÁL A METODIKA

Aktuální stav zaplevelení vybraných pozemků Zemědělského družstva Olbramkostel (Jihomoravský kraj, Česká republika) byl proveden v řepce ozimé na pozemku Pod Strážkou (výměra 50,43 ha) a v pšenici ozimé na pozemku Za Struhami (výměra 46,09 ha). Dlouhodobý průměrný roční úhrn srážek činí 470,5 mm, dlouhodobý průměr teplot je 8,5 °C. Nadmořská výška je 362 m. n. m.

Aktuální stav zaplevelení byl proveden na 16 náhodně vybraných parcelkách o výměře 1 m^2, na kterých byly zjištěny druhy plevelů a jejich celkový počet. České a latinské názvy druhů plevelů byly použity podle Kubáta (2002).

Získané údaje byly zpracovány mnohorozměrnou analýzou ekologických dat. Výběr optimální analýzy se řídil délkou gradientu (*Lengths of Gradient*), zjištěného segmentovou analýzou DCA (*Detrended Correspondence Analysis*). Dále byla použita kanonická korespondenční analýza CCA (*Canonical Correspondence Analysis*). Při testování průkaznosti pomocí testu Monte-Carlo bylo propočítáno 499 permutací. Data byla zpracována pomocí počítačového programu Canoco 4.0. (TER BRAAK, 1998). Pomocí těchto analýz byl zjišťován vliv pěstované plodiny na plevele.

VÝSLEDKY A DISKUZE

V tab. 1 je zaznamenána preemergentní aplikace herbicidů v ozimé řepce na pozemku Pod strážkou.

Tab. 1 Preemergentní aplikace herbicidů v řepce ozimé, pozemek Pod Strážkou

HERBICID	DATUM APLIKACE	DÁVKA (l*ha^{-1})
COMMAND 36 CS	22.8.2008	0,2
BUTISAN 400 SC	22.8.2008	1,5

V tab. 2 je zaznamenána postemergentní aplikace herbicidu v ozimé pšenici na pozemku Za Struhami.

Tab. 2 Postemergentní aplikace herbicidu v pšenici ozimé, pozemek Za Struhami

HERBICID	DATUM APLIKACE	DÁVKA (l*ha^{-1})
MARATON	7. 11. 2008	4

Tab. 3 udává početnost jednotlivých druhů plevelů v porostu řepky ozimé k datu: 10. 4. 2009 na pozemku Pod Strážkou v opakování 1 až 4.

Tab. 3 Počet plevelů na pozemku Pod Strážkou v porostu řepky ozimé v opakování 1 až 4

		Opakování (ks*m^{-2})			
Latinský název	**Český název**	**1**	**2**	**3**	**4**
Viola arvensis	violka rolní	7	8	17	13
Tripleurospermum maritimum	heřmánkovec nevonný	0	0	0	0
Thlaspi arvense	penízek rolní	0	0	15	0
Capsella bursa-pastoris	kokoška pastuší tobolka	0	0	1	0
Lamium purpureum	hluchavka nachová	1	0	2	0
Cirsium arvense	pcháč oset	0	1	0	0
CELKOVÝ POČET PLEVELŮ		**8**	**9**	**35**	**13**

Tab. 4 udává početnost jednotlivých druhů plevelů v porostu řepky ozimé k datu: 10. 4. 2009 na pozemku Pod Strážkou v opakování 5 až 8.

Tab. 4 Počet plevelů na pozemku Pod Strážkou v porostu řepky ozimé v opakování 5 až 8

		Opakování (ks*m^{-2})			
Latinský název	**Český název**	**5**	**6**	**7**	**8**
Viola arvensis	violka rolní	3	5	21	15
Tripleurospermum maritimum	heřmánkovec nevonný	0	0	0	6
Thlaspi arvense	penízek rolní	0	0	0	1
Capsella bursa-pastoris	kokoška pastuší tobolka	0	2	0	1
Lamium purpureum	hluchavka nachová	1	0	0	0
Cirsium arvense	pcháč oset	0	0	0	2
CELKOVÝ POČET PLEVELŮ		**4**	**7**	**21**	**25**

Tab. 5 udává početnost jednotlivých druhů plevelů v porostu řepky ozimé k datu: 10. 4. 2009 na pozemku Pod Strážkou v opakování 9 až 12.

Tab. 5 Počet plevelů na pozemku Pod Strážkou v porostu řepky ozimé v opakování 9 až 12

		Opakování (ks*m^{-2})			
Latinský název	**Český název**	**9**	**10**	**11**	**12**
Viola arvensis	violka rolní	3	1	0	0
Tripleurospermum maritimum	heřmánkovec nevonný	1	1	3	1
Thlaspi arvense	penízek rolní	6	0	3	0
Capsella bursa-pastoris	kokoška pastuší tobolka	0	0	0	0
Lamium purpureum	hluchavka nachová	0	0	0	0
Cirsium arvense	pcháč oset	0	0	4	0
CELKOVÝ POČET PLEVELŮ		**10**	**2**	**10**	**1**

Tab. 6 udává početnost jednotlivých druhů plevelů v porostu řepky ozimé k datu: 10. 4. 2009 na pozemku Pod Strážkou v opakování 13 až 16.

Tab. 6 Počet plevelů na pozemku Pod Strážkou v porostu řepky ozimé v opakování 13 až 16

		Opakování (ks*m^{-2})			
Latinský název	**Český název**	**13**	**14**	**15**	**16**
Viola arvensis	violka rolní	0	9	5	1
Tripleurospermum maritimum	heřmánkovec nevonný	0	0	0	1
Thlaspi arvense	penízek rolní	0	0	1	0
Capsella bursa-pastoris	kokoška pastuší tobolka	0	0	4	0
Lamium purpureum	hluchavka nachová	0	1	0	0
Cirsium arvense	pcháč oset	7	1	3	0
CELKOVÝ POČET PLEVELŮ		**7**	**11**	**13**	**2**

Tab. 7 udává početnost jednotlivých druhů plevelů v porostu pšenice ozimé k datu: 11. 04. 2009 na pozemku Za Struhami v opakování 1 až 4.

Tab. 7 Počet plevelů na pozemku Za Struhami v porostu pšenice ozimé v opakování 1až 4

		Opakování (ks*m-2)			
Latinský název	**Český název**	**1**	**2**	**3**	**4**
Brassica napus subsp. napus	řepka olejka	9	2	3	8
Taraxacum officinale	pampeliška obecná	0	0	0	0
Tripleurospermum maritimum	heřmánkovec nevonný	2	2	0	0
Echinochloa crus-galli	ježatka kuří noha	1	4	0	1
Stellaria media	ptačinec žabinec	0	0	0	0
Cirsium arvense	pcháč oset	0	0	0	0
Capsella bursa-pastoris	kokoška pastuší tobolka	0	1	0	0
Galium aparine	svízel přítula	0	0	0	0
CELKOVÝ POČET PLEVELŮ		**12**	**9**	**3**	**9**

Tab. 8 udává početnost jednotlivých druhů plevelů v porostu pšenice ozimé k datu: 11. 04. 2009 na pozemku Za Struhami v opakování 5 až 8.

Tab. 8 Počet plevelů na pozemku Za Struhami v porostu pšenice ozimé v opakování 5 až 8

		Opakování (ks*m^{-2})			
Latinský název	**Český název**	**5**	**6**	**7**	**8**
Brassica napus subsp. napus	řepka olejka	9	1	0	2
Taraxacum officinale	pampeliška obecná	0	1	0	0
Tripleurospermum maritimum	heřmánkovec nevonný	5	1	0	4
Echinochloa crus-galli	ježatka kuří noha	2	0	0	4
Stellaria media	ptačinec žabinec	0	0	0	6
Cirsium arvense	pcháč oset	0	0	0	0
Capsella bursa-pastoris	kokoška pastuší tobolka	0	0	0	0
Galium aparine	svízel přítula	0	6	3	8
CELKOVÝ POČET PLEVELŮ		**16**	**9**	**3**	**24**

Tab. 9 udává početnost jednotlivých druhů plevelů v porostu pšenice ozimé k datu: 11. 04. 2009 na pozemku Za Struhami v opakování 9 až 12.

Tab. 9 Počet plevelů na pozemku Za Struhami v porostu pšenice ozimé v opakování 9 až 12

		Opakování (ks*m^{-2})			
Latinský název	**Český název**	**9**	**10**	**11**	**12**
Brassica napus subsp. napus	řepka olejka	2	15	14	7
Taraxacum officinale	pampeliška obecná	0	0	0	0
Tripleurospermum maritimum	heřmánkovec nevonný	0	0	11	0
Echinochloa crus-galli	ježatka kuří noha	1	1	9	0
Stellaria media	ptačinec žabinec	15	1	0	0
Cirsium arvense	pcháč oset	0	3	2	7
Capsella bursa-pastoris	kokoška pastuší tobolka	0	0	0	0
Galium aparine	svízel přítula	1	1	1	0
CELKOVÝ POČET PLEVELŮ		**19**	**21**	**37**	**14**

Tab. 10 udává početnost jednotlivých druhů plevelů v porostu pšenice ozimé k datu: 11. 04. 2009 na pozemku Za Struhami v opakování 13 až 16.

Tab. 10 Počet plevelů na pozemku Za Struhami v porostu pšenice ozimé v opakování 13 až 16

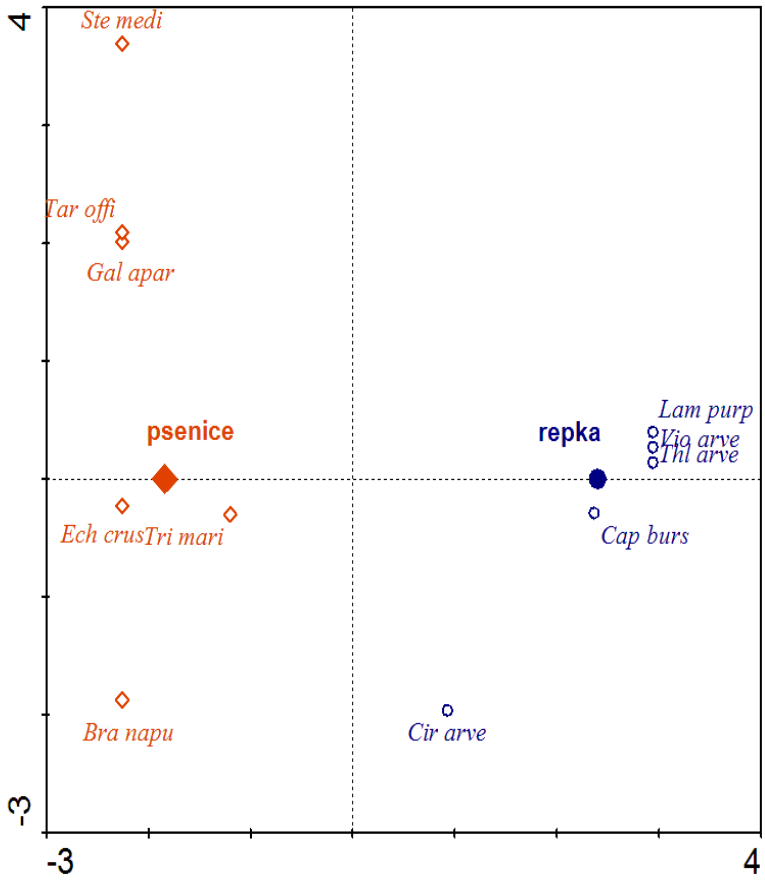
		Opakování (ks*m^{-2})			
Latinský název	**Český název**	**13**	**14**	**15**	**16**
Brassica napus subsp. napus	řepka olejka	0	5	0	8
Taraxacum officinale	pampeliška obecná	0	0	0	0
Tripleurospermum maritimum	heřmánkovec nevonný	4	6	15	0
Echinochloa crus-galli	ježatka kuří noha	1	1	0	1
Stellaria media	ptačinec žabinec	4	0	2	0
Cirsium arvense	pcháč oset	0	0	0	0
Capsella bursa-pastoris	kokoška pastuší tobolka	0	0	0	0
Galium aparine	svízel přítula	1	0	0	0
CELKOVÝ POČET PLEVELŮ		**10**	**12**	**17**	**9**

Výsledky vyhodnocení zaplevelení ve vybraných plodinách byly zpracovány analýzou DCA. Na základě této analýzy byla vypočtena délka gradientu, která byla 4,290. Byla proto vybrána pro následující zpracování dat z obou lokalit kanonická korespondenční analýza (CCA).

Na základě frekvence a intenzity výskytu jednotlivých plevelných druhů ve vybraných plodinách, bylo analýzou CCA vytvořeno prostorové uspořádání jednotlivých plevelných druhů a plodin, graficky zobrazené v ordinačním diagramu. Druhy plevelů a plodiny jsou zobrazeny body, které mají odlišenou barvu a tvar. V případě, že se bod příslušného druhu nalézá ve stejném kvadrantu nebo se nachází v blízkosti bodu pro určitou plodinu, je jeho výskyt více vázán na porost této plodiny. Z Ordinačního diagramu (Obr.1) to jsou např. body pro ježatku kuří nohu (*Echinochloa crus-galli)*, která je vázána na porost pšenice ozimé nebo pro kokošku pastuší tobolku *(Capsella bursa-pastoris)*, která je vázána na porost řepky ozimé.

Výsledky analýzy CCA jsou signifikantní na hladině významnosti $\alpha = 0{,}002$, pro všechny kanonické osy. Podle ordinačního diagramu Obr. č. 1 můžeme druhy rostlin rozdělit do dvou skupin. V první skupině jsou plevele vázány na porost pšenice ozimé. Patří sem: ptačinec žabinec, pampeliška obecná, svízel přítula, ježatka kuří noha, heřmánkovec přímořský a řepka olejka. Ve skupině druhé jsou plevele vázány na porost řepky ozimé. Sem patří: hluchavka nachová, violka rolní, penízek rolní, kokoška pastuší tobolka a pcháč oset.

Obr. 1 Ordinační diagram zobrazující plevele více vázané na řepku ozimou a pšenici ozimou



Vysvětlivky k obr. 1:

psenice = pšenice ozimá *(Triticum aestivum)*

Ste medi = ptačinec žabinec *(Stellaria media)*

Tar offi = pampeliška lékařská *(Taraxacum officinale)*

Gal apar = svízel přítula *(Galium aparine)*

Ech crus = ježatka kuří noha *(Echinochloa crus-gali)*

Tri mari = heřmánkovec nevonný *(Tripleurospermum maritimum)*

Bra napu = řepka olejka *(Brassica napus* subsp. *napus)*

repka = řepka ozimá *(Brassica napus* subsp.*napus)*

Lam purp = hluchavka nachová *(Lamium purpureum)*

Vio arve = violka rolní *(Viola arvensis)*

Thl arve = penízek rolní *(Thlaspi arvense)*

Cap burs = kokoška pastuší tobolka *(Capsella bursa-pastoris)*

Cir arve = pcháč oset *(Cirsium arvense)*

DISKUSE

Jako nejhojněji zastoupeným plevelem při zjišťování aktuálního zaplevelení řepky ozimé byla stanovena violka rolní. Sysel (2008) tento stav vysvětluje tak, že přemnožení violky rolní v porostech kulturních plodin je možné díky její vysoké zásobě semen v půdě a jejich vysokou konkurenceschopností po vzejití.

Violka rolní se stává poměrně špatně regulovatelným plevelem díky své toleranci vůči herbicidům s účinnou látkou na bázi sulfonylmočovin (Mikulka, Kneifelová et al. 2005). Z tohoto důvodu by bylo vhodné věnovat právě violce rolní větší pozornost i do budoucna a zaměřit se na její efektivnější regulaci.

Dále se v porostu řepky ozimé vyskytovaly tyto druhy plevelů: penízek rolní, pcháč oset, heřmánkovec nevonný, kokoška pastuší tobolka a hluchavka nachová. Penízek rolní lze regulovat herbicidy jen obtížně, protože patří do stejné čeledě jako řepka ozimá a navíc pro jeho jednoletý charakter je potlačena i mechanická regulace. Velkým problémem je dále také jeho etapovité vzcházení v průběhu celého vegetačního období (Mikulka, Kneifelová et al. 2005)

Preemergentní aplikace herbicidů byla v řepce ozimé provedena kombinací BUTISAN 400 SC a COMMAND 36 CS. Avšak ani jeden z těchto přípravků není určen pro regulaci pcháče osetu. Pcháči je proto nutno věnovat lepší pozornost, jinak totiž může dojít, jak uvádí Mikulka, Chodová a Martinková (1993), k jeho silnému rozšíření. Pcháč oset již při slabším výskytu výrazně potlačuje růst kulturních rostlin a vzhledem ke svému vytrvalému charakteru se projevuje v celém osevním postupu.

Při zjišťování aktuálního zaplevelení pšenice ozimé byl nejpočetnějším plevelem výdrol řepky ozimé, druhým heřmánkovec nevonný a třetím ptačinec žabinec.

U výdrolu řepky ozimé je těžké stanovit, zdali semena vypadala z šešulí ještě před sklizní nebo při najetí sklízecí mlátičky do porostu a následnými otřesy došlo k otevření šešulí a vypadání semen nebo špatným seřízením sklízecí mlátičky. Schlink (1995) uvádí, že řepka je plodinou se značným

rizikem nízkého výnosu, protože při její sklizni dochází k vysokému výdrolu semen, kdy vlivem nevyhovujících vlhkostních podmínek (vyschnutí, navlhnutí) se šešule často otevírají a semena z nich vypadávají na půdu. Vzhledem k tomu, že byl zjištěn vysoký výskyt zaplevelující řepky ozimé lze doporučit i druhou aplikaci herbicidů v postemergentní formě, protože vzešlý výdrol se vyznačuje vysokou konkurenceschopností vůči pšenici ozimé a představuje komplikace při sklizni.

Heřmánkovec nevonný se vyskytoval především tam, kde nebyl porost pšenice ozimé zapojen, nebo kde byl porost řídký. Toto potvrzuje Mikulka et al. (1999), heřmánkovec nevonný zapleveluje ozimé obilniny, avšak při řádně zapojeném porostu je potlačován.

Ptačinec žabinec vzchází po celou dobu vegetačního období, představuje tak určitý konkurenční tlak pro pěstované plodiny, ve kterých se právě nachází. Na herbicidy je velmi citlivý, avšak za vhodných podmínek dochází k jeho opětovnému vzejití již po krátké době aplikace herbicidů. I přes jeho negativní charakter jej však Mikulka, Kneifelová et al. (2005) řadí mezi méně významné plevele.

Porost pšenice ozimé byl dále zaplevelen těmito druhy: pampeliška lékařská, ježatka kuří noha, svízel přítula, kokoška pastuší tobolka, pcháč oset.

Výskyt pcháče osetu v porostu pšenice ozimé byl ohniskového charakteru. Mikulka, Chodová a Martinková (1993) uvádějí, že pcháč oset patří mezi houževnaté plevele a jeho vytrvalý charakter mu umožňuje dlouhodobé setrvání na daném pozemku. V obilninách je údajně možno počítat s tím, že výskyt 2 lodyh na 1 m^2 vyvolá pokles výnosu o 15 – 25 %. I když je jeho kořenová soustava křehká a citlivá vůči kultivačním zásahům, má pcháč velkou regenerační schopnost. Pcháč je velice citlivý vůči vhodným systémovým herbicidům, ovšem hodně záleží na správném termínu aplikace, aby se účinek dostavil. Zemědělské družstvo využívá při agrotechnických operacích při pěstování pšenice ozimé i řepky ozimé minimalizační technologii zpracování půdy. Ta ovšem právě pcháči osetu umožňuje snadnější a rychlejší šíření na větší vzdálenosti vegetativní formou rozmnožování. Ostatně jak uvádějí Mikulka, Chodová a Martinková (1993), bylo zjištěno při minimalizačním zpracování půdy na pokusných pozemcích 70 – 310 listových růžic na 20 m^2 a při tradičním zpracování půdy potom 10 – 74 listových růžic na 20 m^2.

Pšenice ozimá byla ošetřena herbicidem MARATON formou postemergentní aplikace. MARATON ovšem není určen pro regulaci pcháče osetu ani pampelišky lékařské. Vzhledem k nízkému výskytu pampelišky lékařské se nejedná o akutní řešení její regulace, avšak podle Mikulky, Kneifelové et al. (2005) se jedná o špatně regulovatelnou rostlinu vzhledem k neustálému náletu nažek. Navíc je podporována právě díky minimalizačnímu zpracování půdy. Proto lze doporučit vhodnější herbicidy, které regulují účinněji výdrol řepky ozimé, heřmánkovec nevonný aj. např. MUSTANG FORTE, KANTOR PLUS, HURICANE aj. (www.srs.cz, 2011).

ZÁVĚR

V porostu řepky ozimé byly určeny tyto plevele: violka rolní, heřmánkovec nevonný, penízek rolní, kokoška pastuší tobolka, hluchavka nachová a pcháč oset.

V porostu pšenice ozimé se vyskytovaly tyto druhy plevelů: výdrol řepky ozimé, pampeliška lékařská, heřmánkovec nevonný, ježatka kuří noha, ptačinec žabinec, pcháč oset, kokoška pastuší tobolka a svízel přítula.

Řepka ozimá byla nejvíce zaplevelena violkou rolní, Pšenice ozimá výdrolem řepky ozimé.

Při pěstebních technologií obou plodin je využíváno minimalizačního zpracování půdy. Minimalizace ovšem napomáhá dalšímu šíření pcháče osetu, hluchavky nachové, violky rolní, pampelišky lékařské a heřmánkovce nevonného. Je možné doporučit i mechanický způsob regulace plevelů pomocí lehkých prutových bran, které podnik vlastní, ale v současnosti již nevyužívá. Tyto brány se dají použít do doby, kdy porost pšenice není zcela zapojen. Pruty bran nepoškodí pěstovanou plodinu na tolik, aby se již nemohla zregenerovat a vegetovat, ale velmi úspěšně regulují mělce kořenící plevele. Dalším doporučením je snížení sklizňových ztrát na minimum, aby nedocházelo ke zbytečnému obohacování půdní banky životaschopnými semeny z výdrolu plodin. Po vyčištění pšenice či řepky by se měl podnik vyvarovat skladování příměsí a nečistot (propad, semena plevelů aj.) na hnojištích, aby nemohlo docházet k dalšímu šíření plevelů prostřednictvím hnoje.

LITERATURA

DEYL, M., UŠÁK, O. (1964): *Plevele polí a zahrad.* 2. vyd. Praha: Nakladatelství Československé akademie věd 1964. 392 s.

KOHOUT, V. (1993): *Regulace zaplevelení polí.* 1. vyd. Praha: Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství České republiky 1993. 37 s.

KOSTELANSKÝ, F., et al. (2006): *Obecná produkce rostlinná*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně 2006. 212 s.

KUBÁT, K (2002): *Klíč ke květeně České republiky*. Academia, Praha, 2002, 927 s. ISBN: 80200-0836-5.

MIKULKA, J., CHODOVÁ, D., MARTINKOVÁ, Z., (1993): *Systém hubení pýru plazivého a pcháče osetu na orné půdě*. Vyd. 1. Praha: Institut výchovy a vzdělávání ministerstva zemědělství ČR, 1993. 34 s. ISBN: 80-7105-033-4.

MIKULKA, J., KNEIFELOVÁ, M., et al. (2005): *Plevelné rostliny*. 2. vyd. Praha*:* Profi Press 2005. 147 s.

MIKULKA, J., CHODOVÁ, D., KOHOUT, V., MARTINKOVÁ, Z., SOUKUP, J., UHLÍK, J., (1999): *Plevelné rostliny polí, luk a zahrad*. Farmář – Zemědělské listy. Praha: 1999. 160 s. ISBN:80-902413-2-8.

SCHLINK, S., (1995): *Überdauerungsvermögen und Dormanz von Rapssamen (Brassica napus)* in Boden. In 9th Symposium EWRS. Budapešť: 1995, str 65 – 72.

SYSEL, M., (2008): *Sledování výskytu plevelů v porostech obilnin a řepky v provozních podmínkách* [online]. Brno, 2008. 141 s. Diplomová práce. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Agronomická fakulta, Ústav agrosystémů a bioklimatologie. Dostupné z WWW: <is.mendelu.cz/auth/lide/clovek.pl?id=21070;zalozka=7>

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

Registr přípravků na ochranu rostlin, 2011. www.srs.cz http://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Vyhledavani.aspx (accesed Oct 04, 2011)

ASSESSMENT OF WEED SPECTRUM IN SELECTED VINEYARDS

Jakabová L., Winkler J.

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

E-mail: xjakabo1@node.memdelu.cz

ABSTRACT

The aim of this work was to determine weed species which are occurred in vineyard in Žabčice and evaluate differences in weed infestation in various locations. Three vineyards were assessed, when 10 phytoceonological reléves were carried out. Obtained data were analysed using correspondence canonical analyses (CCA). Totally 67 weed species were in vineyard. The most often occurred weed species between rows (grass-covered variant): *Lolium perenne*, *Echinochloa crus-galli*, *Calamagrostis epigejos*, *Conyza canadensis.* In part close to the trunk of the tree, were: *Bromus inermis*, *Bromus sp*., *Calamagrostis epigejos*, *Setaria pumila*, *Arrhenatherum elatius*, *Convolvulus arvensis*. The most frequent weeds in variant with soil cultivation space between rows: *Amaranthus sp.*, *Bromus sp*., *Setaria pumila*, *Tripleurospermum inodorum*, *Convolvulus arvensis*, *Digitaria sanguinalis*, *Echinochloa crus-galli.*

Key words: weeds, vineyards, phytoceonological reléves

Acknowledgement: The results in paper are output of project of Internal Grant Agency, FA MENDELU, No. TP 3/2011 “Optimalization 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

Ľudia sa od nepamäti stretávajú na obhospodarovaných plochách s rastlinami, ktoré svojou prítomnosťou sťažujú prácu a znižujú výkonnosť pestovaných kultúrnych plodín. Tieto rastliny sa označujú ako buriny a spolu s ostatnými choroboplodnými organizmami sú škodlivými činiteľmi pestovaných plodín (Dvořák, Smutný, 2003).

Priamy škodlivý vplyv buriny na plodinu je dôsledkom konkurencie. Mohutný koreňový systém zabezpečuje väčšiu odolnosť voči suchu, mnohé druhy majú schopnosť vzdorovať i zamokreniu, mrazu a iným nepriaznivým podmienkam. Sú prekážkou k dosiahnutiu optimálnej produkcie na ornej pôde, pretože znižujú úrodnosť pôdy a ochudobňujú pestovanú plodinu o vlahu a živiny (Dvořák, Smutný, 2003).

Územie ČR leží v oblasti stredoeurópskej klímy. Na rozmanitosti klímy sa významne podieľa členitosť terénu, výškové pomery, vysokú premenlivosť vykazuje geologicko-petrografický substrát. Preto sú v ČR predpoklady pre floristickú pestrosť, čo sa premieta i do druhového spektra buriny (Dvořák, Smutný, 2003).

Pre poľnohospodársku prax je vhodné rozdelenie buriny podľa jej biologických vlastností, tzn. podľa masového klíčenia semien, schopnosti prezimovať a podľa charakteru orgánov vegetatívneho rozmnožovania (Hron, Vodák, 1959).

Ako uvádzajú Dvořák a Smutný (2003), po druhej svetovej vojne došlo k významným sociálnym zmenám, v dôsledku ktorých nastal nedostatok pracovných síl v poľnohospodárstve. To sa prejavilo v menšej úrovni pestovania plodín, menili sa technológie pestovania, hľadali sa nové spôsoby pestovania, v neskoršom období sa zvyšoval podiel chemizácie. V dôsledku týchto zmien klesá počet druhov tvoriacich zaburinenie polí.

V posledných desaťročiach sa druhové spektrum burín významne znížilo. V rokoch 1950–1985 zmizlo z polí asi 100 rastlinných druhov a poddruhov. V dôsledku zmien životných podmienok na Zemi sa v súčasnosti počet druhov znižuje závratnou rýchlosťou. Zanikajú pochopiteľne aj prirodzeným vývojom, ale tisíckrát rýchlejšie miznú v dôsledku ľudskej činnosti. K poklesu druhovej pestrosti bude dochádzať aj naďalej a významné zostanú iba druhy, ktoré sa dokážu najlepšie prispôsobiť budúcim podmienkam. Množstvo niektorých burín kleslo natoľko, že je treba hovoriť o ich ochrane. Tieto druhy sú uvedené v publikácii Červený seznam cévnatých rostlin ČR (Dvořák, Smutný, 2003).

V bežnej praxi sa tzv. čisté agrofytocenózy (bez buriny) nevyskytujú, pretože v prírode nemožno zabrániť rozširovacej a rozmnožovacej schopnosti buriny (Škoda, 1998).

MATERIÁL A METODIKA

Školský poľnohospodársky podnik Žabčice leží 25 km južne od Brna v okrese Brno-venkov. Územie Žabčíc a ich okolie leží v Dyjsko-svratkovom úvale, ktorý je tvorený prevažne neogénnymi sedimentmi. Geologický útvar, na ktorom sa pozemky nachádzajú, je reprezentovaný štvorhonovými štrkmi a čiastočne aluviálnymi naplaveninami. Pôdy v katastre pracoviska sú neutrálne až slabo kyslé, s nedostatkom humusu, rôzneho zloženia (od piesočnatých pôd, ktorých je prevaha, až po ílovité pôdy). Na území pracoviska Žabčice sa najčastejšie vyskytujú černozeme, mierne podzolované drnové pôdy a nivné glejové pôdy. Pozemky sú prevažne rovinatého charakteru s nadmorskou výškou 185 m. n. m. Klíma nie je pre poľnohospodárstvo úplne vhodná. Podnik leží v juhomoravskej suchej oblasti. Podrobnejšie zrážkové a teplotné pomery sú uvedené v Tab. 1. Do oblasti zasahuje dažďový tieň a zrážky sú v období vegetácie rozložené veľmi nepravidelne. Celková rozloha plodných vinohradov je 170 ha. Vinohrady patria do Veľkopavlovickej vinohradníckej oblasti. Najzastúpenejšími odrodami sú Rulandské šedé, Müller Thurgau, Sauvignon, Tramín, Pálava a Veltlínske zelené. Miestne podmienky dobre znáša i modrá odroda Svätovavrinecké. Všeobecne sa pestuje 25 odrôd vrátane zaujímavých krížencov (Anonym, 2006).

Tab. 1: Meteorologická charakteristika školského pozemku Žabčice

Mesiac	Dlhodobé priemery		Hodnoty v roku 2008	
	Zrážky (mm)	Teploty (°C)	Zrážky (mm)	Teploty (°C)
Január	27,5	-2,4	15,7	1,8
Február	25,5	-0,2	10,4	2,6
Marec	27,2	3,8	32,9	4,81
Apríl	37,8	9,1	29,3	10,1
Máj	73,3	14,2	53,5	15,4
Jún	78,4	17,1	19,6	19,8
Júl	76,4	18,6	49,9	20,4
August	68,8	18,0	55,9	20,0
September	44,5	14,3	46,1	14,3
Október	40,0	9,1	27,3	9,8
November	40,4	3,7	22,1	6,5
December	30,3	-0,4	31,1	1,8

Hodnotenie prebiehalo v troch vinohradoch, pričom v každom z nich bolo urobených 10 fytocenologických snímok. Vo vinici sa strieda zatrávnené a kultivované medziradie. V príkmennom páse sa používajú herbicídy.

V rámci každej snímky sa sledovali 3 stanoviská: zatrávnené medziradie (ZM), kultivované medziradie (ZM) a príkmenný pás (PP). Každé z troch stanovísk malo plochu 15 m^2, na ktorej bolo odhadnuté celkové pokrytie pôdy a pokrytie jednotlivými druhmi. Pokrytia sa odhadovali priamo v percentách. Hodnotenie prebiehalo v dňoch od 16.7.2008 do 19.7.2008.

Získané údaje boli spracované mnohorozmernou analýzou ekologických dát, pričom výber optimálnej analýzy sa riadil dĺžkou gradientu (*Lenghts of Gradient*), ktorý sa zisťoval segmentovou analýzou DCA (*Detrended Correspondence Analysis*). Ďalej bola použitá kanonická korešpondenčná analýza CCA (*Canonical Correspodence Analysis*). Pri testovaní vecnosti pomocou testu Monte-Carlo bolo prepočítaných 499 permutácií. Dáta boli spracované pomocou počítačového programu Canoco 4.0. (Ter Braak, 1998).

České a latinské názvy rastlinných druhov boli použité podľa Kubáta (2002).

VÝSLEDKY A DISKUZIA

Početnejšie druhy vyskytujúce sa vo vinohrade 1 sú zhrnuté v abecednom poradí v Tab. 2. Číslo v tabuľke predstavuje sumárnu pokryvnosť v percentách.

Menej početné druhy z vinohradu 1 (s pokryvnosťou do 1%): *Aethusa cynapium, Anthemis arvensis, Arenaria serpyllifolia, Atriplex patula , Briopsida, Capsella bursa-pastori,s, Cichorium intybus, Crepis tectorum, Dactylis glomerata, Echinochloa crus-galli, Echium vulgare, Elytrigia repens, Epilobium ciliatum, Erigeron annuus, Erophila verna, Euphorbia helioscopia, Fallopia convolvulus, Fumaria officinalis, Galium verum, Lactuca serriola, Lamium purpureum, Malva neglecta, Medicago lupulina, Melica transsilvanica, Plantago major, Polygonum aviculare, Potentilla anserina, Robinia pseudacacia, Rumex acetosella, Sambucus nigra, Securigera varia, Taraxacum officinale, Thlaspi arvense, Tragopogon orientalis* a *Trifolium arvense.*

Tab. 2: Druhy burín vyhodnotené vo vinohrade 1

Názov buriny	Zatrávnené medziradie	Kultivované medziradie	Príkmenný pás
Achillea millefolium	3		
Amaranthus		41	4
Anagallis arvensis		1	2
Arrhenatherum elatius	1		
Artemisia vulgaris	1		
Bromus inermis			1
Bromus sp.		4	5
Calamagrostis epigejos	7		7
Carduus acanthoides	1	1	1
Cirsium arvense		2	1
Convolvulus arvensis			10
Conyza canadensis	1		1
Digitaria sanguinalis		8	11
Erodium cicutarium		1	
Falcaria vulgaris	1		
Filago arvensis	2	2	2
Geranium pusillum	3	3	4
Geum urbanum	4		
Hordeum murinum	1		2
Chenopodium album		9	1
Chenopodium hybridum		4	
Kochia scoparia	1		3
Lolium perenne	61		
Lycopsis arvensis	3		
Rosa canina	2		2
Rubus sp.			6
Senecio vulgaris		1	1
Setaria pumila	2	16	31
Silene latifolia	2		
Solanum nigrum		2	
Tripleurospermum inodorum		2	
Viola arvensis	1	2	5

Početnejšie druhy vyskytujúce sa vo vinohrade 2 sú zhrnuté v abecednom poradí v Tab. 3. Číslo v tabuľke predstavuje sumárnu pokryvnosť v percentách.

Tab. 3: Druhy burín vyhodnotené vo vinohrade 2

Názov buriny	Zatrávnené medziradie	Kultivované medziradie	Príkmenný pás
Amaranthus		4	
Arrhenatherum elatius	6	4	11
Briopsida	5		
Bromus sp.	5	19	49
Calamagrostis epigejos	4		2
Carduus acanthoides	2	5	4
Cirsium arvense		3	1
Convolvulus arvensis	2	8	1
Dactylis glomerata		1	
Echinochloa crus-galli		1	
Elytrigia repens		3	1
Erigeron annuus	1		
Erodium cicutarium		1	
Erophila verna	1		1
Filago arvensis	1	6	3
Galium verum			2
Geranium pusillum		4	
Hordeum murinum		2	1
Chenopodium album		1	
Lactuca serriola		1	2
Lolium perenne	58	8	
Lycopsis arvensis		1	2
Melica transsilvanica	2	2	5
Potentilla anserina	6	5	6
Robinia pseudacacia		1	
Rosa canina	2		1
Setaria pumila		4	
Silene latifolia		1	1
Taraxacum officinale		1	
Tripleurospermum inodorum	1	13	4

Menej početné druhy z vinohradu 2 (s pokryvnosťou do 1%): *Aethusa cynapium, Achillea millefolium, Anagallis arvensis, Anthemis arvensis, Arenaria serpyllifolia, Artemisia vulgaris, Atriplex patula, Bromus inermis, Capsella bursa-pastoris, Cichorium intybus, Conyza canadensis, Crepis tectorum, Digitaria sanguinalis, Echium vulgare, Epilobium ciliatum, Euphorbia helioscopia, Fallopia convolvulus, Falcaria vulgaris, Fumaria officinalis, Geum urbanum, Chenopodium hybridum, Kochia scoparia, Lamium purpureum, Malva neglecta, Medicago lupulina, Plantago major, Polygonum aviculare, Rubus sp., Rumex acetosella, Sambucus nigra, Securigera varia, Senecio vulgaris, Solanum nigrum, Thlaspi arvense , Tragopogon orientalis, Trifolium arvense* a *Viola arvensis*.

Početnejšie druhy vyskytujúce sa vo vinohrade 3 sú zhrnuté v abecednom poradí v Tab. 4. Číslo v tabuľke predstavuje sumárnu pokryvnosť v percentách.

Menej početné druhy z vinohradu 3 (s pokryvnosťou do 1%): *Aethusa cynapium, Anagallis arvensis, Anthemis arvensis, Artemisia vulgaris, Bromus inermis, Capsella bursa-pastoris, Cichorium intybus, Crepis tectorum, Dactylis glomerata, Echium vulgare, Elytrigia repens, Erigeron annuus, Erophila verna, Euphorbia helioscopia, Fallopia convolvulus, Falcaria vulgaris, Fumaria officinalis, Galium verum, Geum urbanum, Hordeum murinum, Chenopodium hybridum, Kochia scoparia, Lamium purpureum, Lycopsis arvensis, Malva neglecta, Medicago lupulina, Melica transsilvanica, Plantago major, Robinia pseudacacia, Rubus sp., Rumex acetosella, Securigera varia, Senecio vulgaris, Silene latifolia, Solanum nigrum* a *Trifolium arvense*.

Tab. 4: Druhy burín vyhodnotené vo vinohrade 3

Názov buriny	Zatrávnené medziradie	Kultivované medziradie	Príkmenný pás
Achillea millefolium	1		1
Amaranthus	1	29	1
Arenaria serpyllifolia	3		
Arrhenatherum elatius			2
Atriplex patula	2		2
Briopsida	1		
Bromus sp.	6	5	43
Calamagrostis epigejos	5		19
Carduus acanthoides	3	1	4
Cirsium arvense			1
Convolvulus arvensis	5	6	6
Conyza canadensis	6	1	5
Digitaria sanguinalis	1	9	2
Echinochloa crus-galli	2	16	
Epilobium ciliatum		1	1
Erodium cicutarium		3	
Filago arvensis	3		3
Geranium pusillum	1	1	
Chenopodium album		6	1
Lactuca serriola			1
Lolium perenne	35		
Polygonum aviculare	5		
Potentilla anserina	5	2	2
Rosa canina	1		2
Sambucus nigra			2
Setaria pumila	3	12	1
Taraxacum officinale	3	3	
Thlaspi arvense		1	
Tragopogon orientalis			1
Tripleurospermum inodorum	5	1	3
Viola arvensis	2	2	2

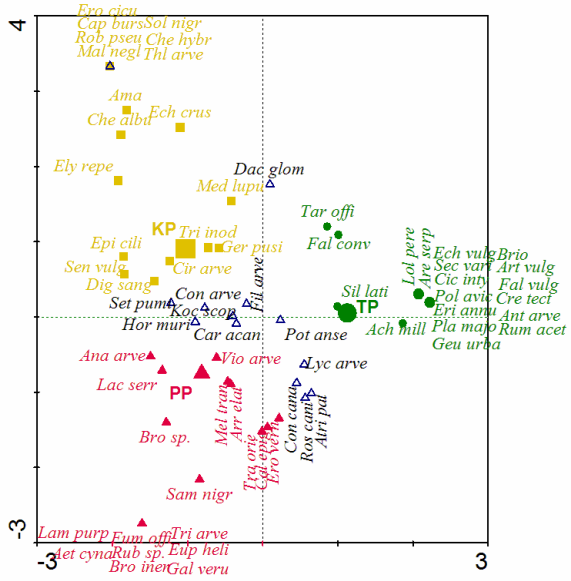
Prostredníctvom analýzy DCA, ktorou sa vyhodnocovali dáta zozbierané vo vinohrade v Žabčiciach, bola zistená dĺžka gradientu 4,163. Preto bola vybraná pre následné spracovanie fytocenologických snímok kanonická korešpondenčná analýza (CCA). Na základe výskytu buriny na jednotlivých stanoviskách vymedzuje analýza CCA priestorové usporiadanie jednotlivých rastlinných druhov, ktoré je vyjadrené ordinačným diagramom na Obr. 1. Rastlinné druhy a faktory, ktoré ovplyvňujú ich výskyt, sú označené bodmi a rozlíšené farbami. Čím je rastlinný druh bližšie k znaku faktoru, tým výraznejšie ho daný faktor ovplyvňuje.

Body **Sil lati** (*Silene latifolia*) a **●TP** (zatrávnené medziradie) sa nachádzajú v tesnej blízkosti, z čoho vyplýva, že tento druh sa nachádzal najčastejšie na tomto stanovisku. Analogicky to platí pre **Vio arve** (*Viola arvensis*) v **▲PP** (príkmennom páse) a **Tri inod** (*Tripleurospermum inodorum*) v **■KP** (kultivovanom medziradí).

Výsledky analýzy CCA sú na hladine štatistickej významnosti α = 0,002, pre všetky kanonické osi.

Druhy, ktoré sa nachádzajú uprostred ordinačného diagramu, vo väčšej vzdialenosti od bodov ●TP, ▲PP a ■KP, alebo v inom sektore, sú ovplyvnené iným faktorom.

Obr. 1: Ordinačný diagram vyjadrujúci vplyv stanoviska na výskyt rastlinného druhu



Vysvetlivky: **●TP** označuje zatrávnené medziradie, **▲PP** príkmenný pás a **■KP** kultivované medziradie.

Skratky vybraných druhov: Aet cyna (*Aethusa cynapium*), Ach mill (*Achillea millefolium*), Ama (*Amaranthus*), Ana arve (*Anagallis arvensis*), Ant arve (*Anthemis arvensis*), Are serp (*Arenaria*

serpyllifolia), Arr elat (*Arrhenatherum elatius*), Art vulg (*Artemisia vulgaris*), Atri pat (*Atriplex patula*), Brio (*Briopsida*), Bro iner (*Bromus inermis*), Bro sp. (*Bromus sp.*), Cal epig (*Calamagrostis epigejos*), Cap burs (*Capsella bursa-pastoris*), Car acan (*Carduus acanthoides*), Cic inty (*Cichorium intybus*), Cir arve (*Cirsium arvense*), Con arve (*Convolvulus arvensis*), Con cana (*Conyza canadensis*), Cre tect (*Crepis tectorum*), Dac glom (*Dactylis glomerata*), Dig sang (*Digitaria sanguinalis*), Ech crus (*Echinochloa crus-galli*), Ech vulg (*Echium vulgare*), Ely repe (*Elytrigia repens*), Epi cili (*Epilobium ciliatum*), Eri annu (*Erigeron annuus*), Ero cicu (*Erodium cicutarium*), Ero vern (*Erophila verna*), Eup heli (*Euphorbia helioscopia*), Fal conv (*Fallopia convolvulus*), Fal vulg (*Falcaria vulgaris*), Fil arve (*Filago arvensis*), Fum offi (*Fumaria officinalis*), Gal veru (*Galium verum*), Ger pusi (*Geranium pusillum*), Geu urba (*Geum urbanum*), Hor muri (*Hordeum murinum*), Che albu (*Chenopodium album*), Che hybr (*Chenopodium hybridum*), Koc scop (*Kochia scoparia*), Lac serr (*Lactuca serriola*), Lam purp (*Lamium purpureum*), Lol pere (*Lolium perenne*), Lyc arve (*Lycopsis arvensis*), Mal negl (*Malva neglecta*), Med lupu (*Medicago lupulina*), Mel tran (*Melica transsilvanica*), Pla majo (*Plantago major*), Pol avic (*Polygonum aviculare*), Pot anse (*Potentilla anserina*), Rob pseu (*Robinia pseudacacia*), Ros cani (*Rosa canina*), Rub sp. (*Rubus sp.*), Rum acet (*Rumex acetosella*), Sam nigr (*Sambucus nigra*), Sec vari (*Securigera varia*), Sen vulg (*Senecio vulgaris*), Set pumi (*Setaria pumila*), Sil lati (*Silene latifolia*), Sol nigr (*Solanum nigrum*), Tar offi (*Taraxacum officinale*), Thl arve (*Thlaspi arvense*), Tra orie (*Tragopogon orientalis*), Tri arve (*Trifolium arvense*), Tri inod (*Tripleurospermum inodorum*) a Vio arve (*Viola arvensis*).

Celkovo bolo počas sledovania vo vinohrade v Žabčiciach identifikovaných 67 rastlinných druhov. V zatrávnenom medziradí bolo určených 49 rastlinných druhov, v príkmennom páse 43 rastlinných druhov a v kultivovanom medziradí 39 druhov.

V zatrávnenom medziradí sa najčastejšie nachádzali druhy: *Achillea millefolium, Anthemis arvensis, Arenaria serpyllifolia, Artemisia vulgaris, Briopsida, Cichorium intybus, Crepis tectorum, Echium vulgare, Erigeron annuus, Falcaria vulgaris, Fallopia convolvulus, Geum urbanum, Lolium perenne, Plantago major, Polygonum aviculare, Rumex acetosella, Securigera varia, Silene latifolia* a *Taraxacum officinale*.

V príkmennom páse sa najčastejšie vyskytovali druhy: *Aethusa cynapium, Anagallis arvensis, Arrhenatherum elatius, Bromus inermis, Bromus sp., Calamagrostis epigejos, Erophila verna, Euphorbia helioscopia, Fumaria officinalis, Galium verum, Lactuca serriola, Lamium purpureum, Melica transsilvanica, Rubus sp., Sambucus nigra, Tragopogon orientalis, Trifolium arvense,* a *Viola arvensis.*

V kultivovanom medziradí sa najčastejšie nachádzali druhy: *Amaranthus sp., Capsella bursa-pastoris, Cirsium arvense, Digitaria sanguinalis, Echinochloa crus-galli, Elytrigia repens, Epilobium ciliatum, Erodium cicutarium, Geranium pusillum, Chenopodium album, Chenopodium hybridum, Malva neglecta, Medicago lupulina, Robinia pseudacacia, Senecio vulgaris, Solanum nigrum, Thlaspi arvense* a *Tripleurospermum inodorum.*

Rastlinné druhy ovplyvňované inými faktormi: *Atriplex patula, Carduus acanthoides, Convolvulus arvensis, Conyza canadensis, Dactylis glomerata, Filago arvensis, Hordeum murinum, Kochia scoparia, Lycopsis arvensis, Potentilla anserina, Rosa canina* a *Setaria pumila*.

V **zatrávnenom medziradí** sa vyskytuje predovšetkým *Lolium perenne*. Tento travinný druh je súčasťou výsevných trávnikových zmesí a zrejme tu bol zámerne vysiaty. Server agrostis uvádza, že je trvalý, vysoký 0,1-0,6 m, odolný proti pošliapaniu a má silnú konkurenčnú schopnosť voči ostatným burinám, pretože rýchlo vzchádza. Zrejme preto sa tu vyskytuje v hojnejšom počte.

Echinochloa crus-galli, ako uvádza Hron a Kohout (1988), je úporný druh buriny. Jeho semená vzchádzajú aj z hĺbky väčšej ako 0,1 m a zachovávajú si klíčivosť 6 a viac rokov. Preto sa domnievam, že tento burinný druh bude vo vinohrade aj naďalej prítomný a jeho význam bude stúpať.

Výskyt druhu *Calamagostris epigejos* je menej častý, zrejme vďaka pravidelnému koseniu medziradia. Jeho systém oddenkov v spojení s produkciou vysokého množstva obiliek, by mohol byť do budúcna vo vinohrade nebezpečný. Pyšek (2001) uvádza, že je nezávislý na pH substrátu, pretože svojimi koreňmi reguluje reakciu prostredia. Jeho produkcia biomasy je značná, pričom jej silná vrstva sa rozkladá iba pomaly. Táto skutočnosť by mohla negatívne ovplyvniť nielen pôdne vlastnosti, ale aj bohatosť druhového spektra vysiatych tráv v zatrávnenom medziradí.

Conyza canadensis je vysoký druh, ktorý sa rozmnožuje výhradne generatívne. Ako uvádza Mikulka et al (1999), jedna rastlina je schopná vyprodukovať až 100 000 semien. Tvorí husté porasty, ktoré by mohli byť v budúcnosti vo vinohrade veľkým spotrebiteľom vlahy a živín.

V **príkmennom páse** sa okrem druhov *Bromus inermis* a *Bromus sp.*, vyskytujú druhy ako *Calamagostris epigejos, Setaria pumila, Arrhenatherum elatius, Convolvulus arvensis a Potentilla anserina*.

Konkurentom viniča by mohla byť statná vytrvalá tráva *Calamagostris epigejos*. Pyšek (2001) uvádza, že je to trvalý druh s podzemnými oddenkami prerastajúcimi do hĺbky 0,2 m, ale môžu dosahovať hĺbku až 2 metre, čím by mohli priamo konkurovať viniču. Jej až 1,5 m vysoké steblá by mohli zatieňovať révu, čo môže mať za následok zníženie fotosyntézy, nedokonalé vyfarbenie a nedostatočný rozvoj aromatických látok v bobuliach (najmä u modrých odrôd). Zároveň by mohla prehusťovať porast, čo by mohlo viesť k zvýšenému riziku hubových ochorení. Jej výskyt a rozmnožovanie by sa mohli dať do istej miery obmedziť kosením.

Setaria pumila svojou prítomnosťou révu zrejme vo väčšej miere neohrozuje. Rozmnožuje sa síce výhradne semenami, ktoré v pôde prežívajú niekoľko rokov, ale je to jednoročný, vzrastovo nižší druh.

Ako uvádza Pyšek (2001), *Arrhenatherum* je trvalá, až 1,8 m vysoká tráva, množiaca sa predovšetkým generatívne. V dnešnej dobe sa vyskytuje nielen skoro v celej Európe, ale aj v Austrálii, či Novom Zélande. V Žabčiciach sa momentálne vyskytuje už vo väčšej miere, čo by mohlo mať v budúcnosti negatívny dopad na druhové spektrum trávnikov v zatrávnenom

medziradí. Do istej miery sa dá jeho expanzia obmedziť kosením minimálne dvakrát ročne, čo je však v oblasti príkmenného pása komplikované. Východiskom by mohlo byť aplikovanie systematického herbicídu, čo by však mohlo poškodiť mladú výsadbu viniča.

Convolvulus arvensis by mohol byť veľmi problematickou úpornou burinou, pretože jeho schopnosť konkurencie je veľká. Domnievam sa, že jeho mohutný koreňový systém a popínavý rast priamo konkurujú viniču, ochudobňujú ho o vlahu a živiny.

Najčastejšie rastlinné druhy v **kultivovanom medziradí s**ú to *Amaranthus sp.*, *Bromus sp.*, *Setaria pumila*, *Tripleurospermum inodorum*, *Convolvulus arvensis*, *Digitaria sanguinalis*, *Echinochloa crus-galli*, *Lolium perenne* a *Chenopodium album.*

Rozširovaniu druhov *Amaranthus sp.* a *Chenopodium* pravdepodobne napomáha opakovaná kultivácia. Tieto produkujú veľké množstvo semien s dlhou dobou klíčivosti, ktoré sa zrejme zhromažďujú v pôdnej zásobe a pri kultivovaní medziradia sa dostávajú do povrchových vrstiev, kde klíčia. Oba druhy dorastajú do relatívne veľkej výšky, čím by mohli odoberať svetlo pestovanej plodine a sú čiastočné odolné aj proti niektorým herbicídnym prípravkom. Táto skutočnosť by z nich mohla nepríjemný burinný druh.

Ako uvádza Mikulka (1999), je výskyt druhu *Setaria* skôr lokálny a jeho význam stúpa iba pri premnožení. Na tomto stanovisku je síce zastúpený iba v malom množstve, ale jeho konkurencie schopnosť v širokých riadkoch je značná. V pôdnej zásobe pretrvávajú semená niekoľko rokov, preto sa domnievam, že v budúcnosti by mohol byť jedným s problematických rastlinných druhov.

Tripleurospermum inodorum je podľa Hrona a Kohouta (1988) veľmi prispôsobivý druh, vyskytujúci sa po celej republike. V Žabčiciach sa vyskytuje pomerne často na hnojiskách a okrajoch polí. Z týchto miest pravdepodobne dochádza k roznášaniu semien. Nakoľko sa rozmnožuje výhradne generatívne, mohol by mať jeho ohniskový výskyt v budúcnosti za následok väčšie premnoženie.

Rozširovaniu druhu *Convolvulus arvensis* pravdepodobne napomáha opakovaná kultivácia, pri ktorej dochádza k čiastočnému narušeniu jeho koreňovej sústavy a môže čiastočne podporovať jeho regeneráciu.

Robinia pseudacacia sa síce na pozemku vyskytuje iba sporadicky, ale jej schopnosť šíriť sa je nezanedbateľná. Tento druh, ako uvádza Pyšek (2001), sa radí medzi veľmi rýchlo rastúce dreviny. Je nenáročný a ekologicky plastický. Jeho význam vo vinohrade bude v budúcnosti pravdepodobne stúpať. V okolí sa nachádzajú agátové porasty. Problémom pri jeho vyššom výskyte by mohla byť aj jeho schopnosť inhibovať klíčenie väčšiny ostatných rastlín.

Za nebezpečné druhy, ktoré by mohli výrazne konkurovať viniču považujem predovšetkým *Arrhenatherum elatius*, *Artemisia vulgaris*, *Carduus acanthoides*, *Conyza canadensis*, *Elytrigia repens*, *Kochia scoparia*, *Robinia pseudacacia*, *Rosa canina* a *Rubus sp*.

ZÁVER

Celkovo bolo počas sledovania vo vinohrade v Žabčiciach identifikovaných 67 rastlinných druhov. K vyhodnoteniu bola použitá kanonická korešpondenčná analýza CCA (*Canonical Correspodence Analysis*).

V zatrávnenom medziradí bolo určených 49 rastlinných druhov, najčastejšie sa vyskytovali druhy ako: *Lolium perenne* (32 %), *Echinochloa crus-galli* (21 %), *Calamagrostis epigejos* (4 %), *Conyza canadensis* (3 %), druhy zaberajúce plochu do 1 % (12 %) a druhy s podielom do 2 % (28 %).

V príkmennom páse bolo určených 43 rastlinných druhov, pričom najčastejšie sa vyskytovali: *Bromus inermis* (21 %), *Bromus sp.* (18 %), *Calamagrostis epigejos* (10 %), *Setaria pumila* (8 %), *Arrhenatherum elatius* (5 %), *Convolvulus arvensis* (5 %), *Potentilla anserina* (3 %), *Digitaria sanguinalis* (3 %), *Filago arvensis* (3 %), *Carduus acanthoides* (3 %), *Conyza canadensis* (3 %), druhy zaberajúce plochu do 1 % (10 %) a druhy s podielom plochy do 2 % (5 %).

V kultivovanom medziradí bolo určených 39 rastlinných druhov, pričom najčastejšie sa vyskytovali: *Amaranthus sp.* (21 %), *Bromus sp.* (12 %), *Setaria pumila* (10 %), *Tripleurospermum inodorum* (7 %), *Convolvulus arvensis* (6 %), *Digitaria sanguinalis* (5 %), *Echinochloa crus-galli* (5 %), *Lolium perenne* (4 %), *Chenopodium album* (4 %), *Carduus acanthoides* (3 %), *Geranium pusillum* (3 %), *Filago arvensis* (3 %), *Potentilla anserina* (3 %), druhy zaberajúce plochu do 1 % (7 %), druhy zaberajúce plochu do 2% (7 %).

Z druhov pozorovaných v rôznych vinohradoch a stanoviskách, budú mať zrejme v budúcnosti hlavný význam druhy, ktoré sú expanzívne a odolné proti regulácii. Preto by sa mala pozornosť zamerať hlavne na obmedzenie druhov: *Amaranthus sp.*, *Arrhenatherum elatius*, *Calamagrostis epigejos*, *Chenopodium album*, *Conyza canadensis* a *Robinia pseudacacia*.

Burina svojou prítomnosťou priamo i nepriamo konkuruje viniču. Ochudobňuje pôdu o vlahu a živiny, zatieňuje a prehusťuje porast a má priamy vplyv na fyziologický a zdravotný stav viniča. Preto má sledovanie zaburinenia veľký význam pre efektívnu reguláciu buriny a obmedzenie škôd.

LITERATÚRA

ANONYM, 2006: *Lokalizace a přírodně-výrobní podmínky podniku*. [cit. 2009-05-17]. Dostupné na: <http://www.szp.mendelu.cz/cz/poloha>

DVOŘÁK, J., SMUTNÝ, V., 2003: *Herbologie: integrovaná ochrana proti polním plevelům.* MZLU, Brno: 184 s., ISBN 978-80-7157-732-4

HRON, F., KOHOUT, V., 1988: *Plevele polí a zahrad*. Ministerstvo zemědělství a výživy ČSR, České Budějovice: 343 s.

HRON, F., VODÁK, A., 1959: *Polní plevele a boj proti nim*. SZN, Praha: 379 s.

KOLEKTÍV, 2002: *Všeobecný encyklopedický slovník S-Ž*. Cesty, Praha: 1064 s., ISBN 80-7181-768-6

KUBÁT, K. (eds), 2002: *Klíč ke květeně České republiky*. Academica, Praha: 927 s., ISBN 80-200-0836-5

MIKULKA, J. et al, 1999: *Plevelné rostliny polí, luk a zahrad*. Farmář, Praha: 160 s., ISBN 80-902413-2-8

PYŠEK, P., 2001: *Rostlinné invaze*. Rezekvítek, Brno: 40 s., ISBN 80-902954-4-4

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

ŠKODA, V. et al, 1998: *Obecná produkce rostlinná*. ČZU, Praha: 190 s., ISBN 80-213-0450-2

IMPACT OF THE APLICATION OF FOLIAR FERTILIZERS CONTAINING SELENIUM ON THE YIELD INDICATORS IN POTATOES

Janečka L., Jůzl M., Elzner P., Drápal K., Mareček V.

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

E-mail: xjanecka@node.mendelu.cz

ABSTRACT

A small-scale parcel experiment initiated in 2010 examined the impact of a foliar application of selenium at the rate of 200 and 400 g.ha^{-1} together with a foliar fertilizer containing NK at the rate of 5 l.ha^{-1}. The fertilizer was applied during bud setting. The experiment included two selected varieties – an early Karin and semi-early Red Anna. Samples for growth and yield analysis were taken 96 days after planting and 33 days after the fertilized had been applied.

The results show a statistically significant influence of the applied NK fertilizer on all examined indicators. The variant of NK + 200 g Se realized a higher yield than the control variant but the difference was not statistically significant. The variant of NK + 400 g Se however did not reach the yield level of the control variant (14% depression). The influence of the variety was only confirmed with the yield of tubers and total weight of organic matter. The influence of a variety on the number of tubers under one plant was not significant.

Key words: yield, foliar fertilizer, Selenium, early potato

Acknowledgement: This study was supported by Research plan No. MSM 6215648905 called "Biological and Technological Aspects of the Sustainability of Controlled Ecosystems and Their Adaptation to Climate Change" and Research project NAZV No. QI101A184 called: Potato Growing Technology – New Friendly Approaches to the Environment.

ÚVOD

Od počátku 90. let minulého století značně poklesl přísun živin do půdy v minerálních i kvalitních organických hnojivech. Tím vzniká negativní bilance živin v půdě. Kromě kořenů jsou rostliny schopny přijímat ionty také nadzemními orgány rostlin z roztoků, které ulpěly na povrchu rostlin. Dopady mírné deficience jednotlivých prvků může být zmírněn mimokořenovou výživou. Kromě této funkce může foliární výživa sloužit k obohacování potravního řetězce o prvky, které v něm scházejí nebo jsou v nedostatku.

Nejvýznamnější výnosotvornou živinou je dusík, který patří k základním stavebním prvkům bílkovin (KASAL et. al. 2010). Je součástí aminokyselin, amidů, bílkovin, nukleových kyselin, chlorofylu, enzymů a dalších biologicky aktivních látek. Obecně vysoké dávky dusíku snižují obsah sušiny, škrobu a zhoršují chuť hlíz po uvaření. Zejména u raných brambor pak existuje i nebezpezpečí zvýšení obsahu dusičnanů v hlízách (GIANQUINTO et. al. 2003).

Draslík má ve výživě brambor nezastupitelnou roli. Zasahuje do celé řady metabolických procesů. Významná je jeho účast v procesu fotosyntézy a dýchání, kde má dominantní postavení ve světelné fázi. Draslík pozitivně ovlivňuje dusíkatý metabolismus. Při jeho nedostatku stoupá obsah aminokyselin, amidů a omezuje se syntéza bílkovin v rostlině (BÁRTA et. al. 2008). Draslík zasahuje do tvorby cukrů a syntézy škrobu. Při deficienci draslíku je omezen transport cukrů z listů do hlíz a zvyšuje se obsah redukujících cukrů v hlízách.

Význam selenu ve výživě brambor nebyl doposud plně objasněn. Selen však blahodárně působí na lidský organismus. Zvláště v posledních letech je intenzívně zkoumán nedostatek selenu ve stravě obyvatel (RAYMAN 2000). Existují 2 cesty pro doplnění chybějících prvků v potravním řetězci. Jednou je cesta obohacení půdy o selen v podobě půdní aplikace minerálních hnojiv (např. Finsko), nebo fortifikací konkrétní plodiny mimokořenovou výživou daného prvku. POGGI et. al. (2000) ve svých pracích uvádí, že koncentraci Se v jednotlivých částech bramboru je možné zvýšit mimokořenovou výživou. Důležitým faktorem při tomto způsobu výživy je koncentrace prvku v aplikovaném roztoku. Mezi koncentrací roztoku na povrchu listů a rychlostí absorpce iontů je silná korelace, ale příliš vysoká koncentrace může poškodit povrch listů (WÓJCIK 2004).

Vzhledem k tomu, že selen působí negativně na výnos hlíz, a to i při aplikaci nižších dávek selenu na list (JŮZL et. al. 2007), bylo cílem práce ověřit působení společné aplikace selenu s běžně používaným hnojivem obsahujícím NK. Základním předpokladem bylo, že pozitivní působení hnojení dusíkem a draslíkem na výnosové parametry brambor vyrovná nebo alespoň zmírní negativní působení selenu na tyto parametry.

MATERIÁL A METODIKA

Maloparcelní pokus byl založen v roce 2010 v ranobramborářské oblasti na pozemcích Školního zemědělského podniku Mendelovy univerzity v Žabčicích u Brna (184 m n. m.). Výsadba pokusu byla provedena 8.4.2010 ve sponu 750 x 250 mm, což odpovídá hustotě porostu 53 300 rostlin na hektar. Velikost parcely byla 4,5 x 4,5 m, tj. 20,25 m^2. Použity byly dvě odrůdy s rozdílnou délkou vegetační doby – raná odrůda Karin a poloraná odrůda Red Anna. Ve čtyřech opakováních byla založena kontrolní varianta a varianty s aplikací: NK, NK + 200 g . ha^{-1} Se a NK + 400 g . ha^{-1} Se během vegetace. Koncentrace prvků v roztoku NK byla 1,5 % N ve formě NO^{3-}, 5 % K. Dávka roztoku NK byla 5 l hnojiva na hektar. Množství použité aplikační kapaliny bylo 300 l . ha^{-1}. Aplikace hnojiva byla provedena 63. den od sázení (10.6.2010). V této době se porost nacházel ve fázi butonizace.

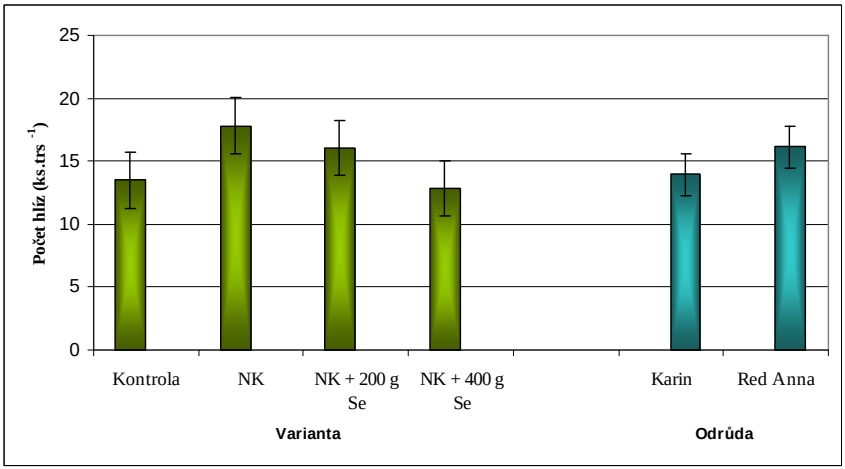
Odběry vzorků pro růstové a výnosové analýzy byly provedeny 96. den od sázení. Tato délka vegetační doby odpovídá nejčastějším termínům sklizně v ranobramborářské oblasti. Z každé varianty a každého opakování bylo ručně odkopáno deset trsů a následně byl stanoven počet hlíz na trs, hektarový výnos hlíz, celková hmotnost biomasy.

Všechny získané výsledky byly statisticky vyhodnoceny metodou analýzy rozptylu (ANOVA) a metodou následného testování pomocí Tukeyova testu za pomocí programu STATISTICA 8.0 (StatSoft, USA).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Počet hlíz na trs byl statisticky průkazně ovlivněn variantou hnojení (Graf 1). Nejvyšší počet hlíz byl zjištěn u varianty NK. Aplikace NK + 200 g Se také pozitivně ovlivnila počet hlíz v porovnání s kontrolní variantou. U Aplikace NK + 400g Se již zřejmě převážilo negativní působení selenu nad pozitivním působením NK hnojení. U této varianty byl počet hlíz pod trsem nižší než u kontrolní varianty. Mezi sledovanými odrůdami nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl v počtu hlíz.

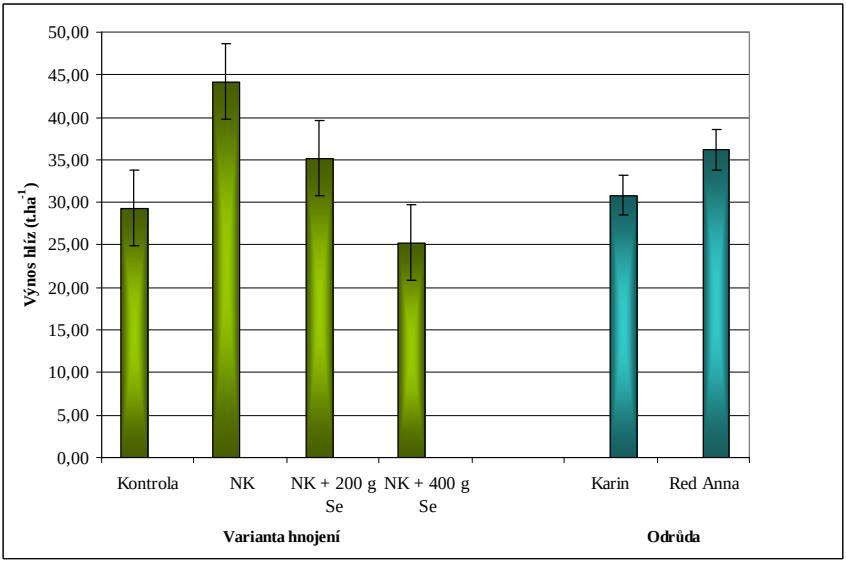
Graf 1 Počet hlíz na trs – porovnání variant hnojení a odrůd



Výnos hlíz byl statisticky průkazně ovlivněn odrůdou i variantou hnojení (Graf 2). Nejvyšší výnos byl zjištěn u varianty NK (44,19 t . ha^{-1}), která dosáhla statisticky průkazně vyššího výnosu v porovnání se všemi dalšími variantami. V porovnání s kontrolní variantou (29,33 t . ha^{-1}) došlo k navýšení výnosu hlíz o 50 %. Tento výsledek také odpovídá výsledkům, které zjistili KASAL et al. (2010), že dusík je nejvýznamnější živinou, která se podílí na výnosu. Na zvýšení výnosu se podílel i draslík, který podle BÁRTY et al. (2008) pozitivně ovlivňuje dusíkatý metabolismus. Varianta NK + 200 g Se dosáhla také vyššího výnosu než kontrolní varianta (o 20 %), ale rozdíl nebyl statisticky průkazný. U varianty NK + 400 g Se byl zjištěn nejnižší výnos. V porovnání s kontrolou došlo u této varianty ke snížení výnosu o 14 %. Opět, stejně jako v případě počtu hlíz pod trsem, lze toto zjištění vysvětlit tím, že u této varianty již převážilo negativní působení selenu nad pozitivním účinkem hnojení NK. Negativní působení zvýšené dávky selenu potvrzuje výsledky, které jsme zjistili již v našich dřívějších pracích (ELZNER et al., 2008, JŮZL et al., 2007).

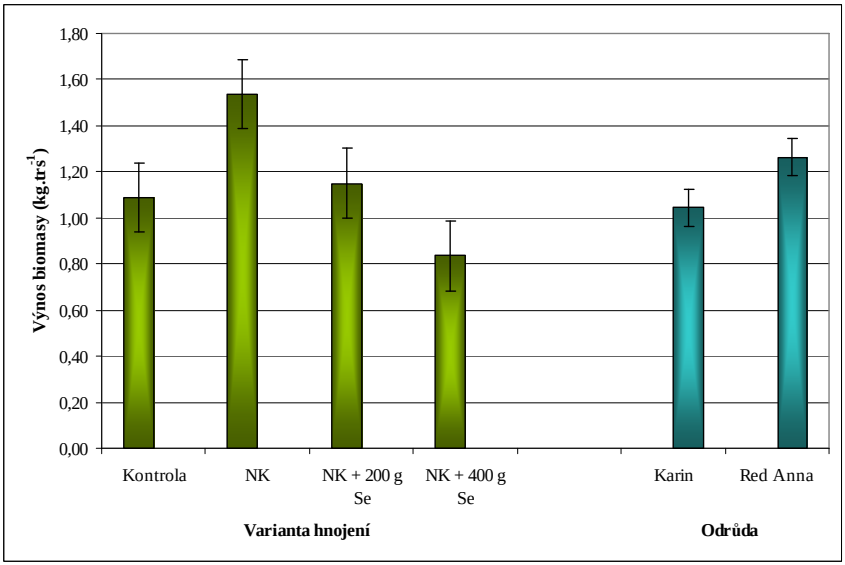
Porovnáním výnosů u jednotlivých odrůd jsme zjistili, že vyššího výnosu dosáhla odrůda Red Anna, a to jak v případě průměrného výnosu souhrnně za všechny varianty, tak i při porovnání jednotlivých výnosů daných odrůd u jednotlivých variant hnojení.

Graf 2 Celkový výnos hlíz – porovnání variant hnojení a odrůd



Celková hmotnost biomasy byla statisticky průkazně ovlivněna oběma sledovanými faktory tj. odrůdou i variantou hnojení (Graf. 3). Podobně jako u výnosu hlíz byla zjištěna vyšší hmotnost celkové biomasy na trs u odrůdy Red Anna. Při porovnání variant hnojení jsme zjistili, že nejvyšší výnos biomasy byl dosažen u varianty NK, která dosáhla statisticky průkazně vyššího výnosu biomasy (1,53 kg . trs^{-1}) v porovnání se všemi ostatními variantami. Nižšího výnosu o 400 $g.trs^{-1}$ dosáhly varianty NK + 200 g Se a kontrolní varianta, mezi kterými byl zjištěn pouze minimální rozdíl. Nejnižší výnos biomasy na trs pak dosáhla varianta NK + 400 g Se. To potvrzují i CARVALHO et al. (2003), kteří ve své práci uvádí, že není vhodné aplikovat příliš vysoké dávky selenu, protože tento prvek není pro rostliny esenciálním prvkem a při vyšších koncentracích může inhibovat růst rostlin. Snížení výnosu biomasy mohlo být způsobeno i lehkým poškozením povrchu listů po aplikaci hnojiva u varianty NK + 400 g Se. Celková koncentrace prvků byla pravděpodobně již příliš vysoká. Na negativní působení vysoké koncentrace prvků v listových hnojivech poukazuje i WÓJCIK (2004).

Graf 2 Výnos biomasy – porovnání variant hnojení a odrůd



ZÁVĚR

Na základě uvedených výsledků lze konstatovat, že hnojení dusíkem a draslíkem pozitivně působí na počet hlíz, výnos hlíz i výnos celkové biomasy na trs. Společná aplikace NK hnojiva a selenu měla pozitivní vliv na sledované růstové a výnosové ukazatele. Pouze v dávce 200 g . ha^{-1}. Při aplikaci 400 g . ha^{-1} již převážilo negativní působení selenu nad pozitivním působením NK hnojení. Pro praktické využití se jeví jako ideální společná aplikace selenu v dávce 200 g . ha^{-1} a NK hnojiva. Protože u této kombinace hnojiva dochází ke stimulaci výnosotvorných prvků. Tato kombinace by mohla být vhodnou formou listové výživy pro zvýšení obsahu selenu v hlízách. V článku jsou prezentovány pouze jednoleté výsledky a je tedy nutné je ověřit v dalších pokusných letech.

LITERATURA

Bárta, J, - Čepl, J., Diviš, J., Hamouz, K., Jůzl, M., Vacek, J. (2008): Okopaniny. In PRUGAR et al. Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí. 1. vyd. Praha VÚPS a.s. 241-257.

Dastych, M. (2004): Selen – esenciální stopový prvek. Labor Aktuell, 3: 29-31.

Elzner, P., Jůzl, M., Hlušek, J., Lošák, T. (2008): Vliv aplikace selenu na růst, kvalitu a výnos brambor. Agrochémia. 12 (48): 7-9.

Gianquinto G., Sambo, P., Pimpini, F. (2003): The use of SPAD-202 chlorophyll meter for dinamically optimising the nitrogen supply in potato crop: First results. Acta horticulturae. 627: 225-230.

JŮZL, M., Hlušek, J., Elzner, P., Lošák, T. (2007): Technologie pěstování brambor s vyšší spotřebitelskou jakostí. Vědecké práce – Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod. 15: 111-118.

Kasal, P., Čepl, J., Vokál, B. (2010): Hnojení brambor. Praktické informace VÚB Havlíčkův Brod. 28 (2): 24

Poggi, V., Arcioni, A., Filippini, P., Pifferi, P.G. (2000): Foliar aplication of selenite and selenate to potato (*Solanum tuberosum*): Effect of a ligand agent on selenium content of tubers. J. Agric. Food Chem., 48: 4749-4751.

Rayman, M.P. (2000): The importance of selenium to human health. The lancet, 356: 233-241.

Wójcik, P. (2004): Uptake of mineral nutrients from foliar fertilization (review). Journal of fruit and ornamental plant research, 12: Special edition 201-218.

EVALUATION OF WEED SPECTRUM IN *PAPAVER SOMNIFERUM*

Jonašová K., Winkler J.

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

E-mail: xjonaso2@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The conditions of the actual poppy weed infestation were tracked at two sites. The first site is by the village Olbramkostel, on the plot „Ke kněžímu háji“, processed at regular farming conditions. The second observation is on the plot „U včelína“, Podyjí a.s. company, by the Horní Břečkov village. The measurement was set to three terms, the time of poppy emerging, poppy flowering and before the poppy harvest. The differences of the weed infestations at the various sites were determined. Gained data were processed by „Multivariate Analysis of Ecological Data“.The redundancy analysis, RDA was used. The poppy crop at the Olbramkostel site was mainly infested by these particular weed varietes: *Persicaria lapathifolia, Capsella bursa-pastoris, Thlaspi arvense, Descurainia sophia, Tripleurospermum inodorum, Polygonum aviculare, Brassica napus subsp. napus* a *Viola arvensis.* The poppy crop at the Horní Břečkov site was mainly infested by these particular weed varietes: *Cirsium arvense, Fallopia convolvulus, Fumaria officinalis, Galium aparine, Chenopodium album, Plantago major, Sinapis arvensis, Taraxacum officinale, Triticum aestivum* a *Veronica hederifolia*.

Key words: weeds, *Papaver somniferum*, poppy

Acknowledgement: The results in paper are output of project of Internal Grant Agency, FA MENDELU, No. TP 3/2011 “Optimalization of crop management practices in areas threatened by drought”.

ÚVOD

Kulturní mák je podle Vašáka a kol. (2010) prastarou, historií opředenou, lidem velmi prospěšnou plodinou. Mák setý, správněji snodárný či spánkodárný (*Papaver somniferum* L.) pochází z východoasijského a předoasijského genového centra. V zemědělské polní praxi se využívá skoro výlučně jednoletý jarní, řidčeji i ozimý mák setý.

Plevelné rostliny jsou trvalou součástí agroekosystému. Již od samého počátku rozvoje zemědělství byly plevele považovány za nejvýznamněji škodlivé činitele pěstovaných kultur (Kneifelová, Mikulka, 2003). Podle Dvořáka a Smutného (2003) se jako plevelné rostliny považují ty, které svojí přítomností a životními projevy stěžují člověku jeho práci a snižují výkonnost pěstovaných druhů.

Škodlivost plevelných rostlin je od ostatních škodlivých organismů zcela odlišná. Plevelné rostliny, s výjimkou poloparazitických a parazitických druhů, plodiny přímo nepoškozují. 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. Plevele patří mezi nejvýznamnější škodlivé činitele v České republice (Dvořák, Smutný, 2003).

MATERIÁL A METODIKA

Vyhodnocení aktuálního stavu zaplevelení v porostu máku bylo prováděno na dvou vybraných pozemcích, v obci Olbramkostel a Horní Břečkov. Tyto dvě lokality jsou od sebe vzdáleny asi 5 km.

První sledování probíhalo v katastrálním území Olbramkostel na pozemku ZD Olbramkostel (Jihomoravský kraj, Česká republika). Dlouhodobý průměrný roční úhrn srážek činí na této lokalitě 470,5 mm, průměrná roční teplota vzduchu je 8,5 °C. Vybraný pozemek s názvem „Ke kněžímu háji“ leží v nadmořské výšce 370,55 m a jeho výměra je 27,74 ha.

Druhé sledování probíhalo v katastrálním území Horní Břečkov na pozemku zemědělského podniku PODYJÍ, a.s. (Jihomoravský kraj, Česká republika), který leží v BVO. Dlouhodobý roční úhrn srážek činí na této lokalitě 470,5 mm, průměrná roční teplota vzduchu je 8,5 °C. Tento vybraný pozemek s názvem „U včelína“ leží v nadmořské výšce 418,64 m, jeho výměra je 100,96 ha. Zaseta byla odrůda Major dne 25. 3. 2011.

Vyhodnocení zaplevelení se provádělo pomocí početní metody. Na 1 m^2 se spočítali kusy rostlin plevelů a rostlin máku, rozmístění těchto ploch bylo po pozemku rovnoměrné a jedno měření odpovídalo 2 ha výměry. Sledování probíhalo po vzejití máku setého.

České a latinské názvy jednotlivých druhů plevelů byly použity podle Kubáta (Kubát, 2002).

Získané údaje byly zpracovány mnohorozměrnou analýzou ekologických dat. Výběr optimální analýzy se řídil délkou gradientu (*Lengths of Gradient*), zjištěného segmentovou analýzou DCA (*Detrended Correspondence Analysis*). Pro další zpracování byla použita redundanční analýza (redundancy analysis, RDA), která je založena na modelu lineární odpovědi (*Linear Response*). Při testování průkaznosti pomocí testu Monte-Carlo bylo propočítáno 499 permutací. Data byla zpracována pomocí počítačového programu Canoco 4.0. (Ter Braak, 1998). Pomocí těchto analýz byl zjišťován odlišný vliv plodiny na plevelné druhy.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Tab.1 udává počet plevelů na pozemku Ke kněžímu háji během vzcházení máku. Tab. 2 udává počet plevelů na pozemku U včelína, pozorování 1-15. Tab. 3 udává počet plevelů na pozemku U včelína, pozorování 16-30. Tab. 4 udává počet plevelů na pozemku U včelína, pozorování 31-45. Tab. 5 udává počet plevelů na pozemku U včelína, pozorování 46-50.

Tab. 1 Počet plevelů na pozemku Ke kněžímu háji

	Opakování														
Latinský název	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**
Chenopodium album	1	1	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Fallopia convolvulus	15	6	9	17	0	15	27	19	0	6	12	9	0	21	0
Thlaspi arvense	0	4	6	0	0	3	0	9	21	1	17	58	32	5	0
Elytrigia repens	0	0	0	7	7	2	0	0	0	19	0	0	0	8	0
Persicaria lapathifolia	0	0	0	0	0	0	0	30	7	0	2	44	17	0	0
Polygonum aviculare	5	9	11	0	0	7	12	0	4	0	0	0	5	2	0
Veronica hederifolia	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	3	0	0	0	0
Brassica napus subsp. napus	0	2	0	0	1	4	2	0	0	1	1	0	0	0	3
Galium aparine	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Descurainia sophia	0	1	0	3	0	0	0	0	0	2	8	0	1	2	0
Viola arvensis	9	8	13	2	1	2	8	4	0	0	0	0	6	0	5
Celkový počet plevelů	32	34	42	33	14	42	58	70	41	39	54	123	74	52	24

Tab. 2 Počet plevelů na pozemku U včelína, pozorování 1-15

	Opakování														
Latinský název	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**
Tripleurospermum inodorum															
Sinapis arvensis				1	1	2				1					
Plantago major													1		
Capsella bursa-pastoris	1														
Chenopodium album	8	3	2	2				4	10	2			2		
Fallopia convolvulus	16	20	11	8	15	18	4	10	31	40	33	16	21	12	9
Taraxacum officinale															
Thlaspi arvense	1	13		2	8			9			3	4			
Cirsium arvense	9	1							3		16				
Triticum aestivum												1			
Elytrigia repens	3		1				13			1	4			9	2
Polygonum aviculare						12	3								8
Veronica hederifolia															
Viola arvensis															
Fumaria officinalis		1	5					2	2	1		1			
Celkový počet plevelů	38	38	19	13	24	32	20	25	46	45	56	22	24	21	19

Tab. 3 Počet plevelů na pozemku U včelína, pozorování 16-30

	Opakování														
Latinský název	**16**	**17**	**18**	**19**	**20**	**21**	**22**	**23**	**24**	**25**	**26**	**27**	**28**	**29**	**30**
Tripleurospermum inodorum								2							
Sinapis arvensis	2	5	1			4					2			1	1
Plantago major															
Capsella bursa-pastoris															
Chenopodium album															
Fallopia convolvulus	21	30	23	18	20	13	14	19	33	28	6	7	12	9	27
Taraxacum officinale				1			1								
Thlaspi arvense								1	10						
Cirsium arvense		2	4			3				1			2		
Triticum aestivum													1		
Elytrigia repens				5			2				4			2	1
Polygonum aviculare	1														
Veronica hederifolia															
Viola arvensis															
Fumaria officinalis										1					
Celkový počet plevelů	24	37	28	24	20	20	17	22	43	30	12	7	15	12	29

Tab. 4 Počet plevelů na pozemku U včelína, pozorování 31-45

	Opakování														
Latinský název	**31**	**32**	**33**	**34**	**35**	**36**	**37**	**38**	**39**	**40**	**41**	**42**	**43**	**44**	**45**
Tripleurospermum inodorum															1
Sinapis arvensis	1			2	3					1	2				
Plantago major															
Capsella bursa-pastoris															
Chenopodium album	2							5	2						
Fallopia convolvulus	31	36	22	19	6	8	3	4	17	14	18	8	13	20	31
Taraxacum officinale															
Thlaspi arvense		13	1												
Cirsium arvense	19	3	7						4					3	
Triticum aestivum															
Elytrigia repens			4	2		1	2	5		2	1	4	1	3	
Polygonum aviculare															
Veronica hederifolia						2									
Viola arvensis															2
Fumaria officinalis			2									2			
Celkový počet plevelů	53	52	36	23	9	11	5	14	23	17	21	14	14	26	34

Tab. 5 Počet plevelů na pozemku U včelína, pozorování 46-50.

	Opakování				
Latinský název	**46**	**47**	**48**	**49**	**50**
Tripleurospermum inodorum					
Sinapis arvensis	3	5		1	1
Plantago major					
Capsella bursa-pastoris					
Chenopodium album			1		
Fallopia convolvulus	35	32	39	30	27
Taraxacum officinale					
Thlaspi arvense					2
Cirsium arvense				1	
Triticum aestivum					
Elytrigia repens	1	5			
Polygonum aviculare		9			
Veronica hederifolia					
Viola arvensis	2	1			
Fumaria officinalis					1
Celkový počet plevelů	41	52	40	32	31

Výsledky vyhodnocení zaplevelení v různých polních plodinách byly zpracovány analýzou DCA. Délka gradientu u dat získaných byla 3,034, proto byla vybrána pro následující zpracování dat redundanční analýza (RDA).

Na základě frekvence výskytu a počtu plevelů v jednotlivých sledováních, bylo analýzou RDA vytvořeno prostorové uspořádání jednotlivých plevelných druhů a sledovaných pozemků a počtu rostlin máku setého, graficky zobrazené v ordinačním diagramu (Obr. 1). Druhy plevelů jsou zobrazeny vektory (šipky), které mají odlišnou barvu a směr. Plodiny jsou zobrazeny body různého tvaru a barvy. V případě, že vektor příslušného druhu plevele směřuje k bodu sledovaného pozemku, je jeho výskyt častější na tomto pozemku.

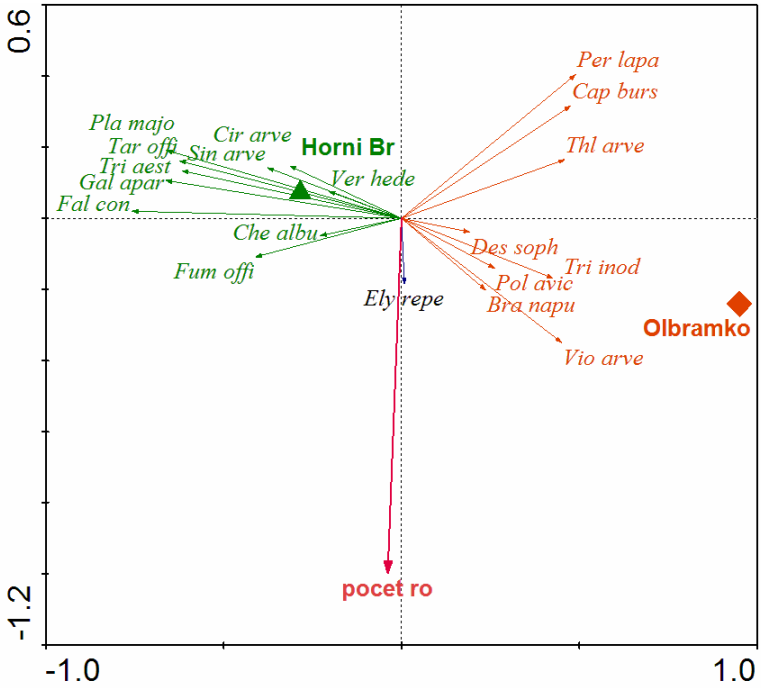
Výsledky analýzy RDA jsou signifikantní na hladině významnosti $\alpha = 0{,}002$ pro všechny kanonické osy a vysvětlují 30,0 % celkové variability v datech. Podle ordinačního diagramu (Obr. č. 1) můžeme druhy rostlin rozdělit do tří skupin.

V první skupině, se vyskytují druhy plevelů, které se nacházely častěji na pozemku Horní Břečkov a jsou to druhy: *Cirsium arvense, Fallopia convolvulus, Fumaria officinalis, Galium aparine, Chenopodium album, Plantago major, Sinapis arvensis, Taraxacum officinale, Triticum aestivum* a *Veronica hederifolia*.

Do druhé skupiny bych zařadila plevele, které byly častěji zaznamenány na pozemku Olbramkostel. Z ordinačního diagramu vyplývá, že vektor jsou to druhy: *Persicaria lapathifolia, Capsella bursa-pastoris, Thlaspi arvense, Descurainia sophia, Tripleurospermum inodorum, Polygonum aviculare, Brassica napus subsp. napus* a *Viola arvensis.*

Do třetí skupiny můžeme zařadit *Elytrigia repens*, který se více vyskytoval na místech s vyšším počtem rostlin máku setého. U jiných druhů se výrazně neprojevil vliv počtu rostlin máku setého na jejich výskyt.

Obr. 1 Ordinační diagram vyjadřující vztah sledovaných pozemku, počtu rostlin máku setého a jednotlivých druhů plevelů



Vysvětlivky zkratek použitých v ordinačním diagramu:

Bra napu – Brassica napus subsp. napus, Cap burs – Capsella bursa-pastoris, Cir arve – Cirsium arvense, Des soph – Descurainia sophia, Ely repe – Elytrigia repens, Fal con – Fallopia convolvulus, Fum offi – Fumaria officinalis, Gal apar – Galium aparine, Che albu – Chenopodium album, Pla majo – Plantago major,Per lapa – Persicaria lapathifolia, Pol avic – Polygonum aviculare, Sin arve – Sinapis arvensis, Tar offic – Taraxacum officinale, Thl arve – Thlaspi arvense, Tri inod – Tripleurospermum inodorum, Tri aest – Triticum aestivum, Ver hede – Veronica hederifolia, Vio arve – Viola arvensis.

Na pozemku Ke kněžímu háji v Olbramkostele i U včelína v Horním Břečkově byla jako nejhojnější plevelný druh stanovena opletka obecná. Kazda a kol. (2010) řadí opletku obecnou mezi významné plevele v časně setých jařinách jako je i mák setý.

Podle Dvořáka a Smutného (2003) je to velmi rozšířený druh zaplevelující plodiny po většinu vegetační doby, který vykazuje vysokou pokryvnost a za pomocí podpůrné rostliny roste do velké

výšky a tím konkuruje pěstované plodině. Kazda a kol. (2010) uvádějí, že opletka obecná ovíjením kolem stébel nebo lodyh způsobuje polehnutí rostlin. Ty nehynou, ale jsou pozdrženy ve vývoji a pozdě dozrávají.

Kolektiv autorů pod vedením Jana Vašáka (2010) dokládá, že pohanka svlačcovitá nebo-li opletka obecná nepatří sice k závažným konkurentům máku, ale její výskyty jsou často vysoké a pak vyvolává vážné výnosové ztráty. Dalším plevelným druhem, který se vyskytoval na obou lokalitách ve větším zastoupení je penízek rolní. Jak uvádí Kazda a kol. (2010), patří penízek rolní mezi méně významné plevele. Velkým problémem je dále také jeho etapovité vzcházení v průběhu celého vegetačního období (Mikulka, Kneifelová a kol., 2005).

Na obou lokalitách se dále vyskytoval pýr plazivý, který je nejrozšířenějším plevelem mírného pásma (Dvořák, Smutný, 2003). Pýr patří mezi velmi významné plevele, konkurenční schopnost je vysoká (Kazda a kol., 2010; Pikula, Obdržálková, Zapletal, 1997). To potvrzují i Mikulka, Chodová a Martinková (1993), kteří dále uvádějí, že škodlivost pýru se projevuje až při silnějším výskytu.

Na pozemku v Olbramkostele převládali plevele ozimé jako jsou: penízek rolní, kokoška pastuší tobolka, úhorník mnohodílný. Stejně i v Horním Břečkově přežovaly plevele ozimého charakteru: kokoška pastuší tobolka, zemědým lékařský, penízek rolní, violka rolní.

ZÁVĚR

Na pozemku Ke kněžímu háji byly zjištěny tyto plevele: heřmánkovec přímořský, kokoška pastuší tobolka, opletka obecná, penízek rolní, pýr plazivý, rdesno blešník, rdesno ptačí, violka rolní.

Na pozemku U včelína v Horním Břečkově byly zjištěny následující plevele: heřmánkovec přímořský, hořčice rolní, merlík bílý, opletka obecná, penízek rolní, pcháč oset, pýr plazivý, rdesno ptačí, zemědým lékařský.

Je zřejmé, že spektrum druhů plevelů se neustále vyvíjí a mění. Používáním herbicidů dochází k potlačování citlivých druhů a na uvolněné místo se rozšiřují druhy odolné. Pomocí této selekce se mění nejen spektrum druhů. Tyto změny je velmi důležité sledovat a pravidelně vyhodnocovat zaplevelení a tyto poznatky využívat k regulaci plevelů.

LITERATURA

DVOŘÁK, J., SMUTNÝ, V., 2003. *Herbologie : integrovaná ochrana proti polním plevelům*. 1. vyd. Brno : Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 184 s. ISBN 80-715-7732-4

KAZDA, J., MIKULKA, J., PROKINOVÁ, E., 2010. *Encyklopedie ochrany rostlin : polní plodiny*. 1. vyd. Praha : Profi Press, 399 s. ISBN 978-808-6726-342

KNEIFELOVÁ, M., MIKULKA J., 2003. *Významné a nově se šířící plevele*. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 59 s. ISBN 80-727-1142-3

KUBÁT, K. 2002. *Klíč ke květeně České republiky*. Vyd. 1. Praha : Academia, 927 s. ISBN 80-200-0836-5

MIKULKA J., KNEIFELOVÁ, M., 2005. *Plevelné rostliny*. 2., kompletně přeprac. vyd. Praha: Profi Press, 148 s. ISBN 80-867-2602-9

MIKULKA, J., CHODOVÁ, D., 1993. *Systém hubení pýru plazivého a pcháče osetu na orné půdě*. 1. vyd. Praha : Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství ČR, 34 s. ISBN 80-710-5033-4

PIKULA, J., ZAPLETAL, M., OBDRŽÁLKOVÁ, D., 1997. *Atlas vybraných druhů plevelů ČR: Atlas of selected weed species in the Czech Republic : (review)*. Praha : Ústav zemědělských a potravinářských informací, 90 s. ISBN 80-861-5320-7

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

VAŠÁK, J. 2010. *Mák*. Vyd. 1. Praha : Powerprint, 2010. 336 s. ISBN 987-809-0401-181

COMPARISON OF THE LEAF AREA INDEX AND THE ROOT SYSTEM SIZE IN SELECTED VARIETIES OF SPRING BARLEY

Kovárník J., 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: jaromir.kovarnik@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the impact of the leaf area index (LAI) and the root size system (RSS) on the grain yield [t · ha^{-1}] of selected spring barley varieties (Aksamit, Bojos, Jersey, Prestige, Radegast, and Sebastian). The field trial was carried out in 2011 on the Žabčice locality (49°01´ N and 16°37´ E, the altitude 179 m). In the experiment, the impact of foliar application of sulphur (S) and zinc (Zn; both in growth stages DC 30 and 55; S – Dolosul 8 kg · ha^{-1}, Zn – Zinran 1 kg · ha^{-1}) on the growth of plants – the leaf and root apparatuses development – was studied. LAI [m^2 · m^{-2}] was measured by means of the SunScan Canopy Analyser SS1-UM-2.0 (in stages DC 33, 55, 69, and 75), RSS as the electrical capacitance [nF] by the LCR METER 131D (in stages DC 30 and 55). The highest LAI values were achieved by the Radegast variety (in DC 55, 69, as well as 75), the highest average RSS was found in the Aksamit variety (6.76 nF in DC 55), the highest grain yield was provided by the Sebastian variety (8.1 t · ha^{-1}). LAI measured in stages DC 55–75 correlated positively with the height of the plants (cm) before the harvest (r = 0.290** to 0.379***). To achieve a high grain yield, it was found that LAI in the DC 69 stage (r = 0,289**) was decisive; the effect of RSS on the yield was not proven (r up to 0.132). A relationship between LAI and RSS was found at the beginning of stem elongation (r = 0.401***). Foliar application of S and Zn did not promote the growth of the root system, nor did it impact the height of the plants (77–79.9 cm) and the grain yield (7.53–7.90 t · ha^{-1}).

Key words: root electric capacity, LAI, grain yield, plant height, measurement

Acknowledgement: This work was carried out with the support of the „Research Centre for Study of Extract Compounds of Barley and Hop" No. VC 1M0570.

ÚVOD

Listový aparát je pro rostliny důležitý, probíhají v něm složité procesy fotosyntézy. Na tvorbě výnosu zrna se podílí nejvíce praporcový list a zelené části klasu s osinami, které tvoří dohromady až 90 % obsahu asimilátů v obilce. Zbylých 10 % asimilátů je transportováno ze spodních partií rostliny (PETR et al. 1980). Kořenový systém má za úkol zásobovat rostlinu vodou a živinami z půdního prostředí. Poměr nadzemních a podzemních částí je geneticky determinován, do jeho utváření ale významně zasahují podmínky prostředí. Z hlediska výnosotvorného procesu je rozhodující dynamika tvorby obou částí rostliny v průběhu vegetace. Pro ječmen jarní je typická mělká kořenová soustava s poměrně rychlým nárůstem objemu sušiny až do fáze metání. Tak je zajištěn dostatečný potenciál pro příjem všech zdrojů a rozvoj nadzemních částí rostlin, které se později podílejí na tvorbě asimilátů transportovaných do zrna. O výnosu zrna rozhoduje aktivita a délka trvání tohoto aparátu. Veškerá pěstitelská opatření směřující k podpoře tvorby kořenového systému a udržení velikosti a aktivity listového aparátu jsou proto žádoucí.

Cílem této práce bylo: a) zhodnotit velikost listového aparátu (LAI) a kořenového systému (VKS) a dynamiku jejich tvorby u šesti odrůd ječmene jarního, b) zjistit vztahy mezi velikostí LAI, VKS, výškou rostlin a výnosem zrna, c) zhodnotit vliv aplikace S a Zn na LAI, VKS a výnos zrna.

MATERIÁL A METODIKA

Blokový pokus s ječmenem jarním (odrůdy Aksamit, Bojos, Jersey, Prestige, Radegast a Sebastian) byl realizován v roce 2011 na lokalitě Žabčice (49°01´ s. š. a 16°37´ v. d., 179 m). V pokusu byl sledován vliv foliární aplikace síry a zinku (v DC 31 – S1, Zn1 a 55 – S2, Zn 2, Zn formou Zinranu v dávce 1 kg · ha^{-1} a Dolosulu v dávce 8 kg · ha^{-1}) na velikost listového aparátu (LAI, $m^2 \cdot m^{-2}$ půdy) a kořenového systému [nF], výšku rostlin [cm] a výnos zrna [t · ha^{-1}, 14vlhkost].

Měření velikosti kořenového systému rostlin (VKS) probíhalo pomocí LCR METER 131D. Metoda je založena na principu měření elektrické kapacity kořenů. V obvodu prochází střídavý proud o frekvenci 1 kHz. Měřením je zjišťována paralelní kapacita mezi substrátem a kořenovým systémem. (CHLOUPEK et al. 2007). Měření listové pokryvnosti (LAI, $m^2.m^{-2}$) probíhalo pomocí SunScan Canopy Analyseru SS1-UM-2,0. LAI byla měřena ve čtyřech (DC 33, 55, 69 a 75) a velikost kořenového systému ve dvou termínech (DC 30 a 55)

Výsledky byly zpracovány programem StatSoft STATISTICA 9 pomocí analýzy variance. Vztahy mezi znaky jsou vyjádřeny Pearsonovým korelačním koeficientem (r).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Průměrně nejvyšší rostliny před sklizní měla odrůda Radegast (83 cm), která také dosahovala nejvyšších hodnot LAI (termínech DC 55, DC 69 a DC 75). Nejvyššího výnosu dosáhla odrůda

Sebastian (8,10 t.ha^{-1}) i při nižších hodnotách LAI. Vysoký výnos poskytla také odrůda Radegast, která zároveň vykazovala nejvyšší hodnoty LAI (zjištěné v termínech DC 55, 69 i 75). Dále následovaly Bojos, Jersey, Aksamit a nejnižšího výnosu dosáhla odrůda Prestige. Největší kořenová kapacita byla naměřena u odrůdy Aksamit (6,76 nF), která však nedosahovala vysokého výnosu.

Tab. 1: Průměrné hodnoty znaků sledovaných u ječmene jarního.

	LAI 1 (DC 33)	LAI 2 (DC 55)	LAI 3 (DC 69)	LAI 4 (DC 75)	Výška rostliny [cm]	Výnos [t · ha^{-1}]	VKS (DC 30)	VKS (DC 55)
Aksamit	5,36a	5,62ab	5,34ab	4,49ab	79,20b	7,47bc	1,85a	6,76a
Bojos	5,45a	5,73ab	5,24ab	4,24ab	80,73ab	7,90ab	1,69a	6,43a
Jersey	5,16a	5,63ab	5,15bc	4,41ab	81,40ab	7,57abc	1,69a	5,76a
Prestige	5,15a	4,85c	4,65c	4,11b	78,13bb	7,29c	1,53a	5,74a
Radegast	5,26a	6,20c	5,79a	4,71a	83,00a	8,03ab	1,60a	6,08a
Sebastian	5,28a	5,21bc	4,90bc	3,99b	68,73c	8,10a	1,70a	5,73a
Kontrola	5,18ab	5,63a	5,35a	4,42ab	79,28a	7,90a	1,64a	5,91a
Zn1	5,16ab	5,81a	5,26a	4,61a	77a	7,63a	1,82a	5,51a
Zn2	5,84a	5,34a	5,23a	4,37ab	78,44a	7,68a	1,61a	6,06a
S1	5,31ab	5,59a	5,03a	4,26ab	78,06a	7,53a	1,6a	6,2a
S2	4,9b	5,32a	5,02a	3,97b	79,89a	7,89a	1,71a	6,74a
Průměr	5,28	5,54	5,18	4,33	78,53	7,73	1,68	6,08

* mezi průměry, které jsou označeny stejnými písmeny, nejsou průkazné rozdíly na hladině významnosti $p < 0,05$

Ve velikosti listové pokryvnosti měřené v termínu DC 55 byly statisticky průkazné rozdíly mezi odrůdami Prestige a Radegast. V měření LAI ve fázi DC 69 byly statistické rozdíly opět mezi odrůdami Prestige a Radegast. Statisticky průkazné rozdíly ve fázi DC 75 byly mezi skupinou odrůd (Prestige a Sebastian) a odrůdou Radegast. Při hodnocení parametru výšky rostlin byly nalezeny tři odrůdy, které se od sebe statisticky průkazně lišily, Prestige, Radegast a Sebastian. Statisticky průkazné rozdíly byly nalezeny mezi výnosem odrůdy Prestige (7,29 t.ha^{-1}) a odrůdy Sebastian (8,10 t.ha^{-1}), která dosáhla nejvyššího výnosu přepočteného na 14% vlhkosti. V parametrech velikosti kořenové kapacity nebyly nalezeny statisticky průkazné rozdíly mezi odrůdami.

Rozdíly v přihnojení jednotlivých variant se projevily u parametru velikosti listové plochy a to v termínu měření LAI (DC 33 a DC 75). Velikost LAI měřená v DC 33 byla statisticky odlišná u variant, kde byla aplikována síra (S2) a zinek (Zn2). Porosty přihnojené Zn vykazovaly větší LAI (5,84 m^2.m^{-2}) než porosty na které byla aplikována síra (LAI 4,9 m^2.m^{-2}). V termínu měření listové pokryvnosti (DC 75) je patrný stejný rozdíl mezí variantami přihnojenými zinkem (Zn2) a sírou (S2). Kdy varianta po aplikaci zinkem vykázala větší hodnotu listové pokryvnosti (4,61 m^2.m^{-2}) než varianty s aplikací síry (3,97 m^2.m^{-2}).

Tab. 2: Korelace mezi jednotlivými parametry

	VKS v DC 55	VKS v DC 30	výnos zrna	výška rostliny	LAI 4 (DC 75)	LAI 3 (DC 69)	LAI 2 (DC 55)
LAI 1 (DC 33)	0,082	0,401***	0,247*	0,011	0,166	0,070	-0,130
LAI 2 (DC 55)	-0,135	-0,255*	0,223*	0,290**	0,468***	0,781***	
LAI 3 (DC 69)	-0,156	-0,145	0,289**	0,379***	0,622***		
LAI 4 (DC 75)	0,046	0,108	0,143	0,336**			
výška rostliny	0,206	0,043	0,118				
výnos zrna	0,132	0,049					
VKS v DC 30	0,176						

* p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001

Hodnoty LAI naměřené v DC 33 korelovaly s velikostí kořenové kapacity v růstové fázi DC 30. To dokládá, že rostliny ranějších fázích vývoje musí přijmout velké množství živin (40-60 % z celkového množství živin) potřebných pro růst rostliny.

Hodnoty listové pokryvnosti zjištěné v jednotlivých termínech měření LAI spolu korelují. Porosty s dobře založeným fotosyntetickým aparátem mají větší šanci na dosažení větších hodnot LAI i v pozdějších růstových fázích. Naproti tomu rostliny s menší listovou pokryvností v ranějších růstových stádiích zpravidla po zbytek vegetační doby nedosahují tak velkých hodnot listové pokryvnosti a také výnosu.

Při měření LAI v termínech (DC 69 a DC 75) byly zjištěny korelace s výškou rostlin před sklizní. Vyšší jedinci dosahují vyšších hodnot LAI. Tohoto závěru bylo dosaženo i v pokusu (CHAKRABORTY et al. 2010).

Velikost listové pokryvnosti měřená ve fázi DC 69 korelovala s výnosem sklizeného zrna. Velikost listového aparátu v období tvorby zrna je důležitá pro vývoj obilky, utváření a ukládání zásobních látek (škrobu) do obilky. (MONTEITH, MOSS 1977) Tato korelace souvisí s důležitou úlohou Praporcového listu na utváření a vyživování obilky. Obdobný vliv byl pozorován i v jiných pokusech (TIAN et al. 2011), (CHAKRABORTY et al. 2010).

ZÁVĚR

Pokus potvrdil, že velikost listové pokryvnosti pozitivně působí na množství sklizeného zrna. Dále se potvrdilo že, velký a vyvinutý asimilační aparát rostlin souvisí s výškou rostliny. Vyšší rostliny mají větší listovou pokryvnost a dosahují větších hodnot LAI. Z výsledků měření velkosti kořenové kapacity vyplývá, že velký kořenový systém rostlin ječmene nezaručuje vysoký výnos zrna.

LITERATURA

CHAKRABORTY, Debashis, et al. Synthetic and organic mulching and nitrogen effect on winter wheat (Triticum aestivum L.) in a semi-arid environment. *Agricultural Water Management*. 2010, 97, issue 5, pg. 738-748. ISSN 0378-3774.

CHLOUPEK, O., STŘEDA T., DOSTÁL V., 2007: Kvalita odrůd pšenice vzhledem k velikosti kořenového systému. *Úroda 55*, č.11, s. 12 – 15. ISSN 0139-6013

MONTEITH, J. L.; MOSS, C. J. . Climate and the Efficiency of Crop Production in Britain [and Discussion].*Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* . Nov. 25, 1977, Vol. 281, No. 980,. ISSN 1471-2970.

PETR, J., et al. *Tvorba výnosu hlavních polních plodin*. vyd. 1. Praha : Státní zemědělské nakladatlství, 1980. 448 s. ISBN 07-069-80-04/11.

TIAN, Z., et al. Effects of genetic improvements on grain yield and agronomic traits of winter wheat in the Yangtze River Basin of China. *Field Crops Research* . 2011, vol. 124, issue 3, pg 417 - 425. ISSN 03784290.

INSECTICIDAL EFFECTS OF SELECTED PLANT EXTRACTS AGAINST *TRIBOLIUM CONFUSUM* (COL., TENEBRIONIDAE)

Lukešová K., 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: LukesovaKaterina@seznam.cz

ABSTRACT

The aim of this thesis was to monitor and evaluate the insecticidal effects of extracts from selected species of plants against *Tribolium confusum* (Coleoptera, Tenebrionidae) in laboratory conditions and determine the possibility of using these extracts in protection against pests of stored products. The 26 plant extracts were used for experiments.

Matricaria recutita, Picea spp., *Alchemilla vulgaris, Coryllus avellana, Crataegus* sp., *Hippophaë rhamnoides, Citrus limon, Aloe* sp., *Pinus, Taraxacum officinale,* pinarol and *Camellia sinensis* showed satisfactory insecticide effect.

Key words: *Tribolium confusum,* pests, plant extracts, essential oils, insecticidal effects.

ÚVOD

Hlavním cílem zemědělské praxe je produkce kvalitních potravinářských nebo krmných surovin. Jejich kvalita je ovlivněna mnoha faktory, do kterých můžeme například, mimo skladovacích podmínek a správného termínu sklizně, zařadit i možnost napadení škůdci, kdy i při slabém výskytu dochází ke snížení kvality a k citelným ztrátám. Nedochází pouze k poškozování sklizených plodin, ale i hotových potravinářských výrobků. Vyšší riziko ztrát se odvíjí od větší velikosti ploch k pěstování a tím pádem i od vyšších zásob ve skladech (BARTOŠ a VERNER, 1979).

Na přítomnost škůdců nás mohou upozornit například stopy a cestičky v prachu, trus, zápach a poškozené produkty (RUPEŠ a kol., 2002).

Abychom ztrátám předešli, je nutné dodržovat preventivní opatření od kontroly naskladněného produktu až po znalosti požadavků a biologie samotných škůdců (ALMASI, 2004; ČERNÝ, 1951).

Při potvrzení výskytu škůdců máme možnost volit mezi chemickými prostředky nebo přírodními extrakty, které jsou k životnímu prostředí šetrnější, nejsou toxické, disponují poměrně dobrou dostupností materiálu pro jejich přípravu a díky celému komplexu účinných látek zabraňují vzniku rezistentních populací škůdců. Bohužel je jejich výroba příliš pracná a je nutná znalost biologie škůdců (PAVELA, 2006).

V této práci byly sledovány účinky několika různých druhů rostlinných extraktů na potemníku skladištním (*Tribolium confusum*) a hodnocena možnost jejich následného využití v ochraně skladovaných zásob.

MATERIÁL A METODIKA

V laboratorních podmínkách byly sledovány insekticidní účinky výtažků z macešky (*Viola tricolor*), kontryhelu obecného (*Alchemilla vulgaris*), vrby bílé (*Salix alba*), jmelí bílého (*Viscum album*), dubu (*Quercus*), lísky obecné (*Coryllus avellana*), hlohu (*Crataegus*), rakytníku řešetlákového (*Hippophaë rhamnoides*), brusnice brusinky (*Vaccinium vitis-idaea*), jalovce obecného (*Juniperus communis*), vlaštovičníku většího (*Chelidonium majus*), kaštanu koňského (*Aesculus hippocastanum*), heřmánku pravého (*Matricaria recutita*), smrku (*Picea* sp.), citroníku obecného (*Citrus limon Burm.*), aloe, henny (*Lawsonia inermis*), chaluhy bublinaté (*Fucus vesiculosus*), sedmikrásky (*Bellis*), cedru (*Cedrus*), borovice (*Pinus*), Švédské bylinné směsi, jedle (*Abies*), zeleného čaje a smetánky (*Taraxacum*).

Pokusným organismem byli dospělci potemníka skladištního *Tribolium confusum* (Coleoptera, Tenebrionidae), kteří jsou často užívání jako brouci modeloví pro zkoušení insekticidních účinků.

Rostlinné výtažky (komerční) byly získány destilací vodní parou dle metodiky uvedené v Čs. lékopisu IV. (1987) a byly aplikovány postřikem přímo na brouky. Brouci byli umístěni v Petriho miskách po 30 jedincích a ve třech opakováních. Aplikace výtažků byla prováděna v Potterově usazovací věži. Roztoky byly aplikovány při tlaku 3 Mpa. Dávky výtažků byly 1 a 2 mm a u některých výtažků bylo také užito další ředění vodou. U olejnatých výtažků byla nutná při ředění emulgace smáčedlem Citowett v dávce 0,01 mm. Kontrolní skupina brouků byla vystavena pouze účinkům vody v dávce 1 a 2 ml.

Účinnost výtažků se sledovala v intervalech 24, 48 a 72 hodin, kdy bylo hodnoceno procento přežití brouků. Brouci byli při hodnocení rozděleni do kategorií: živí, kteří nejevili žádné známky vlivu insekticidu, brouci v tremoru, kteří vykazují známky života (nekoordinovaný pohyb, vyvolaný zpravidla nějakým impulsem) a brouci mrtví. Pro statistické posouzení výsledků se z hlediska posouzení účinnosti brouci mrtví a brouci ve stavu tremoru slučují, neboť tyto dvě skupiny už nepůsobí škodu. Problémem při hodnocení může být katalepsie, kdy jsou brouci považováni za mrtvé a mohou být zařazeni nesprávně.

Za uspokojivý účinek lze považovat 70-80% účinnost výtažku.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Naše pokusy nepotvrdily insekticidní účinky výtažků z kontryhelu obecného (1:3 a 1:9), jmelí bílého, dubové kůry, rakytníku řešetlákového (PG), brusinky, jalovce (LS), vlaštovičníku většího, chaluhy bublinaté a Švédské bylinné směsi. U těchto rostlin byla účinnost ve všech třech časových kontrolách nulová.

Velice nízkou účinnost, do 40 %, jsme zjistili u macešky a vrby bílé v dávce 1 ml, výtažku z lísky obecné ředěného vodou (1:1), kaštanu koňského, henny, sedmikrásky, cedru a jedle.

Hranici nízké účinnosti jsem si stanovila od 40 do 70 %, kdy těmto číslům odpovídá výtažek z macešky v dávce 2 ml a vrba bělokorá v dávce 2 ml.

Uspokojivou účinnost počítáme od 70 % a při účinnosti nad 90 % jsou insekticidní účinky výtažků rostlin výborné. U heřmánku pravého jsme po 24 hodinách zjistili 87 % účinnost a při dalších časových kontrolách již byla 100%. Výtažek ze smrku měl také po 24 hodinách již uspokojivou účinnost (77 %) a po 48 hodinách a později byla účinnost 100%. Pinarol (výtažek ze smrkových výhonků a jehličí) se zařadil do uspokojivé účinnosti při všech třech časových kontrolách.

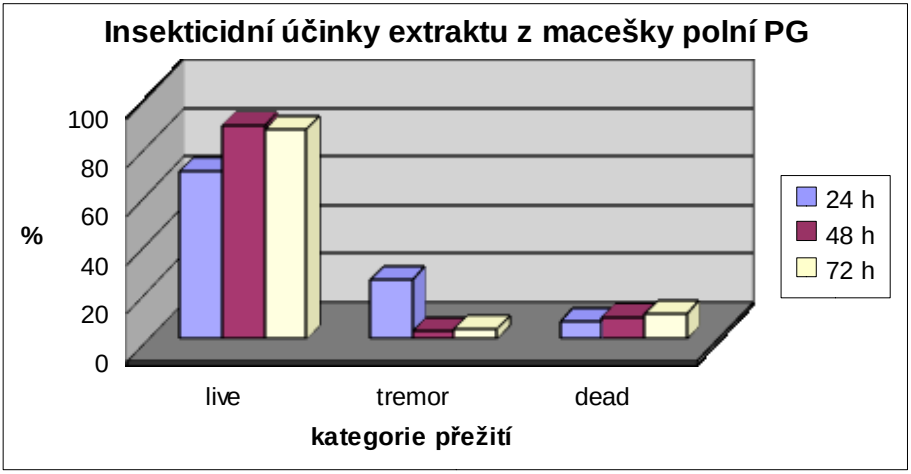
Výbornou účinnost, ve většině výsledků 100 %, měly výtažky z kontryhelu obecného, kontryhelu ředěného vodou (1:1), lísky obecné (IPM), hlohu a rakytníku řešetlákového (IPM) a to jak koncentrovaného, tak i ředěného vodou 1:1, citroníku obecného, aloe, borovice, zeleného čaje a smetánky.

Grafy č. 1 – 35 znázorňují námi získané výsledky pokusu. Výchozí tabulky těchto grafů lze nalézt v přílohách této práce.

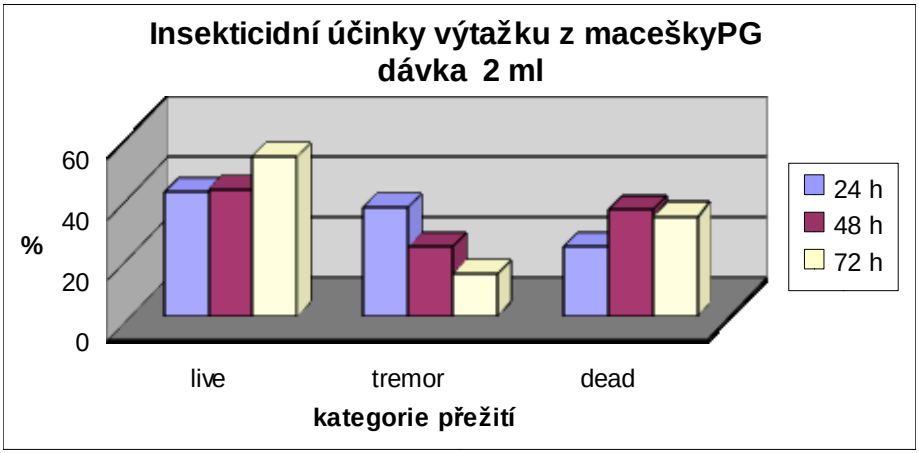
Grafy č. 36 – 38 srovnávají procento brouků, kteří přežili ošetření výtažky po 24, 48 a 72 hodinách.

V několika případech se při vyhodnocování v jednotlivých časových kontrolách stalo, že počet živých brouků v následných kontrolách (po 48 a 72 hodinách) byl vyšší než při vyhodnocení po prvním časovém úseku. Jednalo se o výtažky z macešky, vrby bělokoré, hlohu (IPM 1:1), henny, sedmikrásky, jedle a pinarolu. Stalo se tak zřejmě z důvodu katalepsie, při které byli brouci nesprávně zařazeni do mrtvých.

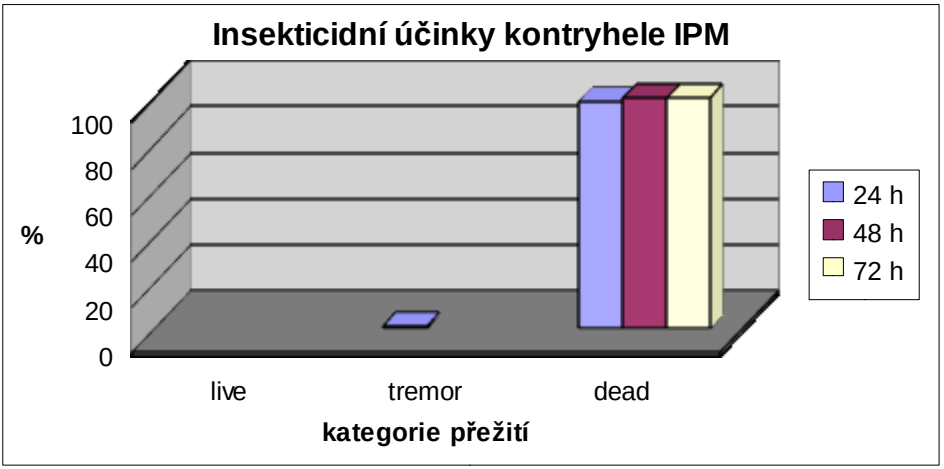
Graf č. 1: Insekticidní účinky výtažků z macešky polní PG



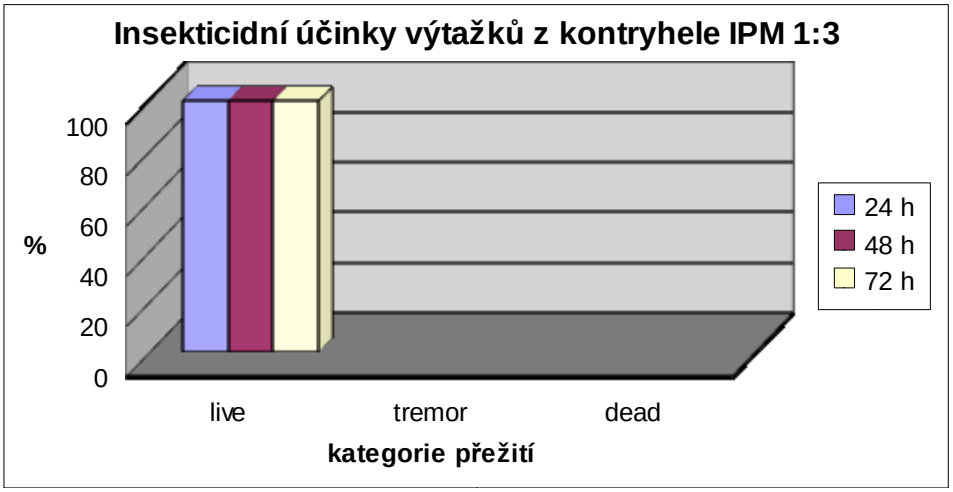
Graf č. 2: Insekticidní účinky výtažků z macešky PG (2 ml)



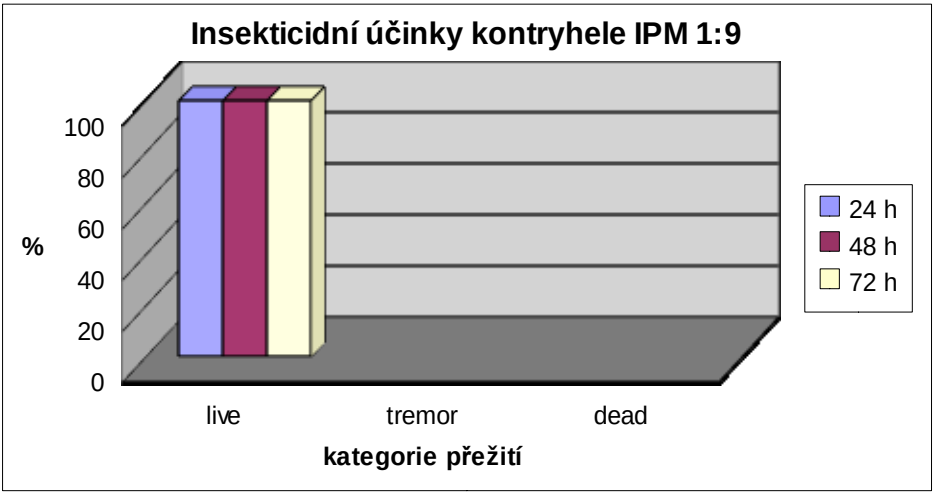
Graf č. 3: Insekticidní účinky výtažků z kontryhele IPM



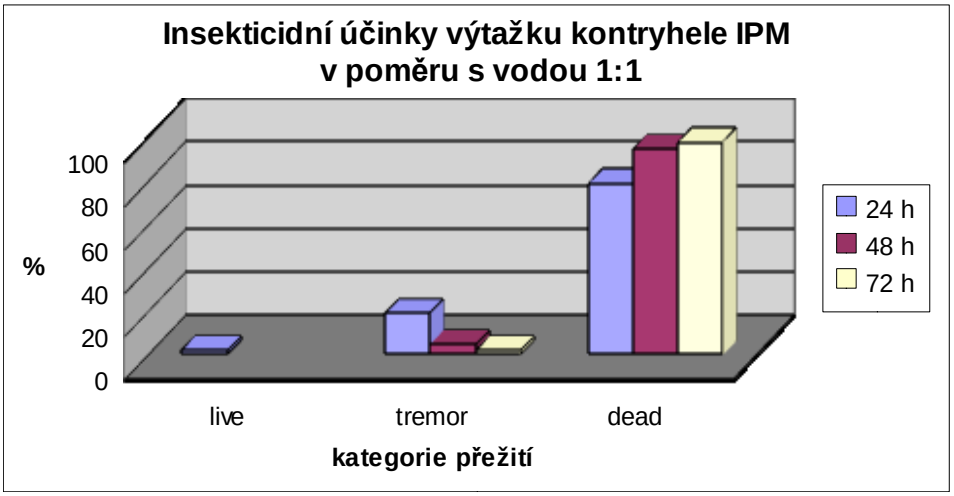
Graf č. 4: Insekticidní účinky výtažků z kontryhele IPM (1:3)



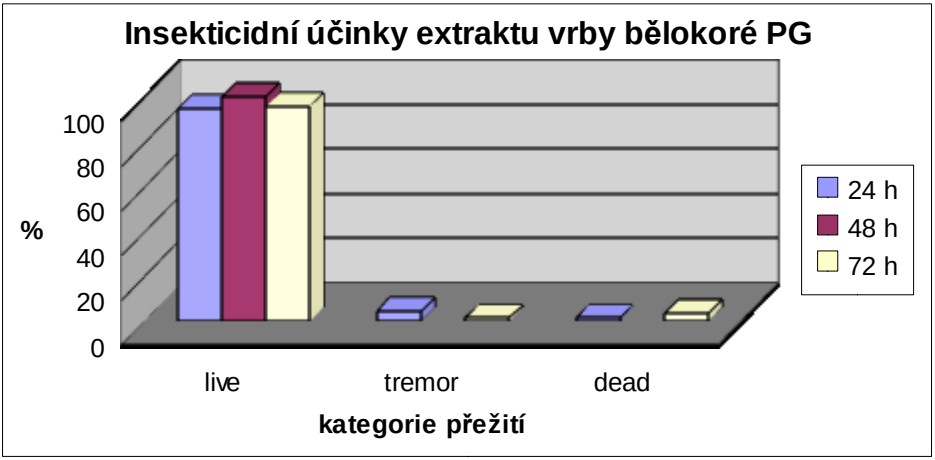
Graf č. 5: Insekticidní účinky výtažků z kontryhele IPM (1:9)



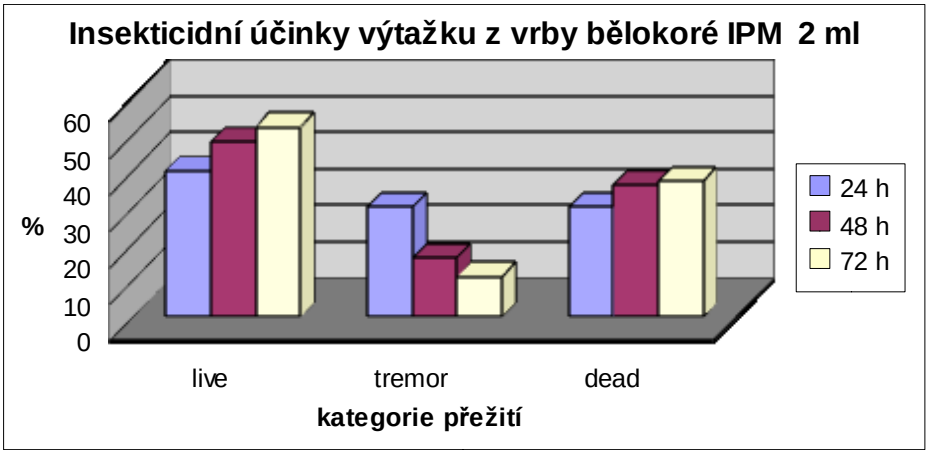
Graf č. 6: Insekticidní účinky výtažků z kontryhele IPM (1:1)



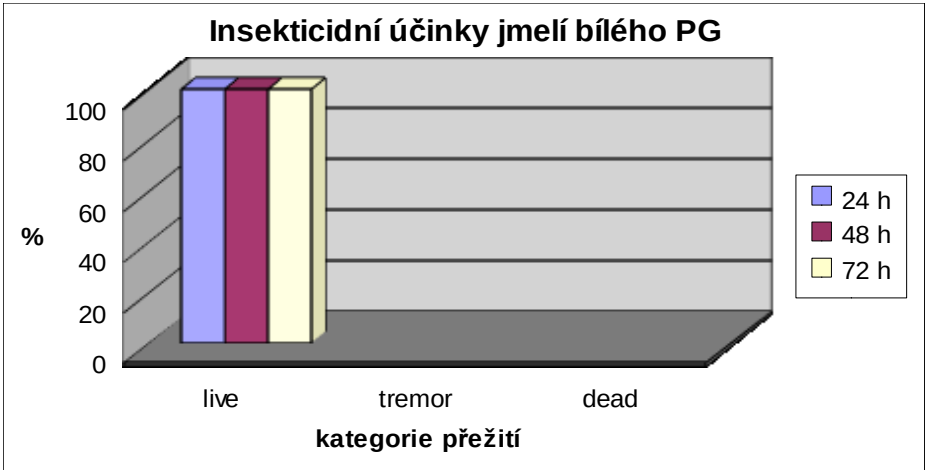
Graf č. 7: Insekticidní účinky výtažků z vrby bělokoré PG



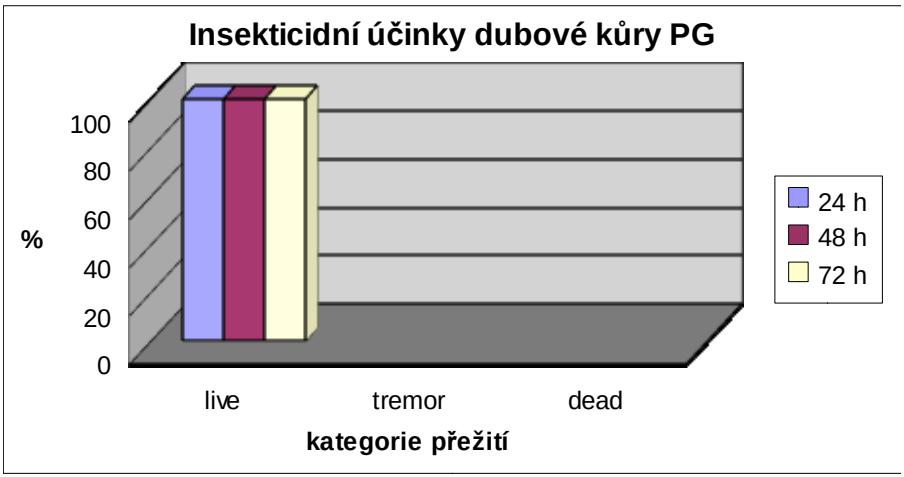
Graf č. 8: Insekticidní účinky výtažků z vrby bělokoré IPM (2 ml)



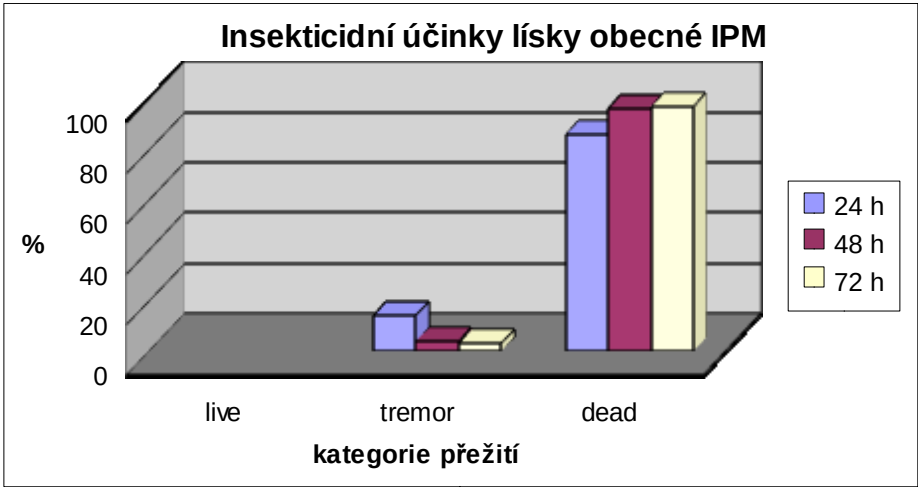
Graf č. 9: Insekticidní účinky výtažků ze jmelí bílého PG



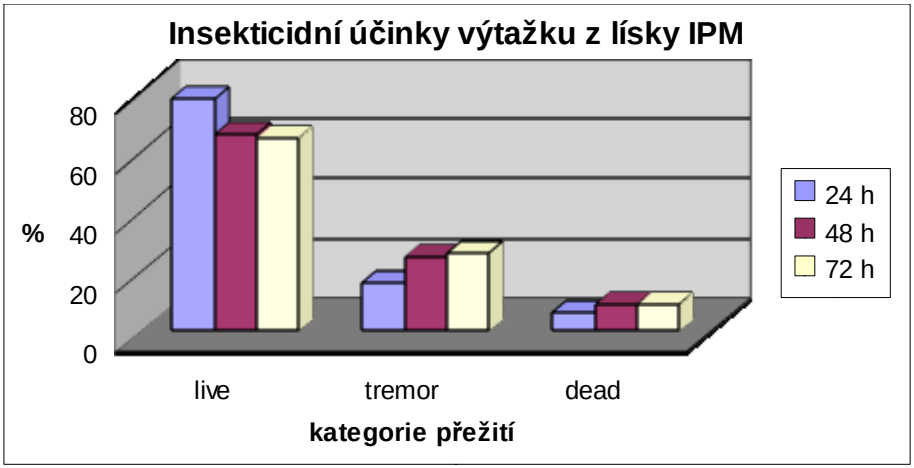
Graf č. 10: Insekticidní účinky výtažků z dubové kůry PG



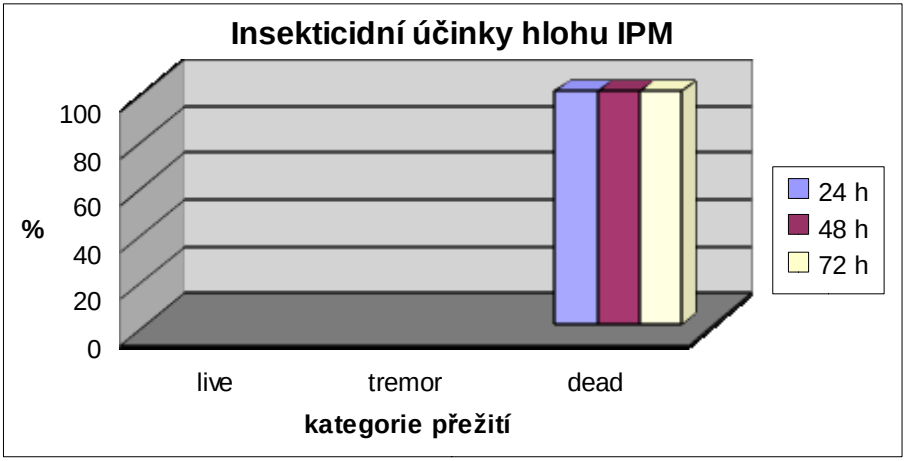
Graf č. 11: Insekticidní účinky výtažků z lísky obecné IPM



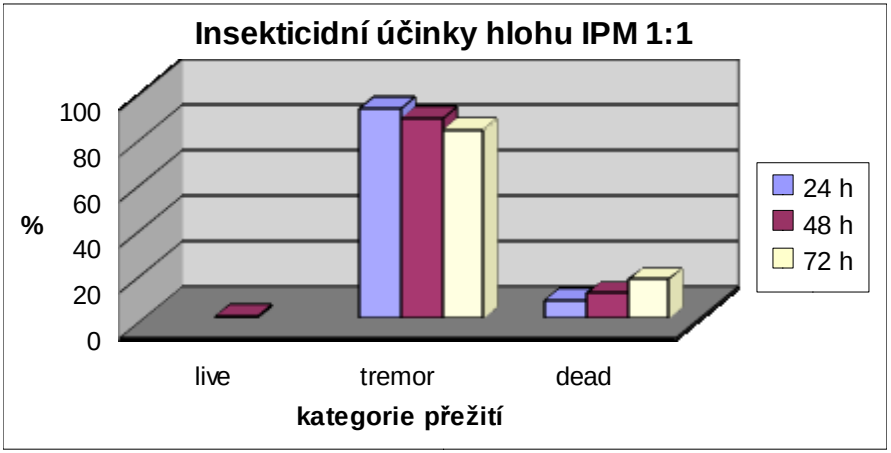
Graf č. 12: Insekticidní účinky výtažků z lísky obecné IPM (1:1)



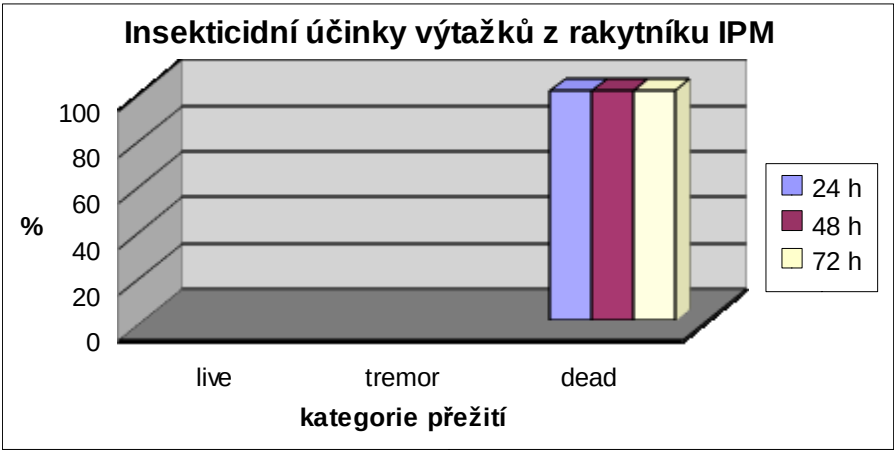
Graf č. 13: Insekticidní účinky výtažků z hlohu IPM



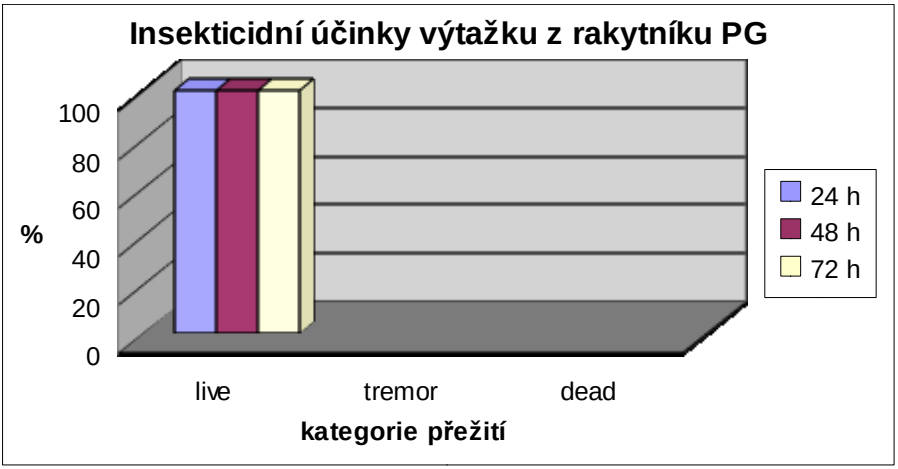
Graf č. 14: Insekticidní účinky výtažků z hlohu IPM (1:1)



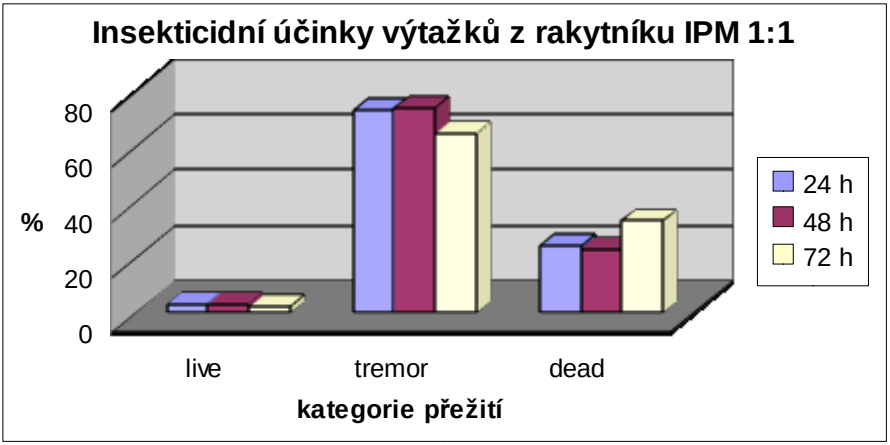
Graf č. 15: Insekticidní účinky výtažků z rakytníku IPM



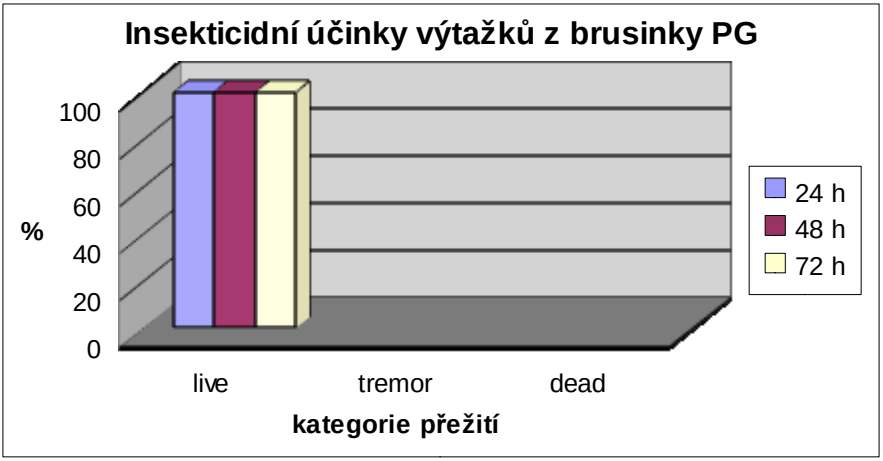
Graf č. 16: Insekticidní účinky výtažků z rakytníku PG



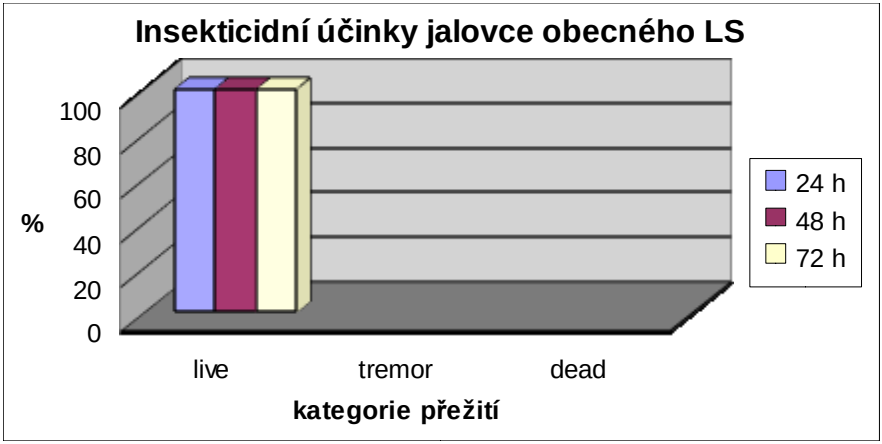
Graf č. 17: Insekticidní účinky výtažků z rakytníku IPM (1:1)



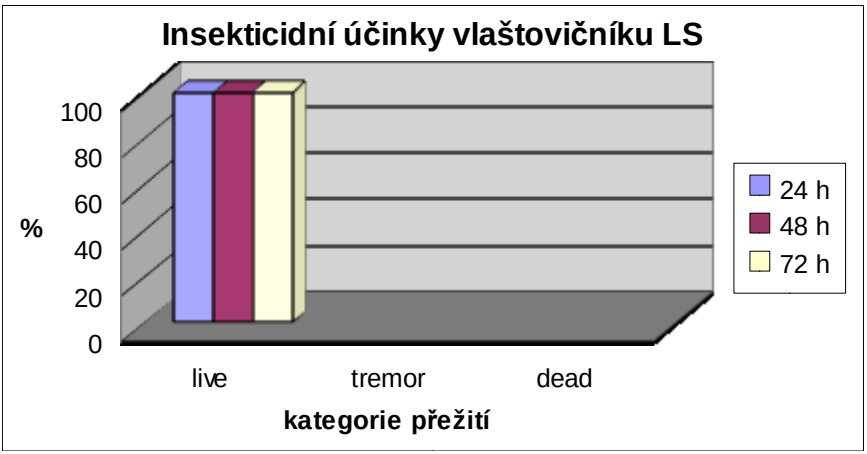
Graf č. 18: Insekticidní účinky výtažků z brusinky PG



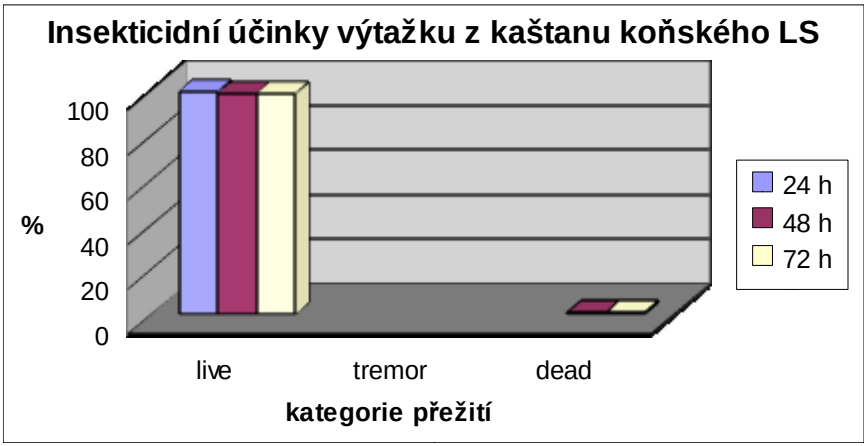
Graf č. 19: Insekticidní účinky výtažků z jalovce



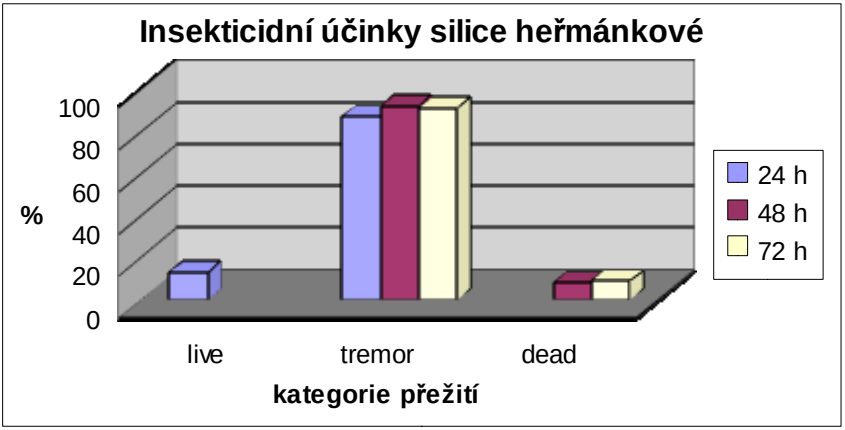
Graf č. 20: Insekticidní účinky výtažků z vlaštovičníku většího



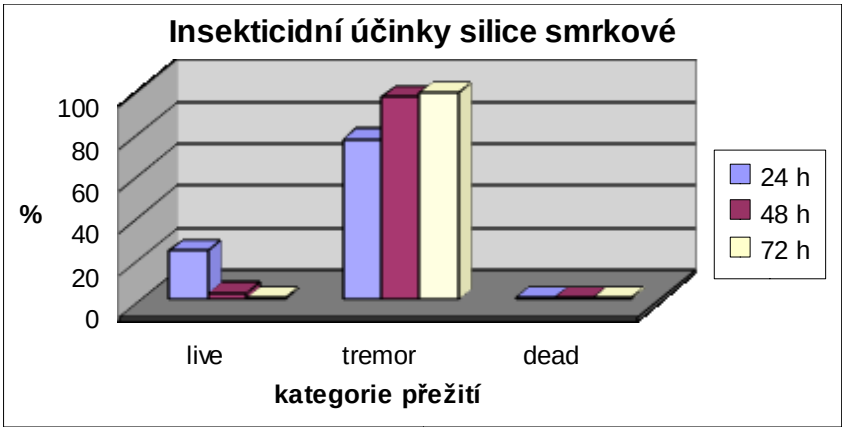
Graf č. 21: Insekticidní účinky výtažků z kaštanu koňského



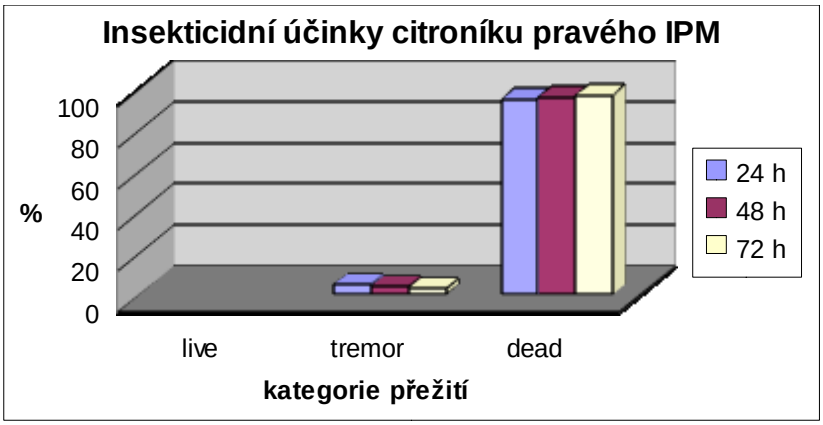
Graf č. 22: Insekticidní účinky výtažků z heřmánku pravého



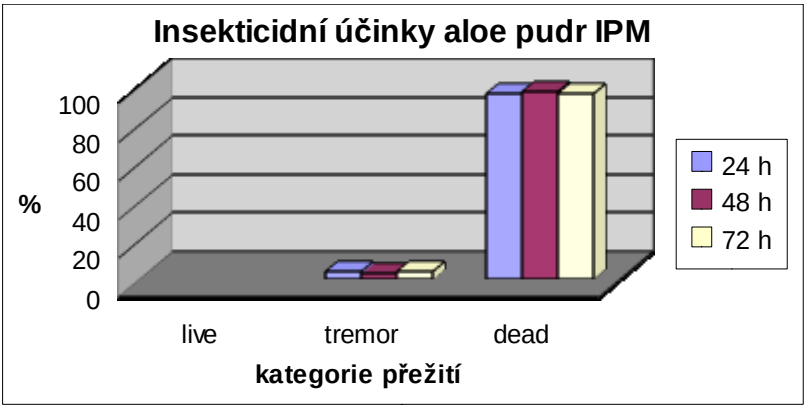
Graf č. 23: Insekticidní účinky výtažků ze smrku



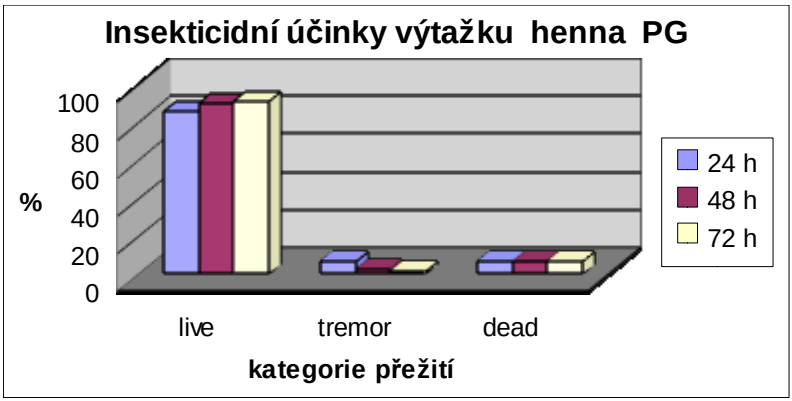
Graf č. 24: Insekticidní účinky výtažků z citroníku IPM



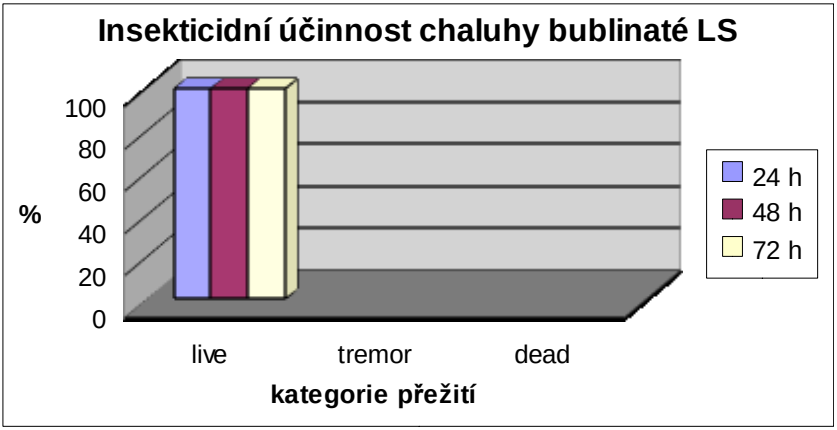
Graf č. 25: Insekticidní účinky výtažků z aloe



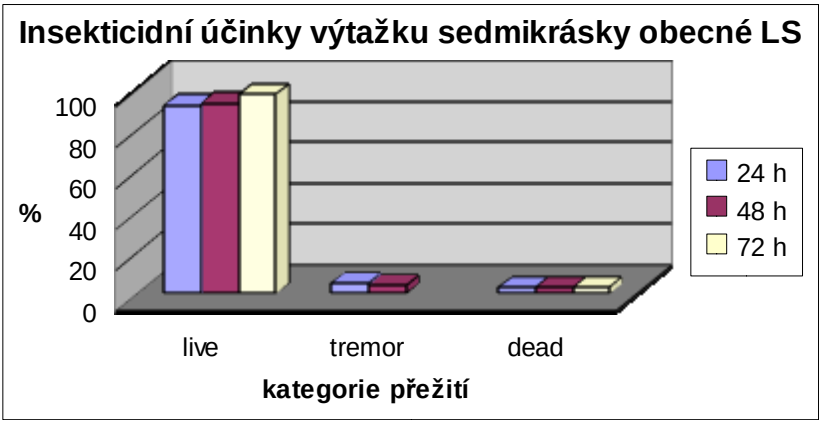
Graf č. 26: Insekticidní účinky výtažků z henny



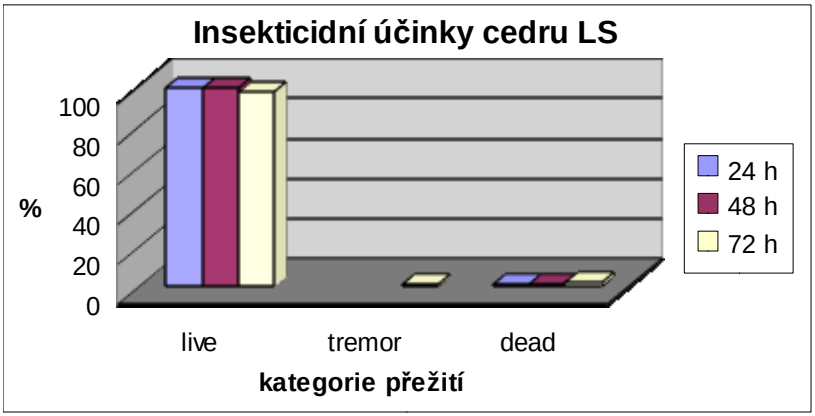
Graf č. 27: Insekticidní účinky výtažků z chaluhy bublinaté



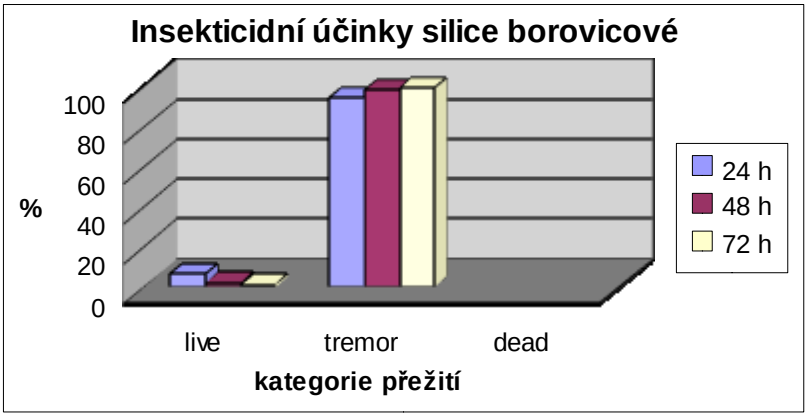
Graf č. 28: Insekticidní účinky výtažků ze sedmikrásky obecné



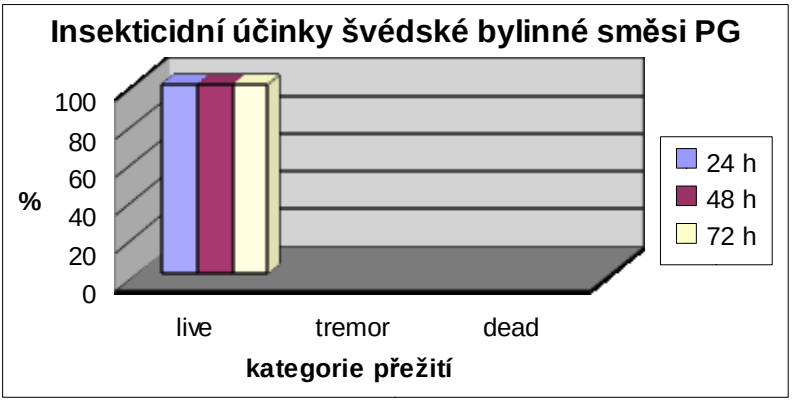
Graf č. 29: Insekticidní účinky výtažků z cedru



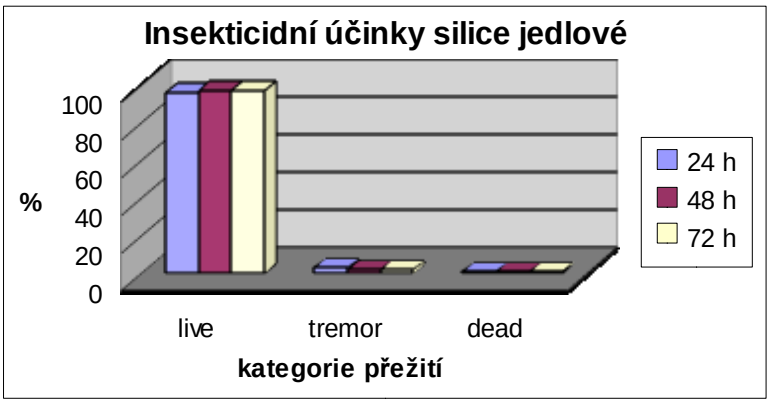
Graf č. 30: Insekticidní účinky výtažků z borovice



Graf č. 31: Insekticidní účinky výtažků ze švédské bylinné směsi

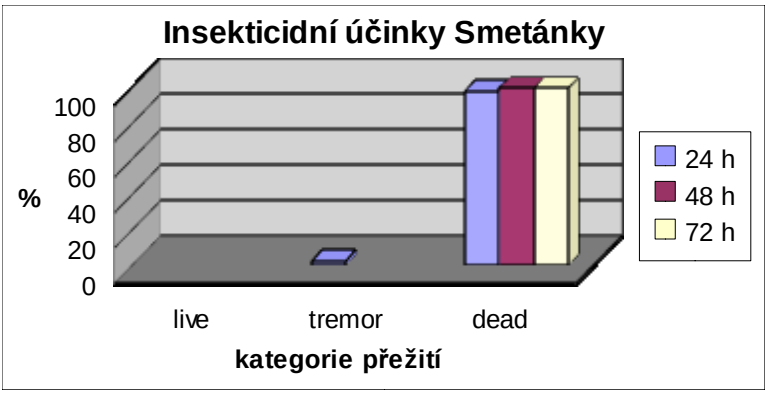


Graf č. 32: Insekticidní účinky výtažků z jedle

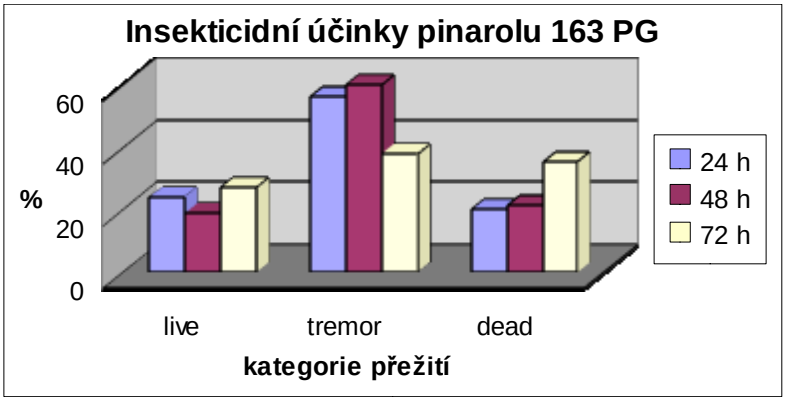


Graf č. 33: Insekticidní účinky výtažků ze zeleného čaje

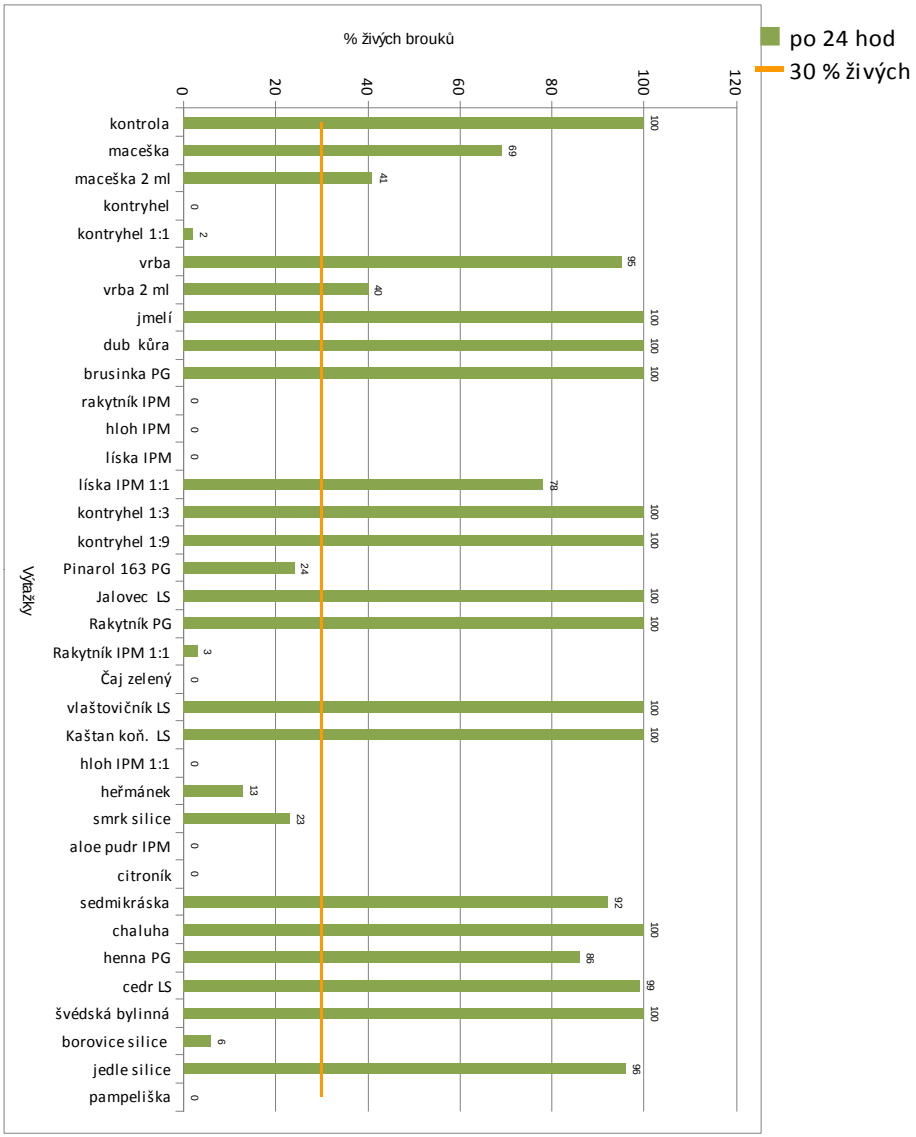
Graf č. 34: Insekticidní účinky výtažků ze smetánky



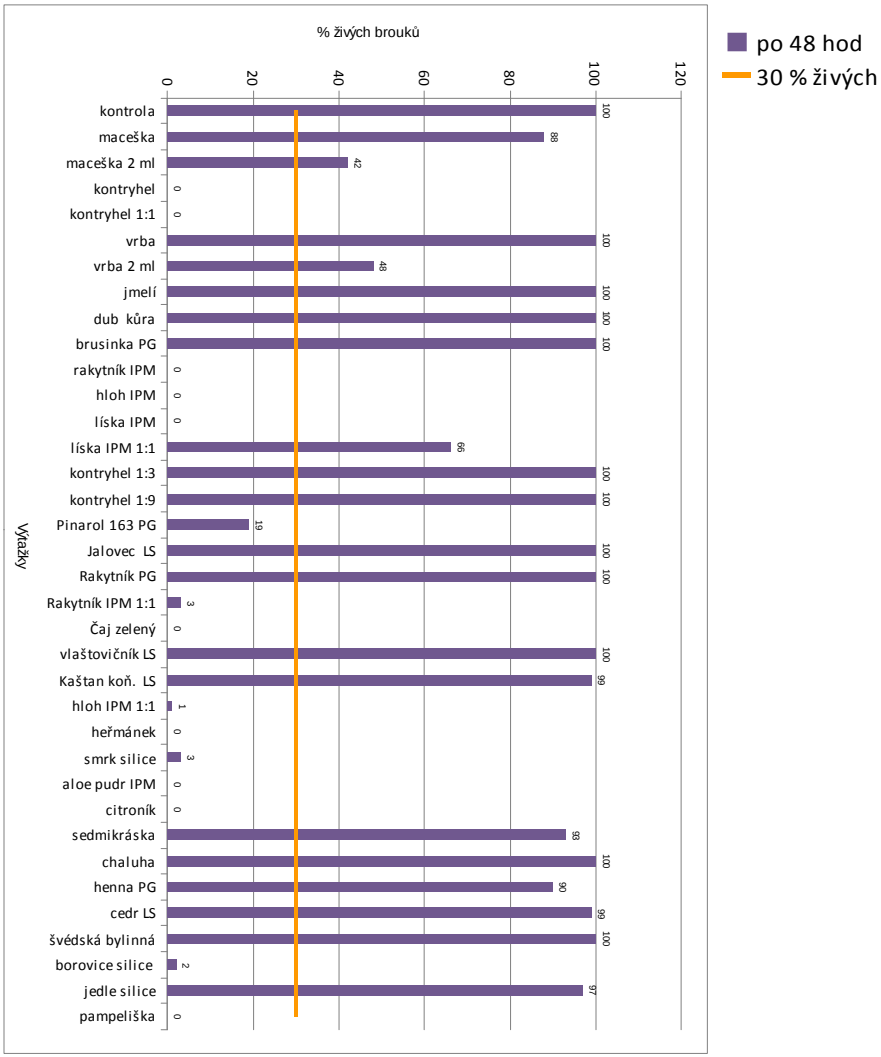
Graf č. 35: Insekticidní účinky výtažků z pinarolu



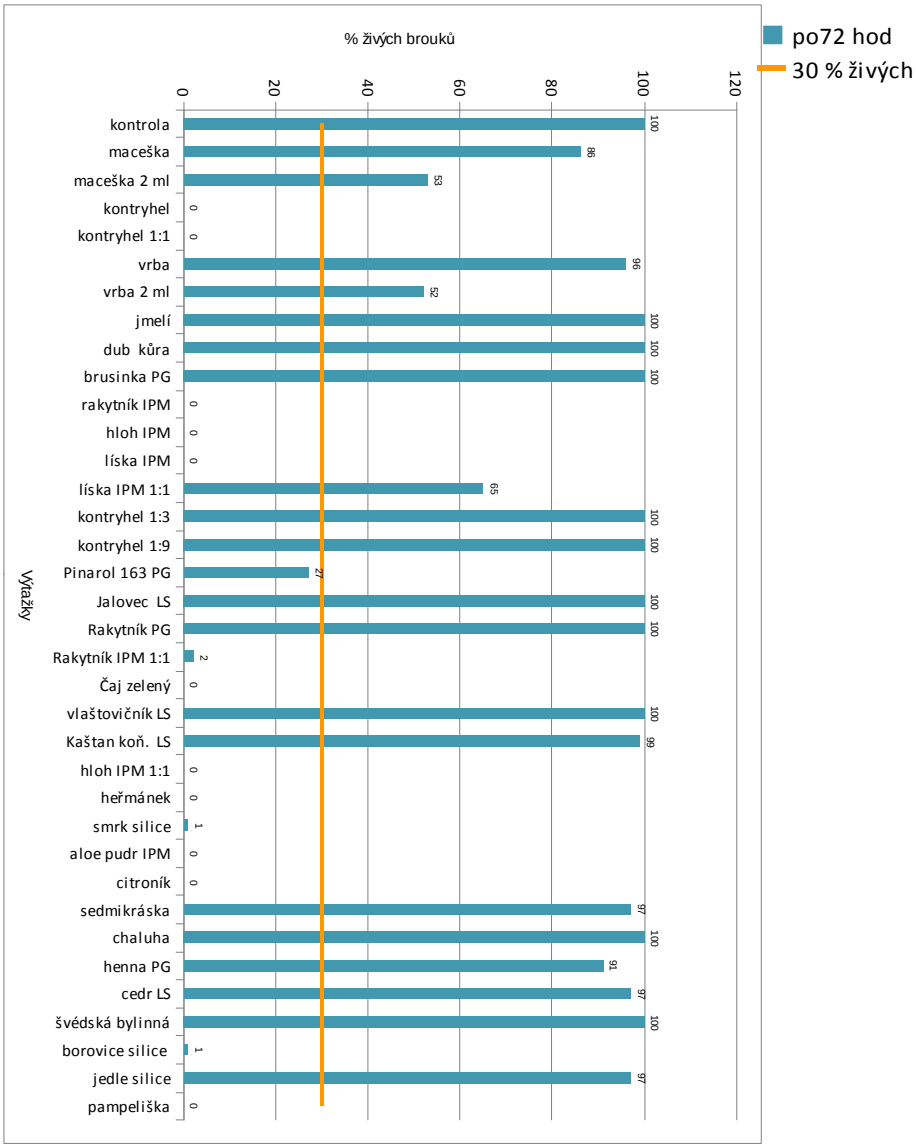
Graf č. 36: Počet živých brouků 24 hodin po aplikaci



Graf č. 37: Počet živých brouků po 48 hodinách



Graf č. 38: Počet živých brouků po 72 hodinách



Insekticidní účinky výtažků různých rostlin jsou postupně prozkoumávány a výtažky následně stále více používány. Jejich výzkumy se zabývá stále větší počet lidí hlavně kvůli netoxičnosti extraktů k životnímu prostředí.

REGNAULT – ROGER a HAMRAOUI (1994) se zabývali insekticidními účinky mateřídoušky a dalších, kdy zkoumali možnosti inhibice reprodukce u zrnokaza hrachového a byla prokázána 100% mortalita i v nižší koncentraci účinné látky. Dobrou insekticidní aktivitu prokázali KIM a kol. (2003 b) u křenu a fenyklu na červotoči tabákovém jak fumigací, tak i přímým kontaktem. Jak již bylo uvedeno v jiné kapitole, tak na potemníka hnědého (*Tribolium castaneum*) byly zkoušeny HUANGEM a kol. (2000) dvě z hlavních složek silice česneku na toxicitu fumigační, antifeedantní, ale i kontaktní. Obě složky brzdí rozmnožování potemníků, k fumigační toxicitě byly více náchylné larvy a ke kontaktní dospělci. HO a kol. (1996) uvádí podle svého výzkumu jako nejvíce citlivé k insekticidním účinkům oleje česneku stadium vajíček. S extraktem z borovice pracovali BENINGER a ABOU – ZAID (1997), kdy jako experimentální populaci nepoužili sice potemníky, ale i přesto dosáhli pozitivního výsledku. Tato práce účinnost silic z borovic potvrzuje, jelikož i my jsme prokázali výbornou, téměř 100 %, účinnost na *T. castaneum* (po 24 hodinách 94 %, po 48 hodinách 98 % a po 72 hodinách 99 % účinnost). Na potemníku skladištním dále testovali TUNC a kol. (2000) fumigační aktivitu par éterických olejů z kmínu a anýzu s výsledkem 100 % úmrtnosti vajíček, což téměř potvrzuje i práce z roku 1995, kdy autory byli SARAC a TUNC, kteří prokázali 95 % úmrtnost po ošetření éterickým olejem anýzu. Podle HUANGA a HO (1998) má na potemníka hnědého kontaktní toxicitu methylen chloridový extrakt ze skořice.

ZÁVĚR

Z extraktů námi sledovaných rostlin vykazovaly uspokojivé insekticidní účinky výtažky z heřmánku pravého (*Matricaria recutita*), smrku a pinarol (*Picea* sp.), kontryhelu obecného (*Alchemilla vulgaris*), lísky obecné (*Coryllus avellana*) (IPM), hlohu (*Crataegus*) a rakytníku řešetlákového (*Hippophaë rhamnoides*) (IPM) a to jak koncentrovaného, tak i ředěného vodou 1:1, citroníku obecného (*Citrus limon Burm.*), aloe (*Aloe* L.), borovice (*Pinus*), zeleného čaje a smetánky (*Taraxacum*).

Vlastnosti extraktů z těchto rostlin se blíží požadavkům kladeným na účinnost insekticidních přípravků používaných v zemědělské praxi. Je tedy možné konstatovat, že jsou tyto rostliny perspektivním zdrojem biologicky aktivních látek, které se potenciálně dají využít v ochraně rostlin proti hmyzím škůdcům.

Naopak u extraktů z macešky (*Viola tricolor*) a vrby bílé (*Salix alba*) v dávce 1 ml, výtažku z lísky obecné (*Coryllus avellana*) ředěného vodou (1:1), kaštanu koňského (*Aesculus hippocastanum*), henny (*Lawsonia inermis*), sedmikrásky (*Bellis*), cedru (*Cedrus*) a jedle (*Abies*) se insekticidní účinky nepotvrdily a jejich využití v praxi není vhodné.

Využívání některých výtažků z rostlin se zdá být perspektivní, ovšem je potřeba, předtím než začneme vyrábět extrakty, experimentálně zjistit jejich insekticidní účinky.

LITERATURA

Aas, G., Riedmiller, A. (2002): *Kapesní atlas Stromy*. Slovart, 255 s. ISBN 80-7209-420-3.

Afifi, F. A., Hafez, S.M. (1988): *Effect of different plant extracts on the toxicity and behaviour of Tyrophagus putrescentiae Schrank (Acari: Acaridae)*. Annals of Agricultural Science Cairo, 33 (2): 1375-1385.

Ahumada, C., Saenz, T., Garcia, D., De La Puerta, R., Fernandez, A., Martinez, E. (1997): *The effects of a triterpene fraction isolates from Crataegus monogyna Jacq. on different acute inflammation models in rats and mice. Leucocyte migration and phospholipase A-2 inhibition.* Journal of Pharmacy and Pharmacology, 49 (3): 329-331.

Almasi, R. (2004): *Stetocine uskladistenog zita, brasna i proizvoda od brasna*. Biljni Lekar Plant Doctor, 32 (¾): 210-217.

Aulický, R., Stejskal, V. (2008 a): *Rozdíly v kumulaci skladištních brouků ve štěrbinách prázdných a poloprázdných skladů*. Nové agro, 1 (1): 34-35.

Aulický, R., Stejskal, V. (2008 b): *Účinnost lapače Multi-Insect-Trap pro monitoring ve skladech obilovin*. Úroda, 56 (12): 20-22.

Aulický, R., Stejskal, V. (2008 c): *Účinnost fosforovodíku na škůdce skladovaných obilovin*. Úroda, 56 (10): 40-42.

Bagar, M., Honěk, A., Lukáš, J., Pekár, S., Pultar, O., Stejskal, V., Zacharda, M., Žďárková, E. (2003): *Predátoři a parazitoidi v biologické ochraně polních kultur, skleníků a skladovaných komodit*. Výzkumný ústav rostlinné výroby Praha – Ruzyně, 62 s. ISBN 80-86555-34-8.

Banfi, E., Consolino, F. (2001): *Stromy : na zahradě, v parku a ve volné přírodě*. Ikar: Knižní klub, 223 s. ISBN 80-7202-807-3.

Bartoš, J., Verner, P. H. (1979): *Ochrana proti skladištním škůdcům a chorobám*. Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 1. vyd., 344 s.

Beninger, C.W., Abou-Zaid, M.M. (1997): *Flavonol Glycosides from Four Pine Species that Inhibit Early Instar Gypsy Moth (Lepidoptera: Lymantriidae) Development*. Biochemical Systematics and Ecology, 25 (6): 505-512.

Breňová, J. (2008): *Asanace a její význam v chovu hospodářských zvířat*. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, bakalářská práce, 55 s.

Bodlák, J. (2002): *Zdraví máme na talíři*. Granit s. r. o., Praha, 1.vyd., 159 s. ISBN 80-7296-016-4.

Buchtelová, R. a kol. (2001): *Akademický slovník cizích slov A – Ž*. Nakladatelství Akademie Věd ČR, Praha, 1 .vyd., 834 s. ISBN 80-200-0982-5.

Coombes, A. J. (1996): *Stromy (edice Pouhým okem)*. Osveta, 320 s. ISBN 80-88824-16-8.

Čača, Z. a kol. (1990): *Ochrana polních a zahradních plodin*. Státní zemědělské nakladatelství v Praze, 2. přepracované vydání, 368 s.

Černý, L. (1951): *Obiloviny*. Nakladatelství a vydavatelství ÚRODA, Praha, 1. vyd.

Černý, L. (1954): *Boj proti skladištním a mlýnským škůdcům*. Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 285s.

Červená, D., Červený, K. (2002): *Léčba výživou*. Neografia a.s., Martin, 2.vyd., 213 s. ISBN 80-88892-49-X.

Deyl, M., Hísek, K. (2001): *Naše květiny*. Academia, Praha, 690 s. ISBN 80-200-0940-X.

Dudáš, F. (1983): *Skladování rostlinných produktů*. Vysoká škola zemědělská v Brně, 268 s.

Gall, J. (2007): *Ochrana před skladištními škůdci*. Agromanuál, č. 1, s. 14-17.

Hajšlová, J. (2003): *Rizika reziduí pesticidů v potravinářských řetězcích a v životním prostředí*. In Kocourek, F., Krejčová, J., Stejskal, V. *Rizika pesticidů a škodlivých organismů v agroekosystémech*. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha, s. 21-23. ISBN 80-86555-31-3.

Hammond, N. (2007): *Ptáci – Příručka k určování*. SVOJTKA&Co, 176 s. ISBN 978-80-7352-527-9.

Ho, S.H., Koh, L., Ma, Y., Huang, Y., Sim, K.Y. (1996): *The oil of garlic, AZZium sativum L. (Amaryllidaceae), as a potential grain protectant against Tribolium castaneum (Herbst) and Sitophilus zeamais Motsch.* Postharvest Biology and Technology, 9: 41-48.

Honěk, A., Pekár, S. (2003): *Podpora využití přirozených nepřátel v polních podmínkách*. In *Predátoři a parazitoidi v biologické ochraně polních kultur, skleníků a skladovaných komodit*. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha – Ruzyně, s. 7-17. ISBN 80-86555-34-8.

Horáková, J. (2007): *Základy dezinfekce, dezinsekce a deratizace v potravinářství*. Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno, 1. vyd., 119 s. ISBN 978-80-7305-014-6.

Hori, M. (1999): *The effects of rosemary and ginger oils on the alighting behaviour of Myzus persicae (Sulzer) (Homoptera: Aphididae) and on the incidence of yellow spotted streak.* Applied Entomology and Zoology, 34: 351-358.

Huang, Y., Ho, S. H. (1998): *Toxicity and antifeedant activities of cinnamaldehyde against the grain storage insects Tribolium castaneum (Herbst) and Sitophilus zeamays Motsch*. Journal of Stored products research, 34: 11-17.

Huang, Y., Chen, S., Ho, S. (2000): *Bioactivities of methyl allyl disulfide and diallyl trisulfide from* ***essential oil*** *of garlic to two species of stored-product pests, Sitophilus zeamais (Coleoptera: Curculionidae) and Tribolium castaneum (Coleoptera: Tenebrionidae).* Journal of Economic Entomology. 93(2): 537-543.

Hudec, K., Gutten, J. (2007): *Encyklopedie chorob a škůdců. Komplexní ochrana vaší zahrady*. Computer Press, Brno, 357s.

Hůrka, K. (2005): *Brouci České a Slovenské republiky*. Kabourek, Zlín, 393s.

Chloupek, O., Procházková, B., Hrudová, E. (2005): *Pěstování a kvalita rostlin*. MZLU, Brno, 1. vyd., číslo publikace 2166. ISBN 80-7157-897-5.

Iglesias, J., Castillejo, J., Ester, A. (2002): *Laboratory evaluation of potential molluscicides for the control of eggs of the pest slug Deroceras reticulatum (Muller) (Pulmonata: Limacidae)*. Santiago de Compostela, Spain. Department of Animal Biology, Faculty of Biology. International Journal of Pest Management, 48 (1): 19-23

Jacobson, M. (1989): *Botanical Pesticides, Past, Present, and Future*. In: ARNASON, J.T., PHILOGENE, B.J.R., MORAND, P. (Eds.) *Insecticides of Plant Origin*. American Chemical Society, Washington DC, s. 1–10.

Jbilou, R., Ennabili, A., Sayah, F. (2006): *Insecticidal activity of four medicinal plant extracts against Tribolium castaneum (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae)*. African Journal of Biotechnology, 5 (10): 936-940. ISSN 1684–5315.

Kim, S., Roh, J., Kim, D., Lee, H. Ahn, Y. (2003 a): *Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against Sitophilus oryzae and Callosobruchus chinensis.* School of Agricultural Biotechnology, Korea, Journal of Stored Products Research, 39(3): 293-303.

Kim, S., Park, Ch., Ohh, M., Cho, H., Ahn, Y. (2003 b): *Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against Lasioderma serricorne (Coleoptera: Anobiidae)*. School of Agricultural Biotechnology, Korea, Journal of Stored Products Research, 39(1): 11-19.

Kizlink, J. (2001): *Technologie chemických látek II*. Vutium, Brno. ISBN 80-214-2013-8.

Kizlink, J. (2009): *Pyrethroidy jako insekticídne prísady pre chemické prostriedky na ochranu dreva*. Fakulta chemická VUT, Brno, CHEMagazín, č. 1, roč. XIX.

Korbelář, J., Krejča, J., Endris, Z. (1990): *Naše rostliny v lékařství*. 7 ed. Avicenum, Praha.

Kozminová, N. P. (1957): *Organisace a technika skladování obilnin, luštěnin a olejnin*. Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 1.vyd., 279 s. Sbírka mechanisace

Kubát, K., Hrouda, L.,Chrtek, J., Kaplan, Z., Kirschner, J., Štěpánek, J. (2002): *Klíč ke květeně České republiky.* Academia, Praha, 928 s. ISBN 80-200-0836-5.

Kulataeva, A. K., Pak, R. N., Ermekbaeva, B. A., Adekenov, S. M. (2006): *Antimicrobial and regenerating properties of medicinal plants ethanol extracts and essential oils phytocomposition*. Rastitel'nye Resursy, 42 (2): 102-109.

Kunst, M., Zpěvák, J. (1978): *Atlas bezobratlých*. Státní pedagogické nakladatelsví, Praha, 1.vyd., s. 35. ISBN 14-700-78.

Lohmann, M. (2006): *Svět zvířat*. Rebo Productions, 1. vyd., 271 s. ISBN 978-80-7234-705-6.

Lukáš, J., Stejskal, V. (2003): *Biologická ochrana skladovaných komodit*. In *Predátoři a parazitoidi v biologické ochraně polních kultur, skleníků a skladovaných komodit*. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha – Ruzyně, s. 43-51. ISBN 80-86555-34-8.

Malaťák, J. (2008): *Sklady obilovin*. Farmář, 14 (8): 60-63.

Maleř, J. (1975): *Sklizeň, posklizňové ošetřování a skladování obilnin*. Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 1.vyd., 204 s. Mechanizace, výstavba a meliorace.

Miller, F. (1956): *Zemědělská entomologie*. Nakladatelství Československé akademie věd, Praha, 1057s.

Narahashi, T. (1976): *Nerve membrane as a target of pyrethroids*. Pesticide Science 7, s. 267–272.

Ody, P. (2004): *Velký atlas léčivých rostlin*. Knižní klub, Praha, 2. vyd., 192 s. ISBN 80-242-1259-5.

Pavela, R. (2006): *Rostlinné insekticidy – Hubíme hmyz bez chemie*. Grada Publishing, a.s., Praha, 1. vyd., 96 s. ISBN 80-247-1019-6.

Pinninger, D. B. (1983) *Residual insecticides: How well do they perform against stored-product pests?* In: Proceedings of the Sixth British Pest Control Conference, Cambridge, UK. British Pest Control Association, London, UK, 13pp.

Pelikán, M., Sáková, L. (2001): *Jakost a zpracování rostlinných produktů*. Jihočeská univerzita, zemědělská fakulta, České Budějovice. ISBN 80-7040-502-3. Skladištní škůdci a boj proti nim, s. 31-35.

Petr, J., Dlouhý, J. a kol. (1992): *Ekologické zemědělství*. Zemědělské nakladatelství Brázda, Praha, 312s. ISBN 80-209-0233-3.

Rausch, A., Lotz, B. (2002): *Lexikon bylinek*. Rebo Productions, 1. vyd., 301 s. ISBN 80-7234-374-2.

Rees, D. (2004): *Insects of stored products.* Manson Publishing Ltd, London, 181 s. National Library of Australia Cataloguing in Publication entry. ISBN 1-84076-060-5.

Regnault – Roger, C., Hamraoui, A. (1994): *Inhibition of reproduction of Acanthoscelides obtecus Say (Coleoptera), a kidney bean (Phaseolus vulgaris) bruchid, by aromatic essential oils*. Crop Protection, France, roč. 13, č. 8.

Reichholf, J.H. (2004): *Motýli*. Rebo Productions, Dobřejovice, 239s. ISBN 80-7234-310-6.

Rettich, F. a kol. (1997): *Standardní metodika k provádění ochranné desinsekce při výskytu švábovitých na území ČR*. Státní zdravotní ústav Praha, 7 s. Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica; příloha č. 3/1997.

Rupeš a kol. (2002): *Škůdci v domácnostech a boj proti nim.* Nussberger, Poříčany, 1.vyd., s. 10-130. ISBN 80-902010-1-6.

Rupeš,V., Ledvinka,J. (2003): *Příručka desinsekce a deratizace*. Sdružení pracovníků desinfekce, desinsekce, deratizace České republiky, Praha, pracovní verze, 1.vyd., s. 65-235. ISBN 80-02-01573-8.

Řepová, K. (2008): *Odrůdová odolnost ječmene vůči vybraným druhům skladištních škůdců*. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, bakalářská práce, 49 s.

Sarac, A., Tunc, I. (1995): *Toxicity of essential oil vapours to stored-product insects.* Akdeniz University, Faculty of Agriculture, Plant Protection Department, PK. 126, Antalya, Turkey. Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz. 102(1): 69-74.

Saxena, R.C., Jilani, G., Kareem, A.A. (1988): *Effects of neem on stored grain insects*. 1989, In: JACOBSON, M. (Ed.) *Focus on Phytochemical Pesticides*. vol. 1. The Neem Tree. CRC Press, Boca Raton, s. 97–111.

Serdabely, P. (2003): *Ochrana skladovaného obilí proti škůdcům.* Agro, 7 (5): 66.

Soják, J. (1983): *Kapesní atlas rostliny našich hor*. SPN, Praha, 431 s.

Stejskal, V. (1995): *The Influence of Food and Shelter on the Efficacy of a Commercial Sticky Trap in Tribolium castaneum (Coleoptera: Tenebrionidae)*. Journal of Stored Product Research, 31 (3): 229-233.

Stejskal, V. (1997): *Škůdci na skladovaném obilí – výskyt a hubení*. Farmář, 3 (5): 14-15.

Stejskal, V. (1998): *Ochrana před potravinovými a hygienickými škůdci*. Praha, Vyšehrad, 1.vyd., s. 25-90. ISBN 80-7021-236-5.

Stejskal, V. (2002): *Škůdci skladovaného obilí*. Farmář, 8 (12): 16-18.

Stejskal, V. (2006): *Skladištní a hygieničtí škůdci*. Dezinfekce, Dezinsekce, Deratizace, Fotografie Václav Stejskal, web, Wahrton, Aulický., s. 85-97.

Stejskal, V. a kol. (1998): *Dezinsekce II: Skladištní škůdci*. Sdružení pracovníků DDD České republiky, Praha, 127 s.

Stejskal, V., Hubert, J. (2004): *Roztoči škodí ve skladech*. Farmář, 10 (12): 27-29.

Stejskal, V., Verner, P., Vyšnička, J. (1993): *Desinsekce II: skladištní škůdci*. České sdružení profesionálních pracovníků v DDD, Praha, 1.vyd., s. 12-102.

Střížová, V. (1987): *Historie dezinfekce, dezinsekce a deratizace*. Institut hygieny a epidemiologie, Praha, 102 s. Acta hygienica, epidemiologica et microbilogica, č. 24.

Šefrová, H. (2006): *Rostlinolékařská entomologie*. Konvoj, Brno, 1. vyd., 257s. ISBN 80-7302-086-6.

Ševčíková, K. (2010): *Rostlinné alkaloidy v potravinách*. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, bakalářská práce, 47 s.

Tichá, J. (1988): *Mikroorganismy a jiní škůdci v mlýnskopekárenském průmyslu a ochrana proti nim*. SNTL, Praha, 1.vyd., s. 108-132. ISBN 04-833-88.

Tóth, P. (2009): *Potravní preference vybraných druhů skladištních škůdců k různým odrůdám pšenice*. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, diplomová práce, 81s.

Tunc, I., Berger, B.M., Erler, F., Dagli, F. (2000): *Ovicidal activity of essential oils from five plants against two stored-product insects*. Akdeniz University, Faculty of Agriculture, Plant Protection Department, PK 510, Antalya, Turkey. Journal-of-Stored-Products-Research, 36 (2): 161-168.

Valterová, I., Nehlin, G., Borg-Karlson, A.-K. (1997): *Host Plant Chemistry and Preferences in Egg-laying Trioza apicalis (Homoptera, Psylloidea)*. Biochemical Systematics and Ecology, 25 (6): 477-491.

Vavřena, Č. (1955): *Doprava a skladování mouky*. Státní nakladatelství technické literatury, Praha, 277s. ISBN L18-B1-3-I.

Větvička, V., Krejčová, Z. (2007): *Letničky a dvouletky*. Aventinum, 223 s. ISBN 80-86858-31-6.

Vostoupal, B. (1989): *Katalog přípravků dezinfekce, dezinsekce, deratizace*. Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 304 s. ISBN 80-209-0002-0.

Wawrzyniak, M. (2000): *Effect of extracts obtained from some plants of Umbelliferae family on Pieris brassicae L. and its endoparasite Apanteles glomeratus L*. Bydgoszcz, Poland. Technical and Agricultural University. Vegetable Crops Research Bulletin, 52: 47-54.

Webb, D. P., Lloyd, C. J. (1979): *The efficacy of twenty three insecticidal formulations on different surfaces, against four species of stored-product insects.* Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Agricultural Science Service Research Report no. 32, UK.

Whitehead, R. (Ed.) (2003): *The UK Pesticide Guide 2003*. CAB International and British Crop Protection Council, Wallingford, Oxford, UK.

Zeman, P. (1992): *Desinsekce*. Sdružení DDD, Praha, 1.vyd., 80s.

Internetové zdroje

http://akademon.cz/default.asp?source=0508, 14.4.2011

http://botanika.wendys.cz/kytky/K143.php, 14.4.2011

http://bylinky.zdrave.cz/leciva-materidouska/, 14.4.2011

http://byliny.vitalion.cz/svetlik-lekarsky/, 14.4.2011 a

http://byliny.vitalion.cz/kostival-lekarsky/, 14.4.2011 b

http://cit.vfu.cz/vet-ekologie/rozdeleni_skudcu/potemnik_skladistni.htm, 14.4.2011

http://cs.wikipedia.org/wiki/Asfodelovit%C3%A9, 14.4.2011 a

http://cs.wikipedia.org/wiki/Henna, 14.4.2011 b

http://cs.wikipedia.org/wiki/Chaluha_bublinat%C3%A1, 14.4.2011 c

http://cs.wikipedia.org/wiki/Cedr, 14.4.2011 d

http://cs.wikipedia.org/wiki/Borovice, 14.4.2011 e

http://cs.wikipedia.org/wiki/Borovicovit%C3%A9, 14.4.2011 f

http://cs.wikipedia.org/wiki/Jedle, 14.4. 2011 g

http://cs.wikipedia.org/wiki/Rakytn%C3%ADk_%C5%99e%C5%A1etl%C3%A1kov%C3%BD, 14.4.2011 h

http://cs.wikipedia.org/wiki/Hloh, 14.4.2011 i

http://cs.wikipedia.org/wiki/Dub, 14.4.2011 j

http://cs.wikipedia.org/wiki/Potemn%C3%ADkovit%C3%AD, 14.4.2011 k

http://hobby.idnes.cz/koriandr-sety-coriandrum-sativum-dlx-/herbar.asp?c=A080717_160758_herbar_lud, 14.4.2011

http://hmyz.net/222tenebrionidae.htm, 14.4.2011

http://kottas.beril.cz/byliny-pro-pripravu-sved-kapek.html, 14.4.2011

http://mirda2.atlasweb.cz/rostliny%20ktere%20leci.htm, 14.4.2011 a

http://mirda2.atlasweb.cz/ovoce%20vitaminy.htm, 14.4.2011 b

http://sk2.goo.cz/zdravi_na_dlani/lecive_rostliny/violka.htm, 14.4.2011

http://www.agroweb.cz/Koriandr-sety__s44x10518.html, 14.4.2011

http://www.asana.cz/dezinsekce.htm, 14.4.2011

http://www.avicenna.cz/item/picea-abies-smrk-obecny, 14.4.2011 a

http://www.avicenna.cz/item/cedrus-libani-cedr-libanonsky, 14.4.2011 b

http://www.bioklub.cz/zdrava-vyziva/jarni-vitaminy-z-prirody/, 14.4.2011

http://www.biotox.cz/naturstoff/biologie/bi-2d-28-ocholi.html, 14.4.2011 a

http://www.biotox.cz/naturstoff/biologie/bi-2d-08-bukbriore.html, 14.4.2011 b

http://www.celostnimedicina.cz/libecek-lekarsky-levisticum-officinale.htm, 14.4.2011

http://www.dreviny-okrasne.cz/listnace/hloh/, 14.4.2011

http://www.essentialoils.co.za/essential-oils/carrot-seed.htm, 14.4.2011

http://www.korenionline.info/koriandr, 14.4.2011

http://www.kvetenacr.cz/detail.asp?IDdetail=174, 14.4.2011

http://www.lekarna.cz/medpharma-cesnek-1000mg-tob-37/, 14.4.2011

http://www.mineralfit.cz/domaci-lekar-clanek/rakytnik-a-nase-zdravi-959, 14.4.2011 a

http://www.mineralfit.cz/domaci-lekar-clanek/jirovec-madal-345, 14.4.2011 b

http://www.mscha.wbs.cz/Koreni---rostliny.html, 14.4.2011

http://www.osel.cz/index.php?clanek=4533, 14.4.2011

http://www.ordinace.cz/clanek/liska-obecna/, 14.4.2011

http://www.pestovani.in/cz/chelidonium-vlastovicnik/, 14.4.2011

http://www.rodina-finance.cz/zdrava-vyziva.212/druhy-caje-caj-a-slozeni.20342.html, 14.4.2011

http://www.samoleceni.cz/7640119230085/fytofontana-gyntima-intimni-myci-gel-200ml, 14.4.2011

http://www.skudci.com/potemnik-skladistni, 14.4.2011

http://www.zdraveveci.cz/news/zeleny-caj1/, 14.4.2011

USE COATED SEED IN GRASSLAND

Mikel O.[1], Skládanka J.[1], Kohoutek A.[2]

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

[2] Crop Research Institute, v.v.i., Drnovská 507, 161 06 Praha 6 – Ruzyně, workplace Jevíčko, Czech Republic

E-mail: xmikel@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The aim was to compare the attempt coated (iSeed) seed and non-coated seed red clover in sod seeding the original grass. Monitoring took place in 2011. Percentage of plants and mass arising above ground and underground biomass were examined factor.

A higher percentage of plants were arising in non-breadcrumbed forms of red clover seed in all deduction terms. The greatest difference was achieved in the first term deductions, while the smallest in the fourth term.

Weight above and below ground biomass was higher in coated (iSeed) forms of red clover seed.

Key words: sod seeding, red clover, coated (iSeed), non-coated

ÚVOD

Trvalé travní porosty zaujímají v České republice okolo 1 000 000 ha, na zemědělské půdě a toto číslo se každým rokem zvyšuje. Zemědělci v dnešní době mají povinnost se starat o trvalé travní porosty z dotačního hlediska, ale málo, který z nich už dbá na správnost udržování a ošetřování travních porostů, aby měly odpovídající složení a kvalitu, pro krmné účely. Naším cílem by mělo být, aby nedocházelo k degradacím travního porostů a tím i snižování kvality a kvantity z hektaru.

Jednou z možností jak můžeme udržet nebo i zvýšit produkční stabilitu v měnících se klimatických podmínkách je možnost přísevu jetelovin do původního travního drnu. Pod pojmem přísev se rozumí narušení původního travního drnu, pomocí páskového secího stroje SE 2 – 024, který zpracovává pásek o stavitelné hloubce.

Obalované osivo (iSeed) je živinami obalované osivo jetelovin, které zvyšují počáteční růst a urychluje klíčení. iSeed obsahuje z 50% osivo a 50% živiny ve formě hnojiva s jinými složkami jako jsou pojiva.

MATERIÁL A METODIKA

Pokus probíhá ve Výzkumné pícninářské stanici ve Vatíně. Lokalita se nachází v regionu Českomoravské vrchoviny, 7 km jižně od Žďáru nad Sázavou na jižní hranici CHKO Žďárské vrchy. Nadmořská výška stanoviště je 540 m n.m. Průměrná roční teplota (1970-2000) zde dosahuje 6,9°C, ve vegetačním období 12,2°C a průměrný roční úhrn srážek (1970-2000) činí 617,5 mm, ve vegetačním období 440 mm. V roce 2010 spadlo 881,5 mm srážek z toho ve vegetačním období 561,6 mm. Půdním druhem jsou hlinitopísčité půdy, půdní typ je kambizem kyselá na deluviu orthoruly.

Technologie přísevu

Secí stroj SE 2 – 024 je páskový secí stroj, který částečně narušuje původní travní drn, je používán pro štěrbinový výsev jetele pro přísev luk a pastvin. Osivo je vyséváno do zpracovaného pásku o šířce 4 cm a stavitelné hloubce dle původního drnu. Pracovní šířka je 1,50 m, počet frézovacích kotoučů 12, rozteč řádků 15 cm, šířka zpracování pásku 4 cm.

Pokusné faktory

- Osivo neobalované (kontrola)
- Osivo obalované (iSeed) – je živinami obalované osivo jetelovin, které zvyšuje a urychluje počáteční růst a klíčení.
  - obsahuje z 50% osivo a z 50% živiny ve formě hnojiva (10% N, 4,6%P_2O_5) s jinými složkami jako jsou pojiva.

Použitá jetelovina a odrůda

- Jetel luční (4n) AMOS

Založení pokusu

Pokus byl založen v letním termínu 17. Června 2011 na původním travním porostu. Výsev se provedl na parcelky o rozměrech 1,5x11,11 m ve třech opakování. Na secí stroj bylo namontováno pro větší přesnost výsevní ústrojí Oyrt.

Výsevek na plochu 19,332 m^2 byl vypočten na 8 mil. klíčivých semen

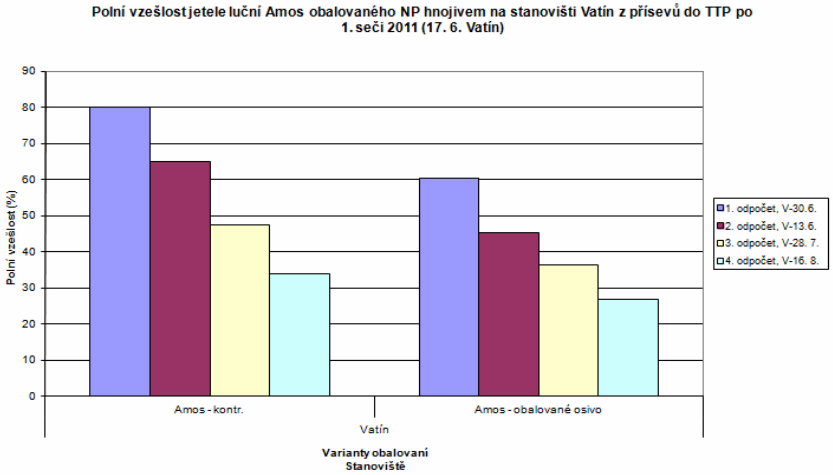
- neobalované osivo 56,6 g na parcelku.
- obalované osivo 96,3 g na parcelku.

Sledované charakteristiky

1. **Odpočet rostlin –** Na parcelce se prováděl odpočet vzešlých rostlin ve čtyřech termínech, kde na parcelce byly označeny čtyři úseky v řádku, ve kterých se prováděly odpočty. Začátek odpočtového metru byl označen červenou barvou a konec odpočtového metru žlutou barvou.
2. **Hmotnost rostlin –** Zjišťování hmotnosti rostlin se provádělo v jednom termínu pomocí destrukční metody, kdy bylo vyryto 50 rostlin přisetého jetele v jedné parcelce a po očištění kořenů se nejprve zvážily celé rostlinky. Poté následovalo oddělení nadzemní části rostliny a kořenů, které se opět jednotně zvážily.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Sledované faktory pro využití obalovaného osiva pro přísevy do travních porostů jsou hodnoceny v roce 2011. Výsledky sledování jsou uvedeny v následujících obrázcích.



Obr. 1 Polní vzcházivost jetele lučního

Hodnocení polní vzcházivosti se provádělo pomocí odpočtu rostlin ve čtyřech běžných metrech. Z hodnocení nám vyplývá, že lepších výsledků u polní vzcházivosti bylo dosaženo u neobalované (kontrolní) varianty oproti obalované (iSeed) variantě.

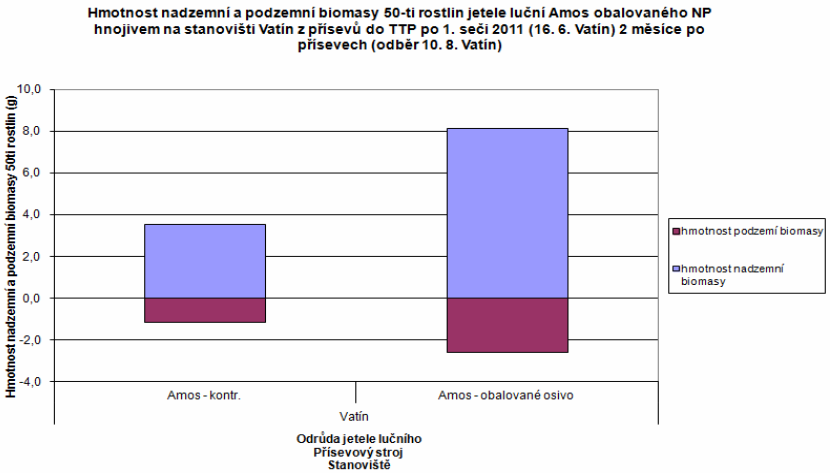
V prvním termínu odpočtu 30. 6. 2011, bylo u neobalované (kontrolní) varianty dosaženo 80% vzcházivosti rostlin jetele lučního. U obalované varianty bylo dosaženo 60% vzcházivosti rostlin jetele lučního. Rozdíl mezi variantami činí 20%.

Ve druhém termínu odpočtu 13. 7. 2011, bylo u neobalované (kontrolní) varianty dosaženo 65% vzcházivosti rostlin jetele lučního. U obalované varianty bylo dosaženo 45% vzcházivosti rostlin jetele lučního. Rozdíl mezi variantami činí opět 20%.

Ve třetím sledovaném termínu odpočtu 28. 7. 2011, bylo u neobalované (kontrolní) varianty dosaženo 47% vzcházivosti rostlin jetele lučního. U obalované varianty bylo dosaženo 36% vzcházivosti rostlin jetele lučního. Rozdíl mezi variantami se zmenšil na 11%.

V posledním (čtvrtém) sledovaném termínu odpočtu 16. 8. 2011, bylo u neobalované (kontrolní) varianty dosaženo 34% vzcházivosti rostlin jetele lučního. U obalované varianty bylo dosaženo 27% vzcházivosti rostlin jetele lučního. Rozdíl mezi variantami činí už jenom 7%.

Z výsledků můžeme konstatovat, že u neobalované (kontroly) varianty byla vyšší vzcházivost mladých rostlin než u obalované (iSeed) formy, ale postupem času se nám obě varianty postupně vyrovnávají.



Obr. 2 Hmotnost nadzemní a podzemní biomasy 50-ti rostlin

Hmotnost nadzemní a podzemní biomasy 50-ti rostlin se prováděla pomocí destrukční metody, kde byla zvážena nadzemní a podzemní biomasa.

Vyšší hmotnosti rostlin bylo prokázáno u obalované (iSeed) varianty, kde 50 rostlin u nadzemní biomasy vážila 8,1 g. Podzemní biomasa vážila u obalované varianty 2,6 g. Hmotnost nadzemní biomasy u kontroly byla 3,5 g a u podzemní části 1,2 g.

Z výsledků hmotnosti rostlin, můžeme říci, že vyšších výnosů bylo dosaženo s obalovanou variantou jetele lučního u nadzemní části biomasy o 4,6 g., a u podzemní části biomasy o 1,4 g. než u neobalované varianty.

ZÁVĚR

Cílem pokusu bylo porovnat obalované osivo s neobalovaným osivem jetele lučního v prvním roce. Pokus byl založen v roce 2011 na Výzkumné stanici pícninářské ve Vatíně, kde se 17. 6. 2011 provedl přísev jetele lučního do původního travního porostu. Byla zkoumána hmotnost a procento vzešlých rostlin.

Vyšší procento vzešlých rostlin bylo u neobalované formy osiva jetele lučního ve všech odpočtových termínech. Největšího rozdílu bylo dosaženo v prvním odpočtovém termínu, naopak nejmenšího ve čtvrtém termínu.

Hmotnost nadzemní i podzemní biomasy byla vyšší u obalované (iSeed) formy osiva jetele lučního.

Z dosažených výsledků vyplývá, možnost sledovat přísev jetele lučního i v budoucích letech.

THE CROP ROTATION INFLUENCE OF THE WEED INFESTATION AT THE WINTER WHEAT CROP

Neischl A.[1], Zelená V.[1], Winkler J.[2], Hledík P.[3]

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

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

[3] Crop Research Institute, Drnovská 507, 161 06 Praha 6 – Ruzyně, Czech Republic

E-mail: alexandr.neischl@gmail.com

ABSTRACT

Crop rotation and high intensity of cereals can influence the spectrum and intensity of weed species. The weed infestation of spring barley crop and winter wheat crop was monitored at the field trial based on three crop rotation systems, carried out in year 2009 and 2010. The first variety of the crop rotation system has a 33.3% share of cereal crops, second variety with 50% of cereal crops share and the third variety with 66.66% cereal crops share. The results were processed by Canonical Correspondence Analysis, CCA. Regarding winter wheat crop at 33.3% cereal crops share, the most frequent weed species were *Fallopia convolvulus*, *Lamium amplexicaule* a *Medicago sativa.* At the 50% and 66.66% cereal cropss share varieties, the most frequent weed species were *Galium aparine* a *Viola arvensis.*

Key words: the weed, crop rotation, winter wheat

Acknowledgement: The results in paper are output of project of Internal Grant Agency, FA MENDELU, No. TP 3/2011 “Optimalization of crop management practices in areas threatened by drought”.

This paper was written within the framework of the project QI111A184 financed by the National Agency for Agricultural Research of the Ministry of Agriculture of the Czech Republic.

ÚVOD

Změny ve struktuře plodin pěstovaných jsou dány nepříznivou hospodářskou situací zemědělských podniků, ve které se nacházejí od roku 1990 a dále také možnostmi na trhu zemědělských komodit. V důsledku toho došlo ke snížení plochy jednoletých a víceletých pícnin související s poklesem stavu skotu, dále se snížila plocha okopanin (cukrovka, brambory) a luštěniny. U obilovin došlo k poklesu u žita, ovsa a částečně i ozimého ječmene. Nárůstu ploch došlo u tritikale a olejnin, především řepky a mák a stejně jako kukuřice na zrno. V současné době je hlavní ziskové plodiny v ČR jsou především sladovnický ječmen, pšenice obecná, řepka a mák. Obecně platí, že tyto změny vedly ke snížení podílu zúrodňujících předplodiny ve struktuře pěstovaných plodin a ke a snížení homeostázy agrosystémů (Křen, Valtýniová, 2008).

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 vzcházení, růst a vývoj jednotlivých druhů plevelů (Dvořák, Smutný, 2003).

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 správnou. 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. Burýšková (Müller, 1996).

Úzké spektrum pěstovaných plodin vede podle Chancellora (1979) k dominanci některých druhů a jak dále uvádí pestrý osevní postup je základem trvale udržitelného zemmědělství a má pozitivní vliv na regulaci zaplevelení. Dvořák Smutný (2011) uvádějí, že opakované pěstování obilnin na jednom pozemku vede ke škodlivým gradacím a k nárůstu zaplevelení.

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

Pokusný pozemek se nachází v katastrálním území obce Ivanovice na Hané. Oblast patří do řepařské výrobní oblasti a do teplého a mírně suchého klimatického regionu. Dlouhodobý průměrný roční úhrn srážek činí 564 mm, dlouhodobý průměr teplot je 8,6 °C. Na pokusném pozemku se vyskytuje z půdních typů černozem silně smytá a z půdních druhů hlinitá půda.

Polní pokus byl založen v roce 1989 na pozemcích polní pokusné stanice v Ivanovicích na Hané Výzkumným ústavem rostlinné výroby v Praze – Ruzyni. Plodiny jsou zde pěstovány ve třech osevních postupech s rozdílným podíle obilnin. První osevní postup má podíl obilnin 33,3 %, jsou zde pěstovány následující plodiny v tomto pořadí: vojtěška první užitkový rok, vojtěška druhý užitkový rok, ozimá pšenice, kukuřice na siláž, cukrovka a jarní ječmen. Druhý osevní postup má podíl obilnin 50,0 % a jsou zde pěstovány plodiny v tomto pořadí: hrách, kukuřice na siláž, ozimá pšenice, ozimá pšenice, cukrovka, jarní ječmen. Třetí osevní postup má podíl obilnin 66,6 %, jsou zde pěstovány tyto plodiny v tomto pořadí: ozimá pšenice, hrách, ozimá pšenice, jarní ječmen, cukrovka, jarní ječmen.

Zaplevelení bylo hodnoceno v termínech 10. 4. 2009 a 11. 4. 2010 v porostech ozimé pšenice. Byla použita početní metoda, počet jedinců byl zjišťován na plochách 1 m^2, v třicetišesti opakováních. Vyhodnocování bylo prováděno vždy před aplikací herbicidů.

Ke zjištění vlivu osevního postupu na jednotlivé druhy plevelů 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 počítačového programu Canoco 4.0. (Ter Braak, 1998).

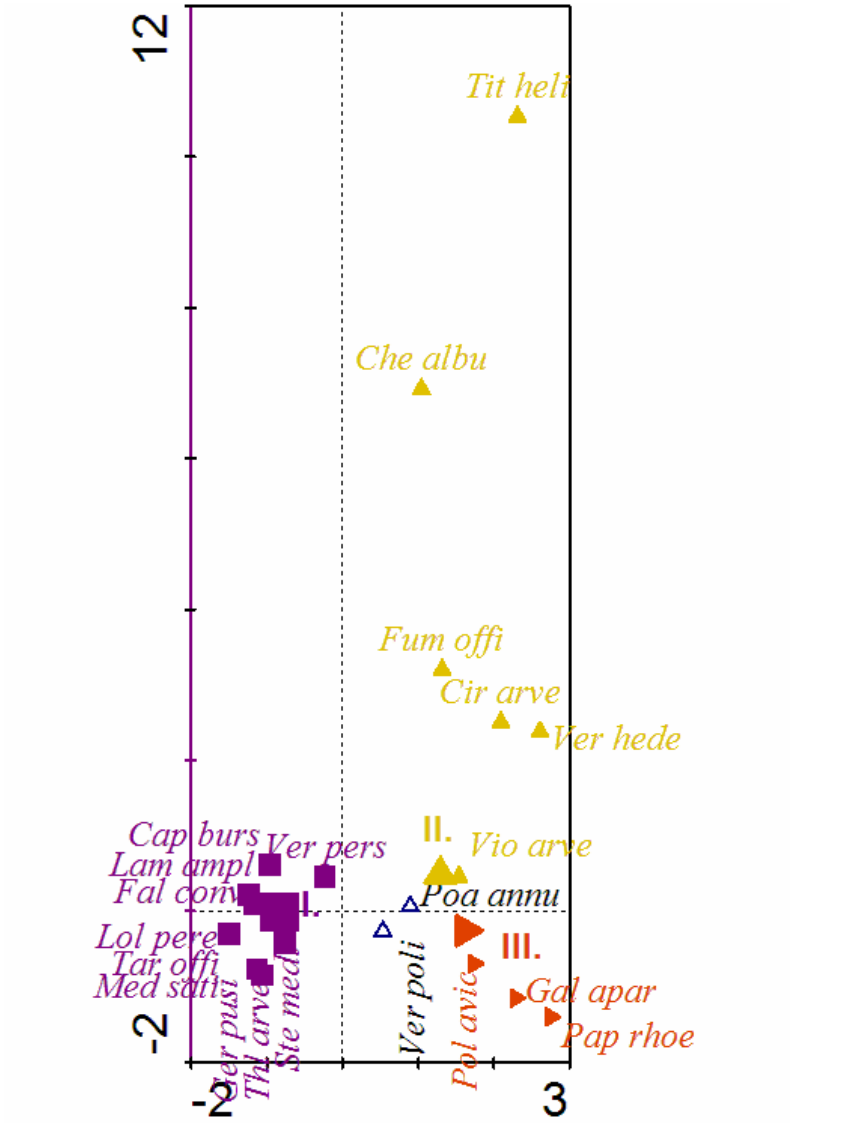
VÝSLEDKY A DISKUZE

Během dvouletého sledování bylo nalezeno 21 druhů plevelů. Průměrné počty jedinců nalezených druhů plevelů jsou uvedeny v Tab. 1. Na základě analýzy DCA, která byla provedena s daty pořízenými z porostů ozimé pšenice, byla zjištěna délka gradientu 5,116. 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 Průměrné počty plevelů v ozimé pšenici na jednotlivých variantách osevních postupů

Druhy plevelů	Rok sledování a osevní postup					
	2009			2010		
	I.	II	III	I.	II	III
Capsella bursa-pastoris			0,04	1,06	0,13	
Cirsium arvense	0,23	0,38	0,31		0,50	0,46
Fallopia convolvulus	0,10	0,21	0,10	4,00	0,02	0,02
Fumaria officinalis		0,04		0,50	0,71	0,42
Galium aparine	0,50	0,42	0,29	0,21	1,21	3,94
Geranium pusillum				0,23		0,02
Chenopodium album	0,02				0,04	
Lamium amplexicaule				6,81	0,40	0,08
Lolium perenne	1,29					
Medicago sativa	10,08			0,85		
Papaver rhoeas					0,46	1,25
Poa annua	0,13	0,06	0,10			
Polygonum aviculare	0,13	0,15	0,33	0,02		
Stellaria media				1,67	0,10	0,25
Taraxacum officinale	0,02					
Thlaspi arvense				0,38		0,04
Tithymalus helioscopia					0,06	
Veronica hederifolia					0,02	0,02
Veronica persica	0,10	0,04		1,92	0,40	0,46
Veronica polita	0,33	0,19	0,27	2,60	0,75	1,54
Viola arvensis		0,35	0,21	1,13	0,85	1,60
Počet druhů	2,15	1,48	1,25	6,06	3,27	3,40
Počet jedinců	12,94	1,83	1,67	21,38	5,65	10,10

Obr. 1 Ordinační diagram vyjadřující vliv rozdílných variant osevních postupů na druhy plevelů



Vysvětlivky k ordinačnímu diagramu: ■ I. – ozimá pšenice na variantě s 33,33% podílem obilnin v osevním postupu; ▲II. – ozimá pšenice na variantě s 50,00% podílem obilnin v osevním postupu; ►III. – ozimá pšenice na variantě s 66,66% podílem obilnin v osevním postupu;

Zkratky vybraných druhů: Cap burs – Capsella bursa-pastoris, Cir arve – Cirsium arvense, Fal conv – Fallopia convolvulus, Fum offi – Fumaria officinalis, Gal apar – Galium aparine, Ger pusi – Geranium pusillum, Che albu – Chenopodium album, Lac serr – Lactuca serriola, Lam amp – Lamium amplexicaule, Lol pere – Lolium perenne, Med sati – Medicago sativa, Pap rhoe – Papaver rhoeas, Poa annu – Poa annua, Pol avic – Polygonum aviculare, Ste medi – Stellaria media, Thl arve – Thlaspi arvense, Tit heli – Tithymalus helioscopia, Ver hede – Veronica hederifolia, Ver pers – Veronica persica, Ver poli – Veronica polita, Vio arve – Viola arvensis.

Z analýzy CCA je patrné, že druhy plevelů můžeme rozdělit do dvou skupin. První skupiny jsou plevele vyskytující se převážně v ozimé pšenici pěstované s nejmenším podílem obilnin. Jedná se o druhy: *Capsella bursa-pastoris, Geranium pusillum, Lamium amplexicaule, Lolium perenne, Medicago sativa, Veronica persica, Stellaria media* a *Fallopia convolvulus.*

Do druhé skupiny patří ostatní druhy, které rostly na variantách s 50% podílem obilnin v osevním postupu. V rámci této skupiny můžeme nalézt druhy *Cirsium arvense,Chenopodium album, Fumaria officinalis, Tithymalus helioscopia, Veronica hederifolia,Viola arvensis.*

Další skupinu by tvořily druhy, které byly častěji nalézány na variantách s 66,66% podílem obilnin v osevním postupu., patří sem: *Galium aparine, Papaver rhoeas, Polygonum aviculare.*

Druhy *Poa annua, Veronica polita,* se vyskytovali především na variantách II. a III, tedy na variantách s vyšším podíle obilnin v osevním postupu.

ZÁVĚR

Z výsledků vyplývá, že zastoupení vojtěšky v osevním postupu zvyšuje druhovou pestrost plevele v ozimé pšenici. Dále také zvyšuje celkové zaplevelení, ovšem nárůst zapelevení je způsoben druhy plevelů, které jsou v obilninách snadno hubitelné jako jsou *Lamium amplexicaule, Veronica persica, Stellaria media.*

Naopak na variantách s vyšší podíle obilnin klesá druhová diverzita plevelů, ale stoupá podíl obtížně regulovatelných druhů. V ozimé pšenici to jsou především druhy *Galium aparine* a *Viola arvensis* a také se zvyšuje výskyt druhu *Cirsium arvense.* Regulace těchto druhy je nesnadná a škodlivost těchto druhů je velmi výrazná především v porostech ozimé pšenice.

LITERATURA

Dvořák, J., Smutný, V. 2011: Vliv osevních postupů a herbicidů na zaplevelení ornice semeny plevelů. *Folia Univ. Agric. et Silvic. Mendel. Brun.* 120 s. ISSN 1803-2109

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

Chancellor, R., J. 1979: The long term efects of herbicides on weed populations. *Annual Applied Biology*. Vol. 91: 141 – 144.

Křen, J., Valtýniová, S. 2008: Czech Agriculture in the period of transformation, *Acta Agrophysica*, 2008, 11(1), 101-116, ISSN 1234-4125.

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

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

Műller, J., 1997: Průzkum výskytu a rozšíření plevelů v České republice, prováděný v ÚKZÚZ od r. 1968 až do současnosti. – In: Burysková, 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.

VARIABILITY OF ESSENTIAL OIL CONTENT IN CULTIVATED HOPS VARIETIES

Pluháčková H.[1], Ehrenbergerová J.[1], Fojtová J.[2]

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

[2] Department of Chemistry and Biochemistry, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: schella@centrum.cz

ABSTRACT

The aim of the work was to evaluate the properties of hop cones of varieties from Tršice growing region from the hop gardens of different age. Varieties Saaz hops – strengthen form (ŽPČ), Premiant and Sládek were took into the assessment. Hop cones were sampled in the harvest in 2009 and 2010. Regarding the different age of hop gardens, the individual varieties were tested separately. The results showed that variety Saaz hops had the highest content of essential oil in the samples from the gardens found in 2007 in both tested years. Also, higher content of farnesene in essential oil was confirmed at this variety, as it is the feature which distinguishes Saaz hops from the other varieties. Variety Sládek had also the highest content of essential oil in the samples from hop gardens found in 2007 in both years. These samples had also the highest content of myrcene. Caryophyllene and humulene content was completely different at this variety. The content of the essential oil and its compounds at variety Premiant was different in the observed years. Two years data showed that the most sensitive variety to the course of the year in the essential oil content and its composition is Premiant.

Key words: hops, essentianl oils, myrcen, karyofylen, humulen, farnesen

Acknowledgement: This research was supported by the project 1M0570 “Research Centre of Extract Compounds of Barley and Hops“ of the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

ÚVOD

Silice jsou v chmelových hlávkách přítomny v lupulinových zrnech v množství od 0,5 do 3,0 %. Jsou složitou směsí několika set přírodních látek terpenického charakteru a různého chemického složení. Některé jsou zastoupeny ve větším množství, některé jen ve stopách (ČEPIČKA, 2008).

Složky chmelových silic je možno rozdělit do tří skupin. Největší podíl připadá na uhlovodíkovou frakci, která u čerstvého chmele tvoří 70 -80 % celkové hmotnosti silic. Zbývající podíl připadá na látky obsahující kyslík. Jedno procento tvoří sirná frakce, která je senzoricky velmi aktivní a není v silici chmele zanedbatelná. Nedůležitější však jsou složky uhlovodíkové frakce a to myrcen, karyofylen, humulen a farnesen. Otázkami obsahu a složení chmelových silic se zabývala řada autorů, v poslední době především KROUPA (2007). Tento autor uvádí, že chemické složení chmele je závislé na odrůdě, podmínkách počasí daného pěstitelského roku, ale i klimatické podmínky dané pěstitelské oblasti. Velmi charakteristické je složení silic u odrůdy Žatecký poloraný červeňák, kterou lze podle obsahu a složení silic identifikovat. Složení silic ostatních odrůd je velmi podobné, ale existují složky silic, podle kterých je možné jednotlivé odrůdy odlišit. KROUPA (2007) prokázal závislost biosyntézy silic na klimatických podmínkách daného roku. Dále prokázal i rozdíly ve složení silic českých odrůd podle způsobu skladování. Z jeho práce dále vyplynulo, že sesviterpen farnesen – tento charakteristický znak silic Žateckéko poloraného červeňáku - je velmi nestabilní a během stárnutí chmele, případně vlivem nesprávného skladování dochází k jeho rychlému úbytku.

MATERIÁL A METODIKA

Pro tuto práci byly v zemědělské organizaci Moravská zemědělská a. s. se sídlem v Prosenicích v Tršické chmelařské oblasti odebrány vzorky ze sklizně roku 2009 a 2010 odrůdy Žatecký poloraný červeňák (dále jen ŽPČ) z meristemového množení tzv. ozdravená forma a z odrůd Premiant a Sládek. Vzorky byly odebrány z různě starých chmelnic s ohledem na odrůdu, do papírových obalů při sklizni po očesání, vysušení a následné klimatizaci na vlhkost 11 – 12 %. Obsah silice v odebraných vzorcích hlávek chmele ze sklizně roku 2009 a 2010 byl stanoven destilací vodní parou dle metodiky, kterou uvádí KROFTA (2008). Vzhledem k možnostem stanovení byla tato metoda pro naše potřeby modifikována a využívá se destilační aparatura podle Českého lékopisu 2009 na stanovení silic v rostlinných drogách. Složení silice bylo stanoveno na Ústavu chemie a biochemie MENDELU v Brně plynovou chromatografií s následnou detekcí (GC/FID). Pro identifikaci a stanovení poměrů zkoumaných látek byl použit plynový chromatograf HP-4890D s plamenově ionizačním detektorem. Separace probíhala na koloně HP-INNOW ax (30 m x 250 µm x 0,5 µm filmu polyetylenglykolu). Na kolonu byl dávkován 1 µl silice naředěné hexanem se splitem 50:1. Průtok helia byl 1 ml/min, teplot a nástřiku 240 °C a teplota detektoru 250 °C. Teplotní program pro chmelovou silici byl T_1 = 60 °C, t_1= 0,01 s, 1,5 °C za min., T_2 = 80°C,

t_2 =0,01 s, 40 °C za min. T_3 =240°C, t_3 = 8 min. Celkový čas 25,33 min.. Ze složek silice jsme hodnotili: humulen, farnesen, karyofylen, myrcen, vždy ve dvou opakováních. Pro hodnocení výsledků byl využit statistický program STATISTICA (StatSoft, Inc. 2009) (data analysis software system), version 9.0. Výsledky byly vyhodnoceny vícefaktorovou analýzou variance s následným testováním LSD testem.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Z tab. 2 je patrné, že mezi celkovým obsahem silic v hlávkách chmele ŽPČ z chmelnic různého roku výsadby jsou průkazné rozdíly. Ze sklizně roku 2009 byl nejnižší obsah silic zjištěn ve vzorcích z roku výsadby 1998 (674 mg.100g^{-1}), který se významně lišil od druhé nejnižší hodnoty z roku sklizně 1996 (879 mg.100g^{-1}). Nejvyšší hodnota celkového obsahu silic byla zjištěna v roce sklizně 2009 ve vzorcích z roku výsadby 1995 a 1997 (1164 a 1083 mg.100g^{-1}), které se statisticky významně nelišily od vzorků z roku sklizně 2010, z roku výsadby 1997 (1030 mg.100g^{-1}). Další hodnoty z roku sklizně 2010 se od sebe statisticky významně nelišily a byly celkově v obou letech sklizně nejnižší. Obsah silic ve vzorcích z let výsadby 1995, 1996 a 1998 byl v rozmezí od 183 do 277 mg.100g^{-1}. Obsah myrcenu ve vzorcích ze sklizně roku 2010 (od 42,48 do 58,95 %), byl v průměru vyšší než u vzorků z roku sklizně 2009 (od 30,56 do 41,45 %). V obsahu caryofylenu u odrůdy ŽPČ byl trend v jednotlivých letech výsadby opačný jako u obsahu myrcenu. Obsahu caryofylenu byl v průměru vyšší v roce sklizně 2009 (od 8,20 do 9,08 %), oproti vzorkům z roku sklizně 2010 (od 5,58 do 8,09 %). Také obsah humulenu byl v roce sklizně 2009 (od 32,37 do 39,41 %) průměrně vyšší než v roce sklizně 2010 (od 22,87 do 23,73).

Tab. 1 Analýza variance pro obsah chmelových silic odrůdy ŽPČ a jednotlivých složek silice

Zdroj proměnlivosti	n-1	**PČ**				
		obsah silic	**myrcene**	**t-caryophyllene**	**t-b-farnesene**	**a-humulene**
rok sklizně	1	1083785***	678,78***	12,90***	151,36***	155,39***
rok výsadby	3	272913***	113,40***	2,24***	12,13***	38,65***
rok sklizně * rok výsadby	3	147726***	25,44*	0,58*	1,01	16,24**
chyba	8	4274	6,49	0,10	0,77	2,13

Pozn.: * - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$; PČ = průměrný čtverec; obsah silic v mg .100g^{-1}

Tab. 2 Průměrný obsah a složení chmelových silic odrůdy ŽPČ (podle roku založení chmelnic)

rok sklizně	**rok výsadby**	**obsah silic**	**myrcene**	**t-caryophyllene**	**t-b-farnesene**	**a-humulene**
2009	1995	1164 ^{d}	41,45 ^{c}	8,20 ^{d}	16,55 ^{c}	32,37 ^{bc}
2009	1996	879 ^{c}	30,56 ^{a}	9,37 ^{f}	19,32 ^{d}	39,41 ^{e}
2009	1997	1083 ^{d}	35,50 ^{ab}	9,08 ^{ef}	17,75 ^{cd}	36,61 ^{de}
2009	1998	674 ^{b}	39,34 ^{bc}	8,49 ^{de}	16,15 ^{c}	34,57 ^{cd}
2010	1995	183 ^{a}	48,84 ^{d}	6,88 ^{b}	10,20 ^{a}	31,21 ^{bc}
2010	1996	277 ^{a}	42,48 ^{c}	8,09 ^{cd}	13,26 ^{b}	33,87 ^{cd}
2010	1997	1030 ^{d}	48,67 ^{d}	7,39 ^{bc}	12,88 ^{b}	29,22 ^{b}
2010	1998	227 ^{a}	58,95 ^{e}	5,58 ^{a}	8,84 ^{a}	23,73 ^{a}

Pozn.: Průměrné hodnoty označené odlišnými písmeny ve sloupcích se od sebe statisticky významně liší při P=0,05; obsah silic v mg.100g-1, jednotlivé složky silice jsou v procentickém zastoupení

Vzorky odrůdy Sládek byly odebrány z chmelnic pěti rozdílných stáří, z tab. 4 vyplývá, že mezi vzorky byly v obsahu celkových a jednotlivých složek silic vysoce průkazné rozdíly. Nejvyšší obsah celkových silic byl ve vzorcích z roku výsadby 2007 v obou letech sklizně. Nejnižší hodnoty byly zjištěny u vzorků z roku výsadby 2003 u obou let sklizně. Obsah myrcenu byl podobně jako u celkového obsahu silic nejvyšší u vzorků z roku sklizně 2007 (53,62 a 61,72 %). Nejnižší hodnoty však byly zjištěny v roce sklizně 2009 u vzorků z roku výsadby 2005 (19,48 %). V roce sklizně 2010 byly nejnižší hodnoty naměřené u vzorků z roku výsadby 2003, což byla celkově nejnižší naměřená hodnota u odrůdy Sládek v obsahu myrcenu v obou letech sklizně. Nejvyšší obsah caryofylenu byl zjištěn ve vzorcích ze sklizně 2009, z roku výsadby 2001 (17,07 %), 2005 (17,07 %), 2003 (16,51 %) a ve vzorcích z roku sklizně 2010 roku výsadby 2003 (16,55 %). Obsahy v těchto vzorcích se od sebe statisticky významně nelišily. Oproti tomu byly nejnižší hodnoty caryofylenu zjištěny ve vzorcích ze sklizně 2010 roku výsadby 2007 (9,19 %). Odrůda Sládek oproti odrůdě ŽPČ se vyznačuje velmi nízkým až nedetekovatelným množstvím farnesenu. Obsah farnesenu je naopak pro odrůdu ŽPČ typickým ukazatelem. U odrůdy Sládek byly zjištěny nízké hodnoty pouze v roce sklizně 2010 oproti vzorkům sklizených v roce 2009, kde obsah farnesenu nebyl zjištěn. Nejvyšší hodnota byla zjištěna ve vzorcích ze sklizně 2010 z roku výsadby 2004 (0,11 %). Nejvíce zastoupenou složkou silice byl obsah humulenu, nejvyšší hodnoty byly zjištěny ve vzorcích ze sklizně 2010 roku výsadby 2003 (67,37 %). Nejnižší obsah humulenu byl zjištěn ve vzorcích ze sklizně 2010 roku výsadby 2007 (27,56 %).

Tab. 3 Analýza variance pro obsah chmelových silic odrůdy Sládek a jednotlivých složek silice

Zdroj proměnlivosti	n-1	**PČ**				
		obsah silic	**myrcene**	**t-caryophyllene**	**t-b-farnesene**	**a-humulene**
rok sklizně	1	100809***	654,11***	38,34***	0,01***	169,65***
rok výsadby	4	645792***	753,48***	17,09***	0,00***	490,91***
rok sklizně * rok výsadby	4	360620***	254,02***	6,66***	0,00***	200,38***
chyba	10	3236	6,02	0,14	0,00	5,38

Pozn.: * - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$; PČ = průměrný čtverec, obsah silic v mg.100g^{-1}

Tab. 4 Průměrný obsah a složení chmelových silic odrůdy Sládek (podle roku založení chmelnic)

rok sklizně	**rok výsadby**	**obsah silic**	**myrcene**	**t-caryophyllene**	**t-b-farnesene**	**a-humulene**
2009	2001	870 ^{b}	34,86 ^{d}	17,07 ^{e}	0,00 ^{a}	46,34 ^{c}
2009	2003	675 ^{a}	24,48 ^{bc}	16,51 ^{e}	0,00 ^{a}	53,10 ^{de}
2009	2004	981 ^{b}	27,10 ^{c}	14,73 ^{d}	0,00 ^{a}	51,64 ^{d}
2009	2005	1113 ^{c}	19,48 ^{ab}	17,07 ^{e}	0,00 ^{a}	58,11 ^{e}
2009	2007	2433 ^{g}	53,62 ^{f}	12,67 ^{c}	0,00 ^{a}	31,33 ^{a}
2010	2001	1319 ^{de}	46,35 ^{e}	13,14 ^{c}	0,01 ^{b}	38,89 ^{b}
2010	2003	1197 ^{cd}	14,86 ^{a}	16,55 ^{e}	0,05 ^{d}	67,37 ^{f}
2010	2004	1357 ^{e}	39,18 ^{d}	14,36 ^{d}	0,11 ^{e}	45,05 ^{c}
2010	2005	1396 ^{ef}	54,62 ^{f}	10,96 ^{b}	0,03 ^{c}	32,53 ^{a}
2010	2007	1512 ^{f}	61,72 ^{g}	9,19 ^{a}	0,01 ^{b}	27,56 ^{a}

Pozn.: Průměrné hodnoty označené odlišnými písmeny ve sloupcích se od sebe statisticky významně liší při P=0,05; obsah silic v mg.100g^{-1}, jednotlivé složky silice jsou v procentickém zastoupení

Z tab. 6 vyplývá, že celkový obsah silic byl nejvyšší ve vzorcích odrůdy Premiant roku sklizně 2010 z roku výsadby 1998 (1290 mg.100g^{-1}), které se však statisticky významně nelišily od vzorků ze sklizně 2010, roku výsadby 1997 (1229 mg.100g^{-1}). Nejnižší hodnoty byly zjištěny také ze sklizně 2010, ve vzorcích roku výsadby 2001 (321 mg.100g^{-1}). Obsah myrcenu odrůdy Premiant byl podobně jako u celkového obsahu silic nejvyšší u vzorků ze sklizně 2010 roku výsadby 1998 (78,82 %). Obsah caryofylenu byl v průměru vyšší ze sklizně roku 2009 (od 10,51 do 17,56 %) oproti sklizni 2010 (od 5,01 do 13,87 %). Složka silice farnesen byla v nejvyšším množství zjištěna ve vzorcích sklizených v roce 2010 roku výsadby 1997 (1,06 %), nejnižší množství bylo zjištěno ve vzorcích z roku sklizně 2009 roku výsadby 1998 (0,33 %). Nejvyšší procentické zastoupení humulenu bylo zjištěno ve vzorcích z roku sklizně 2009, roku výsadby 2001 (81,31 %). Nejnižší obsah humulonu byl ze sklizně 2010, roku výsadby 1998 (14,38 %).

Tab. 5 Analýza variance pro celkový obsah chmelových silic odrůdy Premiant a jednotlivých složek silice

Zdroj proměnlivosti	n-1	PČ				
		obsah silic	myrcene	t-caryophyllene	t-b-farnesene	a-humulene
rok sklizně	1	23678	3182,90***	66,80***	0,08***	1981,70***
rok výsadby	2	146507***	2311,03***	64,04***	0,21***	1832,37***
rok sklizně * rok výsadby	2	586704***	52,74*	0,87*	0,14***	11,78*
chyba	6	3400	6,29	0,23	0,00	5,65

Pozn.: * - p ≤ 0,05; ** - p ≤ 0,01; *** - p ≤ 0,001; PČ = průměrný čtverec, obsah silic v mg.100g^{-1}

Tab. 6 Průměrný obsah a složení chmelových silic odrůdy Premiant (podle roku založení chmelnic)

rok sklizně	rok výsadby	obsah silic	myrcene	t-caryophyllene	t-b-farnesene	a-humulene
2009	1997	572 ^{b}	23,98 ^{b}	13,45 ^{d}	0,49 ^{b}	57,18 ^{d}
2009	1998	899 ^{c}	41,24 ^{c}	10,51 ^{c}	0,33 ^{a}	42,02 ^{c}
2009	2001	1103 ^{d}	0,29 ^{a}	17,56 ^{e}	0,81 ^{d}	81,31 ^{e}
2010	1997	1229 ^{de}	59,87 ^{d}	8,47 ^{b}	1,06 ^{e}	29,46 ^{b}
2010	1998	1290 ^{e}	78,82 ^{e}	5,01 ^{a}	0,39 ^{ab}	14,38 ^{a}
2010	2001	321 ^{a}	24,53 ^{b}	13,87 ^{d}	0,66 ^{c}	59,57 ^{d}

Pozn.: Průměrné hodnoty označené odlišnými písmeny ve sloupcích se od sebe statisticky významně liší při P=0,05; obsah silic v mg.100g^{-1}, jednotlivé složky silice jsou v procentickém zastoupení

Pro porovnání odrůd bylo možné vybrat jen vzorky, které byly vysázeny ve stejném roce (2001). Z tab. 8 vyplývají, že byly průkazné rozdíly mezi odrůdami Sládek a Premiant. Celkový obsah silic byl nejvyšší u odrůdy Sládek, z roku sklizně 2010 (1318,520 mg.100g^{-1}), statisticky významně se lišil od vzorků odrůdy Premiant, z roku sklizně 2009 (1103,500 mg.100g^{-1}). Nejnižší celkový obsah silic byl zjištěn ve vzorcích odrůdy Premiant, z roku sklizně 2010 (321,320 mg.100g^{-1}). Obsah myrcenu byl v průměru vyšší u odrůdy Sládek v obou letech sklizně (od 34,859 do 46,353 %). V obsahu cayrofylenu byly v průměru naměřeny vyšší hodnoty v roce sklizně 2009 u obou odrůd (od 17,073 do 17,556 %). Složky silice farnesen a humulon byly zjištěna ve vyšším procentickém zastoupení ve vzorcích odrůdy Premiant v obou letech sklizně, oproti odrůdě Sládek.

Tab.7 Analýza variance pro celkový obsah a jednotlivých složek silice v porovnání odrůd Sládek a Premiant

Zdroj proměnlivosti	n-1	PČ				
		obsah silic	myrcene	t-caryophyllene	t-b-farnesene	a-humulene
rok sklizně	1	55664**	638,602***	28,985***	0,010**	426,159***
odrůda	1	291619***	1589,831***	0,737**	1,056***	1548,350***
rok sklizně*odrůda	1	757311***	81,288**	0,031	0,013*	102,016**
chyba	4	1307	3,676	0,030	0,000	3,313

Pozn.: * - p ≤ 0,05; ** - p ≤ 0,01; *** - p ≤ 0,001; PČ = průměrný čtverec;Obsah silic v mg.100g^{-1}

Tab. 8 Porovnání odrůd Premiant a Sládek na chmelnicích založených v roce 2001

rok sklizně	odrůda	obsah silic	myrcene	t-caryophyllene	t-b-farnesene	a-humulene
2009	Premiant	1103,500 ^{c}	0,290 ^{a}	17,556 ^{d}	0,807 ^{c}	81,309 ^{d}
2009	Sládek	870,000 ^{b}	34,859 ^{c}	17,073 ^{c}	0,000 ^{a}	46,343 ^{b}
2010	Premiant	321,320 ^{a}	24,534 ^{b}	13,873 ^{b}	0,657 ^{b}	59,570 ^{c}
2010	Sládek	1318,520 ^{d}	46,353 ^{d}	13,142 ^{a}	0,010 ^{a}	38,888 ^{a}

Pozn.: Průměrné hodnoty označené odlišnými písmeny ve sloupcích se od sebe statisticky významně liší při P=0,05; Obsah silic v mg.100g^{-1},jednotlivé složky silice jsou v procentickém zastoupení

V tab. 10 jsme porovnávali odrůdy ŽPČ a Premiant ve stejných letech založení (stáří) 1997 a 1998. Z porovnání vyplývá, že byly zjištěny průkazné rozdíly. Nejvyšší celkový obsah silic byl zjištěn ve vzorcích odrůdy Premiant z roku sklizně 2010 z obou let výsadby (1229,880 a 1290,820 mg.100g^{-1}). Podobně jako u celkového obsahu silic tomu bylo v zastoupení složky silice myrcenu, kde byla nejvyšší hodnota u odrůdy Premiant, z roku založení 1998 a z roku sklizně 2010. Obsah caryofylenu byl nejvýznamnější také u odrůdy Premiant z roku založení 1998, ale z roku sklizně 2009. Obsah farnesenu byl v průměru vyšší u odrůdy ŽPČ oproti odrůdě Premiant. V roce sklizně 2009 byl vyšší obsah humulenu u obou odrůd i roku výsadby (od 34,567 do 57,182 %), než v roce sklizně 2010 (od 14,377 do 29,457 %).

Tab.9 Analýza variance pro celkový obsah silic a jednotlivých složek silice v porovnání odrůd ŽPČ a Sládek

Zdroj proměnlivosti	n-1	PČ				
		obsah silic	myrcene	t-caryophyllene	t-b-farnesene	a-humulene
rok sklizně	1	75427**	2823,023***	56,746***	33,427***	1353,936***
rok výsadby	1	169892***	633,170***	19,362***	10,455***	356,875***
odrůda	1	239180***	115,130***	11,965***	711,669***	89,272**
rok sklizně* rok výsadby	1	109019***	16,509	0,756	2,169***	2,815
rok sklizně*odrůda	1	599169***	413,761***	8,647***	41,115***	344,822***
rok výsadby*odrůda	1	640192***	121,901***	4,015***	5,795***	128,916***
rok sklizně* rok výsadby*odrůda	1	4111	5,612	0,125	0,940***	3,109
chyba	8	3669	5,107	0,178	0,030	4,384

Pozn.: * - p ≤ 0,05; ** - p ≤ 0,01; *** - p ≤ 0,001; PČ = průměrný čtverec;Obsah silic v mg.100g^{-1}

Tab. 10 Porovnání odrůd Premiant a Sládek na chmelnicích založených v letech 1997 a 1998

rok sklizně	rok výsadby	odrůda	obsah silic	myrcene	t-caryophyllene	t-b-farnesene	a-humulene
2009	1997	ŽPČ	1083,000 d	35,495 b	9,075 c	17,752 f	36,615 d
2009	1998	ŽPČ	674,000 b	39,340 bc	8,488 c	16,153 e	34,567 d
2009	1997	Premiant	572,500 b	23,985 a	13,453 e	0,489 a	57,182 f
2009	1998	Premiant	899,500 c	41,239 c	10,509 d	0,327 a	42,017 e
2010	1997	ŽPČ	1030,440 cd	48,675 d	7,390 b	12,877 d	29,222 c
2010	1998	ŽPČ	227,140 a	58,952 e	5,581 a	8,835 c	23,733 b
2010	1997	Premiant	1229,880 e	59,874 e	8,475 c	1,056 b	29,457 c
2010	1998	Premiant	1290,820 e	78,823 f	5,015 a	0,391 a	14,377 a

Pozn.: Průměrné hodnoty označené odlišnými písmeny ve sloupcích se od sebe statisticky významně liší při P=0,05; Obsah silic v $mg.100g^{-1}$, jednotlivé složky silice jsou v procentickém zastoupení

ZÁVĚR

Obsah silic a zastoupení jednotlivých jejich složek ve vybraných odrůdách chmele byl sledován u vzorků odebraných při sklizni v roce 2009 a 2010 z různě starých chmelnic odrůd Žatecký poloraný červeňák – ozdravená forma, Premiant a Sládek. Statistické vyhodnocení bylo provedeno pro každou odrůdu zvlášť vzhledem k rozdílnému stáří chmelnic. Pro meziodrůdové rozdíly byly vybrány srovnatelné vzorky ze stejného roku výsadby. Odrůdy Sládek a Premiant bylo možné porovnávat ve vzorcích z roku výsadby 2001. Odrůdy ŽPČ a Premiant jsme mohli porovnat ve dvou letech výsadby (1997 a 1998), i když byl mezi nimi rozdíl pouze 1 rok. Pro statistické vyhodnocení by bylo vhodnější porovnání vzorků většího rozdílu mezi stářím chmelnic. To bohužel nebylo možné z důvodu nemožnosti získání takovýchto vzorků. Z dosažených výsledků vyplývá, že obsah a složení silic je závislé na ročníku sklizně, ale i na odrůdě a stáří chmelnice. Vliv stáří chmelnice bude třeba ověřit v dalších letech. Z dvouletých výsledků vyplývá, že odrůda Sládek oproti odrůdě ŽPČ se vyznačuje velmi nízkým až nedetekovatelným množstvím farnesenu. Obsah farnesenu je naopak pro odrůdu ŽPČ typickým ukazatelem. Složky silice farnesen a humulon byly zjištěna ve vyšším procentickém zastoupení ve vzorcích odrůdy Premiant v obou letech sklizně, oproti odrůdě Sládek. Mezi odrůdou Sládek a Premiant byly zjištěny významné rozdíly v obsahu silic, přičemž odrůda Premiant měla nejnižší obsah silic ve vzorcích ze sklizně 2009 a odrůda Sládek měla vyšší obsah složky silice farnesenu a humulonu oproti odrůdě Sládek.

LITERATURA

ČEPIČKA J. in PRUGAR J: Kvalita rostlinných produktů na prahu 3.tisíciletí. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský a.s. ve spolupráci s Komisí jakosti rostlinných produktů ČAZV, 2008, s.327, ISBN 978-80-86576-28-2

KROUPA F.: Objektivní charakteristika chmelového aroma českých chmelů a chmelových výrobků. Dizertační práce. VŠCHT v Praze, Fakulta potravinářské a biotechnologické technologie, 172 s. Praha 2007

KROFTA K.: Hodnocení kvality chmele. Metodika pro praxi 4/08, Chmelařský institut Žatec, 50 s., ISBN 978-80-86836-84-3, 2008

ROSA Z., 2009: *Český chmel 2009*. Ministerstvo zemědělství, Praha, 31s., ISBN 978-80-7084-853-1

EFFECT OF EXPLOITATION INTENSITY AND FERTILISATION LEVEL ON YIELDS AND QUALITY OF THE MEADOW FODDER

Raus J., 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

In 2003 the small-plot trial was established to assess influence of fertilization rates and exploitation intensity on qualities of meadow sward. In this paper production of dry mass, crude protein, fiber and NEL is analysed in relation to four variants of fertilization (no fertilization, P 30 + K 60 kg/ha, N 90 + P 30 + K 60 kg/ha and N 180 + P 30 + K 60 kg/ha) and four variants of exploitation (4, 3, 2 early and 2 late cuts per season). Data from years 2008 – 2010 were used.

Under NPK fertilization there was significantly higher yield of dry mass. Effect of intensity of exploitation on production of fodder was negligible. Production of crude protein, fiber and NEL was positively affected by higher level of fertilization. Production of crude protein and NEL was also increased by higher number of cuts, while the production of fiber was lower.

Key words: grassland, fodder quality, fertilisation

Acknowledgement: 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, and research project NAZV No. QH 81280 „Study of main factors with influence on the stability of a sustainable system of grassland management in the Czech Republic“.

ÚVOD

Trvalé travní porosty jsou zdrojem levné píce pro skot, ostatní přežvýkavce a koně. Náklady na produkci 1 t čerstvé luční píce jsou poloviční v porovnání s kukuřicí na siláž a až čtvrtinové v porovnání s jinými jednoletými pícninami. Produkce píce na pastvinách je ještě levnější. Význam travních porostů pro zajištění krmivové základny se v různých oblastech liší, nejdůležitější je v pícninářské a bramborářské výrobní oblasti (Velich, 1996).

Tato práce se zabývá vlivem dvou základních pratotechnických zásahů – hnojením a termínem seče – na výnos a kvalitu luční píce. Hnojení ovlivňuje kvalitu píce přímo zvýšením dostupnosti živin v půdě a tím i jejich koncentraci v těle rostliny, ale také nepřímo prostřednictvím změn botanického složení porostu. Zvláště dusíkaté hnojení způsobuje rychlé a intenzívní změny botanické skladby. Zvyšuje podíl 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, 2002).

Kvalita píce je závislá rovněž na fenofázi porostu, neboť postupujícím stářím se mění zastoupení morfologických částí rostlin – zvyšuje se podíl stébel na úkor listů. Ve stéblech se stravitelnost organické hmoty snižuje rychleji než v listech – listy stárnou pomaleji. Vzhledem k tomu, že většina trav tvoří stébelné výhonky ve větší míře v první seči, probíhá stárnutí porostu v první seči rychleji než v sečích dalších. Protože s vyšším počtem sečí se zkracuje doba nárůstu, rostliny se sklízí mladší a jsou tedy kvalitnější a stravitelnější. Termín sklizně by tedy měl být kompromisem mezi výší výnosu a kvalitou. Zvláště první seč v roce by měla probíhat ve fázi metání až počátku kvetení dominantních trav. V této fázi je obsah vlákniny 220 – 250 g/kg sušiny a koncentrace energie 5,5 – 6,3 MJ NEL/kg sušiny (Hrabě et Buchgraber, 2009). Pozdíšek (Pozdíšek et al., 2008) uvádí pokles koncentrace energie u souboru různých druhů a odrůd trav během šesti týdnů z hodnoty 6,23 MJ/kg začátkem května na 4,96 MJ/kg sušiny v polovině června. V případě jetelovin klesla koncentrace energie ze 7,01 MJ/kg sušiny na 5,30 MJ/kg. Posunutím první seče z období metání do konce kvetení dochází ke ztrátám cca 25 % energie. V otavách je koncentrace energie asi o 1 MJ nižší v porovnání s první sečí (Hrabě et Buchgraber, 2009).

MATERIÁL A METODIKA

V porostu trvalé louky s dominancí kostřavy rákosovité (*Festuca arundinacea* Schreber) na pozemku Výzkumné pícninářské stanice Vatín byl v roce 2003 založen maloparcelkový pokus kombinující faktory intenzity využívání a úrovně výživy. Lokalita se nachází 7 km jižně od Žďáru nad Sázavou, v katastrálním území Vatín, v bramborářské výrobní oblasti. Nadmořská výška je asi 535 m n. m. Podložím jsou kvartérní říční sedimenty hlinité až štěrkovité, uložené na pararulách. Půdním typem je fluvizem. Dlouhodobý průměr (1971 – 2000) ročního úhrnu srážek je 617,5 mm, průměrná teplota 6,9°C.

Podle počtu sečí a termínu první seče byly odstupňovány čtyři varianty intenzity využívání: intenzivní – 4 seče, první 15. 5., další po 45 dnech, středně intenzivní – 3 seče, první 30. 5., další po 60 dnech, málo intenzivní – 2 seče, první 15. 6., další po 90 dnech, extenzivní – 2 seče, první 30. 6., další po 90 dnech. Tyto varianty jsou kombinovány se čtyřmi úrovněmi výživy: bez hnojení, fosfor 30 kg/ha + draslík 60 kg/ha, dusík 90 kg/ha + PK, dusík 180 kg/ha +PK. Celková dávka dusíku byla dělena k jednotlivým sečím v poměru: u čtyřsečné varianty 1:1:1:0, u trojsečné varianty 1:1:1 a u dvousečných variant 1:1. Dusík byl dodáván ve formě LAV (27 % N), draslík ve formě draselné soli a fosfor ve formě superfosfátu. Varianty byly sledovány ve čtyřech opakováních, rozměr parcelky je 1,25 * 8 m.

Sklizeň byla prováděna ve stanovených termínech sklízečem MOVIS. Odebrané vzorky byly vysušeny při 60°C a na základě rozdílu hmotnosti čerstvé a vysušené fytomasy byl vypočten výnos sušiny. Kvalitativní charakteristiky byly stanoveny metodou NIRS a koncentrace NEL výpočtem.

Tento příspěvek zahrnuje výsledky z let 2008 – 2010. Výsledky byly zpracovány v programu Statistika. Vliv úrovně výživy a počtu sečí na výnos sušiny, obsah dusíkatých látek, vlákniny a koncentraci NEL byl hodnocen analýzou variance (ANOVA) a Tukeyovým testem ($P \leq 0,05$).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Vliv intenzity využívání na kvalitativní charakteristiky píce je uveden v *tab. 1*. Nejvyšší obsah dusíkatých látek - 138,26 g/kg sušiny - byl zjištěn u 4-sečné varianty a nejnižší u dvousečných variant. U obsahu vlákniny je trend opačný, tedy nejnižší obsah u 4-sečné varianty – porost byl sklízen v raných fenologických stádiích – a nejvyšší obsah u varianty dvousečné pozdní. Obdobných výsledků dosáhl Nerušil (Nerušil et al., 2008) na souběžném pokusu v Jevíčku. Rovněž koncentrace NEL byla vyšší porostů sklízených v mladší fázi, přičemž mezi čtyřsečnou variantou (5,35 MJ/kg) a dvousečnou pozdní (5,08 MJ/kg) byl zjištěn průkazný rozdíl

Tab. 1 Vliv intenzity využívaní na kvalitu píce (Vatín, 2008 – 2010; různá písmena znamenají statisticky průkazný rozdíl mezi variantami využití (Tukey test P≤0,05))

intenzita	NL (g/kg)	vláknina (g/kg)	NEL (Mj/kg)
4 seče	138,26 a	235,20 a	5,35 a
3 seče	133,22 a	238,67 a	5,2 ab
2 seče r.	119,24 a	244,52 a	5,2 ab
2 seče p.	120,01 a	251,58 a	5,08 b

Vliv úrovně hnojení na kvalitativní charakteristiky píce je uveden v *tab. 2*. Knot (Knot et Hrabě, 2011) uvádí, že úroveň výživy má z hlediska kvality píce významnější vliv než faktor intenzity využívání. Nicméně i u faktoru hnojení byly zjištěny spíše menší a neprůkazné rozdíly mezi variantami. Nejvyšší obsah dusíkatých látek byl u varianty hnojené 180 kg N/ha a to 142, 37 g/kg sušiny. Při stejných dávkách dusíku uvádí Nerušil (Nerušil et al., 2008) obsah dusíkatých látek 142,5 g/kg a Knot (Knot et Hrabě, 2011) 138,2 g/kg sušiny. Průkazný rozdíl byl zjištěn mezi variantou N180PK a variantou hnojenu draslíkem a fosforem u které byl obsah dusíkatých látek dokonce nižší než u kontrolní varianty. K podobným závěrům došel rovněž Nerušil (Nerušil et al, 2008). Obsah vlákniny vykazuje podobný trend, tedy se zvyšujícím se hnojením stoupá její obsah – u kontrolní varianty 225,93 g/kg a u plně hnojené varianty 250,94 g/kg sušiny. Rovněž koncentrace NEL je nejnižší u kontrolní varianty – 5,13 MJ/kg – a nejvyšší u plně hnojené varianty 5,31 MJ/kg sušiny.

Tab. 2 Vliv úrovně hnojení na kvalitu píce (Vatín, 2008 – 2010; různá písmena znamenají statisticky průkazný rozdíl mezi variantami hnojení (Tukey test P≤0,05))

úroveň hnojení	NL (g/kg)	vláknina (g/kg)	NEL (Mj/kg)
0	121,89 ab	225,93 a	5,13 a
PK	119,19 a	242,56 a	5,18 a
N90PK	127,28 ab	250,53 a	5,21 a
N180PK	142,37 b	250,94 a	5,31 a

Počet a termín sečí hraje z hlediska výnosu píce jen malou roli (*tab. 3*). Nejvyšší výnos byl v průměru tří let zaznamenán u varianty dvousečné pozdní – 6,62 t/ha – a nejnižší u varianty čtyřsečné – 5,64 t sušiny/ha. Významnější byly rozdíly z hlediska faktoru hnojení. U plně hnojené varianty byl dosažen výnos sušiny 8,85 t/ha oproti 3,87 t/ha u varianty nehnojené

Tab. 3 Vliv intenzity využívání a úrovně hnojení na výnos sušiny (Vatín, 2008 – 2010; různá písmena znamenají statisticky průkazný rozdíl (Tukey test P≤0,05))

intenzita	výnos sušiny (t/ha)	úroveň hnojení	výnos sušiny (t/ha)
4 seče	5,64 a	0	3,87 a
3 seče	5,88 a	PK	4,49 a
2 seče r.	6,52 a	N90PK	7,44 b
2 seče p.	6,62 a	N180PK	8,85 c

ZÁVĚR

Rozdílný počet a termín sklizní měl jen malý vliv celkovou produkci píce. Tato byla ovlivněna hlavně úrovní hnojení a zejména dávkami dusíku, kdy výnos sušiny dosáhl při dávce 90 kg dusíku/ha téměř dvojnásobku výnosu u nehnojené varianty a při dávce 180 kg/ha se jednalo o téměř 130% nárůst oproti nehnojené variantě. U vybraných ukazatelů kvality píce bylo zjištěno jen málo průkazných výsledků, nicméně byly potvrzeny některé trendy uváděné v literatuře. Při vyšším počtu sečí bylo dosaženo vyššího obsahu dusíkatých látek a vyšší koncentrace NEL a naopak nižšího obsahu vlákniny. Vzrůstající úroveň hnojení se pak projevila zvýšením obsahu dusíkatých látek, vlákniny i koncentrace NEL.

LITERATURA

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

HRABĚ F., KNOT P. The effect of trophism level and exploitataion intensity on the production characteristics of grassland community dominated by Festuca arundinacea Schreb. *Plant Soil Environment*, 2011, 57 (4): 160-165.

MRKVIČKA J., VESELÁ M. Influence of fertilization rates on species composition, quality and yields of the meadow fodder. *Rostlinná výroba*, 2002, 48 (11): 494 – 498.

NERUŠIL, P., KOHOUTEK, A., KOMÁREK, P., ODSTRČILOVÁ, V. Effects of utilisation intensity and fertilization level on forage production and quality of permanent grassland on a fluvisoil. *Acta Universitatis Agriculturae Et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 2008, 56 (5): 153-162.

POZDÍŠEK J., MIKYSKA F., LOUČKA R., BJELK M. *Metodická příručka pro chovatele k výrobě konzervovaných krmiv (siláží) z víceletých pícnin a trvalých travních porostů*. Rapotín: Výzkumný ústav pro chov skotu, s.r.o., 2008. 38 s. ISBN: 978-80-87144-06-0.

VELICH J. *Praktické lukařství*. Praha: Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství České republiky, 1996. 58 s.

INTENSITY OF GARLIC INFESTATION WITH PATHOGEN *PUCCINIA ALLII* IN SOUTH-EAST AND CENTRAL MORAVIA

Sapáková E., Šefrová H.

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

E-mail: xsapako0@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The objective of this study was to compare relative infection rate of garlic grown in five study plots in different altitudes: Nedakonice (178 m), Olomouc (241 m), Dolní Němčí (256 m), Suchá Loz (304 m) a Vápenky (484 m). It was estimated disease severity using a scale in which 0 signified that 0% of the leaf surface was covered with pustules, 1 meant was covered sporadically, 2 meant 5%, 3 meant 25%, 4 meant 50% and more. The outbreak of rust caused by *Puccinia allii* was in three of study plots: Olomouc (241 m), Suchá Loz (304 m) and Vápenky (484 m). Data were evaluated one – factor Anova and Tukey-HSD test ($\alpha = 0.05$). Temperature, leaf wetness duration and the interaction between temperature and leaf wetness duration affected the intensity of uredinia produced per leaf segment.

Key words: *Puccinia allii*, garlic, pustule

Acknowledgement: 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

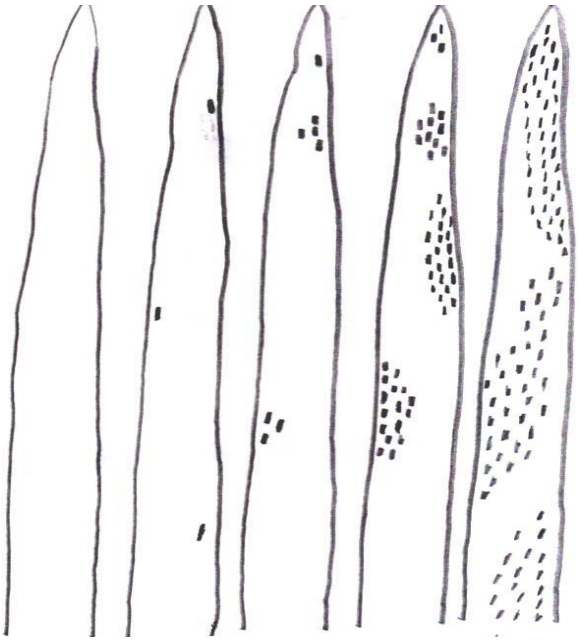
Rzivost česneku způsobená patogenem *Puccinia allii* je jedním z nejběžnějších onemocnění česneku. Napadené rostliny žloutnou a mohou odumírat. Cibule česneku jsou zakrnělé a zdeformované. Při silnějším napadením dochází k výnosovým ztrátám a snížení kvality. *Puccinia allii* je monoecická rez, kromě česneku napadá i ostatní cibuloviny. Zpočátku se napadení projeví drobnými bílými tečkami na obou stranách listů a na stoncích, které postupně přecházejí v oranžové kupičky uredospor. Později se na stejných místech vytvářejí kupky černých teleutospor. Rzivost cibule je obligátní parazit.

MATERIÁL A METODIKA

Výzkum byl prováděn v letech 2010 a 2011 na střední a jihovýchodní Moravě na pěti studijních plochách. Studijní plochy se nacházely v obilnářské oblasti v různé nadmořské výšce: Nedakonice (178 m, roční průměrná teplota vzduchu 8,5 °C, roční úhrn srážek 550 mm, rovina), Olomouc (241 m, 8,5 °C, 583 mm, rovina), Dolní Němčí (256 m, 8,1 °C, 752 mm, nízká pahorkatina), Suchá Loz (304 m, 7,6 °C, 650 mm, pahorkatina) a Vápenky (484 m, 6,1 °C, 750 mm, vyšší pahorkatina). Na studijních plochách byly vysazeny pouze ozimé odrůdy česneku. V Nedakonicích byly vysazeny 2 odrůdy: Dukát (paličák) a Džambul (paličák). V Olomouci 13 odrůd: Záhorák (nepaličák), Blanin (P), Vekan (P), Mojmír (N), Dukát (P), Bjetin (P), Lukan (N), Benátčan (N), Džambul (P), Slavin (P), Matin (N), Lumír (N) a Tristan (P). Od každé odrůdy bylo vysazeno 18 rostlin, které byly rozděleny do třech skupin po šesti opakováních. Na všech ostatních studijních plochách bylo kontrolováno vždy 50 rostlin ve 4 opakováních od každé odrůdy. Porost byl procházen 2× týdně po řádcích a byla kontrolována každá rostlina v řádku. V Dolním Němčí 2 odrůdy: Mojmír (N) a Džambul (P). V Suché Lozi 2 odrůdy: Záhorák (N), Bjetin (P). Ve Vápenkách 2 odrůdy: Dukát (P) a Blanin (P). Pro hodnocení intenzity napadení byla sestavena pětibodová stupnice (Tab. 1) a (Obr. 1). Z každé rostliny byl odebrán list, na kterém byly viditelné kupičky uredospor, a podle uvedené stupnice byla hodnocena intenzita napadení. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny programem UPAV (jednofaktorová ANOVA a Tukey-HSD testem ($\alpha = 0,05$).

Tab. 1 Stupnice pro hodnocení napadení listů

Stupeň napadení	Charakteristika příznaků napadení
0	bez napadení
1	ojedinělé chlorózy a drobné kupky uredospor
2	asi 5 % listové plochy nejvíce napadeného listu je pokryto kupkami uredospor
3	kupky uredospor tvoří proužky, které pokrývají asi 25 % listové plochy napadeného listu
4	je napadeno 50 a více % listové plochy nejvíce napadeného listu kupkami uredospor

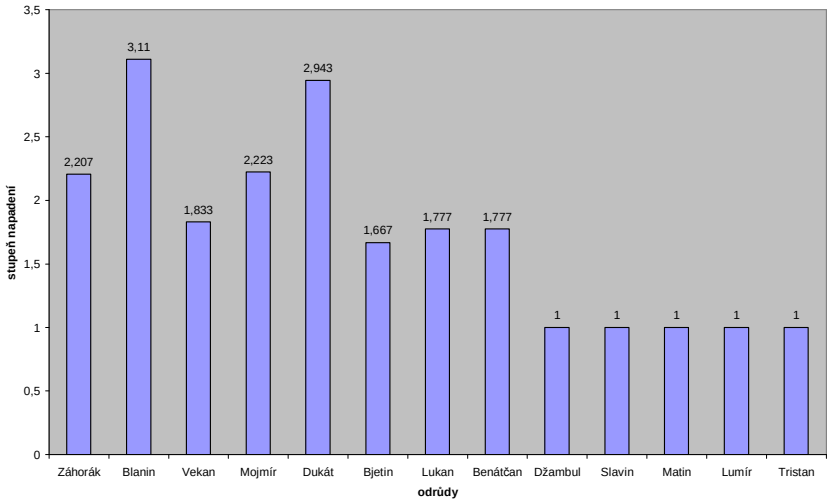


Obr 1 Stupnice pro hodnocení intenzity napadení patogenem Puccinia allii

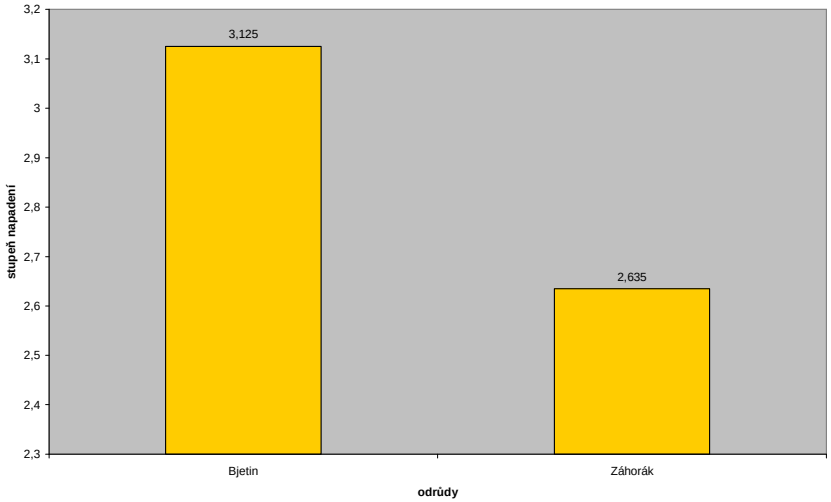
VÝSLEDKY A DISKUZE

První výskyt česneku postiženého rzivostí byl zjištěn na studijních plochách: Olomouc (30.5.2011), Suchá Loz (5.6.2011) a Vápenky (10.6.2011). Na ostatních studijních plochách (Dolní Němčí a Nedakonice) nebyl česnek rzivostí postižen. Podle statistického vyhodnocení programem UPAV byly na studijní ploše v Olomouci nejvíce napadeny odrůdy: Blanin (stupeň napadení 3,11), Dukát (2,943) a Záhorák (2,207) (Obr 2). Na odrůdách Džambul, Slavin, Matin, Lumír a Tristan nebylo napadení zjištěno. V Suché Lozi měla vyšší stupeň napadení odrůda Záhorák (3,125) s nejvyšším stupněm napadení v opakování 1 (3,74) než odrůda Bjetin (2,635) s nejvyšším stupněm napadení v opakování 1 (3,3) (Obr 3). Ve Vápenkách byla více napadena odrůda Blanin (2,290) s nejvyšším stupněm napadení v opakování 1 (3,22). Odrůda Dukát měla průměrný stupeň napadení (2,64) s nejvyšším stupněm napadení v opakování 1 (2,64) (Obr 4).

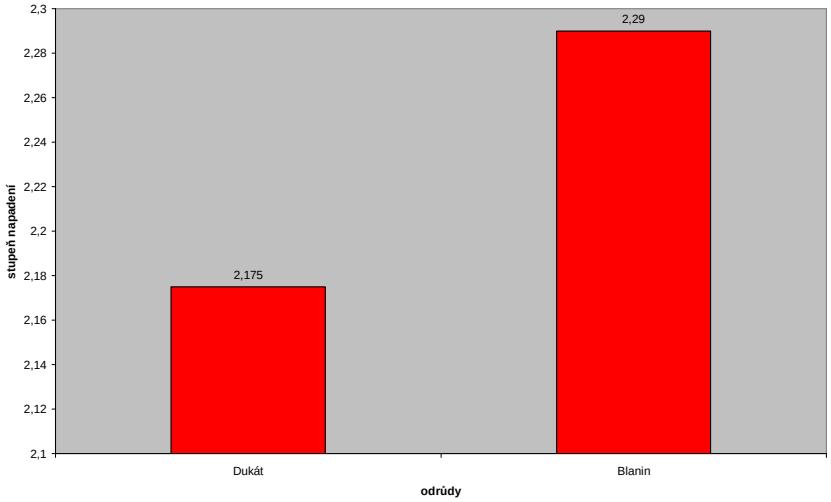
Studiem patogenu *Puccinia allii* se zabývali Furuya a kol. (2009). Zjistili, že výskyt a intenzitu napadení česneku patogenem *Puccinia allii* ovlivňuje především teplota, vlhkost a náchylnost (susceptibilita) odrůdy. Ideální teplota pro rozvoj tohoto patogenu je kolem 18 °C. V průběhu měsíce května a června 2011 dosahovaly teploty i více než 20 °C, což jsou podle Furuya a kol. (2009) vhodné podmínky pro rozvoj tohoto patogenu.



Obr. 2 Stupeň napadení různých odrůd česneku patogenem Puccinia allii v Olomouci



Obr. 3 Stupeň napadení odrůdy Bjetin a Záhorák patogenem Puccinia allii v Suché Lozi



Obr. 4 Stupeň napadení odrůdy Dukát a Blanin patogenem Puccinia allii na studijní ploše ve Vápenkách

ZÁVĚR

Intenzita napadení patogenem *Puccinia allii* je především ovlivněna náchylností odrůdy k tomuto patogenu. Nejvíce byly napadeny odrůdy: Záhorák (s průměrným stupněm napadení 3,125 na studijní ploše v Suché Lozi) a Blanin (s průměrným stupněm napadení 3,11 na studijní ploše v Olomouci). Odrůdy Džambul, Slavin, Matin, Lumír a Tristan napadena nebyly. Pro počáteční hodnocení intenzity napadení se osvědčila pětibodová stupnice (Tab. 1) a (Obr. 1). Dále je intenzita napadení ovlivněna teplotou a vlhkostí stanoviště. Ze současných výsledků nelze hodnotit, zda intenzitu napadení ovlivňuje nadmořská výška a tato problematika bude dále řešena. Výzkum byl prováděn dvě vegetační období, proto je nutné považovat předložené výsledky za předběžné.

LITERATURA

Furuya H., Takanashi H. & Fuji S. & Nagai Y. & Naito H. (2009): Modeling Infection of Spring Onion by Puccinia allii in Response to Temperature and Leaf Wetness. Phytopathology, 99(5): 951-956

Koike S.T., Smith R.F. & Davis R.M. & Nunez J.J., & Voss R.E. (2001): Characterization and control of garlic rust in California. Plant Disease, 85 (6): 585-591

Kužma Š. (ed.) (2002): Metodická příručka pro ochranu rostlin II. SRS, Brno, 414 s. Vydavatelství odborných časopisů, Praha, 158 s.

Rod J., Hluchý M., Zavadil K., Prášil J., Somssich I. & Zacharda M. (2005): Obrazový atlas chorob a škůdců zeleniny střední Evropy. Biocont Laboratory, Brno, 392 s.

EVALUATION OF WEED INFESTATION OF CHOSEN FIELD CROPS

Schiller J., Winkler J.

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

E-mail: xschille@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The numeration of the occurrence of the weed was done by me before the application of the herbicide. I focused on the winter wheat and winter colza. On the examined grounds I found out, that there are different species compositions of the winter wheat and winter colza. I conducted my work in cooperation with Cezava a. s., Blučina, which was founded on August 1st 1995. The main subject of enterprise of this company is field crop production carried out on 1 ha of arable land. The bearing crops are cereals including corn for grain, which are grown on 700 ha, on the remaining 300 ha there are grown oil plants, mainly sunflowers.

Key words: weeds, winter colza, winter wheat

Acknowledgement: The results in paper are output of project of Internal Grant Agency, FA MENDELU, No. TP 3/2011 “Optimalization 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

Počet druhů v rostlinných společenstvech polí a luk se v posledních desetiletích postupně snížil. Mnohé lehce hubitelné druhy časem z polí mizely (koukol polní, kamejka rolní, sveřep stoklasa, černýš rolní, jílek marnivý, kokotice hubilen aj.) a byly nahrazeny postupně se přemnožujícími agresivními druhy, u nichž se za přispění pěstebních technologií významně změnily biologické vlastnosti. Nejde jen o tzv. odolné druhy k některým herbicidům, ale i o změny v rytmu růstu a vývoje během vegetace, prodloužení dormance rozmnožovacích orgánů a prodloužení životnosti semen v půdě. Plevele čím dál více vzcházejí v několika etapách v době růstu kulturních rostlin a těžko je podstatně potlačíme v plodinách nevytvářejících hustě zapojené porosty bez herbicidů s delšími reziduálními účinky v půdě. Na přihnojených loukách a zvláště v příkopech kolem vedlejších komunikací se přemnožily: kerblík lesní, lopuch plstnatý, šťovík tupolistý, kopřiva dvoudomá, pelyněk černobýl, lebedy, merlíky, bolehlav plamatý apod. Tyto druhy postupně pronikají i do polí (KOHOUT, 1997).

Odstraňování nežádoucích rostlin ze stanoviště plodin bylo vždy jednou z nejdůležitějších prací zemědělců. Hubení plevelů dosáhlo u nás plného rozvoje teprve v soustavně střídavého hospodaření, tj. ve 2. polovině 19. století. Zavedení nových plodin do pěstitelské praxe umožnilo hospodaření při jejich vhodném zastoupení na orné půdě. Střídání plodin rozdílných biologických vlastností zabraňovalo přemnožení jednotlivých skupin plevelů. Ve zpracování půdy se uplatnily nové poznatky z půdoznalství, agrochemie, agrotechniky, mechanizace, a tím vzrostla kvalita obdělávání polí. Změny nastaly na úseku šlechtění rostlin. Vznikaly výkonnější odrůdy, čímž se zvýšila konkurenční schopnost plodin proti plevelům. Od konce 19. století až do konce první světové války je naše domácí literatura chudá na speciální práce o plevelech . Od roku 1920 do 1950 nebyla v našem zemědělském výzkumu věnována hlubší pozornost studiu problematiky plevelů. Do této doby zapadají souborné práce Eduarda Baudyše, Ctibora Blattného a Antonína Klečky (HRON, 1972).

Komplex opatření proti plevelům zahrnuje diagnózu, prognózu a regulaci (HRON, 1969). Diagnóza zaplevelení je základním předpokladem řešení problému polních plevelů a zahrnuje určení druhu u všech forem a růstových fází plevelných rostlin (semena a plody, orgány vegetativního rozmnožování, rostliny ve všech růstových fázích). Současně musí být stanovena intenzita výskytu těchto druhů. Stejně důležitá je správná prognóza vývoje a významu zaplevelení. Vychází se ze znalosti biologie a škodlivosti jednotlivých druhů. Využívají se výsledky evidence zaplevelení porostů a půdy. Cílem prognózy je stanovení předpokládané škodlivosti a ekonomické významnosti zjištěného zaplevelení. Diagnóze a prognóze je věnována podstatná část skript „Praktikum

z herbologie" (DVOŘÁK, 1998). Na základě těchto poznatků je možné zvolit postup komplexního hubení plevelů, který v současnosti, asi od r. 1970. označujeme pojmem regulace (DVOŘÁK, SMUTNÝ, 2008).

MATERIÁL A METODIKA

Společnost Cezava a.s. Blučina vznikla dne 1.8.1995 jako právní nástupce Zemědělského družstva Blučina. Hlavním předmětem podnikání společnosti je rostlinná výroba polní, vinohradnictví a pronájmy nebytových prostor. Rostlinná výroba je provozována na 1 000 ha orné půdy. Nosnou plodinou jsou obilniny včetně kukuřice na zrno, které jsou pěstovány na 700 ha, na zbývajících 300 ha půdy jsou pěstovány olejniny, převážně slunečnice. Vinná réva je pěstována na 44 ha svahovitých pozemků v přírodním parku „ Výhon“.

K vyhodnocení zaplevelení byla použita početní metoda. Na $1m^2$ jsem spočítal kusy jednotlivých druhů plevelů. Počet „$1m^2$“ , kde jsem plevele počítal, odpovídaly přibližně 2-5 ha pozemku. V každé plodině jsem měl minimálně 10 těchto odečtových m^2, které byly rovnoměrně rozmístěny po vybraném pozemku. Počítání výskytu plevelů jsem provedl před aplikací herbicidních přípravků. Zaměřil jsem se na ozimou pšenici a ozimou řepku.

České a latinské názvy druhů plevelů byly použity podle Kubáta (KUBÁT, 2002).

Získané údaje byly zpracovány mnohorozměrnou analýzou ekologických dat. Výběr optimální analýzy se řídil délkou gradientu (*Lengths of Gradient*), zjištěného segmentovou analýzou DCA (*Detrended Correspondence Analysis*). Dále byla použita kanonická korespondenční analýza CCA (*Canonical Correspondence Analysis*). Při testování průkaznosti pomocí testu Monte-Carlo bylo propočítáno 499 permutací. Data byla zpracována pomocí počítačového programu Canoco 4.0. (TER BRAAK, 1998). Pomocí těchto analýz byl zjišťován vliv odlišné plodiny a pozemku na plevele.

VÝSLEDKY A DISKUZE

V tabulkách je uveden počet sledovaných odečtových ploch (1 m^2) na pozemku. A dále jaké druhy plevelů se v uváděném $1m^2$ vyskytovaly a v jakém množství. Nejvíce byly druhově zastoupeny tyto druhy:

kokoška pastuší tobolka (*Capsella bursa-pastoris*) viz. Tab 7.,Tab 9.; úhorník mnohodílný (*Descurainia sophia*): Tab 7., Tab 5., Tab 7.; penízek rolní (*Thlaspi arvense*): Tab 4., Tab 5.,Tab 6., Tab 7.,Tab 9.; svízel přítula (*Galium aparine*): Tab3., Tab 7., Tab 9., Tab 10; ptačinec žabinec (*Stellaria media*): Tab 5.; rdesno truskavec (*Polygonum aviculare*): Tab 8., Tab 9.,Tab 10.,Tab 11.; rozrazil břečťanolistý (*Veronica hederifolia*): Tab 5., Tab 11.; rozrazil perský (*Veronica persica*): Tab 5., Tab 9.;hořčice rolní (*Sinapis arvensis*): Tab 9. Uváděné druhy se vyskytovaly na pozemcích ve větších počtech.

Tab.4 *Vyhodnocení zaplevelení brukev řepka olejka (Brassica napus subsp. napus) odrůdy Jasper na pozemku Myší sad*

Druh	Opakování (ks.m^{-2})						
	1	2	3	4	5	6	Σ
Tripleurospermum inodorum	1	1		2	1		5
Capsella bursa-pastoris	37	36	34	19	25	4	155
Thlaspi arvense				17			17
Cirsium arvense	2					1	3
Euphorbia helioscopia				1	3		4
Stellaria media	1	1					2
Descurainia sophia	87	75	101	157	190	89	699

Tab. 5 *Vyhodnocení zaplevelení pšenice setá (Triticum aestivum) odrůdy Balada C1 na pozemku Stromovka*

Druh	Opakování (ks.m^{-2})					
	1	2	3	4	5	Σ
Lamium amplexicaule	5			2		7
Capsella bursa-pastoris	1		2		5	8
Consolida orientalis			1			1
Thlaspi arvense	7	5	4	8	1	25
Stellaria media	9	7	13	10	3	42
Veronica hederifolia	13	4		1		18
Veronica persica			5		1	6
Taraxacum officinale	1	1				2
Falcaria vulgaris	1					1
Descurainia sophia	9	18	19	43	24	113

Tab. 6 *Vyhodnocení zaplevelení brukev řepka olejka (Brassica napus subsp. napus) odrůdy Nectar na pozemku pozemku Lán*

Druh	Opakování (ks.m^{-2})										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Σ
Aegopodium podagraria							1				1
Tripleurospermum inodorum					1						1
Thlaspi arvense			1	3	77	5	20	36	16	11	169
Euphorbia helioscopia									1		1
Stellaria media								2			2
Veronica hederifolia								1			1
Galium aparine	7	3	2	5	3	12	39	12	8	31	122
Descurainia sophia							1			2	3

Tab. 7 *Vyhodnocení zaplevelení pšenice setá (Triticum aestivum) odrůdy Baletka E, Balada C1 na pozemku Padělíček velký*

Druh	Opakování (ks.m^{-2})									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Σ
Tripleurospermum inodorum						1				1
Lamium amplexicaule						3				3
Capsella bursa-pastoris				2						2
Thlaspi arvense	3		5		7	30	2			47
Veronica polita		1								1
Veronica persica				1						1
Fallopia convolvulus								1		1
Brassica napus subsp. napus			1							1
Galium aparine	10	1					2			13
Descurainia sophia		5	4	4	3	2			1	19
Viola arvensis	2	2	1			1				6

Tab. 8 *Vyhodnocení zaplevelení pšenice setá (Triticum aestivum) odrůdy Bardotka na pozemku U kameny*

Druh	Opakování (ks.m^{-2})						
	1	2	3	4	5	6	Σ
Carduus acanthoides	1		1				2
Lamium amplexicaule		1	2		1		4
Chenopodium album					1		1
Thlaspi arvense		1					1
Cirsium arvense		3					3
Polygonum aviculare			4	1	1		6
Veronica persica	1		1			2	4
Sinapis arvensis	5	5	4	5	1	6	27
Descurainia sophia						1	1

Tab. 9 *Vyhodnocení zaplevelení pšenice setá (Triticum aestivum) odrůdy Bardotka na pozemku Úzká*

Druh	Opakování (ks.m^{-2})								
	1	2	3	4	5	6	7	8	Σ
Tripleurospermum inodorum						9			9
Lamium amplexicaule							2	1	3
Capsella bursa-pastoris	2		8	2	3	8	2		25
Thlaspi arvense			1	1	4	3	1		10
Stellaria media					2				2
Polygonum aviculare		2	3						5
Veronica hederifolia								1	1
Veronica persica	6		2	4		2	1	1	16
Sinapis arvensis	2	4	4		1		3	5	19
Brassica napus subsp. napus		1					1		2
Galium aparine			1			4			5
Descurainia sophia	9	7	2	10	2	10	2	3	45
Viola arvensis	1	1	2				1		5

Tab. 10 Vyhodnocení zaplevelení pšenice setá (Triticum aestivum) odrůdy Bardotka na pozemku Nivka dolní

Druh	Opakování (ks.m-2)										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Σ
Lamium amplexicaule										*1*	*1*
Thlaspi arvense						*1*	*2*				*3*
Polygonum aviculare		*1*	*4*					*4*		*5*	*14*
Veronica persica		*3*									*3*
Helianthus annuus	*2*							*1*	*1*		*4*
Galium aparine				*8*	*12*		*3*	*1*			*24*
Viola arvensis									*1*		*1*

Tab. 11 Vyhodnocení zaplevelení pšenice setá (Triticum aestivum) odrůdy Cubus OR na pozemku Zástruží

Druh	Opakování (ks.m-2)												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Σ
Lamium amplexicaule	*1*												*1*
			1										*1*
Polygonum aviculare		*6*	*2*		*7*	*3*	*8*	*4*		*2*			*32*
Veronica hederifolia		*1*		*1*						*4*	*6*	*1*	*13*
Veronica persica			*1*										*1*
Brassica napus subsp. napus									*2*				*2*
Helianthus annuus												*1*	*1*
									7				*7*
Descurainia sophia			*1*										*1*

Vliv pěstované plodiny často překryje vlivy ostatních podmínek. Pěstovaná plodina velmi významně ovlivňuje kvalitu i kvantitu akutního zaplevelení (DVOŘÁK, SMUTNÝ, 2008). Na sledovaných pozemcích jsem zjistil, že jinou druhovou skladbu plevelů má ozimá pšenice a jinou ozimá řepka.

V plodině brukev řepka olejka (*Brassica napus subsp. napus*) se nejvíce vyskytovaly druhy plevelů blízce příbuzné plodině a patřící do stejné čeledi brukvovité (*Brassicaceae*), které velmi výrazně zvyšovaly zaplevelení. Mezi tyto druhy patří: úhorník mnohodílný (*Descurainia sophia*), penízek rolní (*Thlaspi arvense*), kokoška pastuší tobolka (*Capsella bursa-pastoris*). Podle MIKULKY (1999) jsou tyto druhy typickými plevely ozimé řepky, což potvrzují zjištěné výsledky.

Na pozemku Lán byl nalezen nepříbuzný druh svízel přítula (*Galium aparine*). Objevovaly se zde i jiné druhy, které se ale nevyskytovaly ve větší míře.

Naproti tomu množství plevelů v pšenici seté (*Triticum aestivum*) nebylo tak výrazné. Mezi dominantní druhy patřily: úhorník mnohodílný (*Descurainia sophia*), penízek rolní (*Thlaspi arvense*), truskavec ptačí (*Polygonum aviculare*), svízel přítula (*Galium aparine*), ptačinec žabinec (*Stellaria media*) a hořčice rolní (*Sinapis arvensis*).

Některé druhy byly dominantní pouze na jediném pozemku, na pozemku Stromovka to byly úhorník mnohodílný (*Descurainia sophia*), u pozemku U kameny byl dominatním plevelem hořčice rolní (*Sinapis arvensis*). Jsou zde také druhy, které se vyskytovaly pouze na jediném pozemku nebo v jednotlivých kusech na celý měřený prostor.

Výrazným faktorem ovlivňujícím plevele je zpracování půdy. Podle DVOŘÁKA a SMUTNÉHO (2008) dlouhodobý vliv systému zpracování půdy, který dnes označujeme jako tradiční, je jednou z významných příčin novodobé podoby zaplevelení polí. Jak dále uvádějí, v současné době zemědělská praxe ve značné míře přechází z tradičního zpracování půdy na systém tzv. zjednodušeného zpracování půdy, označované také jako minimální nebo redukované.

Při minimálním způsobu zpracováním půdy může docházet ke kumulaci posklizňových zbytků a slámy, ale i plodů a semen některých plevelů na některých místech pozemku. Na těchto místech jsou pak odlišné podmínky pro vzcházení a růst plevelů a plodiny. Tato situace patrně mohla nastat v případě druhů úhorníku mnohodílného (*Descurainia sophia*) a mohla vést ke zvýšení jeho výskytu.

Ovšem jak upozorňuje WINKLER a ZELENÁ (2005), plošné využívání minimalizačních technologií vytváří nové podmínky pro plevelné druhy a dopady minimalizační technologie na plevelová společenstva se velmi liší mezi regiony, pozemky a jednotlivými druhy.

Druhové spektrum plevelů na pozemcích mohou ovlivnit rostlinná společenství na vedlejších pozemcích a také půdní a vlastnosti samotného pozemku a především potenciální zaplevelení.

Pozemky, které se nacházely ve stejné lokalitě měly některé druhy plevelů společné. Myší sad a Stromovka jsou pozemky, které spolu sousedí. Na obou pozemcích byl dominantním plevelem úhorník mnohodílný (*Descurainia sophia*), ale další druhy vyskytující se na těchto pozemcích byly naprosto odlišné. Na pozemku Myší sad se vyskytoval úhorník mnohodílný (*Descurainia sophia*) a to patrně z důvodu obtížné hubitelnosti v řepce olejce (*Brassica napus subsp. napus*). Na pozemku Stromovka, kde byla pěstována pšenice setá (*Triticum aestivum*), patrně zapojenost porostu nedovolila jeho většímu rozšíření.

Pozemek Lán ,který byl vzdálen nejvíce od všech dalších pozemků, na kterých jsem prováděl měření. Byla se zde proto skupina dvou plevelů: penízek rolní (*Thlaspi arvense*) a svízel přítula (*Galium aparine*), které se v podobném množství na jiném pozemku nevyskytovaly.

Na dalších pozemcích se vyskytovala podobná druhová společenstva např. druhy ptačinec žabinec (*Stellaria media*), rozrazily (*Veronica sp.*), hluchavka objímavá (*Lamium amplexicaule*), violka rolní (*Viola arvensis*), penízek rolní (*Thlaspi arvense*) a svízel přítula (*Galium aparine*). Mezi jednotlivými pozemky byly rozdíly v druhovém spektru, které závisely na blízkosti dalších pozemků, na jejich předchozí plodině, druhu půdy a jejím agrotechnickém zpracování.

Hlavním způsobem regulace plevelů, která se uplatňuje na sledovaných pozemcích je aplikace herbicidů.

Účinnost herbicidů závisí na mnoha faktorech. Hlavním nositelem vlastností herbicidů je účinná látka. Jiná účinná látka se použije proti jednoděložnému a jiná proti dvouděložnému plevelu. Další důležitou vlastností je, v jaké formě se dodává, zda v kapalném nebo pevném stavu. Doba aplikace je rovněž důležitá, herbicid aplikovaný v nevhodnou dobu by mohl mít přesně opačný účinek (DVOŘÁK, SMUTNÝ, 2008).

Na pozemcích Padělíček velký, U kameny a „Nivka dolní“ byl v podzimním termínu aplikován postemergentně herbicid LOGRAN 20 WG, tento herbicid svými účinky významněji ovlivnil početnost jednotlivých druhů, méně jejich pestrost. Mezi druhy, které jsou zde zastoupeny se vyskytují hlavně druhy, ty patří mezi herbicidy hůře hubitelné např.: úhorník mnohodílný (*Descurainia sophia*), svízel přítula (*Galium aparine*) a violka rolní (*Viola arvensis*).

Úhorník mnohodílný (*Descurainia sophia*) byl považován donedávna za plevel neobdělávaných půd a smetišť. Od šedesátých let je jeho přítomnost běžná i v polních plodinách, a to zejména v ozimých obilninách a řepce ozimé (DVOŘÁK, SMUTNÝ, 2008). Na pozemku Myší sad (Tab. 4), u kterého by se vzhledem k početnosti jedinců plevelů kokoška pastuší tobolka (*Capsella bursa-pastoris*) a úhorník mnohodílný (*Descurainia sophia*) předpokládalo využití herbicidů, k jejich využití a to ani selektivnímu nemohlo dojít z důvodů blízké příbuznosti pěstované plodiny brukve řepky olejky (*Brassica napus subsp. napus*), oba zmíněné plevele a plodina patří do stejné čeledi *Brassicaceae.*

Violka rolní (*Viola arvensis*) se stala výrazným plevelem až v posledních letech. Hlavním důvodem jejího rozšíření je časté používání sulfonylmočovin, které nedostatečně postihovaly právě tento plevel. Violka je i při silném výskytu v porostu velmi nenápadná, protože je plevelem spodního patra porostu. Spolehlivého účinku proti ní bývá dosaženo při podzimní aplikaci, kdy jsou rostliny violky v ranné růstové fázi a herbicidy působí celkem spolehlivě. Na jaře již bývají rostliny zakryty okolním porostem a mají vytvořenu velkou povrchovou voskovou vrstvu (ŠTĚPÁNEK, 2005b)

Jak uvádí SYSEL (2008) violka může v provozních podmínkách tvořit až 77 % všech rostlin plevelů.

Svízel přítula (*Galium aparine*) patří k našim vůbec nejnebezpečnějším druhům plevelů. Udává se, že již 1 rostlina na $2m^2$, způsobuje hospodářsky významné škody (WINKLER , 2008).

Rovněž mezi častěji se vyskytující plevelné rostliny patří rozrazily a to hlavně rozrazil břečťanolistý (*Veronica hederifolia*) a rozrazil perský (*Veronice persica*). Ty prodělávají vývoj většinou na podzim, popřípadě v průběhu zimy nebo brzo na jaře. Z tohoto důvodu je nejlépe vyřadit je z porostu již na podzim, protože na jaře bývají už často přerostlé (PROCHÁZKA, 2009).

Do budoucna může být problematický také výdrol řepky. Šešule řepky se v době zralosti počasí (navlhnutí, vyschnutí) často otevírají a semena vypadají na půdu. Semena vydrží v půdním prostředí dlouhou dobu živá. Bylo prokázáno že 83 % semen přežije 18 měsíců a velká část těchto semen pak vydrží životaschopná řadu let. Z uvedeného vyplývá, že zaplevelení řepkou lze očekávat v řadě následných plodin. Ve většině plodin je řepka snadno hubena herbicidy (SCHLINK, 1995).

Nepříjemný bývá výdrol slunečnice, který vyžaduje pozornost zejména v obilninách a luskovinách. Rostliny slunečnice jsou statné a konkurenčně schopné. Pro omezení významu zaplevelujících rostlin, které jsou důsledkem výdrolu, je zejména důležité nepřekračovat běžnou výši sklizňových ztrát. Docílíme toho dobrým technickým zabezpečením sklizní, případně předsklizňovým ošetřením problémových plodin. Např. u řepky lze aplikovat přípravky snižující předčasné otevírání šešulí (účinná látka pinolen apod.), (DVOŘÁK, SMUTNÝ, 2008).

ZÁVĚR

V plodině brukev řepka olejka (*Brassica napus subsp. napus*) se nejvíce vyskytovaly druhy plevelů blízce příbuzné plodině. Patřily do stejné čeledi brukvovité (*Brassicaceae*), mezi tyto druhy patřily zejména: úhorník mnohodílný (*Descurainia sophia*), penízek rolní (*Thlaspi arvense*), kokoška pastuší tobolka (*Capsella bursa-pastoris*) a na pozemku Lán to byl nepříbuzný svízel přítula (*Galium aparine*). Vyskytovaly se zde i jiné druhy, které se však nevyskytovaly ve větší míře. Naproti tomu množství druhů plevelů v plodině pšenice seté (*Triticum aestivum*) bylo velké. Mezi dominantní druhy patřily: ptačinec žabinec (*Stellaria media*), rozrazily (*Veronica sp.*), hluchavka objímavá (*Lamium amplexicaule*), rdesno truskavec (*Polygonum aviculare*), penízek rolní (*Thlaspi arvense*) a svízel přítula (*Galium aparine*). Některé druhy byly dominantní pouze na jediném pozemku, a to na pozemku Stromovka úhorník mnohodílný (*Descurainia sophia*), na pozemku U kameny byla dominatním plevelem hořčice rolní (*Sinapis arvensis*). Jsou zde také druhy, které se vyskytovaly pouze na jediném pozemku nebo v několika jedincích na celý měřený prostor.

Pozemky, které se nacházely ve stejné lokalitě, měly některé druhy plevelů společné. Myší sad a Stromovka jsou pozemky, které spolu sousedí. Na obou pozemcích byl dominantním plevelem úhorník mnohodílný (*Descurainia sophia*), ale další druhy vyskytující se na těchto pozemcích byly naprosto odlišné. Pozemek Lán byl vzdálen od všech dalších pozemků, na kterých jsem prováděl měření, proto se zde vyskytovala skupina dvou plevelů: penízek rolní (*Thlaspi arvense*) a svízel přítula (*Galium aparine*), které v podobném množství na jiném pozemku nerostly. Na dalších

pozemcích se vyskytovala podobná druhová společenstva např. druhy ptačinec žabinec (*Stellaria media*), rozrazily (*Veronica sp.*), hluchavka objímavá (*Lamium amplexicaule*), violka rolní (*Viola arvensis*), penízek rolní (*Thlaspi arvense*) a svízel přítula (*Galium aparine*). Mezi jednotlivými pozemky byly rozdíly v druhovém spektru, které závisely na blízkosti pozemků dalších, na jejich předchozí plodině, druhu půdy a jejím agrotechnickém zpracováním. Větší výskyt plevelů čeledi *Brassicaceae* je ovlivňován procentním zastoupením řepky ozimé v osevním postupu hlavně na lehčích půdách.

Možností jakým způsobem zefektivnit regulaci plevelů je několik. Největším podílem je vliv agrotechniky, zlepšení předseťové přípravy pozemků a provádět ji ve vyšší kvalitě. Již při těchto činnostech dochází k eliminaci plevelných druhů. Využíváním nových a lepších herbicidů a jejich aplikaci provádět ve správném termínu. Použitím herbicidů z větší části v podzimním období se zlepší ekonomika plevelohubných zásahů. Dále pak je vhodná volba herbicidů, která se bude řídit skutečným druhovým spektrem plevelů daného pozemku.

LITERATURA

DVOŘÁK, J., SMUTNÝ, V. (2008): HERBOLOGIE – Intergovaná ochrana proti polním plevelům. Ediční středisko MZLU v Brně, 186 s.

DVOŘÁK, J. (1998): Praktikum z herbologie. Ediční středisko MZLU v Brně, 87 s.

HRON, F.(1972): Problematika hubení plevelů – součást základní agrotechniky. In: „Sborník referátů z vědecké konference k 20. výročí založení katedry základní agrotechniky a meteorologie AF VŠZ v Praze“, VŠZ v Praze: 129 – 151.

HRON, F. (1969): Teoretické principy studia škodlivosti, biologie a komplexního hubení jednotlivých druhů plevelů. In: „Komplexní hubení plevelů v ČSSR, 1. věd. konf.“, Praha: 5-20.

KOHOUT, V. (1997): Plevele polí a zahrad. Agrospoj, 235s.

KUBÁT, K.,HROUDA, L., CHRTEK, J. JUN, KAPLAN, Z., KIRSCHNER, J., ŠTĚPÁNEK, J. [eds] (2002): Klíč ke květeně České republiky. Academica, Praha: 928 s.

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

PROCHÁZKA, P. (2009): Ochrana ozimých obilnin proti rozrazilům na podzim. Agromanuál-profesionální ochrana rostlin, 4 (srpen): 11.

SCHLINK, S. (1995): Überdauerungsvermögen und Dormanz von Rapssamen (*Brassice napus*) in Boden. In: „9th Symposium EWRS“, Budapest: 65 – 72.

SYSEL M. (2008): Sledování výskytu plevelů v porostech obilnin a řepky v provozních podmínkách. Diplomová práce (in MS, dep. knihovna MENDELU v Brně), MZLU v Brně, Brno, 141 s.

ŠTĚPÁNEK, P. (2005): Jarní ošetření ozimých obilnin; www.agromanual.cz/cz/rubriky/clanky/jarni-osetreni-ozimych-obilnin.html; ISSN 1801 – 4895

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.

WINKLER, J., ZELENÁ, V. (2005): Vliv rozdílné technologie zpracování půdy na druhové spektrum plevelů v ozimé řepce. Acta Universitatis Agriculturae Et Silviculturae Mendelianae Brunensis, 53 (5): 187- 193.

WINKLER, J. (2008): Svizel přítula – jeho výskyt v ozimé pšenici při rozdílné koncentraci obilnin ve struktuře pěstovaných plodin. AGRO, 1.duben 2008: 22 – 24.

EFFICACY OF FUNGICIDES ON SELECTED *COLLETOTRICHUM ACUTATUM* ISOLATES

Staňková B.[1], Víchová J.[1], Pokorný R.[1], Vejražka K.[2]

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

[2] Agricultural Research, Ltd. Troubsko, Zahradní 1, 664 41 Troubsko, Czech Republic

E-mail: barbora.stankova@mendelu.cz

ABSTRACT

Colletotrichum acutatum belongs to the polyphagous fungal pathogens in temperate, subtropical and tropical climate. The biggest losses are caused in strawberry production in Central Europe and *C. acutatum* has become the most important pathogen of safflower in recent years.

The efficacy of fungicides with active ingredients (azoxystrobin, captan, mancozeb and thiram) was tested in laboratory test. Six *C. acutatum* isolates originating from different plant species were used for this test. The different sensitivity of particular pathogen isolates to fungicides with active ingredients was determined. The highest efficacy to the isolates of *C. acutatum* was detected in fungicide with a. i. thiram and the least efficacy to the growth of mycelium was confirmed in fungicide with a. i. azoxystrobin.

Key words: *Colletotrichum acutatum*, azoxystrobin, captan, mancozeb, thiram

Acknowledgement: This study was supported by NAZV MZe No. QH811029: Innovation protection of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) against important fungal pathogens and 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

Colletotrichum acutatum J. H. Simmonds 1968 je houbový patogen s kosmopolitním rozšířením a velmi širokým hostitelským okruhem rostlin. Patogen napadá např. *Malus sylvestris* Mill., *Capsicum annuum* L., *Lycopersicon esculentum* Mill., *Lupinus polyphyllus* Lindl., ale i okrasné rostliny a konifery (Guerber et al., 2003). Hospodářsky nejvýznamnější škody způsobuje na plodech jahodníku velkoplodého (*Fragaria x ananassa* Duch.) (Sreenivasaprasad, Talhinhas, 2005) a v posledních letech také na mladých rostlinách světlice barvířské (Víchová, 2009).

Ochrana proti *C. acutatum* je v České republice založena především na preventivních ochranných opatřeních a správné agrotechnice, protože je registrován pouze jediný fungicidní přípravek s názvem Ortiva (účinná látka azoxystrobin) do jahodníku velkoplodého. V zemích, kde je výskyt *C. acutatum* již delší dobu, je povolena řada fungicidních přípravků s účinnými látkami např. captan, benomyl, propiconazol a cyprodinil. Hledají se ovšem další účinné látky, jelikož se v populaci patogena poměrně rychle selektují kmeny rezistentní k dlouhodobě používaným fungicidním přípravkům (Kloutvorová, Kupková, 2009).

Cílem práce bylo stanovit účinnost některých jednosložkových fungicidních přípravků na vybrané izoláty tohoto patogena.

MATERIÁL A METODIKA

Pro testování byly použity čtyři různé jednosložkové fungicidní přípravky (Tab. 1). Účinnost vybraných fungicidních přípravků byla v laboratorních podmínkách zkoušena na šesti izolátech *C. acutatum* různého původu (Tab. 2). Z izolátů patogena byly připraveny monosporické izoláty a kultury byly kultivovány na PDA za vhodných podmínek pro sporulaci – teplota 25 ± 2 °C.

Pro testování bylo z izolátů patogena odebráno potřebné množství mycelia a oranžových mas spor a ve sterilní destilované vodě byla připravena jejich suspenze. Suspenze byla dle potřeby homogenizována. Sterilní laboratorní kličkou byla suspenze rozetřena křížovým roztěrem na Petriho misky o průměru 10 mm s PDA. Na misky byly rozmístěny do čtverce vždy čtyři sterilní terčíky z filtračního papíru o průměru 8 mm. Na tři terčíky bylo pomocí automatické pipety aplikováno 12,5 µl fungicidního přípravku o dané koncentraci, jeden terčík byl kontrolní a byla na něj aplikována sterilní destilovaná voda. Petriho misky byly umístěny do kultivační místnosti a kultivovány při teplotě 25 ± 2 °C. Měření inhibičních zón v okolí terčíků bylo provedeno po 4, 7 a 14 dnech ode dne založení pokusu.

Výsledky účinnosti jednotlivých fungicidních přípravků na jednotlivé izoláty byly statisticky zpracovány programem UNISTAT, a to jednofaktorovou analýzou rozptylu a následně Tukey-HSD testem.

Tab. 1 Fungicidní přípravky použité při testování

Účinná látka	Základní koncentrace (%)
azoxystrobin (25%)	0,4
captan (50%)	1,5
mancozeb (80%)	0,4
thiram (80%)	0,4

Tab. 2 Izoláty Colletotrichum acutatum a jejich původ

Izolát	Rostlina	Dodavatel
710	*Hypericum perforatum*	ÚPŠRR MENDELU Brno
1109	*Carthamus tinctorius*	ÚPŠRR MENDELU Brno
1209	*Carthamus tinctorius*	ÚPŠRR MENDELU Brno
CBS 786.86	*Malus sylvestris*	CBS
PCF 231	*Fragaria x ananassa*	PCFruit
PCF 437	*Lupinus alba*	PCFruit

VÝSLEDKY A DISKUZE

Fungicidní přípravek s účinnou látkou azoxystobin

Jak je zřejmé z Tab. 3, šířka inhibičních zón se v průběhu testování mírně snižovala. Při zhodnocení 1. – 3. měření byl nejméně citlivý k účinné látce izolát 1209, naopak nejvíce citlivý byl izolát PCF 231. Z naměřených výsledků vyplývá, že fungicidní přípravek s touto účinnou látkou měl malou účinnost na omezení růstu mycelia všech testovaných izolátů patogena. K podobnému výsledku dospěly i Kloutvorová, Kupková (2009), které ve svých testech potvrdily, že účinná látka azoxystrobin měla na růst mycelia *C. acutatum* významně nižší vliv než jiné účinné látky.

Tab. 3 Fungicidní přípravek s ú. l. azoxystrobin (25%)

Izolát	1. měření	2. měření	3. měření
1109	0,80 ^{A}	0,80 ^{B}	0,80 ^{B}
1209	0,83 ^{A}	0,17 ^{A}	0,00 ^{A}
710	0,87 ^{A}	0,70 ^{AB}	0,63 ^{B}
CBS 786.86	0,80 ^{A}	0,67 ^{AB}	0,53 ^{B}
PCF 231	1,70 ^{B}	1,67 ^{C}	1,57 ^{C}
PCF 437	1,17 ^{A}	1,10 ^{BC}	0,93 ^{B}

Fungicidní přípravek s účinnou látkou captan

V průběhu měření se šířka inhibičních zón u jednotlivých izolátů patogena snižovala (Tab. 4). Největší inhibice byla zaznamenána u izolátu 1209, zatímco nejmenší byla naměřena u izolátu CBS 786.86. Fungicidní přípravek s účinnou látkou captan uvádí jako vhodný proti C. acutatum Kloutvorová et al. (2007). Peres et al. (2010) zjistili, že v polních podmínkách má fungicidní přípravek s účinnou látkou captan nejvyšší účinnost v raných fázích infekce (aplikace do 8 hodin po umělé inokulaci) a při kratší periodě ovlhčení rostlin.

Tab. 4 Fungicidní přípravek s ú. l. captan (50%)

Izolát	1. měření	2. měření	3. měření
1109	2,10 ^{A}	2,03 ^{A}	1,90 ^{AB}
1209	2,87 ^{B}	2,83 ^{B}	2,40 ^{B}
710	2,20 ^{A}	2,00 ^{A}	1,87 ^{AB}
CBS 786.86	1,93 ^{A}	1,87 ^{A}	1,50 ^{A}
PCF 231	2,27 ^{AB}	2,00 ^{A}	1,47 ^{A}
PCF 437	2,10 ^{A}	1,83 ^{A}	1,63 ^{A}

Fungicidní přípravek s účinnou látkou mancozeb

Na fungicidní přípravek s účinnou látkou mancozeb nejcitlivěji reagoval izolát PCF 437, u kterého se inhibiční zóny pohybovaly kolem 4 cm u všech provedených měření. Nejméně citlivé byly naopak izoláty CBS 786.86 a PCF 231. U všech izolátů se šířka inhibičních zón během hodnocení snižovala (Tab. 5).

Mancozeb je látka, u které byla prokázána účinnost vůči některým patogenům z rodu *Colletotrichum* spp., např. *C. capsici* (Shukla et al., 2010).

Tab. 5 Fungicidní přípravek s ú. l. mancozeb (80%)

Izolát	1. měření	2. měření	3. měření
1109	2,30 ^{A}	2,20 ^{A}	1,83 ^{AB}
1209	2,37 ^{A}	1,87 ^{A}	1,77 ^{AB}
710	2,67 ^{A}	2,27 ^{A}	2,10 ^{B}
CBS 786.86	2,08 ^{A}	1,90 ^{A}	1,27 ^{A}
PCF 231	2,27 ^{A}	1,67 ^{A}	1,30 ^{A}
PCF 437	4,10 ^{B}	4,00 ^{B}	4,00 ^{C}

Fungicidní přípravek s účinnou látkou thiram

Z naměřených výsledků vyplývá, že fungicidní přípravek s účinnou látkou thiram měl v 1. – 2. měření významnou inhibiční účinnost na izoláty 710, CBS 786.86, PCF 231 a PCF 437. U těchto izolátů však ve 3. měření došlo k významnému poklesu fungicidní účinnosti, kromě izolátu PCF 437, který si svou citlivost zachoval. Nejmenší inhibice byla naměřena u izolátu 1209 (Tab. 6). Kloutvorová, Kupková (2009) ve svých testech účinnosti fungicidních přípravků ke *C. acutatum* potvrdily, že k největší inhibici růstu mycelia došlo na agaru s přídavkem fungicidního přípravku s účinnou látkou thiram, kdy průměr kolonií byl redukován téměř o 87,2 % v porovnání s kontrolním vzorkem.

Tab. 6 Fungicidní přípravek s ú. l. thiram (80%)

Izolát	1. měření	2. měření	3. měření
1109	2,43 ^{AB}	2,00 ^{AB}	1,87 ^{D}
1209	1,60 ^{A}	1,13 ^{A}	0,23 ^{A}
710	3,00 ^{B}	3,00 ^{C}	1,30 ^{C}
CBS 786.86	3,53 ^{B}	2,67 ^{BC}	0,88 ^{B}
PCF 231	3,53 ^{B}	2,93 ^{BC}	0,80 ^{B}
PCF 437	3,40 ^{B}	3,40 ^{C}	3,40 ^{E}

ZÁVĚR

V laboratorních testech byla zjištěna rozdílná citlivost izolátů houbového patogena *C. acutatum* k fungicidním přípravkům obsahujícím různé účinné látky. Zajímavé je, že izolát 1209 byl k účinné látce captan nejcitlivější, naopak k účinným látkám azoxystrobin a thiram byl nejméně citlivý ze všech testovaných izolátů. Podobný případ byl také u izolátu PCF 231.

Laboratorní testy lze využít pouze pro předběžná zjištění, účinnost musí být vždy ověřena v polních testech. Při tomto testování je vhodné provádět umělé inokulace více izoláty příslušného patogena, aby se předešlo riziku snížené účinnosti fungicidního přípravku vlivem výskytu odolnějšího izolátu patogena.

LITERATURA

Guerber, J. C., Liu, B., Correll, J. C., Johnston, P. R. (2003): Characterization of diversity in *Colletotrichum acutatu*m sensu lato by sequence analysis of two gene introns, mtDNA and intron RFLPs, and mating compatibility. *Mycologia*, 95 (5): 872–895.

Kloutvorová, J., Kupková, J. (2009): Laboratorní testy citlivosti houby *Colletotrichum acutatum* k fungicidům. *Věd. práce ovocn.*, 21: 47-52.

Kloutvorová, J. et al. (2007): *Colletotrichum acutatum* Simmonds - biologie, hospodářský význam, možnosti ochrany - 2007. Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy, literární rešerše.

Peres, N. A., Seijo, T. E., Turechek, W. W. (2010): Pre- and post-inoculation activity of a protectant and a systemic fungicide for control of anthracnose fruit rot of strawberry under different wetness durations. *Crop Protection*, 29 : 1105-1110.

Shukla, R. S., Abdul-Khaliq, Alam M. (2010): Chemical control of blossom blight disease of sarpagandha caused by *Colletotrichum capsici*. *African Journal of Biotechnology*, 9 (38): 6397-6400. ISSN 1684-5315.

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

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

HETEROGENEITY OF WEED INFESTATION IN SPRING BARLEY

Studničková T., Winkler J.

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

E-mail: Terez.Studnickova@seznam.cz

ABSTRACT

Field trial in spring barley was established for evaluation of heterogeneity of weed infestation. Whole area has 32000 m^2 (320 x 100 m) a was separate 480 application cells with area of 50 m^2 (5 x 10 m). Together 25 weed species was found in observed field. *Chenopodium album* and *Echinochloa crus-galli* were the most frequent weed species here. Site-specific application against broadleaf weeds was not used only on 3 cells, i case of variant with high threshold of harmfullness. Other cells were treated mainly caused by occurrence of *Chenopodium album.* Different situation was against monocotyledonous weeds, when herbicide treatment was not used only in 30 cells in variant with low threshold of harmdullnes, 27 cells on variant with medium threshold and 70 cells in variant with high threshold of harmfullness.

Key words: weeds, spring barley, heterogeneity of weed infestation

Acknowledgement: The results in paper are output of project of Internal Grant Agency, FA MENDELU, No. TP 3/2011 “Optimalization of crop management practices in areas threatened by drought”.

This paper was written within the framework of the project QI111A184 financed by the National Agency for Agricultural Research of the Ministry of Agriculture of the Czech Republic.

ÚVOD

V současné době se řeší otázka jak zefektivnit zemědělskou prvovýrobu, snížit výrobní náklady a negativní dopady na životní prostředí. Toho lze docílit tzv. „precizním zemědělstvím“. V precizním zemědělství je kladen důraz na prostorovou heterogenitu pozemku a časovou dynamiku procesů při tvorbě výnosu polních plodin. Vývoj aplikační techniky, možnost využití navigace a rychlý pokrok v elektronice otevírají možnosti pro lokální aplikaci pesticidů v závislosti na konkrétních podmínkách. Využitím této moderní techniky se jednak sníží náklady na produkci, zvýší se produktivita práce a zároveň se omezí negativní dopady na životní prostředí.

V minulých letech, ale i dnes se otázka zaplevelení pozemků řeší celoplošnou aplikací jednotné dávky herbicidů bez ohledu na rozdílné zastoupení plevelných druhů a jejich nestejnoměrný výskyt. Precizní zemědělství jak už bylo řečeno klade důraz na heterogenitu pozemku tudíž i na stupeň zaplevelení. Principem je tedy lokální specifická regulace plevelů. To znamená že na místech s nulovým nebo podprahovým výskytem plevelů bude aplikace přípravku vynechána a na ošetřovaných částech bude dávka přizpůsobena stupni zaplevelení (Sökefeld et al., 2000, Gerhards et al., 2000).

Podkladem pro takové ošetření je vytvoření aplikační mapy, v níž je zachycena plocha s nadprahovým výskytem určitého škodlivého činitele na daném pozemku. Pomocí navigačních systémů je na základě této mapy určována poloha, ve které jsou otevírány a uzavírány aplikační ventily postřikovače. V mapě mohou být obsažena data pro jeden nebo více druhů plevelů. Obvykle jsou vytvářeny skupiny plevelů s podobnými prahy škodlivosti a shodnou citlivostí k určitým herbicidním látkám.

Herbicidní ochrana je v integrované ochraně rostlin založena na využití prahů škodlivosti. Ekonomickým prahem škodlivosti je hraniční hodnota hustoty zaplevelení, při jejímž překročení je již ošetření ekonomicky výhodné.

MATERIÁL A METODIKA

K vyhodnocení heterogenity zaplevelení byl založen polní pokus v porostu jarního ječmene. Celá plocha pokusného pozemku má velikost 32000 m^2 (320 x 100 m) a byla rozdělena do aplikačních buněk o velikosti 50 m2 (5 x 10 m). Celkovým počtem byl 480 buněk. Tyto aplikační buňky představují nejmenší samostatně ošetřovanou plochu a zároveň plochu, ve které byl samostatně sledován výskyt plevelů. Plevele byly hodnoceny na 0,25 m^2 ve čtyřech opakování v každé buňce.

Aplikační buňky byly rozmístěny do 48 pásů po 10 buňkách. Byly zvoleny 4 varianty prahu škodlivosti podle kterých bylo rozhodováno o následné aplikaci herbicidů. Každá varianta má

12 pásů. První varianta je kontrolní se standardním celoplošným ošetřením, druhá je s nízkými prahy škodlivosti, třetí je se středními prahy škodlivosti a čtvrtá varianta je s vysokými prahy škodlivosti.

V Tab. 1 jsou uvedeny prahy škodlivosti pro nalezené druhy plevelů nebo skupiny druhů plevelů.

Úroveň prahu škodlivosti	**Rozhodující počet rostlin na 1 m^2**			
	Chenopodium album	**Ostatní dvouděložné**	***Echinochloa crus-galli***	**Ostatní jednoděložné**
Nízký	5	5	5	5
Střední	10	10	10	10
Vysoký	20	20	20	20

VÝSLEDKY A DISKUZE

Na pozorovaném stanovišti bylo zaznamenáno 25 plevelných druhů. Z dvouděložných plevelů se nejčastěji vyskytoval *Chenopodium album* v menší míře pak *Lamium purpurem, Stellaria media, Taraxacum officinale, Polygonum aviculare a Viola arvensis.* Ostatní dvouděložné plevele jako jsou *Polygonum convolvulus, Thlaspi arvence, Veronica persica, Papaver rhoeas, Atriplex sagittata, Cardaria draba, Capsela bursa – pastorka, Trifolium pretense, Anagallis arvensis, Geranium pusillum, Lapsana communis, Fumaria officinali, Chenopodium hybridum, Amaranthus retroflexus, Cirsium arvense, Galium aparine, Carduus acanthoides, Erodium cicutarium, Matricaria maritima, Silene latifolia, Sonchus arvensis, Helianthus annuus, Convolvulus arvensis, Brassica napus* zaujímaly pouze zanedbatelnou část. Z jednoděložných plevelů byly zaznamenány pouze 3 druhy a to *Echinochloa crus-galli, Agropyrum repens* a *Avena sativa.* Z toho se nejčastěji vyskytovala *Echinochloa crus-galli.*

V Tab. 2 jsou uvedeny průměrné počty plevelů ve variantách s rozdílnými prahy škodlivosti. V tab. 3 jsou uvedeny počty buněk, kde nebyl překročen práh škodlivosti pro dvouděložné plevele. V tab. 4 jsou uvedeny počty buněk, kde nebyl překročen práh škodlivosti pro *Chenopodium album* a ostatní dvouděložné plevele a V tab. 5 jsou uvedeny počty buněk, kde nebyl překročen práh škodlivosti pro *Echinochloa crus-galli* a ostatní jednoděložné plevele.

Tab. 2 Průměrné počty plevelů ve variantách s rozdílnými prahy škodlivosti

průměrný počet rostlin na 1m^2	úroveň prahu škodlivosti			
	standardní	nízký	střední	vysoký
Chenopodium album	35,38	35,55	41,63	36,53
Echinochloa crus-galli	18,24	15,53	23,83	19,52
Lamium purpureum	21,29	16,33	19,13	18,53
Stellaria media	15,75	18,07	18,88	14,42
Taraxacum officinale	4,13	4,03	5,17	4,6
Polygonum convolvulus	0,71	0,78	0,39	0,39
Polygonum aviculare	7,18	4,18	5,73	5,23
Viola arvensis	1,33	1,53	2,46	2,03
Thlaspi arvence	1,2	1,21	1,83	1,46
Veronica persica	0,32	0,17	0,17	0,08
Papaver rhoeas	0,06	0,02	0,07	0,08
Atriplex sagittata	0,15	0,24	0,07	0,06
Cardaria draba	0,01	0,00	0,04	0,01
Capsela bursa - pastoris	1,23	0,83	1,03	1,25
Trifolium pratense	0,23	0,05	0,06	0,12
Anagallis arvensis	0,08	0,24	0,11	0,06
Geranium pusillum	0,18	0,13	0,25	0,21
Lapsana communis	0,08	0,00	0	0
Fumaria officinalis	0,39	0,48	0,18	0,1
Chenopodium hybridum	0,01	0,00	0,04	0
Amaranthus retroflexus	0,07	0,09	0,03	0,06
Cirsium arvense	0,09	0,18	0,01	0,07
Galium aparine	0	0,01	0	0
Carduus acanthoides	0,01	0,02	0,02	0
Erodium cicutarium	0	0,01	0	0,01
Matricaria maritima	0	0,00	0,03	0,01
Silene latifolia	0,01	0,01	0	0
Sonchus arvensis	0,01	0,04	0,03	0
Helianthus annuus	0	0,01	0	0
Convolvulus arvensis	0	0,00	0	0,01
Brassica napus	0	0,00	0,01	0
Avena sativa	0	0,04	0	0
Agropyrum repens	0,1	0,00	0	0

Tab. 3 Počet buněk, kde nebyl překročen práh škodlivosti pro dvouděložné plevele

úroveň prahu škodlivosti	Počet buněk				
	Lamium purpureum	***Stellaria media***	***Taraxacum officinale***	***Polygonum aviculare***	***Viola arvensis***
standardní ošetření					
nízký	12	2	77	85	108
střední	31	22	103	94	116
vysoký	75	85	120	115	120

Tab. 4 Počet buněk, kde nebyl překročen práh škodlivosti pro Chenopodium album a ostatní dvouděložné plevele

úroveň prahu škodlivosti	Počet buněk		
	Chenopodium album	**Ostatní dvouděložné**	**Buňky kde nebyl překročen práh současně pro *Chenopodium album* a ostatní dvouděložné**
standardní ošetření	-	-	-
nízký	0	0	0
střední	0	0	0
vysoký	20	7	3

Tab. 5 Počet buněk, kde nebyl překročen práh škodlivosti pro Echinochloa crus-galli a ostatní jednoděložné plevele

úroveň prahu škodlivosti	počet buněk		
	Echinochloa crus-galli	**Ostatní jednoděložné**	**Buňky kde nebyl překročen práh současně pro *Echinochloa crus-galli* a jednoděložné**
standardní ošetření	-	-	-
nízký	30	120	30
střední	27	120	27
vysoký	70	120	120

ZÁVĚR

Na základě zmapování pozemku, zjištěných údajů o stavu zaplevelenosti a překročených prahů škodlivosti byla sestavena aplikační mapa podle, které bude následně provedeno herbicidní ošetření. Herbicidně budou ošetřeny pouze ty buňky, ve kterých byly překročeny prahy škodlivosti. Jednoděložné plevele a dvouděložné plevele budou ošetřeny samostatně.

Proti dvouděložným plevelům nebyly ošetřeny pouze 3 buňky a to ve variantě s vysokým prahem škodlivosti. Ostatní buňky byly ošetřeny z důvodu vysokého zaplevelení zvláště *Chenopodium album.* Z ostatních dvouděložných druhů plevelů, které překročili prahy škodlivosti to byly druhy: *Lamium purpureum, Stellaria media, Taraxacum officinale, Polygonum aviculare* a *Viola arvensis*

Proti jednoděložným plevelům nebylo ošetřeno 30 buněk ve variantě s nízkým prahem škodlivosti, 27 buněk ve variantě se středním prahem škodlivosti a 70 buněk ve variantě s vysokým prahem škodlivosti.

Následně bude sledována výše dosahovaných výnosů jarního ječmene u různých variant ošetření, zejména rozdíl výnosu mezi variantami ošetření podle prahů škodlivosti a celoplošným standardním ošetřením.

LITERATURA

Gerhards R., Sökefeld M., Timmermann C., Krohmann P., Kühbauch W. (2000): Precision Weed Control – more than just saving herbicides. Z. PflKrankh. PflSchutz, Sonderh. XVII, 179-186

Sökefeld M., Gerhards R., Kühbauch W. (2000): Teilschlagspezifische Unkrautkontrolle - von der Unkrauterfassung bis zur Herbizidapplikation. – Z. Pfl.Krankh. Pfl.Schutz, Sonderh. XVII, 227-233.

EFFECT OF SULFUR APPLICATIONS ON GRAIN YIELD, NITROGEN SUBSTANCES CONTENT, DIMETHYLSULFID AND ITS PRECURSORS IN MALTING BARLEY

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: hana.syrova@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this work was to assess the influence of foliar application of sulfur on the grain yield and content of nitrogen substances in the grain malting barely, after that content of precursors of dimethylsulfide (PDMS) and dimethylsulfide (DMS) in malt. The observation was realised by form of small plot of the field experiment with six varietes of malting barley. Three varieties of the Czech beer Aksamit, Radegast, Bojos and free varieties for export Jersey, Prestige and Sebastian. Sulfur was applied as foliar elementary micronized sulfur with bentonite in the DC 31 and DC 57. Nitrogen in the form of ammonium nitrate with limestone was applied together with sulfur. Effect of sulfur on the grain yield did not show significantly. Nitrogen substances content in grain was significantly reduced after application of sulfur. This offers a posibility of solving the problem of nitrogen fertilization of barley for malting purposes. Percentage values of sulfur in the above grain (2,5 mm) statistically insignificant. Sulfur was not accumulated in the grain even the later date applications. Content of dimethylsulfide precursors (PDMS) and dimethylsulfide (DMS) in malt rises in various terms of sulfur applications, but the differences were not statistically significant. Higher content was observed in the varieties for productinon of Czech beer. Higher DMS and PDMS content in these varieties is not a problem, because the type of end product. Export varieties reached lower value. The limiting value of PDMS content in malt (6mg/kg) were not exceeded for any variety. The contents of the nitrogen substances in grain, PDMS and DMS content in the malt were markedly influenced by the variability of varieties.

Key words: malt barley, sulphur, dimethylsulfid, grain yield, N-substances

Acknowledgement: 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

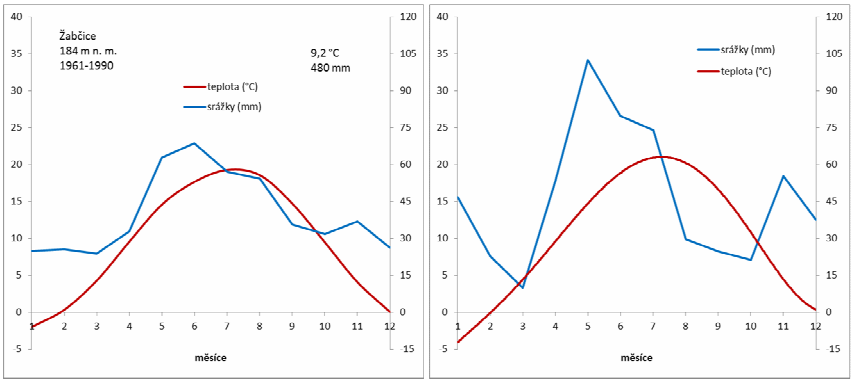
Síra je významným esenciálním makroelementem s důležitou rolí v rostlinném metabolismu. Její nedostatek vede ke snížení výnosu a nepříznivě ovlivňuje i technologickou kvalitu zrna sladovnického ječmene. Dostatečný přísun síry byl donedávna zajišťován aplikací mnoha běžných hnojiv a atmosférickou depozicí. Podle posledních údajů ČHMÚ činí depozice síry 5-10 kg/ha na 95 % území České republiky. Na čtvrtině území byly zjištěny depozice síry pod 5 kg/ha. Na produkci jedné tuny zrna ječmene jarního je třeba 4,2 kg síry. Kvalita sladu je hodnocena dle úrovně modifikace buněčných stěn, obsahu dusíkatých látek, škrobu a enzymů. Bylo prokázáno, že nedostatečná sirná výživa má vliv na složení bílkovin v zrnu ječmene (Shewry at al. 2001). Dochází ke snížení obsahu na síru bohatých B a D hordeinů a ke zvýšení obsahu na síru chudých C hordeinů. Důležitým faktem je, že aplikace síry může snížit obsah dusíku v zrnu díky zřeďovacímu efektu jako důsledku zvýšení výnosu zrna. Síra má vliv i na kvalitativní parametry vyráběného piva. Například na diastatickou mohutnost, aktivitu alfa-amylázy, friabilitu a obsah beta-glukanů v mladině. Za některých podmínek mohou vznikat sloučeniny, které nepříznivě ovlivňují senzorickou kvalitu piva. Patří k nim např. dimethylsulfid (DMS) a jeho prekurzory (PDMS). Optimální koncentrace DMS i PDMS ve sladu nejsou zcela jasné, protože na jejich stabilitu a následnou syntézu dalších látek má vliv pH, teplota a doba vaření mladiny i další přidané suroviny. Jejich zdrojem může být i chmel a pivovarské kvasnice. Přesné koncentrace se stanovují až ve finálním výrobku. Kosař a Procházka (2000) udávají že, při překročení koncentrace 50 µg/l dochází ke zhoršení senzorických vlastností piva, k ovlivnění chuti a pěnivosti. Naopak Basařová a kol. (2010) udává jako senzoricky nepříznivou hodnotu 100 µg/l. V této koncentraci pivo získává dokazatelně mladinovou až zeleninovou příchuť. U piva Českého typu je používán tzv. světlý slad s obsahem DMS 2 -15 mg/kg a tmavý slad s obsahem DMS 1 – 3 mg/kg (Hřivna, Gregor, 2010). DMS je v pivu produkován ze svých prekurzorů S-methylmethioninu (SMM) a dimethylsulfoxidu (DMSO) ve sladu, později je také produktem rozkladu SMM během sušení sladu. Cílem práce je zhodnocení vlivu síry, přidané k dusíkatému hnojení na výnos a sladovnickou kvalitu. Hlavním ukazatelem obsah dusíkatých látek v zrnu a obsah prekurzorů dimethylsulfidu (PDMS) a dimethylsulfidu (DMS) ve sladu.

MATERIÁL A METODIKA

Experiment probíhal v roce 2010 na polní pokusné stanici Obora Školního zemědělského podniku v Žabčicích, který spadá do kukuřičné výrobní oblasti. Dlouhodobý průměr srážek a teplot a aktuální stav v roce 2010 na této lokalitě ukazuje obr.1. Problematika byla řešena formou maloparcelkového polního pokusu s šesti odrůdami sladovnického ječmene. Použity byly odrůdy Českého piva - Aksamit, Bojos a Radegast a odrůdy pěstované hlavně pro export – Jersey, Prestige

a Sebastian. Vlastnosti půdy před založením pokusu a časový harmonogram uvádí tabulka 1 a 2. Jednotlivé varianty, tedy 1. sírou nehnojeno, 2. hnojeno sírou v DC 31 a 3. hnojeno sírou v DC 55, byly vysety vždy ve třech opakováních, bezezbytkovým maloparcelkovým secím strojem Wintersteiger s výsevkem 4 MKS. Síra byla aplikována foliárně ve formě suspenze mikronizované elementární síry s bentonitem (80 %) v dávce 8 kg/ha. Všechny varianty byly jednotně hnojeny dusíkem v dávce 40 kg/ha v LAD. Předplodinou byla jarní pšenice. Po sklizni byl stanoven výnos zrna, přepočten na 14 % vlhkost, obsah dusíkatých látek, obsah síry v předním zrnu a obsah dimethylsulfidu (DMS) a jeho prekurzorů (PDMS). Výsledná data byla zpracována vícefaktorovou analýzou variance s využitím softwaru STATISTICA version 9.0 a následným testováním významnosti rozdílů pomocí Tuckeyova testu.

Obr. 1 Průběh teplot a srážek na lokalitě Žabčice (dlouhodobý průměr 1961 – 1990 a 2010)



Tab. 1 Agrochemické vlastnosti půdy před založením pokusu (0 – 30 cm)

		mg/kg				
N min	**pH**	**P**	**K**	**Ca**	**Mg**	**S vodoroz.**
17,42	6,93	111	227	4694	530	11,0

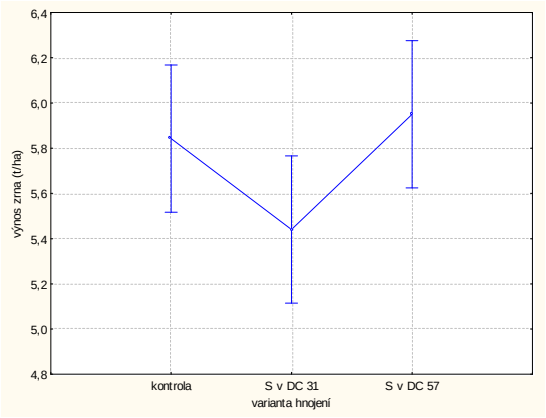
Tab. 2 Časový harmonogram pokusu

datum	**operace**
25. 3. 2010	výsev
29. 3. 2010	hnojení LAD (40 kg/ha)
28. 5. 2010	aplikace S v DOLOSULU
24. 6. 2010	aplikace S v DOLOSULU
21. 7. 2010	sklizeň

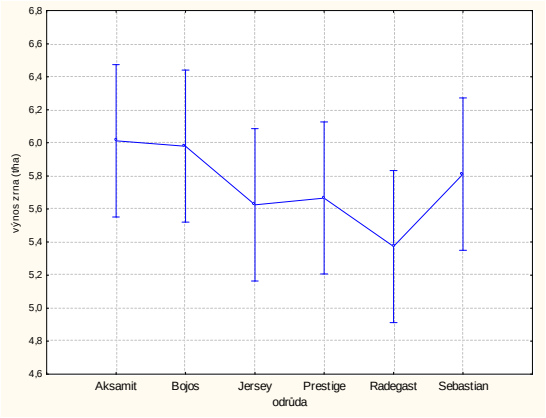
VÝSLEDKY A DISKUZE

Výnos zrna ječmene jarního v roce 2010 se pohyboval v rozmezí 5,03 – 6,07 t/ha. Na celkový výnos nemělo přihnojení sírou v obou fázích vegetace statisticky významný vliv (graf 1). Pravděpodobným důvodem je průběh a rozložení srážek (obr. 1). Těsně po foliární aplikaci síry ve fázi DC 31, která se díky předchozím pokusům jeví jako nejvhodnější termín z důvodu zakládání výnosotvorných prvků, spadlo na sledovanou lokalitu 9,1 mm srážek. Vzhledem k pohyblivosti síry v rostlinách, kdy je třeba na začlenění do metabolických pochodů 1 - 2 dny, nebyla síra z této aplikace rostlinami pravděpodobně dostatečně využita. Při aplikaci v DC 57, kdy měla aplikace normální průběh, dochází k nárůstu celkového výnosu. Podobné závěry uvádí i Babiánek a Ryant (2009) a Hřivna a Gregor (2010). Průkazné rozdíly byly zaznamenány mezi jednotlivými odrůdami (graf 2). Výnos je v kombinaci s optimálními pěstebními podmínkami odrůdová vlastnost. Podle Chloupka a Dostála (2006), za rozdíly mezi jednotlivými odrůdami může velikost kořenového systému. Ta je řízena geneticky, konkrétně obsahem genu *mlo*. Interakce mezi sledovanými faktory, tedy odrůdami a termínem aplikace síry, k výnosu ukazuje graf 4. Nejvyšší výnos byl dosažen po aplikaci síry v DC 57 u odrůdy Bojos.

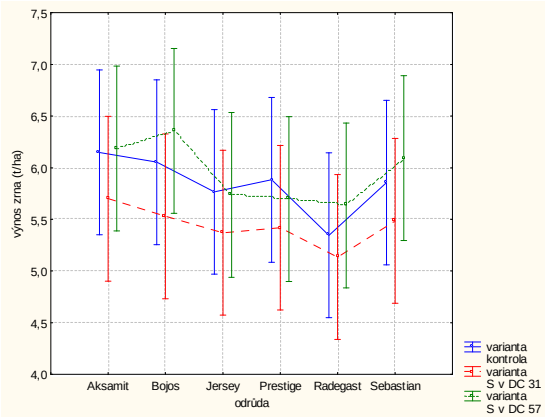
Graf 1 Vliv aplikace síry na výnos zrna



Graf 2 Vliv odrůdy na výnos zrna

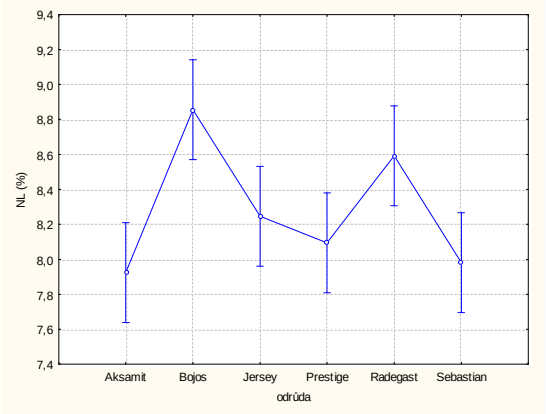


Graf 3 Vliv aplikace síry a odrůdy na výnos zrna

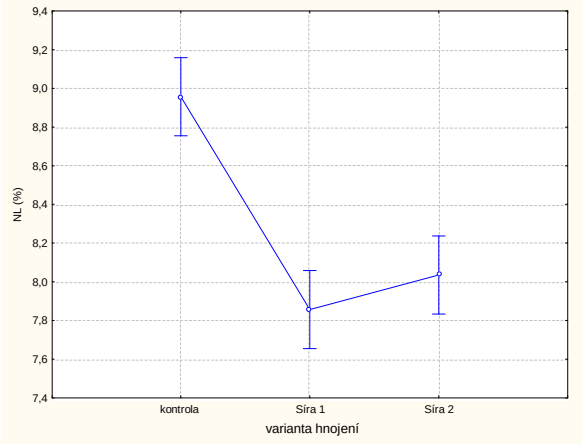


Obsah dusíkatých látek v zrnu byl statisticky významně vyšší u odrůdy Bojos a Radegast (graf 4). Při aplikaci síry v obou fázích došlo ke statisticky významnému snížení obsahu dusíkatých látek v zrnu (graf 5).

Graf 4 Vliv odrůdy na obsah dusíkatých látek v zrnu



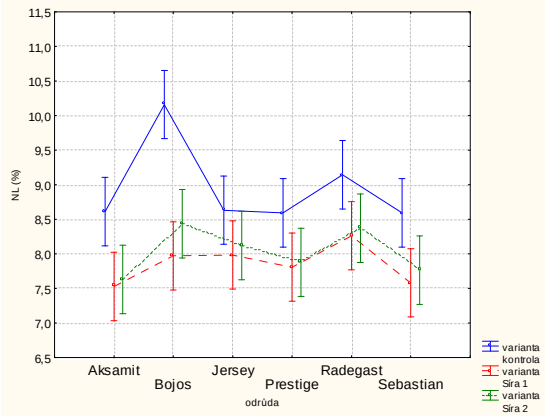
Graf 5 Vliv aplikace síry na obsah dusíkatých látek v zrnu



ČSN 46 11 00 – 5 požaduje obsah dusíkatých látek v zrnu v rozmezí 10,5 – 11,5 %. U všech sledovaných odrůd, za daného období, byl zjištěn nízký obsah dusíkatých látek v zrnu. Hodnoty se pohybovaly v rozmezí 7,88 % u odrůdy Aksamit po 8,90 % u odrůdy Bojos. Průběh sledovaného ročníku byl z hlediska klimatických podmínek atypický, s velkým počtem srážek v první fázi vývoje rostlin. Snížení obsahu dusíkatých látek v tomto roce nebylo prospěšné, protože i nejvyšší obsah dusíkatých látek u odrůdy Bojos 8,9 % nedosahoval dolní hranice pro sladovnickou jakost. Tento ječmen by byl tedy sladovnicky velmi těžko využitelný. V opačném případě, tedy při

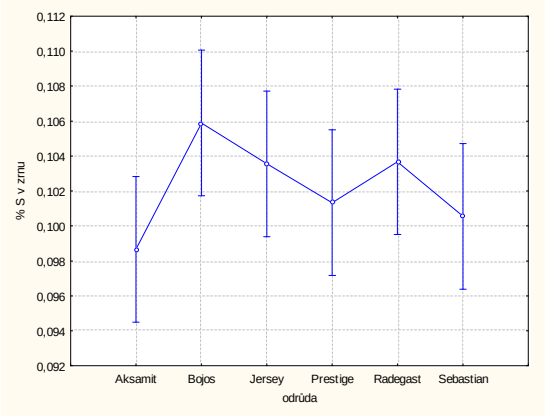
vysokém obsahu dusíkatých látek v zrnu, což bývá častý problém aridních oblastí a tím také Žabčic, by byl vliv síry na snížení obsahu dusíkatých látek v zrnu více než žádoucí a mohl by pomoci dosáhnout požadované sladovnické kvality z hlediska obsahu dusíkatých látek v zrnu. Podobné závěry udává Zhao a Fortuna (2006) a Grzebisz a Cyna-Przygocka (2007). Graf číslo 7 uvádí celkové srovnání faktorů na obsah dusíkatých látek v zrnu. Průkazně největší pokles obsahu dusíkatých látek v zrnu byl po aplikaci síry v DC 31 u odrůdy Bojos.

Graf 6 Vliv aplikace síry a odrůdy na obsah dusíkatých látek v zrnu

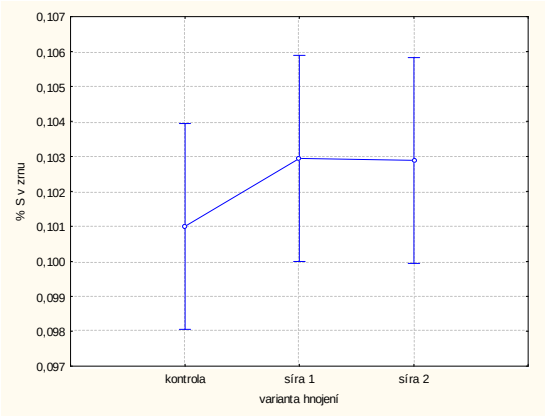


Nejvyšší obsah síry v předním zrnu byl zjištěn u odrůdy Bojos a Radegast. Tyto dvě odrůdy patří k odrůdám pro výrobu Českého piva (graf 7).Vyšší obsah síry v zrnu u těchto odrůd je žádaný.

Graf 7 Vliv odrůdy na procentuální obsah síry v předním zrnu

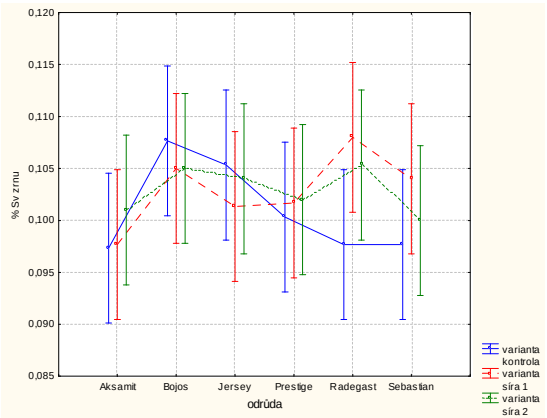


Graf 8 Vliv aplikace síry na procentuální obsah síry v předním zrnu



Jak uvádí Mikulíková (2010) a Kosař a Procházka (2000) je u typů piva ležák, vyráběných z těchto odrůd, potřeba vyšší obsah sirných látek, především dimethylsulfidu. proto není na překážku i vyšší obsah síry v předním zrnu, které slouží jako základní surovina pro sladování. K mírnému zvýšení obsahu síry v předním zrnu došlo po aplikaci síry v obou zkoušených termínech tedy DC 31 a 57. Zvýšení obsahu však nebylo statisticky průkazné (graf 8). Z námi získaných dat vyplývá, že nedochází k velkému nárůstu obsahu síry a tím i zhoršení sladovnické kvality při pozdější aplikaci síry (graf 9).

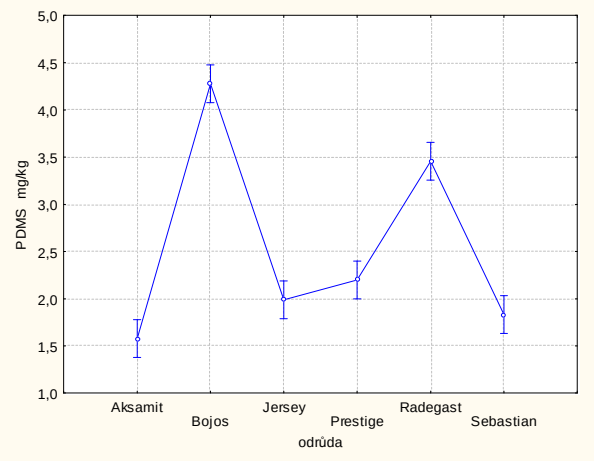
Graf 9 Vliv aplikace síry a odrůdy na procentuální obsah síry v předním zrnu



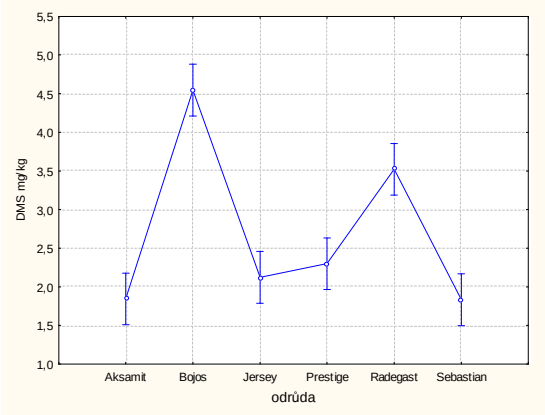
Obsah prekurzorů dimethylsulfidu (PDMS) a vlastního dimethylsulfidu (DMS) v pivu je různými autory uváděn různě. Kosař a Procházka (2000) uvádí, že limitující je obsah 50 µg/l. Mikulíková (2010) udává rozsah hodnot 35 – 40 µg/l a Basařová (2010) uvádí jako limitující koncentraci až

100 µg/l. U sladu je dle Basařové (2010) maximální hodnota PDMS 6 mg/kg. Hřivna a Gregor (2010) udává rozmezí hodnot dle typu sladu. Světlý slad v rozmezí hodnot 2 – 15 mg/kg a tmavý 1 - 3 mg/l. Vzhledem k tomu, že limitující koncentrace PDMS a DMS jsou zjišťovány až ve finálním výrobku, jsou koncentrace ve sladu orientační. Během procesu vaření piva může dojít jak ke ztrátě PDMS a DMS, díky používané technologii, tak také ke zvýšení obsahu kontaminací z okolí. Statisticky významný rozdíl v obsahu dimethylsulfidu i jeho prekurzorů se projevil pouze u odrůdy Bojos a u odrůdy Radegast (graf 10 a 11). Obě odrůdy, Bojos i Radegast, vykazují vyšší obsah PDMS i DMS ve sladu, ale nebyla překročena mezní hodnota 6 mg/kg.

Graf 10 Vliv odrůdy na obsah PDMS ve sladu

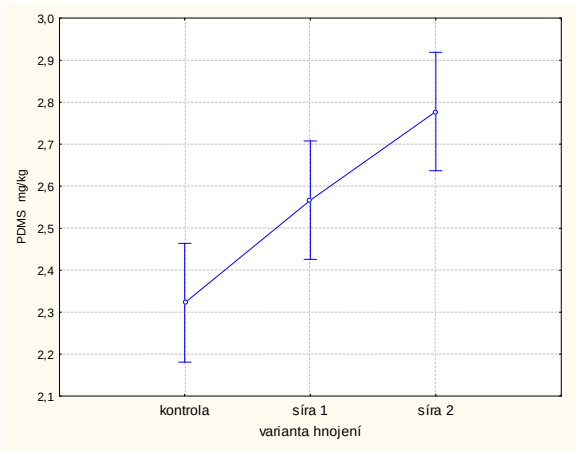


Graf 11 Vliv odrůdy na obsah DMS ve sladu

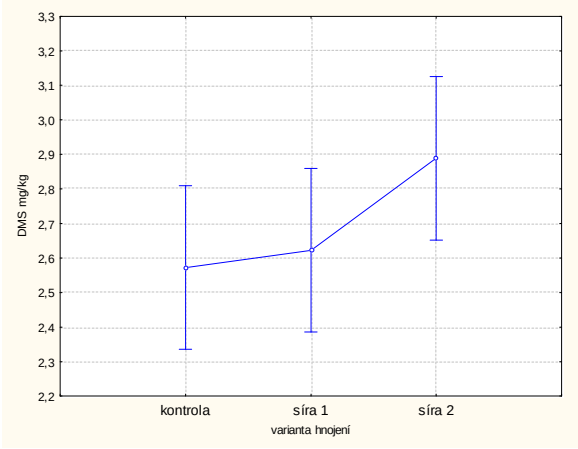


Obsah PDMS i DMS ve sladu narůstá s přidáním síry jak v DC 31 tak i v DC 57. Hodnoty 2,8 mg/kg u PDMS a 2,9 mg/kg u DMS splňují mezní hodnotu pro slad. Podle rozdělení na tmavý a světlý slad, splňují limit pro tmavý slad (graf 12 a 13). Vliv interakce obou faktorů (odrůda a aplikace síry) na obsahu PDMS a DMS ukazuje na vyšší obsah PDMS i DMS u odrůd pro výrobu Českého piva oproti exportním odrůdám. Rozdíly mezi aplikací v DC 31 a 57 však nejsou průkazné. Nejvyšších hodnot dosahuje odrůda Bojos v kombinaci s aplikací síry v DC 57 (graf 14 a 15).

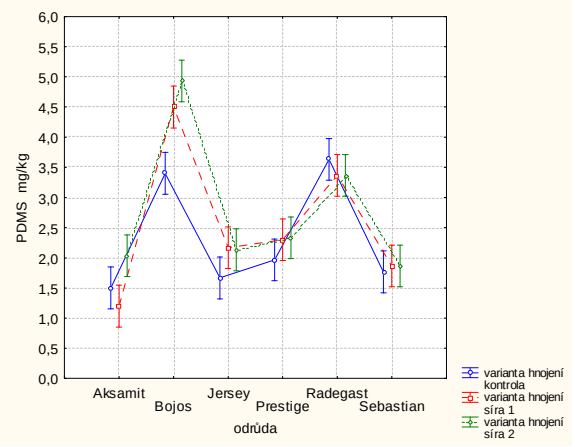
Graf 12 Vliv aplikace síry na obsah PDMS ve sladu



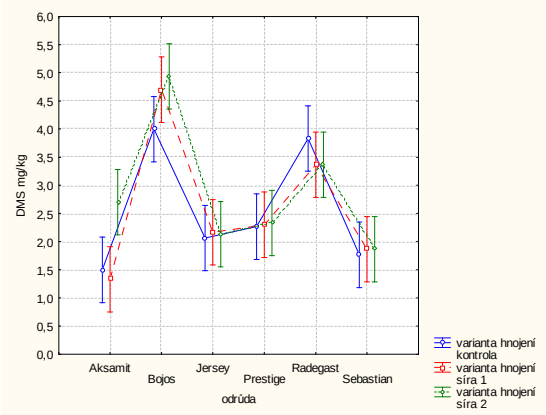
Graf 13 Vliv termínu aplikace síry na obsah DMS ve sladu



Graf 14 Vliv aplikace síry a odrůdy na obsah PDMS zrnu



Graf 15 Vliv aplikace síry a odrůdy na obsah DMS zrnu



ZÁVĚR

Na celkový výnos zrna neměla aplikace síry statisticky významný vliv.

Obsah dusíkatých látek v zrnu aplikace síry snižuje, což vzhledem k limitním obsahům dusíkatých látek pro sladovnické účely může mít pozitivní vliv při vyšší úrovni dusíkatého hnojení.

Obsah síry v předním zrně stoupal s každou aplikací, ale nepotvrdila se hypotéza, že při pozdější aplikaci vzroste obsah síry a tím i dimethylsulfidů a jejich prekurzorů nad limitní hodnoty.

Hodnoty obsahu dimethylsulfidů a jeho prekurzorů rostly s obsahem síry. Projevil se zde jasný rozdíl mezi jednotlivými odrůdami sladovnického ječmene, kdy odrůdy určené pro český trh dosahovaly vyšších hodnot než odrůdy exportní. Po aplikaci síry nedošlo k překročení optimální koncentrace PDMS a DMS ve sladu uváděné v literatuře.

LITERATURA

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 str. 25.

Babiánek P., Ryant P., Vavrušková P. (2009): Výnos a kvalita sladovnického ječmene po aplikaci různých forem síry. In: Sborník z konference „Sladovnický ječmen – regulace tvorby výnosu a kvality“. Sborník konference“Sladovnický ječmen – regulace tvorby výnosu a kvality“ str.58 -59.

Basařová G., Šavel J., Basař P., Lejsek T. (2010): Pivovarnictví, teorie a praxe výroby piva. VŠCHT Praha, 904 s.

Hřivna L., Gregor T. (2010): Role síry při tvorbě a výnosu zrna ječmene jarního, parametrů jakosti sladu a PDMS. In: Kvasný průmysl, 56(2): str. 69 - 73

Kosař K., Procházka S. (2000): Technologie výroby sladu a piva, VÚPS, Praha, 398 s.

Mikulíková R. (2010): Studium vybraných typů sirných látek v pivu a pivovarských surovinách. Disertační práce, Vysoké učení technické v Brně, Brno, 111 s.

Shewry, P. R., Tatham, A. S., Halford, N. G. (2001): Nutritional control of storage protein synthesis in developing grain of wheat and barley. *Plant Growth Regulation*, 34(1): 105-111

Zhaoa F., J., Fortuna S., Barbossa V., L., McGrath S., P., Stobartb R. Bilsborrowe P. E., Boothd E. J., Brownw A., Robsonf P. (2006): Effects of sulphur on yield and malt quality of barley. Journal of Cereal Science, 43(3): 369 - 377

Grzebisz W., Przygocka-Cyna K. (2007): Spring malt barely response to elemental sulphur - the prognostic value of N and S concentrations in malt barley leaves. Plant Soil Environ, 53(9): 388 - 394.

SPECIES SPECTRUM OF POLLEN BEETLES FROM GENUS *MELIGETHES* AT SELECTED LOCALITIES OF THE CZECH REPUBLIC IN YEAR 2010

Tóth P.[1], Hrudová E.[1], Sapáková E.[1], Seidenglanz M.[2], Poslušná J.[2]

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

[2] AGRITEC, Research, Breeding & Services, Ltd., Zemědělská 2520/1, 78701 Šumperk

E-mail: pavel.toth@mendelu.cz

ABSTRACT

There has been observed the species spectrum of pollen beetles of genus *Meligethes* on 26 localities in the Czech Republic. The index dominance (D) was used for evaluation of representative populations of individual species. Beetles were collected into plastic box and killed. They were determined in laboratory using a species specific characters and their comparison with a field guids. *M. aeneus* (Fabricius, 1787) was eudominant at all of localities. *M. subaeneus* Sturm, 1845 was eudominant at localities Pivonice, Lazníky, Blučina, Ždár nad Sázavou and Zvole. *M. viridescens* Fabricius, 1787 was eudominant at locality Věcov. *M. erythropus* (Marsham, 1802) was eudominant at locality Bohdalec. *M. subaeneus* Sturm, 1845, *M. viridescens* Fabricius, 1787 and *M. erythropus* (Marsham, 1802) are dominant species at some localities.

Key words: *Meligethes*, species spectrum, dominance index

Acknowledgement: This study was supported by NAZV QH 81218 and MENDELU IGA IP 11/2011.

ÚVOD

Blýskáček řepkový je mnoho let vážným škůdcem řepky v Evropě. V současné době je novým problémem rezistence blýskáčka řepkového k pyrethroidům. Ne na všech lokalitách je úroveň rezistence stejná. To může mít více důvodů, jedním z nich může být druhové složení populace blýskáčků v určité lokalitě. *M. aeneus* je svým vývojem vázán přímo na řepku, avšak dospělci se mohou živit na různých druzích rostlin z různých čeledí. Jak uvádí Charpentier (1985) preferuje blýskáček řepkový druhy čeledi Brassicaceae, ale také rostliny z čeledí Asteraceae, Rosaceae a Papaveraceae. Hojní jsou také na máku setém (*P. somniferum*). *M. subaeneus* žije na *Cardamine* spp., *M. coracinus* většinou na druzích z čeledi Brassicaceae (Audisio, 2001). Živnými rostlinami *M. viridescens* jsou zástupci čeledi Brassicaceae. Živnou rostlinou larev *M. nigrescens* Stephens 1830 je *Trifolium repens* (Bullock, 1992).

MATERIÁL A METODIKA

Druhové spektrum blýskáčků z rodu *Meligethes* bylo sledováno ve sběrech prováděných při monitoringu rezistence blýskáčků k pyrethroidům v roce 2010. Brouci byli získáváni dle metodiky IRAC 11 (Porter, 2007) na 26 lokalitách viz tabulka 1.

Determinace brouků byla prováděna na základě vnějších morfologických znaků a preparace genitálií (Audisio et al., 2001, Audisio et al., 2005, Marczali et Keszthelyi, 2003, Nunberg, 1976).

Ze získaných dat byl vypočítán index dominance jednotlivých druhů na sledovaných lokalitách, který vyjadřuje zastoupení jednotlivých populací v celkovém počtu jedinců jednotlivých druhů v biocenóze. Pro jeho výpočet byl použit vzorec:

$$D = \frac{n_i}{n} \cdot 100 \ (\%)$$

kde ni je hodnota významnosti druhu tj. počet jedinců sledovaného druhu, a n je součet hodnot významnosti všech druhů tj. celkový počet odchycených jedinců, 100 je koeficient (Losos, 1985) (Losos et al., 1985). Jednotlivé druhy jsou řazeny do pěti tříd dominance dle procentického zastoupení: Eudominantní > 10,1 %, dominantní 5,1-10 %, subdominantní 2,1-5 %, recedentní 1,1-2 % a subrecedentní < 1 %, jak tyto třídy uvádí (Losos et al., 1985).

VÝSLEDKY A DISKUZE

V našich pokusech byly v odchytech v porostech řepky při monitorování citlivosti blýskáčka řepkového k pyrethroidům v roce 2010 zjištěny druhy M. aeneus, M. subaeneus, M. viridescens, M. erythropus, M. coracinus, M. atratus (Olivier, 1790), Meligethes maurus (Sturm, 1845). Jejich zastoupení uvádí Tab. 1.

Tab.1 Zařazení jednotlivých zjištěných druhů rodu Meligethes do tříd dominance (D %)

	Třída dominance druhu				
Lokalita	**D5 eudominantní**	**D4 dominantní**	**D3 subdominantní**	**D2 recedentní**	**D1 subrecedentní**
Rodkov	Meliae 93,6	Melery 5,2			Melsub 0,3 Melvir 0,6 Melcor 0,3 Melatr 0 Melmau 0
Tasovice u Kunštátu	Meliae 96,1			Melsub 2,0 Melery 2,0	Melvir 0,0 Melcor 0 Melatr 0 Melmau 0
Bystřice n. Pernštejnem (Lesoňovice)	Meliae 91,9		Melsub 2,2 Melery 4,4	Melvir 1,5	Melcor 0 Melatr 0 Melmau 0
Jamné	Meliae 81,6	Melvir 8,6 Melery 6,0	Melsub 2,6		Melcor 0,8 Melatr 0,4 Melmau 0
Bohdalec	Meliae 70,4 Melery 11,2	Melsub 9,9 Melvir 6,6		Melatr 1,3	Melcor 0,7 Melmau 0
Domanínek	Meliae 83,1	Melsub 6,7 Melery 7,3	Melvir 2,8		Melcor 0 Melatr 0 Melmau 0
Pivonice	Meliae 78,7 Melsub 11,1	Melvir 7,4	Melery 2,8		Melcor 0 Melatr 0 Melmau 0
Velké Janovice	Meliae 96,9			Melsub 1,5 Melery 1,1	Melcor 0 Melatr 0 Melmau 0
Dolní Rozsíčka	Meliae 87,6	Melvir 5,6	Melsub 2,1 Melery 3,9		Melcor 0 Melatr 0,9 Melmau 0
Nové Město na Moravě	Meliae 85,6	Melsub 6,5	Melery 3,7 Melcor 3,2		Melvir 0,5 Melatr 0,5 Melmau 0
Lazníky	Meliae 69,4 Melsub 28,9			Melery 1,7	Melvir 0 Melcor 0 Melatr 0 Melmau 0
Velká nad Veličkou	Meliae 93,2	Melsub 5,7			Melvir 1,0 Melery 0 Melatr 0 Melmau 0
Žabčice	Meliae 92,0	Melsub 5,5		Melvir 1,3	Melery 0,5 Melcor 0,8 Melatr 0 Melmau 0
Měnín	Meliae 91,6	Melsub 6,5		Melcor 1,3	Melvir 0,4 Melery 0

					Melatr 0,2 Melmau 0
Věcov	Meliae 75,7 Melvir 10,8	Melsub 8,1 Melcor 5,4			Melery 0 Melatr 0 Melmau 0
Žatčany	Meliae 90,1	Melsub 5,6	Melcor 2,5	Melmau 1,1	Melvir 0,4 Melery 0 Melatr 0,4
Telnice	Meliae 90,5	Melsub 5,9		Melvir 1,1 Melcor 1,1 Melmau 1,1	Melery 0 Melatr 0,4
Blučina	Meliae 87,5 Melsub 10,6			Melcor 1,1	Melvir 0 Melery 0,4 Melatr 0 Melmau 0,4
Vnorovy	Meliae 91,0	Melsub 7,5			Melvir 0,7 Melery 0 Melcor 0 Melatr 0 Melmau 0,7
Žďár nad Sázavou	Meliae 79,6 Melsub 14,9		Melvir 3,2		Melery 0,9 Melcor 0,5 Melatr 0,9 Melmau 0
Olešnice	Meliae 90,7	Melsub 7,4		Melvir 1,9	Melery 0 Melcor 0 Melatr 0 Melmau 0
Nesovice	Meliae 95,5		Melsub 4,5		Melvir 0 Melery 0 Melcor 0 Melatr 0 Melmau 0
Zvole	Meliae 80,4 Melsub 10,8	Melvir 5,9	Melcor 2,4		Melery 0,3 Melatr 0 Melmau 0
Hodějice	Meliae 92,1	Melsub 7,1			Melvir 0,8 Melery 0 Melcor 0 Melatr 0 Melmau 0
Letonice	Meliae 95,1		Melsub 3,8	Melcor 1,1	Melvir 0 Melery 0 Melatr 0 Melmau 0
Bedihošť	Meliae 94,4		Melsub 2,8	Melery 1,4 Melcor 1,4	Melvir 0 Melatr 0 Melmau 0

Blažovice	Meliae 93,8		Melsub 3,2	Melvir 1,2 Melery 1,8	Melcor 0 Melatr 0 Melmau 0

Marczali et Keszthelyi 2003, sledovali druhové spektrum blýskáčků v řepce a uvádějí z Maďarska následující druhy: *Meligethes aeneus* (Fabricius, 1775), *M. coracinus* (Sturm, 1845), *M. viridescens* (Fabricius, 1787), *M. picipes* (Sturm, 1845), *M. nigrescens* (Stephens, 1830), *M. maurus* (Sturm, 1845), *M. atratus* (Olivier, 1890), *M. denticulatus* (Heer, 1841), *M. erythropus* (Marsham, 1802). Za dominantní považují *M. aeneus*, za významné *M. coracinus*, *M. viridescens* a *M. picipes*. *M. nigrescens*, *M. maurus* označují za řídce se vyskytující, *M. atratus*, *M. denticulatus* a *M. erythropus* za sporadické. *M. aeneus* a *M. viridescens* jsou predominantní ve Skandinávii (Billqvist et Ekbom, 2001). Druhy *M. denticulatus*, *M.picipes a M. nigrescens* jsme v našich sběrech nezjistili.

ZÁVĚR

Jak vyplývá z vypočtených hodnot indexů dominance (D) pro jednotlivé zjištěné druhy blýskáčků z rodu *Meligethes* Stephens, 1830, patří k eudominantním druhům, tedy těch s nejvyšším podílem odchycených jedinců, na všech lokalitách blýskáček řepkový (*M. aeneus* Fabricius, 1775), na několika lokalitách též *M. subaeneus*. Ten je však na většině lokalit druhem dominantním, stejně jako *M. viridescens* a *M. erythropus* s tím, že tyto dva druhy jsou na některých lokalitách subdominantní. K recedentním a subrecedentním druhům, tedy těm, jejichž zastoupení v populaci dosahuje maximálně dvou procent, patří *M. atratus* a *M. maurus.*

LITERATURA

Audisio, P., Belfiore, C., DeBiase, A., Antonini, G. 2001. Identification of *Meligethes matronalis* and *M. subaeneus* based on morphometric and ecological characters (Coleoptera: Nitidulidae). *European Journal of Entomology*:87-97.

Audisio, P., De Biase, A., Antonini, G., Mancini, E.. 2005. Two new *Meligethes* of the *M.coracinus* complex from southern Europe (Coleoptera, Nitidulidae). *Fragmenta Entomologica* 37:65-89.

Billqvist, A. E., B. 2001. The influence of host plant species on parasitism of pollen beetles (*Meligethes* spp.) by Phradis morionellus. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 98:41-47.

Bullock, J. A. 1992. Host plants of British Beetles: A list of Recorded Association. Amateur Entomologists´ Society (AES)

Charpentier, R. 1985. Host plant selection by the pollen beetle *Meligethes aeneus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 38:277-285.

Losos, B., Maget, J., Ryšavý J. 1985. Ekologie živočichů, 1 ed. Státní pedagogické nakladatelství, Praha.

Marczali, Z., Keszthelyi, S. 2003. A study on Meligethes species in Keszthely, 2002. *Journal of Central European Agriculture (online)* 4:237-244.

Nunberg, M., Ed. 1976. Lyszczynkowate - Nitidulidae. *Klucze do oznaczania owadów Polski. Chrzaszcze - Coleoptera.* XIX:1-91.

Porter, A. 2007. IRAC Susceptibility Test Methods Series. Method No: 11 *IRAC Susceptibility Test Methods Series*, pp. 1-7. IRAC - Insecticide Resistance Action Committee.

INFLUENCE OF GENOTYPE AND ENVIRONMENT ON SEED VIGOUR OF BARLEY

Ullmannová K., Chloupek O.

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

E-mail: k.ullmannova@seznam.cz

ABSTRACT

High seed vigour is a precondition for fast and homogenous field emergence and good malting quality in barley. We evaluated the influence of population of 133 *Derkado* x *B83-12/21/5* double - haploid lines (DHL), plus their parents to six environments (2 locations x 3 harvest years) on grain vigour evaluated as germination percentage under stress conditions at 10 °C and drought stress of - 0,2 MPa (permanent wilting point). The experiment was grown in two locations (Želešice, Hrubčice) and harvested in 2008 - 2010. The effects of genotypes and environments were estimated by analysis of variance. The results showed that the vigour was influenced mostly by environment (51 %, i.e 32% by locations and 19% by years), less by the lines (8%) and by their interaction (37%) of the total variation. Average seed vigour of DHL was 94% from Želešice and 95% from Hrubčice, i.e. relatively high. Parental variety *Derkado* as the better parent showed higher vigour in worse location Želešice. These results are precondition for use of the vigour as a selection criterion in breeding; the genetic variability for the vigour (8%) was higher than for grain yield (usually 3-4%).

Key words: seed vigour, malting barley, germination

Acknowledgement: This study was supported by the project MSM 6215648905 and 1M0570.

ÚVOD

Pro úspěšné pěstování zemědělských plodin je limitujícím faktorem optimální založení porostu a jeho rychlé a uniformní vzcházení, neboť jen takový porost splňuje předpoklad pro vysoký výnos tržního produktu. Při současné zvětšující se proměnlivosti povětrnostních podmínek se zvyšuje důležitost kvalitního rozmnožovacího materiálu, který se v takových podmínkách stává základem budoucího výnosu.

V praxi je kvalita osiva v systému certifikace osiv vyjádřena semenářskými hodnotami, jako je klíčivost, čistota, HTS, zdravotní stav, vlhkost, odrůdová pravost a čistota. Klíčivost je objektivní test, který se hodnotí za standardních optimálních laboratorních podmínek. Polní podmínky však zřídkakdy odpovídají podmínkám laboratorním. Rozdíl mezi laboratorní klíčivostí a polní vzcházivostí je zapříčiněn jak vnitřními podmínkami osiva, tak kombinací faktorů vnějšího prostředí. Korelace klíčivosti s polní vzcházivostí je často nízká a závisí na podmínkách při vzcházení a na vitalitě osiva. Malé rozdíly v procentu klíčivosti mohou odrážet velké rozdíly v kvalitě osiva a dosud nevyjasněný koncept vitality by k tomu měl v budoucnu přispět (Landjeva 2010).

Vitalita semen je dle Chloupka (2003) hodnocena jako potenciál semen pro rychlé a uniformní vzejití a pro vývoj normálního semenáčku za širokého spektra polních podmínek. Black a Bewley (2000) uvádějí, že vitalita není jednoduše měřitelná vlastnost, ale pojem popisující několik charakteristik, které zahrnují rychlost a uniformitu klíčit a růst, toleranci ke stresovým podmínkám po zasetí a udržení si vitality během skladování. Jinými autory je vitalita definována jako suma takových vlastnosti semen, které určují úroveň aktivity a projevu semen během klíčení a vzcházení (Hampton and TeKrony 1995). Testy vitality, které měří pouze jeden faktor, určují nespolehlivě vitalitu semen, neboť jen kombinace několika faktorů může dát dobrou předpověď polní vzcházivosti (Hampton a Coolbear 1990) právě proto, že vitalita je dána mnoha faktory.

Pouze málo testů je doporučeno ISTA (International Seed Testing Association) především z důvodů nízké reprodukovatelnosti mezi laboratořemi. Užitečné testy vitality jsou takové, které spolehlivě, kvantifikovatelně, rychle a jednoduše hodnotí kvalitu osiva a jsou relevantní k polním podmínkám (Dornbos 1995). ISTA dále uvádí že, vhodné jsou pouze testy, které mají vztah mezi laboratorním testem vitality a polním výnosem nebo skladovacím potenciálem a jestliže tyto vztahy jsou těsnější, než mezi laboratorní klíčivostí a výnosem na poli. (ISTA 2001).

Vitalita je ovlivněna genetickými i enviromentálními podmínkami (Bewley 2000, aj.). Výzkumu vlivu prostředí na vitalitu semen se věnovalo a věnuje značné úsilí (např. Sinniah et al. 1998), avšak

genetická kontrola vitality je méně známá. Proto se v posledních letech soustřeďuje značné úsilí tímto směrem. U *Arabidopsis* byly identifikovány QTL (Quantitative Trait Loci) pro klíčivost (Malmberg et al. 2005) i vitalitu (Clerkx et al. 2004) a byl popsán společný lokus pro klíčivost a počáteční růst (Argyris et al. 2005). Byly popsány výsledky studie věnované heritabilitě vitality u ječmene (Edney a Mather 2004) a jsou již známy i QTL související s vitalitou obilovin (Landjeva 2010), které mohou být pomocníkem pro šlechtitelskou praxi, protože je z nich patrné, se kterými vlastnostmi je v genetické vazbě.

Kvalita a vitalita zrna ječmene jarního hraje důležitou roli při sladování, neboť požadavky zpracovatelského průmyslu na kvalitu zrna sladového ječmene jsou stanoveny v normě ČSN 461100-5, která požaduje 98 % klíčivost. Vysoká vitalita je předpokladem dobré kvality semen a dobrého skladovacího potenciálu i rychlého a homogenního klíčení. Pouze zdravá semena mohou dosáhnout vysoké vitality semen (Chloupek 2003). Nízká klíčivost negativně ovlivňuje kvalitu sladu, protože nevyklíčená zrna jsou substrátem pro rozvoj plísní a jiných nežádoucích mikroorganismů, mohou zde také vznikat jedovaté mykotoxiny, které se přenášejí až do piva.

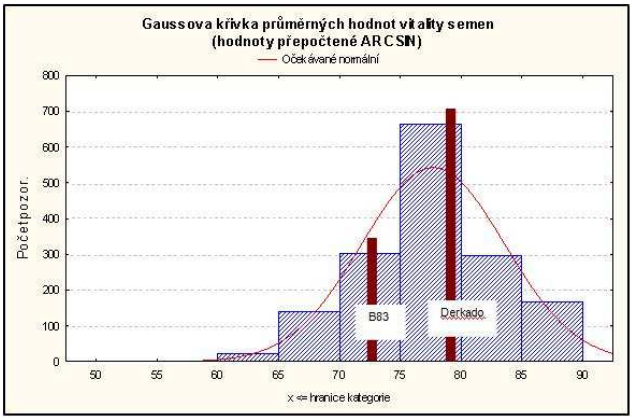
MATERIÁL A METODIKA

Pro test vitality obilek bylo použito 133 dihaploidních linií (DHL) jarního ječmene (*Hordeum vulgare L.*) z křížení odrůdy *Derkado* a linie *B 83/5*, které nesou rozdílné geny polozakrslosti *sdw*1 a *arie-e*.GP. Rodičovské linie a DHL byly poskytnuty Dr. B. P. Forsterem ze Scottish Crop Research Institute Dundee a použity pro společný výzkum (Chloupek et al. 2006). Rodiče a DHL byly pěstovány v šesti prostředích, tj. ve třech ročnících (2008, 2009, 2010) a na dvou pokusných lokalitách (Hrubčice a Želešice). Setí probíhalo na obou lokalitách vždy ve stejném termínu 10. 3. 2008, 6. 4. 2009 a 24. 3. 2010. Porost nebyl během vegetace ošetřován žádnými chemickými prostředky, probíhalo pouze průběžné mechanické odstraňování plevelných rostlin. V plné zralosti byly klasy vystříhány (18. 7. 2008, 5. 8. 2009, 3. 8. 2010) a následně vymláceny na klasové mlátičce. Po ukončení dormance obilek (cca po 100 dnech) byly vzorky podrobeny laboratornímu testu vitality, která byla stanovena jako procento klíčivosti ve stresových podmínkách, tj. při chladu 10^{o}C a za fyziologického sucha - 0,2 MPa ve vodním roztoku polyethylenglykolu (PEG 6000), tato koncentrace představuje limit trvalého vadnutí rostlin. Metodika stanovení vitality semen byla popsána pro ječmen Chloupkem et al. (1997).

VÝSLEDKY A DISKUZE

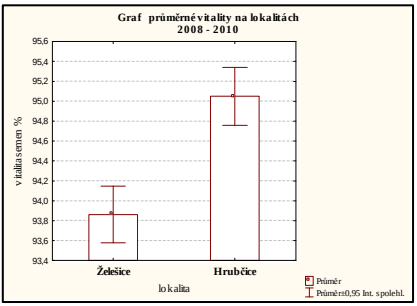
Rozdělení četnosti vitality semen DHL (graf č. 1) odpovídá normálnímu rozdělení (Gaussově křivce) a data mohla být proto zhodnocena analýzou variance. Hodnoty DHL leží převážně mezi hodnotami rodičů. Dané zjištění svědčí o převažující aditivní činnosti genů řídících tuto vlastnost, což je pro šlechtění výhodné. Z grafu č. 1 je patrný efekt heteroze, neboť 29 DHL přesahuje ve své vitalitě lepšího z obou rodičů, což je důležitým předpokladem pro šlechtění.

Průměrná hodnota vitality obilek odrůdy Derkado ze všech šesti prostředí byla 96 % a statisticky významně se lišila od linie B83 (91,5 %). Průměrná hodnota Derkada ze Želešic byla 97 % a z Hrubčic byla hodnota nižší (95 %). Avšak průměrná hodnota linie B83 ze Želešic byla 91 %, kdežto z Hrubčic 92 %. Průměrná vitalita všech DHL z šesti prostředí byla 94,5 %, z Hrubčic 95,1 % a ze Želešic významně nižší (93,9 %, graf č. 2). Vitalita Derkada s vyšší vitalitou oproti horšímu rodiči B83 a DHL byla vyšší ze Želešic, tj. z horšího prostředí. To potvrzuje výsledky Chloupka et al. (2003), že vliv odrůdy na vitalitu byl vyšší v nepříznivých letech, kdy vitalita dosahovala 61, 77, 86 % narozdíl od let dobrých, kdy převažoval vliv lokality a vitalita dosahovala hodnot převyšujících 94 %.

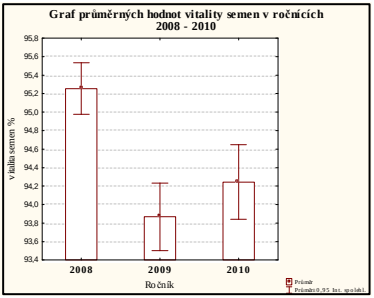


Graf. č. 1: Křivka rozdělení četnosti průměrných hodnot vitality ze šesti prostředí u 133 DHL ve srovnání s rodičovskými odrůdami

U odrůdy *Derkado* byla zjištěna nejvyšší vitalita semen v roce 2010 (98 %), nižší v roce 2008 (97 %) a v roce 2009 (93 %). Linie *B83* dosáhla v roce 2009 nejvyšší hodnotu 92 %, v roce 2008 (91,5 %) a v roce 2010 (91 %). Tyto hodnoty ukazují, že nejvyšší vitality dosáhl lepší rodič *Derkado* v roce 2010, a naopak nejnižší vitalitu dosáhl v tomto roce horší rodič *B83* ve srovnání s ročníkem 2009, kdy *Derkado* dosáhlo nejnižší průměrné hodnoty a linie *B83* nejvyšší vitality ze všech sledovaných let. Z grafu č. 3 je patrná nejvyšší průměrná hodnota vitality semen DHL 95,3 % v roce 2008, která se statisticky významně lišší od hodnot naměřených v roce 2010 (94,3 %) a 2009 (93,9 %). Hodnoty vitality DHL v ročníku 2008 odpovídají středním hodnotám vitality semen obou rodičů, což odpovídá výkonu potomků, u nich se nacházejí geny obou rodičů. Pro šlechtění na vyšší vitalitu je tedy vhodné vybírat DHL, které měly nejlepší výkon v roce 2010 tedy jako horšího roku pro vysokou vitalitu, ale pro lepšího rodiče byl tento rok dobrý; u těchto DHL je předpoklad, že ve sledované vlastnosti budou mít geny po výkonnějším rodiči.



Graf. č. 2: Průměrné hodnoty vitality DHL na lokalitách.



Graf. č. 3: Průměrné hodnoty vitality DHL v ročnících.

Vliv odrůdy zjištěný celkovou analýzou variance pro ročníky 2008 až 2010 činil 7,7 % (v jednotlivých letech 12 – 31 %, v roce 2008 13,4 %, v 2009 12 % a v 2010 31,4 %). Z celkové analýzy variance činil vliv lokality 32,1 % (v 2008 70,3 %, v 2009 67,5 % a v 2010 28 %). Jak uvádí Sinniah et al. (1998), vitalita je polygenně založený znak, což se projeví ve vyšším vlivu prostředí (ročníku a lokality) na tuto vlastnost, než tomu je u znaků a vlastností, které jsou řízeny jedním nebo jen několika geny to je všeobecně známo. Vliv pokusných ročníků činil 19 %, interakcí a chyby 37,1 % (tab.č.1). Zjištěný podíl genetické proměnlivosti na celkové proměnlivosti byl poměrně vysoký, např. Laidig et al. (2008) v rozsáhlých oficiálních pokusech s výnosem (polygenně založeným znakem) jarního ječmene v Německu vypočítali vliv odrůdy na 3,5 %. Z toho vyplývá, že zjištěný podíl je dostatečně vysoký pro úspěšné šlechtění na vyšší vitalitu semen. Hrstková (2004) uvádí, že při testování osiva ječmene zkouškou kontrolované deteriorace byla nejvýznamnější odrůda, následovaná lokalitou a ročníkem. Vitalita v našich pokusech byla poměrně vysoká, ale v pokusech ze sedmi let (1992 – 2000) dosáhla ve třech z nich jen 61 – 86 %, v ostatních přesáhla 94 %. V těchto špatných letech měli vysokou vitalitu *Jubilant, Kompakt, Krona a Akcent* (Chloupek et al. 2003).

Tab. 1 Celková analýza variance hodnot vitality obilek ječmene zjištěných pro rok 2008 – 2010.

	Stupně volnosti	Variance	F	Průkaznost	Podíl faktorů na proměnlivosti (%)*
Ročník	2	456	19,5	0,000000	18,82
Lokalita	1	1334	57,2	0,000000	32,10
Odrůda	132	78	3,3	0,000000	7,74
a x b	2	627	26,9	0,000000	21,98
a x c	264	42	1,8	0,000000	5,72
b x c	132	28	1,2	0,069957	4,66
a x b x c	264	29	1,2	0,011370	4,76
Chyba	798	23			4,22

*a - ročník, b - lokalita, c - odrůda, * Podíl jednotlivých faktorů na celkové proměnlivosti na celkové variabilitě byl vypočten z hodnot směrodatné odchylky (tj. z druhé odmocniny variance).*

Vitalita obilek stanovená za uvedených podmínek, může sloužit jako selekční kritérium při šlechtění sladových odrůd, neboť postihuje stres sníženou teplotou, zkouška je prováděná při 10 °C. Při máčení a klíčení při výrobě sladu jsou zrna ječmene vystavena teplotám 12 až 15 °C Pelikán et al. (2004). Další možný stres, který je navozen při zkoušce vitality roztokem PEG je nedostatek vzduchu, při technologii dlouhého máčení; jak uvádí Prokeš (2000) doba zrna ve vodě je dlouhá a vzdušné přestávky krátké a proto dochází k vyšší výtěžnosti.

Při studiu vitality obilek ječmene spolupracujeme s Výzkumným ústavem v Dundee (Skotsko), zejména při identifikaci genů, řídících vitalitu. Předběžné výsledky identifikovaly QTL pro vyšší vitalitu v blízkosti genu polozakrslosti ari-e.GP na chromozómu 5H, pocházející z rodiče *B 83*.

ZÁVĚR

Naše výsledky potvrzují významný podíl genotypu pro vitalitu obilek ječmene a jsou předpokladem pro využití vitality jako selekčního kritéria ve šlechtění. Výzkum a šlechtění na zlepšení vitality jsou však komplikované, vzhledem ke kvantitativní povaze dané vlastnosti a absenci metod, které jsou doporučeny organizací ISTA pro hodnocení vitality u obilovin. Jak uvádí nejen Finch-Savage (1995), vitalita semen však přispívá k ekonomickému úspěchu komerčně využívaných plodin a semenářské společnosti mají zájem mít způsob získávání objektivních odhadů vitality. Proto také ve spolupráci s vědci ze Scottish Crop Research Institute Dundee se snažíme nalézt molekulární markéry pro relevantní QTL, které by mohly selekci zefektivnit.

LITERATURA

Argyris J et al. (2005): Quantitative trait loci associated with seed and seedling traits in Lactuca. Theor. Appl. Genet. 111: 1365-1376.

Laiding F., Drobek T., Meyer U. (2008):Genotypic and environmental variability for cultivars from 30 different crops in German official variety trials. Plant Breeding 127: 541 – 547.

Edney M. J., Mather D. E. (2004): Quantitative trait loci affecting germination traits and malt friability in a two-rowed by six-rowed barley cross. Journal of Cereal Science 39: 283-290.

Hampton J. G, Coolbear P. (1990): Potential versus actual seed performance – can vigour testing provide an answer? Seed Sci. Technol. 18: 215-228.

Bettey M., Finch-Savage W.E., King G. J. Lynn J. R. (2000): Quantitative genetic analysis of seed vigour and pre-emergence seedling growth traits in *Brassica oleracea*. New Phytol. 148: 277-286.

Clerkx et al. (2004): Analysis of natural allelic variation of Arabidopsis seed germination and seed longevity traits between the accessions Landsberg erecta and Shakdara, using a new recombinant inbred line population. Plant Physiol. 135: 432-443.

Finch-Savage W.E. (1995): Influence of seed quality on crop establishment, growth and yield. In: Basra AS, ed. Seed quality. *Basic mechanisms and agricultural implications*. New York, USA: Haworth Press: 361.

Hrstková P., Chloupek O., Bébarová, J. (2004): Effects of cultivar and provenance on vigour of barley seed. Czech Journal of Genetics and Plant Breeding 40: 168.

Chloupek O., Ehrenbergerová J., Ševčík R., Pařízek P. (1997): Gentic and non-genetic factors affecting germination and vitality in spring barley seed. Plant Breeding 166: 186-188.

Chloupek O., Hrstková P., Jurečka D. (2003): Tolerance of barley seed germination to cold- and drought-stress expressed as seed vigour. Plant Breeding 3: 199-203.

Chloupek O., Forster B. P. (2006): The effect of semi-dwarf genes on root system size in field-grown barely. Theor Appl Genet 112: 779 – 786.

Landjeva S., Lohwasser U., Börner A. (2010): Genetic mapping within the wheat D genome reveals QTL for germination, seed vigour and longevity, and early seedling growth. Euphytica 171: 129 – 143.

Venter A. (2001): Seed vigour Testing. ISTA News Bulletin 122, September 2001: 12 – 14.

Pelikán, M., Dudáš, F., Míša, D. (2004): Technologie kvasného průmyslu. 2. vyd. Brno: Mendelova univerzita, 2004.

Sinniah U., Ellis R., John P. (1998): Irrigation and seed quality development in rapid-cycling brassica: seed germination and longevity. Annals of Botany 82: 309 – 314.

Hampton, J. G., Tekrony, D. M (1995): Handbook of vigour test methods. Zurich: ISTA, 117.

Dornbos, J. D.L. (1995): Seed Vigor. In: Seed Quality: Basic Mechanisms and Agricultral Implications. Basra, Haworth Press, Inc., New York. 45-80.

Malmberg RL et al. (2005): Epistasis for fitness-related quantitative traits in Arabidopsis thaliana grown in the field and in the greenhouse. Genetics 171: 2013-2027.

INFLUENCE OF GLADIOLUS THRIPS ON FLOWERING AND FLOWER QUALITY OF SELECTED VARIETIES OF GLADIOLI

Vlachová P., Svitáčková B.

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

E-mail: xvlacho2@node.mendelu.cz, svitackova@zf.mendelu.cz

ABSTRACT

Our objective was to evaluate the quality of growth and flowering of selective varieties of gladioli relate to gladiolus thrips (*Thrips simplex* Mor.) infestation. Eight varieties of gladioli were evaluated: Citrine, K2-175, L118-28, L132-229, L57-392, Nova Lux, Peter Pears and White Prosperity. The experiment was planted out at two localities, in Brno and in Lednice.

The numerical occurrence of gladioli thrips was evaluated, separately larvae and imagoes. The cultivars planted at the experimental location in Lednice were stronger attacked by gladiolus thrips than cultivars planted at the experimental location in Brno.

The White Prosperity is the most sensitive cultivar to attack by thrips at both experimental places. This cultivar had highest average number of larvae (213.83 pieces per inflorescence) and imagoes (37.2 pieces per inflorescence) of thrips.

The early cultivar Citrine was the least susceptible to attack by thrips. The Citrine had a very low average number of larvae (69.78 pieces per inflorescence) and imagoes (24.65 pieces per inflorescence) of thrips.

Key words: flower damage, plant pests, gladiolus thrips (Thrips simplex Mor.), gladiolus

ÚVOD

Světový sortiment mečíků (*Gladiolus* L.) zahrnuje v současnosti přibližně 100 000 kultivarů. Pěstováním a šlechtěním mečíků se zabývá mnoho profesionálních i amatérských šlechtitelů, kteří kladou velký důraz na zlepšení jejich zdravotního stavu. O oblibě mečíků svědčí i vznik mnoha specializovaných organizací po celém světě. Květy mečíků jsou vyhledávány pro širokou škálu barev a tvarů a především vysokou trvanlivost řezaných květin při použití v interiérech.

Vzhled květů negativně ovlivňuje třásněnka mečíková (*Thrips simplex* Mor.), která je považována za nejvýznamnějšího škůdce mečíků a způsobuje velké hospodářské škody. Květy mečíků jsou pro ni velmi atraktivní a následkem posátí dochází k výraznému poškození (ŠEFROVÁ, 2006) nejen květů během vegetace, ale i uskladněných hlíz (DENMARK, PRICE, 1998, WILLIAMS, 2000). Poškozuje jak epidermální, tak mezodermální buňky pletiv (FUNDERBURK et al., 2007).

Mezi typické projevy poškození patří stříbřité až šedavé zbarvení listů, které je následkem vniknutí vzduchu do vysátých buněk. Listová pletiva po určité době odumřou a listy zežloutnou a zaschnou. Na povrchu listů jsou patrné tmavé lepkavé kupky trusu. Poškození květů se projevuje pouze částečným rozkvetením a špatným vybarvením květů. Pokud jsou květy silně napadeny, mají okvětní lístky vzhled hedvábného papíru (VANĚK, 1968).

Poškození je nejvíce viditelné u tmavě zbarvených odrůd, kde již několik výraznějších skvrn způsobí značné snížení hodnoty mečíku. Pokud jsou rostliny ponechány na poli ještě dlouhou dobu po odkvětu, třásněnky se stěhují na hlízy, kde dále škodí (WILLIAMS, 2000).

Cílem pokusu bylo zhodnocení kvality kvetení vybraných kultivarů a novošlechtění mečíků ve vztahu k napadení třásněnkou mečíkovou a zjištění, zda jsou pro třásněnky některé kultivary a barvy květů atraktivnější.

MATERIÁL A METODIKA

V experimentu byl použit kultivar ´Citrín´, novošlechtění K2-175, L118-28, L132-229 a L57-392 (Výzkumný ústav Silva-Taroucy pro krajinu a okrasné zahradnictví v Průhonicích), ´Nova Lux´, ´Peter Pears´ a ´White Prosperity´ (Množitelská stanice cibulovin v Neratovicích). Od každého kultivaru a novošlechtění bylo vysazeno 50 hlíz na dvou lokalitách, v Lednici 12. 5. 2010 (Mendeleum) a v Brně 31. 5. 2010 (Mendelu). Rozdíl mezi termíny výsadeb byl způsoben nadprůměrnými dešťovými srážkami v měsíci květnu.

Lednice se nachází v nadmořské výšce 176 m n. m. Oblast patří do kukuřičného výrobního typu. Jedná se o klimatickou oblast teplou, podoblast suchou a klimatický okrsek A, charakterizovaný jako teplý, s mírnou zimou a kratším slunečním svitem. Půdním typem je černozem na spraši

a půdní druh je hlinitý. Průměrná roční teplota je zde 9 °C a průměrná teplota za vegetační období je 15,4 °C. Průměrný úhrn srážek za rok je 524 mm (ROŽNOVSKÝ, LITSCHMANN, 2006).

Brno se nachází v nadmořské výšce 250 m n. m. Podloží je zde tvořeno slinitým jílem a povrch tvoří sprašové hlíny, které mají vysoký obsah CaO. Průměrná roční teplota je 8,4 °C a průměrná teplota za letní období je 17,8 °C. Průměrný úhrn srážek za rok je 547 mm (ANONYM, 2011).

Na každé lokalitě bylo vysazeno 8 kultivarů (novošlechtění) v 5 opakováních, v jednom opakování bylo 10 hlíz. Hlízy byly vysazeny ve sponu 0,18×0,5 m. Hloubka výsadby byla 0,15 m.

Hlízy nebyly před výsadbou ani během vegetace ošetřovány fungicidy. Ošetření pozemku zahrnovalo jen kypření a odplevelování.

Výskyt třásněnky mečíkové během vegetace byl hodnocen 1× (příp. 2×) v závislosti na postupném nakvétání jednotlivých kultivarů a novošlechtění (Tab. 1). Jednotlivá květenství byla hodnocena ve fázi kvetení.

Z každého opakování byla hodnocena 4 celá květenství, která byla rozložena na jednotlivé květy. V každém květenství se hodnotil počet dospělých jedinců a larev v poupatech, rozkvetlých květech a květních listenech a jejich vliv na kvalitu květu.

K vyhodnocení byl použit program Statistica 9. Analýzou rozptylu byly zjištěny rozdíly mezi jednotlivými kultivary a pomocí Tukeyova HSD testu byly zjištěny rozdíly mezi jednotlivými kultivary na hladině průkaznosti 0,05.

Tab. 1 termíny hodnocení výskytu třásněnek na květech jednotlivých kultivarů a novošlechtění mečíků

Kultivar (novošlechtění)	Datum hodnocení	
	Lednice	Brno
Citrín	16.7.2010	31.7.2010
Peter Pears	27.7.2010	11.8.2010
L118-28	4.8.2010	18.8.2010
L132-229	4.8.2010	18.8.2010
White Prosperity	4.8.2010	23.8.2010
Nova Lux	4.8.2010	18.8.2010
		23.8.2010
K2-175	11.8.2010	23.8.2010
L57-392	11.8.2010	23.8.2010

K vyhodnocení napadení květů larvami a dospělci třásněnky mečíkové byla sestavena devítibodová stupnice (Tab. 2).

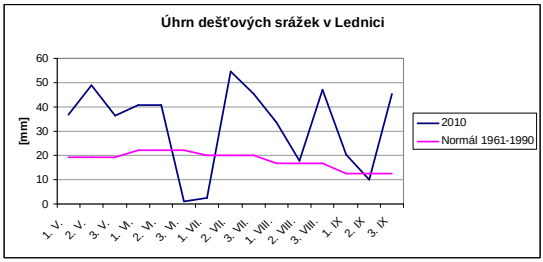
Tab. 2 Stupnice pro hodnocení napadení květenství třásněnkou mečíkovou

Body	Napadení	Počet larev v květenství [ks]	Počet dospělců v květenství [ks]
9	bez napadení	0	0
8	velmi slabé	1 až 25	1 až 5
7	slabé	26 až 50	6 až 10
6	slabé až střední	51 až 100	11 až 20
5	střední	101 až 150	21 až 30
4	střední až silné	151 až 200	31 až 40
3	silné	201 až 250	41 až 50
2	silné až velmi silné	251 až 300	51 až 60
1	velmi silné	301 a více	61 a více

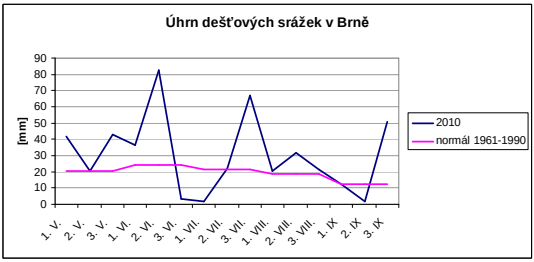
VÝSLEDKY A DISKUZE

V r. 2010 bylo období od výsadby, růstu až do hodnocení mečíků srážkově nadprůměrné (Graf 1, 2). Po výsadbě mečíků v Lednici (12. 5. 2010) byly srážky téměř každý den (VACHŮN, 2011). Od 13. 5. 2010 bylo v Brně 17 srážkových dní za sebou (BROTAN, 2011). Vydatné srážky byly v Brně 2. 6. 2010 (29,8 mm) i 18. 6. 2010, kdy spadlo 35,9 mm. Četné srážky měly negativní vliv na zdravotní stav mečíků, což se projevilo zvýšeným výskytem plísně šedé (*Botrytis cinerea*).

Graf 1 Úhrn dešťových srážek v Lednici, 2010 – srovnání s normálem za obdob 1961–1990



Graf 2 Úhrn dešťových srážek v Lednici, 2010 – srovnání s normálem za období 1961–1990



Vyhodnocení napadení mečíků třásněnkou mečíkovou

Lokalita Lednice

Statisticky průkazně nejvyšší průměrný počet larev na květenství (317,15 ks) byl zjištěn u kultivaru ´White Prosperity´, statisticky průkazně nejnižší u kultivaru ´Citrín´ (97,1 ks). U novošlechtění L57-392 byl zjištěn statisticky průkazně nejnižší počet dospělců na květenství (14,8 ks) a u kultivaru ´Nova Lux´ statisticky průkazně nejvyšší průměrný počet dospělců na květenství (46,45 ks).

Lokalita Brno

Novošlechtění L57-392 mělo statisticky průkazně nejvyšší průměrný počet larev na květenství (202,5 ks). Novošlechtění L132-229 mělo statisticky průkazně nejnižší počet larev na květenství (36,95 ks). Kultivar ´White Prosperity´ byl vyhodnocen jako kultivar se statisticky průkazně nejvyšším počtem dospělců na květenství (40,55 ks). Kultivar ´Citrín´ byl vyhodnocen jako kultivar se statisticky průkazně nejnižším počtem dospělců na květenství (15 ks).

Stupeň napadení květenství třásněnkou mečíkovou u jednotlivých kultivarů a novošlechtění na lokalitách Lednice a Brno je uveden v Tab. 3, 4.

Tab. 3 Hodnocení napadení květenství kultivarů a novošlechtění mečíků larvami třásněnky, lokalita Lednice a Brno, 2010

Larvy			Kultivar (novošlechtění)	
Body	Napadení	Počet [ks]	Lednice	Brno
9	bez napadení	0		
8	velmi slabé	1 až 25		
7	slabé	26 až 50		**Citrín, K2-175, L132-229**
6	slabé až střední	51 až 100	**Citrín**	**L118-28, Nova Lux, Peter Pears**
5	střední	101 až 150	**L57-392**	**White Prosperity**
4	střední až silné	151 až 200	**L132-229**	
3	silné	201 až 250	**K2-175, Nova Lux**	**L57-392**
2	silné až velmi silné	251 až 300	**L118-28, Peter Pears**	
1	velmi silné	301 a více	**White Prosperity**	

Tab. 4 Hodnocení napadení květenství kultivarů a novošlechtění mečíků dospělci třásněnky, lokalita Lednice a Brno, 2010

Dospělci			Kultivar (novošlechtění)	
Body	Napadení	Počet [ks]	Lednice	Brno
9	bez napadení	0		
8	velmi slabé	1 až 5		
7	slabé	6 až 10		
6	slabé až střední	11 až 20	**L57-392**	**Citrín, L118-28**
5	střední	21 až 30	**L132-229**	**K2-175, Nova Lux, Peter Pears**
4	střední až silné	31 až 40	**Citrín, K2-175, L118-28, White Prosperity**	**L132-229, L57-392**
3	silné	41 až 50	**Nova Lux, Peter Pears**	**White Prosperity**
2	silné až velmi silné	51 až 60		
1	velmi silné	61 a více		

Poškození způsobené třásněnkou bylo nejvíce viditelné u novošlechtění K2-175 (Lednice). Larvy se vyskytovaly ve velkých shlucích a na okvětních lístcích byly rozsáhlé poškozené plochy (Obr. 1). Nejvyšší počet larev třásněnek byl zjištěn ve vybarvených poupatech (Obr. 2).

Obr. 1 Novošlechtění K2-175 – poškození okvětního lístku

Obr. 2 Novošlechtění K2-175 – poškozené poupě

U novošlechtění L57-392 v Lednici byly květy velmi silně napadeny plísní šedou (*Botrytis cinerea*). Výskyt třásněnek byl nižší, dospělců se vyskytoval jen minimální počet. V některých květech se vyskytovaly třásněnky jen ojediněle. Důvodem slabého výskytu bylo pravděpodobně napadení plísní šedou. U mečíků v Brně se nejvíce larev vyskytovalo ve shlucích v rozvitých květech. U kultivarů s bílou barvou květů nebylo poškození na první pohled patrné, květenství vypadala vitálně. Teprve při podrobnější prohlídce byly nalezeny symptomy posátí.

V Lednici u kultivaru ´Nova Lux´ (Obr. 3) se ve vybarvených poupatech vyskytovalo často i 10 dospělců/poupě, v Brně se na rozvitých květech vyskytovalo velké množství larev (i 50 larev/květ). Larvy se vyskytovaly ve větších shlucích, hlavně v dolní části okvětní trubky, silně byly poškozeny také listeny.

Obr. 3 Kultivar ´Nova Lux´ – poškozené poupě

U kultivaru ´Peter Pears´ (Obr. 4, 5) se ve vybarvených poupatech vyskytovalo velké množství larev, většinou ve větších shlucích, některá poupata v důsledku napadení nevykvetla.

Obr. 4 Kultivar ´Peter Pears´, poškození okvětního lístku

Obr. 5 Kultivar ´Peter Pears´ – poškozená poupata

U kultivaru ´White Prosperity´ se vyskytovaly larvy především ve spodní části okvětní trubky. Na květech nebylo poškození tolik zřetelné vzhledem k jejich bílé barvě. Po ukončení kvetení se nacházelo velké množství larev i ve zcela suchých květech.

Při sledování květenství vybraných kultivarů mečíků ve vztahu k napadení třásněnkou mečíkovou byl v rámci obou pokusných míst vyhodnocen jako nejcitlivější kultivar ´White Prosperity´, u něhož byl zjištěn statisticky průkazně nejvyšší průměrný počet larev (213,83 ks) i dospělců (37,2 ks) na květenství. MILEVOJ, ZDEŠAR, TRDAN (2008) řadí kultivar ´White Prosperity´ ke kultivarům vysoce náchylným k napadení třásněnkou mečíkovou, což se shoduje i s naším pozorováním. Jejich předpoklad, že třásněnka mečíková přednostně osídluje květy tmavé barvy, nebyl nepotvrzen. Nejvíce byly napadeny kultivary se světlou barvou okvětních lístků – ´White Prosperity´ s bílými květy v Lednici (317,15 ks larev a 33,85 ks dospělců na květenství) a novošlechtění L57-392 s bílými květy v Brně (202,5 ks larev a 34,55 ks dospělců). V Lednici byl statisticky průkazně nejvyšší výskyt dospělců zaznamenán u kultivaru ´Nova Lux´ se žlutými květy (46,45 ks na květenství) a ´Peter Pears´ s oranžovými květy (42,7 ks na květenství). V Brně se však tyto kultivary řadily ke kultivarům s průměrným počtem dospělců v květenství (´Nova Lux´ 21,95 ks, ´Peter Pears´ 24,35 ks) a nejvyšší počet jich byl zjištěn opět u mečíků s bílými květy: ´White Prosperity´ (40,55 ks), L57-392 (34,55 ks) a L132-229 (32,75 ks).

Při vizuálním hodnocení poškození květů je důležitá jejich barva. WILLIAMS (2000) a MILEVOJ, ZDEŠAR, TRDAN (2008) udávají, že poškození je velmi zřetelné u tmavě zbarvených kultivarů,

u kterých i několik výraznějších skvrn může způsobit značné snížení tržní hodnoty. To se potvrdilo i v tomto pokusu. U mečíků s bílými květy nejsou poškození způsobená třásněnkou na první pohled viditelná, zatímco u mečíků s tmavými květy jsou i při slabém napadení velmi zřetelná.

MILEVOJ, ZDEŠAR a TRDAN (2008) upozorňují na nutnost sledovat výskyt třásnělek i na listech. Napadení listů je předpokladem vyššího napadení květů, což se shoduje i s našimi výsledky. Před kvetením byly listy mečíků na lokalitě v Brně napadeny minimálně, mečíky vysazené v Lednici měly před kvetením výrazně poškozené listy a výskyt třásnělek v květenství zde byl mnohem vyšší. Výjimku představovalo novošlechtění L57-392 s listy silně poškozenými již před kvetením, ale napadení květů třásněnkou nebylo tak silné (Obr. 6). Pravděpodobnou příčinou nízkého výskytu třásnělek v květech bylo jejich napadení plísní šedou (*Botrytis cinerea*). Toto novošlechtění bylo v Lednici nejméně napadeno jak larvami (107,1 ks na květenství), tak dospělci třásněnky (14,8 ks na květenství). Na pokusném místě v Brně se však projevilo jako vysoce náchylné k napadení třásněnkou. Bylo vyhodnoceno jako novošlechtění se statisticky průkazně nejvyšším počtem larev (202,5 ks) a s druhým nejvyšším počtem dospělců na květenství (34,55 ks) při srovnání s ostatními kultivary a novošlechtěními. U ´White Prosperity´, druhého nejvíce napadeného kultivaru na pokusném místě v Brně, bylo zjištěno v průměru 110,5 larev na jedno květenství a statisticky průkazně nejvyšší průměrný počet dospělců na květenství (40,55 ks).

SPAYER (1951) uvádí, že třásněnky jsou v květenství lokalizovány podle vývojových stadií, což se potvrdilo i v tomto pokusu. Larvy se vyskytovaly ve spodní části okvětní trubky a na okvětních lístcích, kde tvořily velké shluky, případně byly často ukryty v listenech květů (Obr. 7). Nejvíce dospělců třásněnky mečíkové se vyskytovalo ve vybarvených poupatech a rozkvetlých květech.

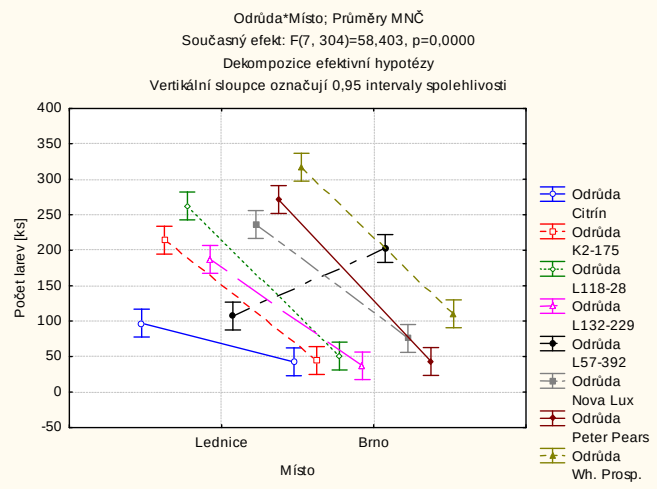
Obr. 6 Novošlechtění L57-392, poškození listů třásněnkou (Lednice)

Obr. 7 Larvy třásněnky mečíkové v listenu, L57-392 (Brno)

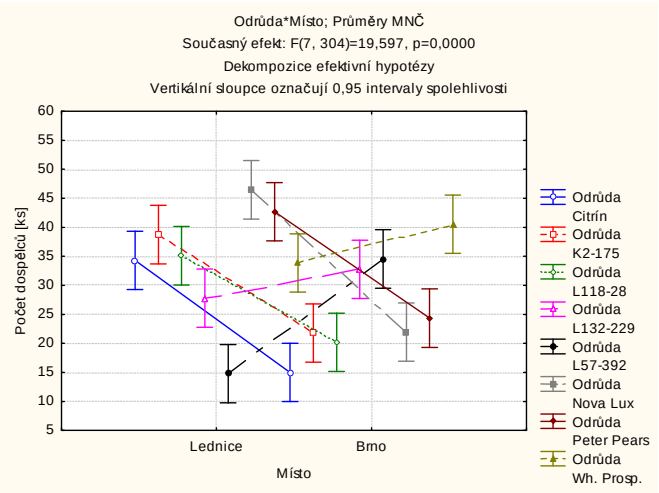
Výsledky pokusu naznačují, že důležitým preventivním opatřením je termín výsadby a ranost kultivarů a novošlechtění. Hlízy mečíků byly vzhledem k nepříznivému počasí vysazeny v pozdním termínu a napadení květů bylo velmi silné. Nejlépe byl vyhodnocen raný kultivar ´Citrín´. Na obou lokalitách byl zjištěn velmi nízký průměrný počet larev (69,78 ks) i dospělců třásněnky mečíkové (24,65 ks) na květenství.

Mečíky vysazené na pokusném místě v Lednici byly silněji napadeny třásněnkou, než mečíky vysazené v Brně (Graf 3, 4). Domníváme se, že vyšší výskyt třásněnky na mečících vysazených v Lednici byl způsoben několikaletým pěstováním mečíků na témže pozemku, i když na různých místech.

*Graf 3 Statistické zhodnocení výskytu larev v rámci interakce odrůda*lokalita*



*Graf 4 Statistické zhodnocení výskytu dospělců v rámci interakce odrůda*lokalita*



ZÁVĚR

Hodnocení vybraných kultivarů a novošlechtění mečíků se zaměřilo na stupeň poškození rozkvetlých květů, poupat a květních listenů třásněnkou na základě přítomnosti dospělých jedinců a larev v každém květenství. Bylo hodnoceno napadení mečíků z hlediska barvy květů a jejich vizuálního poškození třásněnkami.

Kultivar ´White Prosperity´ byl vyhodnocen jako nejcitlivější k napadení třásněnkou v rámci obou pokusných míst. Měl nejvyšší průměrný počet larev (213,83 ks na květenství) i dospělců (37,2 ks na květenství).

Jako nejméně náchylný k napadení třásněnkou byl vyhodnocen raný kultivar ´Citrín´, u kterého se vyskytoval velmi nízký průměrný počet larev (69,78 ks na květenství) i dospělců (24,65 ks na květenství) třásněnky mečíkové na obou pokusných místech.

Mečíky vysazené v Lednici byly silněji napadeny třásněnkou mečíkovou, než mečíky vysazené v Brně. Vyšší výskyt třásněnky na mečících v Lednici byl pravděpodobně způsoben několikaletým pěstováním mečíků na různých místech téhož pozemku. I přes insekticidní ochranu mečíků proti třásněnce prováděné v minulých letech, je zde infekční tlak vyšší než na lokalitě v Brně, kde mečíky byly vysazeny prvním rokem.

Z výsledků vyplývá, že mečíky se světlou barvou květů jsou k napadení třásněnkou mečíkovou citlivější, a proto je důležité věnovat více pozornosti insekticidní ochraně. Třásněnka se často vyskytuje v poupatech, ošetření postřikem je proto účinné pouze částečně a ochrana se musí provádět během vegetace opakovaně. Vzhledem k problematickému insekticidnímu ošetření proti třásněnce by měli zákazníci před výsadbou zvážit, zda je jimi vybraný kultivar citlivý k napadení třásněnkou.

Vzhledem k netypickému průběhu počasí během vegetace v r. 2010, kdy spadlo nadprůměrné množství srážek, nelze brát dosažené výsledky jako jednoznačně průkazné a bylo by vhodné pokus opakovat.

LITERATURA

ANONYM (2011)*: Botanická zahrada a arboretum* [online]. [cit. 2011-04-12]. Dostupné z: <http://arboretum.mendelu.cz/cz>.

BROTAN, J. (2011): *Meteorologické údaje v roce 2010*. Mendelu: Botanická zahrada a arboretum.

DENMARK, H. A.; PRICE, J. F. (1998): *The Gladiolus Thrips, Thrips simplex (Morison) (Insecta: Thysanoptera: Tripidae).* DPI Entomology Circular 322.

FUNDERBURK, J.; et al. (2007): *Thrips of Ornamentals in the Southeastern US*. University of Florida, IFAS, ENY-845 (IN754). 10 s.

MILEVOJ, L.; ZDEŠAR, M.; TRDAN, S. (2008): *Susceptibility to Gladiolus Thrips (Thrips simplex [Morison]) in Four Different Coloured Gladiolus Cultivars*. Acta Phytopathologica et Entomologova Hungarica 43 (2): 323–327.

ROŽNOVSKÝ, J.; LITSCHMANN, T. (2006): *Klimatické poměry Lednice na Moravě* [online]. [cit. 2011-03-25]. Dostupné z: <http://www.amet.cz/klima/index.htm□>.

SPEYER, E. R. (1951): *Gladiolus thrips (Taeniothrips simplex Mor.) in England*. Proceedings of the Royal Entomological Society of London. Series B, Taxonomy, 20 (5-6): 53–62.

ŠEFROVÁ, H. (2006): *Rostlinolékařská entomologie*. 1. vyd. Brno: KONVOJ, 258 s. ISBN 80-7302-086-6.

VACHŮN, M. (2011): *Meteorologické údaje v roce 2010* [online]. [cit. 2011-03-25]. Dostupné z: <http://tilia.zf.mendelu.cz/~xvachun/meteo/Souhrn_meteo.xls>.

VANĚK, V. (1968): *Mečíky a ostatní hlíznaté květiny*. 1. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 369 s. ISBN 07-026-68.

WILLIAMS, D. (2000): *Pests of gladiolus [electronic resource] / David Williams*. Department of Primary Industrie, [Knoxfield, Vic.] [online]. [cit. 2011-03-22]. Dostupné z: <http://nla.gov.au/nla.arc-59975>.

THE INFLUENCE OF SOIL AND FOLIAR APPLICATION OF MAGNESIUM FERTILISERS ON YIELD AND QUALITY OF GRAPEVINE

Zatloukalová A., Lošák T.

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: andrea.zatloukalova@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of the present field trial was to compare soil and foliar applications of magnesium fertilisers on the nutrient content in leaves and yield and quality parameters of grapes. A one-year field trial was established with the vine variety Ryzlink vlašský (Riesling italico) to evaluate the effect of spring soil applications and 5x repeated foliar application of magnesium. On light soil of the experimental locality Žabčice (ca 25 km south of Brno) visual symptoms of Mg deficiency on vine leaves had been monitored in the past. There were 7 treatments of magnesium fertilization: 1) magnesium non-fertilized control samples; 2) autumn soil application of Kieserit; 3) autumn soil application of Kieserit + 5x foliar application of Epso Combitop solution; 4) spring soil application of Kieserit; 5) spring soil application of Kieserit + 5x foliar application of Epso Combitop solution; 6) 5x foliar application of 5% Epso Combitop solution; 7) 5x foliar application of 5% Epso Top solution. One dose of magnesium was applied for soil fertilisation. Foliar nutrition was applied 5x after the fall of blossoms from late June to early August in intervals of 7-10 days. In terms of quality the grapes were analyzed for the content of sugar, titratable acids and pH. The contents of Mg and S were usually increasing after application of fertilizers. After the foliar application the content of Mn increased 5-7 times and the content of Zn 2-3 times. Grape yields ($t.ha^{-1}$) in treatments 1-7 were the following: 7.04-8.25 $t.ha^{-1}$, respectively. All variants with soil application of Kieserit showed a conclusive increase of yield compared to nonfertilized control and foliar application itself as well. The content of sugar (16.4-18.5 °NM), titratable acids (11.34-13.25 $g.l^{-1}$) and the pH of must (3.02-3.11) did not differ among the treatments. From results of the one-year trial we concluded that foliar application significantly affected the chemical composition of leaves. Soil application and uptake of nutrients by vine roots is decisive for the macronutrients. Foliar application is a supplementary source.

Key words: vine, magnesium, soil and foliar applications, quality, yield

Acknowledgement: The study was supported by internal project No. IP 5/2010 of Internal Grant Agency of the Faculty of Agronomy MENDELU in Brno and 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

Harmonická výživa a hnojení je nezbytnou součástí pěstitelské technologie ve vinici z hlediska dosažení požadovaného výnosu hroznů i jejich kvality. Vinná réva se pěstuje na stanovišti dlouhou dobu, což vyžaduje věnovat patřičnou pozornost jak vyhnojení vinice před výsadbou, tak i hnojení plodících výsadeb (Fecenko a Ložek, 2000).

Hořčík je významný makrobiogenní element s řadou fyziologických funkcí v rostlině. Význam hořčíku v rostlině je mnohostranně spojen s fotosyntézou. Je centrálním atomem chlorofylu a aktivuje enzymatické pochody. Hořčík také příznivě ovlivňuje asimilační činnost (Nátr in Procházka et al., 1998; Kraus, 2003; Dorenstouter et al., 1985).

Průměrný obsah Mg v listech révy se zpravidla pohybuje kolem 0,3 %, přičemž hořčík je pohyblivější než vápník (Hlušek et al., 2002). Při deficienci Mg se snižuje obsah chlorofylu v listech a mění se poměr chlorofylu a:b ve prospěch chlorofylu b. To se vizuálně projeví chlorózou na listech, zejména starších a jejich předčasným opadáváním. Chloróza je zapříčiněna buď absolutním nedostatkem Mg v půdě, vysokým obsahem Ca v půdě (vápenaté půdy) nebo vzájemnou kombinací těchto faktorů (Ghuhić et al., 2009; Ksouri et al., 2005; Marschner, 2002). Příjem Mg rostlinou je rovněž ovlivněn antagonistickým působením Ca i K, což potvrzují i Garcia et al. (1999), kteří zjistili na půdách s vysokou zásobou Ca výraznou redukci obsahu Mg v bobulích spojenou s nárůstem celkového obsahu kyselin. Skinner a Matthews (1990) popisují rovněž deficienci Mg ve vinicích s nízkou hodnotou půdní reakce a obsahu fosforu. Nedostatek hořčíku nebo neharmonický poměr mezi K a Mg může mít rovněž za následek vadnutí třapiny a scvrkávání bobulí (Hlušek et al., 2002).

MATERIÁL A METODIKA

Polní experiment byl založen na podzim 2009 v Žabčicích ve vinohradu ŠZP Mendelovy univerzity v Brně u odrůdy révy vinné Ryzlink vlašský. Lokalita Žabčice leží přibližně 25 km jižně od Brna v kukuřičné výrobní oblasti s následujícími půdně-klimatickými podmínkami: nadmořskou výškou 185 m. n. m., ročním úhrnem srážek 450-550 mm, průměrnou roční teplotou vzduchu 9,3 °C, půdním druhem – lehká půda. Plodící vinice se nachází na písčitém podloží s omezenou sorpční schopností pro vodu a živiny.

Agrochemická charakteristika půdy před založením pokusu je uvedena v Tab. 1.

Tab. 1 Základní agrochemické vlastnosti zeminy před založením pokusu

Hloubka	pH/$CaCl_2$	Obsah přístupných živin v $mg.kg^{-1}$			
		P	K	Ca	Mg
0 – 0,3 m	7,2	291	306	4345	285
Kritéria hodnocení	neutrální	velmi vysoký	dobrý	velmi vysoký	**dobrý**
0,3 – 0,6 m	7,4	113	202	3621	314
Kritéria hodnocení	alkalická	dobrý	vyhovující	vysoký	**dobrý**

Obsah Mg v půdě je na úrovni dobré zásoby, tedy na půdě, kde je aplikace Mg nezbytná. Ryzlink vlašský je odrůda značně citlivá na deficienci Mg. V minulých letech byly u této odrůdy pravidelně opakovaně pozorovány vizuální symptomy deficience hořčíku na listech, které byly rovněž potvrzeny listovou analýzou. Z mikroelementů byly analýzami listů prokázány i deficience Mn a Zn.

Experiment zahrnoval 7 variant popsaných v Tab. 2. Každá varianta byla 4x opakována, přičemž 1 opakování bylo tvořeno 10 keři révy.

U variant 2-5 včetně bylo zapraveno kultivačním nářadím do půdy granulované hnojivo Kieserit v dávce 20 kg $Mg.ha^{-1}$. U variant 3, 5-7 včetně byla foliárně aplikována hnojiva Epso Combitop a Epso Top ve formě roztoků pomocí zádového motorového rosiče STIHL SR 430. Foliární výživa 5% roztoku (600 l $H_2O.ha^{-1}$) byla realizována 5x po odkvětu od konce června do začátku srpna v 7-10 denních intervalech.

Tab. 2 Schéma pokusu

Varianta	Schéma (termín aplikace)	Dávka Mg ($kg.ha^{-1}$)	Hnojivo	Způsob aplikace
1	nehnojená kontrola Mg	0	-	-
2	Mg S (podzim)	20	Kieserit	půdní
3	Mg S Mn Zn (podzim + léto)	20 + 11,8	Kieserit; Epso Combitop	půdní + foliární 5% roztok
4	Mg S (jaro)	20	Kieserit	půdní
5	Mg S Mn Zn (jaro + léto)	20 + 11,8	Kieserit; Epso Combitop	půdní + foliární 5% roztok
6	Mg S Mn Zn (léto)	11,8	Epso Combitop	foliární 5% roztok
7	Mg S (léto)	14,8	Epso Top	foliární 5% roztok

Kieserit (25 % MgO, 20 % S)
Epso Combitop (13 % MgO, 13,6 % S, 4 % Mn, 1 % Zn)
Epso Top (16 % MgO, 13 % S)

Během vegetace byla na pokusných variantách prováděna pesticidní ochrana shodná se zbytkem vinohradu. Tři týdny po poslední foliární aplikaci byly ve fázi zaměkání bobulí u všech variant odebrány vzorky listů k chemickým analýzám (Mg, K, Ca, S, Mn, Zn). Při ruční sklizni hroznů byl výnos přepočten na ha při průměrném počtu jedinců 5875 ks.ha^{-1}. Z hlediska kvalitativního byly hrozny analyzovány na obsah cukrů, kyselin a pH. Obsah cukru v moštu byl stanoven v čerstvém moštu ze 100 bobulí u každého opakování refraktometricky a hodnoty přepočteny z Brixů (°Bg) na stupně normalizovaného moštoměru (°NM). Obsah veškerých titrovatelných kyselin v moštu mimo H_2CO_3 byl stanoven titrací 0,1M NaOH v g.l^{-1}. Hodnota pH moštu byla stanovena na pH-metru.

Výsledky byly zpracovány statisticky pomocí analýzy variance následným testováním dle Scheffeho (P = 95%).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Dle Krause (2003) má réva vinná největší potřebu hořčíku mezi rašením a kvetením. V období před zaměkáním až do sklizně se nesmí projevit nedostatek hořčíku, jinak by se zvýšila citlivost k napadení pletiv padlím. Potřeba hořčíku je rozdílná v závislosti na odrůdě, přičemž vyšší potřebu vykazují právě Ryzlinky. Posouzení výživného stavu révy vinné na obsah makroživin i mikroživin by se mělo realizovat mimo agrochemických rozborů půd, také listovou analýzou v průběhu vegetace révy (Ložek, 2010). Gluhić et al. (2009) sledovali po foliární aplikaci Mg změny v obsazích Mg, K a Ca v listech révy vinné pěstované na vápenatých půdách. Při trojí aplikaci v celkové dávce 2500 g Mg.ha^{-1} zjistili, že chloróza ustoupila pouze na půdách s nižším obsahem vápníku (< 20 % CaO).

Chemická analýza listů

Obsah Mg v listech odebraných 3 týdny po poslední foliární aplikaci se pohyboval v rozpětí 0,29-0,49 % (Tab. 3), přičemž signifikantní nárůst na 0,42-0,43-0,49 % Mg byl zaznamenán u var. 3, 6 a 7. Vizuální symptomy deficience Mg nebyly patrné u žádné z variant. Fecenko a Ložek (2000) uvádějí, že se deficit hořčíku začíná projevovat na listech révy při koncentraci nižší než 0,15 % Mg. Jedná se o tzv. interkostální žloutenku, která postupuje od spodních listů k vrchním. U odrůdy Ryzlink vlašský bývají přitom tyto příznaky typické (Kraus, 2003). Oproti tomu Hlušek et al. (2002) uvádí průměrný obsah Mg v listech kolem 0,3 %, což bylo dosaženo na kontrolní variantě a u většiny Mg-hnojených variant byla tato hodnota překročena.

Tab. 3 Chemická analýza listů ve fázi zaměkání bobulí

Varianta	Prvek						
	Mg	K	Ca	S	poměr K/Mg	Mn	Zn
	% v sušině					mg.kg^{-1} v sušině	
1	0,29a	1,49b	1,66a	0,22a	5,1a	90a	173a
2	0,36a	1,23a	1,72a	0,23b	3,4a	94a	197a
3	0,43b	1,18a	1,50a	0,40c	2,7a	745c	614c
4	0,30a	1,40b	1,63a	0,22a	4,6a	118a	242a
5	0,33a	1,05a	1,56a	0,28ab	3,2a	404b	382b
6	0,42b	1,51b	1,91a	0,34bc	3,5a	551b	380b
7	0,49b	1,67b	1,82a	0,40c	3,4a	165a	192a

Rozdílná písmena (a, b, c) ukazují významné rozdíly mezi variantami

Obsahy K kolísaly nepravidelně, kdy u var. 2, 3 a 5 nastal průkazný pokles v porovnání s ostatními variantami. Ten mohl být zapříčiněn antagonistickým působením hořčíku ve vztahu k draslíku po půdní či půdně-foliární aplikaci hořečnatých hnojiv u těchto variant. V obsazích Ca (1,50-1,91 %) v listech nebylo mezi variantami průkazných rozdílů (Tab. 3). Neuberg (cit. Hlušek et al., 2002) uvádí následující průměrné obsahy živin v listech (% v sušině) Mg: 0,25-0,50 %, K: 1,2-1,4 % a Ca: 2,5-3,5 %, přičemž poměr K/Mg v listech by měl být 3,5-5/1. Zjištěné hodnoty z Tab. 3 odpovídají obsahu Mg, mírně převyšují obsah K a jsou nižší u Ca. Vzájemné antagonistické vztahy mezi živinami v půdě mohou rovněž významně ovlivnit jejich příjem (Mengel a Kirkby, 2001, Marschner, 2002). Poměr K/Mg v listech byl u var. 1-7 následující: 5,1-3,4-2,7-4,6-3,2-3,5-3,4. Hnojení hořčíkem tedy tento poměr průkazně zužovalo, přičemž výraznějšího zúžení bylo dosaženo po foliárních aplikacích. Dosažené hodnoty poměru K/Mg jsou rovněž v souladu s poznatky Ložek (2010). Obsah S v listech se pohyboval v rozpětí 0,22-0,40 %, přičemž signifikantní nárůst na 0,28-0,40 % S byl zaznamenán pouze po foliárních aplikacích (var. 3, 5, 6 a 7) oproti zbylým variantám (Tab. 4). Ložek (2010) uvádí průměrný obsah S v listech Ryzlinku vlašského 0,27 %, přičemž u variant s aplikovanou sírou byl tento obsah zvýšen na 0,34-0,39 %, což koresponduje s našimi výsledky. Obsah Zn i Mn (Tab. 3) byl průkazně zvýšen u všech variant, kde byly tyto prvky součástí foliární aplikovaného hnojiva (var. 3, 5 a 6) oproti všem ostatním variantám. Dosažené hodnoty překračují údaje prezentované Ložekem (2010). Vanek (1996) označuje obsahy Zn nad 200 mg.kg^{-1} za velký nadbytek a obsahy Mn v rozpětí 100-300 mg.kg^{-1} za malý nadbytek.

Z prvotních výsledků tedy vyplývá, že při použití foliárního postřiku aplikovaného 5x po odkvětu od konce června do začátku srpna se hodnoty mikroelementů – Mn, Zn zvýšily nad doporučované množství. Je možno tedy uvažovat o nižším počtu aplikací. Všechny živiny obsažené v hnojivech

použitých pro foliární aplikaci (var. 3, 5, 6 a 7) se signifikantně odrazily na chemickém složení listů. Krempa et al. (2009) považuje foliární aplikaci jako doplňkový zdroj hnojení, nicméně velmi důležitý a u révy zcela opodstatněný. To se prokázalo i na výsledcích tohoto experimentu.

Výnos

Základním způsobem výživy vinice je s ohledem na vysokou potřebu (makro) elementů půdní aplikace. Hubáčková (1996) uvádí pro udržovací hnojení plodících vinic roční dávku hořčíku 20 – 30 kg.ha^{-1}. Krempa et al. (2009) poukazuje na důležitost půdní aplikace k révě s využitím organických a minerálních hnojiv. Hořečnatá hnojiva obsahují jako doprovodný iont sírany, přičemž síra podporuje utilizaci dusíku, čímž se stimuluje úroveň výnosu a snižuje riziko jeho ztrát např. jako vyplavování nitrátů do podzemních vod (Mengel a Kirkby, 2001). Výnos hroznů (Tab. 4) byl u var. 1-7 následující: 7,04-8,25 t.ha^{-1}. Všechny varianty s půdní aplikací Kieseritu vykázaly průkazný nárůst výnosu oproti nehnojené kontrole i oproti samotné foliární aplikaci (var. 6 a 7). Mezi variantami 2-5 již nebylo vzájemných diferencí. Z uvedených výsledků vyplývá, že půdní aplikace hořečnatých hnojiv je nezbytným opatřením k pokrytí vysokých požadavků révy na tento makroelement.

Tab. 4 Výnosové výsledky

Varianta	Schéma (termín aplikace)	Výnos	
		t.ha^{-1}	rel. %
1	nehnojená kontrola Mg	7,04a	100
2	Mg S (podzim)	7,80b	110,8
3	Mg S Mn Zn (podzim + léto)	8,14b	115,6
4	Mg S (jaro)	8,14b	115,6
5	Mg S Mn Zn (jaro + léto)	8,25b	117,2
6	Mg S Mn Zn (léto)	7,51a	106,7
7	Mg S (léto)	7,27a	103,3

Rozdílná písmena (a, b, c) ukazují významné rozdíly mezi variantami

Foliární výživa má ovšem nezastupitelnou doplňkovou funkci při hnojení révy vinné a to jak u hořčíku, tak především u mikrobiogenních prvků - Zn, Mn, Fe (Hlušek et al., 2002). Ložek (2010) popisuje ve tříletých experimentech nárůst výnosu hroznů Ryzlinku vlašského o 4,1 % po půdní aplikaci N, Mg a o 14,9 % po aplikaci N, P, K, S. Taktéž Krempa et al. (2009) popisují ve dvouletých experimentech nárůst výnosu hroznů odrůdy Lipovina o 10,9 % po půdní aplikace N, Mg a o 16,3 % po aplikaci N, Mg a S. Májer (2004) ve svých polních experimentech s Ryzlinkem italským zkoumal vliv půdní aplikace (kontrola, 10 - 20 - 30 - 40 kg Mg.ha^{-1}) i foliární aplikace

(5% roztok aplikovaný 3x po odkvětu) hořčíku ve formě Hořké soli (Epso Top) na výnosově-kvalitativní parametry hroznů. Pozitivních výsledků bylo dosaženo při půdní aplikaci 30 – 40 kg $Mg.ha^{-1}$. Deficit Mg způsobuje nejen redukci výnosu, ale zvyšuje i riziko zakrňování úponků (Májer, 2004; Füri a Hajdú, 1980).

Obsah cukrů, kyselin a pH moštu

Přímo úměrným poměrem cukrů a kyselin v hroznech je dána lahodná a harmonická chuť vína. V obsazích cukrů (16,4-18,5 °NM) nebylo mezi jednotlivými variantami diferencí (Tab. 5). Takacs et al. (2007) uvádí, že foliární aplikace Mg během letního období (i preventivně) přispěje ke zvýšení obsahu Mg v listech révy, vyššímu výkonu fotosyntézy a nárůstu obsahu cukrů v hroznech. Obsah Mg v listech byl signifikantně zvýšen, ovšem obsah cukrů se neměnil (Tab. 5). Taktéž Krempa et al. (2009) uvádí ve 2-letých pokusech minimální diference v obsazích cukru mezi nehnojenou variantou odrůdy Muškát žlutý (22,65 °NM), po aplikaci NMg (22,30 °NM) a aplikaci NMgS (22,50 °NM).

Tab. 5 Kvalitativní parametry

Varianta	Schéma (termín aplikace)	Obsah cukru v moštu (°NM)	Obsah titrovatelných kyselin ($g.l^{-1}$)	pH moštu
1	nehnojená kontrola Mg	16,7a	13,15a	3,11a
2	Mg S (podzim)	16,4a	11,34a	3,03a
3	Mg S Mn Zn (podzim, léto)	18,5a	13,19a	3,06a
4	Mg S (jaro)	16,5a	12,78a	3,06a
5	Mg S Mn Zn (jaro, léto)	16,9a	12,61a	3,06a
6	Mg S Mn Zn (léto)	17,4a	12,80a	3,02a
7	Mg S (léto)	17,9a	13,25a	3,07a

Jednotlivá písmena (a, b, c) by poukazovala na významné rozdíly mezi variantami

V obsazích titrovatelných kyselin (11,34-13,25 $g.l^{-1}$) nebylo mezi jednotlivými variantami diferencí (Tab. 5). Krempa et al. (2009) taktéž popisují ve 2-letých pokusech minimální diference v obsazích kyselin mezi nehnojenou variantou odrůdy Muškát žlutý, resp. Furmint (8,09, resp. 9,20 $g.l^{-1}$), po aplikaci NMg (8,04, resp. 9,31 $g.l^{-1}$) a aplikaci NMgS (8,22, resp. 9,26 $g.l^{-1}$). Rovněž v hodnotách pH moštu nebylo mezi variantami 1-7 diferencí.

ZÁVĚR

Půdní aplikace a příjem živin kořeny révy je rozhodující u makrobiogenních prvků. Foliární aplikace je doplňkový zdroj výživy u makrobiogenních prvků, ale může pokrýt požadavky révy na mikrobiogenní prvky (Zn, Mn). Z výsledků jednoletého pokusu vyplývá, že foliární aplikace se signifikantně odrazila na chemickém složení listů. Výnos hroznů byl signifikantně ovlivněn buď pouze půdní aplikací či kombinací půdní a foliární aplikace. Mezi kvalitativními parametry moštu nebylo rozdílů. K vytvoření objektivnějších závěrů je nezbytné víceleté sledování.

LITERATURA

Dorenstouter H., Pieters G., Findenegg G. (1985): Distribution of magnesium between chlorophyll and other photosyntetic functions in magnesium deficient „sun“ and „shade“ leaves of poplar. Journal of Plant Nutrition, 8: 1088–1101.

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

Füri J., Hajdú L. (1980): A magnézium-hiány és gyógyítása. Kertészet és szőlészet, 17: 1–7.

Garcia M., Daverede C., Gallego P., Toumi M. (1999): Effect of varions potassium-calcium ratios on cation nutrition of grape grown hydroponically. Journal of Plant Nutrition, 22: 417–425.

Gluhić D., Herák Čustič M., Petek M., Čoga L., Slunjski S., Sinčić M. (2009): The content of Mg, K and Ca ions in vine leaf under foliar application of magnesium on calcareous soils. Agriculturae Conspectus Scientificus, 74(2): 81–84.

Hlušek J., Richter R., Ryant P. (2002): Výživa a hnojení zahradních plodin. 1. vyd. Praha: [Martin Sedláček]: 81. ISBN 80-902413-5-2.

Hubáčková M. (1996): Základy pěstování révy vinné. 1. vyd. Praha: Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství ČR: 28. ISBN 80-7105-131-4.

Kraus V. (2003): Pěstujeme révu vinnou. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, Česká zahrada: 96. ISBN 80-247-0562-1.

Krempa P., Ložek O., Slamka P., Varga L. (2009): Efektívnosť hnojív s obsahom N, P, K, Mg a S na úrodu a kvalitu hrozna vo vinohradníckej oblasti Tokaj. Agrochémia, 49(3): 23-27.

Ksouri R., Gharsalli M., Lachaal M. (2005): Physiological responses of Tunisian grapevine varieties to bicarbonate-induced iron deficiency. Journal of Plant Physiology, 162: 335–341.

Ložek O. (2010): Efektívnosť hnojenia Duslofertom Extra 14-10-20-7S pri pestovaní viniča hroznorodého. Agrochémia, 50(1): 17 - 23.

Májer J. (2004): Magnesium Supply of the Vineyards in The Balaton-Highlands. ISHS Acta Horticulturae, 652: 175-182.

Marschner H. (2002): Mineral nutrition of higher plants. 2nd edition, London: Academic Press: 889.

Mengel K., Kirkby E. A. (2001): Principles of Plant Nutrition. 5th Edition, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/Boston/London: 849.

Procházka S. et al. (1998): Fyziologie rostlin. 1. vyd. Praha: Academia: 484. ISBN 80-200-0586-2.

Skinner P.W., Matthews M.A. (1990): A novel interaction of magnesium translocation with the supply of phosphorus to roots of grapewine (*Vitis vinifera* L.). Plant, Cell and Environment, 13: 821–826.

Takacs-Hajos M., Szabo L., Racz I., Mathe A., Szoke E. (2007): The effect of Mg-leaf fertilization on quality parameters of some horticultural species. Cereal Research Communications, 35(2): 1181–1184.

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

Section – Animal Production

EFFECT OF PHYLOGENETICAL ORIGIN OF HORSES ON MEASUREMENT AND FORM OF CHESTNUTS

Bihuncová I., Jiskrová I.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: iveta-lorietta@centrum.cz

ABSTRACT

The measurement and recording of chestnuts shapes were realized on 11 horses breeds: Akhal Teke (23), Thoroughbred (23), Arabian (18), Czech warmblood (21), Kladruber (20), Hucul pony (20), Belgian (20), Noriker horse (7), Silesian Noriker (14), Haflinger (20), Shetland pony (20). The shapes of chestnuts were recording, a height was measured in the highest point and a width was measured in the widthest point of each chestnut by calliper in total number 206 horses, which were grouped in 3 phylogenetick classes. Then the obtained data was filled in forms.It was found that 10 forms from chestnut shapes were the most common, nevertheless horses without hindlimb chestnuts exist and contrariwise there are horses with two chestnuts on hindlimbs too. Within the frame of phylogenetick class it was confirm the largest chestnuts occur in a western horses group, middling in a eartern horses group and the smallest chestnuts in a northern horses group.With using a non-specific linear model it was discovered that factors of phylogenetick class and sex revealed the statistical significant effect on the height of chestnut on right and left hindlimb, also it was noted that factors of phylogenetick class and age revealed the statistical significant effect on the width of chestnut both on right fore limb and on left fore limb.Within the phylogenetick class, the minimal and the maximal detected values were occured on fore limb, where the height were between 12 and 91 mm, width were between 5–54 mm, the height of chestnuts on hindlimb ranged from 0, which mean without chestnut, to 94 mm, widht between 0–38 mm.

Key words: horse, breed, chestnut

ÚVOD

Vývojová řada koní začala před 55 až 60 miliony let u Hyracotheria, neustálá změna klimatu měnila formy předků koní (Epihipus, Mesohippus, Miohippus, Parahippus, Merihippus a Pliohippus) do současné podoby koně. Již první zmíněná forma předka koně měla na končetinách pět prstů, postupnou změnou klimatických podmínek se jim prsty redukovaly až na jeden a tím je kopyto. Rudiment, který se nachází na hrudní končetině na mediální ploše distálního konce předloktí a na pánevní končetině na mediální ploše tarzu se nazývá kaštánek, který je památkou na první prst. Většina koní má na všech čtyřech končetinách tyto rudimenty. Kaštánky se staly předmětem sledování u vybraných jedenácti plemen koní, která se rozdělovala podle fylogenetického původu.

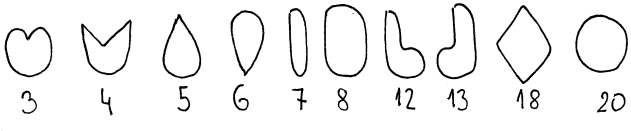
Plemena koní se podle fylogenetického původu člení do čtyř skupin. První skupinou se nazývá skupina koní stepních – mongolských, prapředkem je kertag *(Equus Przewalski Polj.)*. Druhá skupina je skupina koní východních neboli orientálních a zde se považuje za prapředka tarpan (Equus caballus). V této skupině koní se nachází pět podskupin koní a to podskupina koní íránských, arabských, podskupina koní odvozená z araboberberské krve dále podskupina anglických a tarpanovitých koní. Třetí skupina západních – okcidentálních koní má za prapředka diluviálního koně (lesní) *(Equus Robustus Stegmanni)* a patří sem chladnokrevní koně. Poslední čtvrtou skupinou jsou označováni koně severští – nordičtí s prapředkem *(Equus gracilis Ewart)*.

MATERIÁL A METODIKA

V experimentu byly změřeny a zakresleny tvary kaštánků v nejvyšším a nejširším místě a následně byly tvary kaštánků zakresleny do formuláře podobnému v průkazu koně. Měření probíhalo u 206 koní jedenácti plemen. Tato plemena byla zařazena podle fylogenetického původu do skupiny koní východních, ve které byla podskupina koní íránských - achaltekinský kůň (23); podskupina arabských koní - arabský plnokrevník (18); podskupinu koní anglických - anglický plnokrevník (23); český teplokrevník (21); další podskupinu koní odvozenou z araboberberské krve - starokladrubský kůň (20); a podskupinu tarpanovitých koní - hucul (20). Ve skupině koní západních byla měřena plemena koní českomoravský belgik (20); norický kůň (7); slezský norik (14); hafling (20) a v poslední skupině severských koní byl měřen shetland pony (20). Z celkového počtu koní bylo 44 hřebců, 119 klisen a 43 valachů. Předmětem sledování bylo zjistit, zda jsou tvary kaštánků a jejich rozměry ovlivněny fylogenetickou skupinou. Zpracování dat proběhlo v Unistat for Excel verze 5,1.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Při sledování různorodých tvarů kaštánků se dospělo k nejčastěji se vyskytujících tvarů, které byly očíslovány. Pod číslem 1 je chybějící kaštan, 2 nepopsatelný, 3 představuje je srdcovitý tvar, 4 rozdvojený.,5 kapkovitý, 6 obrácená kapka, 7 úzký ovál, 8 ovál, 12 písmeno tvaru ,,b“, 13 písmeno tvaru ,,d“, 18 kosočtverec, 20 kruh.



Obr. 1 Nejčastější tvary kaštánků

Nejčastější výskyt tvarů kaštánků je kapkovitý, u podskupiny koní íránské převažují nepopsatelné kaštánky, druhým nejčastějším tvarem kaštánku je ovál a to zejména u skupiny východní kromě podskupiny koní íránské, dále se ovál vyskytoval často u skupiny severské. Z výsledků a tabulek se ukázalo, že pro konkrétní plemeno či fylogenetickou skupinu není specifický konkrétní tvar kaštanu.. Kaštánky i když byly seskupeny do konkrétních tvarů, tak i přes tento fakt byly silně rozlišné. Objevily se i případy, kdy koním chyběly na zadní končetině kaštánky a to konkrétně z 206 koní byly ztráty u 4 jedinců, kdy se ztráta kaštánku objevila u klisny plemene achal teke (skupina koní východních) na PZ končetině, dále u klisny plemene hafling (skupina koní západních) na LZ končetině a u dvou klisen shetland pony (skupina koní severských), z toho jedné klisně chyběl kaštánek na PZ a druhá měla ztrátu na obou zadních končetinách. Na rozdíl od těchto případů se nám objevili dva jedinci, kteří měli kaštánky dva na jedné končetině a opět je vztah pouze k zadním končetinám, nálezy byly pouze u plemene ČMB (skupina koní západních) klisna 49/997 FÍBÍ po 2696 KORBUS z matky 49/493 FIRMA po 2537 SAPON s.v. a další nález byl u plemenného hřebce 2694 SASUN po 2537 SAPON z matky JM 4448 DARINA po 2255 AGRISUN – 2. Tento hřebec měl dva kaštánky na LZ končetině, ale je možné, že nějaká genetická predispozice by tam mohla být díky 2537 SAPON. Kojouri a kol. (2010) ve své práci vůbec neuvádí chybějící kaštánky, podle jeho výpočtů totiž neměl ani jediný případ možné ztráty či dvou kaštánků na končetině. Obecný lineární model umožňuje srovnat tři fylogenetické skupiny koní podle výšky a šířky kaštánků na všech čtyřech končetinách.

Skupiny byly označeny:

Skupina 1 jsou koně východní

Skupina 2 jsou koně západní

Skupina 3 jsou koně severní

Tab.č.1 Obecný lineární model s faktorem fylogenetická skupina se závislou proměnnou představovanou výškou kaštánku na pravé přední končetině

Skupina	Příp.	Průměr	3	1	2
3	20	29,6500		*	*
1	125	49,1200	*		*
2	61	58,0328	*	*	

Závisle proměnná je výška kaštánku PP a faktorem je fylogenetická skupina, kdy P= 0,0000 prokázalo se, že fylogenetická skupina má statisticky průkazný vliv na výšku kaštánku PP.

Tab.č.2 Obecný lineární model s faktorem fylogenetická skupina se závislou proměnnou představovanou šířkou kaštánku na pravé přední končetině

Skupina	Příp.	Průměr	3	1	2
3	20	14,8000		*	*
1	125	25,0960	*		*
2	61	32,0984	*	*	

Statisticky průkazný vliv má na šířku kaštánku PP fylogenetická skupina P= 0,0000 a věk P= 0,0051.

Tab.č.3 Obecný lineární model s faktorem fylogenetická skupina se závislou proměnnou představovanou výškou kaštánku na pravé zadní končetině

Skupina	Příp.	Průměr	3	1	2
3	20	25,6000		*	*
1	125	43,2640	*		
2	61	47,8197	*		

Statisticky průkazný vliv má na výšku kaštánku PZ fylogenetická skupina P= 0,0000 a pohlaví P= 0,0232.

Tab.č.4 Obecný lineární model s faktorem fylogenetická skupina se závislou proměnnou představovanou šířkou kaštánku na pravé zadní končetině

Skupina	Příp.	Průměr	3	1	2
3	20	8,3000		*	*
1	125	17,5040	*		*
2	61	20,8197	*	*	

Statisticky průkazný vliv na šířku kaštánku pravé zadní končetiny má faktor fylogenetické skupiny P= 0,0000 a nad hranici významnosti věk P=0,0566.

Tab.č.5 Obecný lineární model s faktorem fylogenetická skupina se závislou proměnnou představovanou výškou kaštánku na levé přední končetině

Skupina	Příp.	Průměr	3	1	2
3	20	28,9500		*	*
1	125	47,7280	*		*
2	61	56,6066	*	*	

Statisticky průkazný vliv má na výšku kaštánku LP pouze fylogenetická skupina P=0,0000. Pohlaví je P= 0,3060 a věk P=0,6017.

Tab.č.6 Obecný lineární model s faktorem fylogenetická skupina se závislou proměnnou představovanou šířkou kaštánku na levé přední končetině

Skupina	Příp.	Průměr	3	1	2
3	20	14,2000		*	*
1	125	24,7440	*		*
2	61	30,7377	*	*	

Statisticky průkazný vliv má na šířku kaštánku LP končetiny fylogenetická skupina P=0,0000 a věk P=0,0099, pohlaví nemá statisticky průkazný vliv P=0,6273.

Tab.č.7 Obecný lineární model s faktorem fylogenetická skupina se závislou proměnnou představovanou výškou kaštánku na levé zadní končetině

Skupina	Příp.	Průměr	3	1	2
3	20	25,6500		*	*
1	125	43,0960	*		
2	61	47,1311	*		

Fylogenetická skupina P=0,0000 a věk P=0,0216 má statisticky průkazný vliv na výšku kaštánku levé zadní končetiny.

Tab.č.8 Obecný lineární model s faktorem fylogenetická skupina se závislou proměnnou představovanou šířkou kaštánku na levé zadní končetině

Skupina	Příp.	Průměr	3	1	2
3	20	9,4000		*	*
1	125	17,7680	*		*
2	61	20,7377	*	*	

Pouze fylogenetická skupina má vysoce průkazný vliv na šířku kaštánku LZ končetiny P=0,0000, statisticky průkazný vliv není u věku P=0,2920 a ani ne u pohlaví P=0,0750.

Vyhodnocení hodnot pro fylogenetické skupiny v excelu

Tab.č.9 Minimální rozměr kaštánků na končetinách podle fylogenetických skupin

Fylogen. skupiny	PP I	PP —	PZ I	PZ —	LP I	LP —	LZ I	LZ —
Minimum z 1	29	10	0	0	26	10	14	3
Minimum z 2	33	14	11	6	33	12	0	0
Minimum z 3	15	5	0	0	12	6	0	0
Celk.min	15	5	0	0	12	6	0	0

Nejmenší rozměry kaštanů jsou u třetí skupiny koní severských, ale na PZ končetině je stejný výsledek také u východní skupiny koní, stejně tak jako na LZ i u skupiny koní západní.

Tab.č.10 Průměr velikosti kaštánků na končetinách podle fylogenetických skupin

Fylogen. skupiny	PP I	PP —	PZ I	PZ —	LP I	LP —	LZ I	LZ —
Průměr z 1	49	25	43	18	48	25	43	18
Průměr z 2	58	32	48	21	57	31	47	21
Průměr z 3	30	15	26	8	29	14	26	9
Celk.prům.	50	26	43	18	49	25	43	18

Nejblíže průměru výšky a šířky kaštanů má skupina východních koní.

Tab.č.11 Maximální rozměr kaštánků na končetinách podle fylogenetických skupin

Fylogen. skupiny	PP I	PP —	PZ I	PZ —	LP I	LP —	LZ I	LZ —
Maximum z 1	85	45	84	33	81	37	80	38
Maximum z 2	91	54	91	33	90	50	94	37
Maximum z 3	49	24	49	15	48	26	48	24
Celk.max	91	54	91	33	90	50	94	38

Nejvyšší a nejširší kaštánky na předních i zadních končetinách má skupina koní západní, ale na pravé zadní končetině má souběžně stejně široký kaštan i skupina koní východní, šířka kaštanu na levé zadní končetině je největší hodnota u skupiny koní východních.

ZÁVĚR

Tvary kaštánků jsou velice různorodé a mají spíše v menším počtu tvary opravdu jednoznačně popsatelné, největší variabilita tvarů se nachází zejména u skupiny koní východních. Z výsledků je patrné, že největší a nejširší kaštánky má skupina koní západních, nejmenší kaštany se nacházejí u skupiny koní severských a průměrné kaštánky mají koně skupiny východní. Z obecného lineárního modelu se dospělo k poznání, že faktory fylogenetická skupina a pohlaví mají statisticky průkazný vliv na výšku kaštánku jak na pravé, tak i na levé zadní končetině, dále se zjistilo, že faktory fylogenetická skupina a věk mají statisticky průkazný vliv na šířku kaštánku jak na pravé přední končetině, tak i na levé přední končetině. Minimální a maximální naměřené hodnoty v rámci fylogenetické skupiny se nacházejí na přední končetině, kdy se výška kaštánků pohybuje od 12 do 91 mm, šířka je od 5 – 54 mm, na zadní končetině je výška kaštánku od 0 tedy chybějící do 94 mm, šířka 0 – 38 mm.Průměr změřených kaštánků dal pro PP výšku 50 mm a šířku 26 mm pro LP výšku kaštanu 49 mm a šířku 25 mm, tedy z každé strany o jeden mm méně. U zadních končetin vyšla šířka i výška na obou stranách stejná a to výška kaštanu 43 mm a šířka 18 mm.

Seznam zkratek:

PP I - výška kaštánku na pravé přední končetině

PP – - šířka kaštánku na pravé přední končetině

PZ I - výška kaštánku na pravé zadní končetině

PZ – - šířka kaštánku na pravé zadní končetině

LP I - výška kaštánku na levé přední končetině

LP – - šířka kaštánku na levé přední končetině

LZ I - výška kaštánku na levé zadní končetině

LZ – - šířka kaštánku na levé zadní končetině

PP – pravá přední končetina

PZ – pravá zadní končetina

LP – levá přední končetina

LZ – levá zadní končetina

PK – přední končetina

ZK – zadní končetina

LITERATURA

Bílek, F., 1955:*Plemena domácího koně*, s.11 - 211. In: Bílek, F., Ambrož, L., Blažek, K., Hartman, K., Keil, H., Král, E., Koubek, E., Lerche, F., Michal, V., Munk, Z., Müller, V., Pernička, J., Píša, A., Procházka, V., Přibyl, E., Richter, L., Řecka, J., Sejkova, J., Steinitz, J., *Speciální zootechnika*. 2. díl, chov koní. Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 849 s.

Dušek, J. Misař, D., Müller, Z., Navrátil, N., Rajman, J., Tlučhoř, V., a Žlumov, P., 2007: *Chov koní.* 2. vydání. Brázda, Praha, 404 s.

Kapitzke, G. 2008: *Kůň od A do Z*. Brázda, Praha, 411 s.

Kojouri, G., Shadkhast, M., Ziaiie, B. a Taghadosi, C., 2010: *Characterizations of Chestnut in Relation to Age, Height and Body Weight in Equines*. Databáze online [cit. 2010-3-25]. Dostupné na:
http://www.vetscan.co.in/v5n1/characterizations_of_chestnut_in_relation_to_age_height_body_weight_in_equines.htm

Marvan, F., Hampl, A., Hložánková, E., Kresan, J., Massanyi, L. a Vernerová, E., 2003: *Morfologie hospodářských zvířat*. Brázda, Praha, 304 s.

Misař, D. a Jiskrová, I., 2008: *Chov a šlechtění koní*. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Brno, 170 s.

Navrátil, J., 2007: *Základy chovu koní*. Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství České republiky, Nové Město nad Cidlinou, 60 s.

Talukdar, A., 2002: *Kastanie, Torus carpeus bzw., Torus tarseus (Haut und Hautorgane)*, s. 45 - 46. In Wissdorf, H., Gerhards, H., Hukamp, B., Deegen, E., *Praxisorientierte Anatomie und Propädeutik Des Pferdes*. 2., ergänzte und völlig überarbeitete Auflage, Verlag M. & H. Schaper Alfeld, Hannover, 947 s.

ETHOLOGICAL STUDY OF FOOD HABITS IN FOALS OF THOROUGHBRED

Černohorská H., Jiskrová I.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xcernoh1@mendelu.cz

ABSTRACT

The main aim of the work was to observe and evaluate food habits of English thoroughbred horse colts up to one month of age.

The observation was conducted at Napajedla stud farm in 2011 and a total of 15 foals (descendants of 9 stallions) have been examined; five of them colts and ten fillies. The observation was performed on foals at the age 2, 14 and 30 of every foal and an ethological frame has been created for every individual. We were focusing mainly on suction, racy feed consumption, fodder consumption and coprophagy. For all of the above mentioned events their frequency and duration were watched.

It has been found out that as the age of the foal rises, the suction frequency decreases. The average duration time of suction was growing in foals up to 14 days of age, but it was decreasing in older foals (up to 30 days of age).

The data were further statistically processed using Pearson correlation and with this approach it was confirmed foals, which suck milk for a short time, suck it more frequently than the ones that suck for longer time.

The interest of foals in racy feed consumption was particularly watched at the age of 14 days of each individual. The foals were often reproducing the behavior pattern of their mothers. At the age of 30 days an independent racy feed and fodder consumption could already be notified in the foals, as they were sometimes interested in consumption regardless of what the adult mare was doing. Coprophagy was detected both in 14 and days old foals; it was, however a rare event with a relatively short duration period.

Key words: Thoroughbred**,** Ethological study, foals

ÚVOD

Poměrně hodně autorů se věnovalo pozorování životních projevů koní v jejich přirozeném prostředí. Je těžké správně uchopit jejich závěry. Současné podmínky ustájení koní se často velmi liší od původní domoviny. Etologickou studií hříbat anglického plnokrevníka jsem chtěla odpozorovat, co je přirozený projev hříbat, zda se v chování hříbat v hřebčíně Napajedla vyskytují nějaké abnormality a jestli je možné výsledky sledování využít pro praxi. Například popsat, co je normální chování hříběte, a co už lze považovat za zvláštní a tudíž je nutno hříběti věnovat zvýšenou pozornost.

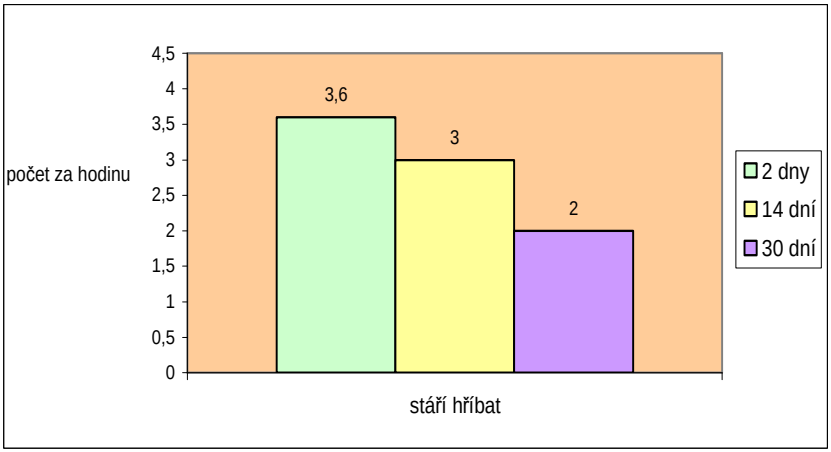
MATERIÁL A METODIKA

Sledování hříbat probíhalo v hřebčíně Napajedla v průběhu měsíců leden, únor a březen roku 2011. Ke sledování byla vybrána hříbata anglického plnokrevníka, 5 hřebečků a 10 klisniček, celkem po devíti různých hřebcích. Etologické pozorování bylo prováděno na hříbatech ve věku 2 dny, 14 dnů a 30 dnů. Hříbata byla sledována po dobu 4 hodin, v dopoledních a odpoledních hodinách, v boxovém typu ustájení a ve výběhu. Pro každé hříbě byl vytvořen etologický snímek skládající se ze dvou částí. Do první části bylo zaznamenáno jméno matky, stručný popis matky, datum narození hříběte, pohlaví hříběte a stručný popis hříběte. Do druhé části byly zaznamenány sledované aktivity hříběte (začátek a délka trvání projevu). Sledováno bylo sání, přijímání jadrných krmiv, přijímání pícnin a výskyt koprofágie. Ke zpracování výsledků byly využity data zapsané do etologických snímků. U sání byla sledována frekvence a průměrná doba.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Sledované klisny po tom, co hříbě projevilo zájem o sání, přerušily svoji dosavadní činnost a zaujaly fyziologicky přirozený postoj. Zůstaly stát s jednou pánevní končetinou lehce pokrčenou a se zvednutým trupem v oblasti slabin. Všechna sledovaná hříbata sála bez obtíží. Graf 1 znázorňuje průměrný počet sání za hodinu u jednotlivých hříbat starých 2 dny, 14 dní a 30 dní. Jak je patrné z grafu, frekvence sání u hříbat má s přibývajícím věkem tendenci klesat. Tyto hodnoty potvrzují dle Duruttyi (2005) obecný konsenzus, podle kterého se frekvence sání s postupujícím věkem hříbat pozvolna snižuje. Dle Duška a kol.(2007) se frekvence sání snižuje s přibývajícím věkem a doba sání se prodlužuje. Hříbata ve věku dvou dnů sála průměrně 3,6 krát za hodinu. Tento údaj je nižší, než uvádí autoři Duruttya (1993) 4,1 krát za hodinu a Tyler (1972) 4 krát za hodinu. Ve věku 30 dní již klesla frekvence sání mléka hříbaty na 2 krát za hodinu, což je průměrný údaj vzhledem k údajům ostatních autorů. Flade (1981) uvádí frekvenci 2,6 krát za hodinu, Duruttya (1993) 1,7 krát za hodinu, Šišková (2002) 2,6 krát za hodinu a Tyler (1972) 2 krát za hodinu.

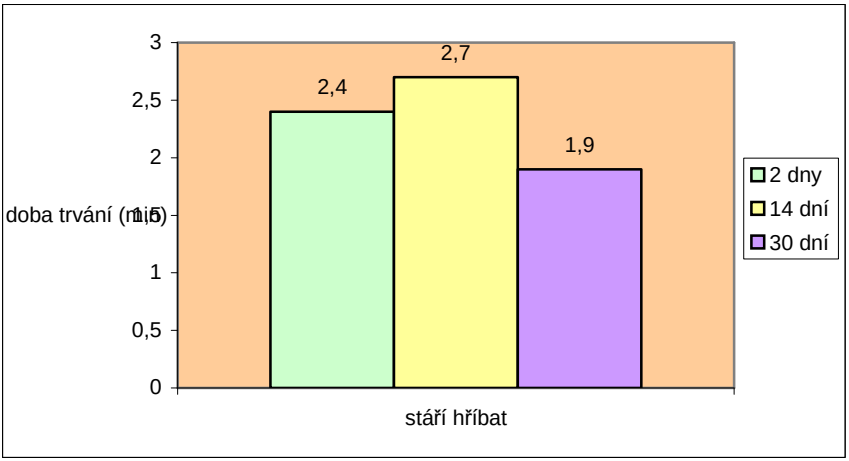
Graf 1 – Frekvence sání hříbat



Graf 2 zaznamenává průměrnou délku sání u jednotlivých hříbat ve věku 2 dny, 14 dní a 30 dní. Sledovaná hříbata ve věku 2 dnů sála průměrně 2,4 min. Tento údaj lze brát jako průměrný v porovnání s ostatními autory. Dle Duruttyi (1993) je doba trvání aktu sání 1, 98 min. Dle Flade (1981) je délka sání v průběhu prvního měsíce 3,2 min. Dle Tylera (1972) je průměrná doba sání hříbat do jednoho týdne věku 1,3 min. Ve stáří 30 dnů sála sledovaná hříbata průměrně 1,9 min, což je hodnota nižší, než uvádí ostatní autoři. Dle Duruttyi (1993) je průměrná doba sání měsíčních hříbat 2,4 min, dle Flade (1978) 3,2 min. Sledované hodnoty těchto autorů jsou ovšem brány jako průměrné za celý první měsíc života hříbat. Kdybych vzala v úvahu odsledované hodnoty průměrné délky sání hříbat ve věku 2 dní, 14 dní a ve věku 30 dní a tyto výsledky zprůměrovala, přiblížily by se těmto hodnotám a průměrná doba sání by činila 2,3 min.

Jak je patrné z grafu, délka sání u sledovaných hříbat nejprve do věku 14 dnů stoupá a pak postupně klesá. Tento výsledek je v rozporu s tvrzením autorů Duška a kol. a Flade. Dle Duška a kol. (2007) se doba sání s věkem postupně prodlužuje. Dle Flade (1978) se průměrná délka jednoho aktu sání s věkem snižuje (z hodnoty 3,2 min ve stáří 1 měsíc na hodnotu 1,5 min ve stáří pět měsíců). Odsledované výsledky potvrzují údaje Duruttyi (1993), kdy průměrná délka sání u hříbat nejprve stoupá (z doby 1,5 min u jednodenních hříbat a 1,9 min u dvoudenních hříbat na 2,4 min u měsíc starých hříbat) a pak následně klesá (2,2 min u hříbat dva měsíce starých).

Graf 2 – *Průměrná doba trvání sání*



Autoři Hechler (1971) a Pern (1977) vyslovují postulát, podle kterého hříbě, které věnuje sání kratší dobu, saje frekventovaněji než ostatní hříbata, která sají delší dobu. Z výsledků sledování hříbat, kdy jsem zaznamenávala frekvenci sání a dobu sání jsem z údajů u jednotlivých hříbat vytvořila Pearsonovu korelaci (program UNISTAD, verze 5.1). Pearsonova korelace byla vytvořena pro kategorii hříbat 2 dny, 14 dnů a 30 dnů věku. Pro věkovou kategorii 2 dnů vyšla záporná korelace o hodnotě – 0,69. Tato hodnota je v rozmezí -0,7 až – 0,4, což znamená slabou nepřímou závislost. Pro věkovou kategorii hříbat 14 dnů starých vyšla Pearsonova korelace v hodnotě -0,35, což znamená, že náhodné veličiny jsou nezávislé. Pro hříbata ve věkové kategorii 30 dnů vyšla Pearsonova korelace v hodnotě -0,44. Tato hodnota je v rozmezí - 0,7 až - 0,44, což znamená slabou nepřímou závislost. Tyto hodnoty tedy částečně potvrdily postulát, podle kterého hříbě, které věnuje sání kratší dobu, saje frekventovaněji než ostatní hříbata, která sají delší dobu.

Duruttya (1993) ve svém sledování anglických plnokrevníků konstatuje, že výlučným potravním projevem jednoměsíčních hříbat je sání. Šišková (2002) ve své práci uvádí, že pozorovala zájem hříbat o příjem jadrného krmiva a hříbata byla již ve věku jednoho měsíce odděleně přikrmována. Dražan (2001) konstatuje, že příjem krmiva v ranném období je spíše hrou a snahou napodobovat matku.

U sledovaných hříbat ve věku 2 dnů nebyl pozorován zájem o jadrná krmiva. Hříbata ve věku 14 dnů již napodobovala klisny a v době krmení stála s klisnami u žlabu a olizovala vysypané krmivo. Toto krmivo částečně jedla, ale většinu vytrousila při přežvykování a ochutnávání. Hříbata ve věku 30 dnů již přijímala jadrné krmivo s klisnami ze žlabu. Pokud klisna nechala ve žlabu zbytky – vodu s ovsem, tak často hříbata zůstávala u žlabu i po tom, co klisna skončila přijímání

jadrného krmiva. Některá hříbata, která příliš rychle přibírala, byla na dobu krmení jadrnými krmivy přivazována, aby nemohla přijímat jadrná krmiva.

Dle Dražana (2001) si hříbě také postupně začíná hrát se senem a pomalu ho přijímat. Množství přijímaného sena je zatím malé, ale seno musí být kvalitní. U sledovaných hříbat ve věku 2 dnů nebyl pozorován zájem o příjem sena nebo slámy. U sledovaných hříbat ve věku 14 dnů již byl pozorován zájem o ochutnávání sena a slámy – hříbata napodobovala klisny. Se stébly pícnin si hříbata spíše hrála a příjem pícnin byl minimální. Hříbata ve věku 30 dnů v době, kdy seno přijímaly klisny, taktéž ochutnávala seno. U této činnosti setrvala delší dobu než kategorie 14 denních hříbat a činnost byla intenzivnější. Stále bych ale příjem sena hodnotila jako napodobování klisny, skutečný příjem sena byl zanedbatelný. Dle autorů Boyda (1979), Blakeslee (1974) a Tylera (1972) se hříbata začínají pást již od prvního dne svého života. Hříbata chodila v době sledování (únor, březen) pouze do pískových výběhů, takže přijímání pastevního porostu hříbaty nemohlo být hodnoceno.

Podle Galefa (1979) byl první výskyt koprofágie u hříbat zaznamenán pátý den po narození. Dle Šiškové (2002) byl zaznamenán výskyt koprofágie u hříbat v prvním měsíci života, k projevu docházelo především ve stáji. Dle Francise – Smitha (1977) se koprofágie objevuje u hříbat v prvních týdnech života a vymizí v době, kdy hříbě dosáhne věku tří měsíců. U sledovaných hříbat byla koprofágie zaznamenána u kategorie hříbat ve stáří 14 a 30 dnů. Hříbata se této činnosti věnovala ojediněle, pouze několik minut.

ZÁVĚR

Výsledky sledování hříbat do jednoho měsíce věku jsou srovnatelné s výsledky pozorování jiných autorů (Duruttyi, Duška, Tylera, Šiškové). U sání byla u jednotlivých hříbat sledována průměrná délka sání, frekvence sání a vzájemná korelace. Výsledky potvrdily obecný konsenzus, že hříbě, které saje delší dobu, saje méně frekventovaněji než ostatní hříbata. Na potravní projevy hříbat má vliv zdravotní stav hříběte, vitalita a míra adaptability po narození. Sledování hříbat v hřebčíně Napajedla potvrdilo, že potravní projevy hříbat v prvním měsíci života se řídí vnitřními biorytmy hříbat. Při sledování potravních projevů nebyl pozorován vliv ruchu stáje na jednotlivá hříbata (rozsvěcení světel, zhasínání, místování, krmení klisen, provádění prubíře). Byl pouze pozorován vliv denní doby, kdy po setmění (přestože ve stáji bylo trvale rozsvícené světlo), hříbata sála méně frekventovaněji.

LITERATURA

BLAKESLEE, J. K.: 1974. Mother-young relationships and related behaviour among free-ranging Appaloosa horses. In *Velká etologie koní*. Košice – Praha: Hipo-dur, 2. vyd, 583 s.

BOYD, L. E.: 1980. The natality, foal survivorship and mare-foal behavior of feral horses in Wyoming´s Red Desert. In *Velká etologie koní*. Košice – Praha: Hipo-dur, 2. vyd, 583 s.

DRAŽAN, J.: 2001. Výživa a krmení hříbat. In *Etologická studie mladých koní*. Diplomová práce. Archiv Mendelu v Brně.

DURUTTYA, M.: 2005. *Velká etologie koní*. Košice – Praha: Hipo-dur, 2. vyd, 583 s.

DURYTTYA, M.: 1993. *Etológia koní*. Košice: TeLeM, 1. vyd, 299 s.

DUŠEK, J.: 2007. *Chov koní*. Praha: Nakladatelství Brázda, 2. vyd., 400 s.

FLADE, J. E.: 1981. Shetlandponys. In *Velká etologie koní*. Košice–Praha: Hipo-dur, 2. vyd, 583 s.

FRANCIS – SMITH, K.: 1979. Studies on the Feeding and Social Behavior on Domestic Horses. In *Velká etologie koní*. Košice – Praha: Hipo-dur, 2. vyd, 583 s.

GALEF, B. G.: 1979. Investigation of the functions of coprophagy in juvenile rats. In *Velká etologie koní*. Košice – Praha: Hipo-dur, 2. vyd, 583 s.

HECHLER, B.: 1971. Beitrag zur Ethologie des Island-pferdes. In *Velká etologie koní*. Košice – Praha: Hipo-dur, 2. vyd, 583 s.

PERN, E. M.: 1977. Zkušenosti s chovem koní v SSSR. In *Turf*. Praha: Vydavatelství Turf club.

ŠIŠKOVÁ, P.: 2002. *Etologická studie mladých koní*. Diplomová práce. Archiv Mendelu v Brně

TYLER, S. J.: 1972. The behaviour and social organization of the New Forest ponies. In *Velká etologie koní*. Košice – Praha: Hipo-dur, 2. vyd, 583 s.

MILK PRODUCTION AND CONTENT COMPONENTS, DEPENDING ON THE ORDER OF LACTATING DAIRY COWS OF CZECH PIED CATTLE BREED

Černý T., Falta D., Zejdová P., Polák O., Večeřa M., Chládek G.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic.

E-mail: xcerny02@mendelu.cz

ABSTRACT

The goal of this work was to determine the relationship between the order of lactation, the size of utility and content components in dairy cows of Czech Pied cattle.

Ratings were made at the one of breeder in a more stables, but always in dairy cows of Czech Pied cattle. Analyze of amount of milk were at particular lactations, the average content of fat a nd proteins, in both of lactations. Processed values were given to the relationship between them as follows: the amount of milk on the first and second lactation, and fat content on the first and second lactation. And the amount of milk on the first and second lactation, and protein content on the first and second lactations. Data were given from notes of cows. Cows for anylisis was selected all female individuals which have closed norm lactation, its 305 days at minumum of 2 lactations. Total was included in the data collection 824 cows and 1648 lactations.

Lactation effect order on milk production is especially important between the first and second, or third lactation. The ratio from between the first and second lactation can be seen that the average dairy cows performance is always increased for the second lactation. The overal average of lactation was increase by 832 kg of milk, but by general condition decrease in content of constituents could not be created. In accordance of the graph, the average fat content was not change. At first lactation, the average fat content was 4.032% and on the second lactation, was that average fat content of 4.009% so there was a negligible decrease of 00.23% If you took the individual cows, then at high performance Kg of mil kat first and then the second lactation. Value of the fat content in accordance of the trendline of the second order, was decrease. And that's about 0.2% fat content in first lactation and 0.25% fat content on the second lactation, due to average lactation. The average protein content of the first lactation was 3.397% and then at the second lactation was average protein content of 3.424% .It was a slight increase by 0.027%.In taking into individual cows appeared slightly decrease of protein content according to the trendline polynomial of the second order in first and then the second lactation in dairy cows with high utility at first and then at second lactation.And that's about 0.05% protein content in the first lactation and 0.04% protein content on the second lactation due to the average of the results suggests that, despite significantly increased milk utility in kg of milk, at the second lactation can be keep in the herd average milk content of individual constituents of milk – fat and protein in same amount.Some problems can and will mean highly-utility cows which in high milk utility are not able to keep average content of fat and proteins in the milk.

Key words: lactation, milk yield, dairy. constituents of milk

ÚVOD

Chov skotu má v České republice mnohaletou tradici a je jeden z pevných pilířů nejen živočišné výroby, ale i celého zemědělství. Má nezastupitelnou funkci v celém zemědělském sektoru.

Český strakatý skot, o kterém pojednává tato práce, patří do skupiny strakatých plemen, která je celoevropsky i celosvětově rozšířená, mající shodný fylogenetický původ. Toto plemeno je velice oblíbené pro své užitkové vlastnosti a široké využití na většině kontinentech. Zpracovatelský průmysl oceňuje velice dobrou kvalitu dodávané suroviny. Mléko nejvyšší kvality a jakosti s daným obsahem složek a bez vysokých počtů SB nebo CPM.

V dnešní nelehké době je nejen pro chov skotu ale i pro ostatní odvětví zemědělského sektoru stěžejní ekonomická stránka chovu. Stále narůstající ceny vstupů, které nejsou kompenzovány zvýšením výkupních cen mléka. Cena mléka se poslední dobou ustálila, ale pouze dobří chovatelé jsou konkurence schopní. Ekonomika podniku, konkrétně živočišné výroby je neúprosná. Opominout se nemohou ani ztráty, které vznikají v rámci chovu. Úhyny telat, neuspokojivá reprodukce, zdravotní problémy, nekvalitní objemná píce apod. Nad chovem skotu v České republice visí otazník a jen čas ukáže, do jaké míry a v jakém množství bude nadále existovat.

Cílem pozorování bylo vyhodnotit produkci mléka a obsah složek v závislosti na pořadí laktace dojnic českého strakatého plemene skotu u jednoho chovatele, čímž bylo družstvo Zemspol České Meziříčí a.s..

MATERIÁL A METODIKA

Zemspol České Meziříčí a.s. se nachází v kraji východočeském, okresu rychnovském. Akciová společnost byla založena roku 1997 transformací z tehdejšího družstva Meziříčsko. Hospodaří na 2 050 ha zemědělské půdy v řepařské výrobní oblasti. Společnost se nachází v katastru obcí České Meziříčí, Rohenice, Skršice, Králova Lhota, Jílovice a Vysoký Újezd. Je zaměřena na živočišnou a rostlinnou výrobu.

Rostlinná výroba se specializuje na výrobu objemných krmiv pro živočišnou výrobu a bioplynovou stanici, která se nyní dokončuje, dále pak obilniny, olejniny a cukrovou řepu.

Živočišná výroba je zaměřena především na chov skotu. Dříve zde byl i chov prasat a výkrm brojlerů, ale z ekonomických důvodů byly tyto chovy zrušeny. Společnost vlastnila v roce 2008 celkem 800 krav základního stáda umístěných ve třech střediscích. Středisko Skršice, kde jsou dvě typové vazné stáje K – 96 a K – 108, dále pak středisko Rohenice, taktéž typová vazná stáj K – 108 a středisko České Meziříčí s dvěma stájemi, K – 160 vazná a K – 360 volné ustájení s boxovými ložemi. Všechny stáje jsou stlané slámou. Nyní v roce 2011 společnost provozuje pouze středisko K-360 a základní stádo se zmenšilo na 250 ks dojnic.

Stáj K – 360 je zrekonstruovaná typová stáj K – 174 v roce 1996 na volné ustájení. Kapacita míst se zvýšila z 174 míst možných ustájených dojnic na 220 míst a přestavbou skladu se navýšila kapacita na 360 míst. Míchá se zde TMR krmná dávka v krmném vozu, který zakládá krmivo do krmných žlabů. Hnůj se jednou denně vyhrnuje pomocí UNC „bobku“ a nakládá se na kontejner. Nastýlá se slámou jednou denně pomocí nastýlacího vozu. Dojí se zde v rybinové dojírně 2 x 10 značky Alfa Laval dvakrát denně.

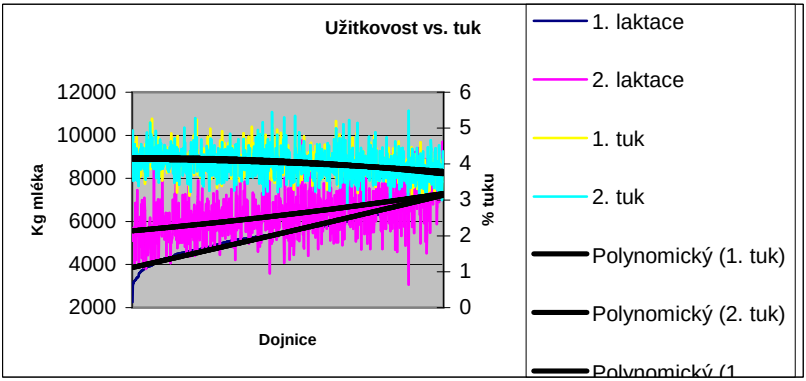
Bylo analyzováno množství mléka na první a druhé laktaci. Data byla získávána z kontrolních lístků dojnic. K analýze byli vybráni všichni samičí jedinci, kteří uzavřeli normovanou laktaci tj. 305 dní na minimálně dvou laktacích. Byl sledován vztah mezi jednotlivými laktacemi v produkci kg mléka a v průměrném obsahu tuku a průměrném obsahu bílkovin.

Zjištěné hodnoty byly roztříděny, zhodnoceny a statisticky zpracovány dle obvyklých variačně-statistických metod v programu MS Excel.

VÝSLEDKY A DISKUZE

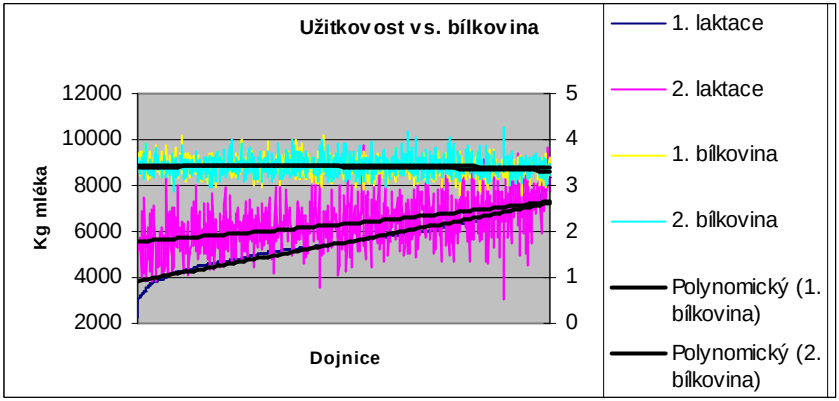
Vztah mezi mléčnou užitkovostí na první a druhé laktaci je znázorněn v grafu č.1. Z grafu je patrné dle spojnice trendu polynomu druhého řádu, že pokud dojnice na první laktaci měly nižší užitkovost, tak na druhé laktaci se užitkovost výrazně zvýšila a u dojnic s vysokou užitkovostí na první laktaci se užitkovost také zvýšila, avšak nárůst měl mnohem menší tendenci. Celkový průměrný mezilaktační nárůst činil 832 kg mléka mezi první a druhou laktací. Průměrný obsah tuku v populaci mezi laktacemi se nijak výrazně neměnil. Průměrný obsah tuku na první laktaci činil 4,032 % a na druhé laktaci byl 4,009 %, což je zanedbatelný rozdíl 0,023 % obsahu tuku. Avšak pokud se zohledňovaly jednotlivé dojnice, tak je patrné z grafu, že se vzrůstající užitkovostí mírně klesá obsah tuku dle spojnice trendu polynomu druhého řádu. Na první laktaci byl zaznamenán pokles o 0,2 % a na druhé laktaci byl pokles o 0,25 % obsahu tuku oproti průměru obsahu tuku v populaci za laktaci.

Graf č.1 Užitkovost na první a druhé laktaci a obsah tuku na první a druhé laktaci



V druhém grafu je opět znázorněna mléčná užitkovost dojnic na první a druhé laktaci jako u předchozího grafu a je dává do poměru s obsahem bílkovin na první a druhé laktaci. Průměrný obsah bílkovin v populaci mezi laktacemi se výrazně neměnil. Na první laktaci byl průměrný obsah bílkovin 3,397 % a na druhé laktaci byl obsah bílkovin 3,424 % a tím byl zaznamenán mírný vzestup o 0,027 % obsahu bílkoviny. Avšak se opět vyskytl při zohledňování jednotlivých dojnic mírný pokles obsahu bílkovin dle spojnice trendu polynomu druhého řádu. A to o 0,05 % u první laktace a o 0,04 % u druhé laktace obsahu bílkovin vzhledem k průměru populace.

Graf č.2 Užitkovost na první laktaci a obsah bílkoviny na první a druhé laktaci



Narůstání mléčné užitkovosti u českého strakatého skotu je více méně zřejmé z uvedených grafů, a také výsledky v poměru mezi obsahem tuku a bílkovin na jednotlivých laktacích můžeme posoudit s následujícími autory.

První laktace má nižší užitkovost než ostatní (PYROCHTA, CHLÁDEK, 2004).

DOLEŽAL et al., (2000) uvádí, že mléčná produkce stoupá, i když se snižujícím se nárůstem, až asi do 8 roku věku krav v závislosti na plemeni a potom klesá zvýšeným stupněm.

Podobný názor mají CHLÁDEK a KUČERA (1999). Ti uvádějí, že je obecně známe, že množství nadojeného mléka je v silném vztahu k pořadí laktace.

ŽIŽLAVSKÝ et al., (2008) uvádí, že mléčná užitkovost s věkem dojnice i objemem mléčné žlázy úzce souvisí. Dále také uvádí, že na první laktaci je mléčná užitkovost vždy nejnižší, postupně narůstá až do třetí nebo čtvrté laktace, kdy je dojnice tělesně dospělá a dosahuje maximální mléčné užitkovosti.

Rozhodující je výživa a krmení dojnic. Optimální plnohodnotná výživa krav zajišťovaná pokud možno směsnou krmnou dávkou podle jednotlivých fází laktace a reprodukčního cyklu je podkladem pro dosažení vysoké produkce s optimálním složením jednotlivých složek mléka (VANĚK, ŠTOLC et al., 2002).

U dojnic s vysokou užitkovostí na první laktaci je tedy nutné uvažovat s nižšími nárůsty užitkovosti na dalších laktacích a naopak u dojnic, jejichž užitkovost na první laktaci je nižší, je možné předpokládat vyšší nárůsty užitkovosti na dalších laktacích (CHLÁDEK, KUČERA, 2003).

Dle MIKŠÍKA a ŽIŽLAVSKÉHO (2005) se obsah tuku a bílkovin na jednotlivých laktacích se zvyšováním mléčné produkce snižuje. Pokles mezi jednotlivými laktacemi bývá ale nepravidelný, proto nelze jasně říct, zda na druhé laktaci díky vyšší mléčné užitkovosti, bude nižší obsah mléčných složek než u první.

Se zvyšující užitkovostí klesá procento mléčných složek. To sledoval BURGERTA (2003), kde užitkovost v roce 1993 byla 5681 kg, procento tuku 4,59% a bílkovin 3,55%. V roce 1996 byla užitkovost 6716 kg, procento tuku 4,63% a bílkovin 3,39%. V roce 2002 byla užitkovost 10156 kg, procento tuku 4,22% a bílkovin 3,39%.

Dle MIKŠÍKA a ŽIŽLAVSKÉHO (2005) mléčná užitkovost ovlivňuje obsah tuku v mléce. Dále uvádějí, že právě mléčná užitkovost je v negativní korelaci s obsahem tuku.U dojnic s vyšší mléčnou produkcí lze proto očekávat nižší obsah mléčného tuku.

DĚDKOVÁ (2002) zjistila, že hodnoty genetických korelací mezi produkcí mléka, tuku a bílkovin v různých laktacích potvrdily známou skutečnost, že genetická vazba mezi mlékem a bílkovinou je o něco vyšší než mezi mlékem a tukem.

ZÁVĚR

Cílem tohoto pozorování bylo vyhodnotit vztah mezi pořadím laktace, výší užitkovosti a obsahem mléčných složek u dojnic českého strakatého skotu. Byla využita populace jedinců v zemědělské společnosti ZEMSPOL České Meziříčí a.s.

Analyzováno bylo množství mléka na jednotlivých laktacích u dojnic, které uzavřeli nejméně dvě normované laktace (305 dní). Celkem bylo zahrnuto do sběru dat 824 dojnic a 1648 laktací.

Vliv pořadí laktace na mléčnou produkci je evidentní z grafu i z dat. Navýšení mléčné užitkovosti mezi první a druhou laktací je významné. Jedná se o 832 kg mléka. Průměrně celá populace zvýšila užitkovost na následné druhé laktaci oproti první laktaci. Avšak dojnice s nižší první laktací na druhé laktaci vykazovaly mnohem větší nárůst užitkovosti než-li dojnice, které dosáhly v první laktaci průměrně vyšší užitkovosti. Ty pak následně v druhé laktaci nevykazovaly tak mohutný nárůst produkce kg mléka.

Poměr tuku mezi první a druhou laktací vzhledem k vysokému nárůstu mléčné užitkovosti je dosti stabilní. V průměrných hodnotách se výrazně neměnil. Na první laktaci byl průměrný obsah tuku 4,032 % a na druhé laktaci 4,009 % obsahu tuku.Tím vznikne nepatrný rozdíl 0,023 % obsahu tuku.

Avšak pokud se zohledňovaly jednotlivé dojnice, tak je patrné z grafu, že se vzrůstající užitkovostí mírně klesá obsah tuku dle spojnice trendu polynomu druhého řádu. Na první laktaci byl zaznamenán pokles o 0,2 % a na druhé laktaci byl pokles o 0,25 % obsahu tuku oproti průměru obsahu tuku v populaci za laktaci. Průměrný obsah bílkovin v populaci mezi laktacemi se výrazně neměnil. Na první laktaci byl průměrný obsah bílkovin 3,397 % a na druhé laktaci byl obsah bílkovin 3,424 % a tím byl zaznamenán mírný vzestup o 0,027 % obsahu bílkoviny. Avšak se opět vyskytl při zohledňování jednotlivých dojnic mírný pokles obsahu bílkovin dle spojnice trendu polynomu druhého řádu. A to o 0,05 % u první laktace a o 0,04 % u druhé laktace obsahu bílkovin vzhledem k průměru populace.

Z výsledků lze usuzovat, že navzdory výrazně se zvyšující mléčné užitkovosti v kg mléka na druhé laktaci oproti první laktaci, lze zachovat ve stádě průměrný obsah jednotlivých složek mléka – jak obsahu tuku, tak obsahu bílkovin – na stejné výši. Jistý problém mohou a budou znamenat vysokoužitkové dojnice, které při vysoké mléčné užitkovosti již nejsou schopny udržet průměrný obsah tuku a bílkovin v mléce.

LITERATURA

BUNGERTA, P.: Lze dosáhnout vysokých mléčných složek i při vysoké mléčné užitkovosti? Náš chov, 2003, č.12, 46 s.

DOLEŽAL, O. et al.: Mléko, dojení, dojírny, Praha: Agrospoj, 2000. 239 s.

CHLÁDEK, G., KUČERA, J.: Relationships between milk yields in the first three lactations of Czech Pied cows, Czech Journal Anim. Sci., 2002, č.47, 445-450 s.

CHLÁDEK, G., KUČERA, J.: Přepočtové koeficienty mezi laktacemi u českého strakatého plemene, Náš chov, 2003, č.2, 24-25 s.

MIKŠÍK, J a ŽIŽLAVSKÝ, J.:Chov skotu, MZLU Brno 2005, 162 s.

PYROCHTA, V., CHLÁDEK, G.: Vliv pořadí laktace na mléčnou užitkovost dojnic, [cit. 2004] Dostupné z http://old.af.mendelu.cz/mendelnet2004/obsahy/zoo/pyrochta.pdf

VANĚK, D., ŠTOLC, L. et al.:Chov skotu a ovcí, Praha: ČZU a ISV, 2002, 199 s.

ŽIŽLAVSKÝ, J et al.: Chov hospodářských zvířat, 2.vyd., MZLU Brno, 2008, s.209

BROILER SMALL INTESTINAL MORPHOLOGY IN DEPENDING ON THE CONTENT OF THERMAL MODIFIED AND RAW FULL FAT SOYBEAN IN THE DIET

Foltyn M., Rada V., Lichovníková M.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: marian.foltyn@mendelu.cz

ABSTRACT

An experiment was designed to study the effect of dietary protein source on small intestinal morphology in broiler chicks. Four hundred thirty male ROSS 308 broiler chicks, 1 d of age, were randomly allocated to eight groups, each of which had four pens of 13 chicks per pen. The chicks were used to investigate the effects of thermal modified and raw full fat soybean on intestinal morphology. For morphology investigation were used 10 chicks of each groups. Dietary protein source had influence on changes of intestinal morphology. Villus height and crypt depth were significantly higher by group contained zero and high concentration of raw or thermal modified full-fat soybean.

Key words: villi, crypt

Acknowledgement: We thank for financial support IGA TP 8/2011 FA MENDELU and Ing. Doležalová of Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics for help with preparation of specimens.

ÚVOD

Sojový extrahovaný šrot (SEŠ) se v současné době jeví jako nejvhodnější zdroj dusíkatých látek v krmných směsích pro monogastry. SEŠ je do Evropy dovážen převážně z Amerického kontinentu a výroba krmných směsí (KS) je na jeho dovozu značně závislá. Proto je třeba hledat alternativy v krmných surovinách, které by alespoň částečné SEŠ v KS nahradily. Jednou z těchto alternativ by mohlo být použití sojových bobů z domácí produkce. Celé sójové boby obsahují relativně vysoké hladiny dusíkatých látek (od 380 do 420 g. kg^{-1}) a jsou také bohatým zdrojem energie (cca 13,41 MJ MEd, Vyskočil et. al., 2008) vzhledem k obsahu oleje (od 180 do 220 $g.kg^{-1}$) a nízkému obsahu vlákniny (cca 50 $g.kg^{-1}$) (Hamilton and McNiven, 2000). Sojový šrot může doplňovat značné množství jak bílkovin tak energie v krmných směsích. Nicméně přítomnost biologicky aktivních složek (antinutričních látek) v sóji narušuje trávení, vstřebávání a využití živin. Inhibitory trypsinu a chymotrypsinu nepříznivě redukují stravitelnost a způsobují zvětšení slinivky. Přecitlivělost na sojovou bílkovinu může zvláště u mladých zvířat ovlivnit morfologii tenkého střeva (Feng et al., 2007; Li et al., 1991, Valencia et. al., 2009), protože snížení výšky klků a zvýšení hloubky střevních krypt nezávisí pouze na výskytu patogenních mikroorganismů ve střevě, ale také na antigenech vyskytujících se v krmivu (Dunsford et al., 1989). Například u selat po odstavu krmených sojovým šrotem dochází ke snížení délky střevních klků, zvýšení hloubky střevních krypt narozdíl od prasat krmených mléčnou bílkovinou (Li et al., 1991). Druh bílkoviny v krmné dávce a stravitelnost jejich aminokyselin může mít vliv i na obnovu délky střevních klků (Vente-Spreeuwenberg et al., 2004)

Cílem pokusu bylo zjistit, jak zařazení plnotučné sóje do KS pro vykrmovaná kuřata, ovlivní morfologii tenkého střeva.

MATERIÁL A METODIKA

Do pokusu bylo zařazeno 430 ks sexovaných brojlerových kuřat (kohoutků) hybridní kombinace ROSS 308, která byla individuálně značena křídelní známkou. Kuřata byla ustájena ve dvoupodlažní klecové technologii v souladu s technologickým návodem pro daného hybrida. Od 0. do 10. dne věku všechna kuřata přijímala stejnou krmnou směs BR1 (21,5 % NL, 12 MJ/kg MEd). Desátý den byla kuřata zvážena a náhodně rozdělena do osmi skupin po 52 kusech tak, aby každá skupina měla přibližně stejnou průměrnou hmotnost. Každá skupina měla 4 opakování po 13 kusech. Pokusné období trvalo od 10. do 38. dne věku kuřat. Během pokusného období kuřata přijímala krmné směsi BR2 (19,5 % NL, 12,7 MJ/kg MEd), které se lišily v zastoupení sojového extrahovaného šrotu, extrudovaných sojových bobů, plnotučných tepelně nešetřených sójových bobů a sojového oleje (pro vyrovnání koncentrace energie ve směsi). Složení pokusných krmných směsí je zobrazeno v tab. č. 1. Obsah energie a dusíkatých látek byl ve všech skupinách stejný. Pro

vlastní morfologické stanovení bylo z každé skupiny vybráno 10 jedinců. Po vykrvení byla kuřatům odebrána část tenkého střeva (ilea) ve vzdálenosti 4 cm od Meckelova divertikula. Střevo bylo podélně rozstřihnuto, propláchnuto v destilované vodě a fixováno na korkové podložce. Jako fixační roztok byl použit 10% formaldehyd po dobu 24 hodin a následně byly vzorky přemístěny do roztoku 4% formaldehydu a uchovány do doby morfologického vyšetření. Vlastní morfologické vyšetření probíhalo přípravou mikroskopických preparátů, kdy byly vzorky nakrájeny na mikrotomu, fixovány na podložní sklíčko a obarveny v hematoxyl-eozinové řadě. Takto připravené preparáty byly vyšetřeny na mikroskopu při zvětšení 1:4000, kdy byla měřena délka klků a hloubka střevních krypt u nejlépe situovaných klků. Naměřené hodnoty byly statisticky zpracovány jednofaktorovou analýzou variace ANOVA s následným Scheffeho testem.

Tab. č. 1.: Složení pokusných krmných směsí (%)

Surovina	K	E4	E8	E12	E16	B4	B8	B12
pšenice	39,1	39,1	39,1	39,1	39,1	39,1	39,1	39,1
kukuřice	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0
SEŠ	27,3	24,0	20,7	17,5	14,2	24,0	20,7	17,5
Sója extrd.	0,0	4,0	8,0	12,0	16,0	0,0	0,0	0,0
Sója boby	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,0	8,0	12,0
Sojový olej	4,5	3, 8	3,1	2,3	1,6	3,8	3,1	2,3
vit.-min. premix	4,1	4,1	4,1	4,1	4,1	4,1	4,1	4,1

VÝSLEDKY A DISKUZE

Výsledky měření klků, krypt a poměru klky/krypty v pokusu s plnotučnou tepelně neošetřenou sójou jsou zobrazeny v tabulce č. 2. U délky klků (villi) byl statisticky průkazný rozdíl ($P<0,05$) zjištěn mezi skupinou kontrolní a skupinou B8 oproti skupině B4 s 4 % plnotučné tepelně neošetřené sóji v krmné směsi. Statisticky průkazně ($P<0,05$) menší hloubka krypt byla zjištěna u skupin B4 a B8 oproti skupině kontrolní a skupině s nejvyšší hladinou plnotučné tepelně neošetřené sóje v KS. Při měření poměru klky/krypty byl statisticky průkazný ($P<0,05$) rozdíl zjištěn u skupiny B8 oproti všem ostatním skupinám.

Tab. č. 2.: Délka klků, hloubka krypt a poměr klky/krypty tenkého střeva při použití tepelně neošetřené plnotučné sóje v KS (µm)

	K	B4	B8	B12
Villi	$966,2 \pm 24,22^{a}$	$841,8 \pm 18,38^{b}$	$922,1 \pm 13,84^{a}$	$917,3 \pm 14,91^{a,b}$
Crypt	$160,1 \pm 5,72^{a}$	$135,3 \pm 2,69^{b}$	$136,1 \pm 3,56^{b}$	$157,1 \pm 4,25^{a}$
Villi/crypt	$6,3 \pm 0,15^{b}$	$6,3 \pm 0,14^{b}$	$6,9 \pm 0,14^{a}$	$6,0 \pm 0,16^{b}$

Pozn.: rozdílné horní indexy (a, b) vyznačují statisticky průkazné rozdíly (P<0,05)

Tabulka č. 3 zobrazuje výsledky měření klků, krypt a poměru klky/krypty z druhé části pokusu, kde v krmné směsi byla zařazené extrudovaná plnotučná sója. Extruze byla použita jako forma tepelného ošetření. U klků statisticky průkazný (P<0,05) rozdíl byl zjištěn u skupiny kontrolní a skupiny E16 s 16 % extrudované plnotučné sóji v KS oproti skupinám E4, E8 a E12. Hloubka krypt byla statisticky průkazně (P<0,05) největší u skupiny kontrolní oproti všem ostatním skupinám, které obsahovaly v krmné směsi 4, 8, 12 a 16 % extrudované plnotučné sóji. Poměr klky/krypty byl statisticky průkazně (P<0,05) nejvyšší u skupiny E16 oproti skupině kontrolní a skupině E4. Ostatní skupiny byly bez statistického rozdílu.

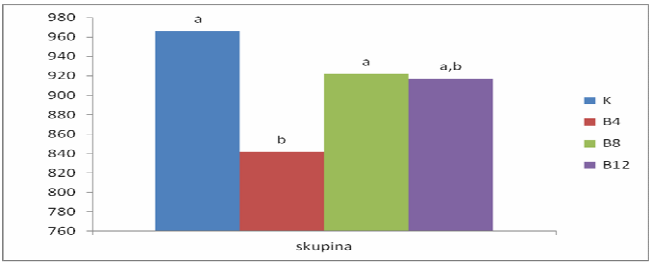
Tab. č. 3.: Délka klků, hloubka krypt a poměr klky/krypty tenkého střeva při použití tepelně ošetřené plnotučné sóje v KS (µm)

	K	E4	E8	E12	E16
Villi	966,22± 24,2^{a}	852,1 ± 10,77^{b}	792,6 ± 21,60^{b}	836,3 ± 13,94^{b}	926,7 ± 12,27^{a}
Crypt	160,1 ± 5,72^{a}	134,8 ± 2,00^{b}	122,9 ± 4,70^{b}	129,5 ± 2,24^{b}	134,6 ± 2,36^{b}
Villi/crypt	6,3± 0,15^{b}	6,4 ± 0,09^{b}	6,6 ± 0,20^{a,b}	6,6 ± 0,16^{a,b}	7,0 ± 0,12^{a}

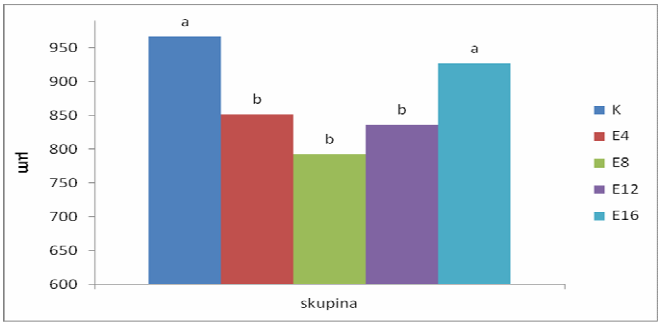
Pozn.: rozdílné horní indexy (a, b) vyznačují statisticky průkazné rozdíly (P<0,05)

Autoři Feng et al., (2007); Li et al., (1991), Dunsford et al. (1989) uvádí, že u prasat se zařazením sojového šrotu do KS dochází k zkracování délky klků a prohlubování střevních krypt, v porovnání s mléčnou bílkovinou. Feng et al., (2007) uvádí, že inhibitory trypsinu a chymotrypsinu mají vliv na morfologii tenkého střeva, hlavně na délku klků. V jeho pokusech s fermentovanou plnotučnou sójou Aspergillus oryzae, k statisticky průkazným změnám v délce klků a hloubce krypt docházelo v oblasti jejuna, ale v ileu už tyto rozdíly nebyly zjištěny. Kontrolní skupina vykazovala nejvyšší délku klků i hloubku krypt. Při zařazení sojových bobů do KS tepelně neošetřených extruzí i tepelně neošetřených, byly naměřeny nejdelší klky a zároveň nejhlubší krypty u skupin s nejvyšším podílem sojových bobů v KS oproti ostatním skupinám, kterým byla zkrmována plnotučná sója.

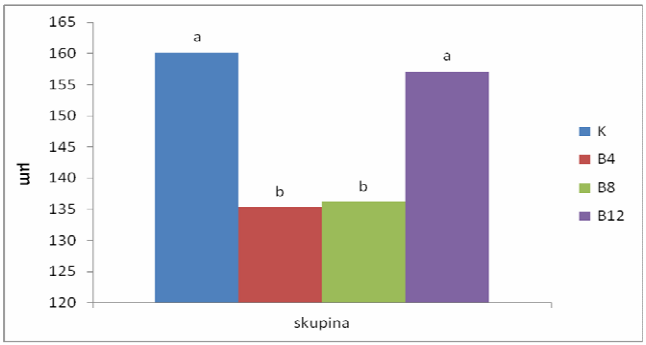
Graf.č. 1.: Délka klků jednotlivých skupin s tepelně neošetřenou plnotučnou sójou (µm)



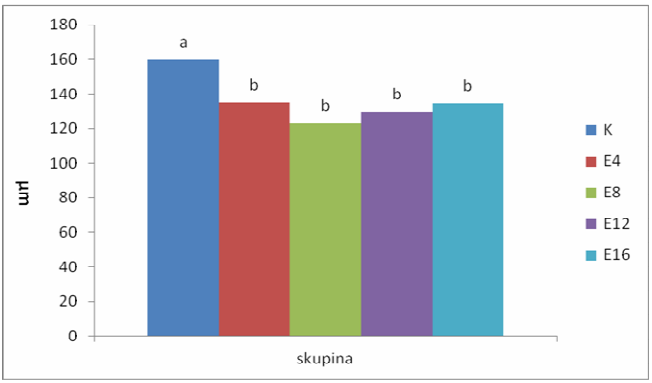
Graf.č. 2.: Délka klků jednotlivých skupin s tepelně ošetřenou plnotučnou sójou (µm)



Graf.č. 3.: Hloubka krypt jednotlivých skupin s tepelně neošetřenou plnotučnou sójou (µm)



Graf.č. 4: Hloubka krypt jednotlivých skupin s tepelně ošetřenou plnotučnou sójou (µm)



ZÁVĚR

Kontrolní skupina vykazovala nejvyšší délku klků i hloubku krypt. Zařazení sojových bobů do KS nemělo jednoznačný vliv na délku klků a hloubku krypt.

LITERATURA

DUNSFORD, B. R., KNABE, D. A., HAENSLY, W. E., *Effect of dietary soybean meal on the microscopic anatomy of the small intestine in the early-weaned pig*. Jurnal of animal science, 1989

FENG, J., LIU, X., XU, Z. R., LU, Y. P., LIU, Y. Y., *Effect of fermented soybean meal on intestinal morphology and digestive enzyme activities in weaned piglets*. Digestive diseases and Sciences, 2007

FENG, J., LIU, X., XU, Z. R., LU, Y. P., LIU, Y. Y., *Effects of Fermented Soybean Meal on Digestive Enzyme Activities and Intestinal Morphology in Broilers*. Poultry Science, 2007

HAMILTON, R.M.G., McNIVEN, M.A., *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, 2000

LI, F. D., NELSSEN, J. L., REDDY, P. G., BLECHA, F., KLEMM, R., GOODBAND, R. D., *Interrelationship between hypersensitivity to soybean proteins nad growth performance in early-weaned pigs*. Jurnal of animal science, 1991

VENTE-SPREEUWENBERG, M.A.M., VERDONK, J.M.A.J., BAKKER, G.C.M., BEYNEN, A.C., VERSTEGEN, M.W.A., *Effect of dietary protein source on feed intake and small intestinal morphology in newly weaned piglets.* Livestock Production Science, 2004

VALENCIA, D.G., SERRANO, M.R., LAZARO, R., et al., *Influence of micronization (fine grinding) of soya bean meal and full-fat soya bean on the ileal digestibility of amino acids for broilers.* Animal Feed Science And Technology, 2009

VYSKOČIL, I., ZEMAN, L., KRATOCHVÍLOVÁ, P., VEČEREK, M., VAŠÁTKOVÁ, A., *Kapesní katalog krmiv*. Mendlova zemědělská a lesnická univerzita, Brno 2008, ISBN: 978-80-7375-218-7

EVALUATION OF REPRODUCTIVE PERFORMANCE IN CATTLE

Fröhdeová M., Havlíček Z.

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

E-mail: MartinaFrohdeova@seznam.cz

ABSTRACT

Our objective was to evaluate the reproductive performance in cattle. The following were involved 320 breeding cows in year 2008 and 336 Czech spotted cattle in year 2009. They were evaluated by selected reproductive characteristics - insemination interval, service period, insemination index, age at first flush, meanwhile, age at first calving.

The level of reproductive performance was analyzed according to statistical treatment options in the period 2004–2010. The obtained values were evaluated in Microsoft Excel and calculated the statistical data - the arithmetic mean, standard deviation, standard error and variance.

During the reporting period were found in the whole herd insemination index values of 1.8, the interim period 399.9 days, the length of insemination interval of 74.54 days, length of service period 112.8 days, the average age of first recess 551 days, the average age of first calving 873.5. There were no effects of reproductive factors on the indicators.

Key words: Red-spotted cattle, reproductive performance, analysis of reproduction

ÚVOD

Hovězí dobytek zastává významné místo v živočišné výrobě. Podílí se významně na celkové živočišné produkci, a to zejména produkcí živočišných bílkovin (Kováč a kolektiv, 2001). Neúprosnou zákonitostí v chovu skotu je skutečnost, že bez reprodukce není produkce – ani mléčné, ani masné. Že se produkt vykupovaný masným průmyslem a dojnice produkující mléko musí nejdříve narodit, je zřejmé. Význam úrovně reprodukčního procesu pro konečný hospodářský výsledek chovu je proto neopomenutelný (Bouška a kolektiv, 2006). V posledních 20 letech je u krav zřejmá klesající úroveň reprodukčních ukazatelů a při tom je reprodukční výkonnost jednou z významných vlastností, ovlivňujících ekonomiku dojeného skotu (Šichtař a kolektiv, 2011). Sledování a pravidelné vyhodnocování reprodukčních ukazatelů krav nejen umožňuje odhalit existující problémy reprodukčního procesu v chovu, ale často je i zdrojem prvních signálů o neschopnosti zvířat vyrovnávat se nadále se svými životními podmínkami. Analýza těchto podkladů pak často umožňuje odhalení pravděpodobných příčin problémů, a to s poměrně malými vstupními náklady (Bouška a kolektiv, 2006).

MATERIÁL A METODIKA

Sledování reprodukčních ukazatelů bylo provedeno v zemědělském podniku nacházejícím se v Pardubickém kraji. Do sledování bylo v roce 2008 zapojeno 320 plemenic a v roce 2009 336 plemenic červenostrakatého skotu. Průměrná roční dojivost byla v roce 2008 7 104 kg, obsah tuku byl 3,67% a obsah bílkovin 3,40%. V roce 2009 byla průměrná roční dojivost 6 613 kg, obsah tuku byl 3,69% a obsah bílkovin 3,53%.

Dojnice jsou chovány v jediném kravíně. Kravín je rozdělen na 6 sekcí s volným boxovým stelivovým ustájením a středovým krmným stolem. Větrání ve stáji je zajištěno hřebenovou štěrbinou a větracími klapkami. Pro welfare zvířat jsou v prostoru stáje umístěny drbadla. Zastýlání balíkovanou slámou je zajištěno 1 krát denně nastýlačem – rozdružovadlem balíků slámy. Výkaly jsou vyhrnovány 2 krát denně traktorem s radlicí. Plemenice jsou krmeny směsnou krmnou dávkou, míchacím krmným vozem. Krmivo se naváží 2 krát denně. Dojnice jsou rozděleny do 6ti krmných skupin, podle aktuální užitkovosti.

U plemenic je veterinárním lékařem po 28 dnu březosti prováděna ranná diagnostika březosti sonografem. Další kontrolu březosti provádí ve 2 měsících inseminační technik palpační metodou. Pokud je dojnice zjištěna jalová provádí se synchronizace říje a po připuštění se znovu kontroluje sonografem. Inseminace je prováděna servisní službou.

V práci jsou zpracovány výsledky reprodukční analýzy Českého strakatého skotu v zemědělském podniku v hlavních letech 2008 a 2009. Okrajově je vyhodnoceno také období 2004 – 2010. Stádo dojnic bylo sledováno jako celek.

Hodnoty zjištěných ukazatelů byly získány z měsíčních přehledů o inseminaci a zabřezávání a z jednotlivých průvodních listů dojnic.

Zaměřila jsem se na tyto vybrané reprodukční ukazatele dojnic:

- věk při prvním zapuštění
- věk při prvním otelení
- mezidobí
- inseminační interval
- servis perioda
- inseminační index

Získané hodnoty byly vyhodnoceny v programu Microsoft Excel a byly vypočteny statistické údaje:

- aritmetický průměr x
- směrodatná odchylka Sx
- směrodatná chyba SE
- rozptyl Sx^2

VÝSLEDKY A DISKUZE

Inseminační index je odrazem celkové úspěšnosti inseminace. Vyjadřuje průměrný počet inseminací na dosaženou březost. Vyhovující jsou hodnoty do 2,0 (Hofírek, 2009).

Období od roku 2004 až 2008 tedy můžeme hodnotit jako dobré. V letech 2009 a 2010 jsou hodnoty nevyhovující, neboť v těchto letech došlo jeho nárůstu nad úroveň dvou inseminací na jedno zabřeznutí. Oproti roku 2004 je tento nárůst vyšší o 0,5. Při statistickém zpracování pak byly mezi jednotlivými roky sledování zjištěny statisticky významné rozdíly, kdy se lišily výsledky dosažené v roce 2004 a 2006 od let ostatních. V prvních letech sledování se jedná o poměrně malé četnosti. Výsledky mohou být mírně zkreslené skutečností, že se jednalo o dojnice s vyšší přežitelností, tedy o dojnice, které stály ve stáji s mladšími věkovými skupinami, tedy dojnicemi na nižší laktaci.

Tab. 1: Hodnocení inseminačního indexu dle roku

Rok	N	x	Sx	SE
2004	21	1,6	0,86	0,19
2005	29	1,9	1,33	0,25
2006	53	1,5	0,82	0,11
2007	82	1,9	1,17	0,13
2008	140	1,7	0,92	0,08
2009	218	2,1	1,32	0,09
2010	135	2,2	1,24	0,11

Ukazatel věk při prvním zapuštění udává počet dní od narození do první inseminace. Je závislý na růstové křivce plemene a jeho cílová hodnota se mění s pokrokem ve šlechtění, ale také v závislosti na úrovni výživy a zdravotního stavu jalovic již od narození (Bouška a kolektiv, 2006). Podle (Hofírek, 2009) je ideální provádět první zapuštění českého strakatého skotu v 16 – 19 měsících věku. V této době jsou jalovice pohlavně i chovatelky vyspělé, přičemž mají zapouštěné jalovice hmotnost kolem 480 kg. Tento ukazatel byl splněn ve všech letech.

Tab. 2: Hodnocení věku při prvním zapuštění dle roku

Rok	N	x	Sx	SE
2004	21	551,3	42,16	9,20
2005	29	549,0	51,95	9,65
2006	53	537,4	168,18	23,10
2007	82	559,9	69,15	7,64
2008	91	558,3	51,57	5,41

Ukazatel věk při prvním otelení odráží faktory ovlivňující věk při prvním zapuštění, tedy úroveň chovu jalovic s odpovídajícím věkem chovatelské zralosti a účinnost vyhledávání říje, ale také zachycují úroveň zabřezávání jalovic v důsledku vybalancovanosti jejich reprodukčních funkcí (pravidelnost cyklu, schopnost zabřeznout a březost udržet), přesnost detekce říje a kvalitu inseminace. Za optimální situace by se věk při prvním zabřeznutí měl lišit od vytyčeného cíle pro věk při prvním zapuštění o 11 dní (Bouška a kolektiv, 2006). Tudíž věk při prvním zapuštění 480 až 570 + 11 + 285 dní březosti = 776 až 866 dní věku při prvním otelení. Ze zjištěných sledování se zdá být na první pohled vyšší věk při prvním otelení u zvířat s podílem plemene ayshire. Tento rozdíl byl dokonce statisticky významný. Vzhledem k tomu, že se jedná o plemeno s menším tělesným rámcem, lze částečně vysvětlit uvedený nárůst věku při prvním otelení .

Tab.3: Hodnocení věku při prvním otelení dle roku

Rok	N	x	Sx	SE
2004	21	867,3	58,10	12,68
2005	29	879,3	80,01	14,86
2006	53	856,9	158,40	21,76
2007	82	894,4	88,08	9,73
2008	91	869,8	72,13	7,56

Určení optimálního inseminačního intervalu, tedy doby od porodu do první inseminace musí zohledňovat dvě protichůdné tendence. Intenzifikace reprodukce vyžaduje v co největší míře zkracovat tuto dobu, zatímco biologické možnosti a zdraví zvířete vytváření určitý limit pro minimální délku intervalu (Hofírek, 2009). Pokud přijmeme hodnoty Říhy a kolektiv (2003), pak by tyto neměly přesahovat 85 dnů. Tento ukazatel byl v normě. Tyto výsledky inseminačního intervalu jsou trvale nad celostátním průměrem (2008 – 83 dní a 2009 – 83,6 dní) (Kvapilík a kolektiv, 2008 a 2009).

Tab. 4: Hodnocení inseminačního intervalu dle roku

Rok	N	x	Sx	SE
2008	49	71,14	10,07	1,44
2009	218	77,27	30,67	2,08
2010	136	75,23	17,97	1,54

Mezidobí je významným souhrnným ukazatelem reprodukce a představuje součet dnů servis periody a březosti. Za uspokojivou hodnotu mezidobí lze v současné době považovat hodnotu do 400 dnů (Hofírek, 2009). Srovnáme-li délku mezidobí v letech 2008 – 2010, je tento výsledek v souladu s prodlouženou servis periodou. Hodnoty mezidobí zjištěné ve sledovaném chovu jsou pod celostátním průměrem (2008 – 412 dní a 2009 – 411 dní) (Kvapilík a kolektiv, 2008 a 2009), což ale neznamená, že by se tomuto údaji neměla věnovat patřičná pozornost. Každé její prodloužení je velice významné, neboť se významně pojí s celou ekonomikou chovu krav.

Tab.5: Hodnocení délky mezidobí dle roku

Rok	N	x	Sx	SE
2008	49	394,4	48,48	6,93
2009	218	400,9	59,97	4,06
2010	136	404,5	55,42	4,75

Servis perioda společně s mezidobím patří k nejvýznamnějším ukazatelům reprodukční výkonnosti. Uspokojivá hodnota servis periody u mléčných krav je v současné době do 120 dnů (Hofírek, 2009).

Průměrná servis perioda v tomto chovu je pod celostátním průměrem, který byl v roce 2008 – 125,1 dní a v roce 2009 – 122,9 dní) (Kvapilík a kolektiv, 2008 a 2009). Tento ukazatel je ovlivněn celou řadou faktorů, které nejsou v dostupných sledováních plně k dispozici. Jedná se zde o hodnoty průměrné, kdy nejsou v přímém propojení údaje o celé řadě faktorů, jako je např. úroveň užitkovosti, úroveň výživy, či faktor hygienických parametrů stájí, či faktor postupů a metodik např. při detekci říje.

Tab.6: Hodnocení servis periody dle roku

Rok	N	x	Sx	SE
2008	49	107,4	48,05	6,86
2009	218	113,5	60,69	4,11
2010	136	117,5	56,40	4,84

ZÁVĚR

Z výsledků předkládaných v této práci můžeme konstatovat, že ve sledovaném období došlo k mírnému zhoršení reprodukčních ukazatelů.

Ve sledovaném období bylo prokázáno zhoršení inseminačního indexu, kdy hodnota 1,6 stoupla na 2,2. Průměrný věk při prvním zapuštění byl 551,1 dní, což je v normě 16 – 19 měsíců pro první zapuštění červenostrakatého skotu. Hodnota inseminačního intervalu se zvýšila ze 71,14 na 75,23, což je ale stále pod celostátním průměrem 83,6%. Délka mezidobí ve stádě plemenic se prodloužila z 394 na 405, což se dá hodnotit jako dobré ve srovnání s průměrem 411 dní z celé republiky. Délka servis periody se z 107,7 prodloužila na 117,5, i když je toto číslo vyšší stále je nad průměrem 122,9 dní z celé republiky.

Přestože se výsledky reprodukčních ukazatelů dají hodnotit jako vyhovující a většina je lepší než celostátní průměr, stálá sestupná tendence může v budoucích letech ohrozit rentabilitu chovu.

Důvodem zhoršujících se ukazatelů reprodukce může být rekonstrukce stáje v roce 2008, což se projevilo i na hodnotách v následujícím roce. Zlepšení jednotlivých ukazatelů můžeme dosáhnout vylepšením vyhledávání říje. Pouhé sledování říjových příznaků je nedostatečné – moderní metody sledování říje pomocí pedometru nebo počítačového programu jsou žádoucí. Tím se eliminuje vliv chybně stanoveného termínu inseminace. Pro minimalizaci poruch plodnosti projevujících se funkčními poruchami organismu během poporodního období můžeme zlepšit technologii chovu a lépe ovlivňovat klimatické faktory – tepelný stres. Lepší než napravovat chyby, je předcházet jim.

LITERATURA

BOUŠKA J. et. al., 2006: Chov dojeného skotu. Praha, Profi press, s.r.o., 186 s. ISBN 80-86726-16-9

HOFÍREK B., DVOŘÁK R., NĚMEČEK L., DOLEŽEL R., POSPÍŠIL Z. et. al., 2009: Nemoci skotu. Česká buiatrická společnost, Brno, 1149 s.

KOVÁČ G. et. al., 2001: Choroby hovädzieho dobytka. M&M, Prešov, 874 s.

KVAPILÍK J., RŮŽIČKA Z., BUCEK P. et. al., 2009: Ročenka: Chov skotu v ČR, Hlavní výsledky a ukazatele za rok 2008. Praha, ISBN 978-80-904131-2-2, 96 s.

ŘÍHA J., PETELÍKOVÁ J., ČEŘOVSKÝ J., BAŽANT J., BOCHENEK M. a PYTLOUN J., 2003: Plemenitba hospodářských zvířat. Rapotín, ISBN 80-903143-4-1, 151 s.

ŠICHTAŘ J., TOLMAN R., RAJMON R., KLABANOVÁ P., BERKA P., VOLEK J., JÍLEK F., 2011: Folikulární charakteristika říjového cyklu u holštýna, *Náš chov*, č. 4, s. 26 - 29

USING THE WOOD MODEL FOR DESCRIBING THE SHAPE OF LACTATION CURVE OF CZECH FLECKVIEH COWS BY LACTATION AND YEAR OF BIRTH

Kopec T., Kučera J., Chládek G., Verner M.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: kopec@cestr.cz

ABSTRACT

The main goal of this study was to describe the lactation curves in Czech Fleckvieh cattle using the mathematical function of Wood (1967). Data about the month control of 415 438 cows on the first lactation, 326 891 on the second lactation and 214 453 on the third lactation were used. The dataset contained cows with at least 75% of Czech Fleckvieh blood and each cow had at least 7 test-day records.

Three parameters of Wood function were estimated separately for the years of birth of cows 1992-2006. Peak yield, peak day, index of persistency, 100-day milk yield, 200-day milk yield and total milk yield for lactation were calculated based on these parameters. Parameters were estimated by the procedure PROC NLIN in the statistical program SAS 9.1.

Peak yield was in 1992 17.4 on the 1st lactation, 21.2 on the 2nd and 22.9 on the 3rd lactation. In 2006 the peak yield was 22.9 on the 1st, 29.8 on the 2nd and 32.4 on the 3rd lactation. Peak day increased the same way as peak yield in all lactations, exactly from 27 to 54 on the first lactation, from 22 to 37 on the second lactation and from 26 to 38 on the third lactation. Index of persistency increased during years on all lactations. In general total milk yield per lactation increased during years. Peak yield was higher and cows had the peak yield later, persistency was improved too.

Key words: lactation curve, Czech Fleckvieh, Wood model, milk, persistency.

ÚVOD

Cílem této práce bylo stanovení parametrů Woodovy funkce a popis průběhu laktace u krav českého strakatého skotu. Znalost nejen celkového nádoje za laktaci, ale i průběhu laktace, zejména persistence laktace, je důležitá pro potřeby šlechtění i řízení dojených stád. Pro popis průběhu laktace existuje mnoho matematických modelů, jedním z nejpoužívanějších je matematický model podle Wooda (Wood, 1967), který jsme použili v této práci pro sestavení laktačních křivek krav českého strakatého skotu pro různé ročníky narození.

MATERIÁL A METODIKA

Pro odhad parametrů byl použit soubor nádojů za jednotlivé kontrolní dny u krav na první, druhé a třetí laktaci. Výchozí soubor obsahoval dojnice s minimálně 75% podílem plemene českého strakatého skotu a minimálně 7 kontrolními dny za laktaci. Pro tyto laktace byly odhadnuty parametry Woodovy funkce zvlášť pro ročníky narození 1992 – 2006 na první, druhé a třetí laktaci. Na první laktaci byly zpracovány údaje od 415 438 krav, na druhé laktaci od 326 891 krav a na třetích laktacích byly k dispozici nádoje u 214 453 krav.

Pro konstrukci laktačních křivek byl použit matematický model podle Wooda:

$$y = at^b e^{-ct},$$

kde t je počet dní laktace; a, b, c jsou parametry funkce, které byly odhadnuty pomocí procedury PROC NLIN statistického programu SAS 9.1.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Odhady parametrů a, b, c pro různé laktace a ročníky narození uvádějí tabulky 1 - 3. Třináctý et al. (1990) uvádějí obdobné parametry Woodovy funkce u českého strakatého za ročníky 1985 – 1986. Hodnoty jsou o něco nižší, což odpovídá nižšímu ročníku narození hodnocených krav. K obdobným hodnotám dospěli Macciotta et al. (2005), kteří porovnávali u italského strakatého skotu různé matematické modely pro konstrukci laktačních křivek.

Na všech laktacích je v závislosti na ročníku narození patrný nárůst maximálního denního nádoje i dne, kdy byl tento nádoj dosažen. Na první laktaci byl u ročníku narození 1992 maximální nádoj 17,4 kg dosažen 27. den laktace, zatímco v roce 2006 bylo maximálního nádoje 22,9 kg dosaženo 54. den laktace. Obdobný nárůst užitkovosti je i na druhé a třetí laktaci, kdy ročník 1992 má maximum 21,2 kg, resp. 22,9 kg v 22., resp. 25. dnu laktace. Oproti tomu ročník 2006 má na druhé, resp. třetí laktaci maximum 29,8 kg, resp. 32,4 kg v 37., resp. 38. den. Podle výpočtů Třináctého et al. (1990) je vrchol laktace 32. den při nádoji 18,19 kg. Nasri et al. (2008) uvádějí maximum laktace 44. den s nádojem 39 kg. Dematawewa et al. (2007) dospěli ve své práci k nejvyššímu nádoji za laktaci 33,35 kg, kterého bylo dosaženo 102. den laktace.

Taktéž suma nádojů za 305 dní roste v závislosti na ročníku narození, na první laktaci ze 4128 kg v roce 1992 na 5878 kg v roce 2006. Na druhé laktaci ze 4722 kg na 6754 kg a na třetí laktaci z 5096 kg na 6780 kg mléka.

Z dílčích úseků laktace lze vyvodit i persistenci laktace. Ročníky 1992 nadojily za prvních 100 dnů laktace 40,3 % z celkového nádoje za normovanou laktaci, resp. na druhé a třetí laktaci 42,3 % a 42,5 %. Ročníky 2006 dosahují hodnot 37,1 %, 41,9 % a 42,8 %. Rovněž index persistence laktace IP2:1 dosahuje s rostoucím ročníkem narození vyšších hodnot, což koresponduje s uvedenými % nádoje za 100 dní i s posunujícím se dnem dosažení vrcholu laktace. Na první laktaci dochází ke zvýšení indexu z 82,2 % v roce 1992 na 91,8 % v roce 2006. Třináctý et al. (1990) dospěli k hodnát indexu persistence 77,2 %. K největšímu zlepšení dochází na první laktaci. Vypočtené hodnoty za jednotlivé laktace jsou popsány v tabulkách 1 - 3. Průběh vybraných laktačních křivek za jednotlivé laktace znázorňují grafy 1 - 3.

Tab. 1 Parametry a vybrané ukazatele průběhu laktace podle ročníků narození krav - 1.laktace

Year of birth	Parameters			Peak day	Peak yield	Index of persistency	100-day yield	305-day yield	% 100-day/305 day yield
	a	b	c						
1992	14,4229	0,0821	0,0031	26,6	17,4	82,2	1664,6	4128,1	40,3
1993	14,3063	0,0745	0,0027	27,3	17,0	84,3	1635,3	4154,0	39,4
1994	14,6448	0,0727	0,0027	27,1	17,3	84,5	1667,3	4246,4	39,3
1995	14,9534	0,0790	0,0026	30,9	18,1	86,3	1752,4	4538,5	38,6
1996	14,9723	0,0915	0,0027	33,5	18,8	86,3	1820,8	4701,5	38,7
1997	14,4353	0,1062	0,0027	38,8	19,1	87,9	1851,4	4844,8	38,2
1998	13,6752	0,1349	0,0032	41,9	19,8	87,1	1901,6	4901,9	38,8
1999	13,6823	0,1375	0,0033	42,3	20,0	87,1	1917,9	4943,1	38,8
2000	13,4720	0,1463	0,0032	46,3	20,4	88,9	1959,5	5133,4	38,2
2001	14,0969	0,1439	0,0031	46,3	21,2	89,1	2037,6	5349,4	38,1
2002	14,4964	0,1414	0,0030	47,8	21,7	90,1	2092,2	5553,5	37,7
2003	14,2843	0,1466	0,0029	49,9	21,9	90,9	2103,6	5621,9	37,4
2004	13,9594	0,1573	0,0030	53,3	22,3	92,0	2137,5	5766,5	37,1
2005	13,9197	0,1636	0,0031	53,5	22,7	91,8	2169,2	5829,5	37,2
2006	13,9138	0,1667	0,0031	53,8	22,9	91,8	2188,7	5878,4	37,2

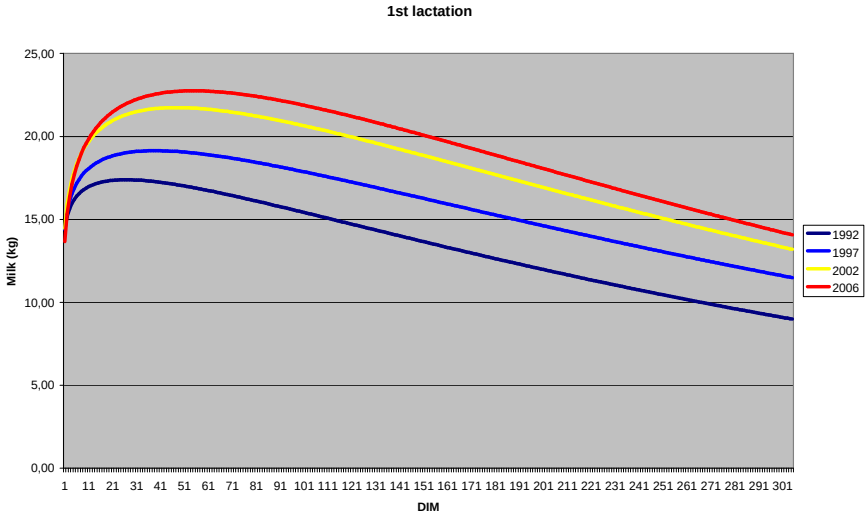
Tab. 2 Parametry a vybrané ukazatele průběhu laktace podle ročníků narození krav - 2.laktace

Year of birth	Parameters			Peak day	Peak yield	Index of persistency	100-day yield	305-day yield	% 100-day/305 day yield
	a	b	c						
1992	17,9625	0,0790	0,0036	21,8	21,2	77,7	1996,8	4722,4	42,3
1993	18,2342	0,0797	0,0036	22,5	21,6	78,3	2039,2	4853,7	42,0
1994	18,2056	0,0953	0,0036	26,3	22,6	79,5	2147,0	5154,3	41,7
1995	18,8857	0,1032	0,0038	27,3	24,0	79,0	2273,8	5426,2	41,9
1996	18,4719	0,1177	0,0040	29,7	24,5	79,2	2323,5	5535,9	42,0
1997	17,7363	0,1464	0,0045	32,3	25,5	77,8	2407,4	5619,7	42,8
1998	17,5755	0,1495	0,0046	32,6	25,5	77,8	2406,7	5611,0	42,9
1999	17,4091	0,1606	0,0047	34,1	26,1	77,9	2466,5	5747,0	42,9
2000	17,9859	0,1580	0,0046	34,1	26,8	78,3	2534,3	5929,1	42,7
2001	18,8118	0,1503	0,0044	34,2	27,5	79,3	2608,4	6179,1	42,2
2002	18,9708	0,1561	0,0044	35,6	28,3	79,9	2686,8	6398,1	42,0
2003	18,5397	0,1640	0,0044	37,5	28,5	80,9	2705,7	6499,2	41,6
2004	19,0900	0,1642	0,0044	37,0	29,3	80,4	2778,1	6636,4	41,9
2005	19,2328	0,1651	0,0045	36,9	29,6	80,2	2803,9	6687,1	41,9
2006	19,5647	0,1621	0,0044	36,7	29,8	80,3	2828,3	6754,5	41,9

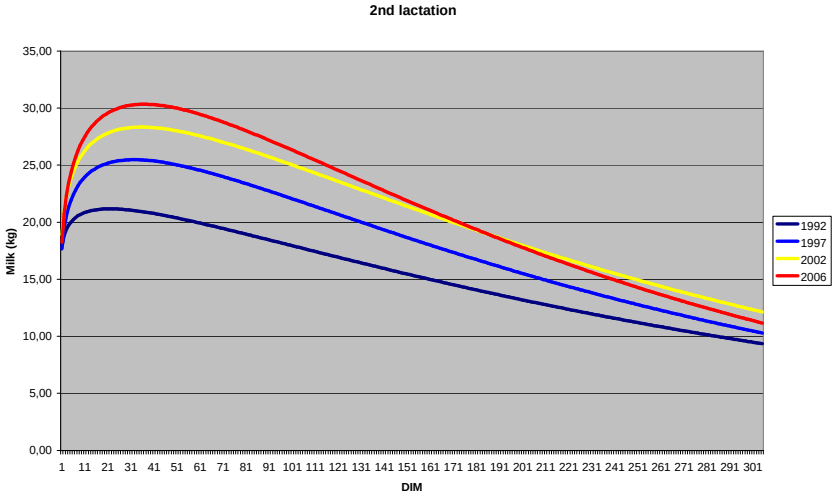
Tab. 3 Parametry a vybrané ukazatele průběhu laktace podle ročníků narození krav - 3.laktace

Year of birth	Parameters			Peak day	Peak yield	Index of persistency	100-day yield	305-day yield	% 100-day/305 day yield
	a	b	c						
1992	18,4261	0,0980	0,0039	25,2	22,9	77,7	2165,1	5096,2	42,5
1993	18,1047	0,1164	0,0040	29,1	23,9	78,7	2262,1	5365,5	42,2
1994	18,5535	0,1255	0,0042	30,0	25,1	78,3	2374,8	5596,7	42,4
1995	18,2260	0,1432	0,0044	32,7	26,0	78,6	2463,6	5804,1	42,4
1996	17,7662	0,1618	0,0048	33,6	26,7	77,2	2514,2	5813,4	43,2
1997	17,3403	0,1725	0,0050	34,7	26,9	77,2	2532,7	5841,7	43,4
1998	17,1428	0,1793	0,0050	35,6	27,2	77,3	2558,0	5902,3	43,3
1999	17,1092	0,1871	0,0052	36,0	27,7	76,9	2605,9	5978,2	43,6
2000	17,7101	0,1842	0,0051	36,4	28,6	77,7	2687,8	6218,5	43,2
2001	18,4519	0,1798	0,0049	36,8	29,5	78,5	2779,3	6492,3	42,8
2002	17,9663	0,1926	0,0049	39,3	30,1	79,8	2835,0	6691,6	42,4
2003	18,5247	0,1875	0,0049	38,5	30,5	79,5	2873,2	6767,7	42,5
2004	19,0657	0,1840	0,0049	37,9	31,0	79,3	2922,3	6873,3	42,5
2005	18,9869	0,1903	0,0050	38,0	31,4	78,7	2954,3	6898,5	42,8
2006	18,0566	0,2222	0,0059	37,8	32,4	75,4	3022,6	6780,8	44,6

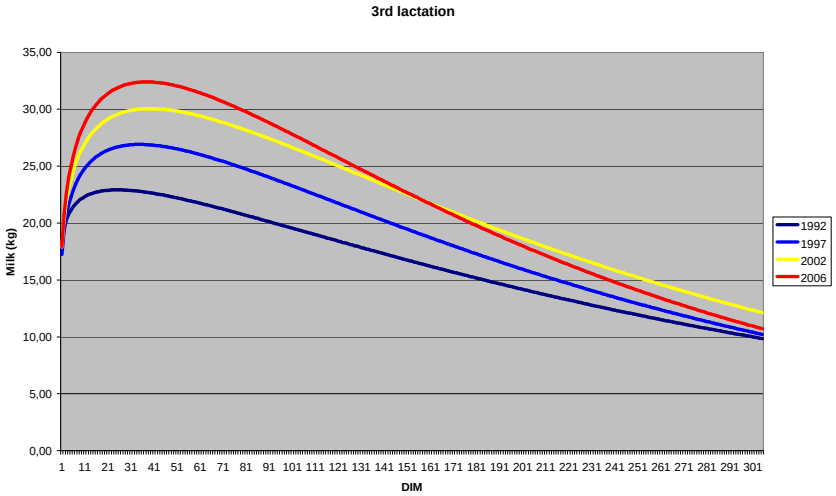
Graf 1 Laktační křivky u vybraných ročníků narození - 1. laktace



Graf 2 Laktační křivky u vybraných ročníků narození - 2. laktace



Graf 3 Laktační křivky u vybraných ročníků narození - 3. laktace



ZÁVĚR

Na základě dosažených výsledků lze konstatovat, že v průběhu let 1992 - 2006 došlo ke zvýšení celkové užitkovosti, posunu dosažení vrcholu laktace a zároveň došlo i ke zlepšení persistence laktace. Nejvýrazněji se změny v průběhu laktačních křivek projevují na první laktaci, kdy došlo k posunu vrcholu laktace mezi ročníky 1992 a 2006 o 27 dní. Zlepšení persistence laktace vyjádřené indexem IP2:1 je taktéž nejvýraznější na první laktaci, na druhé a třetí laktaci se index persistence zlepšil pouze o 1 %.

LITERATURA

DEMATAWEWA C. M. B., PEARSON R. E., VANRADEN P. M.: Modelling extended lactations of Holsteins. Journal of Dairy Science, 90, 2007 (8): 3924-3936, ISSN: 0022-0302.

MACCIOTTA N. P. P., VICARIO D., CAPPIO-BORLINO A.: Detection of different shapes of lactation curve for milk yield in dairy cattle by emperical mathematical models. Journal of Dairy Science, 88, 2005 (3): 1178-1190, ISSN: 0022-0302.

NASRI FATHI M. H., FRANCE J., ODONGO N. E., LOPEZ S., BANNINK A., KEBREAB E.: Modelling the lactation curve of dairy cows using the differentials of growth functions. Journal of Agricultural Science, 146, 2008: 633-641, ISSN: 0021-8596.

TŘINÁCTÝ J., BABÁK V.,ČERMÁK V., SOMMEROVÁ H.: Form of the lactation curve of dairy cows of different breeds. Sborník vědeckých prací VÚVZ Pohořelice, 23, 1990, s.15-23.

WOOD P. D. P.: Algebraic model of the lactation curve in cattle. Nature 216, 1967: 164 - 165.

EVALUATION OF BASIC BODY MEASUREMENTS IN DONKEY POPULATION IN CZECH REPUBLIC

Kosťuková M., Jiskrová I.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agriculture, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: markostuko@centrum.cz

ABSTRACT

The aim of our work was to measure a defined number of individuals from donkey population in Czech Republic. We have focused on the following morphological traits: cane height at the withers, chest circumference and shin circumference. From these, the hippometric indexes were calculated. The list of donkeys that were later attended for measurements was created based on contacts given to us by breeders themselves. From a total of 331 donkey individua living in Czech Republic, we have managed to obtain 50 samples.

The measured results were further analyzed by the generic linear model and methods of descriptive statistics. We were able to prove a significant diversity between the Czech population of donkeys and the individuals that were imported from abroad.

The calculated hippometric indexes were excluded from further statistical analysis. Moreover the differencies in some of the traits were as significant as the differencies in the measurements.

From the mentioned facts we can assume that in the past mainly donkeys with lower withers were imported, whereas presently the phenomena is turning its hands. The demand for higher and stronger donkeys has risen recently as they are better for riding. That is why there were significant differences between the donkeys born in Czech Republic and those born abroad.

Key words: donkey, basic body measurements, hippometric index

ÚVOD

Osel. Zvíře, které se pro lidi stalo symbolem nedokonalosti. Často označuje člověka méně inteligentního či přinejmenším tvrdohlavého. Těžko říci, kde jsou kořeny tohoto hanlivého výrazu, důležité však je, že se celá tato věc nezakládá na reálných základech. Vznik označení „ty osle“ lze z pohledu lidí, kteří s těmito zvířaty každodenně pracují, označit za neopodstatněný a pramenící z neznalosti.

Čtyřnohý osel je ve skutečnosti zvíře velmi inteligentní, což je bezesporu jedna z vlastností, která mu umožnila uspět v evoluci a přežít. Osli jsou zvířata, která kromě již zmíněné inteligence disponují ještě několika pozitivními vlastnostmi – za zmínku jistě stojí přirozený talent řešit nenadále vzniklé situace, spoléhání se výhradně sama na sebe, houževnatost a vytrvalost. Dále je na tomto místě třeba vypíchnout, že musí-li se zvíře vypořádat s nějakým problémem, nikdy danou věc (na rozdíl právě od lidí) neřeší útěkem. Otázkou tak je, zda by ono známé „ty osle“ nemělo být používáno spíše jako lichotící, než hanlivé.

Díky své povaze a nevšednímu vzezření si stále častěji lidé volí osla jako zájmové zvíře. Jelikož však v ČR není žádná organizace, která by chovatele sdružovala a charakterizovala osla v ČR, začíná vznikat i ze stran chovatelů vznikat poptávka po tyto informace. Prvním impulsem bylo změření co největšího možného počtu oslů a vyhodnocení těchto měr, na jejichž základě lze osla určitým způsobem standardizovat.

Cílem této práce je celkový průzkum populace oslů na našem území a následné vytvoření standardů pro chov oslů v České republice. Nedílnou součástí práce byly návštěvy chovatelů za účelem získání měr jednotlivých zvířat a následná vyhodnocení získaných dat. Údaje o početních stavech, rozložení populace, pohlaví jednotlivých zvířat a jejich data narození byly poskytnuty Asociace svazů chovatelů koní (ASCHK).

MATERIÁL A METODIKA

V ústřední evidenci koní bylo zaregistrováno 331 oslů a 42 kříženců oslů a koní. Pro výzkum jsme změřili 50 oslů. Z toho bylo 35 klisen, 11 hřebců a 4 valaši.

Měření oslů

V diplomové práci byly použity následující míry:

- Kohoutková výška hůlková (KVH) – měří se hůlkovou mírou v nejvyšším místě kohoutku.
- Výška v kříži (VvK) – měří se hůlkovou mírou v nejvyšším bodě na zádi.

- Obvod hrudníku (OH) – měří se páskovou mírou za kohoutkem
- Obvod holeně (Ohol) – měří se páskovou mírou v horní třetině holeně (nejužším místě obvodu)

Z popsaných tělesných rozměrů byly následně vypočítány hippometrické indexy:

- Index mohutnosti (IM) = obvod hrudníku * 100 / výška v kohoutku
- Index kostnatosti (IK)= obvod holeně * 100 / výška v kohoutku
- Index síly kostry (ISK) = obvod holeně * 100 / obvod hrudníku

Členění databáze oslů

Kontakty na majitele oslů jsme postupně získávali z různých zdrojů a od samotných chovatelů. Proto náš vzorek, který byl posbírán v roce 2010, čítá 50 jedinců. Věková hranice vybraných a měřených zvířat byla minimálně tři roky, neboť ve třech letech jsou teplokrevní koně chovatelsky dospělí a jsou zařazováni do plemenitby.

Základna oslů byla rozčleněna podle:

- Pohlaví (samci a samice)
- Kohoutkové výšky hůlkové (KVH do 100 cm včetně, KVH nad 100 cm)
- Věku (1985 – 2000, 2002 – 2006, 2007 – 2008)
- Místa narození (narození v ČR, narození v zahraničí)

Metody statistického zpracování

Sesbíraná data jsme shromažďovali v programu Microsoft Excel 2007, ve kterém jsme provedli výpočet základních statistických údajů (průměr, směrodatná odchylka, rozptyl výběru, variační koeficient, minimum, maximum a průměr +/- směrodatná odchylka.

Vliv na vybrané tělesné míry jsme testovali pomocí obecného lineárního modelu (GLM). Ke zpracování jsme využili program Unistat ver. 5.1. Pro výpočet vlivů působících na tělesnou stavbu oslů jsme použili tyto rovnice:

VÝSLEDKY A DISKUZE

Vyhodnocení KVH

Zjistili jsme, že průměrná KVH v námi měřené populaci je 104,72 cm, přičemž modus nám vyšel 100 a maximum s minimem se pohybuje od 91 cm do 122 cm. Osli v ČR jsou převážně zvířata dovezená z východu, kde jejich vzrůst ovlivňovala potrava, využití a celkové podmínky, ve kterých osli žili. Vzrůst po mnoho generací ovlivňuje i brzké období prvního porodu. Pokud se zvíře dostane do podmínek s kvalitnější potravou, nástup pohlavní dospělosti může být dřívější, a tudíž

i první porod bude před osifikací růstových zón. Porod celkově oslabuje organismus - živiny, které tělo potřebuje pro růst, jsou poskytovány plodu. V důsledku toho dochází ke zpomalení růstu a následné generace mohou vykazovat menší vzrůst (DURRUTYA, M. 2005)

Statisticky průkazný rozdíl nám vyšel pro osly narozené v ČR a osly narozené v zahraničí tab. č.1

Tab č. 1 Testování pro efekt místa narození pro KVH

Skupina	Četnost	Průměr	Narození v ČR	Narození v zahraničí
Narození v ČR	35	102,4429		*
Narození v zahraničí	15	110,0333	*	

Z předchozího testování jsme zjistili statisticky průkazný rozdíl mezi jedinci dovezenými a jedinci narozenými na území ČR. Vliv na výšku může mít chovatel, využití i geografické podmínky, ve kterých zvíře vyrůstalo, taktéž nedostatek hřebců s vyšší KHV u nás. U chovatelky z jižních Čech, jež měla velmi početné stádo oslů, jsme zaznamenali vyšší počet zvířat narozených po jejich hřebci, jež měl KVH 91, což mohlo ovlivnit naše výsledky. Chovatelé nyní preferují vyšší zvířata, proto dovezení osli ze zahraničí vykazují celkově vyšší KVH. Nejstarším dovezeným zvířetem v našem souboru je osel narozený v roce 1995. Ostatní osli narození v zahraničí jsou věku mladšího a to od roku 2002.

Vyhodnocení OH

Průměrná hodnota u obvodu hrudníku nám vyšla 129,62 cm. Minimum a maximum OH se pohybovalo od 111 cm do 150 cm. Obvod hrudníku je závislý na kondici zvířete, na stupni březosti, výživném stavu zvířete, ovlivňuje ho mnoho faktorů a je to jedna z nejproměnlivějších hodnot. To potvrzuje i variační koeficient, který má poměrně vysokou hodnotu (8,11). Při testování pomocí Turkey- B testu, jsme zjistili statisticky průkazný rozdíl pro efekt KVH a místa narození.

Tab. č. 2 Testování pro efekt místa narození pro faktor OH

Skupina	Příp.	Průměr	Narození v ČR	Narození v zahraničí
Narození v ČR	35	127,5000		*
Narození v zahraničí	15	134,5667	*	

Osli narození v zahraničí vykazují vyšší hodnotu průměrného obvodu hrudníku. Jelikož byl již prokázán i statistický rozdíl KVH oslů narozených v zahraničí, je přirozené se domnívat, že tato zvířata budou mít i větší obvod hrudníku, což nám test potvrdil. Celkový rozdíl činil 7,06667 cm.

Tab. č. 3 Testování pro efekt KVH pro faktor OH

Skupina	Příp.	Průměr	KVH do 100cm včetně	KVH nad 100 cm
KVH do 100 cm	15	120,3333		*
KVH nad 100 cm	35	133,6000	*	

Turkey-B test nám potvrdil statistickou významnost pro obvod hrudi a kohoutkovou výšku hůlkovou. Nyní máme statisticky podloženou závislost OH na KVH. Rozdíl mezi osly do 100 cm včetně a osly s KVH nad 100 cm činil 13 cm.

Vyhodnocení Ohol

V průměru dosahovala hodnota Ohol 14,03 cm, přičemž maximum a minimum se pohybovalo od 12 do 17 cm. Kromě efektu věku jsme u všech zvolených efektů prokázali statisticky významný rozdíl. Efekty místa narození, pohlaví a KVH jsme testovali metodou mnohonásobného porovnání.

Tab. č. 4 Testování pro efekt pohlaví pro faktor Ohol

Skupina	Příp.	Průměr	Samci	Samice
Samice	35	13,6714		*
Samci	15	14,8667	*	

Test mnohonásobného porovnávání nám prokázal statisticky významný rozdíl efektu pohlaví. V průměrných hodnotách se obvod holeně lišil o více než centimetr.

Čím vyšší Ohol, tím je zvíře mohutnější (Crhová, V. 2002). Ohol u samců vykazuje vyšší průměrnou hodnotu, ale také vyšší variabilitu v populaci (7,88) než u samic (6,75). Vliv na vyšší variabilitu a vyšší hodnotu Ohol, můžou mít kastráti zastoupení v populaci samců. Kastrace zvyšuje hodnoty KVH, OH, Ohol (Duruttya, M. 2005), což může mít za následek celkově vyšší hodnoty KVH, OH, Ohol u skupiny samců.

Tab. č. 5 Testování pro efekt KVH pro faktor Ohol

Skupina	Příp.	Průměr	KVH do 100 cm včetně	KVH nad 100 cm
KVH do 100 cm	15	13,1333		*
KVH nad 100 cm	35	14,4143	*	

Pokud budeme chtít chovat osly s vyšší KVH, musí nás zajímat i hodnoty Ohol, abychom do chovu nezískali zvíře mohutné, avšak se slabou kostrou.

Podobně jako u ostatních efektů se i průměrné hodnoty Ohol u kategorie do 100 cm KVH a nad 100 cm KVH liší o více než 1 cm. To je pozitivní informace vzhledem k tomu, že obvod holeně je spjat s kostnatostí a sílou kostry. V případě porovnání hodnot variačního koeficientu (6,67, 7,06) zjistíme, že se tyto dvě kategorie od sebe neliší tak výrazně jako u ostatních efektů. Populace je v tomto ohledu celkově rovnoměrnější.

Tab. č. 6 Testování pro efekt místa narození pro faktor Ohol

Skupina	Příp.	Průměr	Narození v ČR	Narození v zahraničí
Narození v ČR	35	13,7000		*
Narození v zahraničí	15	14,8000	*	

U místa narození jsme prokázali statisticky významný rozdíl v síle Ohol. Osli dovezení ze zahraničí vykazují o více než 1 cm silnější holeň. Vycházíme-li z předpokladu, že zahraniční osli mají vyšší KVH i OH, měli by mít vyšší hodnotu Ohol, aby populace zachovala stejné či podobné hodnoty síly kostry a kostnatosti.

Vyhodnocení VvK

Měřená skupina čítala 50 ks jedinců. Průměrná hodnota VvK pro naši populaci je 107,5 cm. Minimální měřená hodnota činí 94 cm, a hodnota maximální 125 cm. Koně mají vyšší hodnotu KVH než VvK. V naší populaci měřených oslů se však vyskytl jev opačný. Zvířata vykazovala většinou naměřené hodnoty VvK vyšší než KVH. Opět jsme prokázali statisticky významný rozdíl mezi populací narozenou v ČR a osly narozenými v zahraničí.

Tab. č. 7 Testování pro efekt místa narození pro faktor VvK

Skupina	Příp.	Průměr	Narození v ČR	Narození v zahraničí
Narození v ČR	35	105,3286		*
Narození v zahraničí	15	112,7000	*	

Osli narození v zahraničí mají průkazně vyšší průměrnou VvK, než osli narození na našem území. Již se nám podařilo prokázat statisticky významný rozdíl u KVH mezi těmito dvěma skupinami, proto jsme předpokládali, že se nám i zde prokáže statisticky významný rozdíl, což nám test potvrdil.

Zjistili jsme, že průměrné hodnota VvK je vyšší než průměrná hodnota KVH, je nutno se domnívat, že osli jsou zvířata přestavěná. HAFNER (2009) uvádí, že by se přestavěnost u oslů neměla vyskytovat, ale DOLEŽAL (2005) při studiu evoluce koní poukazuje na následující fakt: *„osli mají větší hlavu v poměru k tělu než koně, pánev oslů je vyšší, strmější a užší než u koní, oslům chybí pátý bederní obratel atd.*“ Taktéž můžeme vzít v úvahu, že při měření mohla vzniknout chyba. Měření prováděla stále jedna a tatáž osoba a nepředpokládáme, že by chyba vznikla u všech měřených jedinců.

Vyhodnocení IM

Námi změřená populace dosahuje průměrné mohutnosti 123,91. Tato hodnota je vcelku vysoká. Koubek (1933) uvádí, že lymfatický typ koní (prototypem mu byl belgický kůň a raná plemena chladnokrevných koní) dosahují průměrného indexu mohutnosti 129,5. Proto můžeme říct, že osli jsou velmi mohutná zvířata. Vyšší hodnoty IM jsou dány vyššími hodnotami OH.

U samic nám vyšla vyšší průměrná hodnota IM (125,10) než u samců (121,13). Tento jev je v živočišné říši přirozený. Údaj ovlivňuje obvod hrudníku, který je pro klisny vzhledem ke KVH vyšší. OH je ovlivňován březostí klisen. Dušek (2007) uvádí, že pokud měřil klisny ve vysokém stupni březosti a klisny jalové, rozdíl v měření činil až 10 cm. Proto je hodnota OH pro klisny vyšší.

Osli narození v ČR dosahují větší průměrné mohutnosti (124,47) než osli dovezení ze zahraničí (122,60), přestože naměřené hodnoty pro OH a KVH byly vyšší pro osly narozené v zahraničí. Populace oslů narozená u nás je i méně variabilní (5,68) oproti populaci k nám dovezené (6,51). Vliv na růst a vývoj tedy jednoznačně má prostředí, ve kterém vyrůstají.

Vyhodnocení IK

Na rozdíl od předchozího indexu, který směřoval více k mohutnějším koním, index kostnatosti vykazuje hodnoty nižší. Koubek (1933) uvádí jako spodní hranici indexu kostnatosti hodnotu pro anglického plnokrevníka - 12,1 - a pro chladnokrevníky, což je horní hranice indexu, 16,2. Anglický plnokrevník se pro mnoho plemen používá jako zušlechťovatel. Ke korekci plemene bychom nezvolili zvíře se slabou konstitucí. Osli dosáhli průměrných hodnot 13,41 a rozpětí, které jsme získali pomocí směrodatné odchylky, nabývá hodnot od 12,7 do 14,12. Pokud index kostnatosti je vyjádřením konstituce zvířat, můžeme říct, že osli jsou konstitučně odolná zvířata.

Byť se osli narodili na různém území, je zde vidět jeden pozitivní jev. Mají velmi podobné hodnoty indexu kostnatosti. Pro osly narozené v zahraničí tento index dosáhl hodnoty 13,44 a pro osly narozené v ČR nabyl hodnoty 13,39. Z toho vyplývá, že i když se u těchto zvířat při mnohonásobném porovnávání prokázal statisticky významný rozdíl v hodnotách KVH a Ohol, populace z hlediska konstituce a kostnatosti zůstala velice podobná.

Vyhodnocení ISK

Index síly kostry se v námi měřené populaci pohyboval v rozmezí 9,40 – 12,59, což je vypočtené minimum a maximum. Sobotková (2006) ve své disertační práci uvádí hodnotu ISK pro Starokladrubského koně v rozmezí 10,28 – 11,46 a pro porovnání Prausová (2006) v diplomové práci uvádí standard pro Achaltekinského koně v rozmezí 9,3 – 12,3. Hodnoty se tudíž nesnižují ani nezvyšují v závislosti na plemenné příslušnosti zvířete.

Pokud můžeme srovnávat hodnoty koní, u nichž šlechtění probíhalo mnoho let s osly, u kterých o účelném šlechtění u nás nemůže být prozatím řeč, je index síly kostry v hodnotách, které lze označit jako standardní.

ZÁVĚR

Populaci oslů žijících na území České republiky jsme měli možnost zhodnotit v několika námi zvolených efektech. U efektu místa narození jsme zjistili, že osli narození v zahraničí vykazují vyšší hodnoty KVH, OH, Ohol a také VvK. Tento fakt může být způsoben poptávkou chovatelů po vyšších zvířatech než v minulosti. Efektem KVH jsme testovali pouze OH a Ohol a u obou se nám podařilo prokázat statistickou významnost. U tohoto efektu jsme průkaznost rozdílu předpokládali, neboť pokud by osli vykazovali snížené či stejné hodnoty, poukazovalo by to následně na snížení síly kostry a kostnatosti. Efekt pohlaví byl průkazný pouze pro Ohol, kde rozdíl mezi samci a samicemi činil 1 cm v obvodu holeně. Jako u jediného efektu - efektu věku - nebyla prokázána ani v jedné míře statistická významnost.

Dále jsme v práci vypočetli hippometrické indexy. Pro porovnání jsme je opět rozdělili dle jednotlivých efektů. Ze zjištěných hodnot jsme zjistili, že i když populace vykazuje v jednotlivých efektech rozdílnosti, porovnání indexů dle efektů nepoukazuje na žádné velké rozdíly.

LITERATURA

CRHOVÁ V., 2002 Posouzení exteriéru plemenných zvířat na podkladě měření tělesných rozměrů (Diplomová práce) Česká zemědělská univerzita

DOLEŽAL P. 2005, [cit. 2011-13-03]. Dostupné na: <http://planetopia.webzdarma.cz/index.php?target=nezarazene&item=175>

DURUTTYA M., 2005 Velká etologie koní, HIPO-DUR Košice – Praha 583s. ISBN: 80-239-5088-6

HAFNER M., 2009 Osli a jejich chov, Nakladatelství Brázda s.r.o., 112 s. ISBN 978-80-209-0373-0

KOUBEK K. a kol. 1933, Speciální zootechnika – Chov koní, Státní zemědělské nakladatelství Praha, 1031 s.

PRAUSOVÁ M., 2006, Chov achaltenkinského koně v ČR, (Diplomová práce), Brno, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 133 s.

SOBOTKOVÁ E., 2006, Analýza populace Starokladrubského koně z hlediska tělesné stavby. (Disertační práce). Brno, 132 s. - Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně.

INFLUENCE OF PARITY AND STAGE OF LACTATION ON SOMATIC CELL AND BACTERIA COUNTS IN RAW SHEEP MILK

Králíčková Š., Kuchtík J.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xkralic0@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The evaluation of influence of parity (PA), the stage of lactation (SL) and the interaction of PA x SL on ewe's milk somatic cell and bacteria counts was performed on the base of analyses of milk samples from 20 sheep of East Friesian. 10 ewes were on the 2nd lactation and another 10 ewes were on the 3rd lactation. The milk records and samplings were carried out three times during the lactation on average 75th, 132th and 190th day of lactation. During the experiment all ewes were reared on permanent pasture. The determination of somatic cell count (SCC) was made using fluoro-opto-electronic apparatus. Milk was analyzed using standard plate count methods for total bacteria count (TBC), psychrotrophic bacteria count (PBC) and total coliform count (TCC). The analysis involved a total of 60 milk samples. The collected data were statistically analysed using the mathematical-statistical program STATISTICA 9.0. The PA had a significant effect only on SCC, but on the other hand the PA had not significant effect on chosen groups of mircoorganisms. The results of this study indicate that significant effect of the SL was found on SCC and also on all chosen microbiological indicators (TBC, PBC, TCC). The interaction of PA x SL had a significant effect on PBC. The milk of PA3 ewes had a significantly greater amount of somatic cells than the PA2 ewes. SCC significantly decreased with advanced lactation. Among SCC and all chosen groups of microorganisms were found positive and significant correlations, also among particular groups of microorganisms were found positive and significant correlations.

Key words: raw sheep milk, parity, stage of lactation, somatic cell, microorganisms, psychrothrops, coliform bacteria, correlations

Acknowledgement: This project was supported by IGA TP 8/2011 and QH91271.

ÚVOD

Mléko je obecně považováno za výborný živný substrát pro různé druhy mikroorganismů. Mléko v mléčné žláze zdravých zvířat obsahuje malý počet mikroorganismů, které jsou usazeny ve strukovém kanálku a přecházejí do mléčné cisterny vemene. Za normálního stavu se ve strukovém kanálku nachází 10^1 až 10^3 mikroorganismů v 1 ml mléka, nutno však podotknout, že špatnou těsnící funkcí strukového svěrače se počet mikroorganismů v 1 ml mléka může zvýšit řádově až na 10^5. Primárně může být mléko dále kontaminováno krevním oběhem nebo lymfogenní cestou. Z mikroorganismů, které se mohou dostat do mléka ještě před opuštěním vemene, jsou nejzajímavější patogenní kmeny *Staphylococcus aureus*, které se do mléka dostávají ve vyšších počtech při mastitidních onemocněních. Obecně je známo, že první střiky obsahují nejvíce mikroorganismů, zatímco poslední střiky obsahují jen asi 10 až 15 % z počátečního množství (Cempírková et al., 1997). Během dojení a po nadojení dochází ke značné změně původní mikroflóry vlivem sekundární kontaminace, která nejčastěji pochází z povrchu mléčné žlázy, ze vzduchu, prachu, krmiva, steliva, dojícího zařízení, rukou pracovníků, k ostatním zdrojům patří také voda a hmyz (Smetana, 2009).

Množství mikroorganismů v mléce vypovídá o úrovni hygieny v prvovýrobě, přičemž dodržováním zásad správné hygienické praxe lze do značné míry výskytu i pomnožení mikroorganismů v mléce zabránit. Limit pro CPM v ovčím mléce je dán Nařízením evropského parlamentu a rady (ES) č. 853/2004, které udává zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu. Podle výše uvedeného nařízení nemá u malých přežvýkavců překročit obsah mikroorganismů (při 30 °C) v mléce 1 500 000 na 1 ml. A dále, pokud je mléko určeno na výrobu mléčných výrobků postupem, který nezahrnuje tepelnou úpravu, musí obsahovat méně než 500 000 mikroorganismů na 1 ml. V ČR není stanoven limit pro počet somatických buněk v ovčím mléce, nicméně např. Bianchi et al. (2004) uvádějí hranici pro subklinickou mastitidu ovcí na úrovni 500 000 SB/ml a pro chronickou mastitidu na úrovni 1 000 000 SB/ml mléka.

MATERIÁL A METODIKA

K laboratorním analýzám byly použity vzorky ovčího mléka z ekologické farmy v Habří. Do pokusu bylo zařazeno 20 kusů bahnic plemene Východofríská ovce, přičemž 10 bahnic bylo na druhé laktaci a dalších 10 na třetí laktaci. Během pokusu byly všechny sledované bahnice chovány v identických podmínkách a vykazovaly dobrý zdravotní stav. Denní krmná dávka bahnic byla založena na ad libitní celodenní pastvě na trvalém travním porostu. Doplněk krmné dávky tvořil organický mačkaný oves (přidávaný v průběhu dojení) jehož průměrná denní spotřeba na bahnici činila 0,05 kg a minerální liz (Millaphos Schaumann, *ad libitum*). Vzhledem k nedostatečné

produkci zelené hmoty v důsledku sucha byly bahnice od května do července přikrmovány jetelotravním senem (0,5 kg/den/kus) a jetelotravní siláží (1 kg/den/kus).

S dojením se započalo v průběhu měsíce května, přičemž po celou dobu sledování byly bahnice dojeny vždy jednou denně v 8 hodin ráno. Odběry vzorků byly realizovány třikrát a to v období od května do září 2009, konkrétně jednotlivé odběry odpovídaly průměrnému 75., 132. a 190. dni laktace. Vzorky byly ihned po odběru vychlazeny na teplotu ± 5 °C a následně v termoboxu převezeny do laboratoře pro rozbory mléka v Brně-Tuřanech (LRM) a mikrobiologické laboratoře na MENDELU v Brně. Mléko pro mikrobiologická stanovení bylo odebíráno ručně do sterilních zkumavek. V rámci analýz byly sledovány následující ukazatele kvality ovčího mléka: počet somatických buněk (PSB) v tisících/ml vzorku mléka, celkový počet mikroorganismů (CPM) v KTJ/ml, počet psychrotrofních mikroorganismů (PPM) v KTJ/ml a počet koliformních bakterií (PKB) v KTJ/ml.

PSB byl stanoven fluoro-opto-elektronickou metodou dle ČSN EN ISO 13366-2; tato metoda průtokové cytometrie byla prováděna na přístroji Bentley 2500. Počty mikroorganismů byly stanoveny plotnovou kultivační metodou dle příslušných norem. 1 ml vzorku mléka nebo příslušného ředění byl inokulován do Petriho misky a zalit příslušnou živnou půdu o teplotě 45 °C. Po ukončení kultivace byly na jednotlivých miskách odečteny narostlé kolonie a výsledek byl vyjádřen v jednotkách KTJ na 1 ml vzorku.

Tab. 1 Podmínky kultivace sledovaných skupin mikroorganismů

	číslo normy	živná půda	teplota (°C)	doba (hod.)
CPM	ČSN EN ISO 4833	PCA	30	72
PPM	ČSN ISO 6730	PCA	6,5	10
PKB	ČSN ISO 5541/1	VRBL	37	24

Celkově bylo odebráno a zanalyzováno 60 vzorků syrového ovčího mléka. Zjištěné údaje byly statisticky vyhodnoceny metodou nejmenších čtverců s pomocí matematicko-statistického programu STATISTICA verze 9.0. přičemž byly zohledněny následující systematické efekty: pořadí laktace (2 třídy), fáze laktace (3 třídy) a interakce mezi pořadím a fází laktace (PL x FL).

VÝSLEDKY A DISKUZE

L.S.M. a S.E.M. hodnoty počtu somatických buněk a bakterií v závislosti na pořadí a fázi laktace jsou uvedeny v tabulce 2.

Z údajů uvedených v této tabulce lze konstatovat, že pořadí laktace (PL) mělo průkazný vliv na počet somatických buněk (PSB) v mléce, když bahnice na 3. laktaci měly vyšší PSB oproti bahnicím na 2. laktaci. Fáze laktace (FL) měla také průkazný vliv na PSB, což je v souladu se závěry, jež uvádějí ve své studii Sevi et al. (2004). Z tabulky 2 je dále patrné, že L.S.M. hodnoty PSB u bahnic na druhé laktaci (PL2) byly poměrně vyrovnané. Stejný trend zaznamenali na PL2

také Paape et al. (2006). L.S.M. hodnoty PSB u bahnic na třetí laktaci (PL3) byly 75. a 132. den laktace v podstatě totožné, nicméně mezi 132. a 190. dnem laktace se PSB výrazně snížil. Podobně vyrovnaný průběh hodnot mezi 75. a 132. dnem laktace zaznamenali opět ve své studii Paape et al. (2006). Paape et al. (2006) dále uvádějí, že faktory jako je PL a FL mají pouze minimální vliv na PSB v mléce. Vliv interakce PL x FL na PSB nebyl průkazný, což je v souladu se závěry, jež konstatují Sevi et al. (2000). V rámci našeho experimentu byla zaznamenána pozitivní a průkazná korelace mezi PL a PSB a negativní a průkazná korelace mezi FL a PSB (viz tabulka 3). Naproti tomu Dulin et al. (1983), Luengo et al. (2004) a Raynal-Ljutovac et al. (2006) ve svých studiích uvádějí rostoucí PSB se zvyšující se FL. Nicméně, Paape et al. (2006), shodně s výsledky našeho sledování, zaznamenaly se zvyšující se FL snižování PSB.V individuálních vzorcích mléka se průměrný PSB v průběhu laktace pohyboval pod hranicí 100 000 v 1 ml vzorku. Respektujíce výše uvedené, je možno konstatovat, že žádná z bahnic v průběhu sledování netrpěla subklinickou mastitidou, když Bianchi et al. (2004) uvádějí mezní hranici počtu somatických buněk pro subklinickou mastitidu ovcí na úrovni vyšší jak 500 000 SB/ml.

Na základě údajů uvedených v tabulce 2, lze především konstatovat, že PL nemělo průkazný vliv na CPM ani na PPM. Naproti tomu, FL měla průkazný vliv na CPM v mléce, což je v souladu se závěry, jež publikují Micari et al. (2002). Nicméně je nutno podotknout, že jimi zjištěné hodnoty CPM v jarních měsících jsou výrazně vyšší než námi zjištěné údaje ve stejném ročním období. Také Malá et al. (2010) uvádějí ve své studii hodnoty CPM vyšší při stejném způsobu dojení. FL měla taktéž průkazný vliv na PPM, což se shoduje s výsledky, jež uvádějí Sevi et al. (2000). Opět je nutno podotknout, že oproti výsledkům studie Seviho et al. (2000), kteří udávají průměrný PPM v měsíci květnu na úrovni 10^4 až 10^5 KTJ/ml, se námi zjištěné hodnoty PPM pohybují na úrovních podstatně nižších. Dále je možno konstatovat, že dynamiky změn CPM a PPM v průběhu laktace měly shodný trend, když mezi 75. a 132. dnem byl zjištěn v obou případech průkazný nárůst jejich počtů, nicméně následně mezi 132. a 190. dnem laktace byl zaznamenán průkazný pokles jejich počtů. Co se týká zhodnocení vlivu systematického efektu PL x FL, zde je možno obecně konstatovat, že tato interakce měla průkazný vliv pouze na PPM. Závěrem k výše uvedenému je také nutno doplnit, že námi zjištěné L.S.M. hodnoty CPM nepřekročily ani v jednom případě limitní hranici 1 500 000 KTJ/ml, kterou stanoví Nařízením evropského parlamentu a rady (ES) č. 853/2004.

PL nemělo v rámci našeho sledování průkazný vliv na PKB, což je v rozporu s výsledky Seviho et al. (2000), kteří ve své studii průkazný vliv PL na PKB zaznamenali. Naproti tomu FL měla průkazný vliv na PKB, stejné závěry publikovaly ve svých studiích také Sevi et al. (2000) a Sevi et al. (2004). Koliformní bakterie jakožto významné indikátory primární a sekundární kontaminace syrového mléka (Görner a Valík, 2004) se ve vzorcích mléka v rámci naší studie vyskytovaly pouze ojediněle, když 23 vzorků z 30 analyzovaných bylo na průkaz koliformních bakterií negativní. PKB byl v průběhu laktace velmi vyrovnaný a to na obou laktacích PL2 i PL3. Stejně vyrovnaný trend hodnot na obou laktacích uvádějí ve své studii také Sevi et al. (2000), nicméně jimi zjištěné údaje jsou podstatně vyšší. Také Malé et al. (2010), zaznamenali při stejném způsobu dojení vyšší

průměrné hodnoty PKB. Vliv systematického efektu PL x FL na PKB nebyl zaznamenán, což dokládají také výsledky studie Seviho et al. (2000).

Přehled jednotlivých korelačních závislostí je uveden v tabulkách 3 a 4. Obecně je známo, že existuje vztah mezi PSB a mikrobiologickou kvalitou mléka, což také konstatují ve své studii Benciny a Pulina (1997). Toto tvrzení dokládají i výsledky naší studie, když mezi CPM a PSB byla zjištěna pozitivní a průkazná korelace (viz tabulka 4). Gonzalo et al. (2006) a Králíčková et al. (2011) ve svých studiích také konstatují, že s rostoucím CPM roste i PSB. Co se týká vzájemných vztahů mezi jednotlivými mikrobiologickými ukazateli kvality syrového ovčího mléka, je možno konstatovat, že mezi všemi uvedenými ukazateli (viz tabulka 4) byly zjištěny pozitivní a průkazné korelace.

Tab. 2 L.S.M. a S.E.M. hodnoty počtu somatických buněk a bakterií v závislosti na pořadí a fázi laktace

	Průměrný den laktace	n	Pořadí laktace (PL)				Průkaznost		
			PL2		PL3		Pořadí laktace	Fáze laktace (FL)	PL x FL
			L.S.M.	S.E.M.	L.S.M.	S.E.M.			
PSB (10^3/ml)			*		*				
	75.	10	76,20^{a}	26,97	114,30^{a}	72,90			
	132.	10	55,90^{ab}	43,73	117,40^{a}	143,52	*	*	NS
	190.	10	34,00^{b}	22,74	28,00^{b}	17,58			
	celkem[1]		**55,37**	35,87	**86,57**	99,57			
CPM (KTJ/ml)			*		**				
	75.	10	42,70^{a}	26,49	49,70^{A}	43,26			
	132.	10	133,50^{b}	144,66	150,30^{B}	112,36	NS	**	NS
	190.	10	41,20^{a}	65,86	31,50^{A}	27,45			
	celkem[1]		**72,47**	99,93	**77,17**	86,93			
PPM (KTJ/ml)					*				
	75.	10	6,10	5,74	5,50^{ab}	2,32			
	132.	10	15,90	24,31	45,50^{a}	61,04	NS	**	*
	190.	10	0,90	1,52	2,20^{b}	3,85			
	celkem[1]		**7,63**	15,31	**17,73**	39,54			
PKB (KTJ/ml)			*						
	75.	10	0,00^{a}	0,00	0,00	0,00			
	132.	10	0,90^{b}	1,45	0,80	1,03	NS	*	NS
	190.	10	0,00^{a}	0,00	0,50	1,27			
	celkem[1]		**0,30**	0,92	**0,43**	0,97			

[1] *průměrný počet somatických buněk a mikroorganismů za sledované období*
L.S.M = nejbližší přibližná hodnota průměru; S.E.M. = střední chyba průměru
Mezi hodnotami v řádcích s rozdílnými písmeny (A, B, C) je statisticky vysoce průkazný (P≤0,01)rozdíl
Mezi hodnotami v řádcích s rozdílnými písmeny (a, b, c) je statisticky průkazný (P≤0,05) rozdíl
*** (P≤0,01); * (P≤0,05); NS = není signifikantní*

Tab. 3 Přehled korelačních závislostí (Pearsonovy korelace) mezi pořadím a fází laktace a vybranými ukazateli kvality ovčího mléka

	PSB	CPM	PPM	PKB
Pořadí laktace	0,21*	0,03	0,17	0,07
Fáze laktace	-0,35**	-0,04	-0,06	0,11

*** (P≤0,01); * (P≤0,05)*

Tab. 4 Přehled korelačních závislostí (Pearsonovy korelace) mezi jednotlivými ukazateli kvality ovčího mléka

	CPM	PPM	PKB
PSB	0,49**	0,54**	0,34**
CPM		0,65**	0,54**
PPM			0,34**

*** (P≤0,01)*

ZÁVĚR

Z výsledků našeho sledování vyplývá, že pořadí laktace mělo průkazný vliv pouze na počet somatických buněk, naproti tomu průkazný vliv tohoto faktoru na počty jednotlivých skupin mikroorganismů zaznamenán nebyl. Fáze laktace měla, oproti pořadí laktace, průkazný vliv na všechny námi sledované ukazatele kvality ovčího mléka. V rámci naší studie jsme sledovali také vliv interakce mezi pořadím a fází laktace (PL x FL) na počet somatických buněk (PSB) a počet mikroorganismů. Výše uvedený systematický efekt průkazně ovlivňoval pouze PSB. Dále byla zaznamenána pozitivní a průkazná korelace mezi pořadím laktace a PSB a negativní a průkazná korelace mezi fází laktace a PSB. Co se týká ostatních korelací mezi jednotlivými ukazateli kvality ovčího mléka, všechny korelace byly pozitivní a průkazné.

LITERATURA

Benciny R., Pulina G. (1997): The Quality of Sheep Milk: A Rewiew. Wool Technology and Sheep Breeding 45 (3), 182-220. ISSN 0043-7875/97

Bianchi L., Bolla A., Budelli E., Carovi A., Fazoli C., Pauselli M., Duranti E. (2004): Effect of Udder Health Status and Lactation Phase on the Characteristics of Sardinian Ewe Milk. Journal of Dairy Science, 87, 2401-2408.

Cempírková R., Lukášová J., Hejlová Š. (1997): Mikrobiologie potravin. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích: s. 101

ČSN EN ISO 13366-2 Mléko - Stanovení počtu somatických buněk - Část 2: Návod pro ovládání fluoro-opto-elektronického přístroje

ČSN EN ISO 4833 Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda pro stanovení celkového počtu mikroorganismů – Technika počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C

ČSN ISO 6730 Mléko. Stanovení počtu jednotek tvořících kolonie psychotrofních mikroorganismů. Technika počítání kolonií vykultivovaných při 6,5 °C

ČSN ISO 5541/1 Mléko a mléčné výrobky. Stanovení počtu koliformních bakterií. Část 1: Technika počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C

Dulin A.M., Paape M.J., Schultze W.D., Weinland B.T. (1983): Effect of Parity, Stage of Lactation, and Intramammary Infection on

Concentration of Comatic Cells and Cytoplasmic Particles in Goat Milk. Journal of Dairy Science, 66, 2426-2433

Gonzalo C., Carriedo J.A., Beneitez E., Juárez M.T., De La Fuente L.F., San Primitivo F. (2006): Short Communication: Bulk Tank Total

Bacterial Count in Dairy Sheep: Factors of Variation and Relationship with Somatic Cell Count. Journal of Dairy science 89, 549-552

Görner F., Valík, L. (2004): Aplikovaná mikrobiológia požívatín. Malé centrum v Bratislavě. ISBN 80-967064-9-7. 528 s.

Králíčková Š., Kuchtík J., Pokorná M., Kalhotka L., Filipčík R. (2011): Počty vybraných skupin mikroorganismů v syrovém ovčím mléce v průběhu laktace. Animal Breeding. ISBN 978-80-7375-446-4, 69-76

Králíčková Š., Konečná L., Pokorná M., Kuchtík J. (2011): Vzájemné vztahy mezi vybranými ukazateli složení a kvality ovčího mléka.

Sborník příspěvků XXXVII. Semináře o jakosti potravin a potravinových surovin - Ingrovy dny. ISBN 978-80-7375-495-2, 178-183

Nařízením evropského parlamentu a rady (ES) č. 853/2004 ze dne 29. dubna 2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu.

Malá G., Švejcarová M., Knížek J., Peroutková J. (2010): Je mikrobiologická kvalita ovčího mléka ovlivněna způsobem dojení? Sborník referátů ze semináře farmářská výroba sýrů a kysaných mléčných výrobků VII, MENDELU v Brně: 37-38

Micari P., Caridi A., Colacino T., Caparra P., Cufaro A. (2002): Physicochemical, microbiological and coagulating properties of ewe's milk produces on the Calabrian Mount Poro palteau. International Journal of Dairy Technology 55, 204-210

Luengo C., Sanchez A., Corralez J.C., Fernandes C., Contreras A. (2004): Influence od Intramammary Infection and Non-infection Factors on Somatic Cell Counts in Dairy Goats. Journal Dairy Research 71, 169-174

Paape M.J., Wiggans G.R., Bannerman D.D., Thomas D.L., Sanders A.H., Contreras A., Moroni P., Miller R.H. (2006): Monitoring Goat and Sheep Milk Somatic Cell Counts. Small Ruminant Research, 68, 124-125

Raynal-Ljutovac K., Pirisi A., De Crémoux R., Gonzalo C. (2006): Somatic Cell of Goat and Sheep Milk: Analytical, Sanitary, Productive and technological aspects. Small Ruminant Research 68, 126-144

Sevi A., Albenzio M., Marino R., Santillo A., Muscio A. (2004): Effect of lambing season and stage of lactation on ewe milk quality. Small Ruminant Research 51, 251-259

Sevi A., Taibi L., Albenzio M., Muscio A., Annicchiarico G. (1999): Efefct of Parity on Milk Yield, Composition, Somatic Cell Count,

Renneting Parameters and Bacteria Counts of Comisana Ewes. Small Ruminant Research 37, 99-107

Smetana P., Hlaváček J., Samková E., Rozsypal R. (2009): Metodika pro praxi: Faremní zpracování mléka v ekologickém zemědělství. Bioinstitut, Olomouc. ISBN 978-80-904174-5-8. 21-24

ETHOLOGICAL STUDY OF HORSES AT THE POLICE SERVICE

Králová B., Jiskrová I.

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 ascertain whether the horse is capable of recognizing the upcoming working activities by hearing the different parts of the riding equipment brought to it. During a period of 14 days we brought to 15 police horses, 5 times a week at 8.00 and 13.00 hours service saddles, and at 8.00, 10.00, 13.00 and 15.00 hours we brought to them sport saddles and at 15.00 hours the harness. The second week we tried the same timetable, but we brought the service saddles at 8.00 and 10.00 hours and the harness at 8.00 and 15.00 hours, we stopped bringing the sport saddles at 8.00 and 15.00 hours. We hung up the saddle and the equipment at the doors to each of the horses. The horses already knew the keepers. According to the interest shown by the horses, we divide their reactions as follows: big interest (the horse turns around lively with the whole body, neighs quietly, paws the ground, tries to open the door of the box), middle interest (turns around with the whole body, stands up, the horse comes to the door of the box, does not neigh or paw the ground, or does not press itself against the door of the box), small interest (the horse turns only the head, stands on the same place, lies and would not stand up, keeps looking and monitors the situation with the movement of the ears), no interest (the horse does not move even the head, only monitors the situation by moving the ears, lies on the floor, dangles, sleeps) dislike (turns the back to the door of the box, goes away from the door, deep breathing), aversion (turns its back completely to the door of the box, tossing around the head, grinding the teeth, tramping lightly, whipping the tail). We came to the conclusion that the horses do recognize the specific sounds and the working activity that follows them. It means that the horses in most cases look forward to these working activities.

Key words: Horse, ethology, equine behaviour

ÚVOD

Cílem práce bylo zjistit, zda koně sluchem rozpoznají podle zvuků jednotlivých částí jezdecké výstroje, kterou k němu poneseme, činnost, která bude následovat.

MATERIÁL A METODIKA

15-ti policejním koním, v boxech, 5x týdně po dobu 14 dní jsme přinesli v 8 a 13 hod. služební sedla a v 8, 10, 13 a 15 hod. jsme jim nosili sportovní sedla a v 15 hod lonžovací postroj. Druhý týden jsme dělali pokus se stejným časovým harmonogramem, ale služební sedla jsme nosili v 8 a 10 hod. a lonžovací postroj v 8 a 15 hod, sportovní sedla jsme přestali nosit v 8 a 15 hod. Sedlo a výstroj jsme pověsili na dveře boxu ke konkrétnímu koni. Reakce koní jsme podle projeveného zájmu rozdělili na:

1. velký zájem – živé otočení se celým tělem, příchod ke dveřím boxu, tiché řehtání, hrabání, domáhání se otevření dveří boxu

2. střední zájem – otočení se celým tělem, zvednutí se, kůň přijde ke dveřím boxu, neřehtá, nehrabe, netlačí se na dveře boxu

3. malý zájem – kůň otočí pouze hlavu, stojí na místě, leží a nezvedá se, dívá se a monitoruje situaci pohybem uší

4. bez zájmu – kůň neotočí ani hlavu, je vidět pouze monitorování situace pohybem uší, leží, klimbá, spí

5. nechuť – otočení se ke dveřím boxu zádí, odchod od dveří boxu, hluboké oddechnutí

6. averze – otočení se zádí ke dveřím boxu, pohazování hlavou, skřípání zuby, podupávání, švihání ocasem

VÝSLEDKY A DISKUZE

K nejčastějším případům reakcí velkého zájmu koní docházelo v 8. hod, kdy koně po noci očekávali příchod „svého“ jezdce, byli probuzení, protože probíhal úklid boxů, jinak převažovala reakce střední zájem. Střední zájem a malý zájem byly nejčastějšími reakcemi v 10 hod., kdy koně co zůstali ve stáji a nešli na ranní výcvik, trávili dobu převážně odpočinkem. Ve 3 případech se objevila i nechuť koně, přičemž tento jev nastal dvakrát u služebního sedla a jednou u sedla sportovního. Reakce malý zájem a bez zájmu byly nejvíce patrné zejména ve 13 hod., kdy koně, kteří již byli venku, reagovali bez zájmu, případně malým zájmem a doba klidu, která následovala po poledním krmení. Střední zájem a malý zájem byly v rovnováze v 15 hod., kdy koně, kteří byli ve stáji, se těšili ven a koně již „vyvenčení“ opět klimbali, případně čas trávili paběrkováním v boxe. Projevy averze se neobjevily u žádného z pozorovaných koní

Koně, ke kterým se výstroj přinesla a umístila a box, se projevili a reakcí dali najevo, že si uvědomují, že se jich bude činnost související s konkrétní výstrojí týkat. Koně kteří přímo v boxech sousedili, stáli vedle, případně naproti „testovaného“ jedince, se v 95% případů projevovali aktivně a pozitivně vůči člověku přinášejícímu výstroj – chovali se aktivněji, než když se výstroj přinesla na box jim – ihned přišli k bednění boxu, které sousedilo, mačkali se na něj, sledovali osobu. Velmi dobře si uvědomovali, že se jich to právě teď netýká. Reakce ostatních koní může být i způsobena návyky na pamlsky – zpravidla totiž při příchodu ke koni dá pamlsky jezdec nejen svému, ale i koním sousedním.

ZÁVĚR

Koně rozpoznají specifický zvuk jezdecké výstroje a tím i činnost, která bude následovat z čehož vyplývá, že koně se na práci ve většině případů těší.

LITERATURA

VESELOVSKÝ, Z. (2005): Etologie - Biologie chování zvířat. Academia. 80-200-1331-8

DURUTTYA, M.(1993): Etológia koní. Košice vl.n., 80-901404-1-6

DURUTTYA, M. (2005): Velká etologie koní. Košice, HIPO-DUR, 80-239-5088-6

MILLS, D. S. -- NANKERVIS, K.(1999): Equine behaviour : principles & praktice. Oxford Blackwell Science, 0-632-04878-6

HROUZ, J. (2000): Etologie hospodářských zvířat. Brno, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 978-80-7157-463-7

MCFARLAND, D. (1999): Animal behaviour: psychobiology, ethology and evolution. Harlow Prentice Hall, 0-582-32732-6

EFFECT OF FEEDING MYCOTOXIN-CONTAMINATED TRITICALE FOR HEALTH, GROWTH AND PRODUCTION PROPERTIES OF LABORATORY RATS

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: xkrobot@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this project was to test the effects of low levels of mycotoxins and naturally moldy feed in the experimental compound feed. The focus of observation was monitoring the health of experimental animals and their production indicators. The ration balancer mycotoxins were included as verification of nutritional method of protection during this feeding contaminated food. Feed mixtures were contaminated with mycotoxins Vomitotoxin (DON) concentration in 411µg/kg, 856 µg /kg, 986 µg /kg and the concentration of Zerealon 65 µg/kg, 292 µg /kg and 726 µg /kg. As absorbent was used Mykosorb. During this experiment, the experiment was monitored by consumption of feed and increases weight of rats. Additions balancer groups were compared against groups without absorbent.

Key words: Laboratory rats, Zerealon, Vomitotoxin (DON), absorbent

Acknowledgement: This project was supported by IGA FA MENDELU No: IP 18/2011.

ÚVOD

Ověření vlivu nízkých hladin přirozeně vzniklých mykotoxinů je předpokladem pro sestavení kvalitní a plnohodnotné krmné dávky, kterou jsme schopni zabezpečit dobrý zdravotní stav chovaných zvířat a následně tak produkci bezpečných potravin. Dalším důvodem, a ne zcela zanedbatelným, je možné snížení nákladů v zemědělských podnicích v případě, že se nízké hladiny mykotoxinů projeví negativně. Ověření není možné provést na hospodářských zvířatech přímo, protože finální produkt (maso, vejce, mléko) by musel být likvidován speciálními postupy.

Dnes je to 50 let od doby, kdy se poprvé vyskytla otrava aflatoxinem B_1 u krůťat ve Velké Británii, při které zemřelo 100.000 jedinců při konzumaci podzemnice olejné z Brazílie, která byla kontaminována plísní Aspergillus (známa jako nemoc Turkey X). Od té doby bylo objeveno mnoho dalších významných mykotoxinů v potravinách, krmivech a mykotoxiny začaly představovat významný rizikový faktor kontaminující lidské potraviny. Evropská unie zavedla rozsáhle předpisy o aflatoxinu, ochratoxinu A, deoxynivalenolu a fumonisinů pro potraviny a krmiva. Dnes i přes obrovské investice do výzkumu, prevence a kontroly mykotoxinů v potravinách a krmivech zůstává i nadále potravinářský průmysl náchylný k problému znečištění (KRSKA, BERTHILLER 2010).

MATERIÁL A METODIKA

Pokus bude 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 laboratoři budou sledovány mikroklimatické podmínky, které jsou limitovány především teplotou, jež bude měřena „DATALOGEREM S 3120“ a bude udržována v rozmezí 23°C ± 1°C. Dále bude stejným přístrojem monitorována stálá vlhkost vzduchu a udržována na hladině 60 % klimatizační jednotkou. Fotoperioda bude řízena uměle dle schématu 12hod. den a 12hod. noc o max. intenzitě 200 lx a konečně z podmínek chemických se bude sledovat obsah CO_2 ve stájovém vzduchu – max. 0,25 %, NH_3 max. 0,0025 %.

Jako experimentální model pro tento pokus budou použiti rostoucí samci laboratorního potkana outbredního kmene *Wistar Han*. Zvířata budou do pokusu zařazena ve věku 28 dní a skupiny budou sestaveny tak, aby bylo vše v souladu s normou požadující maximální rozdíly ve hmotnosti mezi pokusnými skupinami 5g (KACEROVSKY, 1990).

Pokusné sledování bude trvat 28 dní a bude rozděleno do 4 týdnů. Potkani budou ustájeni v plastových klecích po 6 skupinách a pro přehledné sledování budou barevně označeni. V každé skupině bude ustájeno 8 samců.

Krmné směsi budou sestaveny z přirozeně zaplesnivělé triticale, jež bude do diet přidávána v zastoupení 60% a 100 %. Před vlastním mícháním pokusných diet bude u triticale provedena

analýza na stanovení hladiny mykotoxinů deoxynivalenolu, zearalenonu, ochratoxinu a T-2 toxinu. Poté budou kompletně sestaveny pokusné krmné směsi a budou odebrány vzorky krmiv a provedeny rozbory na obsah základních organických živin (NL, vlákniny, tuku, BNLV a popela). Analýzy a chemická stanovení budou provedena podle zásad, které uvádí (KACEROVSKÝ, 1990) a podle vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 124/2001 Sb., která stanovuje požadavky na odběr vzorků a principy metod laboratorního zkoušení krmiv, doplňkových látek a premixů a způsob uchování vzorků podléhající zkáze.

V průběhu pokusu budou individuálně sledovány tyto ukazatele: čistý příjem pokusných krmných směsí, zdravotní stav zvířat, hmotnostní přírůstky, příjem a konverze krmiva. Zvířata budou 1x týdně přestýlána. Zbytky nesežraných krmiv a výkaly budou skupinově odebírány, váženy a sušeny. Z nich budou stanoveny: čistý příjem pokusných krmných směsí a výkaly pro stanovení koeficientů stravitelnosti organických živin (v % - sušiny, NL, vlákniny, BNLV, tuku a popela).

V průběhu pokusu budou individuálně sledovány z pohledu výživy a dietetiky tyto ukazatele: čistý příjem pokusných krmných směsí, zdravotní stav zvířat, hmotnostní přírůstky, příjem a konverze krmiva.

Zvířata budou 1x týdně přestýlána. Zbytky nesežraných krmiv a výkaly budou skupinově odebírány, váženy a sušeny. Z nich budou stanoveny: čistý příjem pokusných krmných směsí a výkaly pro stanovení obsahu mykotoxinů.

VÝSLEDKY A DISKUZE

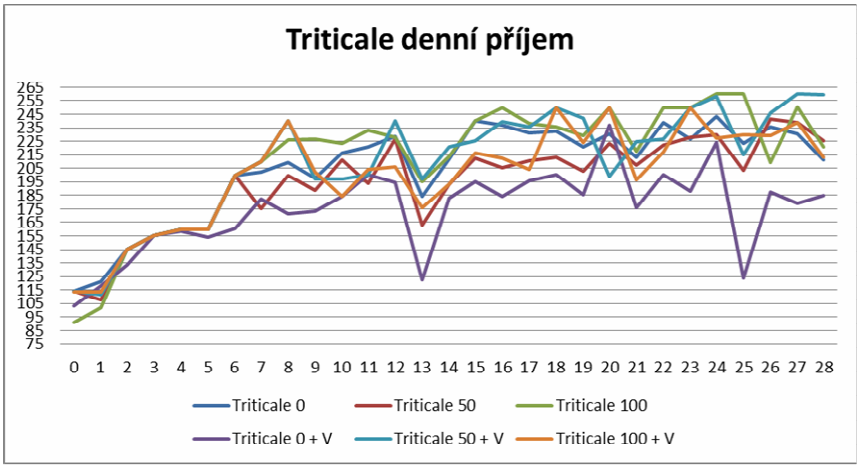
Do sledování byli použiti laboratorní potkani *Wistar: Han.* V množství 8 ks na skupinu a celkovém množství 48 ks pro 6 skupin z toho 3 skupiny bez absorbentu a 3 skupiny s absorbentem v dávce 3kg/t krmné směsi. Krmné směsi byly sestavovány dle normy potřeby živin pro potkany. Výsledné směsi byly namíchány z triticale o obsahu Zearelonu 65 a 573µg/kg a obsahu DON 802 a 1346 µg/kg z toho dále byly namíchány směsi o celkovém obsahu mykotoxinů viz. Tab. 1.

Tab. 1 Množství mykotoxinů v kg krmné směsy

Krmivo	Zearalenon	µg/kg	Vomitoxin (DON)	µg/kg
Triticale 0	65	µg/kg	411	µg/kg
Triticale 50	292	µg/kg	856	µg/kg
Triticale 100	726	µg/kg	986	µg/kg

Zvířata byla krmena 1x denně množstvím v rozpětí od 114g/sk/den do 260g/sk/den. Příjem krmiva byl u skupin vcelku vyrovnaný v 13. Den pokusu byl zaznamenán u všech skupin znatelný propad v množství přijatého krmiva, jasnou příčinu se nepodařilo zjistit. Dále 25. den pokusu byl zaznamenán snížený příjem krmiva u 4. pokusné skupiny. Viz. Graf č. 1.

Graf. 1 Množství přijaté krmné směsi



V tabulce č. 2 a 3 máme znázorněné hmotnosti jednotlivých jedinců v průběhu 5-ti vážení. V pátém týdnu vážení byla průměrná hmotnost ve skupině Triticale 0 – 327, 5g a ve skupině Triticale 0+V – 296,38g. Rozdíl mezi obouma skupina je 31,12g. Na konci pokusu dosahovala vyššího přírůstku skupina krmená směsí Triticale 0 bez absorbentu.

Tab. 2 Hmotnosti 1. Pokusné skupiny bez absorbentu

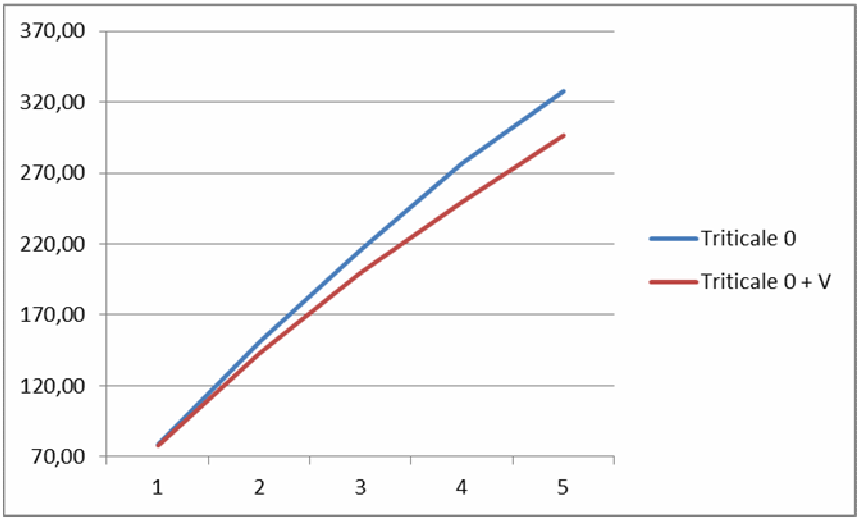
Triticale 0	1	2	3	4	5
Ocas	73,6	147,7	221	293,5	350,2
Levá přední	75,9	143,5	221,2	286,8	353,2
Levá zadní	96,4	171,1	221,4	263,7	287,6
Pravá přední	83,6	148,9	195,5	251,6	287,9
Pravá zadní	72,5	146,1	214	279,4	334,9
Hlava	74,8	153,4	231	293,2	347,6
Záda	78,5	151	212,1	273,3	327,5
Obě zadní	72,5	144,8	210,1	267,8	330,8
Suma	**627,8**	**1206,5**	**1726,3**	**2209,3**	**2619,7**
Průměr	**78,5**	**150,8**	**215,8**	**276,2**	**327,5**

Tab.3 Hmotnosti 1. Pokusné skupiny s absorbentem

Triticale 0 + V	1	2	3	4	5
Ocas	77,5	146,7	199,9	244	277
Levá přední	91,4	175,1	225,4	274,7	304,3
Levá zadní	95,6	174,8	229,7	285,2	323,2
Pravá přední	76,5	140,2	207,3	238,3	307,6
Pravá zadní	74	138,6	188,1	231,5	279,5
Hlava	69,7	126	176,2	231,5	280
Záda	68,8	118,5	184,8	240,2	298,4
Obě zadní	70	120,7	186,5	250	301
Suma	**623,5**	**1140,6**	**1597,9**	**1995,4**	**2371**
Průměr	**77,94**	**142,58**	**199,74**	**249,43**	**296,38**

V grafu č. 2 máme znázorněnu růstovou křivku pro skupiny krmené směsí Triticale 0 a triticale 0+V.

Graf. 2 Hmotnosti potkanů 1. Skupina



V tabulce č. 4 a 5 máme znázorněné hmotnosti jednotlivých jedinců v průběhu 5-ti vážení. V pátém týdnu vážení byla průměrná hmotnost ve skupině Triticale 50 – 308,0g a ve skupině Triticale 50+V – 320,8g. Rozdíl mezi obouma skupina je 12,8g. Na konci pokusu dosahovala vyššího přírůstku skupina krmená směsí Triticale 50 s absorbentem.

Tab. 4. Hmotnosti 2. Pokusné skupiny bez absorbentu

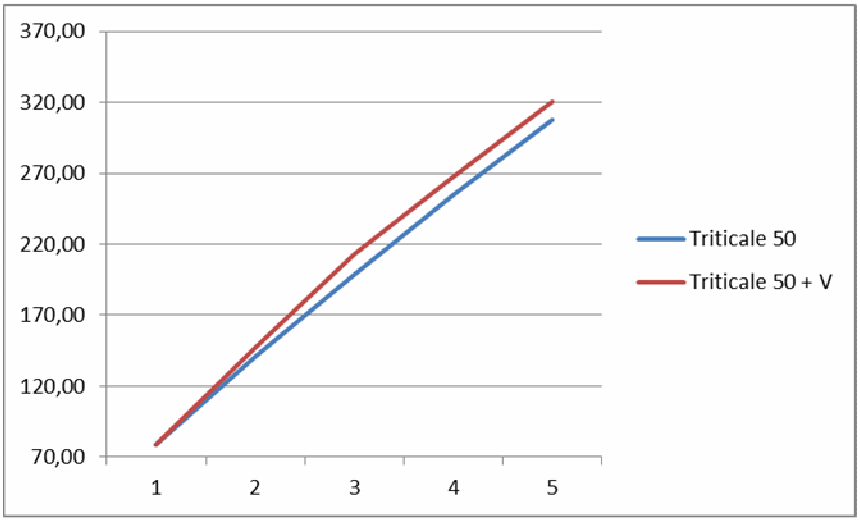
Triticale 50	1	2	3	4	5
Ocas	75,3	135,2	194	244,5	293,2
Levá přední	69,7	129,7	180,1	227,3	267,2
Levá zadní	76,5	136,3	190,5	237,2	285,4
Pravá přední	91,8	161,7	213,7	271,1	327,4
Pravá zadní	78,1	130,6	190,3	250,1	303,2
Hlava	72,5	140,8	211,9	275,5	334,5
Záda	82,9	143,7	207,5	273,1	339,7
Obě zadní	79,9	149	204,5	259,3	313,6
Suma	**626,7**	**1127**	**1592,5**	**2038,1**	**2464,2**
Průměr	**78,3**	**140,9**	**199,1**	**254,8**	**308,0**

Tab.5 Hmotnosti 2. Pokusné skupiny s absorbentem

Triticale 50 + V	1	2	3	4	5
Ocas	70	115,5	182,7	240,5	311,3
Levá přední	79,4	153,6	229,8	290,2	349,9
Levá zadní	80,1	158,1	227,8	289,7	347,5
Pravá přední	79,5	151,8	207,4	259,8	302,8
Pravá zadní	74,1	148	225,6	278	348,2
Hlava	83,3	159,9	226,4	280,3	332,6
Záda	80,7	155,1	216,2	272	307,7
Obě zadní	80,1	139,4	190,4	231,3	266,5
Suma	**627,2**	**1181,4**	**1706,3**	**2141,8**	**2566,5**
Průměr	**78,4**	**147,7**	**213,3**	**267,7**	**320,8**

V grafu č. 3 máme znázorněnu růstovou křivku pro skupiny krmené směsí Triticale 50 a triticale 50+V.

Graf. 3 Hmotnosti potkanů 2. Skupina



V tabulce č. 2 a 3 máme znázorněné hmotnosti jednotlivých jedinců v průběhu 5-ti vážení. V pátém týdnu vážení byla průměrná hmotnost ve skupině Triticale 100 – 318,4g a ve skupině Triticale10 0+V – 305,5g. Rozdíl mezi obouma skupina je 12,9g. Na konci pokusu dosahovala vyššího přírůstku skupina krmená směsí Triticale 100 bez absorbentu.

Tab. 6 Hmotnosti 3. Pokusné skupiny bez absorbentu

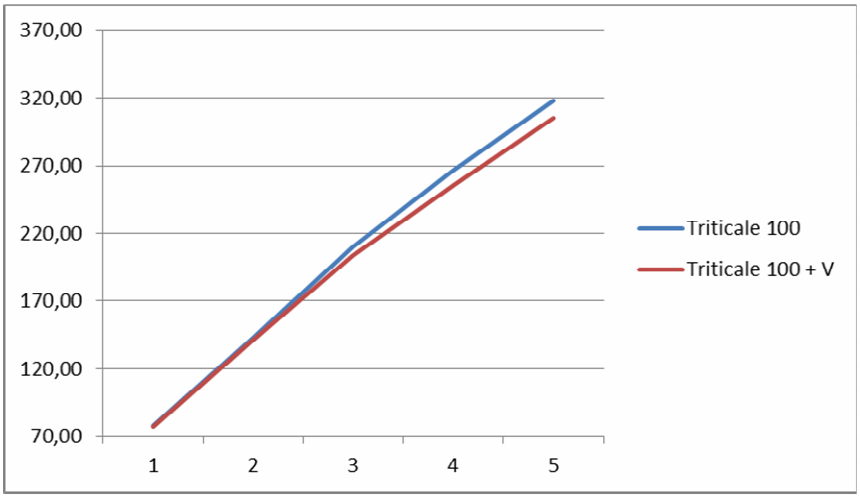
Triticale 100	1	2	3	4	5
Ocas	71,8	124,9	203,7	263,2	315,8
Levá přední	95,4	153,6	203,5	247,3	283,4
Levá zadní	70,1	118	193,3	249,5	308,2
Pravá přední	83,5	151,2	209,3	261,1	305,9
Pravá zadní	80,1	151,9	214,4	274,5	316,5
Hlava	70,4	135,3	213,7	274,4	332,6
Záda	83,6	163,1	224,2	290,3	353,7
Obě zadní	70,8	140,6	218,4	271,6	330,7
Suma	**625,7**	**1138,6**	**1680,5**	**2131,9**	**2546,8**
Průměr	**78,2**	**142,3**	**210,1**	**266,5**	**318,4**

Tab. 7 Hmotnosti 3. Pokusné skupiny s absorbentem

Triticale 100 + V	1	2	3	4	5
Ocas	82,4	154,3	217	269,7	305,2
Levá přední	74,9	136,3	187,9	237,5	286,7
Levá zadní	82,5	140,3	197,1	245,7	295,7
Pravá přední	73,2	135,5	211,3	267,5	321,6
Pravá zadní	77,1	149,2	204,2	253,4	308,1
Hlava	67,7	126,2	187,8	241,6	290,5
Záda	81,1	144,4	205,6	255,7	300,8
Obě zadní	78,6	142,1	218,4	273,4	335,3
Suma	**617,5**	**1128,3**	**1629,3**	**2044,5**	**2443,9**
Průměr	**77,2**	**141,0**	**203,7**	**255,6**	**305,5**

V grafu č. 4 máme znázorněnu růstovou křivku pro skupiny krmené směsí Triticale 100 a triticale 100+V.

Graf. 4 Hmotnosti potkanů 3. Skupina



ZÁVĚR

Statisticky průkazný rozdíl byl potvrzen u hmotnostních přírůstků skupin krmených směsí Triticale 0 a Triticale 0+V, kde skupina krmená triticale 0 dosáhla v průměru o 31,12g na jedince. Ve zbylých skupinách jak Triticale 50(+V) tak Triticale 100(+V) nebyl prokázán statisticky průkazný rozdíl ve hmotnostních přírůstcích. Dále nebyl prokázán statisticky průkazný rozdíl mezi skupinami krmenými směsí obsahující mykotoxiny a směsmi obohacenými o absorbent. Pro další zkoumání by bylo třeba zopakovat pokus zda-li je rozdíl hmotností u skupiny krmené Triticale 0(+V) jen náhoda nebo nízká hladina mykotoxinů může mít vliv na výši přírůstku. Jelikož se hmotnosti potkanů začali více lišit v pozdější době pokusu, zkusit delší krmné období.

EVALUATION OF QUALITY FEED FOR ROE-DEER FROM MICROBIOLOGY PERSPECTIVE

Mlejnková V., Hrbek J., Kalhotka L., Doležal P., Přichystalová J.

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

E-mail: Veronika.Mlejnkova@seznam.cz

ABSTRACT

The Evaluation of feed for roe-deer from microbiology perspective was the goal of the experiment. Eleven specimens were analyzed. The specimens were from original matter of the silage, silages treated with biological additive in day of their opening, specimens of the silage treated with biological additive in the second day of their opening, specimens of silages treated with biological additive from operational conditions and they were ensiled in the second day. Original matte was taken, treated with additive and model silages were made from it simultaneously with silages in operational conditions.

Bacteria of lactic acid bacteria, quantity of germs, sulfidreduced clostridia, moulds and yeasts were monitored within microbiologic analysis. It was discovered that model silages and silages from operational conditions satisfy hygienic quality of feed for roe-deer.

Key words: silage, mikroorganisms, yeasts, moulds, Lactic Acid Bacteria (LAB)

Acknowledgement: This study was supported by the Research Plan No. MSM 6215648905 “Biological and technological aspects of sustainability of controlled ecosystems and their adaptability to climate change“, which is financed by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

ÚVOD

Jako jedno ze základních krmiv pro přežvýkavce jsou používány siláže. Obsahují vitamíny, vlákninu, živiny, mikrobiální metabolity, minerální a organické látky (WEISSBACH, 2010). Dobrá hygienická jakost siláží a celoroční dobrá výživa zvěře je podmínkou úspěšného chovu (NEČAS, 1975). Při výrobě objemných krmiv dochází často k situacím, kdy kvalita krmiv z hlediska dobré hygienické jakosti neodpovídá požadavkům. Hlavní zásadou pro všechna krmiva je čerstvost nebo jejich upravenost tak, aby bezezměny kvality vydržela až do spotřebování (VACH, 1993). Dnešní krajina neposkytuje zvěři dostatek potravních možností, pravidelně dochází ke stavům, kdy zvěř kvalitativně, ale mnohdy i kvantitativně hladoví. Výsledkem nepříznivých změn v prostředí je vyčerpání adaptačních možností zvěře, kdy dochází ke ztrátě její odolnosti vůči nepříznivým podmínkám, poklesu průměrné hmotnosti a plodnosti a k ohrožování kmenových stavů zvěře (DVOŘÁK, KAMLER, 1998). Krmné dávky tedy závisí na úživnosti prostředí, potřebách zvířete a kvalitě předkládaných krmiv (LOCHMAN, 1985). Srnčí zvěř musí přijímat potravu 8 – 11 x za den. Z hlediska mikrobiální analýzy můžeme rozdělit mikroflóru v silážích na nežádoucí a žádoucí. Mezi nežádoucí mikroflóru patří kvasinky, plísně, listerie, klostridie, enterobakterie. Jedná se o bakterie podílející se na kažení siláží za aerobních nebo za anaerobních podmínek. Do žádoucí mikroflóry zahrnujeme bakterie mléčného kvašení (DRIEHUIS; ELFERINK, 2000).

MATERIÁL A METODIKA

Jako materiál pro kontrolní, modelové a provozní siláže byla použita směs krmiv pro srnčí zvěř. Jednalo se o směs kukuřice, jetelového sena, lučního sena, jablečných výlisků, mrkve, mláta, ovsa, pšenice, ječmene a extrahovaného šrotu v různých poměrech. Do modelových i provozních vzorků bylo v den silážování aplikováno biologické aditivum.

Vzorky č. 1 až č. 3 byly jako kontrolní. Vzorek č. 4 až č. 6 byla kontrola ošetřena biologickým aditivem. Vzorek č. 7 až č. 9 byla kontrola ošetřená biologickým aditivem a zasilážována až druhý den. Vzorek z provozních podmínek – krmelce byl označen jako vzorek č. 10 a 11.

Mikrobiologické analýzy byly provedeny dle příslušných norem a doporučení. Navážka 20 g vzorku byla spolu se 180 ml sterilní destilované vody třepána 10 minut na třepačce. Dále bylo připraveno desetinásobné ředění a 1 ml příslušného ředění byl inokulován do Petriho misky. Byla použita metoda přímého výsevu do kultivačního media. Pro stanovení celkového počtu mikroorganismů (ČSN ISO 6610) bylo použito jako kultivačního média PCA (Biokar Diagnostics, France), inkubace probíhala při 30 °C po dobu 72 hodin. Pro počet bakterie mléčného kvašení byl použit MRS agar (Biokar Diagnostics, France), inkubace probíhala při 30 °C 72 h. Pro stanovení kvasinek a plísní (ČSN ISO 6611) byl použit Chloramphenicol glucose agar (Biokar Diagnostics, France), inkubace probíhala 120 h při 25 °C. Stanovení sulfidredukujících klostridií (Clostridium perfringens) byl použit TSN agar (Biokar Diagnostics, France) a inkubace probíhala při 46 °C po

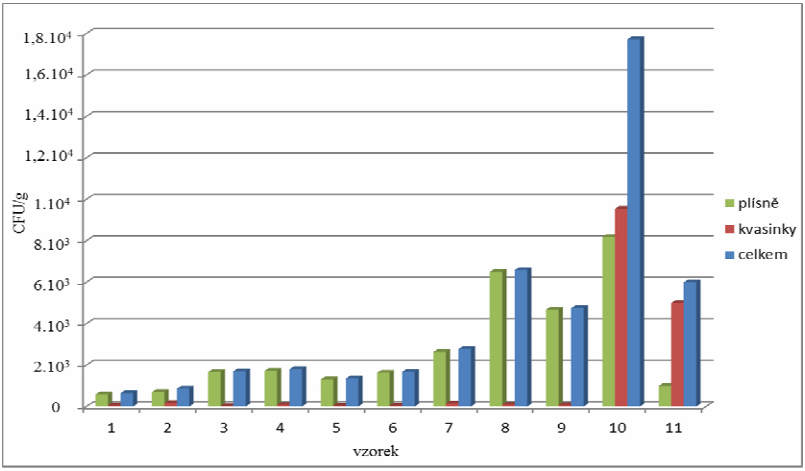
dobu 24 h. Po inkubaci byly z Petriho misek odečteny narostlé kolonie a výsledky analýz byly vyjádřeny v KTJ na gram siláže.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Hygienickou kvalitu krmiv ovlivňuje nejen způsob sklizně, konzervace, skladování, vlastní krmení, způsob odběru, ale i mikrobiální aktivita v píci.

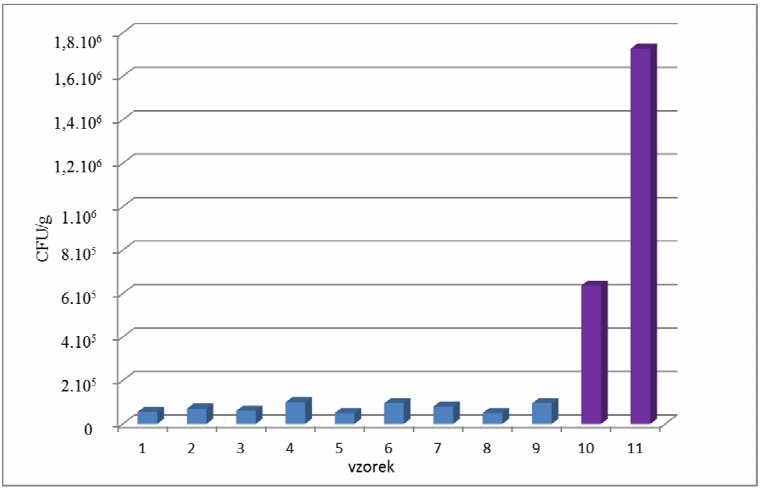
Cílem experimentu bylo zjistit hygienickou kvalitu modelové siláže bez biologického aditiva, s biologickým aditivem a siláže odebrané z provozních podmínek. Z mikrobiologického hlediska byly sledovány bakterie mléčného kvašení (BMK), celkový počet mikroorganismů (CPM), sulfidredukující klostridie, kvasinky a plísně. Plísně řadíme mezi nežádoucí mikroorganismy, které jsou indikátorem pro nízkou hygienu, špatné skladovací podmínky a způsobují nutriční a zdravotní problém. V současnosti nejsou zavedeny přípustné limity na množství plísní a kvasinek. Zeman (2006) i Mudřík a kol. (2006) považují za vyhovující limit pro plísně do 10^5 KTJ/g. Při počtech plísní vyšší než 10^6 KTJ/g či 10^7 KTJ/g jsou již krmiva považována za nezkrmitelná. Vzorky krmiva z modelové siláže a ze siláže odebrané z provozních podmínek nebyly viditelně zaplísněny. Maximální počet plísní byl zjištěn u vzorku č. 10 (vzorek odebraný z provozních podmínek - krmelce). Avšak uvedená hodnota, řádově 10^3 KTJ/g, vyhovuje hygienické kvalitě krmiva pro srnčí zvěř (viz. graf č. 1). Sulfidredukující bakterie nebyly ve vzorcích detekovány.

V grafu č. 1 jsou uvedeny vedle plísní i kvasinky, jejichž limity by měly dle Zemana a kol. (2006) dosahovat maximální koncentrace do 10^4 KTJ/g. Jsou považovány za hlavní příčinu aerobní nestability siláží. K zahřívání siláží dochází při činnosti kvasinek a zvýšení jejich koncentrace nad 10^7 či 10^8 KTJ/g. Dle Illka (2007) kvasinky přežívají dlouhou dobu v silážní hmotě a snáší rozsah teplot v rozmezí od 8 do 35 °C. Vzorky odebrané z provozních podmínek (č. 10 a č. 11) prokázaly nejvyšší počet kvasinek, řádově 10^3 KTJ/g, ale ještě vyhovují hygienické kvalitě krmiv.



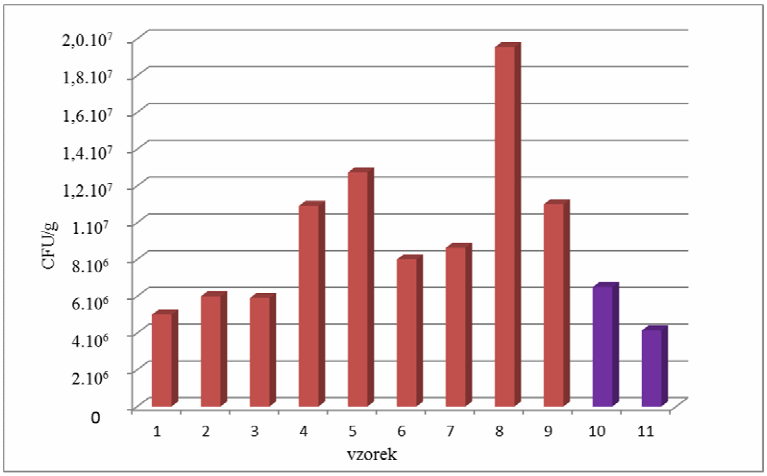
Graf 1 Mikromycety

Doležal a kol. (2006) uvádí, že bakteriím mléčného kvašení v silážní hmotě konkurují kvasinky. Nejvyšší počet bakterií mléčného kvašení byl zjištěn u vzorku č. 10 a 11. Jedná se opět o vzorky odebrané z provozních podmínek.



Graf 2 Bakterie mléčného kvašení

Celkový počet mikroorganismů je uveden v grafu č. 3. Do celkového počtu mikroorganismů se promítají nejen počty plísní, kvasinek, ale i bakterií mléčného kvašení. Tato skupina mikroorganismů byla stanovována pro zjištění celkové úrovně mikrobiálního osídlení siláží pro srnčí zvěř.



Graf 3 Celkový počet mikroorganismů

ZÁVĚR

Na základě mikrobiologických analýz krmiv pro srnčí zvěř lze usoudit, že krmiva byla z hlediska hygienické jakosti v pořádku. Výskyt plísní i kvasinek odpovídal doporučovanému hygienického limitu, což svědčí o velmi dobré kvalitě původních surovin, které byly použity pro výrobu krmiv. Plísně nebyly ani patrné senzoricky. Nejvíce bakterií mléčného kvašení bylo nejvíce nalezeno ve vzorcích č. 10 a 11. Jedná se o vzorky krmiv odebraných z provozních podmínek. Z dalších analýz daných krmiv pro srnčí zvěř je patrné, že u vzorků odebraných z provozních podmínek (krmelce) bylo zjištěno vyšší pH, nižší titrační kyselost, nižší obsah kyseliny mléčné oproti modelovým silážím, což naznačuje, že nebyl ještě dokončen proces fermentace (v porovnání s modelovou siláží) a bakterie mléčného kvašení byly inhibovány kyselinou mléčnou. V krmivech nebyly detekovaný sulfidredukující klostridie v ředění 10^{-1} KTJ/g.

LITERATURA

Doležal P. (2006): Konzervace, skladován a úpravy objemných krmiv (Přednášky), 1. vyd., MZLU, Brno, 247 s. ISBN 80-7157-993-9.

Dvořál, J.; Kamler, J. (1998): Význam a doporučované systémy přikrmování spárkaté přežvýkavé zvěře s ohledem na druhová specifika [online]. c1998 [cit. 2011-02-04]. Dostupné na www: <http:// www.huntingexperience.org/2009/05/vyznam-doporucovane-systemy-prikrmovani.html >.

Driehuis F., Elfering SJWH. (2000): Wet. Quart 22, 212-217 s.

Kandler O., Weiss N. (1986): Genus Lactobacillus. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Baltimore, USA, 1208-1234 s.

Kandler O., Weiss N., 1986: Genus Lactobacillus. In: Bergey's Manual

Lochman, J. (1985): Jelení zvěř. 1. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1985. 352 s. ISBN 07-029-85.

Mudřík Z., a kol. (2006): Základy moderní výživy skotu, Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha, 270 s. ISBN 80-213-1559-8.

Nečas J. (1975): Srnčí zvěř, 1 vyd., Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 302 s. ISBN 07-046-75.

Zeman L., a kol. (2006): Výživa a krmení hospodářských zvířat, Profi Press, Praha, 360 s. ISBN 80-86726-17-7.

Vach M. (1993): Srnčí zvěř, 1. vyd., Silvestris, 402 s. ISBN 80-901775-0-6.

Weissbach F. (2010): Clostridie – zátěž konzervovaných krmiv, Německo, 1 – 10 s.

INFLUENCE OF BREEDING CONDITIONS RAINBOW TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) TO ITS NUTRITIONAL VALUE

Pavlík M., Brabec T., Lang Š., Kopp R., Mareš J.

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

E-mail: milha.pavlik@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this work was assesment of nutrition parameters of marketable rainbow trouts (Oncorhynchus mykiss) produced in the Czech Republic from assorted rearing conditions. Evaluation of these parameters has been realized on fish from three different farms in the Czech Republic. The influence of intensity fish was evaluate in danish type of recirculation system. The object of investigation was formed on the sample of ten fish of each variant. Fish were measured, weighed. Another observed indices were meat yield, broad – backedness index, high – backedness index, viscerosomatic index, hepatosomatic index, and fulton coefficient. As well as analysis of fish tissue on content dry mass, proteins and fats were rated. All parameters were statistically evaluated with P 0.05 conclusiveness. The influence of surrounding conditions on exterior indices were demonstrated. Meat yield depended on the influence of surrounding conditions. Content of fats and dry mass was vary and depended on the influence of surrounding conditions.

The influence of assorted rearing conditions was observed on these parameters: coefficient of Fulton, broad – backedness index, high – backedness index, viscerosomatic and hepatosomatic index. Any one of the observed parameters was not under the influence of different kind of feeding mixture.

Key words: fish, trout, nutrition value, surrounding conditions, intensity of fish stock, origin of fish

Acknowledgement: NAZV QI91C001 Optimization of conditions of intensive rearing of salmonid fish in the conditions of the Czech Republic with using of danish technology with focusing on the quality of produced fish.

ÚVOD

Pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*) je nejčastěji chovanou lososovitou rybou u nás. Patří k nepůvodním, uměle introdukovaným druhům ryb s původním areálem výskytu na severoamerickém kontinentu, konkrétně v západní části při pobřeží Tichého oceánu, v řekách Kamčatky a v Ochotském moři(BARUŠ a OLIVA,1995). Historie chovu pstruha duhového na našem území se datuje od roku 1888, kdy k nám byl poprvé dovezen ze sousedního Německa (DUBSKÝ *et al.,* 2003). Pstruh duhový se v našich podmínkách chová převážně v intenzivních chovech, které lze rozdělit dle způsobu hospodaření z vodou. Jednodušším a levnějším zařízením jsou průtočné systémy, kde je zajištěn stálý průtok vody a po použití je zpětně tato voda vrácena do recipientu(POKORNÝ *et al.,*2003). V poslední době nabývají významu recirkulační systémy a to především díky šetrnosti k životnímu prostředí. Podstatou je systém částečného nebo úplného opakovaného využití recirkulované vody. Opakované využití použité vody pro chov ryb je možné díky odstranění produktů látkové výměny, odstranění patogenních i nepatogenních zárodků a nasycení vody kyslíkem(POKORNÝ *et al.,* 2003). S chovem ryb v intenzivních chovech úzce souvisí výživa ryb. Díky vysokým obsádkám ryb na jednotku objemu vody a praktické absenci přirozené potravy jsou ryby závislé na kvalitě a množství námi předkládaného krmiva. Volba vhodného krmiva, intenzita krmení a podmínky prostředí přímo ovlivňují nutriční hodnotu svaloviny ryb. Spotřeba rybího masa v ČR se pohybuje kolem 5,5kg na osobu a rok, z čehož sladkovodní ryby tvoří asi jen 1,5 kg ročně. V Evropě je spotřeba rybího masa vyšší, zhruba 11,5kg na osobu a rok a průměrná světová spotřeba ryb se pohybuje na úrovni 16,5 kg na obyvatele a rok. Rybí maso obsahuje množství polynenasycených mastných kyselin, díky nímž má konzumace rybího masa vysoce pozitivní vliv na lidský organismus. Proto se v posledních letech objevují různé propagační akce na podporu konzumace rybího masa a zvýšení jeho spotřeby u nás. V České republice se roční produkce pstruha duhového pohybuje na úrovni zhruba 700 t. Mezi největší Evropské producenty pstruha duhového řadíme hlavně v posledních letech Itálii, Turecko a Dánsko. U těchto států se pohybuje produkce pstruha v desítkách tisíc tun za rok, což je samozřejmě nesrovnatelné s našimi podmínkami. Největšími světovými producenty pstruha duhové jsou Chile, USA, Irán a světová roční produkce se pohybuje kolem 600 tis. tun pstruha duhového. Doba chovu pstruha duhového do chovné velikosti může trvat 9 měsíců do velikosti 280 – 400g, obvykle se ovšem pohybuje kolem 12 – 18–ti měsíců. Nároky na velikost tržních pstruhů jsou variabilní po celém světě: v USA je požadována velikost 450-600 g; v Evropě 1-2 kg; v Kanadě, Norsku, Švédsku a Finsku 3-5kg. (FAO, 2011).

Materiál a metodika

V diplomové práci byly řešeny dvě různé problematiky. Nejprve byly sledovány různé podmínky prostředí ve vztahu ke kondici ryb a jejich nutriční hodnotě. Dále byla řešena problematika vhodné hustoty obsádky v recirkulačním zařízení opět v závislosti na kondici ryb a nutriční hodnotě jejich svaloviny.

Pro porovnání různých podmínek prostředí byly zvoleny tři farmy s různým způsobem hospodaření vodou, případně s rozdílným zdrojem vody. Pstruží farma Velká Losenice využívá k zásobení objektu vodu z Losenického potoka, který pramení v lesích kolem obce Račín a dvou zásobních lesních rybníků.

Pstruží farma Ujčov se nachází cca 15km od údolní nádrže Vír a zhruba 10,5 km pod její vyrovnávací nádrží. Díky této své poloze je zajištěn dostatečný zdroj kvalitní vody pro celý objekt. Pro potřeby hospodaření je povolen odběr vody z řeky Svratky v množství 1700 $l.s^{-1}$ a přítok do odchovných objektů činní zhruba 1000 $l.s^{-1}$.

Pstruží farma Pravíkov je recirkulačním zařízením dánského typu o celkovém objemu 1000m^3 vody. Objekt tvoří 12 odchovných žlabů (11x2x2m – objem vody 36,4m^3) a částí pro úpravu a čerpání vody. Filtrační část je rozdělena na jednokomorový biofiltr s plovoucí náplní (10m^3 filtračního materiálu) a osmikomorový biofiltr s ponořenou náplní (100m^3 filtračního materiálu), mezi nimiž je sedimentační zóna. K aeraci a odplynění oxidu uhličitého slouží difusory,umístěné těsně za biofiltrem. Další součást systému tvoří 4,5m hluboký airlift, kterým je čerpána voda do přívodného kanálu pro odchovné žlaby. Přítok vody do žlabů je situován v jejich spodní části a je regulovatelný pomocí šoupat. Odtok z každého žlabu je osazen mělkým difusorem, jehož funkce spočívá v odstranění oxidu uhličitého, aeraci a zpětné cirkulaci vody v odchovném žlabu. Mříž proti úniku ryb do systému je umístěna za difusorem a za ní jsou umístěny sedimentační kužely, které se odpouští dvakrát denně do jímky.

Do testu byly použity tržní ryby určené pro náš trh. Na všech třech farmách byla použita srovnatelná extrudovaná krmiva s vysokým obsahem proteinu a tuku od výrobce Biomar group. Rozdíl byl tedy v technologii chovu a zásobení objektu vodou. Ve dvou po sobě jdoucích dnech bylo odebráno deset kusů živých pstruhů duhových na každé z uvedených farem. Ryby byly ihned usmrceny, zchlazeny a převezeny do laboratoře Oddělení rybářství a hydrobiologie Mendelovy univerzity v Brně pro další zpracování. Zde byly změřeny délko-hmotnostní parametry. Dále byla z opracované ryby oddělena hlava, ploutve a ocasní násadec, který byl z analýzy vyloučen. Opracovaný trup byl příčně rozdělen na devět stejných porcí. První porce za hlavou byla použita pro biochemické analýzy. Hlavními sledovanými ukazateli experimentu byl exteriér ryb pomocí indexu vysokohřbetosti (IV) a indexu širokohřbetosti (IŠ), kondiční stav ryb pomocí koeficientu dle Fultona (K_F), a hepatosomatického indexu (HSI). Dále byla hodnocena konzumní hodnota pomocí výtěžnosti (V, %) a viscerosomatického indexu (VSI, %) a také byl stanoven obsah dusíkatých látek (NL, %), sušiny (S, %) a tuku (T, %) ve svalovině ryb.

Na recirkulačním zařízení v Pravíkově proběhlo v termínu od 22.9. 2009 do 19.1. 2009 také hodnocení vhodné hustoty obsádky. Všechny ryby v testu měly shodné podmínky prostředí a mohlo být reálně hodnoceno využití předkládaného krmiva danou obsádkou.

Do testu byly zvoleny čtyři hustoty obsádek pro jednotlivé žlaby. Jako optimální byla předpokládaná hustota obsádky 8000ks (21,98kg.m^3), dále byly stanoveny obsádky 6000ks (15,66kg.m^3), 10000ks (26,65kg.m^3) a 12000ks (32,97m^3). Všem rybám bylo podáváno krmivo Biomar EFIKO 790, obsahující 43% dusíkatých látek a 26% tuku. Aplikace krmiva byla prováděna v souladu s doporučeními výrobce (dle krmných tabulek), podle aktuální hmotnosti obsádky žlabu a teploty vody, s korekcí na případný snížený příjem krmiva rybami. V týdenních intervalech byla odlovena skupina ryb pro stanovení jejich hmotnosti, byly denně evidovány ztráty a na základě získaných údajů byla stanovena hmotnost obsádky žlabů. Základní hydrochemické parametry (teplota, obsah rozpuštěného O_2, pH) byly sledovány denně. Periodicky byly sledovány i další hydrochemické parametry, zejména formy dusíku.

Dne 19.11. 2009, v den ukončení pokusu, byl odebrán vzorek 20 kusů ryb z každého žlabu. U všech odebraných ryb byly zjišťovány stejné parametry a hodnocena stejná kritéria jako v první části. Tedy délko-hmotnostní parametry na jejichž základě byl zhodnocen exteriér ryb, jejich kondiční stav a stanovena výtěžnost. Pro biochemické analýzy složení svaloviny ryb (dusíkaté látky, sušinu a obsah tuku) byly použity čtyři kusy ryb od každé varianty.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Výsledky obou pokusů jsou hodnoceny podle zjištěné kondice ryb, jejich konzumní hodnoty a nutriční hodnoty jejich svaloviny.

Rozdílné podmínky prostředí a technologie chovu měly vliv na exteriér jen u indexu vysokohřbetosti na statisticky významné úrovni $P<0,05$. Průměrné hodnoty se pohybovaly v rozmezí 3,70 – 4,58 a to mezi farmami v Pravíkově a ostatními dvěma farmami. Tento rozdíl mohl být způsobený technologií chovu, neboť farma v Pravíkově je jako jediná recirkulačním zařízením. JIRÁSEK(2006) uvádí pro intenzivní chovy hodnoty tohoto indexu 3,92, pro rybniční chov 3,76, čemuž by uzavřená recirkulace odpovídala spíše. GEBAUER(2004) uvádí vyšší hodnoty na úrovni 3,97-4,41 a taktéž ČADA(2006) udává vyšší hodnoty 3,76-4,22.

Taktéž na kondici ryb byl prokázán statisticky významný rozdíl a to u Fultonova koeficientu, kde se průměrné hodnoty pohybovaly v rozmezí 1,49 – 1,96, i hepatosomatického indexu s průměrnými hodnotami mezi 1,31 – 2,33. Fultonův koeficient může být ovlivněn naplněním zažívacího traktu a tudíž mohl být rozdíl mezi rybami z jednotlivých farem způsoben taktéž dobou posledního krmení před odběrem vzorků ryb. Taktéž mohla mít vliv hustota obsádek na jednotlivých farmách. Pro provozní podmínky uvádí ČADA (2006) průměrné hodnoty 1,51-1,87 a JIRÁSEK(2006) 1,73. GEBAUER(2004) uvádí nižší hodnoty na úrovni 1,50-1,67, ale pro zimní období, kdy mají ryby snížený metabolismus a nepřijímají tolik potravy. Také úroveň a kvalita předkládaného krmiva může výrazně ovlivnit hodnotu Fultonova koeficientu. Hepatosomatický index vyjadřuje hmotnost

jater k celkové hmotnosti ryby a je ovlivňován množstvím tuku uloženým v játrech. Toto množství je ovlivňováno složením a množstvím předkládaných krmiv. Při vysokém obsahu tuku v krmivu může docházet k jeho nadměrnému ukládání v játrech, což může rybám způsobovat zdravotní komplikace, popř. úhyn. Příjem krmiva rybami ovlivňují taktéž chemicko-fyzikální podmínky prostředí. Nárůst hodnoty hepatosomatického indexu signalizuje zvýšení tučnosti jater. Různé podmínky prostředí měly vliv na tento ukazatel. Horní hodnota 2,33% je vysoká a signalizuje použití krmiva s vysokým obsahem tuku, případně překrmování ryb. Také mohlo dojít k chybě při zpracování dat, jelikož většna autorů uvádí hodnoty v rozmezí 1,25-1,95% pro intenzivní chovy(GÉCI, 1983 cit. ADÁMEK *et al.* 1989; GEBAUER, 2004; ČADA, 2006).

Konzumní hodnota ryb dosáhla statisticky významného rozdílu mezi rybami z farmy v Pravíkově a Ujčově. Na farmě v Ujčově bylo dosaženo o 5% vyšší výtěžnosti, než na farmě v Ujčově s rozmezím průměrných hodnot 80,8-85,8%. GEBAUER(2004) uvádí rozmezí hodnot výtěžnosti pstruha duhového mezi 79,1-81,6% a ČADA(2006) 80,63-84,14%.Výtěžnost ryb je závislá na podílu nevyužitelných částí, což jsou u pstruha duhového zpravidla i gonády. Ryby z Ujčova dosahovaly nejnižší průměrné kusové hmotnosti 294,4 g. Úroveň výtěžnosti mohlo také ovlivnit množství předkládaného krmiva na jednotlivých farmách, rozdílná rychlost proudění a tedy aktivita ryb. Taktéž mohla sehrát svou roli rozdílná hustota obsádek. Opačný trend platí pro viscerosomatický index, který se snižuje se zvyšující se výtěžností. Průměrné hodnoty se pohybovaly v rozmezí 14,18-19,16%, kdy ČADA (2006) uvádí rozmezí 13,23-16,87% GEBAUER (2004) 15,46-17,75%. Tyto rozdíly s uvedenou literaturou mohou být taktéž způsobeny rozdílným stářím a velikostí ryb v provedených pokusech. Hodnoty viscerosomatického indexu taktéž ovlivňuje množství tuku uloženého mezi orgány v dutině tělní, stejně jako výtěžnost úroveň gonadosomatického indexu.

Složení svaloviny ryb taktéž ovlivnily podmínky prostředí i technologie chovu. Obsah sušiny se měnil v závislosti na množství tuku. Statisticky významného rozdílu bylo dosaženo mezi farmou ve Velké Losenici a farmami v Ujčově a Pravíkově v obsahu tuku i sušiny. Nejvyššího průměrného obsahu sušiny i tuku bylo dosaženo na farmě v Pravíkově. Průměrný obsah sušiny se pohyboval v rozmezí 25,50-34,22% a obsah tuku v rozmezí hodnot 7,09-14,12%. Obsah tuku odráží změny fyziologického stavu ryby a citlivě reaguje na úroveň podmínek výživy ryb. Při zvýšeném obsahu tuku v krmivu nedochází ke zvýšenému ukládání tuku ve svalovině, ale v játrech a vitřenostech. Naopak při nízkém obsahu tuku v krmivu dochází k vyššímu ukládání tuku ve svalovině a nižšímu ukládání tuku v játrech a vnitřnostech (GEBAUER, 2004). Stejný autor uvádí rozmezí pro tuk 2,84-3,42%, 6,03-7,98%(ČADA,2006). Vysoký obsah tuku ve svalovině může být tudíž způsoben nižším obsahem tuku v krmivu. Obsah tuku závisí také na velikosti ryby (ALSTED *et. al.*,1995) U porovnávaných skupin nebyl prokázán statisticky významný rozdíl (P>0,05) v obsahu bílkovin, průměr hodnot se pohyboval mezi 17,91-20,87%. Obsah bílkovin je poměrně stálý a rozdílné hodnoty obsahu se mohou projevit spíše v průběhu roku, především v létě a zimních měsících. Zjištěné hodnoty odpovídají rozpětí uváděnému literaturou, kde ČADA (2006) uvádí 17,89-20,39%, 16,98-17,15% (GEBAUER, 2004; BRAUGE *et. al*., 1994, KAUSHIK *et. al.*, 1995).

Při testování vhodné hustoty obsádky byla hodnocena stejná kritéria jako u hodnocení vlivu podmínek prostředí a technologie chovu.

Statisticky významného rozdílu na úrovni P<0,05 bylo dosaženo při hodnocení exteriéru v indexu širokohřbetosti mezi obsádkou 12tis. a obsádkami 8tis. a 6tis. kusů, kde se průměrné hodnoty pohybovaly mezi 12,81-14,05%. Také u indexu vysokohřbetosti byl prokázán statisticky významný rozdíl a to mezi obsádkou 8tis. kusů a obsádkami 12tis. a 6tis. kusů na úrovni P<0,05, s průměrem hodnot 3,75-4,02. Tento trend ukazuje, že vysoká nebo naopak nízká obsádka hustota obsádky zvyšuje tento ukazatel, jelikož nejnižší hodnoty bylo dosaženo při obsádce 8tis. kusů. Dosažené hodnoty také podporují teorii, že recirkulační systém se podobá spíše rybničnímu chovu podle JIRÁSKA(2006), než průtočnému systému,jelikož hodnoty 4 bylo dosaženo pouze v jedno případě, zatímco hodnoty z ostatních farem se pohybovaly na úrovni 4,58 ve Velké Losenici a 4,24 v Ujčově.

Při hodnocení kondice se významně lišil Fultonův koeficient u obsádek 12tis. kusů a 8tis. kusů. Rozpětí hodnot se pohybovalo mezi 1,67-1,82. Nejvyšší hodnoty Fultonova koeficientu u obsádky 8tis.kusů. Hepatosomatický index se statisticky významně lišil mezi obsádkami 12tis. a 6tis. kusů a dosahoval hodnot 1,58-1,84%. To mohlo být způsobeno menší potravní konkurencí při nižší obsádce, kdy ryby přijímají více krmiva, což se nám potvrdilo u výtěžnosti a dalších ukazatelů. Námi dosažené výsledky dosahovaly hodnot běžných podmínek produkčních chovů.

U konzumní hodnoty byl prokázán vliv hustoty obsádky na výtěžnost na úrovni P<0,05, kde byl rozdíl mezi obsádkou 6tis. kusů a obsádkami 10tis. a 12tis. kusů. Výtěžnost se zvyšovala se zvyšující se hustotou obsádky, tudíž nejvyšší výtěžnost dosáhla obsádka 12tis. kusů. Průměr hodnot se pohyboval v rozmezí 84,3-87,3%. Srovnatelné úrovně výtěžnosti dosahovaly ryby z farmy v Ujčově a tudíž hustota obsádky mohla taktéž ovlivnit tuto hodnotu, kde byl rozdíl mezi zmíněnou farmou a farmou v Pravíkově 5%. Statisticky významného rozdílu na úrovni P<0,05 bylo dosaženo i u viscerosomatického indexu, kde byl průkazný rozdíl mezi obsádkou 6tis. kusů a obsádkami 12tis. a 10tis. kusů. Průměrné hodnoty se pohybovaly na úrovni 12,73-15,68%. Tento rozdíl mohl způsobený právě nižší hustotou obsádky, kde měly ryby jednodušší přístup k předkládanému krmivu

Nebyla prokázána závislost hustoty obsádky na složení svaloviny ryb. Průměrné hodnoty pro bílkoviny se pohybovaly v rozmezí 15,62-16,72%, 30,24-31,29% pro sušinu a obsah tuku dosahoval úrovně 11,69-12,97%.

ZÁVĚR

Cílem práce bylo ověřit vliv různých podmínek prostředí a vliv hustoty obsádky ve vztahu k nutriční hodnotě svaloviny pstruha duhového.

Bylo zjištěno, že různé podmínky prostředí měly vliv na výtěžnost a viscerosomatický index, tedy konzumní hodnoty svaloviny ryb. Dále koeficient vysokohřbetosti i širokohřbetosti, což jsou exteriérové parametry, také podmínky prostředí ovlivňují kondiční stav ryb, což potvrzují výsledky

Fultonova koeficientu a hepatosomatického indexu a v neposlední řadě též na složení svaloviny, kde byl ovlivněn obsah tuku a sušiny.

Rozdílných hustot obsádek bylo zjištěno, že výtěžnost ryb stoupala se zvyšující se hustotou obsádky, také ovlivňuje exteriérové vlastnosti ryb (širohřbetou a vysokohřbetost), ovlivňuje kondiční stav ryb, ale nebyl potvrzen žádný vliv na složení svaloviny ryb.

Závěrem lze říci, že při vhodně zvolené technologii chovu, vhodně stanovené obsádce ryb a vhodném krmení, můžeme dosáhnout požadované nutriční hodnoty rybího masa, která splní nároky zákazníka.

LITERATURA

Adámek, Z., et. el., (1989): Produkce tržních pstruhů v rybnících Českomoravské vysočiny. In: Chov lososovitých ryb. Vodňany, ČSVTS, 192-196 s.

Alsted, N., et. al., (1995): Practical experience with high energy diets, FCR, growth and quality. J.APPL. Ichtyol., 11, 329-335 s.

Baruš, V.; Oliva, O., 1995, Mihulovci a ryby (1) : Petromyzontes Osteichtes. Praha : Academica Praha, 623 s. ISBN 80-200-0500-5.

Brauge, C., Medale, F., Corraze, G., (1994): Effect of dietary carbohydrate levels on growth, body composition and glycaemia in rainbow trout, Oncorhynchus mykiss, rezed in seawater. Aquaculture, 123, 109-120 s.

Čada, M., (2006): Zhodnocení produkční účinnosti vybraných krmných směsí v provozních podmínkách chovu pstruha duhového (Oncorhynchus mykiss W.). Brno, 74 s. Diplomová práce. MZLU v Brně.

Dubský, K.; Kouřil, J. ; Šrámek, V.,(2003): Obecné rybářství. Praha : Informatorium , 308 s. ISBN 80-7333-019-9.

Gebauer, D., (2004): Zhodnocení efektu aplikace krmných směsí s různým obsahem energie v chovu pstruha duhového (Oncorhynchus mykiss) v zimním období. Brno, 84 s. Diplomová práce. MZLU v Brně.

Jirásek, J. et al., (2006): Potřeba živin a tabulky výživné hodnoty krmiv pro ryby. Brno : [s.n.], 70 s. ISBN 80-7157-646-8.

Kaushik, S. J., et. al., (1995): Patrial or total replacement of fis meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effect, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, Oncorhychus mykiss. Aquculture. 113, 257-274 s.

Pokorný, J. et al., (2003): Pstruhařství. Praha : Informatorium, 281 s. ISBN 80-7333-022-9.

http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oncorhynchus_mykiss/en

DIFFERENCE OF EXTERIOR BETWEEN AMERICAN QUARTER HORSE AND AMERICAN PAINT HORSE

Petlachová T., Jiskrová I., 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 aim was to compare differences in exterior between stallions breed of American Quarter Horse and American Paint Horse bred in the Czech Republic. History and exterior of both is in the early stages the same. American Paint Horse is a skewbald variety of American Quarter Horse.

It was measured 28 body measurements at 32 stallions included in 2011 in the Central Register of stallions. Statistical processing GLM method was found to be highly significant differences ($P \leq 0.05$) between breeds American Quarter Horse and American Paint Horse were found in width of lower jaws and length of humerus.

The work demonstrated that in most of the measured physical values of these two breeds observed in Czech Republic did not differ significantly. American Paint Horse thus remains a skewbald variety American Quarter Horse not only in the history of his breed, but also in the maintenance of body conformation.

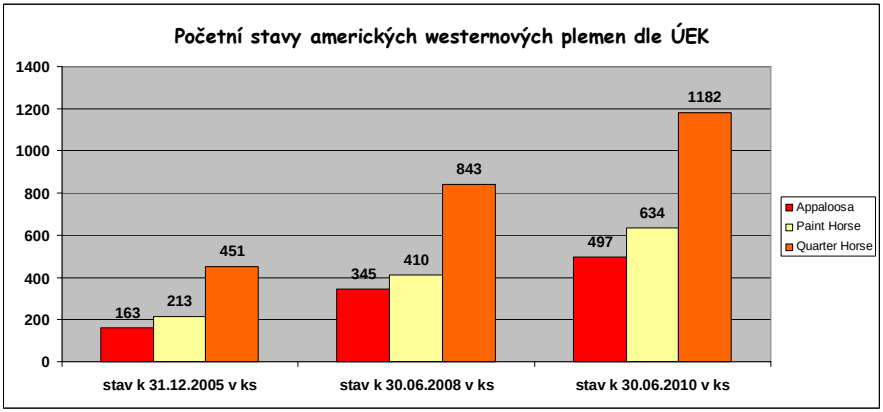
Key words: stallion, exterior, body measurements, American Quarter Horse, American Paint Horse

Acknowledgement: The research has been supported by financial support IGA TP 8/2011.

ÚVOD

Početní stavy amerických westernových plemen chovaných v České republice neustále vzrůstají. I když tato plemena nemají v České republice vedenou plemennou knihu, jejich počty jsou vyšší než 1/3 uznaných plemen. Jedná se o plemena American Quarter Horse (AQH), American Paint Horse (APH) a Appaloosa (Appa). K 30.6.2010 je v České republice registrováno 1182 koní AQH (nárůst 48% oproti roku 2008), 634 koní APH (nárůst 31% oproti roku 2008) a 497 koní plemene Appaloosa (nárůst 21% oproti roku 2008). Pro své všestranné využití a skvělý charakter jsou stále více vyhledávanými plemeny - ať již pro sportovní účely (westernové disciplíny, všestrannost, parkur) nebo díky pohodlným chodům k rekreačnímu ježdění, či v poslední době pro hiporehabilitaci. Vynikají pevnou konstitucí, kompaktním vyváženým exteriérem s malou kohoutkovou výškou a čtvercovým rámcem, inteligencí a psychickou vyrovnaností.

Graf 1 Početní stavy amerických westernových plemen v ČR dle ÚEK



AMERICAN QUARTER HORSE

Quarter Horse dostal své jméno díky běhání na trati, která obvykle nebývala delší než čtvrt míle (quarter of a mile = zhruba 400m). Závody na čtvrt míle jsou stále nejoblíbenější vzdáleností pro běhání American Quarter Horse. Nejlepší „čtvrtkaři“ dosahují na této dráze času 21 sekund a méně. (www.aqha.com)

Vznik a původ plemene

Plemeno pochází z koní přivezených do Ameriky španělskými konkvistadory a jedná se o nejstarší americké plemeno. Místní osadníci v oblasti Virginie a Carolinas začali křížit s lokálními koňmi a s plnokrevníky dovezenými z Velké Británie. Tito kříženci absolvovali první dostihy v Severní Americe. Díky jeho odolnosti a mohutnosti se stali „pravou rukou“ osadníků a při rozšiřování

území se stali nenahraditelnými pomocníky při chovu dobytka. Časem se u těchto koní vyvinul tzv.cow sense – cit pro dobytče.

Díky mechanizaci poklesl význam i v chovu dobytka a tak se AQH stal jezdeckým koněm pro volný čas. Koncem minulého století zažil AQH velkou renesanci ve westernovém stylu soutěží, jako jsou rychlostní závody, pracovní disciplíny a rodeo (www.equine-world.co.uk) .

Charakteristika plemene

Dosahuje výšky v kohoutku 143 - 161 cm. Hlava je spíše krátká a široká, s malým chřípím a v každém případě ušlechtilá. Oči jsou velké a jsou posazeny poměrně daleko od sebe, uši jsou středně velké a pohyblivé. Žuchvy jsou velmi výrazné. Krk je dostatečně dlouhý, pružný, silný. Kohoutek je svalnatý, dlouhý a málo výrazný. Horní linie je dobře vázána. Tělo je kompaktní, hrudník široký a hluboký, hřbet krátký, silný. Těžká svalnatá stehna a bérce dodávají zvířeti robustní vzhled, jenž je pro plemeno typický. Záď je široká, skloněná a typicky svalnatá.

Štíhlé nohy jsou suché, čisté, mají velmi kvalitní klouby a krátké spěnky. Spěnky by měly svírat úhel asi 45° - rovné spěnky by totiž nevydržely dynamický pohyb. Stehenní kost je nejdelší kostí těla. Kopyta jsou kulatá a otevřená. Postoje pravidelné. AQH jsou konstitučně tvrdí, s přirozenou rovnováhou, velmi rychlí a obratní.

→ ***povaha:*** Disponuje vyrovnanou povahou a inteligencí. Mnohdy jim v krvi koluje krev jejich anglických a arabských předků, ale i tak jsou velmi klidní a spolehliví. Snaží se vždy maximálně vyhovět - jsou pracovití a lehce ovladatelní.

→ ***zbarvení:*** Pravidla American Quarter Horse Association (AQHA) z roku 2003 striktně omezují množství bílých odznaků a nepovolují na těle koně světlou nebo růžovou kůži, ani bílé odznaky mimo povolené zóny. Nesmí se vyskytnout modré oko (AQHA, 2011). AQHA rozeznává 12 základních barev. Nejčastěji se vyskytuje barva sorrel (www.czqha.cz).

AMERICAN PAINT HORSE

Vznik a původ plemene

Historie plemene American Paint Horse je stejná jako plemene American Quarter Horse. Samotné plemeno vzniklo z vyřazených koní – vícebarevných hříbat, která AQHA odmítla pro rozsah bílých odznaků zapsat, přestože původově splňovali požadavky kladené AQHA. Sklon dávat strakatá hříbata se objevuje prakticky ve všech významných liniích American Quarter Horse např. Leo, Peppy San Badger, Go Man Go, Colonel Freckles či Mr Gunsmoke. (www.czqha.cz)

Oficiální organizace American Paint Horse Association byla založena v roce 1962 a je druhou největší asociací v USA na základě počtu registrovaných koní ročně. APHA udržuje registr koní s originálními barevnými znaky kontrastní bílé a tmavé srsti a kůže a charakteristické stavby těla honáckého koně. Aby mohl být kůň zaregistrován v tzv. regular registry (základním registru) American Paint Horse Association, musí splňovat požadavky na minimální rozsah bílé barvy, navíc alespoň jeden z jeho rodičů musí být registrován u American Paint Horse Association. Druhý

z rodičů musí být American Quarter Horse nebo kůň registrován u Jockey Clubu (anglický plnokrevník). Je stanoveno také minimální množství bílé srsti na nepigmentované (růžové) kůži. (www.apha.com)

Charakteristika plemene

Kohoutková výška může být vlivem dalšího šlechtění o něco vyšší než u AQH (APHA, 2005). Pohybuje se mezi 153 až 163 cm. Hlava je malá, široké čelo s přátelskýma, výraznýma očima, nozdry připomínají arabského koně. Kohoutek je nevýrazný, dobře osvalený. Silně vyvinutá osvalená záď a nohy. Chody jsou pohodlné s mimořádným akceleračním potenciálem. Fundament je suchý (www.czpha.cz).

→ ***povaha:*** Painti mají stejně jako AQH výborný temperament, jsou velmi inteligentní a spolehliví.

→ ***zbarvení:*** Jedná se o 12 stejných základních barev jako u plemene AQH a navíc jsou uznány i barvy se znaky albinismu: Cremello, Perlino. APH se vyskytují se v několika základních typech strakatosti, které jsou přesně definovány.

MATERIÁL A METODIKA

Nejobjektivnější metodou pro charakterizování tělesné stavby je měření tělesných rozměrů koní. Měřením lze rozměry těla podle BÍLKA (1957) vyjádřit v číslech, jimiž získáme pro posouzení koně objektivnější základ.

MISAŘ a JISKROVÁ (2001) přisuzují hodnocení tělesné stavby mimořádný význam, protože to patří mezi limitní výběrová kritéria při zařazování posuzovaných jedinců do chovu.

Proto jsme se rozhodli analyzovat současné linie amerických westernových koní chovaných v ČR tímto způsobem. Změřili jsme 28 tělesných rozměrů u plemeníků zařazených do plemenitby podle Ústřední registru plemeníků pro rok 2011.

Na základě sestavené databáze plemeníků a vlastních měření jsme vzájemně srovnávali zástupce obou plemen podle tělesných měr.

Měření prováděla jedna osoba s měřidly: hůlková míra pro koně, pásková míra pro koně, kapesní měřidlo s vodováhou. Tím byla minimalizována subjektivní chyba, která by mohla nastat při měření větším osob. Měření hřebců probíhalo vždy na rovné pevné ploše. Hřebci byli k měření postaveni na všech čtyřech končetinách rovnoměrně zatížených, tak aby při pohledu z boku byly pravé končetiny v zákrytu za levými.

Měřeny byly tyto tělesné rozměry:

Tělesné míry definujeme následujícím způsobem (zpracováno podle BÍLEK 1933, BÍLEK 1958, OULEHLA 1996, DUŠEK 1999):

1. Kohoutková výška hůlková (KVH) - kolmá vzdálenost nejvyššího bodu kohoutku od země.

2. Výška kosti hrudní (VKH) kolmá vzdálenost hrudní kosti od země
3. Výška ve hřbetě (VvH) - kolmá vzdálenost nejhlubšího místa hřbetu od země
4. Výška v kříži (VvK) kolmá vzdálenost nejvyššího bodu na zádi (křížová kost) od země.
5. Výška při kořeni ocasu (VKO) kolmá vzdálenost od země k nasazení ohonu.
6. Šířka zádě (ŠZ) hůlková vzdálenost mezi levým a pravých chochlíkem
7. Obvod hrudníku (OHr) měřeno za lopatkou a kohoutkem v místě nejmenšího obvodu
8. Délka hlavy pásková (DHl pás) měřená od středu temenního hřebene po střed linie spojující horní část nozder.
9. Šířka čela (ŠČ) – páskou v místě středů nadočnicových oblouků
10. Šířka žuchvy (ŠŽ) – měřena ze středu jařmové kosti ke kosti dolní čelisti.
11. Šířka mezi žuchvami (ŠmŽ) největší šířka mezi vnějšími vrcholy úhlu spodních čelistí
12. Délka krku (DK) vzdálenost od středu hřebene temenních kostí k přednímu okraji lopatky.
13. Délka lopatky (DL) od největšího zaoblení chrupavky lopatky ke středu kloubu ramenního.
14. Šířka prsou (ŠP) zpředu měřená vzdálenost mezi oběma nejvzdálenějšími hrboly ramenních kloubů.
15. Délka kosti pažní (DKP) od středu kloubu ramenního ke kloubu loketnímu
16. Délka předloktí (DPř) od kloubu loketního ke středu postranní šířky kloubu zápěstního ve výšce hráškové kosti.
17. Délka přední holeně (DPřHol) po straně, od středu kloubu zápěstního do středu kloubu spěnkového.
18. Délka přední spěnky (DPřSp) od předního středu kloubu spěnkového do středu korunního okraje kopyta ve stěně prstní.
19. Obvod přední holeně (OHol) měřený v horní třetině holeně na levé přední končetině, tzn. na přechodu horní třetiny holeně v druhou třetinu
20. Šikmá délka těla (ŠDT) vzdálenost od ramenního kloubu k výčnělku sedacího hrbolu
21. Přední šířka pánve (PŠP) vzdálenost mezi zevními hrboly kyčelními
22. Délka pánve (DPán) od zevního hrbolu kyčelního k zevnímu hrbolu sedacímu
23. Délka stehna (DSt) vzdálenost od sedacího hrbolu k čéšce
24. Délka bérce (DBr) vzdálenost od čéšky ke středu hleznového kloubu

25. Délka zadní holeně (DZaHol) od středu postranní největší šířky hleznového kloubu k postrannímu středu kloubu spěnkového.

26. Délka zadní spěnky (DZaSp) od předního středu kloubu spěnkového ke středu korunkového okraje kopyta ve stěně prstní.

27. Obvod zadní holeně (OHolZ) měřený v horní třetině holeně na levé zadní končetině, tzn. na přechodu horní třetiny holeně v druhou třetinu

28. Hloubka hrudníku (HHr) zjišťována dopočtem KVH – VKH

Data byla statisticky vyhodnocena lineárním modelem s pevnými efekty (GLM) v programu UNISTAT 5.1.

Modelová rovnice lineárního modelu s pevnými efekty (GLM):

$$y_{ij} = \mu + s_i + e_{ij}$$

kde: y_{ij} = pozorování tělesné míry nebo indexu

μ = celkový průměr

s_i = pevný efekt plemene (i = 1,2)

e_{ij} = náhodná reziduální chyba

V případech statisticky průkazného vlivu sledovaného efektu jsme metodou mnohonásobného porovnávání Tukey B stanovili rozdíly mezi oběma plemeny.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Celkem bylo změřeno 28 tělesných měr u 32 (19 hřebců AQH, 13 hřebců APH) plemeníků zařazených v roce 2011 v Ústředním registru plemeníků. Měření prováděla jedna osoba s měřidly: hůlková míra pro koně, pásková míra pro koně, kapesní měřidlo s vodováhou.

Významné statistické rozdíly ($P \leq 0,05$) mezi plemeny AQH a APH byly zjištěny u šířky žuchvy a délky kosti pažní.

Tab. 1 Tělesné rozměry American Quarter Horse a American Paint Horse

	AQH			APH			
	Průměr [cm]	sx	AQH-APH [cm]	Průměr [cm]	sx	APH-AQH [cm]	P ≤ 0,05
KVH	148,54	1,08	-0,61	149,15	1,35	0,61	
VKH	77,25	0,63	0,01	77,24	0,79	-0,01	
VvH	141,05	0,94	-0,59	141,64	1,16	0,59	
VvK	148,46	12,67	-17,43	165,89	15,75	17,43	
VKO	140,48	0,88	0,63	139,85	1,09	-0,63	
ŠZ	56,83	0,76	0,29	56,54	0,94	-0,29	
OH	182,19	1,39	-2,28	184,47	1,73	2,28	
DHP	50,59	0,45	-1,53	52,13	0,56	1,53	
ŠČ	22,99	0,20	-0,43	23,42	0,25	0,43	
ŠŽ	25,16	0,28	0,97	24,19	0,34	-0,97	*
ŠmŽ	11,12	0,17	0,22	10,90	0,21	-0,22	
DK	87,91	1,07	0,16	87,75	1,33	-0,16	
DL	57,21	0,95	0,24	56,97	1,18	-0,24	
ŠP	39,66	0,66	-0,52	40,18	0,82	0,52	
DKP	44,20	0,47	1,36	42,85	0,59	-1,36	*
DPř	41,77	0,71	-1,76	43,53	0,88	1,76	
DPH	25,50	0,30	-0,98	26,49	0,37	0,98	
DPS	12,20	0,20	0,41	11,79	0,24	-0,41	
OHOL	19,95	0,19	-0,13	20,08	0,24	0,13	
ŠDT	176,38	1,69	2,96	173,42	2,10	-2,96	
PŠP	67,16	0,92	1,90	65,26	1,14	-1,90	
DP	61,80	0,95	0,52	61,28	1,18	-0,52	
DS	72,03	0,65	1,89	70,14	0,80	-1,89	
DB	52,65	0,63	0,17	52,49	0,79	-0,17	
DZH	31,37	0,34	0,19	31,18	0,42	-0,19	
DZS	12,65	0,18	0,38	12,26	0,22	-0,38	
OHOLz	22,33	0,28	0,03	22,31	0,34	-0,03	
HHr	71,30	0,71	-0,62	71,92	0,88	0,62	

Šířka žuchvy

Plemeno	Příp.	Průměr	AQH	APH
AQH	**19**	**25,1619**		*
APH	**13**	**24,1944**	*	

QH mají oproti APH staticky průkazný rozdíl v šířce žuchvy. AQH mají o 0,97 cm širší žuchvy než PH.

Délka kosti pažní

Plemeno	Příp.	Průměr	AQH	APH
AQH	**19**	**44,2048**		*
APH	**13**	**42,8472**	*	

Zjištěn byl statisticky průkazný rozdíl mezi AQH a APH. AQH mají oproti APH o 1,36 cm delší kost pažní.

ZÁVĚR

Práce tak prokázala, že ve většině naměřených tělesných hodnot se plemeníci těchto dvou sledovaných plemen chovaných v ČR výrazně neliší. APH tak nadále zůstává strakatou varietou AQH nejen v rámci historie svého plemene, ale i v rámci zachování tělesných rozměrů.

Bylo potvrzeno, že významné statistické rozdíly ($P \leq 0,05$) mezi plemeny AQH a APH byly zjištěny u:

- šířky žuchvy - AQH mají o 0,97 cm širší žuchvy než APH,
- délka kosti pažní - AQH mají oproti APH o 1,36 cm delší kost pažní,

Jelikož se jedná o první pokus o porovnání amerických westernových plemen na základě tělesných měr, nelze diskutovat s ostatními autory.

Projekt má zefektivnit posouzení a hodnocení exteriéru amerických westernových plemen koní. Díky měření těchto tělesných rozměrů chovatelé získají objektivnější přehled o tělesné stavbě koní zařazených do plemenitby a díky přesnější charakteristice exteriéru jednotlivých plemeníků je možné lépe vytvářet připařovací plány.

LITERATURA

1. BÍLEK, F.: *Učebnice speciální zootechniky*. Brno, Novina, 1933, 843 s
2. BÍLEK, F., ET AL.: *Speciální zootechnika - Chov koní. 2 vyd.* Praha: SZN, 1957, s. 1030.
3. DUŠEK, J., MISAŘ, D., MULLER, Z., NAVRÁTIL, J., RAJMAN, J., TLUČHOŘ, V., ŽLUMOV, P.: *Chov koní.* Praha, Brázda, 1999, 352 s., ISBN: 80-209-0282-1.
4. MISAŘ, D., JISKROVÁ, I. *Chov a šlechtění koní*. 1. vyd. Brno: MZLU v Brně, 2001. 170 s. ISBN: 80-7157-510-0
5. OULEHLA, J.: *Breeding Standards in the Lipizzan Horse Population*. Habilitační práce, Brno –Pieber, 1996, 122 s.
6. APHA. *The Breed.* [cit 2011-10-01]. Dostupné na <www.apha.com>
7. AQHA. *Breed Characteristics*. [cit 2011-10-01]. Dostupné na <www.aqha.com>
8. *CZPHA. Plemeno.* [cit. 2011-10-01]. Dostupné na <www.czpha.cz>
9. *CZQHA. Quarter Horse*. [cit. 2011-10-01]. Dostupné na <www.czqha.cz>
10. Equine World. *About horses* – American Quarter Horse. [cit. 2011-10-01]. Dostupné na <www.equine-world.co.uk>

EVALUATION OF BASIC BODY MEASURE TO MOVEMENT OF THE WELSH PONIES AND COBS

Píšová M., Jiskrová I.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agriculture, 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 lenght 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 nejznámějších plemen pony na světě. Z malého zavalitého ponyho, který běhal po rozsáhlých pláních Walesu, se stal v současnosti vytrvalý, energický sportovní pony nejen pro děti. Jeho počátek se traduje až do roku 55 př. n. l. Plemeno velšský pony je rozdělen 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 tito 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 Británie. 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 sekcí plemene.Data byla vyhodnocena lineárním modelem s pevnými efekty (GLM):

$yijkl = \mu + a_i + b_j + c_k + d_l + e_{ijkl}$

Kde:

μ = celkový průměr

ai = efekt pohlaví koně (i = 1,2. 3)

bj = efekt kohoutkové výšky (j= 1,2.....19)

ck = efekt sekce plemene (k= 1,2....5)

eijkl = reziduální efekt

VÝSLEDKY

Srovnání frekvence v klusu

Tab. č. 1 – Průměrná frekvence v klusu u jednotlivých sekcí

sekce	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

sekce 1 – velšský horský pony
sekce 2 – velšský pony
sekce 4 – velšský kob
sekce 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 růměrným 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 starokladubrskému 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 sekceB	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 kohoutkov 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 kladrubský 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 plošími, zatímco typický chod, charakterizovaný vysokou akcí bez výraznější prostornosti zůstává zafixován ve stádě u starokladrubských 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 protornost jednolivých 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 dlohé dráze a výsledky zhodnotili na základě několika efektů: pohlaví, sekce plemene, země původů.Do databáze bylo zařazeno 53velšských 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 starokladrubských běloušů a vraníků a hodnotil zde také frekvenci jednotlivých chodů. U klusu došel k růměrným 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 starokladubrskému 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 jednolivých 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.

POUŽITÁ LITERATURA

Dušek, J. :Mechanika pohybu kladrubských 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

EFFEC OF FEEDING CORN DISTILLERS DRIED GRAINS WITH SOLUBLES ON PERFORMANCE, ABDOMINAL FAT CONTENT AND THE PECTORAL MUSCLE COLOR OF BROILER CHICKENS

Rada V., Foltýn M., Dračková E., Lichovníková M.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xrada@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim was to attempt to effect a partial replacement of soybean meal (SBM) by corn distillers dried grains with solubles (DDGS) to the growth intensity, feed conversion, weight and percentage of abdominal fat from the carcass and breast muscle color by hybrid ROSS 308. Experimental period was from 9th the 35th days of age when chickens were fed the experimental feed mixture BR2 differing on volume of SBM and DDGS. Chickens were divided into 4 experimental groups with two repetitions according to the content of DDGS in feed mixture. Group K contained no DDGS, D1 contained 6%, D2 contained 12% and D3 contained 18% of DDGS. Until 23rd days of age statistically significant ($P < 0.05$) better grow chickens experimental groups D1, D2 and D3 with DDGS in the feed mixture in comparison with the control group. On the end of attempt had statistically significant ($P < 0.05$) higher weight chickens in groups with 6 and 12% DDGS in the feed mixture (2498.5 g and 2496.3 g) compared with control (2425.9 g). Between the groups was not significant difference in carcass weight or in weight and proportion of abdominal fat. Feeding DDGS had a statistically significant effect ($P < 0.05$) to the lightness of meat when the control group was statistically significantly higher L* value than in groups D1, D2 and D3.

Key words: broilers, distillers dried grains with solubles, growth intensity, abdominal fat,

Acknowledgement: This project was supported by FA MENDELU Internal grant TP 8/2011.

ÚVOD

S rostoucím využíváním rostlinné produkce na výrobu biopaliv roste také množství odpadních produktů z těchto výrob, které lze ve většině využít jako krmiva hospodářským zvířatům. Jedním z takových jsou sušené kukuřičné výpalky, které se často označují zkratkou DDGS (ditillers dried grains with solubles) a vznikají jako odpadní produkt při výrobě bioethanolu. Ve výpalcích se koncentrují živiny původní suroviny až na bezdusíkaté látky výtažkové (BNLV), protože ty byly fermentovány na alkohol. Výpalky jsou zdrojem hlavně dusíkatých látek, ale mají i vyšší koncentraci tuku, minerálních látek a vlákniny než původní hmota (Belyea et al., 2004). Obilné výpalky z hlediska aminokyselinového složení mají nízký obsah lyzinu. Z frakce BNLV zůstávají nezkvašené převážně neškrobové polysacharidy, které mohou zhoršovat kvalitu podestýlky a stravitelnost krmiva (Cromwell et al., 1993) Dnešní technologie využívá pro maximalizaci výtěžnosti etanolu destilaci výpalků několikrát po sobě a tak dochází k jejich přepalování, což má za následek snížení jejich nutriční hodnoty. Kvalita výpalků však nejvíce záleží na kvalitě vstupní suroviny, typ fermentace a teplota sušení (Spiehs et al., 2002).

Cílem pokusu bylo zjistit vliv částečné náhrady sojového extrahovaného šrotu (SEŠ) kukuřičnými výpalky (DDGS) na intenzitu růstu, konverzi krmiva, hmotnost a podíl abdominálního tuku z jatečně upraveného těla a barvu prsní svaloviny u kohoutků hybridní kombinace ROSS 308.

MATERIÁL A METODIKA

Pokus byl proveden na kohoutcích masného typu hybrida ROSS 308. Ustájení bylo v souladu s požadavky velkovýrobní technologie na hluboké podestýlce z dřevěných hoblin s řízenými podmínkami prostředí a v souladu s vyhláškou č. 208/2004 Sb., ve znění vyhlášky č. 464/2009 Sb. Do 8. dne věku byla všem kuřatům zkrmována kompletní krmná směs BR1. Od 9. do 35. dne věku byla kuřatům zkrmována pokusná krmná směs BR2 lišící se v zastoupení SEŠ a DDGS. Všechny ostatní komponenty krmné směsi (KS) byly zastoupeny ve stejném množství. Kohoutci byli rozděleni do 4 pokusných skupin se dvěma opakováními podle obsahu DDGS v KS. Skupina K neobsahovala žádné DDGS, D1 obsahovala 6 %, D2 obsahovala 12 % a D3 obsahovala 18 % DDGS. Složení pokusných krmných směsí je uvedeno v tabulce č. 1. Směsi byly sestavovány tak, aby obsahovaly stejné množství živin. Granulovaná KS byla kuřatům předkládána z tubusových krmítek ad libitum. Napájecí vodu měla kuřata k dispozici nepřetržitě z kapátkových napáječek.

V průběhu pokusu byla sledována intenzita růstu, konverze krmiva a zdravotní stav (úhyn). Intenzita růstu byla zjišťována pravidelným individuálním vážením a to 9., 16., 23., 30. a 35. den věku kuřat. Úhyn byl zaznamenáván denně. Spotřeba krmiva byla sledována za celou dobu pokusu a nesežrané zbytky směsí BR1 a BR2 byly zváženy a odečteny od celkové navážky KS. Třicátý pátý den věku kuřat bylo z každé skupiny vybráno deset kohoutků o přibližně stejné živé hmotnosti

a u těchto kuřat byla stanovena hmotnost abdominálního tuku, jeho podíl z jatečně upraveného těla a barva prsní svaloviny.

Hmotnost kuřat v jednotlivých termínech vážení byla charakterizována průměrem a střední chybou průměru. Pro zjištění statisticky průkazných rozdílů mezi průměry skupin byla použita jednofaktorová analýza variance (ANOVA) s následným testováním průkaznosti rozdílu Scheffeho testem. U hmotnosti jatečně upravených těl, podílu a hmotnosti abdominálního tuku a barvy prsní svaloviny byla použita pro testování průkaznosti rozdílů mezi průměry Kruskal-Wallisova jednofaktorová analýza rozptylu a pro následné testování byla použita minimální průkazná diference.

Tab. č.1: Složení pokusných krmných směsí BR2 (%)

Krmivo	**K**	**D1**	**D2**	**D3**
pšenice	37,08	37,08	37,08	37,08
kukuřice	27,9	23,65	19,27	16,16
sojový extrahovaný šrot	27,82	25	22,25	19,2
DDGS	**0**	**6**	**12**	**18**
řepkový olej	4	5	6,1	6,1
L-lysin HCl	0,1	0,17	0,21	0,27
DL-methionin	0,2	0,2	0,19	0,19
vápenec	1,3	1,3	1,3	1,4
sůl	0,25	0,25	0,25	0,25
bolifor MCP	1,05	1,05	1,05	1,05
AMV BR-2	0,3	0,3	0,3	0,3

VÝSLEDKY A DISKUZE

V tabulce č. 2 jsou uvedeny výsledky vážení v týdenních intervalech od 9. do 35. dne věku kuřat. Na začátku pokusu, což byl devátý den věku kuřat, byli kohoutci rozděleni do čtyř skupin tak, aby mezi jednotlivými skupinami nebyl statisticky průkazný ($P<0,05$) rozdíl v hmotnosti. Do 23. dne věku statisticky průkazně ($P<0,05$) lépe rostly kuřata pokusných skupin D1, D2 a D3 s DDGS v krmné směsi ve srovnání s kontrolní skupinou. Následující týden sledování došlo k vyrovnání hmotnosti mezi jednotlivými skupinami (bez statistické průkaznosti v hmotnosti) a poslední den pokusu 35. den věku kuřat statistický průkazně ($P<0,05$) vyšší hmotnosti dosáhla kuřata skupin s 6 a 12 % DDGS v krmné směsi (2498,5 g a 2496,3 g) oproti kontrole (2425,9 g). Rozdíl v hmotnosti mezi skupinou s nejintenzivnějším růstem (D1) a skupinou s nejnižším růstem (K) byl 72,6 g. K podobným výsledkům dospěli také Lumpkins et al. (2004) a Świątkeiwicz and Koreleski (2008), kteří uvádí, že brojlerům lze zařadit do krmných směsí „groweru“ a „finisheru“ 12 až 15 % DDGS bez vlivu na jejich růst. Naopak Dale a Batal (2003) ve svých výsledcích zdůrazňují, že již 18 % hladina DDGS v krmné směsi pro brojlery negativně ovlivnila jejich konečné hmotnosti a konverzi krmiva. Studie Liu et al. (2010) ukazuje, že výživa brojlerů s příjem směsi s obsahem 20 % DDGS negativně ovlivnila konečnou váhu kuřat jak ve věku 21 dní, tak i ve věku 42 dní. Naopak ale Wang et al. (2007) zjistili, že výživa kuřat směsí s obsahem DDGS 5-25 % neměla negativní dopad na konečnou váhu kuřat ve věku 14, 35 a 49 dní, avšak se zvýšil příjem a konverze krmiva u kuřat

krmených směsí s obsahem 25 % DDGS. Růstové křivky jednotlivých skupin jsou zobrazeny v grafu č. 1, kde jsou také uvedeny rovnice růstových křivek pro jednotlivé skupiny.

Tab. č.2: Průměrné hmotnosti kohoutků od 9. do 35. dne věku (g)

Sk.	9. den	16. den	23. den	30. den	35. den
K	266,9 ± 1,52^{a}	598,6 ± 4,50^{a}	1161,7 ± 8,24^{a}	1902,5 ± 13,93^{a}	2425,9 ± 18,07^{a}
D1	264,6 ± 1,54^{a}	630,3 ± 4,10^{b}	1211,2 ± 8,35^{b}	1949,6 ± 13,15^{a}	2498,5 ± 16,88^{b}
D2	264,3 ± 1,54^{a}	631,6 ± 4,48^{b}	1217,2 ± 7,98^{b}	1911,5 ± 12,27^{a}	2496,3 ± 15,67^{b}
D3	264,8 ± 1,46^{a}	637,6 ± 4,06^{b}	1220,3 ± 7,95^{b}	1917,9 ± 11,58^{a}	2449,4 ± 15,12^{a,b}

Pozn.: rozdílné horní indexy (a, b, c) vyznačují statisticky průkazné rozdíly (P<0,05)

V tabulce č. 3 je uvedena konverze krmiva jednotlivých pokusných skupin. Konverze krmiva nebyla statisticky hodnocena, jelikož se jedná o průměr dvou hodnot. U skupin s příjmem směsí s obsahem DDGS byla zjištěna nižší konverze krmiva. Loar et al. (2009) ve svých výsledcích uvádí, že u skupiny kuřat krmených směsí s obsahem 8 % DDGS byla zjištěna nižší konverze oproti kontrolní skupině, která příjmala krmnou směs založenou na SEŠ což koresponduje s výsledkami našeho pokusu. Stejně tak, jak tabulka č. 4 zobrazuje nižší úhyny u pokusných skupin D2 a D3, Loar et al. (2009) dospěl k nižším úhynům u kuřat s příjmem směsí s 8 % DDGS oproti kontrolní skupině bez obsahu DDGS v krmné směsi.

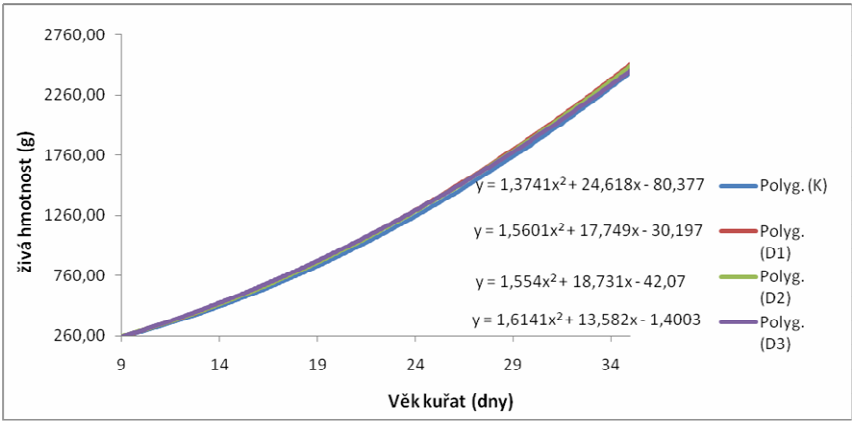
Tab. č.3: Konverze krmiva za jednotlivé skupiny za celé obdodí výkrmu (kg/kg)

K	D1	D2	D3
1,68	1,66	1,59	1,65

Tab. č.4: Úhyny za období pokusu od 9. do 35. dne věku kuřat (%)

K	D1	D2	D3
6	6	5	4

Graf č.1: Růstové křivky jednotlivých skupin



Tabulka č. 5 uvádí hmotnost abdominálního tuku a jeho podíl z jatečně upraveného těla kuřat. Kohoutci byli vybráni tak, aby byl mezi skupinami minimální rozdíl v živé hmotnosti. Mezi skupinami nebyl průkazný rozdíl v hmotnosti jatečně upraveného těla, ani v hmotnosti a podílu abdominálního tuku, avšak lze konstatovat, že kohoutci ve skupinách krmené směsmi s obsahem DDGS dosahovali vyšší hmotnosti JUT a taktéž vyšší hmotnosti abdominálního tuku. K těmto výsledkům dospěl také Shim et al. (2011), kdy v jeho pokusu statisticky prokazatelně vyšší hmotnost abdominálního tuku dosahovali kohoutci krmení směsí s obsahem DDGS již od 6 %. Dále také v pokusu dospěl k výsledkům, že přítomnost DDGS v krmných směsích vykrmovaných kohoutků měla vliv na vyšší hmotnost JUT avšak bez statistické průkaznosti. Tabulka č. 6 uvádí barvu prsní svaloviny charakterizovanou parametry L, a* a b*.

Tab. č.5: Hmotnost a podíl abdominálního tuku z jatečně upraveného těla

	K	D1	D2	D3
Hmotnost JUT (g)	1840 ± 16,9	1874 ± 12,8	1843 ± 15,8	1876 ± 15,3
Hmotnost abdominálního tuku (g)	34,9 ± 2,16	33,8 ± 2,63	36,1 ± 1,55	37,2 ± 1,91
Podíl abdominálního tuku (%)	1,9 ± 0,11	1,8 ± 0,14	2,0 ± 0,08	2,0 ± 0,10

Tab. č.6: Vliv zkrmování DDGS na barvu prsní svaloviny

	K	D1	D2	D3
L*	58,8 ± 0,67[a]	55,0 ± 1,41[b]	54,9 ± 0,91[b]	54,3 ± 0,97[b]
a*	-1,09 ± 0,15	-0,62 ± 0,48	-0,68 ± 0,17	-0,67 ± 0,23
b*	10,1 ± 0,26	9,6 ± 0,3	10,1 ± 0,39	10,6 ± 0,31

Pozn.: rozdílné horní indexy (a, b, c) vyznačují statisticky průkazné rozdíly (P<0,05)
L - světlost, a* - rudost, b* - žlutost*

Zkrmování DDGS mělo statisticky průkazný vliv (P<0,05) na světlost masa, u kontroly byla hodnota L* statisticky průkazně vyšší než u skupin D1, D2 a D3. Vliv DDGS obsahu v krmné směsi na světlost masa brojlerů prokázal také Schilling et al. (2010), který sledoval zvyšující se obsah DDGS (od 6 do 24 %) se snižující se světlostí masa avšak bez statisticky průkazného rozdílu. Podobných výsledků dosáhli také Corzo et al. (2009), kdy při 8 % zastoupení DDGS v krmné směsi dospěli ke světlejší barvě prsní svaloviny oproti kontrolní skupině, která byla krmena směsí bez obsahu DDGS. Tyto výsledky byly bez statisticky průkazného rozdílů. Na další charakteristiky barvy masa (a*, b*) nemělo zkrmování DDGS vliv.

ZÁVĚR

Zkrmování kukuřičných výpalků (DDGS) v obsahu 6 a 12 % v krmné směsi statisticky prokazatelně ovlivnilo konečnou váhu kohoutků ve věku 35 dní. DDGS v krmné směsi nemělo statisticky průkazný vliv na hmotnost JUT, obsah a podíl abdominálního tuku. Světlost masa (L*) byla prokazatelně nižší u skupin kohoutků krmených směsí s obsahem DDGS (6, 12 a 18 %).

LITERATURA

Belyea, R. L., Rausch, K. D., Tumbleson, M. E. (2004): Composition of corn and distillers dried grains with solubles from dry grind ethanol procesing. *Bioresources Technology*. no. 94. p. 293-298.

Corso, A., Schilling, M. W., Loar, R. E., Jackson, V., Kin, S., Radhakrishnan, V. (2009): The effect of feeding distillers grains with solubles on broiler meat quality. *Poultry Science*. n. 88. p. 432-439.

Cromwell, G. L., Herkelman, K. L., Stahly, T. S. (1993): Physical, chemical and nutritional characteristic of distillers dried grains with solubles for chick and pigs. Journal Animal Science. no. 71. p. 679-686.

Dale, N., Batal, A. B. (2003): Nutritional value of distillers dried grains with solubles for poultry. In *19th Annual Carolina Nutrition Conference*. NC: Research Triangle Park. p. 1-6.

Liu, N., Ru, Y. J., Tang, D. F., Xu, T. S., Partridge, G. G. (2010): Effect of corn distiller dried grains with solubles and xylanase on growth performance and digestibility of diet components in broilers. *Animal Feed Science and Technology*. no. 163. p. 260-266.

Loar, R. E., Srinivasan, R., Kidd, M. T., Dozier, W. A., Corzo, A. (2009) Effects of elutriation and sierving processing (Elusieve) of distillers dried grains with solubles on the performance and carcass characteristics of male broilers. *Journal Appl. Poultry Research*. no. 18. p. 494-500.

Lumpkins, B. S., Batal, A. B., Dale, N. M. (2004): Evaluation of dried distilles grains with solubles as a feed ingredient for broilers. *Poultry Science*. no. 83. p. 1891-1896.

Shim, M. Y., Pesti, G. M., Bakalli, R. I., Tillman, P. B., Payne, R. L. (2011): Evaluatin of corn distillers dried grains with solubles as an alternative ingredient for broilers. Poulty Science. no. 90. p. 369-376.

Schilling, M. W., Battula, V., Loar, R. E., Jackson, V., Kin, S., Corzo, A. (2010): Dietary inclusion level effect of distillers dried grains with solubles on broiler meat quality. *Poultry Science*. no. 89. p. 752-760.

Spiehs, M. J., Whitney, M. H., Shurson, G. C. (2002): Nutrient database for distillers dried grains with solubles produced from new ethanol plants in Minnesota and South Dakota. *Journal of Animal Science.* no. 80. p. 2639-2645.

Świątkiewicz, S., Koreleski, J. (2008): The use of distillers dried grains with solubles (cDDGS) in poultry nutrition. *World's Poultry Science*. no. 64. p. 257-266.

Wang, Z., Cerrate, S., Coto, C., Yan, F., Waldroup, P. W. (2007): Use of constant or increasing levels of distillers dried grains with solubles (cDDGS) in broiler diets. *International Journal Poultry Science.* no. 6. p. 501-507.

EFFECT OF CARCASS WEIGHT ON ITS CONFORMATION AND FATNESS IN BULLS OF THE CZECH FLECKVIEH BREED

Studený S., Falta D., Večeřa M., Zejdová P., Polák O., Černý T., Chládek G.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: standastudeny@volny.cz

ABSTRACT

The aim of this study was estimate the effect of carcass weight (CW) on its a conformation and fatness in a set of 408 bulls of Czech Fleckvieh breed. The average values of parameters under study were as follows: warm and cold CW 452 kg and 444 kg, respectively; live weight and age at slaughter 805 kg and 675 days, respectively; daily weight gain 1.133 kg; conformation 3.24 (S = 1 and P = 6); fatness 2.54; price per kg of CW 81.2 CZK and live animal market price 36,782 CZK. It was found out that the compactness increased highly significantly (from 3.47 to 3.05 points) with the increasing CW (from 380 to 518 kg) while the fatness increased less markedly (max. difference 0.19 points). In spite of a highly significant increase in slaughter age (from 662 to 686 days) the increase in daily weight gains was also highly significant (from 0.961 to 1.286). The increase in CW resulted in a highly significantly increased price per 1 kg of CW (by 1.6 CZK) and also in live animal market price (by 11,885 CZK).

Key words: Czech Fleckvieh; beef; carcass; fatness; conformation; price

Acknowledgement: This research was supported by the grant project FA MENDELU, TP 8/2011 and by the research programme MSM6215648905 "Biological and technological aspects of sustainability of controlled ecosystems and their adaptability to climate" of the Ministry of Education, Youth and Sports of Czech Republic.

INTRODUCTION

Besides milk production, the meat performance of double purpose cattle breeds represents the second important reason of their rearing. As compared with specialised dairy breeds of cattle, higher revenues that farmers can receive because of a higher live body weight and better carcass quality, can partly compensate losses resulting from decreased sales of milk. The sum of money received for sold slaughter animals is influenced above all by their conformation and live body weight. Breeders of the Czech Fleckvieh are afraid that the increasing live body weight (and thus also CW) is associated with a decrease in conformation of slaughter animals so that the total revenues are markedly lower. This paper was written with the aim to assess the effect of CW on conformation and fatness of bulls of the Czech Fleckvieh cattle.

MATERIALS AND METHODS

Altogether 408 Czech Fleckvieh bulls slaughtered in the category A (young bull of the age up to 2 years) were classified into four groups basing on their warm CW, viz.: 350 to 400 kg, 401 to 450 kg, 451 to 500 kg and 501 to 550 kg. The following parameters associated with the meat performance were compared in the aforementioned groups:

- Warm CW

- Cold CW

- Live body weight (warm CW x coefficient 1.78)

- Slaughter age (in days)

- Daily live body weight gain (for the whole life period; the expected body weight of newborn calves was 40 kg)

- Conformation (SEUROP, S = 1 and P = 6)

- Fatness (Class 1 to 5)

- Price per kg of CW

- Live animal market price

Differences in the aforementioned parameters existing among individual groups were analysed using single factor method of variance analysis (UNISTAT version 5.1.) with subsequent Tukey's test. Significance of differences between individual mean values was expressed by means of letters and values differing in the same row either highly significantly ($P<0.01$) or significantly ($P<0.05$) were marked with exponents A, B or a, b, respectively.

RESULTS AND DISCUSSION

Mean values of essential beef performance parameters of bulls under study (n = 408 are presented in Tab. 1. As one can see, the highest number of them (161 bull) were classified into the weight category of 451 to 500 kg. A lower number (146 bulls) were in the category 401 to 450 kg and considerably less (55 and 46 bulls) were classified into in categories of 501 to 550 kg and 350 to 400 kg, respectively. As far as the differences in warm and cold CW and in live body weight were concerned, the differences among all groups were logically highly significant. Highly significant differences were found out also among groups with different slaughter age although the difference between groups with the highest and the lowest CW was only 24 days. However, the difference in live body weight was as much as 246 kg. These two factors also caused that highly significant differences existed in live body weight gains among groups under study: the lowest and the highest gains was recorded in groups with the lowest and the highest CW, respectively. values of body conformation score improved highly significantly with the increasing CW, viz. from 3.47 (practically in the middle between U and R) to 3.05 (practically net U). Although differences in fatness were also highly significant, no clear-cut tendency was observed. The highest and the lowest fatness scores (2.64 and 2.45, respectively) were recorded groups with CW of 451 to 500 kg and 401 to 405 kg. A better conformity of bulls with higher values of CW was reflected also in a significantly higher price per 1 kg of CW (although only by 1,6 CZK/kg); in combination with higher CW, the final price of such animals was highly significantly higher than that of other bulls (by 11,885 CZK

Tendencies to fatten bulls of Czech Fleckvieh (or Montbeliarde) breed to higher slaughter weight were described for example by Chládek et al. (2004) who mentioned CWs of 378.3 and 378.1 kg, respectively. In another study (Chládek et al., 2005) these authors referred about CWs of 380 kg and 382.6 kg, respectively. Although these weights were higher than those mentioned by Bartoň et al., (2003) – 313.7 kg or Bartoň et al. (2007) – 345.1 kg, they were always much lower than weights of bulls investigated in this study (up to 550 kg). Regarding significant but minimum differences in age of animals under study, this observation reflected high daily weight gains especially in groups with a high CW. In absolute numbers, these gains were comparable with results published by Velik et al. (2008); these authors, however, mentioned a slightly lower slaughter weight. High gain weight observed in this study indicate an excellent growth capacity of Czech Fleckvieh bulls even to high slaughter weights. The fact that a high CW of experimental bulls did not worsen but, on the contrary, improved their conformation is convincingly documented by our results. The final results of the evaluation of conformation and fatness correspond with data published by Bartoň et al. (2003 and 2007). This is obvious in spite of the fact that milk performance of the Czech Fleckvieh population, which is referred to be negatively correlated with body conformation (Strapáka et. al., 1998), has recently increased.

Table 1. Average values of essential meat performance parameters of bulls under

Parameter	Unit	Carcass weight (CW) in kg 1)				Total
		350 - 400	401 - 450	451 - 500	501 - 550	
Number of cases	n	46	146	161	55	408
Carcass weight [1] (CW)	kg	380 [A]	428 [B]	474 [C]	518 [D]	452
Carcass weight [2] (CW)	kg	373 [A]	420 [B]	464 [C]	508 [D]	444
Live weight [3]	kg	676 [A]	762 [B]	844 [C]	922 [D]	805
Slaughter age	Days	662 [A]	672 [AB]	678 [BC]	686 [C]	675
Daily weight gain	kg	0.961 [A]	1.074 [B]	1.185 [C]	1.286 [D]	1.133
Conformation	SEUROP category[4]	3.47 [A]	3.28 [B]	3.19 [BC]	3.05[C]	3.24
Fatness	Subclass [5]	2.46[AB]	2.45[A]	2.64 [B]	2.53 [AB]	2.54
Price per kg of hot CW [6]	CZK	80.3[A]	81 [B]	81.3 [BC]	81.9 [C]	81.2
Live animal market price[7]	CZK	30.527 [A]	34.701 [B]	38.493 [C]	42.412 [D]	36,782

Values in the same row with different exponents (A, B or a, b) are highly significantly (P<0.01), or significantly different (P<0.05)
[1]Warm carass weight; [2]Cold carass weight; [3]Coefficient 1.78; [4]S = 1 and P = 6; [5]1 = lean and 5 = fat; [6]R 3 = 77.76 CZK/kg; [7]Without reduction

CONCLUSION

Basing on obtained results it is possible to conclude that fattened bulls of the Czech Fleckvieh breed showed a better conformation and lower fattens even at higher slaughter weights. This fact resulted in better prices per 1 kg of CW and, consequently, in considerably higher revenues.

REFERENCES

Bartoň L., Teslík V., Zahrádková R., Bureš D.(2003): Growth, feed efficiency and carcass characteristics of Czech Pied and Holstein bulls. Czech J. Anim. Sci., 48(11): 459-465.

Bartoň L., Kudrna V., Bureš D., Zahrádková R., Teslík V.(2007): Performance and carcass quality of Czech Fleckvieh, Charolais and Carolais x Czech Fleckvieh bulls fed diets based on different types of silages. Czech J. Anim. Sci., 52(9):269-276.

Chládek G., Žižlavský J.(2004): Comparison of meat performance of Montbeliarde and Czech Pied bulls fattened to live weight of 680 kg. Acta univ. agric et silvic. Mendel. Brun, 52(5):107-114.

Chládek G., Žižlavský J., Šubrt J.(2005): A comparison of carcass proportions in Czech Pied and Montbeliarde bulls with a high carcass weight. Czech J. Anim. Sci., 50(3):109-115.

Strapák P., Aumann J.(1998): Relations between the body conformation and commercial traits of cattle. Czech J. Anim. Sci., 43(7):293-298.

Velik M., Steinwidder A., Frick J. J., Ibi G., Kolbe-Romer A.(2008): Effect of ration, sex and breed on carcass performance and meat quality of cattle from suckler cows systems. Zuchtungskunde, 80(5):378-388.

THE USE OF CLAY MINERALS IN POULTRY

Škarková M., Havlíček Z.

Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, Faculty of Agronomy, Mendel Univerzity in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: skarkova.m@seznam.cz

ABSTRACT

The aim of our experiment was to examine the impact absorption capacity of clay minerals applied to bedding to reduce the production of NH_3. The objective of this study was to evaluate the effects of bentonite containing 50% montmorilonite. The treatments in experiment, which were mixed in the upper of litter, were 4 and 5.5 kg/6m^2 of litter.Experiment was divided into nine experimental groups, which were placed in 900 chicken meat hybrid ROSS 308. Each group had the same microclimatic conditions, including the used litter (wood shavings). The fattening of all experimental groups were used in the complete feed mixture BR 1 and BR 2, and were fed ad libitum. The experimental period started fromthe first day of fattening and was terminated thirty-sixth day. In the stable was monitored not only ammonia but also other environmental parameters. There were also monitored temperature (° C) and relative humidity (%). For measurements there was used several data loggers which monitor desired parameters at one-minute intervals from placement in a stable. The measuring technique was positioned to record the microclimate objectively not only in the life zone of chickens, but also the average value in the whole area of stables. Ammonia concentration values were significantly lower from 3rd week following application. Ammonia concentration had values: 1st week 33.29, 2nd week 30.78, 3rd week 17.16 and 4th week 22.72.

Key words: poultry, chicken, clay minerals, ammonia, ammonia elimination

Acknowledgement: This publication was created from the results of the project IGA in 2011 under the title "The impact of feed additives on the metabolism of farm animals, the use of absorptive properties of clay substrates in crop and animal production" and the results of the research project MSM 6215648905 "Biological and technological aspects of sustainability of controlled ecosystems and their adaptation to climate change "from the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

ÚVOD

Drůbeží hnůj je výborným dusíkatým hnojivem. V drůbežím trusu je 70 % dusíkatých látek ve formě kyseliny močové, přibližně dalších 27 % je pak ve formě močoviny. V podestýlce je poté močovina a kyselina močová poměrně rychle hydrolyzována prostřednictvím enzymu ureáza, obsaženém ve výkalech, na amoniak NH^+_4 a bikarbonátové ionty (McCrory et al., 2011). Amoniak následně přechází do stájového prostředí, kde v plynné formě ovlivňuje přítomná zvířata a následně přechází do atmosférického vzduchu, kde reaguje s oxidy dusíku a oxidy síry za vzniku dusičnanu a síranu amonného, formovaných do partikulí o velikosti pod 2,5 µm. Úplná přeměna močoviny na NH_4^+ je potenciálně možná již během několika hodin, v závislosti na podmínkách prostředí (McCrory et al., 2011). Mineralizace fekálního proteinu je pak výsledkem působení proteolytických a deaminačních bakterií, které nejprve hydrolyzují proteiny na peptidy a aminokyseliny s konečnou deaminací na NH_4^+. Tento rozkladný proces je poměrně pomalý, při značné závislosti na teplotě (McCrory et al., 2011). Z tohoto důvodu má pak větší význam při skladování hnoje, než při vlastním výkrmovém cyklu. Značná část emitovaného amoniaku, odhadována v množství 30 %, je ukládána v sousedství do 5 km od vlastního zdroje, s toxickým efektem na ekosystémy. Kromě hospodářské ztráty je pak uvedená depozice velkým zdrojem znečištění, což způsobuje obohacování N, okyselování půd a povrchových vod, a znečištění podzemních a povrchových vod nitráty.

Emitovaný amoniak má negativní efekt na zdravotní stav a užitkové vlastnosti brojlerů. Proto je nutno zvolit vhodný management péče o podestýlku vedoucí k redukci uvolňujícího se amoniaku. Ten spočívá ve sledování a možnosti ovlivnění teploty, vlhkosti a ventilačního poměru stájového vzduchu, typem, množstvím, teplotou, vlhkostí a parametru pH podestýlky (Carr et al., 1990). V dalším kroku pak o koncentraci amoniaku rozhoduje intenzita ventilace. Bez dostatečného větrání se v závislosti na zdroji může koncentrace amoniaku ve stájovém vzduchu vyšplhat až na 40-70 ppm. Při těchto koncentracích už nejde jen o pachové obtěžování, neboť je silně ovlivňován dýchací aparát kuřat. Z důvodů minimalizace negativních dopadů a ztrát způsobených amoniakem byla stanovena maximální povolená koncentrace amoniaku 25 ppm, přičemž kvalitní vzduch by měl vykazovat maximální koncentraci do 10 – 12 ppm. Některé práce řešící tuto problematiku ale již při těchto dlouhodobě působících koncentracích popisují narušení odolnosti zvířat s predispozicí pro vznik respiratorních onemocnění. V souvislosti s ventilací lze očekávat největší problémy v chladném období, kdy se využívá minimální ventilace, s minimalizací nákladů spojených s ohřevem vzduchu.

Jedním z důležitých úkolů při skladování hnoje je stabilizace a omezení ztrát živin. Z tohoto důvodu lze ošetřit hlubokou podestýlku, využívanou při samotném výkrmovém cyklu tak, že se přidávají a testují různé formy přídatných látek, mezi které patří i různé druhy jílových minerálů. O jejich využití rozhodují vlastnosti, jako je jejich struktura a chemické složení, druh vyměnitelných iontů, přičemž velikost částic a struktura rozhodují o vhodnosti pro jejich různá použití (Slámová, 2011). Jílové minerály patří bezesporu k nejstarším, ale také nejrozšířenějším a velice účinným sorbentům v přírodních i technologických procesech. Je třeba zdůraznit, že nejsou selektivními sorbenty aniontů díky nízkým hodnotám pH nulového náboje na povrchu pevné faze. Jednoduchou povrchovou modifikací jílových minerálů, nebo obecně aluminosilikátů, dojde ke změně povrchového náboje a tím i adsorpční affinity materialu vůči aniontům. Hlavním důvodem obrovského rozvoje těchto technologií v posledních letech jsou příznivé vlastnosti výchozích surovin, strukturní a chemická stabilita aluminosilikátů a šetrnost k životnímu prostředí (Doušová et al., 2010).

Nejvíce průmyslově využívanými jílovými minerály jsou kaolinit, montmorillonit, illit a halloysit. Široké využití jílových surovin s jejich unikátními vlastnostmi je umožněno jejich hojným výskytem, snadnou dostupností a tím i relativně nízkou cenou. Jílové minerály se také vzhledem k absorpčním / adsorpčním vlastnostem využívají ve výživě zvířat, které významně přispívají k jejich zdraví. Vážou na sebe škodlivé látky a vylučují je z těla zvířat (Slámová et al., 2011). U volně žijících zvířat hrají důležitou roli při detoxikaci anti-nutričními látkami v potravinách a pro zmírnění gastrointestinálních onemocnění (Williams et al., 2004). U hospodářských zvířat, jsou jílové minerály primárně používány jako pojiva při výrobě granulovaných krmiv a jako adsorbenty pro mykotoxiny a těžkých kovů. Své uplatnění pak také nacházejí při využití pro ošetření podestýlky zvířat.

MATERIÁL A METODIKA

Experimentální měření bylo provedeno v testační stáji ÚKZUZ Lípa u Havlíčkova Brodu na kohoutcích masného hybrida ROSS 308 z líhně Best Opava. Ustájení odpovídalo běžným požadavkům velkovýrobní technologie na hluboké podestýlce z dřevěných hoblin a řízenými podmínkami prostředí, uvedených ve vyhlášce č. 208/2004 Sb.

V experimentu byl sledován vliv aplikace bentonitu, obsahujícího 50,1 % montmorillonitu, 13,2 % kaolinitu, 12,5 % sideritu, 10,4 % sadinitu, 6,1 % muskovitu, 5,8 % anatasu a 1,9 % quartzu, na emisi amoniaku ve stájovém prostředí. Použitý bentonit byl v jednotlivých kotcích o ploše 6 m^2, rovnoměrně aplikován jedenáctý den výkrmu v dávce 1 a 1,5 kg, přičemž byla aplikace opakována 17. den výkrmu vždy v dvojnásobném množství, tedy v dávce 2 a 3 kg. Vše bylo provedeno ve dvou opakováních oproti kontrolní skupině.

Po celou dobu výkrmu byla registračním způsobem v minutových měřících intervalech hodnocena koncentrace amoniaku v životní zóně kuřat, společně s faktory teplotně-vlhkostního komplexu. V intervalech sedmi dní byly provedeny hodnocení emise amoniaku opakovaně na třech měřících místech v každé sekci. Měření proběhlo pod měřícím zvonem o objemu 8 litrů, s pomocí data loggerů, měřících na principu elektrochemických čidel, ukládajících hodnoty v minutových intervalech.

K výkrmu byla použita jednotná kompletní krmná směs BR 1 do 9. dne stáří kuřat. Po zvážení jednotlivých kusů došlo 9. den věku k rozdělení do skupin tak, aby v průměrné živé hmotnosti nebyl mezi skupinami průkazný rozdíl. Od 9. dne stáří kuřat byla každá pokusná skupina krmena kompletní krmnou směsí BR 2 dle schématu. Kompletní krmné směsi byly zkrmovány formou *ad libitum* ve formě granulí z tubusových krmítek a čerstvá napájecí voda byla neustále k dispozici. Pokusné krmné směsi byly vyrobeny ve Výrobně krmiv MTD Ústrašice v Lysé nad Labem.

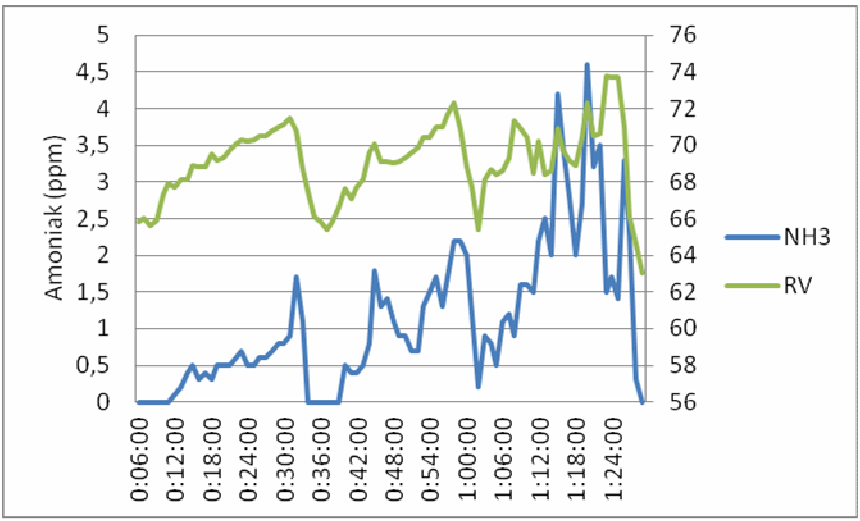
Cílem pokusu bylo ověřit vhodnost přírodního jílu s obsahem 50% montmorillonitu na vhodnost pro ošetření podestýlky, přičemž bylo hlavním cílem dodržet požadavky kladené na podestýlku uvedené ve vyhlášce 208/2004 Sb., kdy byl využit preparát o zrnitosti 2-4 mm. Vizuálně byla hodnocena kvalita podestýlky, kvantitativně pak hodnoty teplotně-vlhkostního komplexu. Hodnocení vlivu použitého bentonitu v podestýlce vycházelo z hodnocení koncentrace amoniaku v životní zóně zvířat. Emisní aktivita podestýlky vyjadřující rychlost volatilizace pak byla hodnocena ve vztahu k jednotce plochy podestýlky.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Hodnocení účinnosti bentonitu obsahujícího 50,1 % montmorillonitu proběhlo v poloprovozních podmínkách. Z důvodu obavy narušení kvality podestýlky, kde hrozí při vyšších dávkách rozblácení a kluzkost, bylo přistoupeno k aplikaci hodnoceného preparátu ve dvou dávkách ve dvou týdenních odstupech. Celý výkrmový cyklus probíhal v prostředí, které z hlediska teplotně-vlhkostních parametrů odpovídalo požadavkům uvedených v technologickém návodu pro hybridní kombinaci ROSS 308. Registračně byla hodnocena i koncentrace amoniaku v zóně zvířat. Všeobecně je možno konstatovat, že vlastní výkrm probíhal z hlediska zastoupení amoniaku ve vynikajících podmínkách, jelikož dlouhodobě nedošlo k překročení hranice amoniaku nad 6 ppm. To lze na rozdíl od běžných výkrmen vysvětlit vysokou kubaturou stáje, vzhledem k ploše, neboť sledované kotce zaujímají z celé plochy haly přibližně 30 %. Dochází zde tedy k značnému zřeďování vzduchu na jedné straně, na druhé je pak možno vidět malou emisní plochu, vzhledem k vlastní kubatuře stáje. Naměřené hodnoty dvou větracích cyklů (vždy od začátku ventilace do konce ventilace) jsou předmětem grafu č. 1. Vzhledem k přehlednosti grafu byly zvoleny pouze parametry koncentrace amoniaku a relativní vlhkosti vzduchu, mezi nimiž byla nalezena pozitivní korelace na úrovni 0,59. Ovládání ventilátorů je zde řízeno podle požadavků zvířat na teplotu a skutečně dosažených teplot. Pokud bychom pro hodnocení emise amoniaku, resp. pro měření účinnosti přídavků jílových minerálů využili těchto měření, zatížili bychom celý pokus značnou chybou způsobenou intenzitou ventilace.

Vlastní hodnocení emise amoniaku z podestýlky probíhalo z těchto důvodů nad podestýlkou, přičemž bylo k měření využito zvonu, který z měření vyloučil chyby způsobené ventilací. Každé měření probíhalo v patnáctiminutových krocích, kdy 10 minut probíhalo vlastní měření, vždy s opakováním. Doba mezi vlastním měřením byla potřebná pro ustálení měřícího zařízení. Výsledky uvedené v grafu č. 2 a tabulce č. 1 tedy nevyjadřují hodnoty v zóně zvířat, ale emisní tok z podestýlky do ovzduší. Z výsledků je patrný rychlý nástup sorpční schopnosti při vyšší dávce aplikovaného jílu. Vzhledem k nenaplnění obav z narušení kvality podestýlky je možno přistoupit k vyšším dávkám na jednotku plochy hned při nastýlání. Z výsledků je patrný účinek, který snížil emisi amoniaku v některých případech více než o 50 %. Variabilita získaných výsledků ale může být způsobena fyzikálně chemickými poměry v dané podestýlce. Podobnou problematikou se zabývali Pain et al., (1987), kteří účinek mechanismu jílových minerálů přičítali pouze adsorpční kapacitě. Dewes (1987) a Buchgraber (1983) uvádí, že jílové minerály nepřispívají pouze k omezení emise amoniaku, ale podílejí se na celkovém snížení pachové zátěže. McCrory et al., (2011) toto zjištění potvrdili a přidali, že o využitelnosti bentonitů v chovu zvířat nebude rozhodovat pouze hodnota snížení emise amoniaku, ale především celková schopnost snížení celkové pachové zátěže.

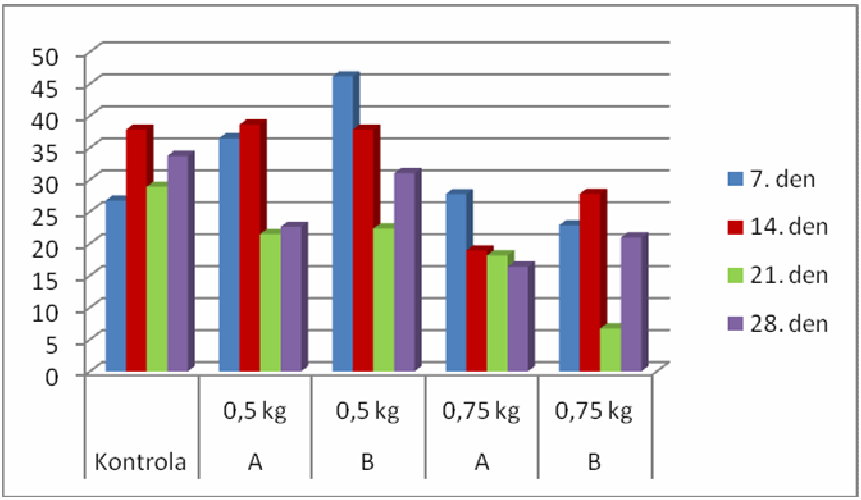
Graf č. 1 Hodnocení koncentrace amoniaku v závislosti na větracím cyklu (ppm)



Tab. č. 1 Hodnocení emise amoniaku v podestýlce dle ošetření bentonitem (ppm)

Dny po ošetření	Kontrola		Ošetření							
			dávka 1 a 2 kg bentonitu				dávka 1,5 a 3 kg bentonitu			
			A		B		A		B	
	X	SD	X	SD	X	SD	X	SD	X	SD
7.	26,68	12,95	36,45	8,56	46,15	16,953	27,73	3,697	22,85	3,774
14.	37,84	2,49	38,6	9,37	37,84	2,488	18,9	5,304	27,78	10,798
21.	28,87	14,61	21,46	6,579	22,34	10,353	18,13	1,707	6,72	3,298
28.	33,72	15,77	22,62	7,682	31	14	16,37	1,953	20,92	9,139

Graf č. 2 Hodnocení emise amoniaku v závislosti na ošetření podestýlky



Tab. č. 2 Hodnocení emise amoniaku v závislosti na použitém preparátu při různých dávkách

Dny po aplikaci	Snížení emise amoniaku oproti kontrole			
	Zásah A – 0,5 kg.m^{-1}		Zásah B – 0,75 kg.m^{-1}	
	A	B	A	B
7.	0%	0%	0%	14%
14.	0%	0%	50%	26%
21.	25%	22%	37%	76%
28.	32%	8%	51%	37%

ZÁVĚR

Výsledky potvrdily, že jílové minerály aplikované na podestýlku hoblin jsou vhodné ke zlepšení chemických parametrů stájového prostředí.

Nebyly naplněny obavy chovatelů, že dojde k narušení kvality podestýlky. Výsledky poloprovozních pokusů ukázaly, že je možno přistoupit k vyšším dávkám na jednotku plochy podestýlky hned při nastýlání než dávka 0,75 kg.m^{-1}.

Bylo potvrzeno, že bentonit s obsahem 50,1 % montmorillonitu se významně podílel na snížení emise amoniaku z podestýlky od 14 do 76 %.

LITERATURA

Anonym 1 : Úvod do mineralogie [online], [citace 7. října 2011]. Dostupné na internetu <http://www.museum.mineral.cz/mineraly/ucebnice/system_min/s_4959.php>

Doušová B. et al.: Příprava anioaktivních (nano)sorbentů z jílových minerálů, Informátor 5/2010, Česká společnost pro výzkum a využití jílů [online], [citace 7. října 2011]. Dostupné na internetu <http://www.czechclaygroup.cz/informatory/informator43.pdf>

Lacey. R.E. et al.: A Review of Literature Concerning Odors, Ammonia, and Dust from Broiler Production Facilities: 1.Odor Concentrations and Emissions, Department of Biological and Agricultural Engineering Texas A&M University, College Station, Texas 77843-2117; and †Department of Poultry Science, Texas A&M University, College Station, Texas 77843-2472 [online], [citace 21. února 2011]. Dostupné na internetu <http://japr.fass.org/cgi/reprint/13/3/500.pdf>

McCrory, D.F., Hobbs, P.J.: Additives to Reduce Ammonia and Odor Emissions from Livestock Wastes [online], [citace 13. března 2011]. Dostupné na internetu <https://www.soils.org/publications/jeq/articles/30/2/345>

O'Neill, D. H., and V. R. Phillips. 1992. A review of the control of odor nuisance from livestock buildings: Part 3. Properties of the odorous substances which have been identified in livestock wastes or in the air around them. J. Agric. Eng. Res. 53:23–50.

Ritz, C.W. et al.: Implications of Ammonia Production and Emissions from Commercial Poultry Facilities: A Review, Department of Poultry Science, The University of Georgia, Athens, Georgia 30602, [online], [citace 21. února 2011]. Dostupné na internetu <http://japr.fass.org/cgi/reprint/13/4/684.pdf>

Slámová R. et al.: Clay minerals in animal nutrition, Veterinary Research Institute [online], [citace 20. února 2011]. Dostupné na internetu <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016913171100010X>

Williams et al., 2004 L.B. Williams, M. Holland, D.D. Eberl, T. Brunet and L. Brunet de Courssou, Killer Clays! Natural antibacterial clay minerals. Mineralog. Soc. Bull., 139 (2004), pp. 3–8.

PREFERENCE OF CUBICLE-ROW IN STABLE BY DAIRY COWS AFTER RETURNING FROM MORNING MILKING

Večeřa M., Falta D., Zejdová P., Polák O., Studený S., Chládek G.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: VeceraM@email.cz

ABSTRACT

The aim of our study was to detect preferences of cubicle-row in stable by dairy cows after returning from milking parlour in the morning. Dairy cows were keept in the same conditions in loose housing cowshed with cubicles without bedding. The objective of monitoring was one quarter of stable (98 cows), where is 103 cubicles in three rows. Cows were divided into four groups according to time of returning from parlour. Observation was carried out in summer in months (June, July, August 2011) once a week. Start of observatin was at 10:00 am and finished at 12:00 am.

Cows returning from parlour among first of all (1st and 2nd group) mostly prefered first and second cubicle-row. Cows from 3rd group occupied rows of cubicles equally. Cows from 4th group had small possibility of choice therefore their preference was in comparison to the other groups smaller so they preferred other activities.

Key words: row, cubicle, cows, milking

Acknowledgement: This research was supported by grant project FA MENDELU, TP 8/2011 and 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

I když zvířata prošla v průběhu domestikace řadou velmi významných až zásadních změn (užitkovost, exteriér) jejich nároky na prostředí zůstaly víceméně nezměněny po celou historii jejich fylogeneze. Systém faktorů vnějšího prostředí, které působí na chovaná zvířata je nesmírně komplikovaný a pro člověka prakticky nedefinovatelný. Čím více totiž chovatel vyloučil domestikovaná zvířata z jejich přirozených životních podmínek, tím větší zodpovědnost musí přijmout za to, že jím vytvořené podmínky jsou adekvátní jejich potřebám (Chládek, 2004).

Pro úspěšný chov skotu by se měl chovatel zaměřit nejen na správnou výživu, zoohygienu a ustájení dojnic, ale také se snažit pochopit chování zvířat a umožnit tak jejich přirozené chování**,** pohodu a s tím související úspěšnost chovu. Porozumět chování zvířat v uzavřeném prostoru, znamená předejít případným nedostatků v projekci nových stájí.

Čas, který dojnice stráví ležením, lze použít k hodnocení kvality stáje a pohodlný prostor k ležení je jedním z nejdůležitějších designových kritérií pro ustájení dojených krav (Ito et al., 2009). Pohodlné ležení je zásadní součástí dne každé produktivní dojnice (Thorne, 2008), proto bychom se jako chovatelé měli zajímat preferencí boxu a boxové řady dojnicemi a případné nepřesnosti v projekci později napravili.

MATERIÁL A METODIKA

Pozorování proběhlo ve stáji chovatele GenAgro Říčany, a.s. (49°12´30.370´´N, 16°23´43.092´´E), kde jsou ustájeny dojnice českého strakatého plemene skotu ve volné boxové stáji. Stáj je rozdělena na čtyři sekce, přičemž předmětem sledování byla jedna sekce se 103 boxy seřazenými ve třech řadách (98 dojnic). Pozorování se uskutečnilo v letních měsících roku 2011 (červen, červenec a srpen), vždy jednou týdně a to ve středu. Sledování začínalo v celou hodinu po příchodu první krávy z dojírny (v 10:00 hod) a následně probíhalo každou hodinu až do 12:00 hodin (tj. 3 záznamy denně).

Dojnice byly rozděleny do čtyř skupin podle toho, jak nastupovaly na dojení v rybinové dojírně (2x14 míst s hromadným odchodem) a následně se navracely zpět do sekce. 1. skupina (28 krav), které odcházely z dojírny jako první. Následně 2. skupina (28 krav), 3. skupina (28 krav) a 4. skupina (14 krav), která opouštěla dojírnu jako poslední. Detekce nástupu na dojení byla prováděna pomocí programu Fastos2000, který je součástí dojírny. Byla sledována preference 1. řady (32 boxů), 2. řady (33 boxů), 3. řady (38 boxů) popřípadě další životní projevy (žraní, pití, stání v uličce, apod.).

Záznam byl prováděn při přímém sledování dojnic do přesného schématu stáje a následně zpracován a statisticky vyhodnocen Chí-kvadrát testem v programu UNISTAT verze 5.1

VÝSLEDKY A DISKUZE

Při sledování preference boxové řady u dojnic vracejících se z dojírny v rozdílném čase po ranním dojení, jsme zjistili následující:

Dojnice, které opouštěly prostor dojírny jako první (1. skupina = 28 krav), se navracely do prázdné sekce, a tudíž měly možnost neomezeného výběru. V průměru za všechna sledování preferovalo 7,3 dojnic 1. řadu boxů, což odpovídá 27,5 % z celkového počtu 1. skupiny. Druhou řadu si vybralo v průměru 8,4 kusů, což odpovídá 31,9 %. Třetí řadu v průměru obsadilo 4,9 zvířat, což bylo 18,67 %. Ostatním činnostem, jako jsou žraní, pohyb, stání v chodbě apod. se věnovalo 5,8 krav, což bylo v procentickém vyjádření 21,84 % z celé skupiny krav (28 kusů).

Krávy vracející se z dojírny jako skupina druhá (28 krav), přicházely do již částečně zaplněné sekce. Jejich preference boxové řady byla následující. První řadu si vybralo 9,2 krav, tedy 32,8 % z celkového počtu skupiny. Druhou řadu preferovalo 7,8 dojnic, což bylo 27,8 %. Třetí řadu obsadilo 5,6 zvířat, co odpovídalo 20,0 % z celé skupiny. Ostatní činnosti vykonávalo 5,4 krav (19,4 %).

Dojnice přicházející z místa dojírny jako v pořadí třetí skupina (28 krav) se vracely do sekce obsazené již 1. a 2. skupinou (56 kusů). Měly tedy již částečně omezenou možnost výběru. První řadu si vybralo v průměru za všechna sledování 7,3 krav, což odpovídalo 26,1 % z celé skupiny. Obsazenost druhé řady činila v průměru 6,4 kusů, tedy 23,1 %. Třetí řadu preferovalo 6,3 dojnic, v procentickém vyjádření 22,8 %. Zvířat vykonávajících ostatní činnost bylo 7,8 kusů (27,9 %).

Poslední skupina krav opouštějící dojírnu (14 dojnic) se navracely do již zaplněné sekce. Jejich možnost výběru boxové řady již byla snížena. První řadu v průměru preferovalo 2,5 krav, tedy 15,9 % z celé skupiny (14 dojnic). Druhou řadu si vybralo 2,8 zvířat, což odpovídalo 18,1 %. Třetí řadu obsadilo v průměru 3,3 dojnic, což je 20,7 %. Ostatním činnostem se věnovalo v průměru 7,1 krav, tedy 45,2 % z celkového počtu dojnic ve skupině (14 kusů).

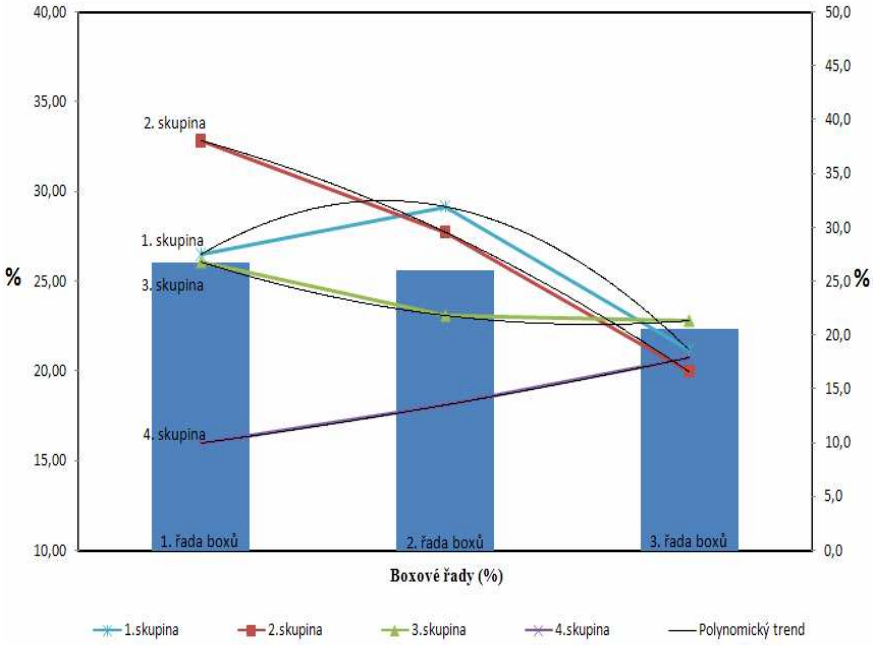
Z **tabulky 1** je patrné, že dojnice vracející se z dojírny mezi prvními (1. a 2. skupina), preferovaly z větší míry první a druhou boxovou řadu. Dojnice třetí skupiny obsazovaly řady boxu rovnoměrně. Krávy čtvrté skupiny již měly menší možnost výběru, a tudíž jejich preference boxové řady byla v porovnání s ostatními skupinami menší a dojnice se věnovaly převážně ostatní činnosti.

Rozdíly ve výběru boxové řady dojnicemi po příchodu z dojírny v odlišných skupinách byl statisticky neprůkazný. Ovšem z **grafu 1** jsou vidět patrné trendy preference řad jednotlivými skupinami krav po návratu do sekce.

Tento výsledek je v souladu se závěrem Doležal (2003), který zjistil vyšší preferenci obsazování první řady boxů, která se nachází nejblíže krmnému žlaby. Také Gaworski et al. (2003) uvádí, že dojnice preferovaly z větší části řadu boxů, nacházející se u krmného stolu, než řady vzdálenější. Natzke et al. (1982) dále tvrdí, že prostřední řady boxů jsou preferovanější, než řady umístěné na okrajích.

Tabulka 1 Vliv pořadí příchodu dojnic po dojení na jejich chování ve stáji

	Preference boxové řady po dojení v 10:00								Celková preference (%)
	1.skupina		2.skupina		3.skupina		4.skupina		
	prům. ks	%	prům. ks	%	prům. ks	%	prům. ks	%	
1.řada	7,3	27,53	9,2	32,84	7,3	26,12	2,5	15,96	27,2
2.řada	8,4	31,96	7,8	27,76	6,4	23,12	2,8	18,09	25,9
3.řada	4,9	18,67	5,6	20,00	6,3	22,83	3,3	20,74	20,5
ostatní	5,8	21,84	5,4	19,40	7,8	27,93	7,1	45,21	26,5
celkem	26,3	100	27,9	100	27,8	100	15,7	100	100



Graf 1 Preference boxové řady dojnicemi v jednotlivých skupinách po příchodu z dojírny

ZÁVĚR

Bylo potvrzeno, že dojnice, které přicházely z dojírny dříve, obsazovaly první a druhou řadu boxů. Dojnice vracející se z dojírny později neměly možnost výběru jako dříve příchozí a tudíž obsazovaly spíše boxové řady v menší míře a raději se věnovaly dalším životním projevům.

LITERATURA

Chládek, G. (2004): Složení mléka jako levný a účinný prostředek pro hodnocení chovného prostředí dojnic. Aktuální problémy řízení v chovu skotu. s. 56-61.

Doležal, O. (2003): Vyhodnocení čtyřřadové dispozice boxových loží metodou preferenční testace.

[on-line], Dostupné z: www.mze-vyzkum-infobanka.cz/DownloadFile/41757.aspx. (cit. 7.10.2011)

Gaworski, M.A., Tucker, C.B. and Weary, D.M. (2003): Effects of two free-stall designs on dairy cattle behavior. Proceedings of the Fifth International Dairy Housing Conference, American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, pp. 139-146.

Ito, K., et. al. (2009): Lying behavior: Assessing within – and between – herd variatio in free-stall-housed dairy cows. Journal of dairy science, 92 (9): 4412-4420, ISSN 0022-0302

Natzke, R.P., Bray, D.R. and Everett, R.W. (1982): Cow Preference for Free Stall Surface Material. Journal of Dairy Science 65, 146-153. 12 NE.

Thorne, M., (2008): Busy cows need komfort when they také a rest. Farmes weekly (10/2008). ISSN 0014-8474

EFFECT OF AIR FLOW RATE ON RESTING BEHAVIOUR OF DAIRY COWS

Zejdová P., Falta D., Večeřa M., Polák O., Studený S., 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 aim of our study was to determine effect of air flow rate on the resting behavior of dairy cows – in the concrete, if the percentage of lying animals in the herd will vary depending on the speed of airflow in the barn. The monitoring was performed at the University Farm in Žabčice (49°0'51.880"N, 16°36'15.009"E, the altitude 179 m) during one calendar year (April 2010 – May 2011). The observed object was a stable for cows which is concepted as loose housing with bedding cubicles. There was observed about 72 Holstein dairy cows. They were directly monitored once a week. It was accurately recorded position of each cow in the barn. Anemometer was used for measuring of air velocity. It was selected 20 days with the highest and lowest speed of airflow in average. Statistical evaluation of data was performed by using correlation coefficients and Chi-test. In days with low airflow speed was the value in average 0.10 m/s and the proportion of cows lying was 66.50%. In the days with maximal airflow speed was an average speed 0.65 m/s and the proportion of lying cows 69.10%. The difference in proportions of lying cows was not statistically significant ($p < 0.05$). Evaluation of data by using correlation coeficients did not show on direct relationship between airflow speed and the number of lying cows in the case of both (minimum resp. maximum) airflow speed ($r = 0.04$, resp.-0.02).

Key words: dairy cow, air flow rate, barn microclimate, resting behaviour

Acknowledgement: This study was supported by grant project FA MENDELU, TP 8/2011 and with support of 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

Prostředí se velkou měrou podílí na úspěšnosti a ekonomice prosperujícího chovu hospodářských zvířat. Je tedy v zájmu každého chovatele, aby zajistil svým zvířatům takové podmínky ustájení, které budou co nejvíce vyhovovat požadavkům na jejich welfare. Welfare neboli „pohoda zvířat" se poměrně problematicky posuzuje, neboť "spokojenost" zvířat nelze změřit s využitím techniky. Pro zjednodušené hodnocení welfare se často používá tzv. "5 svobod", jejichž naplnění umožňuje zvířatům uskutečnit všechny přirozené vzorce chování, aniž by přitom byla zbytečně stresována. Všech pět zmiňovaných svobod se více či méně dotýká životního prostředí zvířat – konkrétně podmínek ustájení, pokud máme na mysli dojný skot. Pak už jen stačí, aby si chovatel uvědomil jednoduchou rovnici, že dojnice s optimálním welfare rovná se spokojená dojnice, rovná se zdravá dojnice, rovná se maximálně produktivní dojnice, rovná se dojnice důležitá pro rentabilitu fungujícího chovu.

Snahou chovatele by mělo být, aby dojnice ležely co nejdelší dobu, neboť tím je podporováno správné přežvykování, což se následně projeví i na celkovém zdravotním stavu a mléčné užitkovost. Podle Wagnona (1963) až 80 % přežvykování u krav probíhá v době, kdy zvířata leží. Dobu, kterou dojnice stráví ležením, lze ovlivnit mnoha způsoby – např. zvýšením vrstvy podestýlky, čímž se prodlužuje i čas, který zvířata stráví odpočinkem vleže (Colam-Ainsworth et al., 1989; Drissler, et al., 2005; Tucker et al., 2009). Přídavek podestýlky zlepšuje komfort dojnic (pokud ho hodnotíme dobou strávenou ležením), ovšem pozitivní efekt vyššího nastýlaní platí jen do určité míry, neboť přestlané boxy mohou pohodlné ležení naopak znemožnit (Doležal et al., 2002). Důležitá však není pouze kvalita povrchu, ale i samotný počet boxů a plocha volného prostoru na dojnici. Pokud mají krávy přístup k méně volným boxům, zvyšuje se tím kompetice o boxy, zároveň i čas, strávený stáním mimo boxy a přitom se redukuje doba ležení (Fregonesi et al., 2007).

Odpočinkové chování dojnic je ovlivňováno i prvky mikroklimatu, neboť mikroklima má přímý vliv na biorytmy (Chloupek, Suchý, 2008). Mezi základní prvky mikroklimatu patří nepochybně také proudění vzduchu. Ten ve stáji proudí jak turbulentně (vířivě), tak i přímočaře. Ovlivňují to konstrukce, systémy větrání, otevírání oken a vrat, výskyt netěsností apod. a vznikají tak velice složité a nerovnoměrné poměry v proudění vzduchu (Chloupek, Suchý, 2008).

Proudění vzduchu kolem zvířat může mít pozitivní i negativní efekty. Odebírá teplo a vodní páru a podporuje termoregulaci - zejména v létě, přivádí čerstvý vzduch nebo může transportovat škodlivé plyny a způsobovat nepříjemný průvan (TVT, 2006). To je obzvláště důležité pro krávy ve vazných stájích, které nemohou uniknout do pohodlnějšího prostoru stáje (Pelzer, 1998). Chceme-li

zhodnotit vliv proudění vzduchu na organismus, musíme znát jak směr proudění vzduchu, tak rychlost proudění. Význam proudění vzduchu spočívá v ochlazování kůže zvířat a v ovlivňování vydávání tepla z organismu zvířat. Jeho účinek se zvyšuje u zvířat nedostatečně osrstěných s malou vrstvou podkožního tuku, resp. na těch částech těla, které jsou nedokonale osrstěné, jako je mléčná žláza (Chloupek, Suchý, 2008).

Cílem našeho experimentu bylo prověřit vliv rychlosti proudění vzduchu na odpočinkové chování dojnic – konkrétně jsme sledovali, zda procentuální podíl ležících zvířat ve stádě bude kolísat v závislosti na rychlosti proudění vzduchu ve stáji.

MATERIÁL A METODIKA

Sledování probíhalo na Školním zemědělském podniku v Žabčicích (49° 0’4’’ s. š. a 16° 36’1’’ v.d., 179 m. n. m.) po dobu jednoho kalendářního roku (1.4.2010 – 31.3.2011). Jednalo se o stejnou stáj, kterou ke svým pozorováním využila i Walterová et al. (2009).

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 stejně 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 boxových loží, k vyhrnování výkalů i k zakládání a přihrnování krmiva se využívá mechanizace (UNC přihrnovače). Dojnice opouští stáj pouze za účelem dojení, které probíhá dvakrát denně (ráno a večer) v přilehlé dojírně. 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. Během experimentu bylo ve skupině průměrně 72 dojnic (61 – 79) v různé fázi (od 30. dne výše) i na odlišném pořadí (1.- 8.) laktace. Žádná ze sledovaných dojnic nebyla zaprahlá. Průměrná denní užitkovost na jednu dojnici se pohybovala na úrovni 34,63 l mléka. Dojnice byly přímo sledovány 1x týdně vždy v 9.00 hodin. Během sledování byla přesně zaznamenána pozice každé dojnice ve stáji – ať už ležela v boxovém loži nebo stála v hnojné chodbě či u krmného stolu. Absolutní počty ležících a stojících dojnic byly převedeny na procentuální podíly. Kromě sledování samotných dojnic, byly zaznamenány také hodnoty rychlost větru - vždy v každé řadě boxových loží (tj. na třech místech ve stáji). Měření rychlosti větru bylo prováděno anemometrem v životní zóně zvířat – tzn. v kohoutkové výšce stojících dojnic. Takto získané tři údaje o rychlosti proudění vzduchu ve stáji byly pro každý den zprůměrovány. Pro účely našeho pokusu bylo následně vybráno 20 dní s nejvyšší a 20 dní s nejnižší průměrnou rychlostí vzduchu ve stáji.

Statistické zhodnocení dat bylo provedeno pomocí korelace a Chí-testu.

VÝSLEDKY A DISKUZE

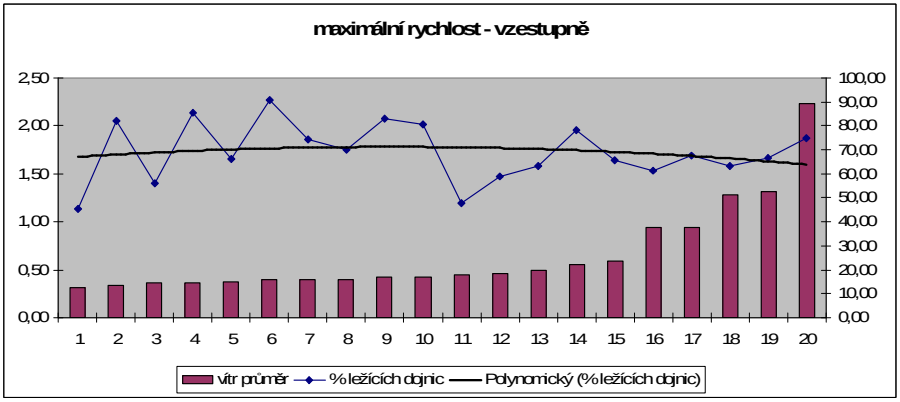
V grafech jsou vyjádřeny procentuální podíly ležících dojnic během dní s minimální (Graf 1) a maximální (Graf 2) rychlostí proudění vzduchu. Během dní s nejnižší rychlostí proudění vzduchu ve stáji byla průměrná hodnota rychlosti proudění 0,10 m/s (0,04 – 0,17 m/s). Ve dnech s maximální rychlostí proudění vzduchu pak byla průměrná hodnota proudění vzduchu 0,65 m/s (0,32 – 2,23 m/s). Podíl ležících krav byl ve dnech s minimálním prouděním 66,50 % a ve dnech s maximálním prouděním vzduchu 69,10 % (viz. Tabulka 1). Zdá se tedy, že pokud je proudění vzduchu intenzivnější, tak dojnice leží častěji. Tento rozdíl však není statisticky průkazný (při $p < 0,05$). Ani statistické vyhodnocení pomocí korelace neprokázalo žádný přímý vztah mezi rychlostí proudění vzduchu a počtem ležících dojnic (korelační koeficient 0,04 u minimální rychlosti proudění resp. -0,02 u maximální rychlosti proudění vzduchu).

Proudění vzduchu přímo kolem zvířat by mělo být kolem 0,2 m/s v zimě a 0,6 m/s v létě, v závislosti na okolní teplotě tak, aby nezpůsobovalo průvan nebo přehřátí (Wathes, 1992; Randall, Armsby, 1983). Při vysokých teplotách je možná i rychlost vyšší, u dospělých zvířat může překračovat 1 $m.s^{-1}$ (Chloupek, Suchý, 2008). Z tohoto pohledu lze označit sledovanou stáj za vyhovující, neboť k maximálnímu proudění vzduchu docházelo vždy v letních měsících, kdy teploty stájového ovzduší dosahovaly vysokých hodnot. Rychlejší proudění vzduchu tak přispívalo k lepšímu welfare sledovaných dojnic. Dle autorů má navíc proudění vzduchu v uvedených rozmezích příznivý účinek na krevní oběh a látkovou výměnu. Nebezpečí (zejména v podobě mastitid) může nastat při vyšších rychlostech vzduchu a nízké teplotě prostředí – to jsme však během našich sledování nezaznamenali.

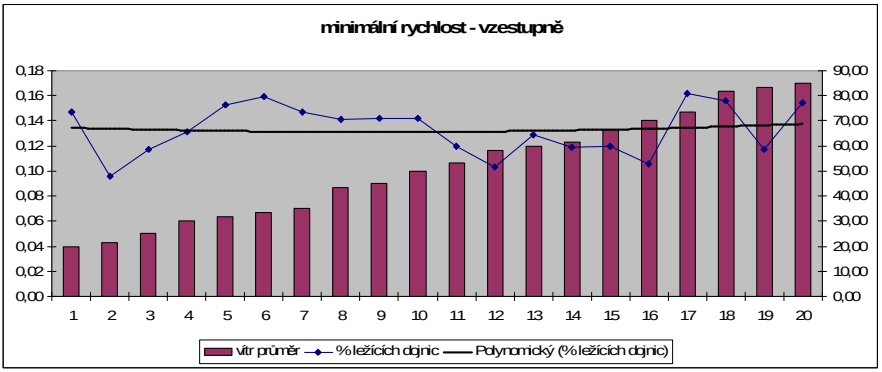
Na čas, věnovaný odpočinku vleže, má vliv také roční období. V zimě leží krávy více, než v létě – nezávisle na tom, jaká technologie ustájení je využívána (O'Driscoll et al., 2009). To je ovšem v rozporu s naším sledováním, neboť během našeho pokusu ležely dojnice častěji při větší rychlosti proudění vzduchu, což nastalo obvykle právě v letních měsících.

Zjištěný větší podíl ležících dojnic při zvýšeném proudění vzduchu je logický vzhledem k tomu, že při rychlejším proudění je umožněno ochlazování zvířat pomocí konvekce. Kdežto v případě nízké rychlosti proudění je pro dojnice výhodnější ochlazovat se pomocí evaporace a radiace a ty jsou efektivnější u stojících zvířat více, než u ležících. To, že dojnice v případě tepelného stresu upřednostňují možnost se ochladit před možností pohodlného ulehnutí, dokládá ve svém pokusu i Schutz et al. (2008). Jeho výsledky, stejně jako naše sledování, potvrzují důležitost správného mikroklimatu ve stáji jako jednoho z nejdůležitějších faktorů pro optimální welfare dojnic. Problematika mikroklimatu je ovšem velmi komplikovaná a nelze se během jeho hodnocení zaměřovat pouze na jeden nebo dva vybrané prvky. Dojnice se při výběru odpočinkového místa řídí celou řadou kriterií, jako je teplota ovzduší, vlhkost ovzduší, proudění vzduchu, zchlazovací veličina, úroveň osvětlení, intenzita hluku a další a vyberou si vždy takovou kombinaci, která jim zaručí největší pohodlí. Proto je nutné zabývat se mikroklimatem ve stáji jako celkem a snažit se zajistit optimální rozpětí hodnot ve všech jeho prvcích.

Graf. 1 Podíl ležících dojnic ve vztahu k rychlosti proudění vzduchu ve stájí (při maximálních rychlostech proudění vzduchu)



Graf. 2: Podíl ležících dojnic ve vztahu k rychlosti proudění vzduchu ve stájí (při minimálních rychlostech proudění vzduchu)



Tab. 1: Podíl ležících dojnic ve dnech s minimální a maximální rychlostí proudění vzduchu

Rychlost proudění vzduchu	Průměrná rychlost proudění vzduchu ve stáji (%)	Podíl ležících krav ve stáji (%)
MINIMÁLNÍ	**0,10**	**66,50 N.S.**
MAXIMÁLNÍ	**0,65**	**69,10 N.S.**

N.S. – statisticky nevýznamné (při $p < 0.05$)
a,a – statisticky průkazné (při $p < 0.05$)
A,A – statisticky vysoce průkazné (při $p < 0.01$)

ZÁVĚR

I přes určitý trend většího podílu ležících dojnic v období se zvýšeným prouděním vzduchu se nepotvrdilo, že přirozené proudění vzduchu ve stáji ovlivní odpočinkové chování dojnic.

Příspěvek byl zpracován s podporou interního grantového projektu AF MENDELU, TP 8/2011 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

Colam-Ainsworth, P.; Lunn, G. A.; Thomas, R. C.; Eddy, R. G. (1989): Behaviour of cows in cubicles and its possible relationship with laminitis in replacement dairy heifers. The Veterinary Record, Vol. 125, Issue 23, s. 573 – 575, ISSN 0042-4900.

Doležal, O.; Bílek, M.; Černá, D.; Dolejš, J.; Gregoriadesová, J.; Knížková, I.; Kudrna, V.; Kunc, P.; Toufar, O. (2002): The comfortable accommodation of high-yield dairy cows. In Czech: Komfortní ustájení vysokoprodukčních dojnic. Vybrané statě z technologie a techniky chovu hospodářských zvířat. Výzkumný ústav živočišné výroby v Uhříněvsi. Praha. 129 s., ISBN 80-86454-23-1.

Drissler, M.; Gaworski, M.; Tucker, C. B.; Weary, D. M. (2005): Freestall maintenance: Effects on lying behavior of dairy cattle. Journal of dairy science, 88 (7): 2381-2387 JUL 2005, ISSN: 0022 - 0302.

Fregonesi, J. A.; Tucker, C. B.; Weary, D. M. (2007): Overstocking reduces lying time in dairy cows . Journal of dairy science, 90 (7): s. 3349 – 3354, JUL 2007, ISSN**:** 0022-0302.

Chloupek, J.; Suchý, P. (2008): Mikroklimatická měření ve stájích pro hospodářská zvířata, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, VFU Brno.

O'Driscoll, K.; Boyle, L.; Hanlon, A. (2009): The effect of breed and housing system on dairy cow feeding and lying behaviour. Applied animal behaviour science, 116 (2 - 4), s. 156 – 162, JAN 2009, ISSN**:** 0168-1591.

Pelzer, A. (1998): Environmental control in cattle housing. Milchpraxis. 36, 70 – 74.

Randall, J. M., Armsby, A. W. (1983): Cooling gradients across pens in a finishing piggery. Measured cooling gradients. Journal of Agricultural Engineering Research 28, 235 – 245.

Schutz, K. E.; Cox, N. R.; Matthews, L. R. (2008): **:** How important is shade to dairy cattle? Choice between shade or lying following different levels of lying deprivation. Applied animal behaviour science, 114 (3-4): s. 307-318, DEC 2008, ISSN 0168-1591.

Tucker, C. B.; Weary, D.M.; von Keyserlingk, M. A. G.; Beauchemin, K. A. (2009): Cow comfort in tie-stalls: Increased depth of shavings or straw bedding increases lying time. Journal of dairy science, 92 (6), s. 2684 – 2690, JUN 2009, ISSN: 0022-0302.

TVT - Tierärztliche Vereinigung für Tierschutz e. V. (2006): Beurteilung von Milchkuhbetrieben unter dem Gesichtspunkt des Teirschutzes, Merkblatt Nr. 111.

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, ISSN 1211-8516.

Wagnon, K. A. (1963): Behaviour of beef cows on a California range. California Agr. Ext. Ser. Bull. 799, 18.

Wathes, C. M. (1992): Ventilation. In: Farm animals and the environment. Phillips C Piggins D (eds). CAB International. 83 – 89. ISBN 085198-788-5.

Section – Agroecology

DETERMINATION OF THE MINERALIZATION OF SOIL ORGANIC MATTER AND NITROGEN NITRIFICATION UNDER EXTREME CLIMATIC CONDITIONS IN NATIONAL PARK PODYJI

Alba Mejía J. E.[1], Záhora J.[2], Skládanka J.[1]

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

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

E-mail: jeam1604@gmail.com

ABSTRACT

Examined area belongs to the Podyjí National Park, which is characterized by extreme conditions and appearance of termophilic and dry steppe vegetation. The influence of microbial activity on mineralization of organic compounds, on nitrification of mineral nitrogen, basal and potential respiration was monitored to evaluate those extremely dry conditions. Soil samples were divided into two parts. The first one was incubated under the "dry" conditions and the second one under wet conditions. Therefore we obtained results that can clarify the processes associated with microbial activity in extreme climate soils. Furthermore, the results were compared between soils collected under tufts of *Festuca ovina*, as a representative of the original species in situ, and under the *Calamagrostis epigeios*, which is an expansive species in this region. The obtained results pointed out to minor differences between the dry and wet incubation regimes. Also, any significant differences in the variations of soil samples taken under both types of grasses did not show. This fact points out to a very mild response of the given ecosystem to the extreme weather conditions and to its overall equilibrium in the microbial activities estimated by these methods.

Key words: Basal and potential respiration, *Calamagrostis epigeios, Festuca ovina,* Microbial activity, Mineralization, Nitrification, Soil respiration, Wet and dry regimes.

ÚVOD

Koloběh dusíku a uhlíku významně ovlivňuje stabilitu ekosystémů, aktivitu a složení půdních mikrobiálních společenstev a kvalitu životního prostředí. Je tedy velmi důležité porozumět faktorům, které kontrolují procesy v těchto cyklech. V dnešní době je řada ekosystémů destabilizovaných a proto je přínosné posuzovat tyto faktory na stanovištích s podmínkami, které jsou v některém ohledu extrémní. Jednou ze základních, ale mnohdy těžko splnitelných podmínek je dostatek vláhy. Proto je dnes aktuální studium procesů na stanovištích s extrémně suchými podmínkami a zajímavým ukazatelem jsou právě faktory týkající se koloběhu dusíku a uhlíku.

V roce 2003 formulují GALLOWAY et al. (2003) teorii dusíkové kaskády a vysvětlují neblahý vliv dusíku na atmosféru, terestrické ekosystémy, hydrosféru a na lidské zdraví. Autoři upozorňují na mnohonásobný kaskádový účinek jednoho atomu antropogenně vzniklého dusíku v tocích a v zásobnících biogeochemického cyklu dusíku. O rok později varují GALLOWAY et al. (2004) před největšími nejistotami současného poznání bilancí dusíkatých látek. Jsou jimi mimo jiné: kvantifikace množství dusíku uloženého v přirozených rezervoárech a produkce molekulárního dusíku procesem mikrobiální denitrifikace.

Metody měření mineralizace dusíku v půdě jsou založeny na inkubaci vzorků v laboratoři nebo přímo v terénu (NĚMEC & KVAPIL, 1926). Rychlost mineralizace živin častěji vykazuje pozitivní vztah k půdní vlhkosti a probíhá mnohem rychleji ve vlhkém než suchém období roku (VAN OORSCHOT et al., 2000; YAVITT et al., 2004).

Cílem této práce je poukázat na rozdíly mezi suchým a vlhkým režimem stanoviště ve vztahu k extrémním klimatickým podmínkám. Dále posoudit rozdíl v produkci CO_2 za celé inkubační období mezi travami *Festuca ovina* a *Calamagrostis epigeios*. Další cíl bylo sledovat netto mineralizaci i netto nitrifikaci v půdě po přidání lehce dostupného organického materiálu ve formě glukózy.

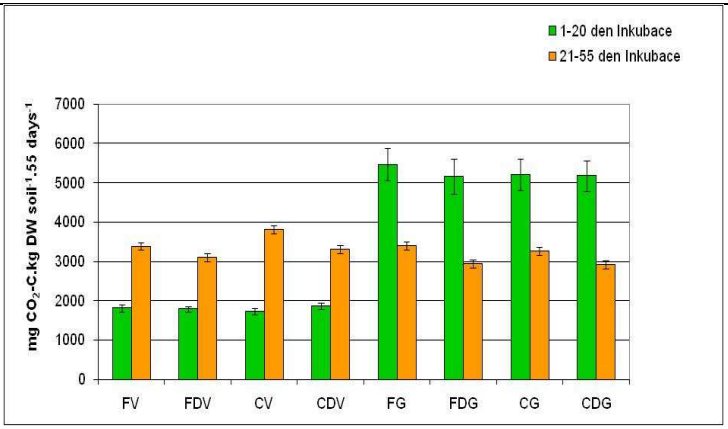
MATERIÁL A METODIKA

Studované území se nachází na jihozápadní Moravě na území Národního parku Podyjí. Reprezentativní půdní vzorky byly odebrány z povrchové vrstvy půdy (do hloubky 10 cm). Odběr byl proveden náhodně z několika míst přímo pod trsy trávy kostřavy ovčí (*Festuca ovina)*, jako zástupce původního druhu na daném stanovišti, a pod třtinou křovištní (*Calamagrostis epigeios),* která je druhem expanzivním. Odebrané půdní vzorky byly homogenizovány, prosety přes 2 mm síto a před provedením analýzy uskladněny při 4 °C. Vzorky byly dále rozděleny na variantu suchého a mokrého režimu. Pro měření a stanovení jednotlivých ukazatelů byl použit destilační přístroj a titrační zařízení. Roztok 10% NaCl byl použít k resorbci zachycených iontů NH_4^+ a NO_3^-.

Amonné ionty byly v extrakčním roztoku stanoveny destilačně titrační metodou v alkalickém prostředí s MgO (PEOPLES, 1989). Pomocí indikátoru s HBO_2 byl amonný dusík jímán a následnou titrací HCl bylo zjištěno množství NH_4^+. NO_3^- ionty jsou stanoveny stejným způsobem s použitím Devardovy slitiny.

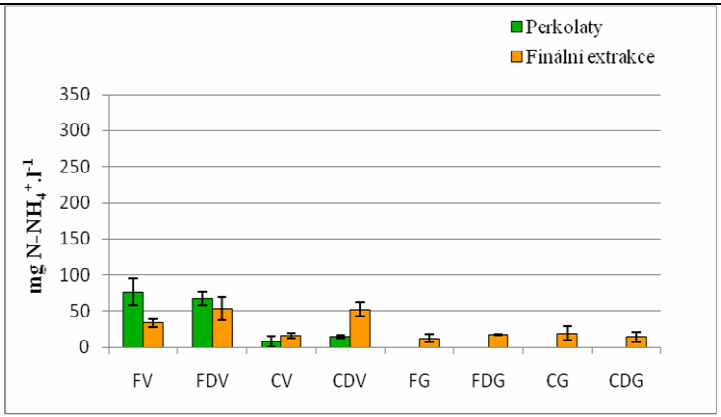
VÝSLEDKY A DISKUZE

Upravené a homogenní půdní vzorky bez přítomnosti živých rostlinných částí a jejich výměšků byly podrobeny dlouhodobé inkubaci ve stabilních laboratorních podmínkách. Pro přibližnou demonstraci procesů probíhajících v místech s dostatkem energetických zdrojů a zvýšenou mikrobiální aktivitou byla sledována bazální půdní respirace v kombinaci s respirací půdních mikroorganismů po stimulaci lehce dostupným uhlíkem. Bazální respirace měřená v průběhu inkubace ve vhodných podmínkách pro mikrobiální růst je často vnímána jako celkový stupeň dekompozice přirozeného organického materiálu v půdě (ŠÍCHOVÁ, 2006). Porovnání bazální a substrátem indukované respirace, jako velice dobrého indikátoru biologické aktivity v půdě, prokázalo statisticky významný rozdíl u všech sledovaných variant mezi 1. a 20. dnem inkubace. Naopak od 21. dne vykazovaly naměřené hodnoty CO_2 spíše opačný trend (graf. 1). Také VOŘÍŠEK et al., (2000) potvrzují podobnou reakci půdní mikroflóry. V jejich případě bylo zvýšení produkce oxidu uhličitého po doplnění snadno dostupného zdroje (glukózy) až 10-ti násobné. Podobně RUTIGLIANO et al. (2009) nebo NOVOSÁDOVÁ et al. (2010) zabývající se půdní aktivitou Mediteránní oblasti uvádějí, že půdní respirace a proteazová aktivita vykazují trvalý růst v místech s vyšším obsahem organického uhlíku. V první fázi inkubace (do 20. dne) byl zaznamenán zvýšený záchyt CO_2 u varianty s přídavkem glukózy, naopak zachycený CO_2 v druhé fázi inkubace činil přibližně 70% z celkového množství. U kontrolních variant bylo naopak množství vyprodukovaného CO_2 vyšší v druhé fázi inkubace. Zvýšená respirační aktivita mikroorganismů v druhé fázi inkubace kontrolních vzorků může být způsobena schopností K – stratégů využít právě dostupné živiny z odumřelých těl mikroorganismů, kteří negativně reagovali na snižující se dostupnost živin v půdě. V případě bazální i potenciální respirace nebyl zjištěn mezi půdami odebranými pod travami *Festuca ovina* a *Calamagrostis epigeios* statisticky významný rozdíl v produkci CO_2 v obou fázích laboratorní inkubace.



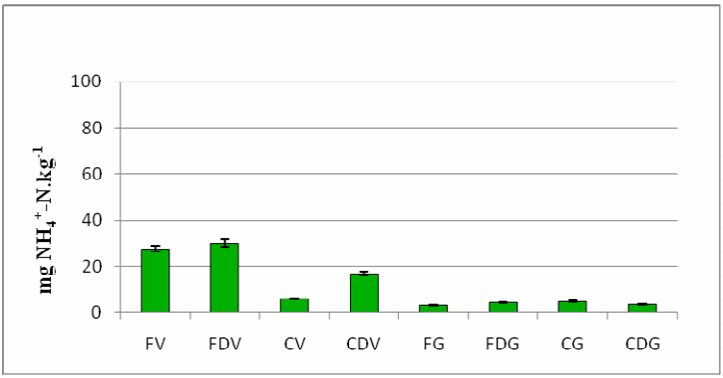
Graf. 1: Kumulativní bazální (V) a potenciální (G) respirace do 20. dne a od 21. do 55. dne inkubace půd odebraných pod trávou Festuca ovina (F) a Calamagrostis epigeios (C) podrobených suchému (D) a mokrému režimu.

Dalším cílem bylo vyhodnotit vliv dvou různých variant metodického postupu na mikrobiální aktivitu sledovaných půd. Po obou provedených extrakcích iontů NH_4^+-N a NO_3^--N byla část půdních vzorků podrobena režimu stresu v podobě úplného vysušení a u části půdních vzorků byly nadále zachovány podmínky vlhkostního optima pro půdní mikroorganismy s cílem porovnat takto ovlivněné varianty. Mezi půdou podrobenou režimu stresu vysušením a půdou se zachovalými přirozenými podmínkami nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl po celou dobu laboratorní inkubace. Nicméně v druhé fázi inkubace se projevil u všech variant suchého režimu nepatrný pokles respirační aktivity. V první fázi laboratorní inkubace byl méně znatelný pokles zaznamenán pouze u vzorků s přídavkem glukózy, přičemž kontrolní vzorky vykázaly přibližně stejnou aktivitu u obou režimů. Tyto výsledky mohou poukazovat na odolnost půdních mikroorganismů vůči náhlým stresovým podmínkám, ke kterým v přirozeném prostředí stále častěji dochází díky klimatickým změnám. Obsah extrahovaného NH_4^+-N a NO_3^--N byl u vzorků s přídavkem glukózy pravidelně nižší než u vzorků kontrolních. Suchý režim, kterému byly vybrané půdní vzorky podrobeny, nevykázal významné rozdíly od režimu přirozeného. Pouze u suchého režimu kontrolních vzorků trávy *Calamagrostis epigeios* bylo zachyceno statisticky prokazatelně vyšší množství iontů NH_4^+ (graf. 2).



Graf. 2: Množství NH_4^+-N perkolovaného 20. den inkubace půdních vzorků a množství NH_4^+-N ve finální extrakci u kontrolní (V) a potenciální (G) varianty půdy odebrané pod trávou Festuca ovina (F) a Calamagrostis epigeios (C) podrobené suchému (D) a mokrému režimu.

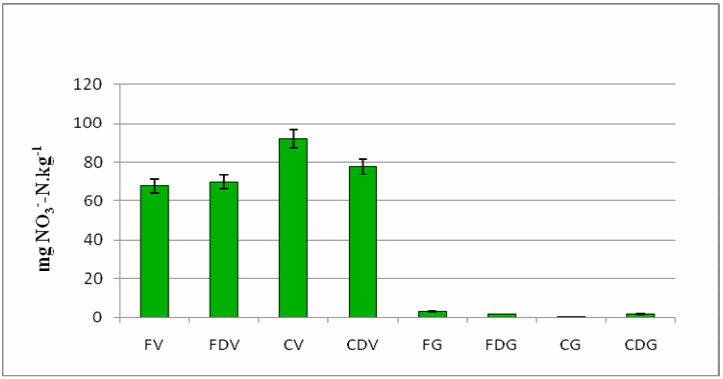
K mineralizaci došlo u všech sledovaných variant. Přídavek organického materiálu měl příznivý efekt na mineralizaci dusíku. Kontrolní vzorky odebrané pod trávou *Festuca ovina* vykázaly vyšší mineralizaci než vzorky pod *Calamagrostis epigeios* (graf. 3). Projevila se zde nepatrně vyšší mineralizace u kontrolních vzorků suchého režimu.



Graf. 3: Netto mineralizace kontrolní (V) a potenciální (G) varianty půdy odebrané pod trávou Festuca ovina (F) a Calamagrostis epigeios (C) podrobené suchému (D) a mokrému režimu.

Výsledky dokazují přítomnost čisté nitrifikace (graf. 4). V míře čisté nitrifikace byly zjištěny mezi kontrolní a potenciální variantou statisticky významné rozdíly. Po přídavku organického materiálu došlo k významnému poklesu nitrifikace. Snížení nitrifikace po přídavku lehce rozložitelného organického materiálu indikuje jeho absenci ve sledovaném půdním systému a ten se tak stává jeho

limitujícím faktorem. Srovnáním suchého a mokrého režimu nebyly zjištěny významné rozdíly, pouze u trávy *Calamagrostis epigeios* se projevilo snížení čisté nitrifikace u kontrolní varianty suchého režimu.



Graf. 4: Netto nitrifikace kontrolní (V) a potenciální (G) varianty půdy odebrané pod trávou Festuca ovina (F) a Calamagrostis epigeios (C) podrobené suchému (D) a mokrému režimu.

ZÁVĚR

Získané výsledky poukázaly na zanedbatelné rozdíly mezi suchým a mokrým režimem, kterým byly vybrané půdní vzorky podrobeny. Také se neprojevily žádné významné rozdíly u variant půdních vzorků odebraných pod oběma druhy trav. Tento fakt poukazuje na velmi mírnou reakci daného ekosystému na extrémní klimatické podmínky a na jeho vyrovnanost.

Velikost rozdílu kumulativních hodnot mezi potenciální respirací po přidání lehce rozložitelného organického materiálu a bazální respirací poukazuje na to, jakou klíčovou roli hraje tato stimulace v mikrobiální aktivitě společně se zvýšením mineralizace organického materiálu a zlepšením přístupu živin rostlinám.

Mezi oběma sledovanými travami nebyl zjištěn žádný významný rozdíl v produkci CO_2 za celé inkubační období. Vysokým obsahem extrahovaného NO_3^- v perkolátech byla potvrzena vysoká mobilita nitrátové formy dusíku. Naopak nízký záchyt iontů NH_4^+ potvrzuje odlišný mechanismus pohybu než nitrátová forma dusíku.

Netto mineralizace i netto nitrifikace se významně snížila po přidání lehce dostupného organického materiálu ve formě glukózy. Toto snížení poukazuje na absenci organického materiálu ve sledovaném půdním systému a ten se tak stává jeho limitujícím faktorem.

LITERATURA

Galloway, J. N., Aber, J. D., Erisman, J. W., Seitzinger, S. P., Howarth, R. W., Cowling, E. B. & Cosby, B. J., 2003: *The nitrogen cascade*. Bioscience, 2003, 53 roč., č. 4, s. 341-356.

Galloway, J. N., Dentener, F. J., Capone, D. G., Boyer, E. W., Howarth, R. W., Seitzinger, S. P., Asner, G. P., Cleveland, C. C., Green, P. A., Holland, E. A., Karl, D. M., Michaels, A. F., Porter, J. H., Townsend, A. R. & Vorosmarty, C. J., 2004: *Nitrogen cycles: past, present, and future*. Biogeochemistry, 70: p. 153-226.

Němec, A. & Kvapil, K., 1926: Vliv lesních porostů na obsah a tvorbu dusičnanů v půdě, 1926. In: Záhora, J., 1992. *Mikrobiální přeměny dusíku v půdách lesních ekosystémů*, (Kandidátská disertační práce). Brno: ČSAV, 1992. 162 s.

Novosádová, I., Záhora, J., Fišerová, H. & Sinoga, J. D. R., 2010: Mikrobiální aktivita v půdě pod trávou *Stipa tenacissima* L. a v půdě bez vegetačního krytu. *Úroda, Vědecká příloha "Aktuální poznatky v pěstování, šlechtění, ochraně rostlin a zpracování produktů"*, č. 12, s. 93-97. ISSN 0139-6013.

Peoples, M., et al., 1989. *Methods for evaluations nitrogen fixation by nodulated legumes in the field*. Aciar Monograph, 11, s. 76, ISBN 978 921 531 569.

Rutigliano, F. A., Castaldi, S., D´Ascoli, R., Papa, S., Carfora, A., Marzaioli, R. & Fioretto, A., 2009. Soil activities related to nitrogen cycle under three plant cover types in Mediterranean environment. Soil Ekology 43, 40-46.

Šíchová, P., 2006. *Bazální a potenciální půdní respirace*, Bakalářská práce Mendelu, Brno, 44 s.

Van Oorschot, M., Van Gaalen, N., Maltby, E., Mockler, N., Spink, A. & Verhoeven, J. T. A., 2000: Experimental manipulation of water levels in two French reiverine grassland soils. Acta Oecologica – Inter. J. Ecol. 21, 2000: 49-62. In: Záhora, J. & Stroblová, M. (Eds). *Život v půdě VIII. Sborník příspěvků ze semináře*, Brno, 2007, s. 153.

Voříšek, K., Popelářová, E., Růžek, L., Šíša, R., Strnadová, S. & Barabasz, W., 2000. *Biologická aktivita půd monitorovaných pro precizní zemědělství*. Odborná konference, http://www.agris.cz/vyzkum/detail.php?id=118400&iSub=566&PHPSESSID=a3

Yavitt, J. B., Wright, S. J. & Wieder, R. K., 2004: Seasonal drought and dry-season irrigation influence leaf-litter nutrients and soil enzymes in a moist, lowland forest in Panama. Austral Ecol. 29, 2004: 177-188. In: Záhora, J. & Stroblová, M. (Eds). *Život v půdě VIII. Sborník příspěvků ze semináře*, Brno, 2007, s. 153.

MICROBIAL SOIL ACTIVITY IN SOILS SPONTANEOUSLY EMERGING ON NAKED ROCKS

Chmelár Š., Záhora J.

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: simon.ch24@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this work is to gather available information about the primary colonizers, their characteristics, function and importance in the primary succession and pedogenesis. In the practical part, we dealt with the assessment of microbial activity in soils of different phases colonization and succession (primary colonizers - grass fellowship - forest - gley) on the site Uhlirsky vrch. To do this we used three methods. By using ionexchangers capturing available nitrogen during the growing period, we assessed the balance of nitrogen in the system "soil - microbe - plant" various phases of succession and pedogenesis. In a second experiment, we determined the representation of ecological groups of soil microorganisms on selective nutrient media culture. The third - the watercress-test we investigate the impact of extracting soil samples for plant seed germination and subsequent growth. Test results of available nitrogen in soil showed, that the balance of inputs and outputs has significantly different between the first and second stages of succession. This proves the hypothesis of accumulation of nutrients (including nitrogen) in succession, but given the pace of change in this balance and the nitrogen cascade hypothesis - that the impact of the synthesis of reactive nitrogen by human to ecosystems. Abundance of microorganisms were mostly predictable - directly proportional to the succession (e.g. fungi), or typical for the physiological group (e.g. fixators N_2). For plant growth and development in watercress-test proved the best soil of grass communities.

Key words: nitrogen cascade, Uhlirsky vrch, biofilm, biogenic crust, biogeochemical nitrogen cycle, succesion, primary colonizers

ÚVOD

V dnešní době velkých společenských potřeb nerostných surovin je člověk nucen k významným zásahům do krajiny. Je schopen změnit celkový ráz krajiny a odstranit vše živé včetně podmínek, které život umožňují. Tím je na prvním místě myšleno odstranění půdy. Pokud někde zmizí půda a s ní i živé organismy, organické látky a živiny, na místě zůstane pouze téměř sterilní hornina. Vzniká zde nový ekosystém, často naprosto odlišný od okolí. Zcela spontánně však začne probíhat primární sukcese a současně vytváření a vývoj nové půdy (pedogeneze). Počíná aktivitou prvních kolonizátorů holých skal, erozí hornin, pokračuje akumulací organických látek a střídáním rostlinných a živočišných druhů.

K takovémuto narušení (disturbanci) v krajině nedochází ale jen v důsledku lidské (antropogenní) činnosti. Někdy k tomu dochází i přirozeně, vlivem přírodních jevů, jako je například sopečná činnost. Lokalita Uhlířský vrch zažila oba tyto případy.

Uhlířský vrch je jednou z našich nejmladších sopek. Do dnešních dob se zde ale stihla vytvořit půda a sukcesní stádia dospěla do vrcholové fáze smíšeného lesa. Avšak od středověku do 60. let 20. století na jednom z jeho svahů probíhala těžba čediče. Zde se opět nastartovala primární sukcese od samého začátku. Dnes je v lomu stále patrné stádium primární kolonizace minerálního materiálu s živými organismy, ale také pokročilejší stádium travního společenstva na půdě, která se nachází v pokročilém stupni vývoje. Na severozápadním svahu se pak nachází, klimaxu blízké, lesní společenstvo vzniklé sukcesními pochody, které zde započaly od poslední sopečné činnosti Uhlířského vrchu.

Práce si klade za cíl posoudit mikrobiální aktivity právě těchto časově a prostorově oddělených fází sukcese, u nichž lze předpokládat rozdílný stupeň pedogeneze. Navíc se pokusíme srovnat tyto lokality s půdou, která prošla odlišnou trajektorií vývoje, neboť se nachází na místě s lokálně extrémními hydrologickými podmínkami – půda glejová, avšak na stejném půdotvorném substrátu.

MATERIÁL A METODIKA

Sledování bilance dostupnosti dusíku

Abychom zjistili, jak se hospodaření edafonu a rostlin s dusíkem v různých stádiích sukcese navzájem liší, použili jsme metodu přímého zachytávání volných minerálních forem bezprostředně na stanovišti v půdě. K tomu jsme vyžili speciální plochá pouzdra s ionexem, jakožto jednu z mála metod podávajících použitelné informace o dostupnosti dusíku v půdě (Záhora et al., 2000).

V našem případě jsme použili iontoměniče ve formě disků. Je to válcovitý typ o vnitřním průměru 70 mm a šířce 5 mm. Kroužek je vyroben z novoduru a z obou stran opatřen polyamidovou síťkou UHELON (Silk & Progress, typ 130T, vel. oka 42 μm).

Náplní iontoměniče je směs ionexových zrn – katex a anex v poměru 1:1. Iontoměniče dodává firma PUROLITE pod obchodním názvem Purolite C100E (katex) a Purolite A520E (anex).

Stanovení zastoupení ekologických skupin mikroorganismů v půdě

Pro zjištění zastoupení jednotlivých ekologických skupin mikroorganismů jsme na každém studovaném stanovišti odebrali několik vzorků půdy ze stejné hloubky, ve které byly uloženy iontoměniče. Vzorky jsme vysušili a procedili 2mm sítem. Výsledný materiál jsme homogenizovali a do erlenmayerovy baňky odvážili 10 g, přilili 100 ml vody a nechaly 20 minut na třepačce. Z každého vzorku jsme do zkumavek naředili roztoky o koncentracích 10–2 až 10–7. Pro pěstování různých druhů mikroorganismů jsme si připravili následující selektivní média (živné půdy) a naočkovali je 1 ml roztoku výluhu půdy s danou koncentrací.

Řeřichův test fytotoxicity

Vzorky z jednotlivých sukcesních stádií jsme nakonec srovnali i řeřichovým testem fytotoxicity. Ten odhaluje inhibiční vlastnosti materiálu (v našem případě půdy) na růst rostlin. Jako model zde slouží semínka řeřichy pěstované na filtračním papíru s výluhem půdy.

Statistické zpracování

Průkaznost rozdílů mezi výsledky byla zpracována na úrovni 95% hladiny významnosti metodou analitycké rozptylu (ANOVA) v aplikaci STATISTIC 9, směrodatná odchylka (Sx) a grafy v aplikaci EXCEL.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Dostupnost dusíku v půdě

Stěžejním experimentem pro porovnání fungování jednotlivých sukcesních fází, bylo posouzení dostupnosti dusíku v jeho dvou základních reaktivních formách. Výsledky interpretuje tabulka č. 1.

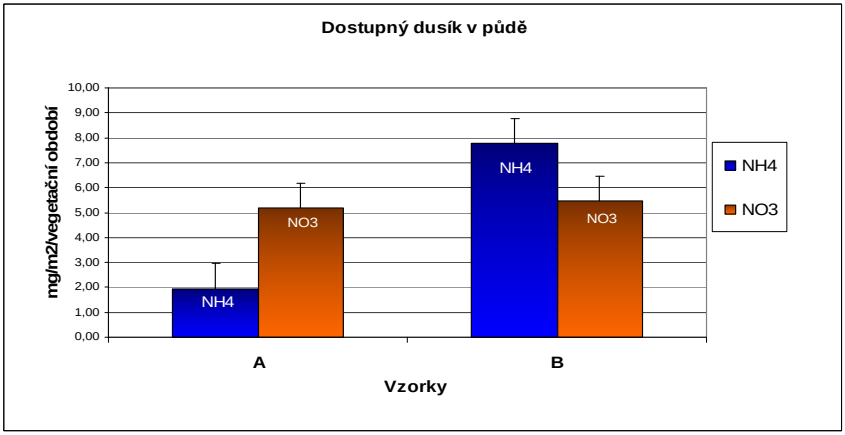
Tab. 1: Průměrné množství dostupného dusíku v půdě na sukcesních stádiích prvních kolonizátorů (A), travního společenstva (B), lesa (C) [Přepočet na mg N.m^{-2}.vegetační období$^{-1}$]. ^{a,b} označují statisticky významný rozdíl na hladině významnosti 99 %; „Sx" symbolizuje směrodatnou odchylku a „n" je počet opakování.

	A (S_x; n)	**B**	**C**	**G**
N-NH_4^+	1,95^b (1,89; 6)	7,78^a (2,81; 5)	17,86	**22,07**
N-NO_3^-	5,17 (4,17; 6)	5,46 (2,69; 5)	**25,33**	11,47

Mezi sukcesními stádii jsme nejvíce dostupného dusíku zachytily na iontoměničích aplikovaných v lesní půdě. Lesní půda se nachází nejblíže klimaxovému stádiu a je v ní největší zásoba organické hmoty – tedy i dusíku. Travní společenstvo disponuje prakticky stejným množstvím nitrátového dusíku jako substrát s primárními kolonizátory. Nitrátový dusík je ovšem pro mikroorganismy ve většině ekosystémů jen těžko využitelný. Proto preferují imobilizaci dusíku v amonné formě. Tímto směrem se tedy ubírá i naše pozornost – zde již travní společenstvo výrazně převyšuje (statisticky velmi významný rozdíl na 99% hladině významnosti) primární kolonizátory v množství dostupného amonného dusíku. Z tohoto rozdílu lze vyčíst, že substrát prvního sukcesního stádia není zdaleka tak nutričně bohatý na dostupný dusík a mikroorganismy v nich žijící jsou nuceny s ním hospodařit efektivněji, než v následujícím sukcesním stádiu. To, že je rozdíl hned mezi prvními dvěma fázemi sukcese na stejné lokalitě takto markantní, potvrzuje hypotézu, podloženou literárními zdroji o nadbytku dusíku na území celé Evropy (Sutton, 2011) a konkrétně i naší republiky (Oulehle, 2008). Tento rozdíl dokazuje, že velmi brzy po primárním stádiu sukcese, přítomná společenstva vyrovnávají svou bilanci dusíku na vstupu a výstupu. Dusík pro ně již přestal být limitujícím prvkem a zájem mikroorganismů se místo akumulace dusíku ubírá směrem k zajištění ostatních klíčových elementů v systému „půda – mikrob – rostlina“, např. na imobilizaci bazických kationtů (Ca^{2+}, Mg^{2+}, K^{+} a příp. dalších) a imobilizaci fosforu – dnes většinou limitujícího prvku. Tento rychlý vzestup „nezájmu“ o amonný (mikroorganismy nejlépe přijatelný) dusík mezi variantami „A“ a „B“ dokazuje záchyt tohoto přebytečného množství na iontoměničích v našem experimentu.

Největší množství dusíku ve formě NH_4^+ bylo zachyceno na lokalitě s glejovou půdou. Tento jev lze vysvětlit zamokřením, tzn. nedostatkem kyslíku pro oxidaci na formu NO_3. Navíc, jak bylo popsáno v mé bakalářské práci (Chmelár, 2009), se na toto stanoviště dostává mnoho vody, která potencionálně může přinášet živiny, tzn. včetně dusíkatých látek z výše položených poloh.

I přes typické redukční podmínky v této půdě zde bylo v průměru zaznamenáno významné množství dusíku v oxidované formě. Tento nepravděpodobný výsledek si vysvětluji narušením půdy při aplikaci iontoměničů a vlivem průsaku perkolátů s vysokým obsahem nitrátů z výše položených stanovišť. Nejvážnějším nedostatkem je však zřejmě to, že většina iontoměničů (4 ze 6) byla ztracena kvůli těžbě dřeva a pojezdu strojů na lokalitě. Tato skutečnost nebyla ohlášená a tedy ani dopředu předvídatelná. Takto vážné narušení ekosystému by ale stejně znemožňovalo zobecnění získaných výsledků. Proto v grafu srovnávajícím dostupnost dusíku není půda lesního ekosystému ani glejová půda uvedena.



Obr. 1: Graf srovnávající množství dostupného dusíku na sukcesním stádiu prvních kolonizátorů (A) a travního společenstva (B).

Stanovení zastoupení ekologický skupin v půdě

Druhým experimentem v našem výzkumu, bylo stanovení ekologických (fyziologických) skupin mikroorganismů v půdách jednotlivých sukcesních fází. Všechny celkové průměrné hodnoty shrnuje tab. č. 2.

Tab. 2: Průměrný počet KTJ v 1 g půdy.

	A	B	C	G
Fix. N	882700	**1664000**	842700	965000
Houby	100	1800	**2300**	1270
Celulolytické MO	97,5	235	**635**	90
Aktinomycety	12930	28800	68530	**86400**
MPA (bakterie)	285000	496200	677727	**1302500**
MPAř	**11830000**	5750000	6410000	9780000
MPAsp	370000	630000	**1200000**	730000
MPA - K	125000			
MPAř - K	6000000			

Zastoupení fixátorů dusíku je velice vyrovnané, pouze u travního společenstva je jejich počet zhruba dvounásobný. Statistické porovnání je uvedeno v tabulce č. 3.

Tab. 3: Statistická analýza variace zastoupení fixátorů dusíku (Tukeyův HSD test, 95% přesnost).

Vzorek	Počet Průměr	1	2
C	842667	a	
A	882667	a	
G	965333	a	
B	1610667		b

Je to výsledek v podstatě očekávaný, neboť většina mikroorganismů fixujících atmosférický dusík žije v těsné vazbě na kořeny rostlin, resp. na produkci energeticky bohatých látek v kořenových exudátech (viz lit. přehled). V tomto ohledu poskytují nejlepší podmínky právě travní ekosystémy – v našem případě sukcesní stádium „B“.

Mikroorganismy ve formě hyf mají mnoho kompetičních výhod a vůči mnoha stresům v okolí jsou značně odolné. V některých ohledech jsou však vybíravé. Jsou to aerobní organismy (zřejmě proto snížený stav u gleje) a mají vyšší nároky na vlhkost a především stálost životních podmínek. Tato stabilita je nejkritičtější právě u první fáze sukcese primárních kolonizátorů. Oproti ostatním stanovištím pokročilejších fází je zde minimum živé i mrtvé biomasy a teprve vznikající půda – typické znaky ekosystému s malou schopností homeostáze. Navíc jejich zastoupení i docela přesně koreluje s množstvím dostupné potravy – mrtvé organické hmoty. Statisticky podložené vyhodnocení rozdílů v zastoupení se nachází v tabulce č. 4.

Tab. 4: Statistické vyhodnocení variace stanovení počtu hub s 95% přesností.

Vzorek	Počet Průměr	1	2
A	100	a	
G	1266,667	a	b
B	1800	a	b
C	2300		b

Výsledek poměru abundance celulolytických mikroorganismů je velice podobný jako u hub, jen s ještě větší převahou u lesního ekosystému a s oslabením u gleje. S největší pravděpodobností, pokud přijmeme zažité schéma (abundance = ± aktivita a fyziologická funkce MO v systému), je toho příčinou mnohem větší zdroje celulózy a jí podobných látek v lesní půdě než kdekoli jinde a nepříznivé (anaerobní) podmínky pro rozklad a chudší zdroje v zamokřené půdě.

Tab. 5: Statistické vyhodnocení variace stanovení počtu celulolytických mikroorganismů s 95% přesností.

Č. buňky	Vzorek	Celulolytické MO	1	2
		Průměr		
4	G	30	a	
1	A	45	a	
2	B	70	a	
3	C	170		b

Aktinomycety patří mezi prokaryotické mikroorganismy s největší paletou (a tím i trofickou přizpůsobivostí) štěpících enzymů. Jejich početnost tedy nebude závislá ani tak na druhu dostupné potravy (jako např. u celulytických mikrobů), jako spíše na jejím celkovém množství. To koreluje i s naměřenými výsledky vzorků „A“, „B“ a „C“. Převládající početnost u glejové půdy (i když nijak extrémní) je proto poněkud překvapivá. Nejvhodnějším vysvětlením se mi jeví právě kompetiční výhoda v nízkých nárocích na typ zdroje potravy a schopnost fungovat v prostředí s kyslíkem i bez něj.

Tab. 6: Statistické vyhodnocení variace stanovení počtu aktinomycet s 95% přesností.

Č. buňky	Vzorek	Aktinomycety	1
		Průměr	
1	A	12933,33	a
2	B	28800	a
3	C	68533,33	a
4	G	86400	a

Množství bakterií se u každé následující sukcesní fáze zvyšuje, nejnižší je u kontrolního vzorku. Podle výše popsaných půdních podmínek během pedogeneze, navíc v konfrontaci s marginálním zastoupením u kontrolního vzorku lze opět přepokládat přímou závislost abundance na množství organických látek (potravy). Největší početnost u gleje lze vysvětlit aktivací „mrtvých“ a v půdě dosud neaktivních jednotek.

Tab. 7: Statistické vyhodnocení variace stanovení počtu bakterií s 95% přesností.

Č. buňky	Vzorek	Bakterie Průměr	1	2
1	A	57500	a	
2	B	240000	a	
3	C	455000		b
4	G	605000		b

Na masopeptonovém agaru, který byl 100krát ředěný se situace z části obrátila. Především u výluhu ze substrátu sukcesní fáze primárních kolonizátorů, kde bakterie dosáhly největšího zastoupení. Navíc, stejně jako u ostatních vzorků, o řád více, než na živiny bohatším médiu (neředěném). Je to přirozená reakce mikrobů, kteří měli metabolismus přizpůsobený mnohem menšímu množství živin ve svém okolí. V (živinově) horším prostředí proto prospívají mnohem lépe, nežli v bohatém agaru.

Tab. 8: Statistické vyhodnocení variace stanovení počtu bakterií kultivovaných na ředěném médiu s 95% přesností.

Č. buňky	Vzorek	Bakterie ř. Průměr	1	2
3	C	1420000	a	
2	B	1600000	a	
4	G	2160000	a	b
1	A	3260000		b

I přes tato vysvětlení je ale nutno podotknout, že se nejedná o příliš objektivní a transparentní metodu. To dosvědčuje i právě tento nesoulad výsledků a odlišnost trendů. Hlavní příčinou je, že umělé médium v laboratorních podmínkách se nikdy ani zdaleka nepřiblíží přirozeným podmínkám mikroorganismů v půdě. Vzorek půdy je vytržen z kontextu celého ekosystému, vysušen, jsou zničeny symbiotické a kooperační procesy. Skupiny zastupující dominantní část aktivního spektra mikrobů hynou a kultivovány jsou dosud životaschopné jednotky. Umělé živné selektivní agarové médium nikdy nehradí výživu mikroorganismům živících se metabolickými produkty jiných mikrobů a rostlin. Velkou část druhů půdní bioty dokonce nelze v laboratoři vůbec pěstovat – patří mezi skupinu nekultivovatelných mikroorganismů. Dodnes také není jasná proporce mezi příslušníky KTJ, kteří jsou životaschopní v původním prostředí a kteří jsou makroskopicky viditelní při kultivaci. Tato metoda poskytuje informace jen o zlomku životaschopných mikroorganismů, obvykle pouze o 1 – 9 %.

Množství bakterií vytvářejících spóry (jednotka schopná přežít nepříznivé podmínky, pasteraci) bylo řádově stejné jako u bakterií v klasické živné půdě i se stejným trendem mezi sukcesními stádii. Pouze u glejové půdy došlo ke zřetelnému propadu. Statisticky průkazný rozdíl však nebyl prokázán (viz tab. č. 9).

Tab. 9: Statistické vyhodnocení variace stanovení počtu sporulujících bakterií s 95% přesností.

Č. buňky	**Vzorek**	**Bakterie sp.** **Průměr**	**1**
1	A	366667	a
2	B	633333	a
4	G	733333	a
3	C	1200000	a

Řeřichový test

Na závěr jsme vzorky půd podrobily řeřichovému testu fytotoxicity. Všechny konečné hodnoty jsou shrnuty v následujících tabulkách č. 10 a 11.

Tab. 10: Naměřené výsledky

Kontrolní		**A**		**B**		**C**		**G**	
Délka klíčku	Klíčivost	Délka klíčku	Klíčivost	Délka klíčku	Klíčivost	Délka klíčku	Klíčivost	Délka klíčku	Klíčivost
5,8 mm	93,88 %	6,5 mm	87,76 %	7,9 mm	85,71 %	6,4 mm	85,71 %	6,5 mm	86,36 %

Tab. 11: Fytotoxicita (%)

A	**B**	**C**	**G**
104,76	124,35	100,74	103,09

V testu klíčivosti mezi vzorky není patrný žádný významný rozdíl, zato všechny jsou jasně pod vzorkem kontrolním. To poukazuje na to, že roztok z každého vzorku půdy má jistou míru inhibice klíčivosti.Výsledky měření délky klíčků řeřichy dopadl naopak ve prospěch vzorků půd oproti kontrolnímu, i když rozdíl není příliš markantní. Tyto dva protichůdné trendy ale dokazují, že čím více je půda vyvinutá, její půdní roztok sice nepatrně inhibuje klíčivost semen, zato má ale naopak pozitivní vliv na ty, kterým se vyklíčit podařilo. To bývá vysvětleno přítomností většího množstvím živin, uhlíkatých organických látek, fytohormonů a také mikroorganismů usnadňujících život rostliny.

ZÁVĚR

Hlavním cílem mé práce bylo porovnat aktivitu půdních mikroorganismů v různých fázích kolonizace horninového substrátu a během sukcese. Jako modelová lokalita byl zvolen Uhlířský vrch a opuštěný lom čediče v jeho jižním svahu. Aktivitu mikroorganismů jednotlivých stanovišť jsme porovnávali třemi metodami: porovnáním hospodaření mikrobů s dusíkem – záchyt přebytečného reaktivního dusíku na iontoměničích, dále stanovením zastoupení základních ekologických (fyziologických) skupin mikroorganismů a nakonec řeřichovým testem. Jako typické fáze sukcese byly vybrány: A – minerální substrát s primárními kolonizátory; B – půda v určitém stupni vývoje s travním společenstvem; C – půda v lesním (stabilizovaném) ekosystému a G – glejová půda (půda vzniklá na stejné hornině, ale s odlišnou trajektorií sukcese a pedogeneze).

Rozdílné množství zachyceného amonného dusíku na jednotlivých stanovištích dokládá zvýšení jeho dostupnosti v průběhu sukcese. Statisticky vysoce významný rozdíl byl prokázán již mezi prvními dvěma fázemi sukcese, což nás vede k potvrzení faktů uváděných v literatuře o navyšování množství dusíku v globálním ekosystému a o dusíkové kaskádě. Srovnatelné množství zachyceného nitrátového dusíku v jednotlivých variantách může být projevem stabilizace výstupů dusíku z ekosystému ve změněném režimu celkového nadbytku dusíku.

Výsledky stanovení abundance dopadly většinou podle předpokládaných hypotéz – odchylky v početnosti zastoupení fyziologických skupin mikroorganismů většinou přímo souvisely s půdními podmínkami, dostupností živin (například houby a celulolytické mikroorganismy), nebo např. s ekologickými vztahy mezi mikroorganismy a vegetací (např. fixátoři vzdušného dusíku). Především u stanovovení počtu bakterií se potvrdila omezená vypovídací schopnost této metody (více viz kapitola Výsledky a diskuze). Ta se přesto dosud využívá a neexistuje za ni adekvátní náhrada.

Řeřichovým testem se podařilo prokázat u všech vzorků menší míru fytotoxicity ve srovnání s kontrolními vzorky s destilovanou vodou, ovšem nejvíce fytostimulativní (umožňující rychlý a zdravý růst a vývoj rostlin) byla půda travního společenstva.

Výsledky všech experimentů lze shrnout konstatováním, že mezi jednotlivými fázemi sukcese lze pozorovat kladný trend aktivity mikroorganismů, růst jejich početnosti, zvyšování dostupnosti dusíku a také to, že nejlepší podmínky k životu umožňovala půda travního a lesního – klimaxovému stavu nejbližšího společenstva.

Na základě této práce doporučuji další sledování dostupnosti dusíku v průběhu primární sukcese, se zaměřením na její ranní fáze. Naše experimenty dokázaly, že již zde dochází k nadbytku dostupného dusíku, což je jev nepřirozený a projevující se pouze několik posledních desetiletí. Tím se vysvětlují některé nově pozorované projevy rostlin – zvýšená produkce biomasy u mechorostů, invaze exotických druhů rostlin do našich ekosystému, ztráta biodiverzity a urychlený průběh sukcese.

LITERATURA

CHMELÁR Š., 2009: Výskyt hydromorfních znaků v půdních profilech lokality Uhlířský vrch. Bakalářská práce (in MS), MZLU v Brně, 58 s.

OULEHLE F., HRUŠKA J., 2008: Dusík v lesních ekosystémech. In Zrcadlo přeměn, Biogeochemie, Vesmír, č. 87, s. 886 – 890.

SUTTON M. A. et al., 2011: The European Nitrogen Assessment. Cambridge University Press, 664 s., dostupné také z WWW: <http://www.nine-esf.org/ENA-Book>.

ZÁHORA J., MIKULIČOVÁ M., PLŠKOVÁ M., TRČKOVÁ K., VESELKOVÁ K., 2000: Využití iontoměničů ke stanovení dostupnosti minerálního dusíku v rhizosféře luční půdy. In KRYŠTŮFEK V., ELHOTTOVÁ D., FROUZ J., ŠUSTR V. (eds.): Sborník 7. metodického semináře: Interakce půdních mikroorganismů, bezobratlých a kořenů rostlin, České Budějovice, ÚPB AV ČR, 53 s.

WATER QUALITY OF SELECTED TRIBUTARIES OF THE RIVER SVRATKA UNDER THE VÍR DAM

Grmela J., Kopp R.

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 aim was to monitor the water quality of major tributaries of the river Svratka in the section below the Vír dam. For follow-up were selected tributaries Besének, Loučka, Nedvědička, Chlebský stream Hodonínka, Vrtěžířský stream and Tresný creek. Monitoring took place from March to August 2011. Temperature, oxygen content in water, pH and conductivity were measured by portable devices Hach HQ40d and Hanna combo. At the same time we have to sample water for chemical analysis in the laboratory. The data revealed that the water in tributaries, according to CSN 75 7221 and slightly polluted tributary Besének is dirty. The quality of water is equivalent to values for salmonid waters.

Key words: tributary, hydrochemistry, creek, water quality, conductivity, pollution

Acknowledgement: This study was supported by the Internal Grant Agency Individual Project IP 4/2011, Internal Grant Agency Team project TP 05/2011 and 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

Úsek řeky Svratky pod údolní nádrží Vír je velice významným sekundárním pstruhovým revírem. Co se týká ichtyofauny, je obýván zejména lososovitými rybami, lipanem podhorním a dalšími druhy s vyššími nároky na kvalitu vody. Chemismus vody má přímý vliv na biotu toku. Jeho sledování je důležitým aspektem pro udržení a také případné zlepšení ekologického stavu a stability. Menší přítoky mohou mít významný vliv na chemismus celé řeky. Běžná lidská činnost mívá zpravidla nepříznivý vliv na kvalitu vodního prostředí. Řeka Svratka a její přítoky se nachází v turisticky zajímavé oblasti s četnými zemědělsky obhospodařovanými pozemky a rekreačními objekty, u nichž je známo, že ne všechny mají správně řešenou likvidaci odpadních vod, které pak nezřídka končí neupravené ve vodních tocích. Tento fakt může mít velký vliv na samotné přítoky a tak i celou řeku. Menší toky jsou méně vodnaté, a proto se v nich může znečištění více koncentrovat, hlavně v letních měsících kdy bývají nízké průtoky a činnost lidí v okolí potoků je vysoká. V rámci řešení individuálního projektu IGA proběhlo v roce 2011 na úseku řeky Svratky od města Tišnov po obec Koroužné sledování významných přítoků.

MATERIÁL A METODIKA

Při výběru přítoků byl kladen důraz na dostatečnou vodnatost v průběhu celého roku a také aby plocha jejich povodí zabírala významnou část krajiny.

Pro sledování byly vybrány přítoky Besének (délka toku 17,2 km, plocha povodí 69,1 km^2), Loučka (délka toku 60,1 km, plocha povodí 390 km^2), Nedvědička (28,6 km, 85,4 km^2), Chlebský potok (8 km), Hodonínka (23,4 km, 67,9 km^2), Vrtěžířský potok (3 km) a Tresný potok (8 km). Monitoring na vybraných lokalitách se opakoval v měsíčních intervalech od března do srpna roku 2011. Přímo v terénu byly zjišťovány základní hydrochemické parametry vody pomocí přenosných přístrojů. Množství rozpuštěného kyslíku, teplota vody a hodnota pH byly měřeny přístrojem Hach HQ40d a vodivost vody (konduktivita) přístrojem Hanna combo. Místo měření a odběru vody bylo vždy těsně před ústím přítoku do řeky.

Následnou chemickou analýzou v laboratoři byly stanovovány vybrané parametry vodního prostředí nejvíce související s nároky ichtyofauny na životní prostředí:
obsah celkového N – spektrofotometrické stanovení pomocí setu od firmy WTW číslo 14537.

obsah celkového P – komerční set od firmy WTW pro spektrofotometrické stanovení celkového P

$CHSK_{Cr}$ – chemická spotřeba kyslíku, stanovení oxidovatelnosti dichromanem draselným komerční semimikrometodou, set WTW, stanovení spektrofotometrem

Veškerá spektrofotometrická stanovení byla měřena přístrojem PhotoLab 6600 UV-VIS od výrobce WTW.

Amonné ionty N-NH_4^+ - reakce amonných iontů se salycilanem sodným a chlornanovými ionty v prostředí nitroprussidu sodného za vzniku modrého zbarvení, intenzita zbarvení je úměrná koncentraci NH_4^+ iontů. Stanovení koncentrace fotokolorimetricky při vlnové délce 655 nm.

Dusičnanový dusík N-NO_3^- - dusičnany reagují s dimethylfenolem v prostředí směsi koncentrovaných kyselin za vzniku cihlového zbarvení, jeho intenzita je úměrná obsahu dusičnanů, Spektrofotometrické stanovení obsahu dusičnanů při vlnové délce 330 nm.

Dusitanový dusík N-NO_2^- - při diazotaci kyseliny sulfanilové přítomnými dusitany a kopulace diazoniové soli s N-(1-naftyl) ethylendiamindihydrochloridem za vzniku červeného azobarviva, intenzita zabarvení je přímo úměrná obsahu dusitanů, měří se absorbance při vlnové délce 540 nm.

Fosforečnany P-PO_4^{3+} - orthofosforečnany reagují v prostředí kyseliny sírové za katalytického účinku antimonových iontů s molybdenanem amonným. Redukcí kyselinou askorbovou vzniká fosfomolybdenový modrý roztok vhodný k spektrofotometrickému stanovení při vlnové délce 690 nm nebo 880 nm při použití hnědožlutého filtru.

Kyselinová Neutralizační Kapacita (KNK) – dříve označována jako alkalita se stanovuje titrací HCL do pH 4,5 na methyloranž

VÝSLEDKY A DISKUZE

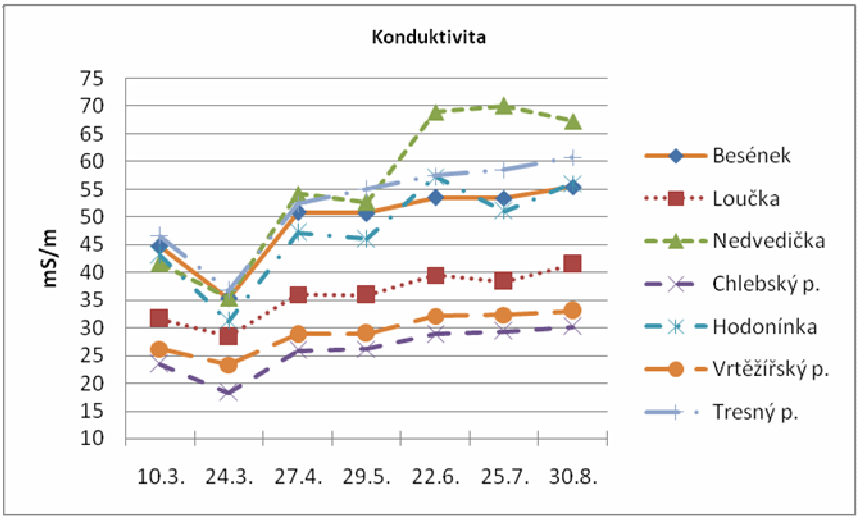
V průběhu sledování od března do srpna roku 2011 byly sedmkrát změřeny základní fyzikálně-chemické parametry vody a šestkrát byly odebrány vzorky vody pro analýzu v měsíčních intervalech.

Tab. 1 Základní hydrochemické parametry – průměrné hodnoty za celé sledování

lokalita	T (°C)	O_2 (mg.l^{-1})	O_2 (%)	pH	Vodivost (mS.m^{-1})
Besének	9,4	10,83	95,7	8,18	49,1
Loučka	10,6	11,56	105,2	8,27	35,9
Nedvědička	10,7	11,45	105,4	8,45	55,8
Chlebský p.	9,6	10,71	96,0	8,22	26,0
Hodonínka	11,0	11,10	103,4	8,63	47,4
Vrtěžířský p.	11,5	10,92	102,6	8,96	29,2
Tresný p.	9,0	11,02	98,0	8,28	52,5

Významným ukazatelem z hlediska jakosti vody je její vodivost. Hodnota konduktivity (vodivosti) vody je přímo úměrná množství přítomných iontů a ukazuje tedy na míru organického zatížení, respektive na obsah minerálních iontů ve vodě (HÁJEK, 2000).

Graf 1 - Hodnoty konduktivity v mS.m^{-1} pro jednotlivé lokality



Z grafu č.1 je patrná vzrůstající tendence hodnot vodivosti u všech sledovaných toků. Zvyšující se vodivost odpovídá růstu koncentrace látek ve vodě z důvodu zvýšeného odparu v teplém ročním období, snížení průtoku v létě a také může souviset se zvýšenou lidskou činností v okolí přítoků, kde se nacházejí četné rekreační objekty a zemědělské plochy. Extrémní hodnoty konduktivity na řece Nedvědičce v měsících červnu, červenci a srpnu, byly patrně způsobeny v důsledku stavebních prací v korytě probíhajících řádově 500 metrů nad místem odběru vzorků.

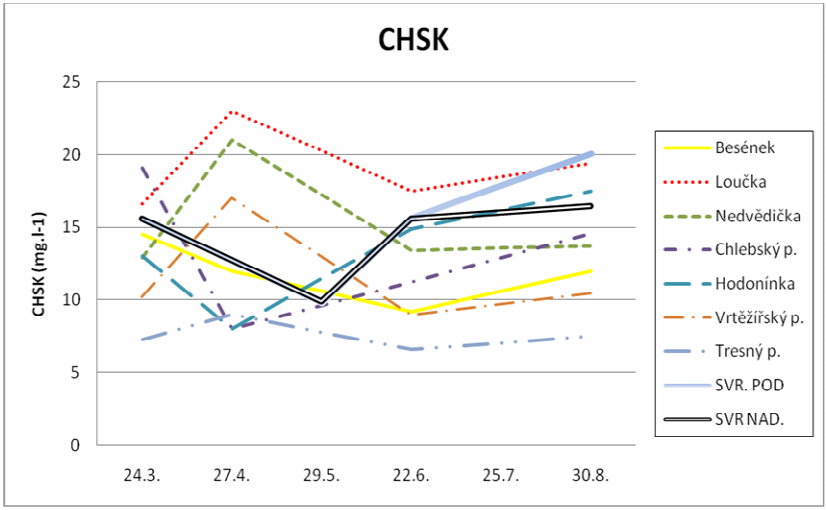
Tab. 2 Průměrné hodnoty chemických parametrů sledovaných přítoků

Přítok	$N_{cel.}$ mg.l^{-1}	$P_{cel.}$ mg.l^{-1}	CHSK $_{Cr}$ mg.l^{-1}	N-NH_4 mg.l^{-1}	N-NO_2 mg.l^{-1}	P-PO_4 mg.l^{-1}	N-NO_3 mg.l^{-1}	KNK mg.l^{-1}
Besének	5,650	0,195	11,4	0,018	0,024	0,154	4,78	3,23
Loučka	4,483	0,185	17,6	0,005	0,032	0,126	3,69	1,82
Nedvědička	4,667	0,150	14,1	0,012	0,021	0,119	3,62	1,72
Chlebský p.	3,217	0,163	12,7	0,003	0,009	0,120	2,62	1,80
Hodonínka	6,200	0,120	13,3	0,013	0,030	0,084	5,42	2,18
Vrtěžířský p.	4,650	0,082	11,0	0,037	0,011	0,062	3,58	1,54
Tresný p.	5,733	0,080	7,8	0,013	0,036	0,112	4,77	2,50

Obsah celkového fosforu na lokalitě Besének odpovídá dle normy ČSN 75 7221 znečištěné vodě. U ostatních pouze na mírně znečištěnou vodu. Z hlediska obsahu dusitanů je čistá voda v Chlebském potoce, u ostatních vykazují hodnoty mírně znečištěnou vodu. Mírně znečištěnou

vodu dle hodnoty CHSK vykazuje říčka Loučka, ostatní lokality jsou dle tohoto kritéria hodnoceny jako voda čistá.

Graf 2 $CHSK_{Cr}$ v průběhu sledování



Z grafu lze vyčíst vliv přítoků na hodnotu CHSK v řece v průběhu letních měsíců.

Stanovení hodnoty CHSK je nedílnou součástí každého rozboru povrchových vod. Jeho hodnota odpovídá míře organického zatížení. Čisté vody vykazují hodnotu CHSK nižší než 50 $mg.l^{-1}$ (HETEŠA, KOČKOVÁ, 1997).

Tab. 2 – Vybrané hodnoty hydrochemických parametrů pro určení jakosti vody.

Obecné, fyzikální a chemické ukazatele						
Ukazatel	Jednotka	Třída				
		I	II	III	IV	V
konduktivita	$mS.m^{-1}$	< 40	< 70	< 110	< 160	> 160
$CHSK_{Cr}$	$mg.l^{-1}$	< 15	< 25	< 45	< 60	> 60
dusičnanový dusík	$mg.l^{-1}$	< 3	< 6	< 10	< 13	> 13
celkový fosfor	$mg.l^{-1}$	< 0.05	< 0.15	< 0.4	< 1	> 1
rozpuštěný kyslík	$mg.l^{-1}$	>7,5	>6,5	>5,0	>3,0	≤ 3,0

(podle ČSN 75 7221)

Tab. 3 Zařazení jednotlivých přítoků do kategorií jakosti vody, dle normy ČSN 75 7221

	konduktivita	O2	$CHSK_{Cr}$	$N\text{-}NO_3$	celkový P	Výsl. třída
Besének	II	I	I	II	III	**III**
Loučka	I	I	II	II	II	**II**
Nedvědička	II	I	I	II	II	**II**
Chlebský p.	I	I	I	I	II	**II**
Hodonínka	II	I	I	II	II	**II**
Vrtěžířský p.	I	I	I	II	II	**II**
Tresný p.	II	I	I	II	II	**II**
Svratka pod	II	I	II	II	II	**II**
Svratka nad	II	I	I	II	II	**II**

Zařazení toku do určité kategorie dle jakosti na základě výše uvedené normy odpovídá nejhoršímu parametru (MELČÁKOVÁ, KRUPKA, 2009). Samotná řeka v daném úseku dle zprávy povodí Moravy spadá do třídy II.

Tab. 4 – Zařazení toků do kategorií dle údajů Povodí Moravy s.p. v roce 2010 (dostupná data)

	konduktivita	O2	CHSKCr	N-NO3	celkový P	výsl. Kat.
Besének	II	I	II	III	III	III
Loučka	II	I	III	III	III	III
Nedvědička	II	I	III	III	III	III
Chlebský p.	nesledován	nesledován	nesledován	nesledován	nesledován	nesledován
Hodonínka	nesledován	nesledován	nesledován	nesledován	nesledován	nesledován
Vrtěžířský p.	nesledován	nesledován	nesledován	nesledován	nesledován	nesledován
Tresný p.	nesledován	nesledován	nesledován	nesledován	nesledován	nesledován
Svratka pod	II	I	III	III	III	III
Svratka nad	I	I	II	II	II	II

(PROCHÁZKOVÁ, KOSOUR, a kol. 2011)

Tab. 5 Ukazatele a hodnoty jakosti povrchových vod vhodných pro život a reprodukci.

Ukazatel	Hodnoty pro vody lososové		Hodnoty pro vody kaprové	
	cílové	přípustné	cílové	přípustné
Rozpuštěný kyslík (mg/l)	50 % ≥ 9 100% ≥ 7	50 % ≥ 9	50 ≥ 8 100% ≥ 5	50'% ≥ 7
pH		6.9		6.9
Amonné ionty (mg/l)	≤ 0,04	≤ 1	≤ 0,2	≤ 1
Dusitany (mg/l)	≤ 0,6		≤ 0,9	

(dle nařízení vlády č. 71/2003 Sb.)

Všechny zkoumané přítoky v průměru odpovídaly kvalitou vody cílovým hodnotám obsahu látek pro vody lososové dle Nařízení vlády č. 71/2003 Sb.

ZÁVĚR

Ze sledování vyplývá, že kvalita vody v přítocích odpovídá standardům pro vody lososové, tedy vhodné pro život lososovitých druhů ryb a lipana podhorního. Kvalitou vody spadají přítoky do druhé jakostní třídy, tedy voda mírně znečištěná, kromě přítoku Besének, který svými parametry patří do třetí třídy jakosti (voda znečištěná).

Na Besénku leží nejblíže odběrnému místu obce Lomnička a Šerkovice. Obě tyto obce jsou napojeny na společnou ČOV. Tento potok protéká těsně před ústím zahrádkářskou kolonií s početnou zástavbou chat. Je možné, že ne všechny objekty jsou napojeny na kanalizaci nebo septik, a tak mohou nepříznivě ovlivňovat kvalitu vody v přítoku.

Naše sledování neprokázalo velmi významný vliv přítoků na kvalitu vody v samotné řece, avšak údaje Povodí Moravy ukazují změnu jakostní třídy mezi lokalitami nad sledovanými přítoky a pod nimi o jeden stupeň k horšímu. Jejich údaje z roku 2010 o jakosti vody v přítocích Besének, Loučka, Nedvědička a na Svratce nad přítoky vykazují třetí jakostní stupeň, tedy vodu znečištěnou. To je oproti našemu zjištění o stupeň horší jakost.

Vliv přítoků na samotnou řeku má velký význam nejen z hlediska rybářského či hydrobiologického, ale i z hlediska obecného zájmu. Zvýšený obsah živin ve vodních tocích má přímý dopad na eutrofizaci nádrží, na kterých je pak silně omezen jejich rekreační význam. Jako příklad výborně poslouží aktuální případ brněnské přehrady, který má přímou souvislost se sledováním chemismu řeky Svratky a jejích přítoků právě v úseku pod vodní nádrží Vír.

LITERATURA

HETEŠA, J. - KOČKOVÁ, E. (1997): *Hydrochemie.* – Skriptum MZLU Brno, 106 s.

HÁJEK, M. (2000): *Měření fyzikálně-chemických vlastností vody přenosnými přístroji* In: Stanová, V. (ed.) Rašeliniská Slovenska. DAPHNE . Inštitút aplikovanej ekológie, Bratislava, str. 77-83.

MELČÁKOVÁ, I. - KRUPKA, J. (2009): *Metody studia ekosystémů – studium vodních ekosystémů* Modelová studie tekoucích vod. Učební text, VŠB Ostrava, 23 s.

VLČEK, V. a kol. (1984): *Vodní toky a nádrže*, Academia Praha 1984, vydání 1., 316 s.

Nařízení Vlády č. 71/2003 Sb. - o stanovení povrchových vod vhodných pro život a reprodukci původních druhů ryb a dalších vodních živočichů a o zjišťování a hodnocení stavu jakosti těchto vod

ČSN 75 7221 - Jakost vod - Klasifikace jakosti povrchových vod

Elektronické zdroje

PROCHÁZKOVÁ, L. KOSOUR, D., a kol. (2011) – *Souhrnná zpráva o vývoji jakosti vod v povodí Moravy ve dvouletí 2009-2010,* dostupné na webu: http://www.pmo.cz/vhc/kvalita2009_2010, citováno 7.10.2011

RESULTS OF PEDOLOGICAL RESEARCHS AT ARCHAEOLOGICAL SITE MIKULČICE-VALY

Hladký J.

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: Jan.hladky@mendelu.cz

ABSTRACT

This paper presents the results of pedoarchaeological research at Mikulčice. The aim was to assess an usabiliti pedoarchaeological methods in distinguishing cultural fillings. An assumption was pronounced that a cultural filling from great Moravia time have a has distinct features than a cultural filling from other time. An amount of P and C, Cox, humus, loss on ignitron, texture and physical analyses were made. Results of these analyses have confirmed this assumption.

Key words: pedoarchaeology, Mikulčice, cultural filling, phosphorus

ÚVOD

Mikulčice jsou v současné době jednou z nevýznamnějších archeologických památek nejen na našem území, ale i ve Střední Evropě. Této skutečnosti odpovídá i rozsah archeologického výzkumu. Ten se však neorientuje pouze na klasickou archeologii, ale jako na jednom z mála míst v České republice stále nabývá na významu mezioborová spolupráce a to zejména přírodovědných disciplín. Jednou z pomocních věd archeologických je i pedoarcheologie. Tato práce prezentuje výsledky pedoarcheologického výzkumu na lokalitě Mikulčice – Valy. Cílem bylo posoudit využitelnost pedoarcheologických metod při rozlišování výplní kulturních jam. Pokusit se rozlišit na základě výsledků laboratorních rozborů jednotlivé úseky osídlení, které by se měli ve výplni projevit zejména různým množstvím fosforu, uhlíku, humusu a v kvalitě humusu. Dalším neméně důležitým úkolem bylo odlišit od sebe jámy z různých kulturních epoch a v neposlední řadě na základě zrnitostní analýzy zjistit období sedimentačního klidu a období zvýšené záplavové činnosti a tyto výsledky porovnat s literaturou. Zejména s prací E. Opravila.

STRUČNÝ ÚVOD DO PEDOARCHEOLOGIE

Je to mu již téměř sto let, kdy si Olaf Arrhenius uvědomil, že půdy vyskytující se na archeologických lokalitách vykazují zvýšené množství fosforu (1931). Tímto objevem velmi pozvolna započal vývoj vědní disciplíny, která je dnes běžně ve světové literatuře označována jako pedoarcheologie (někdy se užívá termín archeopedologie). Tento termín prvně uveřejnil ruský badatel C. C. Nikiforoff roku 1943. Nikiforoff se věnoval paleopedologii a zajímal se i o půdy související s výskytem archeologických památek. Nikiforoff si však uvědomil, že na tyto půdy nemůže být pohlíženo jako na půdy fosilní a navrhl, aby se odborníci, kteří se věnují půdám vyskytujících se na lokalitách archeologických nálezů, jejich změnám a přeměnám nenazývali paleopedologové, nýbrž archeopedologové (Nikiforoff, 1943).

Pedoarcheologie vychází z jednoduchého, ale v literatuře mnohokrát ověřeného faktu, že každá lidská aktivita způsobí v půdě změny. Výsledkem těchto změn jsou vlastnosti odlišné od půd, které touto činností ovlivněné nebyly. K takovýmto aktivitám patří zejména zemědělská činnost, ukládání odpadů, řemeslné práce, rituální aktivity i zcela běžné činnosti jako příprava a konzumace jídla. Archeologové tedy mohou pomocí poznatků pedologů získat mnohem přesnější informace o užívání osídleného prostoru, o jeho vnitřním uspořádání, o organizaci zemědělství a řemeslné výroby, o podobě a funkčnímu účelu domů a jiných prostor. Důležitým cílem pedoarcheologie je však také porozumět procesům, které probíhaly v půdě na daném místě v době, kdy docházelo k ukládání artefaktů (Walkington, 2010). WALKINGTON (2010) nazírá na půdu jako na unikátní archiv informací:

- Půda reprezentuje na daném nalezišti unikátní interakci mezi faktory, které ji formovaly a tímto stanovištěm. Jinými slovy půda představuje archiv, v němž jsou uloženy informace týkající se rozvoje terénu na a v blízkosti stanoviště.

- Půda je chápána jako třídimenzionální tělo, ve kterém se vyskytují půdní procesy vertikálně i horizontálně. Dokážeme-li tyto procesy rozeznat a určíme-li příčinu vzniku daného procesu, hlouběji porozumíme celému archeologickému nalezišti.

- Půdy mohou uchovávat paleoekologické indikátory, tak jako pyl, fytolity, pozůstatky zvířat a rostlin. Takové data pomohou získat představu o podmínkách, za jakých se dané naleziště utvářelo a v jakých podmínkách žili jeho obyvatelé. Neméně důležité jsou i informace o vlivu půdního prostředí na tyto paleoekologické indikátory.

- V půdě je uložen záznam o minulém užití a managementu krajiny a využívání prostoru na samotném nalezišti. Půda také uchovává artefakty a pozůstatky staveb.

METODY

Odběr vzorků byl proveden dne 17.8.2010. V prostorách knížecího paláce. Místa byla vybrána archeology. Jedná se o sedimenty velmi tmavého zbarvení se zbytky uhlíků. Pravděpodobně tvořící výplň odpadních jam. Odběrová místa byla celkem tři. V případě sondy číslo 1, která byla označena jako S1 – MAP se jedná o pravděpodobnou odpadní jámu pocházející z doby osídlení před Velkou Moravou o hloubce 100 cm. Druhá sonda byla označena jako S2 – MAP. I v tomto případě se jedná o odpadní jámu, tentokrát však pravděpodobně z období Velké Moravy. Hloubka této jámy byla taktéž cca 100 cm. Odpadní jáma č. 3 s označení 31 -MAP je taktéž velkomoravského data o hloubce 100 cm. Cílem práce je tedy porovnat chemické i fyzikální vlastnosti sedimentů těchto tří jam a potvrdit, případně vyvrátit, že odpadní jámy z různých kulturních dob se budou lišit zejména co do chemických vlastností. Z fyzikálních analýz byl proveden rozbor neporušeného vzorku, zrnitostní analýza, barva. Z chemických analýz byly vzorky podrobeny těmto rozborům: fosfor (SULLIVAN, K. A. – KEALHOFER, L, 2006; OONK, S. – SLOMP, C. P. – HUISMAN, D. J., 2009) organický uhlík a humus (ENTWISTLE, J. A., 2000), ztráta žíháním (STEIN, K. J., 1984). Dále bylo provedeno datování půdy v souladu s metodou OCR (FRINK, D. S., 1994)

PŘÍRODNÍ CHARAKTERISTIKA

Naleziště patří k Dyjsko-moravskému bioregionu. Bioregion je tvořen říčními nivami, patřícími do 1. vegetačního stupně, s jasným vztahem k panonské provincii.

Geomorfologie je klasická nivní, tj. volné meandry 2-4 m hluboko zařízntutých řek, ramena v různém stádiu zazemění, vyvýšeniny hrúdů. Typická výška bioregionu je 155-185 cm.

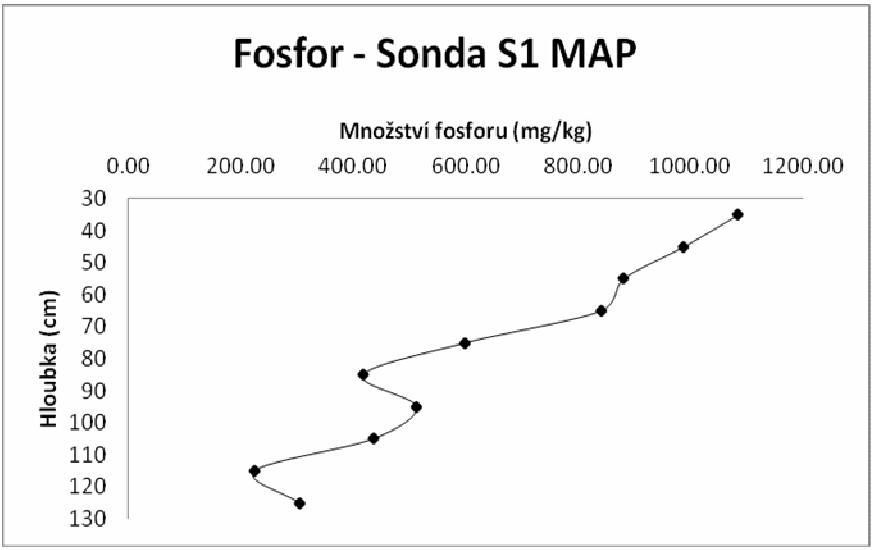
Podkladem bioregionu jsou převážně písky a štěrkopísky, povrch však tvoří 2-5 m mocné nivní hlíny.

Z půd zastoupených v oblasti převažují převážně glejové fluvizemě na bezkarbonátových sedimentech, ve vyšších částech převládají typické fluvizemě. V nivě Moravy jsou zastoupeny hojněji glejové černice. V depresích niv jsou místy úživné půdy slatinné, v mrtvých ramenech jsou typické gleje a hnilokaly. Na hrúdách převažují málo arenické kambizemě nebo rankery.

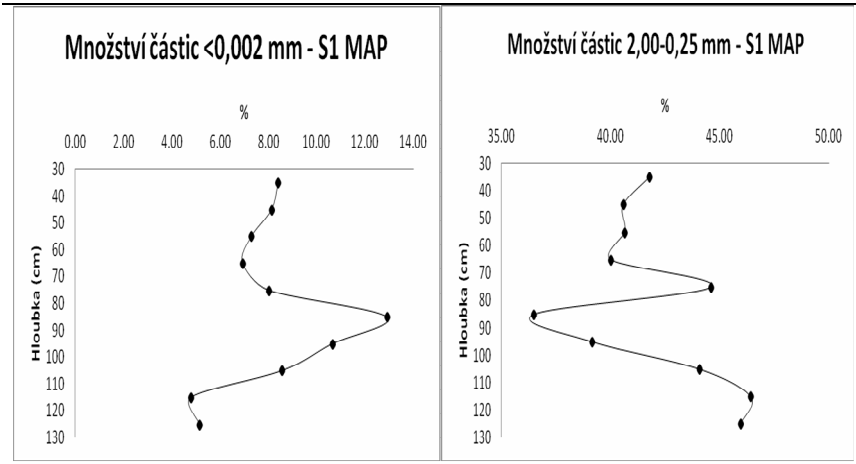
Celý bioregion leží v nejteplejší oblasti ČR – T4. Průměrná teplota je pro stanici Hodonín 9,5°C a průměrné srážky pro tutéž stanici jsou 585 mm.

VÝSLEDKY A DISKUZE

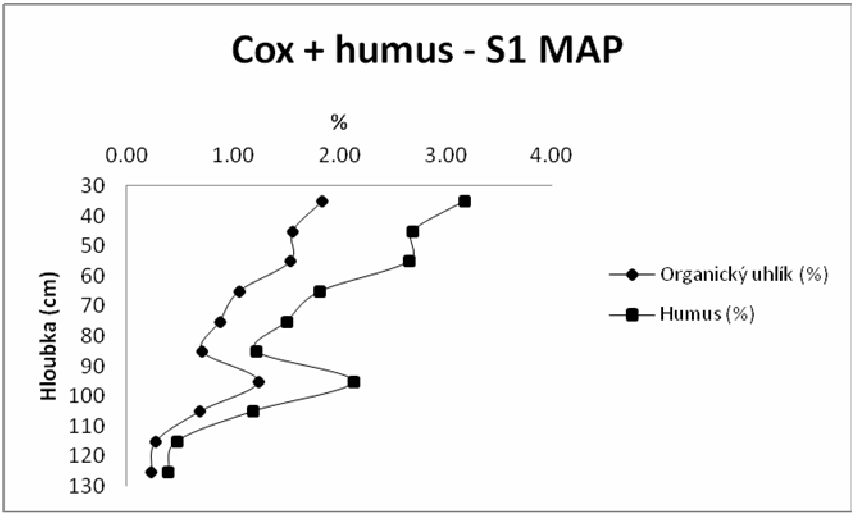
Sonda S1 – MAP



Graf 1: *Fosfor - S1 MAP*



Graf 2: *Průběh zrnitostního složení – S1 MAP*

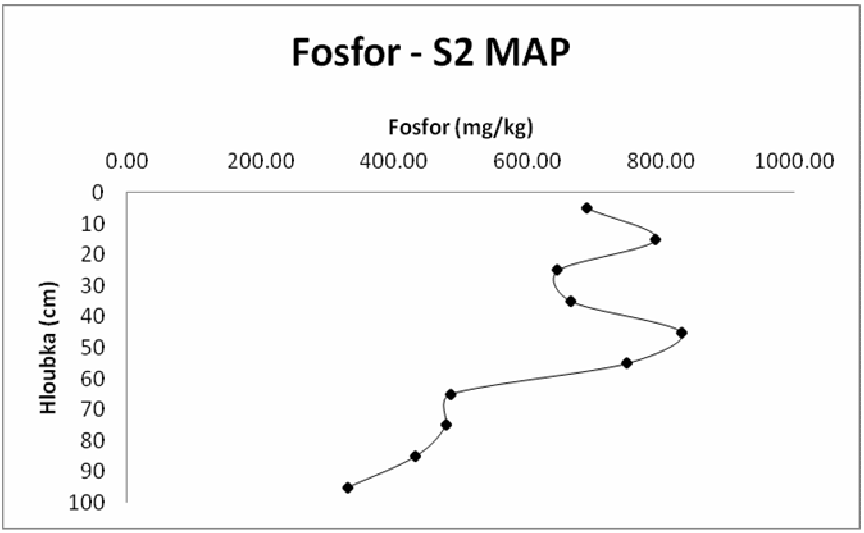


Graf 3: *Cox + humus - S1 MAP*

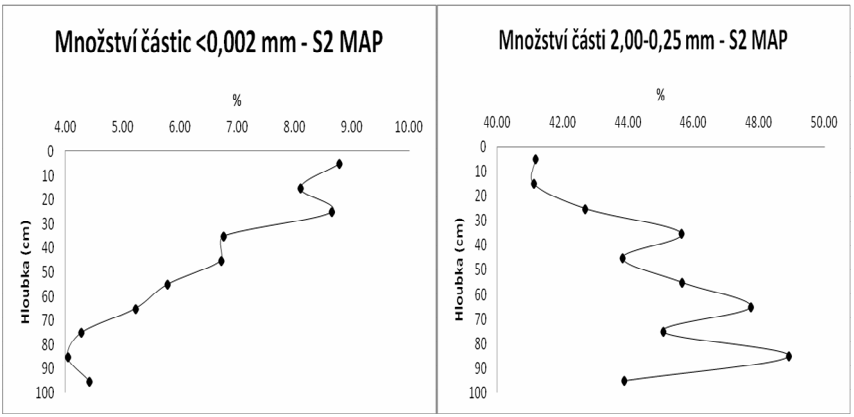
Jedná se o výplň odpadní jámy, která byla zbudována v písčitých náplavech řeky Moravy. Podle nálezů byla provedena archeologická datace, která jámu řadí do předvelkomoravského období. Samotná sonda byla 130 cm hluboká. Prvních 30 cm však bylo tvořeno kamenou zdí paláce. Dalších 30 – 70 cm tvořily písčité sedimenty, tmavé barvy, které mají v celém tomto úseku homogení vlastnosti. V 80 cm dochází k náhle změně u téměř všech sledovaných charakteristik.

Mění se zrnitostní složení, kdy narůstá obsah jílu a klesá množství písku. V této hloubce také dochází k nárustu množství fosforu, Cox, humusu i totálního uhlíku. Také se zde vyskkytovalo velké množství uhlíků a kostí. Pravděpodobně se jedná o počátek samotné odpadní jámy. Která později byla v důsledku záplav překryta vrstvou písku homogeních vlastností (JOYCE, A. A. – MUELLER, R. G., 1992).

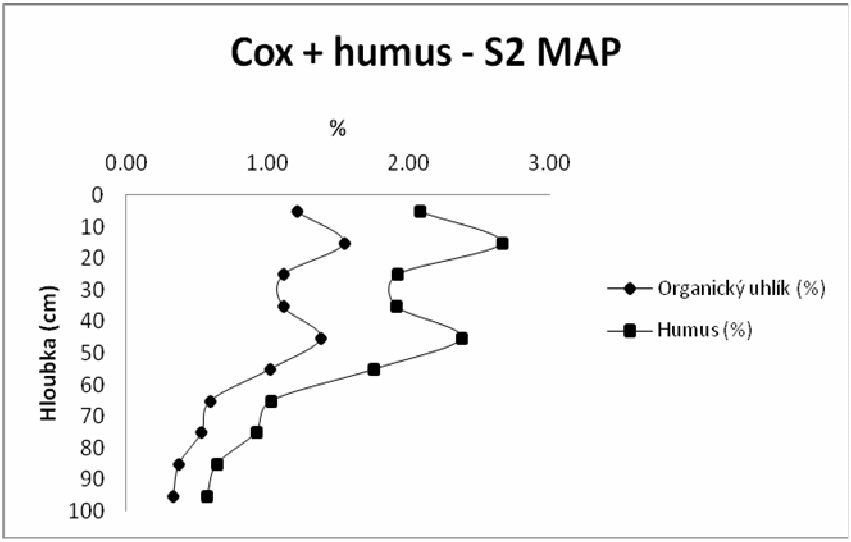
Sonda S2 – MAP



Graf 4: Fosfor - S2 MAP



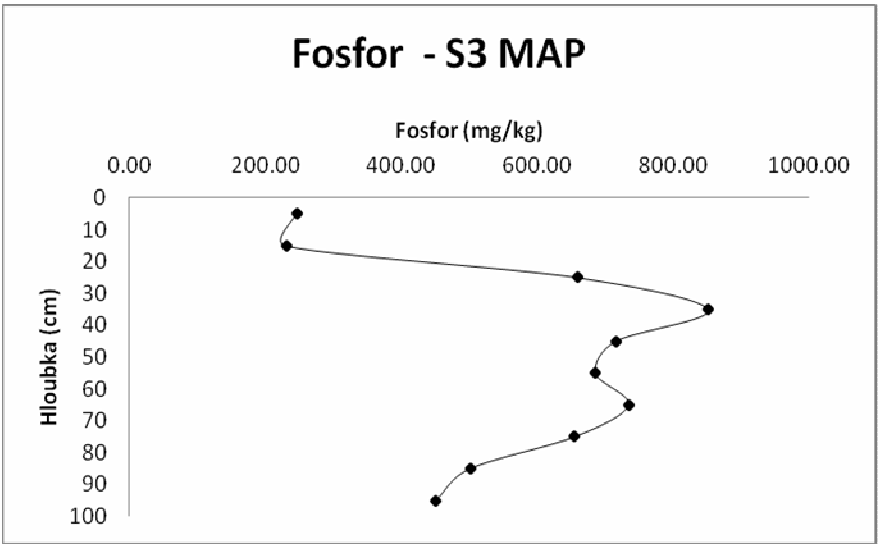
Graf 5: *Průběh zrnitostního složení - S2 MAP*



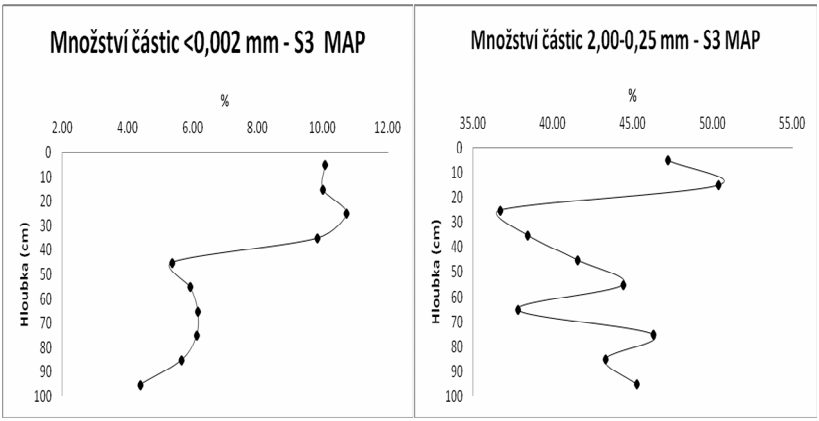
Graf 6: *Cox + humus - S2 MAP*

V případě sondy S2 MAP se jedná taktéž o výpň odpadní jámy. Celková hloubka sondy byla 100 cm. Odpadní jáma sahala přibližně od 10 cm do asi 60 cm. Tato jáma již pochází z velkomoravského období. Překvapením bylo zjištění, že ve vrstvě tvořící výplň odpadní jámy (10 -60 cm) byly nalezeny dva výrazné vrcholy obsahu fosforu. Stejný vývoj má však průběh i dalších sledovaných charakteristik. To může svědčit o jisté diskontinuitě v obývání tohoto prostoru. Kdy bylo období silného využívání vystřídáno období méně intenzivního osídlení plochy, na které bezprostředně navazuje další intenzivní užití okolních ploch (KUDRNÁČ, J., 1962). Pod touto odpadní vrstvou je od zhruba 60 cm až ke dnu sondy písčitá náplava. Zajimavé je, že dochází ke střídání poklesu a nárustu písku. Tento jev je pravděpodobně způsoben záplavovou činností řeky Moravy (FOSS, J. E. – LEWIS, R. J. – TIMPSON, M. E., 1995). Nárust písku znamená že tekoucí voda měla větší sílu a tedy, že záplavy byly větší intenzity.

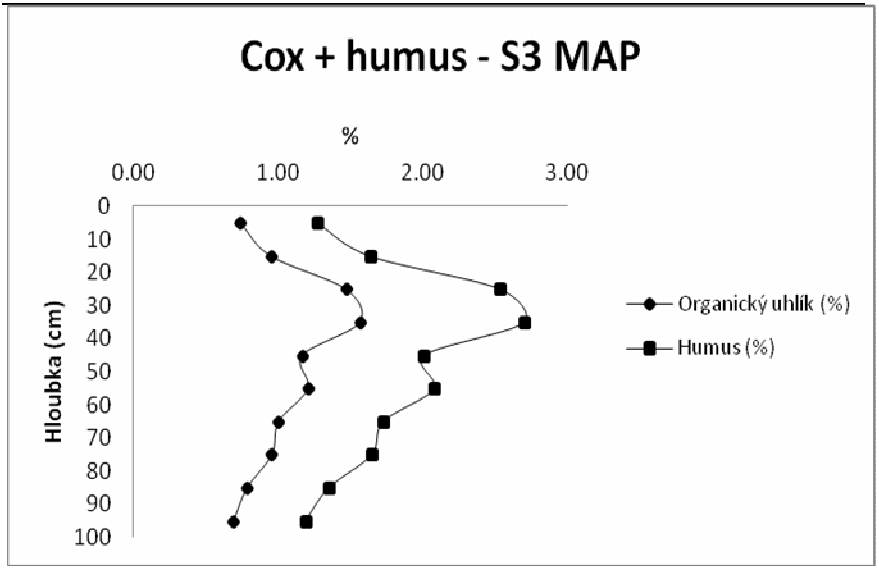
Sonda S3 – MAP



Graf 7: *Fosfor - S3 MAP*



Graf 8: *Průběh zrnitostního složení - S3 MAP*



Graf 9: *Cox + humus - S3 MAP*

I v případě poslední sondy se jedná o odpadní jámu z velkomoravského období. Celková hloubka sondy byla 100 cm. Samotná odpadní jáma sahala do přibližně 60 cm. I zde bylo překvapením, že obraz vývoje fosforu ukázal dva vrcholy. Velmi podobný průběh mají i další sledované charakteristiky. I tato sonda svědčí o tom, že v době Velké Moravy panoval v údolní nivě sedimentační klid. Zejména zrnitostní charakteristiky totiž nevykazují v hloubce 0-10 cm výraznější anomálie. Jinak tomu je v hloubce 60-100 cm. Opět se pravděpodobně jedná o diskontinuity vývoje způsobené zvýšenou záplavovou činností řeky Moravy (FOSS, J. E. – LEWIS, R. J. – TIMPSON, M. E., 1995).

ZÁVĚR

Při použití pedoarcheologických metod se podařilo od sebe odlišit odpadní jámu z předvelkomoravského období od odpadních jam z velkomoravského období. Rozdíl byl zejména v zrnitostním složení, množství fosforu, humusu a především ve kvalitě humusu. Fosforová analýza navíc prokázala, že je možné fosfor užít i k rozlišení dvou sídelních etap na jednom prostoru. Výsledky mají velký potenciál pro budoucí práci. Budou také využity při přípravě projektu, který se bude věnovat právě rozlišení odpadních jam z různých kulturních epoch.

LITERATURA

Arrhenius, O. (1931), Die Bodenanalyse im Dienst der Archäologie. Zeitschrift fűr Pflanzenernährung, Dűngung, and Bodenkunde Tiel B 10

Conry, M. J., 1972: Pedological Evidence of Man´s Role in Soil Profile Modification in Ireland. *Geoderma* 8, 139-146, ISSN: 0016-6548

Entwistle, J. A., 2000: The geoarchaeological signifikance and spatial variability of a range of physical and chemici soil properties from a former habitation site, Isle of Skye. *Journal of Archaeological Science* 27, 287-303, ISSN: 0305-4403

Foss, J. E. – Lewis, R. J. – Timpson, M. E., 1995: Soils in Alluvial Sequences: Some Archaeological Implications. In: COLLINS, M.: E.Pedological Perspectives in Archaeological Research. Proceedings of two symposia sponsored by Division S-5 of the Soil Science Society of America in Cincinnati, OH, 8. Nov. 1993. SSSA Special Publication Number 44. Soil Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin, USA, 170 p.

Frink, D. S., 1994: The Oxidizable Carbon Ratio (OCR): a Proposed Solution to some of the Problems Encountered with Radiocarbon Data. *North American Archaeologist* 15 (1), 17-29, ISSN: 0197-6931

Joyce, A. A. – Mueller, R. G., 1992: The Social Impact of Anthropogenic Landscape Modification in the Río Verde Drainage Basin, Oaxaca, Mexico. Geoarchaeology: An International Journal 7 (6), 503-526, ISSN: 1520-6548

Kudrnáč, J., 1962: Otázka velikosti zázemí k výživě člověka v době hradištní. *Archeologické rozhledy* 14, 693-697, ISSN: 0323-1267

Nikiforoff, C. C., 1943: Introduction to paleopedology. American Journal of Science 3, 194-201

Oonk, S. – Slomp, C. P. – Huisman, D. J., 2009: Geochemistry as an aid in archaeological prospection and site interpretation: Curren issues and research directions. *Archaeological Prospection* 16, 35-51, ISSN: 1099-0763

Puri, A. N. – Swarnakar, R. D., 1969: Determining Available Phosphoric Acid in Soils. *Geoderma* 2 (2), 85-93, ISSN: 0016-6548

Stein, K. J., 1984: Organic matter and carbonates in archaeological sites. *Journal of Field Archaeology* 11 (2), 239-246, ISSN: 0093-4690

Sullivan, K. A. – Kealhofer, L., 2004: Identifying aktivity areas in archaeological soils from a colonial Virginia house lot using phytolith analysis and soil chemismy. *Journal of Archaeological Science* 31, 1659-1673, ISSN: 0305-4403

Van Moort, J. C. – De Vries, D., 1970: Rapid Carbon Determination by Dry Combustion in Soil Science and Geochemistry. *Geoderma* 4, 109-118, ISSN: 0016-6548

Walkington, H., 2010: Soil Science Applications in Archaeological Contexts: A Review of Key Challenges. *Earth-Science Reviews* 103, 122-134, ISSN: 0012-8252

Watson, J. P., 1969: Some Contributions of Archaeology to Pedology in Central Africa. *Geoderma* 2 (4), 291-296, ISSN: 0016-6548

VERIFICATION OF DEGRADATION OF PACKAGES AVAILABLE ON CZECH REPUBLIC AND POLAND MARKETS UNDER GARDEN COMPOSTING CONDITIONS

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: luka.hlisnik@gmail.com

ABSTRACT

The subject of this article is to make reader acquaint with a part of a longstanding experiment focused on degradation of packages available on Czech a Polish markets. The experiment consists of three sub-experiments.

First experiment tests the biodegradation capability of packages under laboratory conditions. The aim of this part is to simulate intensive composting conditions and to verify the ability of packages decomposing and to observe the impact of the biodegradation process on composted material. This experiment is already finished.

Second part is running on real compost facility. Aim of the part is to verify the decomposing ability of packages under real conditions of industrial composting process. The experiment is still running.

Finally, third part will be focused on verifying the ability of decomposition of packages under real conditions of garden composting.

Third part of experiment will start at the end of April and May 2012. Test will run in eight garden composters, where nine or ten packages in wooden matrixes will be loaded (cellulose filtrate paper as blank). The O_2, temperature and humidity in composters will be also monitored. Samples will be observed every week. The chemical analysis of composting material, focused on heavy metals, will be done before and after experiment to observe the impact of the biodegradation process on environmental. In the end the residues of samples will be washed with distilled water and dried in drier. Weight difference of sample before and after test will be expressed as a percentage weight loss. Presumed term of the test is thirteen weeks.

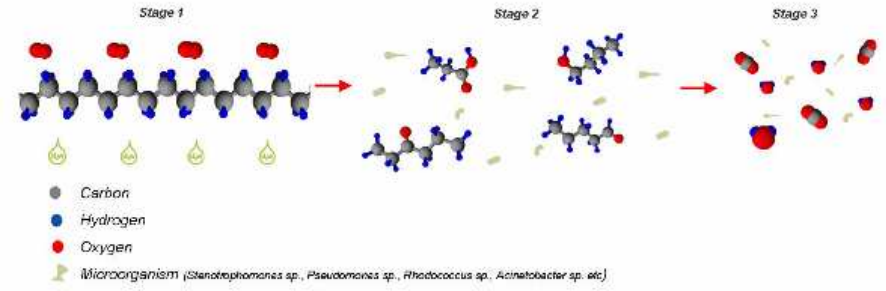
Provisional results from laboratory experiment show positive biodegradation ability of three samples and negative ability of four samples. CFP as blank was positive. It seems that one sample is the cause of higher concentration of lead in composted material. Right now the test is repeated to proof it. Provisional results from second part show similar results as laboratory test. It is expected to obtain very similar results from the third part of the experiment.

Key-words: biodegradable packages, biodegradable plastics, composting

ÚVOD

V poslední době na světě významně roste produkce a používání umělých hmot. „Jejich globální použití představuje více jak 200 mil. tun ročně a roční nárůst se pohybuje přibližně kolem 5% (Siracusa *et al*., 2008). Dynamický nárůst produkce umělých hmot je úzce svázán s jejich každodenním používáním a s jejich širokou škálou využití. Důvodem jejich masivního využívání je jejich odolnost proti vlivům prostředí, nízké pořizovací náklady a snadná manipulace. Bohužel nárůst produkce syntetických hmot způsobuje zároveň nárůst produkce odpadů z nich vznikajících, přičemž většina syntetických polymerů je v podmínkách životního prostředí nerozložitelných. Veliká část těchto výrobků pak končí, kromě svozových oblastí Prahy, Liberce a Brna a kromě složky vytříděné v rámci separovaného sběru komunálních odpadů, na skládkách. „Udává se, že na skládkách je ukládáno 40% celkové produkce polymerových materiálů“ (F.T. Tan *et al*., 2008).

Zmíněná stabilita používaných umělých hmot, která je brána jako pozitivní vlastnost v době svého využití, se tak stává vlastností negativní v okamžiku, kdy se tento produkt stává odpadem. Klasické umělé hmoty jsou velice obtížně rozložitelné ve volném životním prostředí a i na skládkách odpadů setrvávají po mnoho let. Vznikl tak velice závažný problém znečištění životního prostředí, především oceánů, na jehož řešení se v současné době podílejí odborníci z oblasti vývoje materiálů, ochrany životního prostředí, odpadového hospodářství a jiných. Kromě klasických přístupů k řešení nakládání s odpady, jako je podpora recyklace a termického zpracování odpadů, se v poslední době společnosti zaměřily na vývoj a produkci polymerů, které se v životním prostředí rozkládají rychleji, popř. úplně. Vedle klasických polymerů (PE, PET, PP aj.), se tak dnes používají plastické hmoty s přídavkem TDPA (Totally Degradable Plastic Additives) a d_2w (obr. 1) a rovněž zcela rozložitelné plasty, založené na kyselině mléčné, popř. rostlinných škrobech.



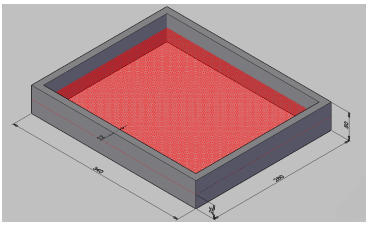
Obr. 1 Působení aditiva d2w na polymer (zdroj: www.degradable.net).

Tento experiment je část rozsáhlejšího pokusu, zaměřeného na testování rozložitelnosti obalových materiálů, u kterých jejich výrobce garantuje schopnost biologické degradace. První část experimentu proběhla v laboratorních podmínkách, kde byl simulován intenzivní kompostovací proces. Druhá část proběhla na Centrální kompostárně Brno a.s. Cílem tohoto pokusu bylo ověření rozkladu obalových materiálů v reálných podmínkách průmyslové kompostárny. O třetí etapě, testování rozkladu obalových materiálů v podmínkách domácího kompostování, pojednává tento článek. Začátek pokusu je plánován na přelom dubna/května 2012.

MATERIÁL A METODIKA

Pro účely tohoto experimentu budou obstarány nákupní plastové tašky, pocházející z českých a polských maloobchodních řetězců. V experimentu budou použity pouze ty plastové obalové materiály, u kterých jejich osoba, která je uvádí na trh, garantuje biologickou rozložitelnost. Celkem bude testováno devět až deset vzorků. Slepý vzorek bude tvořen celulosovým filtračním papírem (CFP). Každý vzorek bude testován ve dvou formách, v první podobě bude vzorek neporušený, v druhé formě bude vzorek rozdělen na části o velikosti 20*20 mm.

Před započetím experimentu budou všechny vzorky zváženy. Po celou dobu experimentu budou vzorky umístěny v dřevených rámech se síťovinou z důvodu optické kontroly a snadnější manipulace v průběhu překopávání kompostovaného materiálu. Vzorky budou kontrolovány jednou týdně.



Obr. 2 Rám pro uchycení tašky

Kompostovaným materiálem bude směs čerstvě posečené trávy a hoblin, smíchaných v poměru 1:3 hmotnostních. V průběhu experimentu bude v domácích kompostérech (ALKO 290) sledován obsah O_2, teplota a vlhkost. Před započetím pokusu a po jeho ukončení bude provedena chemická analýza obsahu těžkých kovů v kompostu, jenž by mohly být residui biologického rozkladu testovaných plastových materiálů.

Po ukončení pokusu budou vzorky očištěny deionizovanou vodou, vysušeny a zváženy. Z rozdílu hmotností se získá procentuální úbytek hmotnosti. Doba experimentu je stanovena na 15 týdnů.

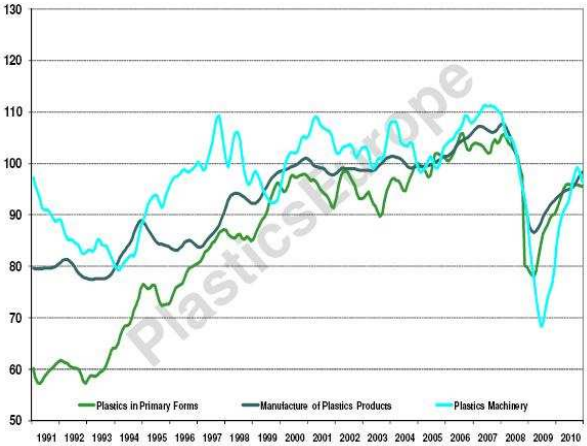
VÝSLEDKY A DISKUZE

Počátek experimentu je plánován na přelom dubna/května 2012. Z tohoto důvodu není možné uvést jakékoliv výsledky z této části pokusu. Na základě výsledků předchozích experimentů, u kterých byly testované shodné vzorky, je však možné uvést předpokládané výstupy.

V předchozím pokusu v laboratoři bylo dosaženo kladných výsledků u tří vzorků. Negativní výsledek byl zaznamenán u čtyř vzorků. Kladný výsledek zaznamenal i slepý vzorek, CFP, a to jak v podmínkách laboratorních, tak i v zakládce na průmyslové kompostárně. Na základě těchto výsledků očekáváme obdobný průběh v podmínkách zahradních kompostérů. V laboratorních podmínkách byl sledován negativní vliv jednoho vzorku na kompostovaný materiál, kde došlo k nežádoucímu nárůstu koncentrace Pb. V současné době probíhá opakování pokusu pro ověření výsledku. Na základě tohoto výsledku se bude i experiment, simulující podmínky domácího kompostování, soustředit, kromě samotného rozkladu nákupních tašek, na chemickou analýzu kompostovaného materiálu a na možné negativní ovlivnění životního prostředí po ukončení rozkladu obalového materiálu.

ZÁVĚR

Do roku 2007 měla produkce plastických hmot v Evropě rostoucí tendenci (obr. 2).



Obr. 2Pprodukce plastových materiálů v Evropě (zdroj: Eurostat / PlasticsEurope Market Research Group (PEMRG))

„Po rekordní světové výrobě plastů v roce 2007 ve výši 260 mil. tun došlo, zejména vlivem začínající krize ve 3. a 4. čtvrtletí, v roce 2008 poprvé po 34 letech k poklesu výroby na 245 mil. tun, tj. 5,8 %“ (Technický týdeník, č.23, 2009). Dle statistických údajů se v dnešní době situace na trhu s plasty zlepšuje. Předpokládá se, že v českých obchodech se ročně rozdá 9 000 tun plastů

v podobě nákupních tašek. V souvislosti s opětovným nárůstem produkce polymerových materiálů se nabízí otázka jak vhodně, z hlediska environmentálního i ekonomického, nakládat s plastovými odpady. Biologicky rozložitelné plasty mohou být vhodným řešením problémů spojených s otázkou ochrany životního prostředí. Společně se zaváděním těchto plastů do oběhu je však nutné i informovat zákazníky o správném způsobu zacházení s těmito výrobky. Informace o biologické rozložitelnosti materiálu mohou být pro spotřebitele velice zavádějící, neboť mohou vést k názoru, že obal se při ponechání v prostředí automaticky rozloží. Kvalifikovaný odhad na dobu potřebnou pro rozložení plastové nákupní tašky, vyrobené z biologicky rozložitelného polymeru, ve volném prostředí je 4 roky. Dosavadní výsledky našeho dlouhodobého experimentu naznačují, že přestože některé plastové obaly nesou označení jako 100% rozložitelné, průběh jejich rozkladu tomu neodpovídá.

LITERATURA

Siracusa V., Rocculi P., Romani S. i Rosa M.D.: Trends in Food Sci.&Technol., 2008, 19, 634-643.

Tan F.T., Cooper D.G., Marić M. i Nicell J.A.: Polym. Degrad. Stab., 2008, 93, 1479-1485.

ČSN EN 13432. *Obaly - Požadavky na obaly využitelné ke kompostování a biodegradaci - Zkušební schéma a kritéria hodnocení pro konečné přijetí obalu*. Praha : ČESKÝ NORAMALIZAČNÍ INSTITUT, 2001. 24 s.

ČSN EN ISO 20200. *Plasty - Stanovení stupně rozkladu plastů za simulovaných podmínek kompostování v laboratorním měřítku.* Praha: ČESKÝ NORAMALIZAČNÍ INSTITUT, 2006. 24 s.

ČSN EN 14806. *Obaly - Předběžné hodnocení rozpadu obalových materiálů v modelových podmínkách kompostování v laboratorním měřítku*. Praha : ČESKÝ NORAMALIZAČNÍ INSTITUT, 2006. 20 s.

Technický týdeník, Světová výroba plastů poprvé poklesla, leč situace se zlepšuje, č. 23, 2009, dostupné na: http://www.techtydenik.cz/detail.php?action=show&id=6053&mark= .

INFLUENCE OF CARBON ON THE AVAILABILITY OF SOIL NITROGEN IN THE ALPINE MEADOW- A METHODOLOGICAL APPROACH

Kintl A., Záhora J., Tůma I.

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

e-mail: xkintl0@mendelu.cz,

ABSTRACT

Alpine meadows which were naturally poor in nitrogen are thanks to anthropogenic atmospheric deposition of nitrogenous substance doped with this element excessively. Higher dotation of nitrogen into alpine ecosystems is projected even in the life manifestation of microbial association which react on these changes very sensitively.

Experimental works were done in the area of Salatín in Western Tatras region in these variations: control, also in variations with nitrogen load simulation and in variation with higher input of phosphorus.

The availability and movement of mineral nitrogen was monitored "in situ" method using ion exchangers. Nitrogen was taken by ion exchangers applied in probes without added nitrogen and in probes with added nitrogen in the form of cellulose.

By this method we could presume indirectly the disposition and intensity of microbial processes connected with mineralization and immobilization of nitrogenous substances depending on the availability of added nitrogen. Higher offer of nitrogenous substances lead to decrease in mineral nitrogen in soil, more in the ammonium form. Higher plant production and with it related higher offer of organic carbon in soil could then inhibit effectively the movement of nitrogen through the soil. From above mentioned we can deduce that present primary plant production does not allow life constituent of ecosystem absorb higher amount of nitrogen coming from the atmosphere. Flooding out the unused and surplus amount of nitrogen acidification the whole ecosystem and postpones its future possible regeneration.

Key words: soil nitrogen mineralization, alpine meadow, acidification

ÚVOD

Jednou z největších zátěžích ohrožující v posledních desetiletích strukturu a fungování přirozených a polopřirozených ekosystémů jsou atmosférické depozice dusíkatých látek (NH_y a NO_x) (Bobbink et al. 1998). Změna dostupnosti živin nasměruje sukcesní vývoj zcela novým směrem (Kalač a Míka 1997). Alpské louky, jinak chudé na dusík, jsou díky antropogenní činnosti tímto prvkem nadměrně obohacovány. Vyšší dostupnost dusíku v alpínských loukách se promítá i do aktivit mikrobiálních společenstvech, které reagují na tyto změny velmi citlivě. Dusík je navíc živinou, jejichž transformace uvnitř ekosystému jsou téměř výlučně regulovány biologickými procesy (Záhora, 2001).

Výskyt zmíněného prvku nepřevyšující metabolické potřeby organismů je vysoce žádoucí. Výskyt ve vyšších koncentracích může působit jako stresující faktor pro život druhů, které citlivě reagují na změnu poměru přístupných živin v prostředí zejména C:N, který udává rychlost mineralizace organických zbytků. Mikroorganismy, stimulované nadbytkem dusíku, zvyšují vlastní metabolické aktivity. Zvýšená mikrobiální respirace představuje nebezpečí zvýšeného úbytku uhlíkatých látek v půdě. Jinými slovy, dusíkaté depozicemi zmenšují poměr C:N v půdní organické hmotě, čímž, se urychluje mineralizace organické hmoty.

Pokud je podíl C:N nižší, převládne mineralizace nad imobilizací a dusík může být z půdy vyplavován Skopcová (2005). Takto se alpínské louky neustále ochuzují o uhlík a jeho dostatek neumožňuje zabudování deponovaného dusíku do organické hmoty a dochází k jeho ztrátám vyplavováním v podobě dusičnanů. Jsou to soli silné kyseliny, váží se v půdě na dostupné bazické kationty (Ca^{2+}; Mg^{2+} a K^{+}). Při vyplavování dusičnanů tak dochází k současným ztrátám klíčových živin půdy a půda se dále acidifikuje. Z ekologického hlediska je dusík opouštějící ekosystém velmi dobrým ukazatelem narušených vazeb v koloběhu N, které mají zásadní vliv na stabilitu ekosystémů a na aktivitu a složení půdních mikrobiálních společenstev (Záhora, 2011).

Metoda studia mikrobiální mineralizace organického půdního dusíku s využitím iontoměničů poskytuje kumulativní výsledky získané *in situ* za celé sledované období, přímo z ekosystému ve kterém se mikrobiální aktivita sleduje. Podstatou metody je zpětné vyextrahování dostupného či nadbytečného minerálního N nahromaděného na výměnných místech ionexových zrn umístěných po určitou dobu v půdě (Binkley a Mason, 1983). Při použití této metody je zachováno působení přirozených faktorů na námi pozorované mikrobiální společenstva jako je pH, půdní vlhkost, teplota.

Pomocí iontoměničů aplikovaných v různých variantách dotací dusíku a fosforu a s přídavkem uhlíku ve formě celulózy Bylo zjišťováno množství volně dostupných iontů NH_4^+ a NO_3^- v závislosti na přístupu uhlíku. Z výše uvedeného byla odvozována schopnost mikrobiálních společenstev imobilizovat dostupný dusík bez dodaného nejběžnějšího uhlíkatého substrátu (celulózy) a s ním na lokalitě Salatín v Západních Tatrách.

MATERIÁL A METODY

V blízkosti vrcholu Salatín (2047 m) v Západních Tatrách, (TANAP), na Slovensku, se nacházejí alpínské louky, které patří do svazu *Juncion trifidi* (Kintl, 2009). Zde byly vytyčeny čtyři bloky (varianty) a v každé variantě čtyři opakování. Dostupnost a pohyb dusíku byl sledován aplikací směsných ionexů (při zachování poměru 1:1, anex a katex) v sondách zhotovených z polyamidové síťoviny Uhelon (Silk & Progres, typ 130 T, velikost oka 42µm). Sondy byly sešity do tvaru válečku o délce 14 cm a průměru 1 cm. Sondy byly připraveny jednak bez přidané celulózy a jednak s přidanou celulózou. Každá sonda byla do půdy zapravena pomocí ocelového bodce pod úhlem 45°.

Dohromady tak bylo vytvořeno 16 pokusných ploch o rozměrech 1,5 x 1,5m, na kterých byly aplikovány třikrát během vegetačního období (30. června – 6. října 2010) různé experimentální dávky hnojiv. Jednalo se o tyto **varianty**:

C: **kontrola** (byla aplikována pouze voda ve stejném množství)

P: 6g P m^{-2}. rok^{-1} aplikován KH_2PO_4 v roztoku (množství souběžně aplikovaného K odpovídalo 6,3g K.m^{-2}. rok^{-1})

2N: 2g N m^{-2}. rok^{-1}

15N: 15g N m^{-2}. rok^{-1}

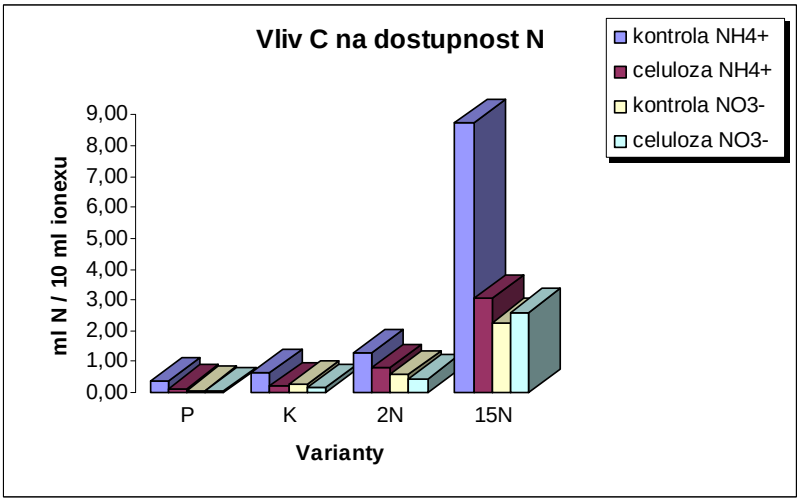
Po 99 dnech expozice bylo 64 sond vyjmuto z půdního profilu a zachycené ionty byly desorbovány.

Roztok 10 % NaCl byl použit k resorbci zachycených iontů NH_4^+ a NO_3^-. Amonné ionty byly v extrakčním roztoku stanoveny destilačně titrační metodou v alkalickém prostředí s MgO (Peoples et al., 1989 in Záhora 2001). Pomocí indikátoru s HBO_2 byl amonný dusík jímán a následnou titrací HCl bylo zjištěno množství NH_4^+. NO_3^- ionty jsou stanoveny stejným způsobem s použitím Devardovy slitiny. Zjištěné hodnoty byly přepočteny na srovnatelné objemové množství katexu a anexu v ml N/10 mg ionexu $^{-1}$. Získaná data byla statisticky vyhodnocena metodou analýzy variance (ANOVA $P < 0.05$).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Množství zachyceného dusíku odráželo varianty simulovaných vstupů živin, což je patrné na obrázku č. 1. Oproti kontrole se nejnižším záchytem (NH_4^+ a NO_3^- iontů vyznačuje kombinace variant s přidáním celulózy a dotací fosforu, které umožnilo zabudování N - látek do těl mikroorganismů a vyšších rostlin (podrobněji viz Kintl, 2011). Vyšší záchyt byl zaznamenám u varianty s dotací 2g N m^{-2}. rok^{-1} a nejvyšší u varianty s dotací 15g N m^{-2}. rok^{-1}.

Při srovnání množství dostupného dusíku s přidání celulózou a bez celulózy je patrno, že přidaný uhlík umožnil imobilizaci většího množství dusíku.



Obr.1 Naměřené hodnoty množství dostupného dusík. Hodnoty jsou uvedeny v mediánech.

Pro funkčnost mikrobiálního společenstva je důležité zastoupení biogenních prvků, které udává Redfieldův poměr, jež vyjadřuje molekulární poměr mezi uhlíkem, dusíkem a fosforem v organismech je 106:16:1 tzn., že na každý 1 atom fosforu připadá 16 atomů dusíku a 106 atomů uhlíku. V nespočetných výzkumech bylo zjištěno, že terestrické prostředí má stejné zastoupení uhlíku, fosforu a dusíku v rostlinné biomase (Elser a kol 2000). V ekosystému alpínských luk je tento poměr narušen antropogenní dusíkatou depozicí.

Na základě získaných výsledků můžeme díky nejnižším záchytům minerálního dusíku ve variantách s přídavkem fosforu a ve variantách s přídavkem celulózy vyslovit hypotézu o pravděpodobné limitaci alpínského trávníku dostatkem fosforu a přístupných uhlíkatých látek. Díky vyššímu obsahu fosforu a uhlíkatých organických látek by mikrobiální imobilizace dusíkatých iontů vedla ke snížení množství pohyblivých forem dusíku v půdním prostředí.

Obecně lze říci, že tato studie zkoumala strategie půdních mikrobiálních společenstev v půdách s nadbytkem dusíku. Metodou aplikace intoměničových zrn *„in situ“* bylo zjištěno množství dostupného minerálního dusíku v půdě ve formě amonné (NH_4^+) a nitrátové (NO_3^-).

Mikrobiální aktivita byla posuzována podle množství zachyceného minerálního dusíku v sondách s iontoměniči. Mikrobiální společenstva se do koloběhu dusíku zapojují jeho transformacemi (amonifikací a nitrifikací atd), které mají velký vliv na množství uvolněných a redukovaných H^+ iontů. Mikrobiální společenstva jsou za určitých podmínek schopny dusíkaté ionty imobilizovat (Kintl a kol, 2011), tudíž mohou zabránit jejich ztrátám.

Hodnoty zachycených iontů v kontrolních variantách ukazují na přesycenost systému dusíkem a za podmínek nedostatku uhlíku a fosforu došlo k vyčerpání jeho akumulační schopnosti. Limitujícím prvkem při imobilizaci dusíkatých látek se ukázal být uhlík a fosfor.

ZÁVĚR

Za významné zjištění prezentované v předložené práci považuji prokázání limitace alpínských luk uhlíkem a fosforem, která neumožňuje imobilizaci volně dostupného dusíku. Dochází tedy k jeho ztrátám vyplavováním a k doprovodným procesům acidifikace. U společenstev alpínských luk je překročena akumulační schopnost zadržet v ekosystému nadměrné vstupy dusíku z atmosférických depozic.

LITERATURA:

BINKLEY, Dan. (1984): Ion exchange resin bags: factor affecting estimates of nitrogen availability. *Soil Science Society of America Journal*, 48, , p. 1181-1184, ISSN 0361-5995

Bobbink, R., Hornung, M., Roelofs, J.G.M., (1998): The effect of air-born nitrogen pollutants on species diversity in natural and semi-natural European vegetation. J. Ecol., *86*: 717–738.

ELSER, J.J., STERNER, R. W., GALFORD, A.E., CHRZANOWSKI, T. H., FINDLAY, D. L., MILLS, K.H., PETERSON, M.J., STAINTON, M.P. end SCHINDLER, D.W (2000): Pelegic C:N:P stoichiometry in a eutrophied lake: response to a whole-lake food-wed manipulation. Ecosystems, 3: 293-307

Halada, L.; David, S. Halabuk, A. (2009):Vegetation structure and aboveground biomass at Mount Salatín long-term ecological research site, the west Tatra Mts, Slovakia. Ekológia (Bratislava) ISSN 1335-342X

CHYTRÝ, Milan. (2007):*Vegetace České republiky*. Vyd. 1. Praha : Academia,. 526 s. ISBN 978-802-0014-627.

KALAČ, P., MÍKA, V. (1997): *Přirozené škodlivé látky v rostlinných krmivech.* Vydal Ústav zemědělských a potravinářských informací. Praha

KINTL, A., (2011):Vliv mikrobiální aktivity půdy alpinských luk na acidifikaci. Diplomová práce. Brno: Mendlova Univerzita v Brně,. 51s.

KINTL, A.,TŮMA, I.,ZÁHORA, J.,HOLUB, P.,Effect of acidification on soil microbial activity in alpine meadow [CD-ROM]. In Proceedings of the International Conference Soil, Plant and Food Interactions. ,ISBN 978-80-7375-534-8.

KŘIVÁKOVÁ, P., (2007):*Vliv zvýšeného vstupu dusíku záchytem na vegetaci na mikrobiální přeměny a dostupnost dusíku v půdě*. Diplomová práce. Brno: MZLU v Brně,. 64 s

MARENDIAK, D; KOPČANOVÁ, L\'; LEITGEB, S. (1987):*Poĺnohospodárska mikrobiológia*. 1.vyd. Bratislava : Príroda,. 432 s.

NOVOSÁDOVÁ, I. ZÁHORA, J. RUIZ SINOGA, J. D. (2011):The availability and movement of mineral forms of nitrogen in mediterranean soil. In press.

PEOPLES, Marck et al. (1989): *Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field*. Aciar Monograph, 11, p. 76, ISBN 978 921531 56 9

ŠANTRŮČKOVÁ, Hana; VRBA, Jaroslav. (2010): *Co vyprávějí šumavské smrčiny : průvodce lesními ekosystémy Šumavy*. 1. vyd. Vimperk : Správa Národního parku a Chráněné krajinné oblasti Šumava, 153 s. ISBN 978-808-7257-043.

TAMM C.O. (1991): Nitrogen in terrestrial ecosystem. - Ecological studies 81, Springer Verlag, Berlin. ISBN 0-540-51807-X

TŮMA, I. (1999): *Decomposition of organic matter on deforested areas in the Moravian-Silesian Beskydy Mts.* Disertační práce. Brno.

ZÁHORA, J., (2001): Dostupnost dusíku v půdě vřesovišť Národního parku, Thayensia (Znojmo) s.169-181, ISSN 1212-3560

ZÁHORA, J. (2011): Acidifikace půd**.** *In press*

EVALUATION OF RENDZINAS SOIL CHARACTERISTICS ABERRATION IN BLANSKO DISTRICT

Křenovská I., Vlček V.

Department of Applied and Landscape Ecology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: iva.krenovska@email.cz

ABSTRACT

In this thesis, there is an attempt to express the level of aberration between the results of soil analysis observed on rendzinas within Comprehensive Survey of Soils (1961-1970) and nowadays. The term aberration corresponds with the act of deviation in comparison with soil original most frequent characteristics. The objective was to point at changes of soil characteristics in the localities, which are under the pressure of human interventions. The soil samples were collected in the same places as the soil samples during the 1960s. Soil texture, soil organic matter content, soil reaction and the content of carbonates were under examination. Finally, the level of aberration was calculated by the statistical methods.

The significant difference is shown in soil reaction. This could be interpreted by acidity. Rapid acidification was determined in a studied area of arable land in Vilémovice, where pH decreased from 6.60 to 5.10 in average, which is really alarming in the context of agricultural practices. The aberration was also observed in soil texture, to be specific in the content of coarse silt (0.01-0.05 mm) and fine sand (0.05-0.25 mm). This could be explained by weathering, erosion processes and soil particles changes.

Key words: rendzina, aberration, acidification

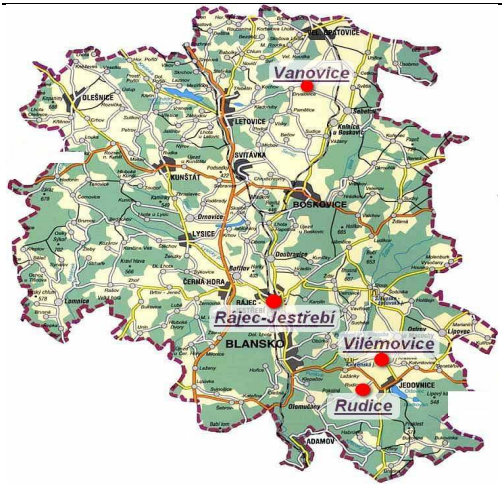
ÚVOD

Půda patří bezesporu mezi nejvýznamnější prvky přírodního bohatství. Představuje prostředí pro život, poskytuje obživu, je významnou složkou koloběhu látek, je součástí národního bohatství každého státu. Vlivem stále narůstající lidské populace je na půdu vyvíjen značný tlak a slovní spojení *degradace půd* se pomalu stává zažitým termínem. Zásahy člověka jsou jednoznačně jedním z nejvýznamnějších faktorů, ovlivňujících kvalitu a zdraví půd. Změny půdních vlastností můžou být jak kontinuální, tak náhlé a vzhledem k současnému stupni vývoje oboru pedologie můžeme tyto změny poměrně snadno interpretovat a tak vyhodnocovat vlivy působení člověka na půdu v čase.

Cílem studie, o které pojednává tento článek, bylo vyjádřit právě onu míru aberace půdy, tedy odchylku v hodnotách současných půdních atributů od původních, přirozených vlastností půdy. Půdní rozbory byly prováděny u půdního typu rendzina na vybraných lokalitách v rámci okresu Blansko. Po odběru půdních vzorků v terénu následoval laboratorní rozbor. Hodnocenými půdními charakteristikami byli zrnitost půd, půdní reakce, obsah humusu a obsah karbonátů. Výsledné hodnoty byly poté srovnány s údaji z KPP – Komplexního průzkumu půd, který probíhal v letech 1961-1970 a statisticky zhodnoceny.

MATERIÁL A METODIKA

Ve studii bylo použito půdních vzorků, odebraných v terénu za účelem následného laboratorního rozboru. Byly vybrány čtyři lokality, na základě informací z mapových podkladů z KPP a to lokalita Rudice, Vilémovice, Rájec Jestřebí a Vanovice. Pro účely této práce budou uvažovány pouze výsledky ornice. Z fyzikálních charakteristik byla určena zrnitost, z chemických vlastností půdní reakce, obsah humusu a obsah karbonátů. Vzorky, odebrané v neporušeném stavu pomocí tzv. Kopeckého fyzikálních válečků ve třech opakováních, byly též podrobeny standardní fyzikální analýze. Byly určeny půdní hydrolimity, pórovitost a rozdělení pórů, hmotnostně-objemové veličiny a vzdušné charakteristiky.



Obrázek 1 Lokalizace odběrů v rámci okresu Blansko, zdroj: www.blansko.cz (upraveno)

Stanovení zrnitosti

Existují různé postupy stanovení zrnitosti. Pro účely této práce byly vzorky analyzovány pomocí tzv. pipetovací metody. Před samotným pipetováním je nutné rozrušit půdní agregáty hexametafosforečnanem sodným. Poté vzorek smícháme s destilovanou vodou, povaříme, pomocí síta oddělíme frakci > 0,25 mm. Vzorek slijeme do sedimentačního válce. Následuje pipetace. Pipetovací metoda patří do skupiny neopakované sedimentace. Princip této metody je založen na skutečnosti, že každá zrnitostní frakce sedimentuje za určitý čas. Vzorek odebíráme ve vypočteném časovém intervalu pipetovacím přístrojem a to z přesně stanovené hloubky. Poté suspenzi vysušíme, vzorek zvážíme a výpočtem zjistíme procentuální zastoupení jednotlivých zrnitostních frakcí.

Stanovení pH

Stanovení výměnné půdní reakce provádíme elektrometricky tzv. kombinovanou elektrodou. Zeminu navážíme a smícháme s roztokem chloridu draselného v poměru 1:2,5. Tak docílíme vytěsnění vodíkových iontů. Vložíme elektrodu a změříme pH daného vzorku.

Stanovení obsahu humusu

Pro stanovení obsahu humusu je zásadní určení Corg, tj. určení celkového obsahu organického uhlíku (%). Používáme metodu Walkley – Blacka v modifikaci Novák – Pelíšek. Princip této metody spočívá v oxidaci organického uhlíku dichromanem draselným a kyselinou sírovou. Vzorek dolijeme destilovanou vodou a přidáme kapku oxidačně-redukčního indikátoru o-fenantrolinu. Titrujeme Mohrovou solí. Totéž provedeme i s tzv. kontrolním vzorkem bez zeminy. Titrací

zjistíme množství nespotřebovaného dichromanu draselného u vzorku se zeminou a na základě rozdílu s kontrolním vzorkem vypočteme nejdříve Corg a následně dopočteme obsah humusu.

Stanovení obsahu karbonátů

Pro stanovení obsahu karbonátů byl použit tzv. Jankův vápnoměr. Dle předpokládaného obsahu $CaCO_3$ vzorek navážíme a následně přelijeme HCl. Dochází k rozkladu $CaCO_3$ a k uvolňování CO_2. Množství $CaCO_3$ se stanoví po odečtu ze stupnice vápnoměru volumetricky a vyjádří se v procentech $CaCO_3$.

Statistické vyhodnocení

Statistické vyhodnocení bylo provedeno metodou ANOVA (Analysis of Variance). Jedná se o analýzu variance, kdy pomocí tzv. F-testu zjišťujeme, zda je vliv nějakého faktoru, který nabývá různých hodnot, statisticky významný. Hodnocení bylo provedeno pomocí nástrojů statistické analýzy programu Microsoft Office Excel.

VÝSLEDKY A DISKUZE

1. LOKALITA VILÉMOVICE

Obec Vilémovice se nachází v okresu Blansko, v severní části CHKO Moravský kras. Zeměpisné souřadnice sondy GPS: EO 49° 21,544′, N 16° 43,600′. Nadmořská výška lokality je 484 m n. m., svah 1%. Z hlediska využití půdy se jedná o půdu ornou.

Popis lokality na základě výsledků laboratorní analýzy

Jedná se o písčitohlinitou půdu s kyselou reakcí. Obsah humusu je v orniční vrstvě střední, v podorničí je jeho obsah velmi nízký, s hloubkou tedy výrazně klesá. Nad 20 cm hloubky je patrné obohacení o karbonáty. Okamžitá vlhkost je nižší než Θ_{KMK}, Θ_{KMK} je ovšem kritická (nad 36%), což je vysvětleno vysokým zastoupením kapilárních pórů. Hrozí tedy nebezpečí nedostupnosti vody pro vegetaci. U daného půdního druhu se nejedná o pórovitost kritickou, ale ani o nikterak výhodnou z hlediska půdní úrodnosti. Objemová hmotnost nepřekračuje kritickou hodnotu 1,55 g/cm^3 pro půdy písčitohlinité, z hlediska pórovitosti a objemové hmotnosti se tedy nejedná o půdu zhutnělou, i když provzdušněnost v orniční vrstvě je velmi nízká.

Obrázek 2 Sonda Vilémovice, zdroj: archiv autora

Srovnání sledovaných půdních charakteristik – současnost vs. KPP

V porovnání s výsledky KPP dochází ke značnému zvýšení obsahu jemného písku. Tento nárůst hrubozrnnosti lze přičíst zejména důsledkům vodní eroze, která se projevuje nedříve odnosem nejjemnějších částic. U lokality Vilémovice je patrný výrazný pokles pH a to z 6,60 na 5,10.

Tabulka 1 Výsledky laboratorních měření - Vilémovice

	Sledované charakteristiky	Měření 2008	KPP (1961-1970)
Zrnitost	Jíl (%)	12,28	12,30
	Jílnaté částice (%)	24,20	38,70
	Hrubý prach (%)	32,76	52,10
	Jemný písek (%)	42,17	8,40
	pH/KCl	5,10	6,60
	Obsah humusu (%)	2,16	2,81
	Obsah karbonátů (%)	-	-

2. LOKALITA RUDICE

Obec Rudice se nachází v okresu Blansko, ve střední části CHKO Moravský kras. Zeměpisné souřadnice sondy GPS: EO 49° 20,221′, N 16° 42,910′. Nadmořská výška lokality je 528 m n. m., reliéfem je mírně zvlněná rovina. Z hlediska využití půdy se jedná o trvalý travní porost. Rostlinný kryt je reprezentován plně zapojeným drnem.

Popis lokality na základě výsledků laboratorní analýzy

Povrchový drnový horizont řadíme mezi půdy hlinité, s hloubkou roste obsah jílnatých částic, u podpovrchového kambického horizontu tedy mluvíme o půdním druhu jílovitohlinitém. Obsah humusu je v epipedonu střední, do hloubky klesá. Nad 15 cm pozorujeme výskyt karbonátů. Reakce je v celém profilu slabě kyselá. Objemová vlhkost je nižší než Θ_{KMK}, Θ_{KMK} ovšem překračuje kritickou hodnotu 36% z důvodu vysokého zastoupení kapilárních pórů. Rovněž pórovitost dosahuje velmi nízkých hodnot, objemová hmotnost výrazně překračuje kritickou hodnotu. Jedná se tedy o půdu zhutnělou s převahou kapilárních pórů a s velmi špatnou provzdušeností, do hloubky výrazně klesající. Lokalita je ovšem využívána jako TTP, do budoucna s plánem zástavby, proto jsou tato zjištěná výsledná negativa z hlediska atributu úrodnosti irelevantní.

Obrázek 3 Sonda Rudice, zdroj: archiv autora

Srovnání sledovaných půdních charakteristik – současnost vs. KPP

V porovnání s KPP dochází k zajímavým změnám v obsahu jednotlivých zrnitostních frakcí, zarážející je především tak prudký nárůst obsahu jemného písku. Tento nárůst hrubozrnnosti lze přičíst zejména důsledkům vodní eroze, která se projevuje nedříve odnosem nejjemnějších částic.

Tabulka 2 Výsledky laboratorních měření - Rudice

	Sledované charakteristiky	Měření 2008	KPP (1961-1970)
Zrnitost	Jíl (%)	25,69	16,20
	Jílnaté částice (%)	38,33	42,00
	Hrubý prach (%)	14,32	46,80
	Jemný písek (%)	42,96	10,30
	pH/KCl	6,20	7,10
	Obsah humusu (%)	2,63	2,70
	Obsah karbonátů (%)	-	-

3. LOKALITA VANOVICE

Obec Vanovice se nachází v okresu Blansko, asi 7 km severně od města Boskovice. Zeměpisné souřadnice sondy GPS: EO 49° 34′, N 16° 41′. Nadmořská výška lokality je 408 m n. m., svah 1%. Z hlediska využití půdy se jedná o půdu ornou. Rostlinný kryt je v době odběru reprezentován strništěm a výdrolem po sklizni – dominují hluchavka nachová (*Lamium purpureum),* rozrazil břečťanolistý *(Veronica hederifolia)* a svízel přitula *(Galium aparine).*

Popis lokality na základě výsledků laboratorní analýzy

Jedná se o těžkou jílovitohlinitou půdu s vysokým obsahem humusu v orniční vrstvě a s přítomností karbonátů především v povrchovém horizontu. Půdní reakce je v celém profilu neutrální. Θ_{KMK} výrazně překračuje kritickou hodnotu 36%, což je podmíněno zejména výrazným zastoupením kapilárních pórů. Tento stav má negativní vliv na dostupnost vody pro rostliny. Pórovitost je velmi nízká, objemová hmotnost v podorničí překračuje kritickou hodnotu, můžeme tedy mluvit o výrazném zhutnění v hloubce nad 15 cm, které je způsobeno zřejmě nevhodnými agrotechnickými zásahy. Vzhledem k tomu, že se jedná o velmi těžkou, bobtnavou půdu, vychází výsledná provzdušněnost záporná. Dle zjištěných fyzikálních a chemických vlastností můžeme tedy mluvit o výrazném utlumení biologické aktivity a o poškození dané půdy.

Obrázek 4 Sonda Vanovice, zdroj: archiv autora

Srovnání sledovaných půdních charakteristik – současnost vs. KPP

V porovnání s KPP nevykazují výsledky u lokality Vanovice podstatné změny v obsahu jednotlivých zrnitostních frakcí, naopak výraznější posun je zaznamenán u výměnné půdní reakce, kde sledujeme pokles pH ze 7,30 na 6,70.

Tabulka 3 Výsledky laboratorních měření - Vanovice

	Sledované charakteristiky	Měření 2008	KPP (1961-1970)
Zrnitost	Jíl (%)	30,70	23,10
	Jílnaté částice (%)	51,70	44,90
	Hrubý prach (%)	23,70	28,30
	Jemný písek (%)	21,50	23,30
	pH/KCl	6,70	7,30
	Obsah humusu(%)	2,96	3,07
	Obsah karbonátů (%)	0,20	0,80

4. LOKALITA RÁJEC JESTŘEBÍ

Obec Rudice se nachází v okresu Blansko, cca 7 km severně od města Blansko. Zeměpisné souřadnice sondy GPS: EO 49° 24,985′, N 16° 38,161′. Nadmořská výška lokality je 321 m n. m., svah 10%. Z hlediska využití půdy se jedná o ornou půdu.

Popis lokality na základě výsledků laboratorní analýzy

Tato půda spadá dle obsahu jílnatých částic mezi půdy hlinité, dle vysokého obsahu karbonátů mezi půdy vápenité. Obsah humusu je v ornici vysoký, pH je neutrální. Θ_{KMK} překračuje stejně jako v předešlých případech kritickou hodnotu. Pórovitost je zejména v povrchovém horizontu velmi vysoká, i s narůstající hloubkou je její hodnota optimální. Objemová hmotnost je v celém profilu v normě. Jedná se tedy o půdu v dobrém kulturním stavu, o čemž vypovídá i výborná provzdušenost zejména orniční vrstvy (nad 24% obj.).

Obrázek 5 Sonda Rájec Jestřebí, zdroj: archiv autora

Srovnání sledovaných půdních charakteristik – současnost vs. KPP

V porovnání s výsledky KPP pozorujeme výrazné zvýšení obsahu jemného písku. Tento nárůst hrubozrnnosti lze přičíst zejména důsledkům vodní eroze, která se projevuje nedříve odnosem nejjemnějších částic. U lokality Rájec Jestřebí je tato situace obzvlášť patrná a to především z důvodu značné sklonitosti terénu. Ostatní charakteristiky nevykazují podstatnější změny.

Tabulka 4 Výsledky laboratorních měření – Rájec Jestřebí

	Sledované charakteristiky	Měření 2008	KPP (1961-1970)
Zrnitost	Jíl (%)	20,99	29,60
	Jílnaté částice (%)	34,07	48,10
	Hrubý prach (%)	16,61	28,30
	Jemný písek (%)	44,09	14,10
	pH/KCl	7,00	7,00
	Obsah humusu (%)	2,98	2,70
	Obsah karbonátů (%)	8,80	7,00

ZÁVĚR

Na sledovaných lokalitách pozorujeme výrazný nárůst obsahu jemného písku, a to v průměru o 23,66% v ornici. Naopak došlo k poklesu obsahu hrubého prachu a jílnatých částic, souhrnně o 23,38% v ornici. Statisticky průkazný rozdíl byl zjištěn pouze v obsahu hrubého prachu a jemného písku. Co se ornice týče, hlavní důvod tohoto nárůstu hrubozrnnosti můžeme přičítat vodní erozi.

Došlo k nepatrnému poklesu v obsahu humusu, konkrétně o 0,14% v ornici. Vzhledem k tomu, že v rámci roku nebyla dodržena shodná doba odběru jako za KPP, může být tato změna způsobena prostými výkyvy obsahu humusu během roku. Statisticky průkazný rozdíl nebyl zjištěn.

U výměnné půdní reakce došlo ke statisticky průkazné změně. S výjimkou lokality Rájec Jestřebí došlo k výraznému snížení pH, u lokality Vilémovice dokonce o 1,5 jednotky – tedy k přechodu z neutrální reakce na kyselou. U lokality Rudice došlo k přechodu z neutrální reakce na slabě kyselou, u lokality Vanovice z alkalické na neutrální. U těchto lokalit můžeme tedy hovořit o probíhající acidifikaci, která bývá připisována zejména okyselujícím účinkům průmyslových polutantů a vysokým dávkám průmyslových hnojiv. Náprava by byla možná zejména aplikací rozumných dávek vápenatých hnojiv.

LITERATURA

Fiala K., 1999: Záväzné metódy rozborov pôd. Bratislava, 1999. Čiastkový monitorovací systém – Pôda, 139 s.

Jandák J., Prax A., Pokorný E., 2001: *Půdoznalství*. Brno, 2001. Skriptum. Mendelova univerzita, Agronomická fakulta, 142 s.

Janeček M. (ed.), 2002: *Ochrana zemědělské půdy před erozí*. ISV, Praha, 195 s.

Kolektiv autorů, 1961-1970: *Komplexní průzkum půd ČSSR*. Blansko, 1970. Průvodní zpráva okresu Blansko, 46 s.

Šarapatka B., Dlapa P., Bedrna Z., 2002: *Kvalita a degradace půdy*. UPOL, Olomouc, 246 s.

POSSIBILITIES OF BIODIVERSITY ASSESSMENT ON A FARM

Marada P.

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 paper provides an overview of the basic indicators used for assessment the biodiversity (field crops growing diversity, diversity of plots size, the length of field borders, the proportion of land area without the protection of plants, intensity of fertilization, frequency of mowing and tillage, the number of crossing the land). Knowledge and practical experience in using indicators to assess biodiversity at farm level in the country are presented.

Key words: biodiversity, sustainability, indicator,

Acknowledgement: The study was supported by project of Internal Grant Agency, FA MENDELU, No. IP 7/2011 „The significance of the heterogeneity of crop production systems and the possibilities of evaluation“ and project No. QH92242, financed by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic.

ÚVOD

Obecně je přijato, že heterogenita systému zvyšuje jeho stabilitu, což lze vztahovat i na agrosystémy. Praktické uplatnění tohoto poznatku při řízení zemědělské činnosti realizují státní orgány převážně dotačními tituly zaměřenými na podporu biodiverzity (biopásy, zatravnění, tvorba biokoridorů, atd.). Převažující motivací zemědělců v praxi pro jejich realizaci je získání finanční podpory, aniž jsou mnohdy přesvědčeni o jejich přínosu pro setrvalé hospodaření. Jedním z důvodů tohoto stavu je nedostatečná rozpracovanost významu heterogenity při hospodaření na půdě, tj. hlubšího poznání vazeb mezi agronomickou činností a diverzitou jednotlivých úrovní agrosystému. V agrárně vyspělých zemích je tato problematika řešena jako součást komplexních analýz zaměřených na posuzování trvalé udržitelnosti hospodaření zemědělských podniků (CHRISTEN 2002). Například v Německu jsou to hodnotící metodiky a modely REPRO (HÜLSBERGEN 2003, DLG 2009) nebo RISE (FRITZ et al. 2008), ve Francii INDIGO (BOCKSTALLER 2006), ve Švýcarsku KSLN a další (BREITSCHUH et al. 2008, ZAPFL 2009). Součástí těchto metodik je soubor indikátorů pro hodnocení heterogenity agrosystémů včetně biodiverzity. Návrh projektu je zaměřen na rozpracování této problematiky pro podmínky českého zemědělství. Potřebu řešení lze zdůvodnit:

- od výše uvedených zemí rozdílnou agrární strukturou (velikostí zemědělských podniků) a rozdílnou intenzitou pěstitelských vstupů,

- potřebou vhodných adaptačních opatření na zvýšený výskyt extrémních povětrnostních událostí,

- změnou přidělování dotací po roce 2013 směrem ke zvýšení významu dopadů hospodaření na životní prostředí.

Cíle řešení

Navrhnout a ověřit indikátory pro hodnocení heterogenity systému rostlinné produkce na úrovni zemědělského podniku, využitelné pro posuzování trvalé udržitelnosti hospodaření na půdě.

MATERIÁL A METODIKA

Z celé řady možností byly pro hodnocení biodiverzity vybrány podstatné faktory, které mají vliv na životní prostředí, a byly rozděleny do tří oblastí působení: struktura, vstupy a opatření. Jednotlivé dílčí indikátory uvnitř oblastí působení byly využity k analýze a hodnocení biodiverzity na úrovni zemědělského podniku.

Provozní údaje zemědělských podniků byly převedeny na bezrozměrné hodnoty a pomocí vyhodnocovacích funkcí byla hodnocena příslušná úroveň trvalé udržitelnosti (DLG 2009, KŘEN et al. 2010). Údaje byly převedeny na stupnici 0 až 1, přičemž 0 představuje nežádoucí hodnotu a 1 hodnotu žádoucí. To umožňuje sčítat různé jednotlivé dílčí indikátory a provádět celkové hodnocení pomocí souboru indikátorů (HÜLSBERGEN 2003, DLG 2009). Za hraniční hodnocení pro udržitelnost se považuje hodnota 0,75.

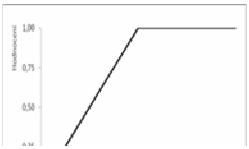
Celkem bylo analyzováno 21 zemědělských podniků. Většina z nich poskytla data pod příslibem anonymity. Proto jsou v této práci podniky označovány pouze dle pořadí. Dále se nepodařilo získat ze všech podniků všechna požadovaná data pro komplexní zhodnocení biodiverzity. Každý podnik poskytl jen určitou část požadovaných podkladů. To ovlivnilo zaměření práce především na hodnocení vhodnosti a použitelnosti jednotlivých ověřovaných indikátorů:

- diverzita využívání a pěstování polních plodin,

VÝSLEDKY A DISKUZE

Diverzita využívání a pěstování polních plodin

Výpočet diverzity byl proveden pomocí Schannonova indexu (SHANNON 1948). Nejdříve byly stanoveny podíly jednotlivých způsobů využívání půdy (orná půda, louky a pastviny, zahradnictví, půda ležící ladem). Pomocí těchto vstupních veličin se vypočítá diverzita využívání. Při detailním popisu struktury se uplatňují další dílčí indikátory (skupiny plodin, druhy plodin a diverzita odrůd). Tím se například určitý způsob využívání půdy (orná půda) dělí dále podle skupin plodin (např. obilniny, okopaniny atd.) a pro každou skupinu plodin je určen její podíl na orné půdě. Analogicky se jednotlivé skupiny plodin rozčleňují na druhy a odrůdy. K tomu je třeba vést detailní dokumentaci o hospodaření až na úroveň odrůd. Pokud tomu tak není, bere se za základ pro příslušný druh plodiny pouze jedna odrůda a diverzita odrůd je ohodnocena 0. Každému dílčímu indikátoru je přiřazena váha určující jeho význam na celkovém výsledku. Celkový výsledek je pomocí hodnotící funkce (obr. 1.) převeden na bodové hodnocení.



Obr. 1. Hodnotící funkce diverzity využívání a pěstování polních plodin

Šetření probíhala v pěti podnicích. Údaje byly získány dotazováním u vedoucích pracovníků v podniku. Získaná data podniku P_{a-e} jsou zpracována do tabulek tab. 1; 3 ; 5 ; 7 ; 9. Za hraniční pro udržitelnost je stanovena hodnota Shannonova indexu 1,13 (DLG 2009, viz obr. 1). Výpočet Schannonova indexu je uveden v tab. 2; 4 ; 6 ; 8; 10. Výpočet se skládá z části výpočtu Schannonova indexu za jednotlivé kategorie (využívání půdy, skupiny plodin, druhy plodin, odrůdy plodin). Tyto dílčí výsledky jsou modelově upraveny váhou, která zohledňuje jejich význam pro celkové hodnocení. To je uvedeno jako průměr jednotlivých kategorií využívání půdy. Hodnocení probíhalo v pěti podnicích označeny P_{a-e}.

***P_a** - 410 ha, ŘVO, Pěstované plodiny- řepka ozimá, ječmen jarní, mák, pšenice ozimá, ječmen ozimý*

Tab.1: Vstupní data podniku P_a

Druhy plodin	Výměra (ha)	Počet odrůd	Skupiny plodin	Výměra (ha)	Využití půdy	Výměra (ha)
řepka ozimá	140	3	olejniny	170	orná	410
Ječmen jarní	50	2	obiloviny	240		
Mák	30	2				
pšenice ozimá	150	3				
Ječmen ozimá	40	2				

Tab. 2: Hodnocení podniku P_a

Kategorie	Schannonův index (H)	Váha	Dílčí hodnocení
využívání půdy	0	4	0
Skupiny plodin	0,68	3	2,0
druhy plodin	1,41	2	2,8
odrůdy plodin	1,59	1	1,6
Celkové hodnocení			1,6

***P_b** - 756 ha, KVO, Pěstované plodiny – řepka ozimá, ječmen jarní, slunečnice, pšenice ozimá, kukuřice, broskve.*

Tab. 3: Vstupní data podniku P_b

Druhy plodin	Výměra (ha)	Počet odrůd	Skupiny plodin	Výměra (ha)	Využití půdy	Výměra (ha)
řepka ozimá	210	3	olejniny	308	orná	750
Ječmen jarní	40	1	obiloviny	442	sady	6
slunečnice	98	1	sady	6		
Pšenice ozimá	340	3				
kukuřice	98	2				
Broskve	6	4				

Tab. 4: Hodnocení podniku P_b

Kategorie	Schannonův index (H)	Váha	Dílčí hodnocení
využívání půdy	0,05	4	0,8
Skupiny plodin	0,72	3	2,2
druhy plodin	1,45	2	2,9
odrůdy plodin	1,67	1	1,7
Celkové hodnocení			1,7

P_c *- 15 ha, KVO, pěstované plodiny – slunečnice. Zemědělec pěstuje v každém roce pouze jednu plodinu. Pěstované plodiny pšenice ozimá, kukuřice, slunečnice.*

Tab. 5: Vstupní data podniku P_c

Druhy plodin	Výměra (ha)	Počet odrůd	Skupiny plodin	Výměra (ha)	Využití půdy	Výměra (ha)
slunečnice	15	1	olejniny	15	orná	15

Tab. 6: Hodnocení podniku P_c

Kategorie	Schannonův index (H)	Váha	Dílčí hodnocení
využívání půdy	0	4	0
Skupiny plodin	0	3	0
druhy plodin	0	2	0
odrůdy plodin	0	1	0
Celkové hodnocení			0

P_d *- 700 ha, teoretický podnik, pěstované plodiny – řepka ozimá, pšenice ozimá.*

Tab. 7: Vstupní data podniku P_d

Druhy plodin	Výměra (ha)	Počet odrůd	Skupiny plodin	Výměra (ha)	Využití půdy	Výměra (ha)
řepka ozimá	350	4	olejniny	350	orná	700
pšenice ozimá	350	4	obiloviny	350		

Tab. 8: Hodnocení podniku P_d

Kategorie	Schannonův index (H)	Váha	Dílčí hodnocení
využívání půdy	0	4	0
Skupiny plodin	0,69	3	2,1
druhy plodin	1,69	2	1,4
odrůdy plodin	1,69	1	0,7
Celkové hodnocení			1,0

P_e - *1246 ha, ŘVO. pěstované plodiny- řepka ozimá, ječmen ozimý, vojtěška, pšenice jarní, pšenice ozimá, žito+triticale, kukuřice na siláž, kukuřice na zrno, zelí, TTP.*

Tab. 9: Vstupní data podniku P_e

Druhy plodin	Výměra (ha)	Počet odrůd	Skupiny plodin	Výměra (ha)	Využití půdy	Výměra (ha)
řepka ozimá	130,5	3	olejniny	130,5	orná	1070,5
Ječmen jarní	75	2	obiloviny	491	TTP	175,5
Vojtěška	163,5	1	TTP	175,5		
Pšenice jarní	136	2	zelenina	29,5		
žito+triticale	94	1	pícniny	419,5		
Kukuřice silážní	162	3				
Pšenice ozimá	160	5				
Kukuřice zrnová	120	3				
Zelí	29,5	4				
TTP	175,5	1				

Tab. 10: Hodnocení podniku P_e

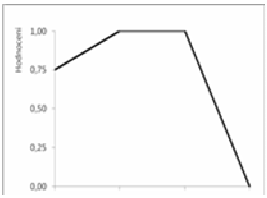
Kategorie	Schannonův index (H)	Váha	Dílčí hodnocení
využívání půdy	0,41	4	1,6
Skupiny plodin	1,33	3	4,0
druhy plodin	2,23	2	4,4
odrůdy plodin	2,17	1	2,2
Celkové hodnocení			3,0

Většina podniků splnila modelově stanovenou požadovanou hodnotu Schannonova indexu 1,13. Nejvyšší výsledky Schannonova indexu byly dosahovány na úrovni odrůd. Z hlediska zvyšování heterogenity agrosystému však má větší význam diverzita na úrovních využívání půdy a skupin plodin. To bylo zohledněno váhou při stanovení průměru dílčích hodnocení. Z výběrového souboru podniků lze usuzovat na nepříznivou nízkou diverzitu agrosystému ve způsobu využívání půdy a úzkou strukturální skladbu pěstovaných plodin.

Velikost pozemků

Z údajů v odborné literatuře lze udělat závěr, že velikost honu > 25 ha má pouze omezené pracovně-hospodářské výhody. Menší velikost honů je pozitivně hodnocena z ekologického hlediska.

Z toho důvodu je stanovena optimální oblast mezi 5 až 20 ha (obr. 2). Velikosti > 50 ha se oproti tomu označují 0.



Obr. 2. Hodnotící funkce diverzity ploch

Výsledná průměrná hodnota výměry obhospodařovaných pozemků zemědělského podniku se převede pomocí hodnotící funkce (Obr. 2.) na bodové hodnocení.

Z 18 hodnocených podniků vyhovělo požadavkům na velikost honu (5-20 ha) 9 podniků (tab. 11.). Požadovanou hodnotu indikátoru je problematické dodržet hlavně v kukuřičné a řepařské výrobní oblasti, kde charakter krajiny umožnil dřívější scelování pozemků do velkých bloků. V případě požadavků vyšší biodiverzity je v těchto podmínkách nutné využívat při hospodaření na půdě dělených honů. Ve výběrovém souboru byl mezi velikostí podniku a průměrnou velikostí honu zjištěn průkazný rozdíl, korelační koeficient (r = 0,53).

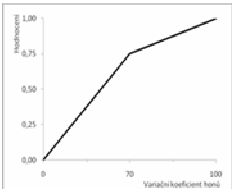
Tab. 11. Velikost pozemků

Označení podniku	K_1	k_2	K_3	r_1	r_2	r_3	r_4	r_5	r_6
Celková výměra podniku (ha)	611,3	648,2	765,9	487,0	569,9	471,5	432,6	394,8	661,0
Průměrná velikost honů (ha)	32,2	17,1	20,7	30,4	16,8	33,7	7,5	30,4	21,3
Označení podniku	r_7	b_1	B_2	b_3	b_4	b_5	h_1	h_2	h_3
Celková výměra podniku (ha)	311,5	244,2	722,4	264,7	158,5	77,9	129,6	514,4	69,4
Průměrná velikost honů (ha)	28,3	9,0	24,9	15,6	14,4	7,1	2,9	39,6	11,6

Označení podniků: k_x - kukuřičná výrobní oblast, r_x -řepařská výrobní oblast, b_x – bramborářská výrobní oblast, h_x – horská výrobní oblast.

Variační koeficient velikosti honů

Tento indikátor má za cíl hodnotit velikostní rozmanitost obhospodařovaných pozemků. K hodnocení se využívá hodnotící funkce uvedená na obr. 3. Obhospodařování pozemků s různou výměrou je v této hodnotící funkci bráno jako pozitivní, protože je tím dán základ vyšší diverzity. Stejná velikost pozemků je z hlediska biodiverzity hodnocena spíše negativně. Za vhodné se považuje dosažení hodnoty variačního koeficientu minimálně 75 %.



Obr. 3. Hodnotící funkce variační koeficient velikosti honů

Tab. 12. Variační koeficient velikosti honů

Označení podniku	k_1	k_2	k_3	r_1	r_2	r_3	r_4	r_5	r_6
Celková výměra podniku (ha)	611,3	648,2	765,9	487,0	569,9	471,5	432,6	394,8	661,0
Vk velikosti honů (%)	127	105	104	59	75	94	60	99	65
Označení podniku	r_7	b_1	b_2	b_3	b_4	b_5	h_1	h_2	h_3
Celková výměra podniku (ha)	311,5	244,2	722,4	264,7	158,5	77,9	129,6	514,4	69,4
Vk velikosti honů (%)	145	96	64	70	72	43	73	73	30

Označení podniků: k_x - kukuřičná výrobní oblast, r_x -řepařská výrobní oblast, b_x – bramborářská výrobní oblast, h_x – horská výrobní oblast.

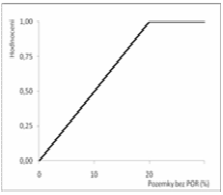
Požadavek indikátor variační koeficient velikosti honů byl ve většině podniků splněn (tab. 12.) V kukuřičné a řepařské výrobní oblasti charakteristické vyšším zorněním byla požadovaná hodnota indikátoru dosažena u všech sledovaných podniků. Vyskytovaly se zde, jak hony s velmi malou výměrou v řádu jednotek hektarů, tak i velké hony o velkostech i nad 100 ha. V bramborářské

výrobní oblasti byl splněn požadavek indikátoru pouze u jednoho podniku. Členitější charakter krajiny v těchto podmínkách vede paradoxně k nižší hodnotě tohoto indikátoru.

Ve výběrovém souboru nebyl mezi velikostí podniku a variačním koeficientem velikosti honu zjištěn průkazný rozdíl, korelační koeficient (r = 0,34).

Podíl orné půdy bez chemické ochrany rostlin

Pro určení podílu zemědělsky využívané plochy bez používání prostředků ochrany rostlin se sečtou hony podniku, na kterých je prováděna chemická ochrana rostlin. A stanoví se poměr této plochy k celkové ploše obhospodařované půdy. Nevyšší hodnocení odpovídá minimálně 20 % zemědělsky užívané půdy bez chemické ochrany rostlin (obr. 4.).

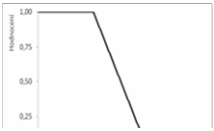


Obr. 4. Hodnotící funkce podílu orné půdy bez chemické ochrany

Z 18 hodnocených podniků splnily požadovanou hodnotu indikátoru (minimálně 15 % půdy bez chemické ochrany) pouze ekologicky hospodařící podniky, které se nacházely v horské výrobní oblasti a částečně v bramborářské. Ostatní podniky prováděly na převážné ploše obhospodařované půdy chemickou ochranu.

Intenzita hnojení N

Vychází se z předpokladu, že při aplikaci 50 kg N/ha v minerálních hnojivech nevznikají žádné negativní dopady na prostředí. Se zvyšováním dávek minerálních hnojiv vzrůstá riziko ztrát a negativních dopadů. Jako udržitelná je stanovena dávka 95 kg N/ha (obr. 6.). Při dávkách minerálního dusíku přes 175 kg/ha je překročena netolerovatelná hranice. Intenzita hnojení je charakterizována množstvím aplikovaného minerálního dusíku. Hodnoceno je pouze přímé působení přívodu živin na dané stanoviště, nejsou zahrnuty další dodatečné vstupy, jako je vliv předplodiny nebo imise.



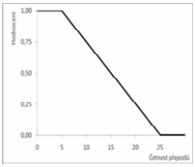
Obr. 6. Hodnotící funkce intenzity hnojení

Pro stanovení tohoto indikátoru byly využity údaje z „Evidence o použití hnojiv, statkových hnojiv, pomocných látek a upravených kalů“. Nahlédnutí do evidence umožnily pouze tři podniky, ve kterých byly zjištěny následující hodnoty: 82, 120, 50 kg N/ha. Od dalších pěti zemědělských podniků byla získána ústní informace že dávky dusíku se pohybují na úrovni od 90 do 150 kg N/ha. Hodnocené ekologické podniky potvrdily, že neprovádí aplikaci dusíku v minerálních hnojivech. I když při šetření nebyly od většiny zemědělských podniků získány konkrétní údaje, lze vzhledem k celkově nízkým dávkám živin v minerálních používaných současné době v ČR konstatovat, že v zemědělské praxi jsou požadované hodnoty indikátoru převážně plněny.

Požadavek indikátoru je ve většině podniků splnitelný.

Četnost sečení, přejezdů po pozemku a sklizně

Pro stanovení četnosti přejezdů a sklizně se sčítají všechny mechanizované pracovní operace na pozemcích. Hodnoty z jednotlivých pozemků se průměrují za celkovou zemědělsky využívanou výměru podniku. Hodnotící funkce vyjadřuje stoupající vliv utužení půdy s přibývající četností přejezdů po pozemku.



Obr. 7. Hodnotící funkce četnosti přejezdů

Průběh hodnotící funkce (obr. 7.) sleduje stoupající vliv utužení půdy a narušování prostředí pro faunu s přibývající četností přejezdů po pozemku. Se zvyšujícím se počtem přejezdů se hodnota funkce snižuje. Jako vhodný stav je považováno do 11 přejezdů po pozemku za kalendářní rok.

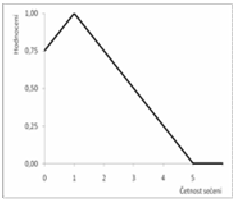
Tab. 13. Variační koeficient velikosti honů

Označení podniku	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7
Počet přejezdů	8	10	18	6	10	16	8

Hodnoceno bylo 7 podniků, z toho požadovanou hodnotu indikátoru splnily 4 podniky (tab. 13.). V podniku P6 byla pěstována na některých pozemcích zelenina a to způsobilo vyšší průměrný počet přejezdů. U další podniků se jednalo i intenzivní zemědělskou výrobu s větším počtem vstupů na pozemek. V hodnotách indikátoru mezi sledovanými podniky lze vysvětlit rozdílným výrobním zaměřením.

Četnosti sečení

Pro stanovení četnosti sečení se zahrnují všechny zemědělsky využívané plochy s opakovaným sečením plodin (louky, pastviny a pícniny na orné půdě). Pro stanovení hodnoty podniku se na všech dotyčných dílčích pozemcích zjišťuje počet sklizní (sečí), a to jako průměr všech ploch. Hodnotící funkce sleduje dobu mezi jednotlivými sečemi a tím hodnotí prostor pro rozvoj flory a fauny na sledovaném pozemku.



Obr. 8. Hodnotící funkce četnosti sklizně

Při intenzivnějším kosení se zkracuje doba mezi jednotlivými sečemi a tím se i zkracuje doba pro růst a rozvoj jednotlivých rostlin. Hodnotící funkce (obr. 8.) sleduje vliv stoupající hodnoty porostu od pokosení vlivem změny zastoupení jednotlivých druhů. Omezuje se rovněž rozsah habitatů.

Hodnocení proběhlo ve třech podnicích. Dva z nich pěstovali víceleté pícniny na orné půdě a využívali 3 – 4 seče za vegetační období. Třetí podnik obhospodařující TTP prováděl v průběhu roku 2 – 3 seče.

Požadavek do dvou sečí nebyl u žádného podniku splněn, ale podnik obohospodařující TTP se požadovanému hodnocení velmi přiblížil.

ZÁVĚR

Šetření v zemědělských podnicích byla prokázána možnost získání podkladů pro hodnocení řady indikátorů biodiverzity a heterogenity v systému rostlinné výroby: diverzita využívání a pěstování polních plodin, velikost pozemku, variační koeficient velikosti honů, intenzita hnojení N, podíl orné půdy bez chemické ochrany rostlin, četnost sečení, přejezdů po pozemku a sklizně, četnost sečení.

Většina hodnocených podniků dosahovala požadovaných hodnot indikátorů. Bylo však zjištěno protichůdné působení indikátoru velikost pozemku a variační koeficient velikosti honů, které lze vysvětlit nižším zorněním a větší standardizací velikosti pozemků v členitější krajině bramborářské výrobní oblasti.

Při hodnocení biodiverzity Schannonovým indexem na jednotlivých úrovních organizace agrosystému byly nejvyšší hodnoty dosahovány na úrovni odrůd. Z hlediska zvyšování heterogenity agrosystému však má větší význam diverzita na úrovních využívání půdy a skupin plodin. To bylo zohledněno váhou při stanovení průměru dílčích hodnocení. Ve výběrovém souboru podniků převládala nepříznivá nízká diverzitu agrosystému ve způsobu využívání půdy a úzká strukturální skladba pěstovaných plodin.

Byla zjištěna průkazná korelace mezi velikostí zemědělského podniku a průměrnou velkostí honů ($r = 0,53$). Hodnoty ostatních indikátorů diverzity agrosystému nebyly velikostí podniku významně ovlivněny.

LITERATURA

BOCKSTALLER, C. Et al. (2006): Betriebliches Umweltmanagment in der Landwirtschaft: Vergleich der Methoden INDIGO, KUL/USL, REPRO und SALCA. Abschlussbericht zum Projekt 04 – „COMETE" 2003-2005.

BREITSCHUH, G., ECKERT, H., MATTHES, I., STRUMPFEL, J., (2008): Kriteriensystem nachhaltige Lanwirtschaft, Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft, 139 s.

DLG (2009): Prüfbestimmungen für das DLG-Zertifikat „Nachahaltige Landwirtschaft – zukunftfähig", 33s.

FRITZ, J., STUDER, CH., THALMANN, CH., PORSCHE, H., STAMPFLI, A. (2008): RISE – Manahmenorientierte Nachhaltigkeitsanalyse lanwirtschaftlicher Betriebe, Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft, 94 s.

HÜLSBERGEN, K. J. (2003): Entwicklung und Anwendung eines Bilanzierungsmodells zur Bewertung der Nachhaltigkeit landwirtschaftlicher Systeme. Berichte aus der Agrarwissenschaft. Aachen: Shaker Verlag, 292 S.

CHRISTEN, O. (2002): Indikatoren für eine nachhaltige Entwicklung der Landwirtschaft, Institut für Landwirtschaft und Umwelt, 102 s. ISBN 3-926898-17-8

KŘEN et al. (2010):Metodika hodnocení trvalé udržitelnosti systémů rostlinné produkce pro podmínky ČR, v tisku.

SHANNON, C.E., 1948. A mathematical theory of communication. Bell System Technical Journal, 27, 379-423 and 623-656.

ZAPFL, R., SCHULTHEIβ, U., OPPERMANN, R., WEGHE, H., DOHLER, H., DOLUSCHITZ, R.,(2009): Bewertung der Nachhaltigkeit landwirtschaftlicher Betriebe, Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft, 197 s.

ESTIMATED SIZE OF MAMMALS MORTALITY ON CZECH ROADS BY QUESTIONNAIRE FOR DRIVERS - PRELIMINARY RESULTS

Mrtka J., Borkovcová M.

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

E-mail: xmrtka@mendelu.cz, borkov@mendelu.cz

ABSTRACT

The present paper introduces new estimates of the number of withheld animals of several medium and large mammals on the roads in CR. The data was assessed using a questionnaire that was designed for the drivers of motor vehicles. Candidates could fill the questionnaire in both paper and electronic form on www.prejetazvirata.cz.

Our estimates are based on 672 completed questionnaires. Each of the surveyed drivers said the number of withheld animals and the number of miles driven in CR for the last five years, i.e. between the years 2006- 2010. Such data were obtained for 573 pieces of withheld mammals on the basis of 59.9 million miles driven which represents 0.12% of all miles driven in CR over the past 5 years. Our data suggest that each year there are 146 000-162 000 collisions with hare, 114 000-126 000 collisions with roe deer, 86 000-95 000 with a domestic cat, 26 000-29 000 with both species of in the CR living hedgehogs, 21 000-23 000 with both species of martens, 20 000-22 000 with fox and 18 000-20 000 with a wild pig. In several game species the expected mortality rate even exceeds their annual harvest.

For roe deer, hare and wild boar, costs that would be spent on returning objects to their original state were calculated. The total cost for these three species were calculated at 3 877.4-4 293.8 million CZK. From that among, 337.6-1 482.4 million CZK is attributable to the cost for the repair of vehicles and 2 539.8-2 811.4 million CZK to the cost of restoration of animals to the wild.

Key words: mammal, mortality, overland communication

Acknowledgement: This study was supported by project IGA MENDELU TP5/2011 “Možnosti zpomalení ústupu biodiverzity při zachování produkčních i mimoprodukčních funkcí krajiny“, which is funded by the Mendel University in Brno, Czech Republic.

ÚVOD

Kolize mezi motorovými vozidly a zvířaty přitahují lidskou pozornost již mnoho dekád (Vincent et al., 1988; Bennet, 1991; Hlaváč a Anděl, 2001; Diaz-Varela et al., 2011). Počty obětí na silnicích a železnicích se neustále zvětšují společně s rozšiřující se silniční sítí a zvyšující se rychlostí vozidel. V dnešní době jsou sražená zvířata mnoha lidmi viděna pravděpodobně častěji, než dosud žijící zástupci stejného druhu v přírodě. Přítomnost kadáverů se stala nedílnou součástí současných dopravních koridorů (Knutson, 1987). Ve svém hodnocení ekologického vlivu silnic Forman a Alexander (1998) došli k závěru, že v průběhu posledních třech dekád silnice ve spojení s automobily pravděpodobně překonaly lov jako hlavní příčinu úmrtí suchozemských obratlovců.

Cílem této práce bylo prostřednictvím dotazníku pro řidiče zjistit co nejvíce údajů o přejetých živočiších na území ČR a následně provést odhad počtu sražených savců vybraných druhů na celém území ČR včetně odhadu možných ekonomických ztrát na usmrcených zvířatech a majetku.

MATERIÁL A METODIKA

Data o kolizích automobilů se zvířaty na území ČR byla zjišťována na základě dotazníku, který byl určen řidičům motorových vozidel. O existenci dotazníku informovala odborná periodika, která jsou určena především přátelům a ochráncům přírody (Naše příroda a Příroda), myslivcům (Myslivost: stráž myslivosti) a řidičům automobilů (Truck magazín). Dále o existenci dotazníku informovaly i webové portály (www.enviweb.cz a www.priroda.cz). Dotazník bylo možno vyplnit buď v papírové, nebo elektronické podobě. Elektronickou podobu dotazníku mohli zájemci vyplnit na webové adrese (http://www.prejetazvirata.cz/dotaznik.html), papírovou na výstavách Natura Viva 2011 a Silva Regina 2012. Cílem bylo informovat o dotazníku v periodicích či na akcích, které mají celonárodního charakter, tak aby byly získány odpovědi ze všech částí ČR.

V dotazníku byli řidiči dotazováni na počet km, který najeli na silnicích ČR za posledních pět let, tedy od 1. 1. 2006 a na všechny zvířata, která po tuto dobu srazili a to včetně těch případů kdy zvíře nezůstalo ležet na silnici a po srážce se vzdálilo. Jestliže si řidiči vzpomněli na nějakou kolizi tak jsme se dále ptali na druh, kraj a kategorii komunikace kde došlo ke střetu, náklady vynaložené na opravu vozidla a zda došlo během střetu k ohrožení posádky vozidla.

Pro druhy, u kterých jsme obdrželi více jak 10 záznamů o kolizích, jsme spočítali průměrnou frekvenci kolizí (PFK) na milión najetých km jako poměr mezi počtem nahlášených kolizí a celkovým počtem najetých km všech dotazovaných řidičů. Druhy pro které bylo nahlášeno méně jak 10 záznamů, byly sloučeny do skupin s podobnými ekologickými nároky, nebo byly zcela vyloučeny z dalších výpočtů. Takto byl sloučen ježek východní a ježek západní do skupiny ježci, kuna lesní a kuna skalní do skupiny kuny. Hodnota PFK byla vynásobena průměrným dopravním výkonem na území ČR, který byl vypočten jako průměr dopravních výkonů z let 2006 – 2010. Tyto údaje poskytlo ministerstvo dopravy ČR. Jelikož jsme předpokládali, že počet nahlášených

najetých kilometrů od řidičů nebude zcela přesný, tak jsme při výpočtech počítali s odchylkou +- 5%.

Předpokládané počty sražených zvířat jsme poté porovnali s odhadovanou velikostí populace daných druhů a s údaji o úlovcích. Údaje o početnosti jednotlivých druhů a údaje o úlovcích jsme čerpali z mysliveckých statistik, které poskytl Český statistický úřad.

Dále jsme se pokusili vyčíslit finanční náklady, které vznikají v souvislosti se srážkami zvířat s automobily. Celkové náklady jsme rozdělili na náklady spojené s opravou vozidel a na náklady vynaložené na navrácení sražených zvířat do přírody. V souvislosti s náklady na opravu vozidel jsme vyčíslili průměrné náklady na jednu kolizi (PNJK) jako poměr mezi všemi nahlášenými náklady a počtem nahlášených kolizí. Hodnotu PNJK jsme poté vynásobili předpokládaným počtem sražených zvířat.

Při ocenění sražených zvířat jsme použili sazebník minimálních hodnot upytlačené zvěře, kterou zpracoval Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti v ČR. Tento materiál vychází z kalkulace nákladů na uvedení věci do původního stavu, tj. kalkulace nákladů na navrácení obdobného jedince druhu do přírody. Výhodou tohoto postupu je, že řeší problém ocenění ekologické škody (odčerpání jedince z populace a ekosystému) a chovné hodnoty, jejichž finanční ohodnocení je často problematické. Struktura ohodnocení minimálních nákladů na navrácení jedince do přírody je následující: náklady na odchyt jedince (imobilizace, odchytové zařízení, práce, atd.), náklady na nákup jedince (cena zvěřiny, cena lovu-trofeje), veterinární úkony (vyšetření, vakcinace, atd.), náklady na transport a transportní zařízení, náklady na karanténování a adaptaci zvěře (zařízení, manipulace, atd.), administrativní náklady. Náklady vynaložené na navrácení samce, samice a mláděte daného druhu byly zprůměrovány. Výsledek pak byl vynásoben s předpokládaným počtem sražených jedinců daného druhu (Havránek, 2010).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Ke dni 31.08.2011 bylo získáno celkem 672 vyplněných dotazníků. Řidiči ve svých odpovědích nahlásili celkem 760 ks sražených zvířat, z toho 573 savců. Jako nejčastěji srážený druh byl uveden zajíc polní 184 ks, dále srnec obecný 144 ks, kočka domácí 108 ks, ježek východní a západní 33 ks, kuna skalní a lesní 26 ks, liška obecná 25 ks a prase divoké 23 ks. Nahlášené kolize s psem domácím 9 ks, jezevcem lesním 8 ks, jelenem evropským 5 ks, veverkou obecnou 4 ks, daňkem evropským 1 ks, muflonem 1 ks, ovcí 1 ks a nutrií 1 ks byli z dalších výpočtů vyloučeny, protože byl zaznamenán nedostatečný počet jedinců.

Za sledované období, tedy mezi lety 2006 až 2010 se na českých silnicích a dálnicích v průměru najelo 50 164 mil. km/rok. Dotazovaní řidiči za sledované období zaznamenali celkem 59,9 mil. km což je 0,12 % průměru všech najetých km v ČR za posledních 5 let. Nejnižší nahlášený počet ujetých km od jednoho řidiče byl 100 km, naopak nejvyšší 650 000 km. Počty nahlášených, sražených zvířat, průměrnou frekvenci kolizí, odhad počtu sražených zvířat, lov zvířat v roce 2010,

procentuální vyjádření počtu sražených zvířat na velikosti odlovu, předpokládanou velikost populace a procentuální vyjádření počtu sražených zvířat na velikosti populace zobrazuje tab. 1.

Tab. 1 Předpokládané roční počty sražených zvířat na silnicích ČR a procentuální vyjádření těchto ztrát vzhledem k úlovku a předpokládané velikosti populace v roce 2010. Hodnota N je počet nahlášených jedinců. Průměrnou frekvenci kolizí (PFK) na milión najetých km jsme spočítali jako poměr mezi počtem nahlášených kolizí a celkovým počtem najetých km všech dotazovaných řidičů. PFK jsme poté znásobili průměrem všech najetých km v ČR z let 2006 – 2010.

druh	N	PFK	**mortalita na silnici/ rok (+-5 %) (ks)**	lov v roce 2010 (ks)	ztráty na silnici/ lov 2010 (%)	velikost populace (ks)	ztráty na silnici/ velikost populace (%)
zajíc	184	3,072	**146 000 - 162 000**	62 483	233,7 - 259,3	288 874	50,5 - 56,1
srnec	144	2,404	**114 000 - 126 000**	119 838	95,1 - 105,1	310 506	36,7 - 40,6
kočka	108	1,803	**86 000 - 95 000**	18 525	464,2 - 512,8	-	-
ježci	33	0,551	**26 000 - 29 000**	-	-	-	-
kuny	26	0,434	**21 000 - 23 000**	15 731	133,5 - 146,2	79 798	26,3 - 28,8
liška	25	0,417	**20 000 - 22 000**	74 644	26,8 - 29,5	62 253	32,1 - 35,3
prase	23	0,384	**18 000 - 20 000**	143 378	12,6 - 13,9	59 623	30,2 - 33,5

Naše data naznačují, že ročně dojde k 146 000 – 162 000 srážkám se zajícem polním, 114 000 – 126 000 srážkám se srncem obecným, 86 000 – 95 000 s kočkou domácí, 26 000 – 29 000 s oběma našimi ježky, 21 000 – 23 000 s oběma kunami, 20 000 – 22 000 s liškou obecnou a k 18 000 – 20 000 srážkám s prasetem divokým. Z tabulky je dobře patrné, že ztráty na komunikacích přesahují roční úlovek z roku 2010 u zajíce polního, kočky domácí, kun a zřejmě i srnce obecného. Vzhledem k výši úlovku je překvapující relativně nízká mortalita u prasete divokého. Dalším zajímavým zjištěním je nízký počet sražených ježků, domníváme se, že tomu tak je díky velikosti ježka, díky níž zřejmě ježek pro řidiče představuje obtížně rozeznatelný a zapamatovatelný objekt. Velikost zvířete kdy si řidiči bezpečně mohou vzpomenout na srážku je zřejmě odvislá od velikosti kun či zajíce. Dotazník tedy nepředstavuje vhodnou metodu zjišťování výše mortality pro druhy, které jsou menší než zajíc či kuna. Naopak díky požadavku na zaznamenávání i těch případů kdy zvíře po srážce odejde a díky tomu, že řidič zaznamenává jen to co sám srazil na jedné straně nemůže dojít ke zdvojení vstupních údajů či k jejich podhodnocení u těch případů kdy zvíře je z vozovky řidičem odstraněno a nebo když je schopno samo opustit těleso komunikace a tedy nedojde k podhodnocení údajů u těch druhů, které si řidiči dobře pomatují, tedy od velikosti zajíce a větší.

Z porovnání údajů o velikosti populace s předpokládanými ztrátami na silnicích je zřejmé, že nejvyšší vliv na velikost populace má mortalita zajíců a srnců. Věrohodnost těchto údajů je však pochybná neboť nepřesnost v odhadu velikosti populace z myslivecké statistiky jakožto výchozího

materiálu je zcela zřejmá. Například není možné, aby při uváděné velikosti populace prasete divokého o počtu 59 623 ks bylo uloveno 143 378 ks. Velikost populace je tedy v těchto údajích značně podhodnocená.

Celkové každoroční náklady na srážky vozidel se zajícem polním, srncem obecným a prasetem divokým se pohybují v rozmezí 3 877,4 – 4 293,8 mil. Kč. Z tohoto náklady na opravu vozidel představují interval od 1 337,6 – 1 482,4 mil Kč a náklady na navrácení zvířat do přírody rozmezí 2 539,8 – 2 811,4 mil Kč. Průměrné náklady na opravu vozidla jsou nejvyšší po střetu s prasetem divokým, 33 800 Kč, dále srncem obecným 5 500 Kč a nakonec zajícem polním 700 Kč. Vzhledem k těmto údajům a vzhledem k počtu sražených zvířat převažují náklady na navrácení zvířat do přírody nad náklady na opravu vozidel u srnce obecného a zajíce polního. U prasete divokého je tomu naopak. Předpokládané náklady, které je nutno vynaložit, k odstranění následků kolizí se zvířaty zobrazuje tab. 2.

Tab. 2 Kalkulace nákladů. Průměrné náklady na jednu kolizi (PNJK) jsme spočítali jako poměr mezi všemi nahlášenými náklady a počtem nahlášených kolizí.

druh	náklady na všechny nahlášené kolize (Kč)	PNJK (Kč)	průměrné náklady na navrácení jedince do přírody (Kč)	celkové náklady na opravu vozidel (mil. Kč)	celkové náklady na navrácení zvířat do přírody (mil. Kč)	náklady celkem (mil. Kč)
zajíc	130800	700	3900	102,2 - 113,4	569,4 - 631,8	671,6 - 745,2
srnec	796770	5500	14600	627 - 693	1664,4 - 1839,6	2291,4 - 2532,6
prase	778050	33800	17000	608,4 - 676	306 - 340	914,4 - 1016
				1337,6 - 1482,4	**2539,8 - 2811,4**	**3877,4 - 4293,8**

ZÁVĚR

Bylo potvrzeno, že mortalita zvířat na silnicích představuje významný zdroj jak přírodních tak i ekonomických ztrát. Nejvyšší mortalita byla zaznamenána u zajíce polního, srnce obecného a kočky domácí. U některých druhů jsou tyto ztráty tak vysoké, že překonávají lov jako pravděpodobně hlavní příčinu jejich mortality. Dále lze konstatovat, že k vyrovnání těchto ztrát by bylo potřeba vynaložit enormně vysoké finanční náklady.

LITERATURA

Bennett, A.F. (1991): Roads, roadsides and wildlife conservation: a review. Nature conservation 2: the role of corridors, pp. 99-117.

Diaz-Varela, E.R., Vazquez-Gonzalez, I., Marey-Pérez, M.F. and Álvarez-López, C.J. (2011): Assessing methods of mitigating wildlife-vehicle collisions by accident characterization and spatial analysis. Transportation Research Part D: Transport and Environment, 16(4): 281-287.

Forman, R .T.T., Alexander, L.E. (1998): Roads and their major ecological effects. Annual Rev. Ecol. System. 29: 207–231.

Havránek, F., (2010): Sazebník minimálních hodnot upytlačené zvěře. VÚLHM, x s.

Hlaváč, V., Anděl, P. (2001): Metodická příručka k zajišťování průchodnosti dálničních komunikací pro volně žijící živočichy. pp. 51.

Kastlová, O. (2011): Dopravní výkon silničních motorových vozidel celkem. Ministerstvo dopravy, Praha.

Knutson, R. (1987): Flattened Fauna: A field guide to common animals of roads, streets, and highways. - Ten Speed Press, Berkely, USA, 88 pp.

Roční výkaz o honitbách, stavu a lovu zvěře od 1. dubna 2009 do 31. března 2011, Český statistický úřad, Praha.

Vincent, J.P., Bideau, E., Cibien, C. and Quéré, J.P. (1988): Traffic deaths in roe deer (*Capreolus crapeolus*) - example of woodland area in the paris basin. Zeitschrift für Jagdwissenschaft, 34(1): 63-68.

COLONIZATION OF THE LIMESTONE QUARRY SPIDERS – THE INFLUENCE OF MARGINAL EFFECT

Novotná L., Vítková Z., Hula V., Šťastná P.

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

E-mail: lucie.novotna@mendelu.cz

ABSTRACT

The main task of thesis was to investigate how spiders inhabit the limestone quarry, and how different is the density of the observed species from the edge to the centre. The spiders were collected by pitfall traps during two years. The terms were from 18.5. to 6.10.2009 and next year from 28.4. to 6.10.2010 in one month intervals. For the research was chosen the area of the limestone quarry Lesní lom at Hády massive in catastral area of Brno. In additions, there were caught 397 adult specimens that were determinated and sorted out in 43 species and 29 genera. The species diversity of the examined area has descending trend from the edge of the quarry to the centre. All the main ecological characteristics describe the change towards the center of the quarry as a negative, decreasing species representation climax habitats, species of RI category, but also the kinds of expansive species (E). Other important result was discovery of several species listed under Red List of Invertebrates of the Czech Republic. There were found folowing vulnerable species: *Haplodrassus dalmatensis* (L. Koch 1866), *Pellenes nigrociliatus* (Simon 1875) and *Sitticus penicillatus* (Simon 1875). All of these species were found at some terraces only, not in the surroundings of the quarry.

Key words: Araneida, limestone quarry, Lesní lom Hady, edge effect

Acknowledgement: This work was developed with financial support from an internal grant agency IGA MENDELU No. TP05/2011. The authors thank to Ondřej Košulič for his help with determination.

ÚVOD

O fauně lomů a jejich důležitosti pro především teplomilné bezobratlé bylo napsáno již mnoho. Asi nejvýznamnější jsou práce Tropka (2007), Tropka et al. (2008, 2010), Tropka & Konvičky (2008) a Kůrky (2000). Ve všech těchto pracích je vyzvednuta důležitost nerekultivovaných lomů či jejich částí. Co však nikdy sledováno nebylo, je způsob, jak tyto organizmy lomy osídlují a jak se liší hustota populací sledovaných druhů od okraje do středu. Pro tento jev ve většině publikací najdeme pouhé konstatování, že se sem druh *Zodarion rubidum* či *Tegeneria atrica* dostal z okolního prostředí.

Samozřejmě faunu lomů ovlivňují především dva faktory. Těžená hornina a okolí lomu. To zmiňuje i Tropek (2007) a později Hula & Šťastná (2010). Obě tyto práce zmiňují fakt, že v okolí lomů je možné najít významné druhy, ale přímo v lomech jsou zastoupeny ty nejzajímavější druhy, které v okolí nejsou.

Fauna pavouků zde byla již dříve zpracována Hulou & Šťastnou (2010), kteří zde našli 67 druhů, z nichž dle Ružičky (2005) tři patřili mezi zranitelné: *Sitticus pennicilatus*, *Haplodrassus dalmatensis* a *Dysdera ninnii* a jeden mezi ohrožené (*Haplodrassus minor*). Poslední zmíněný v současnosti obývá v České republice téměř výhradně lomy.

Cílem naší práce bylo zjistit, jak se mění spektrum pavouků od okraje do středu tak, aby bylo zahrnuto i okolí lomu. Toto tma zatím žádný autor nestudoval.

MATERIÁL A METODIKA

Průzkum byl prováděn ve vápencovém Lesním lomu, který se nachází přibližně 1 km od severního okraje městské části Brno – Líšeň (49°13'24.662"N, 16°41'41.494"E). Lokalita leží v nadmořské výšce 360 m n. m.

Jámový etážový lom sloužil k těžbě vápence pro cementářské účely. V době výzkumu byl již 8 let uzavřen a neprobíhala hornická ani rekultivační činnost.

Jako metoda odchytu epigeonu byly zvoleny zemní pasti. Pasti byly bez návnady se zastřešením z přírodních materiálů. Jako konzervační roztok byl použit 4 % formaldehyd s detergentem jako smáčedlem. Bylo položeno 5 linií pastí na různých úrovních lomu, každá linie obsahovala tři pasti ve vzdálenosti 5 m. Celkem tedy bylo položeno 15 zemních pastí (12 pastí na čtyřech lomových terasách a 3 pasti na okrajové části). Pavouci byli počítáni v celých liniích.

Odchyt pavouků byl prováděn ve vegetačním období v letech 2009 a 2010. Byl zvolen měsíční interval výběru pastí v závislosti na počasí. V roce 2009 byly zemní pasti zakopány v dubnu, výběry pak byly uskutečněny pětkrát – 18. 5., 27. 5., 26. 6., 4. 9. a 6. 10. V roce 2010 byly pasti

znovu obnoveny na začátku dubna a výběry proběhly šestkrát – 28. 4., 1. 6., 25. 6., 30. 7., 6. 9. a 6. 10.

Lokalita 1

Lokalita 1 se nachází na okraji lomu, v těsné blízkosti obdělávaného zemědělského pozemku. Zemní pasti byly umístěny do hlinité půdy. Okolí tvořil zapojený travinobylinný porost, jednotlivé keře růže (Rosa sp.), svídy (*Cornus* sp.), borovice lesní (*Pinus sylvestris*) a břízy bělokoré (*Betula pendula*).

Lokality 2 - 5

Lokality 2 – 5 jsou si velmi podobné. Jako lokalita 2 je označena plocha v první lomové etáži, lokalita 3 je v druhé lomové etáži, lokalita 4 na třetí a lokalita 5 na čtvrté lomové etáži. Zemní pasti byly zakopány do spojité drti vápence. Vegetace je zde velmi řídká bez zapojeného bylinné pokryvu, tvořená jednotlivými stromky borovice (*Pinus sylvestris*), břízy bělokoré (*Betula pendula*) a trsy vrbovky rozmarýnolisté (*Epilobium dodonaei*).

Materiál byl determinován pomocí standardních determinačních příruček (Nentwig at al., 2011; Roberts, 1995 a další). Nomenklatura vychází z poslední verze světového katalogu pavouků (Platnick, 2011) s výjimkou druhů popsaných Clerckem, kde respektujeme doporučení (Art. 3) Mezinárodní komise pro zoologickou nomenklaturu (ICZN, 1999).

Hodnocení termopreference společenstev pavouků bylo provedeno dle Buchara & Růžičky (2002) a Růžičky & Buchara (2008). Rozdělení bylo provedeno na kategorie: druhy obývající především mezofytikum, termofytikum, oreofytikum a druhy synantropní. Hodnocení reliktnosti pavoučího společenstva bylo provedeno dle dvojí metodiky, dle Buchara (1993) a dále dle Řezáče (2009). Oba autoři mají poněkud odlišný přístup. Buchar (1993) vypracoval klasifikaci do třech kategorií: RI – reliktní druhy I. řádu (druhy preferující klimaxová a jinak velmi cenná stanoviště); R – reliktní druhy (hojné druhy s jasnou vazbu na biotop); E – expanzivní druhy (druhy s nespecifickou vazbou ke stanovišti, často osídlující člověkem silně ovlivněné biotopy). Řezáč (2009) upravil výstupy Buchara & Růžičky (2002), kdy jednotlivé druhy zařadil do kategorií dle obývaných biotopů: přirozená stanoviště (C), polopřirozená stanoviště (SN), narušená stanoviště (D) a umělá stanoviště (A). Výhodou této metodiky je, že jednotlivé druhy mohou být zároveň v několika kategoriích.

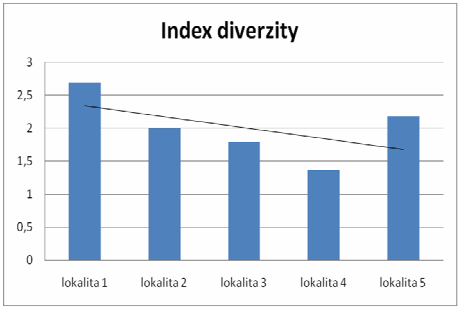
VÝSLEDKY A DISKUZE

V rámci arachnologického výzkumu vybrané lokality bylo ve sledovaném období v letech 2009 a 2010 determinováno celkem 397 dospělých jedinců náležících do 43 druhů a 29 rodů. Nejpočetnějším druhem byla skálovka *Gnaphosa lucifuga* (Walckenaer 1802) se 130 jedinci, přičemž se tento druh vyskytoval pouze na lomových terasách. Druhým nejpočetnějším druhem byl slíďák *Pardosa hortensis* (Thorell 1872) v počtu 85 jedinců a třetím mravčík *Zodarion rubidum* Simon 1914 s 18 kusy. Skálovka *G. lucifuga* a mravčík *Z. rubidum* se vyskytovali výhradně uvnitř

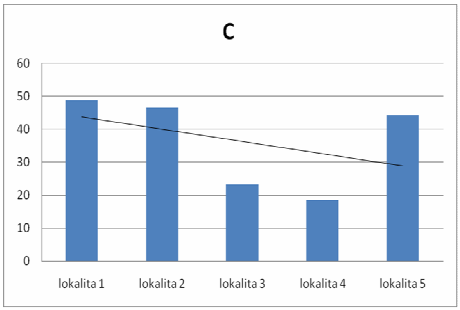
lomu. Celková druhová diverzita sledovaného území činí 2,56. Z tohoto čísla vyplývá, že se jedná o biocenózu, která je tvořena větším počtem druhů s relativně menší početností. Druhová diverzita měla směrem ke středu lomu snižující se charakter (Graf 1.). Klesající trend měl i podíl zastoupení reliktních druhů prvního a druhého řádu (Grafy 6., 7.), přičemž klesání nemá tak razantní průběh jako u expanzivních druhů (Graf 8.). Celkový podíl reliktů I. řádu činil 32,6 % (14 druhů), podíl reliktů II. řádu činil 23,3 % (10 druhů). Většina pavouků (41,8 %, 18 druhů) byla přiřazena k expanzivním druhům s širokou ekologickou valencí. Z hlediska bioindikační klasifikace (dle Buchara a Růžičky, 2002) bylo zjištěno 6 druhů (13,9 % z celkového počtu) preferující výhradně původní a přirozená stanoviště, která odpovídají klimaxovým stádiím vývoje společenstev (C). Dále bylo zaznamenáno 17 druhů (39,5 %), které obývají kromě klimaxových stanovišť i místa člověkem mírně narušená, neboli druhotně polopřirozená stanoviště (C, SN). Dalších 14 druhů pavouků (32,6 %) obývá stanoviště klimaxová, polopřirozená i pravidelně narušovaná vysokým stupněm disturbance (C, SN, D). Pět zjištěných druhů (11,6 %) patří do skupiny (C, SN, A), kde označení A znamená umělé prostředí lidských sídel.

K nejvýznamnějším nálezům patří objev zranitelných druhů dle Růžičky (2005) – skálovka dalmatská (*Haplodrassus dalmatensis* (L. Koch 1866), která z celkového počtu chycených druhů byla pouze jedna, stejně tomu bylo u druhu skákavky listové (*Pellenes nigrociliatus* (Simon 1875)), skákavka dvoutečná (*Sitticus penicillatus* (Simon 1875)) byla při sběru pastí objevena jen v počtu dvou dospělých jedinců. I tyto nejvýznamnější druhy byly zjištěny pouze na lomových etážích.

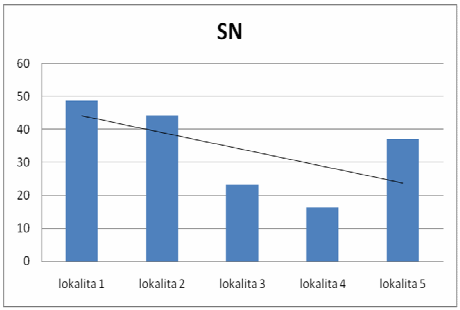
Z předchozího textu je zřejmé, že všechny obecné ekologické charakteristiky popisují změnu směrem k centru lomu jako negativní (Grafy 1 – 8), klesá zastoupení druhů klimaxových stanovišť, druhů z kategorie RI, ale zároveň i druhů expanzívních (E). To je způsobeno celkovým a logickým trendem klesající diverzity směrem od okrajů do vnitřní části lomu. Nesmíme zapomenout, že centrální část lomu nabízí extrémní teplotní a vlhkostní podmínky a ty je schopna přežívat jen nepatrná hrstka druhů. Ale tyto druhy patří mezi faunisticky a ochranářsky nejzajímavější, protože takové habitaty jinak naše krajina v současnosti nenabízí. Jedná se nejen o námi zjištěné vzácné a ohrožené druhy zjištěné výše, ale i o významné druhy zjištěné Hulou & Šťastnou (2010) v předchozí studii.



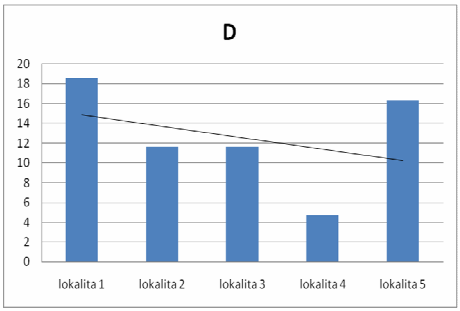
Graf 1: Druhová diverzita území



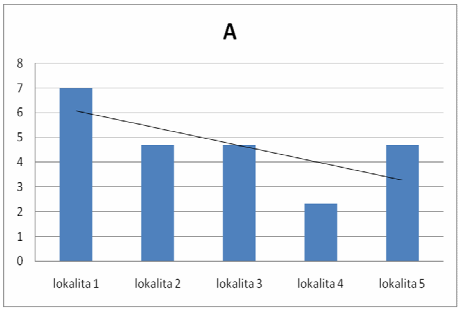
Graf 2: Bioindikační klasifikace pro přirozená stanoviště



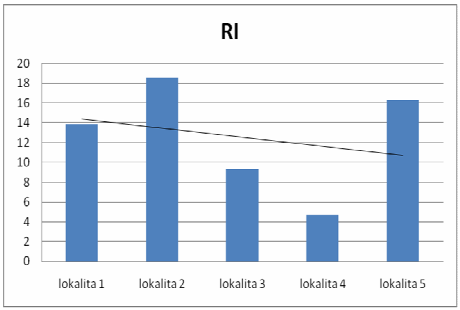
Graf 3: Bioindikační klasifikace pro polopřirozená stanoviště



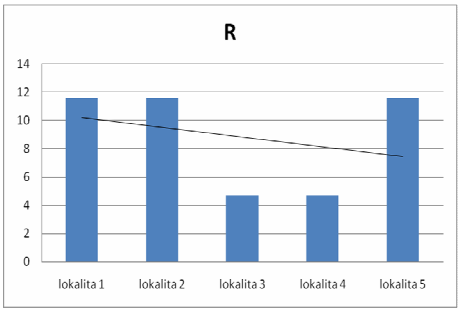
Graf 4: Bioindikační klasifikace pro narušená stanoviště



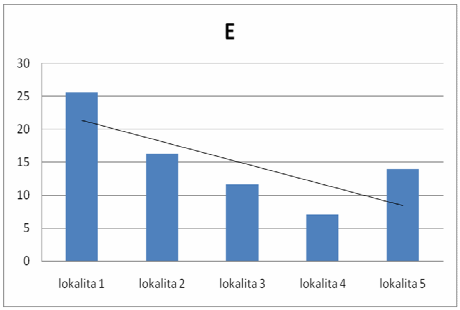
Graf 5: Bioindikační klasifikace pro umělá stanoviště



Graf 6: Graf reliktnosti I. řádu



Graf 7: Graf reliktnosti II. řádu



Graf 8: Graf reliktnosti pro expanzivní druhy

ZÁVĚR

Sběr pavouků byl prováděn pomocí metody zemních pastí v odchytovém intervalu dvou let a termínech od 18.5. do 6.10.2009 a v dalším roce od 28.4. do 6.10.2010. Pro výzkum byla vybraná lokalita vápencového Lesního lomu Hády v katastrálním území části Brna. Celkem bylo zaznamenáno 397 dospělých jedinců, kteří byli determinováni a roztříděni do 43 druhů.

Celková druhová diverzita zkoumaných stanovišť má směrem ke středu lomu klesající tendenci. Počet druhů, které preferují přirozená nebo polopřirozená stanoviště také klesá, avšak čtvrtá lomová terasa i tak hostila vysoké množství těchto druhů.

Z hlediska reliktnosti osídlují okraje lomu druhy expanzivní, nejvíce zastoupenými druhy byly *Diplostyla concolor* (Wider 1834) a *Zodarion rubidum* Simon 1914. Do středu lomu se podíl druhů reliktů I. a II. řádu sice pozvolna snižuje, ale i přesto se na poslední lomové terase uprostřed lomu vyskytuje více reliktních druhů než na travnatém remízku na okraji lomu. Na lomových terasách se z těchto reliktů vyskytují v největším zastoupení: *Gnaphosa lucifuga* (Walckenaer 1802) (RI), *Drassodes lapidosus* (Walckenaer 1802) (R) a *Drassodes pubescens* (Thorell, 1856) (R). Lze tedy konstatovat, že i přes to, že střed lomu vytváří extrémní podmínky, hostí zároveň druhy, které v těchto podmínkách žijí a jinde je nenajdeme.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce byla vypracována za finanční podpory interní grantové agentury IGA MENDELU č. TP05/2011. Dále děkujeme za zpracování a determinace části materiálu Ing. Ondřeji Košuličovi.

LITERATURA

Buchar, J., 1993: Komentierte Artenliste der Spinnen Böhmens (Araneida). Acta Univ. Carolinae S. Biologica, 36(1992): 383–428.

Buchar, J., Růžička, V., 2002: Catalogue of spiders of the Czech Republic. Peres, Praha, 351 s.

Hula, V., Šťastná, P., 2010: Spiders (Araneida) from the Lesni lom Quarry (Brno-Hady). Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun., 58(5): 191–202.

ICZN, 1999: International Code of Zoological Nomenclature. Fourth Edition. International Trust for Zoological Nomenclature, London, 306 pp.

Kůrka, A., 2000: Sukcese arachnocenóz v povrchových vápencových lomech v Českém krasu (pavouci – Araneae). [The succession of the spider fauna in limestone quarries of the Bohemian Karst (spiders – Araneae)]. Český kras, 26: 22–27.

Platnick, N. I. 2011: The world spider catalog, version 12.0. American Museum of Natural History, Dostupné online na: http://research.amnh.org/iz/spiders/catalog. DOI: 10.5531/db.iz.0001 (7.10.2011).

Nentwig, W, Blick, T, Gloor, D, Hänggi, A, Kropf, C., 2011: Spiders of Europe – version 6.2011. Dostupné online na: www.araneae.unibe.ch (7.10.2011).

Roberts, M. J., 1995: Spiders of Britain and Northern Europe. Collins Field Guide. Harper Collins Publishrs, Bath, 383 s.

Růžička, V., 2005: Pavouci 76-82 s. In: Farkač, J., Král, D., Škorpík, M.: Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Agentura ochrany přírody a krajiny ČR, Praha, 760 s.

Růžička,V., Buchar, J., 2008: Dodatek ke katalogu pavouků České republiky 2001–2007. (Supplement to the Catalogue of Spiders of the Czech Republic 2001–2007). Sborník Oblastního muzea v Mostě, řada přírodovědná, 29/30(2007/2008): 3–32.

Řezáč, M., 2009: Metodika inventarizace druhů pavouků, 140–153. In: Bartonička, T. (ed.), Metodika inventarizačních průzkumů maloplošných zvláště chráněných území. Dostupné online on: http://www.ochranaprirody.cz/res/data/181/023382.pdf (cited: 18.9.2011).

Tropek, R., 2007: Pavouci (Araneae) xerotermních travniků a lomů Chraněné krajinne oblasti Blansky les. (Spiders (Araneae) of xerothermic grasslands and quarries in the Blansky les Protected Landscape Area). Klapalekiana, 43: 65–77.

Tropek, R., Konvička, M., 2008: Can quarries supplement rare xeric habitats in a piedmont region? Spiders of the Blansky les Mts., Czech Republic. Land Degradation and Development, 19: 104–114.

Tropek, R., Spitzer, L., Konvička, M., 2008: Two groups of epigeic arthropods diff er in colonising of piedmont quarries: the necessity of multitaxa and life-history traits approaches in the monito ring studies. Community Ecology, 9: 177–184.

Tropek, R., Kadlec, T., Karešova, P., Spitzer, L., Kočarek, P., Malenovsky, I., Baňař, P., Tuf, I. H., Hejda, M., Konvička, M., 2010: Spontaneous succession in limestone quarries as an effective restoration tool for endangered arthropods and plants. Journal of Applied Ecology, 47: 139–147.

OBSERVATION OF SPECIES OF AMPHIBIANS (AMPHIBIA) AND REPTILES (REPTILIA) IN THE DISTRICT KARVINÁ

Nytra L.

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

E-mail: nytra.lu@seznam.cz

ABSTRACT

The focus point of this paper is to determine the type and establishment of amphibians and reptiles in the cadastral territory of Dolní Marklovice in the distrikt Karviná. Monitoring of the sites was conducted between 2003-2009. In Dolní Marklovice 5 species of reptiles were detected (including non-native *Trachemys scripta elegans*). As far as concerned, 13 different kinds of amphibians were found, presence of 14th species (*Triturus alpestris*) has not been confirmed. The presence of additional 2 species of amphibians (*Bombina variegata*, *Pelophylax ridibundus*) and 1 unidentified, but probably occurring (*Rana dalmatina*) will need to be reliably confirmed. This thesis summarizes the data from the field studies, analyses them and compares with an occurance of named amphibians and reptiles in the district.

Key words: amphibian, reptile, Dolní Marklovice, district, Karviná

Acknowledgement: Supported by IGA MENDELU No. TP 5/2011.

ÚVOD

Tato práce shrnuje poznatky za období let 2003 – 2009, popisuje sledované území (výměra, poloha, počet obyvatel). Přírodní podmínky jsou podrobněji rozvedeny v charakteristikách: klimatu, geomorfologie, hydrologie, pedologie, biogeografie, potenciální přirozená vegetace, fytogeografie, ochrana přírody a krajiny. Následně jsou uvedeny postupy a metody zjišťování přítomnosti zástupců herpetofauny na uvedených lokalitách s popisem metody mapování pomocí síťových polí. Výsledky a diskuze blíže uvádí sledované lokality a shrnují pozorování jednotlivých druhů. Nejdříve jsou uvedeny vlastní zjištění a následně také literární údaje nebo data AOPK ČR. Popsány jsou i druhy přímo nezjištěné ale vyskytující se v okrese nebo jejichž výskyt uvádí nebo nevylučuje literatura. Práce je zakončena kapitolou Závěr shrnující tento příspěvek.

MATERIÁL A METODIKA

Popis a charakteristika zájmového území

Sledování druhového a početního zastoupení obojživelníků a plazů bylo prováděno v katastrálním území Dolní Marklovice. Dolní Marklovice jsou částí obce Petrovice u Karviné v okrese Karviná, Moravskoslezském kraji. Petrovice u Karviné mají výměru 2047 ha z toho: zemědělská půda 1284 ha (orná půda 939 ha, zahrady 105 ha, TTP 240 ha), lesní půda 337 ha, vodní plochy 88 ha, zastavěné plochy 65 ha, ostatní plochy 273 ha k 31.12.2008. V obci bydlelo 5506 obyvatel k 31.12.2008, hustota dosahuje 268,98 ob./km^2 (ČESKÝ STATISTICKÝ ÚŘAD, 2010). Dolní Marklovice mají rozlohu 493,43 ha (SEAL, S.R.O. & MOONFACE S.R.O., 1998 – 2004).

Klimatické poměry

Celý okres náleží do mírně teplé oblasti MT 10, která je zde charakterizována dlouhým teplým a mírně suchým létem, krátkým přechodným obdobím s mírně teplým jarem a mírně teplým podzimem a krátkou mírně teplou a velmi suchou zimou s krátkým trváním sněhové pokrývky (průměrně 50 až 60 dní za rok). Průměrná roční teplota vzduchu se pohybuje nejčastěji v rozmezí 7,5 až 8,5 ºC a průměrný roční úhrn srážek dosahuje 600 až 700 mm (WEISSMANNOVÁ et. al., 2004).

Geomorfologie

Geomorfologická jednotka:

Systém:	Alpsko – Himálajský
Subsystém:	Karpaty
Provincie:	Západní Karpaty
Soustava:	VIII Vněkarpatské sníženiny
Podsoustava:	VIII B Severní Vněkarpatské sníženiny
Celek:	VIII B – 1 Ostravská pánev
Podcelek:	VIII B – 1B Ostravské plošiny
Okrsek:	VIII B – 1B – 3 Karvinská plošina

(NEUHÄUSLOVÁ et al., 1998; DEMEK & MACKOVIČIN, 2006; WEISSMANNOVÁ et al., 2004)

Ostravská pánev je celek v jihozápadní části Severních vněkarpatských sníženin, rovina a plochá pahorkatina, plocha 483,08 km^2, střední výška 244 m, střední sklon 1˚38´, sníženina vzniklá poklesem Českého masivu při podsouvání pod Karpaty, osu tvoří široká niva řeky Odry, která v pánvi přijímá ze severozápadu řeku Opavu, z jihu Ostravici a Olzu, vyplněná různě mocnými souvrstvími mořských třetihorních sedimentů a čtvrtohorních glacigenních fluviálních i eolických usazenin, karbonské sedimenty v podloží obsahují sloje černého uhlí, které se v pánvi těží, povrch značně změněný zástavbou města Ostravy a hornickou a průmyslovou činností, význačné četné antropogenní tvary, průmyslové a těžební haldy a poklesy, četné rybníky, nejvyšší bod Kouty 332,9 m v Havířovské plošině. Karvinská plošina v severovýchodní části Ostravských plošin, plochá pahorkatina, 37,55 km^2, souvrství kvartérních štěrků a písků ledovcovo-říčního a říčního původu, překryté vrstvou sprašových hlín, erozí rozčleněná glaciofluviální, fluviální a eolická akumulační plošina s četnými znaky periglaciální a humidní modelace, asymetrická údolí, sesuvy, strže, 3. – 5. vegetační stupeň, středně zalesněná, převážně v jižní části, smrkovými porosty místy bukovými. Nejvyšší bod 306,2 m v Karviné Ráji. (DEMEK & MACKOVIČIN, 2006; LUTTERER et al., 1982; ŠUHAJ & TEISTER, 2006).

Geologie a pedologie

Geologické podloží je tvořeno kvartérními sedimenty holocénního až pleistocénního stáří. Především fluviálními a deluviofluviálními sedimenty (povodňové hlíny, jíly, písčité jíly, štěrky), eolickými sedimenty (spraše, sprašové hlíny), glacifluviálními a glacilakustrinními sedimenty (písky, štěrky, tilly, klastika morén). Regionální geologickou jednotkou: platformního pokryvu je: karpatská neogenní předhlubeň. V Petrovicích u Karviné nalezneme půdní typy: luvizem, kambizem v Prstné a fluvizem v nivě Olzy a Petrůvky (WEISSMANNOVÁ et al., 2004).

Hydrologie

Hydrologická síť Petrovic u Karviné je tvořena potoky: Oblázek, Olšinka, Radecký potok, Šotkůvka a mnohými dalšími bezejmennými trvalými i dočasnými vodotečemi. Radecký potok ústí do Petrůvky. Šotkůvka ústí na území Polska do stejnojmenné říčky Szotkówki.. Potok Oblázek je přítokem Karvinských rybníků a jeho vody částečně ústí do Olzy a částečně se stávají vodami potoku Olšinka, který ústí do Petrůvky. Petrůvka i Szotkówka jsou pravostrannými přítoky Olzy, ta u Bohumína předává své vody Odře, která je odvádí do Baltského moře. Celá obec je chráněnou vodohospodářskou oblastí podzemních vod (BROSCH, 2005).

Biogeografie

Území náleží do biogeografické provincie středoevropských opadavých lesů, polonské podprovincie, Ostravského bioregionu. Biochora erodovaných plošin na spraších 3. v. s. a užší hlinité nivy 3. v. s. (CULEK et al., 2003).

Potencionální přirozená vegetace a fytogeografie

Potencionální přirozená vegetace by byla tvořena lužními lesy (*Alnion incanae*) střemchovými jaseninami (*Pruno – Fraxinetum*), místy v komplexu s mokřadními olšinami (*Alnion glutinosae*) dále acidofilními bučinami a jedlinami (*Luzulo – Fagion*), konkrétně podmáčenými dubovými bučinami (*Carici brizoidis – Quercetum*) s ostřicí třeslicovitou (*Carex brizoides*) (NEUHÄUSLOVÁ & MORAVEC, 1997; NEUHÄUSLOVÁ et al., 1998). Dle fytogeografického členění se jedná o oblast mezofytika, obvod Karpatské mezofytikum, okrsek Ostravská pánev (WEISSMANNOVÁ et al., 2004).

Ochrana přírody a krajiny

V obci dnes roste 5 památných stromů: 2 duby letní (*Quercus robur*) v Dolních Marklovicích a 2 duby letní (*Quercus robur*) spolu s lípou velkolistou (*Tilia platyphylos*) v Závadě. Zachovaly se také další významné stromy, které rostou roztroušeně na území obce (WEISSMANNOVÁ et al., 2004). V rámci optimalizace síťe MZCHÚ byly v obci vybrány 3 lokality. Marklovické rybníky 2,70 ha v katastru Dolních Marklovic uvnitř stejnojmenné EVL, jedná se o 1. – 3. Adamecký rybník čili 4. – 6. rybník na Radeckém potoce v ČR. Druhá lokalita Mokřad u Závady 7,37 ha se nachází v katastru Závada nad Olší. Třetí lokalitou je Olšina 19,02 ha také nazývána Lázeckou remízou v katastru Petrovic u Karviné sousedící s Karvinskými rybníky. S Olšinou sousedí lokalita Sirotek 7,81 ha na stejnojmenném rybníce v katastru Staré Město u Karviné. Navrhovaným stupněm ochrany těchto lokalit je přírodní památka (FILIPOVÁ, 2006).

Postupy a metody zjišťování druhového a početního zastoupení

Lokalita je soustavněji sledována od roku 2003 v rámci programu ČSOP Ochrana biodiverzity zaměřeného na obojživelníky a plazy. Obojživelníci byli zjišťování přímým pozorováním, poslechem, odchytem do ruky nebo do síťky. K akustické determinaci hlasů žab bylo používáno nahrávek firmy PELC BIOPHON. Dokumentace byla prováděna videozáznamem a pořizováním fotografií. Také byly přeneseny již nakladené snůšky, které se octly na souši při jarním výlovu nebo pulci z vysychající louže i dospělci nalezeni v díře na opravu auta s kolmými stěnami. Obojživelníci byli sledováni především v rybnících a jejich okolí, lesích, na loukách, okolo sídel a na zahradách, náhodně na poli. Zjišťování rozmnožování bylo prováděno pozorováním snůšek, larev i odchytem do síťky podél břehů. Početnost byla zjišťována počítáním pozorovaných či zaslechnutých jednotlivců nebo odhadem (několik jedinců, desítky, stovky) v případě kdy nebylo zcela jasné kolik jedinců bylo pozorováno či zaslechnuto. Plazi byli zjišťováni při průchodu terénem přímým pozorováním případně poslechem šelestu způsobeným jejich pohybem a následným dohledáním a pozorováním. Plazi byli sledování v okolí rybníků i v nich, okolo vodotečí, v lesích na jejich okrajích a lesních cestách či světlinách a pod elektrovody, na náspech silnic a železnic. Početnost byla zjišťována počítáním pozorovaných jedinců. K determinaci byly používány klíče VLAŠÍNA (1995, 2007).

Síťová pole (čtverce)

Metoda užívaná ve faunistice a floristice při vytváření biogeografických map. Území je rozděleno do čtverců, jejichž velikost je dána použitou metodou. V Evropě se používají dva typy čtvercové sítě. V České republice je používanější metoda Kartierung der Flora Mitteleuropas (KFME). Mapové pole měří 10 minut zeměpisné délky a 6 minut zeměpisné šířky. Toto pole se označuje čtyřmístným číselným kódem, např. 6670. "66" v tomto případě znamená řadu (číslováno od severu k jihu) a "70" znamená sloupec (od západu k východu). Toto základní mapové pole se dá dále dělit na čtvrtiny, označené písmeny a,b,c,d. Dolní Marklovice leží ve čtvercích: 6077c, 6177a (NOVÁK, 1999 – 2010).

VÝSLEDKY A DISKUZE

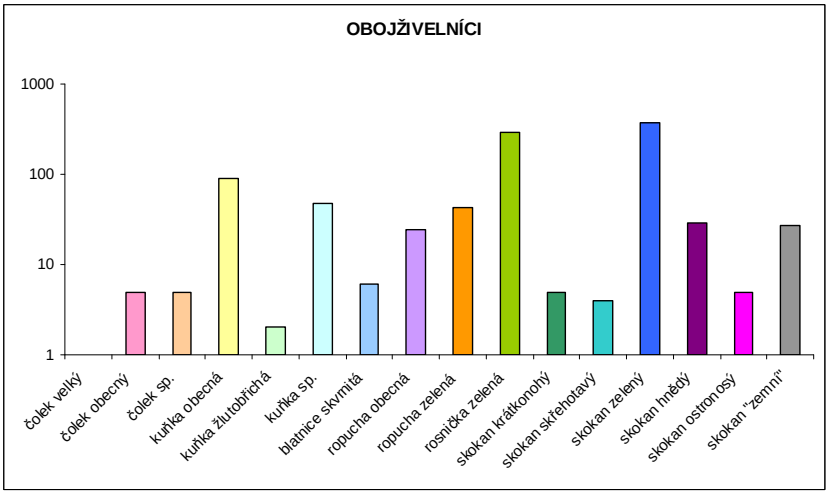
Na vybrané lokalitě bylo od roku 2003 zjištěno pět druhů plazů včetně nepůvodní želvy nádherné (*Trachemys scripta elegans*) a 13 druhů obojživelníků. Čolek horský byl autorem pozorován v 90 letech 20. stol. Bylo získáno 1044 vlastních údajů o výskytu, početnosti i jiné informace o obojživelnících a plazech. Zcela převažují pozorování obojživelníků (981 údajů), pouze 63 údajů bylo získáno o plazech.

Především byly sledovány lokality:

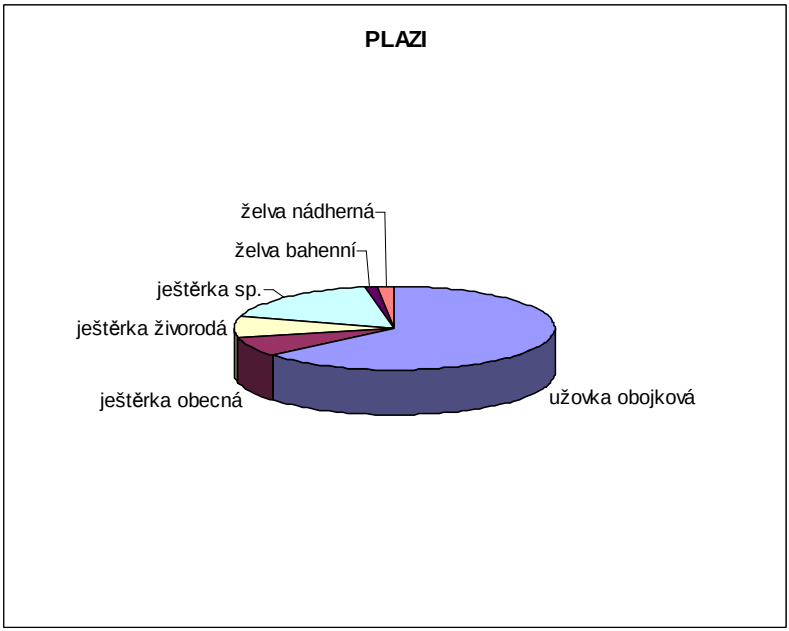
a) soustava rybníků na Radeckém potoce, která má 7 hlavních rybníků pojmenovaných podle pořadí na přítoku Radeckého potoka od vtoku potoka do ČR a podle příjmení majitele nebo tradičního názvu a to:

1. rybník na Radeckém potoce = Smiechův rybník je to první rybník po vtoku Radeckého potoka do ČR před ním se nachází ještě menší nádrž či močál kdysi nejspíše menší rybník dnes s malou vodní plochou, 2. rybník na Radeckém potoce = Hanzlův rybník před třemi roky Gabzdylův, 3. rybník na Radeckém potoce = Radecký rybník, 4. rybník na Radeckém potoce = 1. Adamecký rybník, 5. rybník na Radeckém potoce = 2. Adamecký rybník, 6. rybník na Radeckém potoce = 3. Adamecký rybník (4. - 6. rybník na Radeckém potoce = 1. - 3. Adamecký rybník = Adameckého rybníky), 7. rybník na Radeckém potoce = velký rybník v oploceném areálu ČRS do zimy 2008/2009 rozdělen hrází na dva rybníky poté sloučené do jednoho a malé plůdkové rybníky v oploceném areálu ČRS.

Graf 1. Počet pozorování jednotlivých druhů obojživelníků



Graf 2. Poměr počtu pozorování jednotlivých druhů plazů



b) soustava rybníků na toku pod motokrosem, číslovány od prvního na přítoku potoka (strouhy): 1. - 5. rybník pod motokrosem

c) soustava rybníků nad silničním hraničním přechodem z Dolních Marklovic do Marklowic Górnych, číslovány od prvního na přítoku potoka: 1. – 4. rybník na přítoku nad hraničním přechodem: 1. rybník na přítoku nad hraničním přechodem = Velká divočina, 2. rybník na přítoku nad hraničním přechodem = Malá divočina

d) rybníky v lese Borek u Karviné: 1. rybník poblíž d. č. 28, 2. rybník pod vedením vysokého napětí v průseku

e) rybník v lokalitě Zimný důl nad d. č. 274

Vlastní nálezy v Dolních Marklovicích a výskyt druhů v okrese Karviná

mlok skvrnitý (*Salamandra salamandra* Linnaeus, 1758)

V Dolních Marklovicích autorem nenalezen, vyskytoval se zde pravděpodobně do počátku 80. let 20. století jak uvádí RUSEK (HAJZLEROVÁ, 2006). Informaci o jeho výskytu v Dolno Marklovické rybniční soustavě nad hraničním přechodem podal GAJDÁČEK 2005 (in verb.), jak bylo téhož roku zjištěno jednalo se o záměny za čolka velkého. Podobně se vyjádřil i WALACH 2010 (in verb.), o výskytu mloka v Karviné – Ráji v mokřině údolnice mezi ul. Mickiewiczova a V Polích jež je počátkem potoka protékajícího lesoparkem Dubina, pravděpodobně se také jedná o záměnu za některého z čolků. V okrese Karviná je znám výskyt v PR Velké doly mezi Třincem a Českým Těšínem (vzdušnou čarou 20 km od Dolních Marklovic). POLÁŠEK (1988) jej uvádí jižně od Těrlické přehrady v Hradišti (19 km). Nejblíže se vyskytuje v Polsku v rezerwatu przyrody Kopce na území Cieszyna místní části Marklowice zhruba naproti železniční stanice Chotěbuz (13 km). Koncem 60. let byl ojediněle nalézán v centrální části okresu (databáze AOPK ČR, 2010; KUPKA, 2001; VLČEK, 2003).

čolek karpatský (*Lissotriton montandoni* Boulenger, 1880)

Druh, který nebyl v okrese nalezen. VLČEK (2003) považuje jeho výskyt za možný v jihovýchodní části území.

čolek obecný *(Lissotriton vulgaris* Linnaeus, 1758)

Nalezen 7.8.2006 (několik metamorfujících larev) ve 4. rybníku na přítoku pod motokrosem, (natočeni). Čolci byli v Dolních Marklovicích nalézání opakovaně v 90. letech 20. století na břehu 4. rybníka na Radeckém potoce = 1. Adamecký rybník a v úseku Radeckého potoka mezi Radeckým rybníkem a 1. Adameckým rybníkem, také na zahradě u d. č. 268 a v toku napájejícím rybníky u hraničního přechodu (přímo pod železničním viaduktem). Tyto nálezy lze zařadit pouze mezi čolky sp., protože si vybavuji pouze u čolka nalezeného na zahradě oranžové břicho pravděpodobně beze skvrn. V tomto případě by se mohlo jednat o čolka horského. Čolek sp. byl pozorován 19.4.2004 na břehu Adameckého rybníka, čolek obecný byl pozorován i 5.8.2007 u rybníků nad hraničním přechodem, obě tato pozorování nemají velkou hodnotu, protože mohlo

dojít při krátkém okamžiku než se jedinci ukryli k záměně za mladou ještěrku, tudíž pozorování z 5.8.2007 i 19.4.2004 uvádím jako čolek sp. nebo ještěrka sp.Výskyt čolka obecného zmiňuje v obci Petrovice u Karviné RUSEK (HAJZLEROVÁ, 2006). Přehled lokalit okresu Karviná uváděných VLČKEM (2003): 1. Havířov (mokřady u kruhového objezdu poblíž řeky Lučiny, 2002), 2. Havířov (rybník Na špici, 1997), 3. Těrlicko (okolí ústí Stonávky do Těrlické přehrady a Halamův rybník, 2001), 4. Dolní Datyně (požární nádrž u firmy keramika Pirson, 1998), 5. Horní Suchá – Paseky (zvodnělé poklesy S od skládky a stanoviště u silnice Solecká Z od skládky, 1999), 6. Louky nad Olší (vodní plochy za kostelem sv. Barbory, 2002), 7. Stonava (vodní plochy za dolem ČSM – Jih, 1990), 8. Karviná Ráj – Podlesí (soustava lesních nádrží, 1999), 9. Albrechtice (rybník u cesty, včetně vodních stanovišť v Louckém lese podél Důlského potoka, 2002), 10. Dolní Marklovice (soustavy rybníků v okolí obce, 2002), 11. Věřňovice (mrtvé rameno řeky Olše SV od obce a sezónní louže v okolí obce, 2002), 12. Bohumín (Záblatský rybník, 2002), 13. Rychvald (rybníky Goralčoky, 2002), 14. Rychvald (PR Skučák, 2002), 15. Albrechtice (úsek řeky Stonávky od železničního mostu v Albrechticích k Stonavské silnici), 16. Třinec – Konská (PR Velké Doly, 2001).

Čolka obecného uvádí z lokalit 1 – 14, na lokalitě 15. a 16. jej nenalezl. ŠUHAJ et al. (2003a) zmiňují nepříliš hojný výskyt v nivě Odry u Bohumína na většině území, lokality: Pudlov, Nový a Starý Bohumín. ŠUHAJ et al. (2005) uvádí z dolního Poolzí výskyt ve Skřečoni, Dolní Lutyni, Věřňovicích (mrtvé rameno Olzy), Dětmarovicích, Dolních Marklovicích a Starém Městě. PAVLÍK (2009) jej nalezl v Dolních Marklovicích na lokalitách: rybníky u celnice (2006), Radecký rybník (2008), Adamecký rybník (2008), dvojitý rybník u kříže na Radeckém potoce (asi 2. a 3. Adamecký rybník, 2007), tůně na loukách S od Radeckého rybníka (2007), soustava lesních rybníčků a okolí (asi rybníky pod motokrosem, 2008). V Petrovicích v sádkách na Radeckém potoce (2007, 2008), rybníku Urbančík I, II (2006), mokřad s tůní u rybníku Urbančík I (2007) a v Prstné v rybníčcích u restaurace (2008), lesní rybníčky a okolí v Dolánku (2007), soustavě 5 rybníků na toku Šotkůvka (2007).

čolek horský (*Mesotriton alpestris* Laurenti, 1768)

Pozorování je komentováno výše. VLČEK (2003) nalezl čolka horského na 6 lokalitách (popis viz. čolek obecný) v okrese: 3., 4., 6. - 9. Jako pravděpodobný uvádí výskyt na lokalitě: 5. a 10. ŠUHAJ et al. (2003a) jej nezjistili v nivě Odry u Bohumína. ŠUHAJ et al. (2005) jej hodnotí na většině území dolního Poolzí jako relativně hojného. Z lokalit uvádějí Staré Město a Dolní Marklovice kde ve vhodných nádržích často žije sympatricky s čolkem obecným. PAVLÍK (2009) jej nalezl v Dolních Marklovicích na lokalitách: rybník u státní hranice na Radeckém potoce (2007), rybníky u celnice – lesní cesta (2008) a v Prstné: les Borek – zvodnělé deprese (2008), jasano-olšový luh v okolí toku Šotkůvka u státní hranice (2006).

čolek velký (*Triturus cristatus* Laurenti, 1768)

Nalezen 2.10.2005 (1ex. F) u rybníků nad hraničním přechodem do Marklowic Górnych v otevřené odtokové šachtici z dřevěných železničních pražců rybníku Malá divočina. GAJDÁČEK (in verb.),

jej zde pozoroval opakovaně mezi lety 2000 – 2005. Doložená záměna čolka velkého za mloka skvrnitého, ŠUHAJEM et al. (2005) nesprávně uváděna jako záměna s čolkem horským, byla způsobena vyslovením domněnky autora před determinací nálezu. V rámci programu ČSOP Ochrana biodiverzity byl zjištěn v Karviné Dolech v roce 2003, Karviné Starém Městě v roce 2005, Dolních Marklovicích v roce 2008 na stejné lokalitě jako v roce 2005 (HARTL et al., 2003). V roce 1999 jej ZWACH nalezl ve Věřňovicích na Dolním poli a v Bezdínku také v Novém Bohumíně – Šunychlu a starém rameni Olše v Bohumíně, v roce 2001 v Horních Bludovicích (stará ramena), v roce 2006 v nivě Olše u Věřňovic. MEDUNA jej v roce 2006 nalezl v Havířově (rondel). ŠUHAJ jej v roce 1989 zjistil ve Starém Bohumíně, v roce 2008 v Prstné (niva Šotkůvky), v roce 2009: v Dolní Lutyni (Bažantnice), Loukách nad Olší (Paseky), Věřňovicích (rameno u Bezdínku), Petrovicích u Karviné (okraj lesa východně od Mělčiny). CHOLEVA jej zjistil v roce 2008 v Těrlicku (břeh přehrady), v Chotěbuzi – Zpupné Lhotě (menší rybník), v roce 2009 v Horních Bludovicích (PP Stará řeka). MANDÁK v roce 2009 v Bohumíně – Pudlově (okolí železniční trati) a Karviné Dolech. PASZEK v roce 1976 v Českém Těšíně. ŠEVČÍK v roce 1984 v Petřvaldu u Karviné. EYERMANN v Žermanicích roku 1989. POLÁŠEK v Loukách nad Olší roku 1984 (AOPK ČR, 2010). O výskytu v obci Petrovice u Karviné se zmiňuje RUSEK (HAJZLEROVÁ, 2006). VLČEK (2003) nalezl čolka velkého na 8 lokalitách (popis viz. čolek obecný) v okrese: 1., 2., 4. – 8., 12. Jako pravděpodobný uvádí výskyt na lokalitě: 10. a 11. ŠUHAJ et al. (2003a) zmiňují výskyt v 80. letech 20, století na Malém Kališoku ve Starém Bohumíně a nález z roku 1999 v Novém Bohumíně. ŠUHAJ et al. (2005) uvádí z dolního Poolzí ostrůvkovitý výskyt v Dolní Lutyni, Dolních Marklovicích a Prstné. PAVLÍK (2009) jej nalezl v Dolních Marklovicích na lokalitách: rybníky u celnice (2008), Radecký rybník (2007), dvojitý rybník u kříže na Radeckém potoce (asi 2. a 3. Adamecký rybník, 2007). V Petrovicích na rybníku Urbančík II (2008) a v Prstné v soustavě 5 rybníků na toku Šotkůvka (2007, 2008).

kuňka obecná (*Bombina bombina* Linaneus, 1761)

Byla nalezena celkem 89× od roku 2003 do roku 2009, v roce 2003 byla zjištěna 1.9.2003 v počtu 3ex. V roce 2004 byla pozorována 12× a to od 19.5. do 8.7. v součtu (vždy za celý rok) bylo zjištěno (převážné poslechem) 103ex., na lokalitách v kvadrátech 6077c a 6177a: rybníky pod motokrosem, Radecký rybník, oplocené rybníky ČRS, příkop u cesty naplněný vodou táhnoucí se od d. č. 51 po d. č. 54. V roce 2005 byla zjištěna pouze 2× a to 16.4. a 26.5 jednalo se v obou případech o několik ex. v 1. a 2. Adameckém rybníku. V roce 2006 4×: 23.4. několik subadultů na louce u Radeckého potoka 50 m před ústím do Petrůvky, 20.7., 31.7., 29.10. pozorován vždy 1ex. na lokalitách: rybníky u hraničního přechodu, zahrada d. č. 268, 2. Adamecký rybník. V roce 2007 10× od 1.4. do 2.11., 1.4. několik ex. 2. Adamecký rybník, 22.4. desítky ex. 1. a 2. Adamecký rybník, 4.5. po několika ex. v 2. Adameckém rybníku a 2. rybníku na přítoku pod motokrosem, 13.5. několik ex. v 2. a 3. Adamecký rybník, 19.5. desítky ex. v Radeckém rybníce i 2. a 3. Adameckém rybníku, 3.6. několik ex. v 3. Adamecký rybník, 14.6. několik ex. v oplocených rybnících ČRS, 2.11. jeden ex. v díře na opravu auta u d. č. 268. V roce 2008 39× od 11.4. do 25.10. na lokalitách: 1. – 3. Adamecký rybník, díra na opravu auta a jezírko u d. č. 268, oplocené rybníky ČRS, soustava rybníků na Radeckém potoce, Radecký rybník, louže na louce a v příkopu

u ústí Radeckého potoka do Petrůvky, byli zjištěni adulti, subadulti i juvenilové v součtu 1153 jedinců (několik ex. zprůměrováno na 5, desítky ex. zprůměrovány na 50). V roce 2009 zjištěna 21× od 18.4. do 16.7., na lokalitách: rybníky nad hraničním přechodem, oplocené rybníky ČRS (plůdkové), jezírko u d. č. 268, 1. – 3. Adamecký rybník, v součtu zjištěno do 164 jedinců (několik ex. zprůměrováno na 5). VLČEK (2003) nalezl kuňku obecnou na 5 lokalitách (popis viz. čolek obecný) v okrese: 5., 6., 10., 13., 14. Jako pravděpodobný uvádí výskyt na lokalitě: 3. a 8. Řadí jí k vzácným druhům okresu. ŠUHAJ et al. (2003a) hodnotí jako překvapivý její vzácnější výskyt v nivě Odry u Bohumína ve srovnání s kuňkou žlutobřichou, která je zde četnější. Podobně je tomu i v dolním Poolzí dle ŠUHAJ et al. (2005), kde se vyskytuje v Dolních Marklovicích a Starém Městě, dle citace i na výsypkách dolů v Karviné a Orlové. PAVLÍK (2009) jí nalezl v Dolních Marklovicích na lokalitách: náhon k rybníkům u celnice (2008) a v náhonu u dvojitého rybníka u kříže na Radeckém potoce (2006). V Petrovicích v sádkách na Radeckém potoce (2007), na okraji skládky odpadů (2007) a v Prstné v soustavě 5 rybníků na toku Šotkůvka (2006).

kuňka žlutobřichá (*Bombina variegata* Linnaeus, 1758)

Nalezena pouze dvakrát v roce 2009: 17.6. a 26.6. v jezírku u d. č. 268, přiřazena k tomuto druhu na základě hlasového projevu. VLČEK (2003) nalezl kuňku žlutobřichou na 9 lokalitách (popis viz. čolek obecný) v okrese: 1. – 3., 6., 7., 9. – 11., 14. Jako pravděpodobný uvádí výskyt na lokalitě: 8. ŠUHAJ et al. (2003a, 2005) udávají hojný výskyt z většiny území nivy Odry u Bohumína i dolního Poolzí, domnívají se, že zdejší početné populace dosahují nejvyšších hustot v ČR. PAVLÍK (2009) jí ze zkoumané části Dolních Marklovic, Prstné ani Petrovic u Karviné neuvádí. Její výskyt v Dolních Marklovicích pravděpodobně není příliš častý a jedná se spíše nebo většinou o kříženec, řazené k tomuto druhu na základě převažujících morfologických znaků i akustického projevu. Dolní Marklovice tak v porovnání s nivou Olzy pod soutokem s Petrůvkou a nivou Odry u Bohumína, dle současných zjištění, postrádají početné populace kuňky žlutobřiché.

kuňka sp. (*Bombina* sp.)

Pouze do rodu řadím 47 pozorování, kdy se jednalo o kříženec kuňky obecné se žlutobřichou nebo se nepodařilo druh určit. V roce 2004 se jednalo o 4 pozorování od 19.4. do 26.9., na lokalitách: 1. – 3. Adamecký rybník a okolí (louže v lese, přívodní strouha), zahrada u d. č. 268. V roce 2005 13 pozorování od 26.6. do 25.9., na lokalitách: Radecký rybník, jezírko u d. č. 268, oplocené rybníky ČRS, rybníky nad hraničním přechodem, pole pod d. č. 22 a d. č. 268. Desítky juvenilů byly zjištěny 7.8.2006 na rybnících u hraničního přechodu. V roce 2009 se jednalo o 29 pozorování adultů, subadultů i juvenilů na lokalitách: jezírko a díra na opravu auta u d. č. 268, 2. Adamecký rybník, oplocené rybníky ČRS (plůdkové), menší rybník před 1. rybníkem na Radeckém potoce. Výskyt kříženců je zde běžný, ale oproti většině karvinských nížinných lokalit jsou svými znaky většinou blíže ke kuňce obecné (VLČEK, 2003). Tento stav, kdy se ne vždy jedná o čisté druhové populace není současnou legislativou nijak zohledněn (VYHLÁŠKA č. 395/1992 Sb.), bylo by vhodné do legislativní ochrany zahrnout rod *Bombina*, ochrana by se tak vztahovala na oba naše druhy i jejich kříženec. Jak upozorňují již BARUŠ & OLIVA (1992) není determinace dle

morfologických znaků zcela splehlivá, protože i jedinci se znaky kříženců mohou být geneticky čistými zástupci druhu. Skutečný stav mohou odhalit pouze genetické analýzy.

blatnice skvrnitá (*Pelobates fuscus* Laurenti, 1768)

Hlasový projev 1ex. zaznamenán 17.5.2004, vycházel z bahna na dně vypuštěného 1. Adameckého rybníku = 4. ryb. na Rad. pot. Desítky pulců byly zjištěny 31.7.2006 při společném průzkumu s PAVLÍKEM ve vegetaci u břehu 1. rybníku na Radeckém potoce u státní hranice, odlovem do síťky, determinaci provedl PAVLÍK, dokumentováno natočením. Další nálezy byly učiněny: 16.8.2007, 30.8.2007, 30.4.2008, 13.8.2008, vždy se jednalo o 1ex. v díře na opravu auta u d. č. 268, blatnice byla zdokumentována vyfocením a přenesena k Radeckému rybníku (asi 200 m od místa nálezu). Je možné, že jí toto místo vyhovovalo, protože zde byli nalezeni různí bezobratlí i obojživelníci, kterými se mohla živit. Jako úkryt sloužily trouchnivějící desky, které zde byly umístěny z důvodu louží (aby se nestálo ve vodě). Po novém vybetonování, vyčištění a odstranění trouchnivějících prken na podzim 2008, zde již nebyla v roce 2009 nalezena a i ostatní obojživelníci zde přes pravidelné kontroly byli nalézání méně často než v roce 2007 a 2008. VLČEK (2003) nalezl blatnici skvrnitou na 2 lokalitách (popis viz. čolek obecný) v okrese: 6. a 10. Jako pravděpodobný uvádí výskyt na lokalitě: 11. ŠUHAJ et al. (2003a) zmiňují nález LOJKÁSKA z roku 1987 v nivě Odry u Bohumína a POLÁŠEK jí uvádí z Darkova. ŠUHAJ et al. (2005) uvádí z dolního Poolzí výskyt v Dolních Marklovicích na lokalitě: malý rybníček u státní hranice (1. rybníku na Radeckém potoce) v roce 2002 byl zaznamenán hlas a v letech 2003 a 2004 pulci. PAVLÍK (2009) ji nalezl v Dolních Marklovicích na lokalitách: rybník u státní hranice na Radeckém potoce (2006), motokrosové dráze a okolí (2007).

ropucha obecná (*Bufo bufo* Linnaeus, 1758)

V letech 2004 – 2009 byla nejdříve zjištěna 3.4.2009 a nejpozději 14.7.2009. Většina pozorování připadá na duben, mimo dobu rozmnožování byla zjištěna pouze 3× v červnu a červenci. Pravděpodobně se rozmnožuje ve všech nádržích, ve kterých byla zjištěna. V Gabzdylově rybníku = 2. rybník na Radeckém potoce 4.4.2004 bylo díky jeho vypuštění možno ropuchy spočítat (82ex.). Podobně 15.4.2006 v napouštěném 4. rybníku na potoce nad hraničním přechodem (21ex.). O úspěšném rozmnožování svědčí 7.7.2005 stovky juvenilů po metamorfóze na hrázi Radeckého rybníka. V době rozmnožování (duben) zjištěna ve dvou rybničních soustavách: na Radeckém potoce a rybnících nad hraničním přechodem. Mimo období rozmnožování byla pozorována pouze v lese Borek u Prstné. Pravděpodobně se vyskytuje i v lesích kde nebyla přímo zjištěna, na zahradách či na polích. VLČEK (2003) nalezl ropuchu obecnou na 13 lokalitách (popis viz. čolek obecný) v okrese: 1. – 7., 9 – 14. ŠUHAJ et al. (2003a, 2005) uvádějí běžný výskyt na celém území nivy Odry u Bohumína i dolního Poolzí. PAVLÍK (2009) ji nalezl v Dolních Marklovicích na lokalitách: Adamecký rybník (2007), les Borek u státní hranice (u Prstné, 2007). V Petrovicích u Karviné na lokalitách: břehový porost u toku Petrůvka (2007), okraj skládky odpadů (býv. Petrovická pískovna, 2008), parčík u sv. Martina (2007) a v Prstné: m. č. Pustky na loukách a okolí (2008), soustava 5. rybníků na toku Šotkůvka (2008), okraj lesa v okolí kóty 264.1 (2008).

ropucha zelená (*Pseudepidalea viridis* Laurenti, 1768)

Nejdříve byla zastižena 31.3.2004 (1ex.) na zahradě rodinného domu, pravděpodobně zde zimovala, nejpozději 21.10.2005 (1ex.) tamtéž. V době rozmnožování (od 16.4. do 29.6.) zjištěna v 2. – 7. rybníku na Radeckém potoce a plůdkových rybnících v oploceném areálu ČRS. Po zbytek roku nalézána na zahradách i v domech, na poli a uhynulí (přejetí) jedinci na silnici. VLČEK (2003) nalezl ropuchu zelenou na 11 lokalitách (popis viz. čolek obecný) v okrese: 1. – 4., 6., 7., 10 – 14. Jako pravděpodobný uvádí výskyt na lokalitě: 5. a 8. V nivě Odry u Bohumína nechybí nikde na vhodných lokalitách, žije i v městských částech nebo na území průmyslových závodů např.: v Novém Bohumíně (ŠUHAJ et al., 2003a). ŠUHAJ et al. (2005) jí hodnotí jako vzácnou v Dolní Lutyni, Věřňovicích a Dolních Marklovicích ale na vhodných lokalitách v Šunychlu a Skřečoni je běžná. Na Karvinsku obývá i průmyslem zdevastované plochy. PAVLÍK (2009) ji nalezl v Dolních Marklovicích na lokalitě: louky severně od Radeckého potoka (2007), v Petrovicích u Karviné: louky u toku Petrůvka (2007), seřaďovací nádraží (2007), okraj skládky odpadů (býv. Petrovická pískovna, 2007). V Prstné v soustavě pěti rybníků na toku Šotkůvka (2008), m. č. Háje – louky a remízky (2006).

rosnička zelená (*Hyla arborea* Linnaeus, 1758)

V roce 2004 36× od 19.4. do 27.10. v součtu se jednalo o 140 jedinců převážně zjištěných poslechem na lokalitách: 1. – 3. Adamecký rybník a okolí (močál v lese), zahrada u d. č. 187 a 22 a 268, okolí soutoku Radeckého potoka a Petrůvky, oplocené rybníky ČRS a pole pod d.č. 60, rybníky pod motokrosem, Radecký rybník a okolí, břehový porost Petrůvky u státní hranice, 1. rybník na Radeckém potoce a les okolo polní cesty mezi tímto rybníkem a d. č. 25. V roce 2005 17× od 15.4. do 7.10. v součtu 51 adultů i subadultů na lokalitách: Radecký rybník a okolí, 1. – 2. Adamecký rybník, zahrada u d. č. 22 a 268, rybníky pod motokrosem, 1. rybník na Radeckém potoce a okolí. V roce 2006 25× od 15.4. do 2.9. v součtu 118 jedinců adultních i juvenilních na lokalitách: Radecký rybník a okolí, oplocené rybníky ČRS, 1. – 3. Adamecký rybník a okolí, 2. rybník na Radeckém potoce, rybníky pod motokrosem, zahrada u d. č. 22 a 268, rybníky nad hraničním přechodem, okolí soutoku Radeckého potoka a Petrůvky. V roce 2007 37× od 22.4. do 2.11. v součtu 155 jedinců adultních i subadultních na lokalitách: louka u d. č. 124, louka naproti d.č. 19, zahrada d. č. 268, Radecký rybník, 1. – 3. Adamecký rybník a okolí, louka JV od soutoku Radeckého potoka a Petrůvky, okolí základní školy, les Borek u Prstné, širší okolí dřevěného kostela, rybníky pod motokrosem, prostor od 5. ryb. pod motokr. po 1. ryb. na Rad. pot., niva Petrůvky a okolí od dřevěného kostela po soutok s Radeckým potokem. V roce 2008 108× od 10.4. do 16.10. na lokalitách: soustava rybníků na Radeckém potoce a okolí, okolí Radeckého potoka nad Radeckým rybníkem mezi d. č. 21 a 89, niva Petrůvky, díra na opravu auta a zahrada u d. č. 268 a okolí, jezírko u d. č. 275, areál bývalého statku (nádrž s vodou), okolí Petrůvky u d. č. 74, les mezi státní hranicí a 1. rybníkem na Radeckém potoce, okolí soutoku Radeckého potoka a Petrůvky, zahrada u d. č. 124 a 23, zahrada d. č. 28 a okolí hasičské zbrojnice d. č. 73 , okolí d. č. 187 a 88, niva Petrůvky od d. č. 1 po soutok s Radeckým potokem. V roce 2009 65× od 4.4. do 27.9. na lokalitách: zahrada u d. č. 22, 124, 187, 268 a okolí, jezírko a zahrada u d. č. 283, soustava

rybníků na Radeckém potoce (1. – 7.) a okolí, oplocené rybníky ČRS, břehový porost a louka v nivě Petrůvky, okolí d. č. 88, louže v kolejích v areálu bývalého statku (desítky metamorfujících pulců). VLČEK (2003) nalezl rosničku zelenou na 13 lokalitách (popis viz. čolek obecný) v okrese: 1. – 3., 5 – 14. V nivě Odry u Bohumína je místy hojná, z lokalit uvádí Vrbici, Pudlov, Nový a Starý Bohumín (ŠUHAJ et al., 2003a). ŠUHAJ et al. (2005) jí hodnotí jako hojnou v celém území dolního Poolzí a na Karvinsku obývá i důlní výsypky. PAVLÍK (2009) ji nalezl v Dolních Marklovicích na lokalitě: rybníky u celnice (2007), Radecký a Adamecký rybník (2006), soustava lesních rybníčků a okolí (2006), les Borek u státní hranice (2006). V Petrovicích u Karviné: břehový porost u toku Šotkůvka (2007), rybník Urbančík I a II (2008), mokřad s tůní u rybníka Urbančík I (2008). V Prstné rybníčky u restaurace (2007), m. č. Dolánek – lesní rybníčky a okolí (2008), jasano-olšový luh v okolí toku Šotkůvka u státní hranice (2008), m. č. Háje – louky a remízky (2008).

skokan krátkonohý (*Pelophylax lessonae* Camerano, 1882)

Nejdříve pozorován 10.3.2007, nejpozději 31.7.2007. Nalezen pouze v rybniční soustavě na Radeckém potoce. Malý počet pozorování je dán řazením většiny zjištěných jedinců ke skokanu zelenému. Důvodem je obtížná determinace do druhu (kleptonu), v případě hlasových projevů všech tří taxonů na jednom místě, kdy převažuje skokan zelený s projevem tří forem a případným výskytem čistých rodičovských druhů v malém počtu je potřeba značných zkušeností. Mimo období rozmnožování kdy bývají samci zbarveni téměř žlutě nelze na základě pouhého pozorování druh určit. K tomu je nutno jedince odchytit a na základě typických morfologických znaků dojít k závěru. Domnívám se, že skokan krátkonohý žije také na lokalitách: rybníky pod motokrosem, rybníky nad hraničním přechodem, rybníky v lese Borek u Karviné a rybník v lokalitě Zimný důl nad d. č. 274. Nebyl zde zjištěn patrně pouze z důvodu malého počtu přímo odchycených a určovaných jedinců. VLČEK (2003) nalezl skokana krátkonohého na 9 lokalitách (popis viz. čolek obecný) v okrese: 1., 4. – 11.. Jako pravděpodobný uvádí výskyt na lokalitě: 3. a 15. V Dolních Marklovicích na soustavách rybníků v okolí obce zjistil početné populace. ŠUHAJ et al. (2003a) citují pouze literární údaje týkající se výskytu v Bohumíně, nivě Odry a Skřečoni, doporučují tyto údaje ověřit. V dolním Poolzí jej ŠUHAJ et al. (2005) nalezl na lokalitách: mrtvé rameno Olzy ve Věřňovicích a v Dolních Marklovicích. Citují i výskyt v Dolní Lutyni. PAVLÍK (2009) zjistil výskyt v Dolních Marklovicích na lokalitě: Radecký rybník a soustava lesních rybníčků i okolí (2007), dále v Prstné m. č. Dolánek – lesní rybníčky a okolí (2008).

skokan skřehotavý (*Pelophylax ridibundus* Pallas, 1771)

Nalezen v rybniční soustavě na Radeckém potoce a v jezírku na zahradě rodinného domu. Obdobně jako u skokana krátkonohého, malý počet pozorování jedinců i lokalit je způsoben malým počtem odchycených jedinců s možností determinace dle morfologických znaků a špatnou vylišitelnosti akustického projevu při současném rezonování jiných zástupců vodních skokanů. VLČEK (2003) nalezl skokana skřehotavého na 3 lokalitách (popis viz. čolek obecný) v okrese: 12. – 14. Výskytem je vázán na soustavy velkých rybníků v okrese (okolí Rychvaldu a Bohumína), které navazují na Ostravské rybniční soustavy. ŠUHAJ et al. (2003a) jej udávají z celého toku Odry u Bohumína,

nádržích po těžbě štěrkopísku ve Starém Bohumíně i z menších bažin a přítoků Odry. V dolním Poolzí jej ŠUHAJ et al. (2005) nalezl na lokalitách: Skřečoň a Dolní Lutyně. BARUŠ & OLIVA (1992) udávají výskyt i z oblasti dolního toku Olzy. PAVLÍK (2009) jej nalezl v Dolních Marklovicích na lokalitě: rybníky u státní hranice na Radeckém potoce (2006). V Petrovicích u Karviné v sádkách na Radeckém potoce (2006), v rybníku Urbančík I, II, (2008). V Prstné v soustavě 5 rybníků na toku Šotkůvka (2008).

skokan zelený komplex (*Pelophylax esculentus* complex Linnaeus, 1758)

Byl zjištěn v soustavě rybníků na Radeckém potoce, soustavě rybníků pod motokrosem, soustavě rybníků nad hraničním přechodem, rybníky i louže v lese Borek u Karviné, rybník v lokalitě Zimný důl nad d. č. 274, jezírko na zahradě rodinného domu, louky v nivě Radeckého potoka i Petrůvky, zahrady, pole, areál bývalého statku – nádrž s vodou, louže na lesní cestě v lese Borek u Prstné. Byli pozorováni adulti, subadulti i juvenilové a metamorfující jedinci. Početnost na rozmnožišti byla odhadnuta dle intenzity hlasového projevu na desítky až stovky. VLČEK (2003) nalezl skokana zeleného na 15 lokalitách (popis viz. čolek obecný) v okrese: 1. – 15. Byl nejčastěji sledovaným druhem. V Dolních Marklovicích nalezl početné populace. ŠUHAJ et al. (2003a) jej na vhodných lokalitách zjistili v poměrně hojném počtu např.: Pudlov, Starý Bohumín a citují i výskyt ve Vrbici. V dolním Poolzí se jedná dle ŠUHAJE et al. (2005) o běžný druh na celém území. PAVLÍK (2009) jej nalezl v Dolních Marklovicích na lokalitě: rybníky u celnice (2006 – 2008), Radecký rybník (2007), Adamecký rybník (2006 – 2008), dvojitý rybník u kříže na Radeckém potoce (2007), soustava lesních rybníčků a okolí (2008). V Petrovicích u Karviné v rybnicích Urbančík I, II (2007). V Prstné v soustavě 5 rybníků na toku Šotkůvka (2006 – 2008).

skokan hnědý (*Rana temporaria* Linnaeus, 1758)

Nejdříve byl pozorován 10.3.2007 a nejpozději 27.10.2006. Rozmnožování zjištěno v soustavě rybníků na Radeckém potoce. Nejčastěji byl nalézán mimo rybníky v lesích. VLČEK (2003) nalezl skokana hnědého na 14 lokalitách (popis viz. čolek obecný) v okrese: 1. – 4., 6. – 15. V nivě Odry u Bohumína i dolním Poolzí se vyskytuje běžně po celém území (ŠUHAJ et al., 2003a; ŠUHAJ et al., 2005). PAVLÍK (2009) jej nalezl v Dolních Marklovicích na lokalitě: rybníky u celnice (2006 – 2008), rybník u státní hranice na Radeckém potoce (2008), Adamecký rybník, soustava lesních rybníčků a okolí (2006). V Petrovicích u Karviné na lokalitách:sádky na Radeckém potoce (2007), v okolí Petrůvky (2008), rybníky Urbančík I a II (2008). V Prstné m. č. Dolánek v lesních rybníčcích a okolí (2007) a soustavě 5 rybníků na Šotkůvce (2006 – 2008).

skokan ostronosý (*Rana arvalis* Nilsson, 1842)

Byl nalezen na Adameckých rybnících a na zahradě rodinného domu. Část z 37 l snůšek přenesených 12. a 13.4.2005 z vypouštěného 1. Adameckého rybníku do 2. Adameckého rybníku byla 16.4.2005 det. Ivanem Zwachem jakožto snůšky skokana ostronosého. VLČEK (2003) nalezl skokana ostronosého na 5 lokalitách (popis viz. čolek obecný) v okrese: 5. – 7., 10., 14. Patří tak mezi vzácnější obojživelníky okresu. Z nivy Odry u Bohumína není ŠUHAJEM et al. (2003a) uváděn. Oproti tomu v dolním Poolzí je tento druh zastoupen ve Skřečoni, Dolních Marklovicích,

Starém Městě a citován je i výskyt v Dolní Lutyni z blízkosti Olzy (ŠUHAJ et al., 2005). PAVLÍK (2009) jej nalezl v Dolních Marklovicích na lokalitě: dvojitý rybník u kříže na Radeckém potoce (2007) a v soustavě lesních rybníčků a okolí (2008). V Petrovicích u Karviné jej nezjistil. V Prstné m. č. Dolánek v lesních rybníčcích a okolí (2007).

skokan štíhlý (*Rana dalmatina* Fitzinger In Bonaparte, 1839)

Tento druh nebyl zjištěn. V roce 2003 a 2004 jsem k tomuto druhu zařadil několik nálezů na základě dnes nedoporučované metody (natahování zadní končetiny k čenichu), tyto jedince jsem tak převedl do pozorování skupiny skokanů „zemních" (*Rana* sp.) (ŠANDERA, 2008). Do budoucna bude potřeba provést revizi vlastních záznamů (fotografií, poznámek) této skupiny, protože skokana štíhlého z Dolních Marklovic uvádí PAVLÍK (2009). VLČKEM (2003), ŠUHAJEM et al. (2003a) ani ŠUHAJEM et al. (2005) nebyl skokana štíhlý v okrese nalezen, až v roce 2009 jej ŠUHAJ (in verb.) nalezl v Bohumíně a Dětmarovicích v nivě Olzy. PAVLÍK (2009) jej v Petrovicích u Karviné zjistil na lokalitách: rybník Urbančík I a II (2007), louka S od kóty 244.2 (2006), v Dolních Marklovicích: Radecký rybník (2008), tůně na loukách S od Radeckého rybníka (2007) a v Prstné: soustava 5 rybníků na toku Šotkůvka (2006 – 2008).

skokan „zemní" (*Rana sp.*)

Jedná se o jedince neurčené do druhu, mohlo se jednat o skokana hnědého, ostronosého i štíhlého. Obdobně jako u vodních skokanů ani tento rod nelze na základě pouhého pozorování spolehlivě určovat do druhu. K tomu je zapotřebí jedince odchytit nebo slyšet akustický projev a dostatek zkušeností. Nejčasněji byl pozorován 28.2.2009 a nejpozději 29.10.2004.

želva bahenní (*Emys orbicularis* Linnaeus, 1758)

Nalezena pouze jednou 3.5.2009 ve 12:50 na hrázi 2. Adameckého rybníka = 5 rybník na Radeckém potoce, kvadrát 6177a, bylo skorojasno okolo 20 ˚C. Byla zdokumentována a následně v 16:30 vypuštěna v místě nálezu. Dle pozdějších zjištění se velmi pravděpodobně jednalo o jedince uniklého z chovu nebo záměrně vysazeného (ŠUHAJ & NYTRA, 2009). Na jaře 1969 byla KOLONDROU (in verb.) pozorována v Dolních Marklovicích (kvadrát 6177a) v Radeckém potoce 20 m před ústím do Petrůvky (asi 200 m od loňského nálezu). Bez bližších informací o tomto exemplář nelze usuzovat na jeho původnost na lokalitě. O výskytu želvy bahenní ve 2. polovině 20. století informoval rovněž KANIA (in verb.), který uvedl jako místo výskytu tok Petrůvky v Petrovicích u Karviné pod Kynologickým klubem, kvadrát 6177a i 6077c. V ČR není v současnosti známa autochtonní populace želvy bahenní a nejinak je tomu i v Dolních Marklovicích potažmo celém okresu Karviná (MIKÁTOVÁ et. al., 2001; PAVLÍK, 2009; ŠUHAJ et al., 2003a; ŠUHAJ et al., 2005).

želva nádherná (*Trachemys scripta elegans* Wied, 1839)

Jeden exemplář tohoto nepůvodního druhu byl nalezen 27.3.2005 na dně vypuštěného 2. Adameckého rybníka = 5 rybník na Radeckém potoce, kvadrát 6177a, byl odchycen a umístěn do domácího chovu. Také tento jedinec mohl uniknout ze zahradního chovu nebo byl záměrně

vypuštěn, mohl zde úspěšně přezimovat. Tento druh byl v okrese nalezen na více lokalitách (Šuhaj et al., 2003a, b; ŠUHAJ et al., 2005).

ještěrka obecná (*Lacerta agilis* Linnaeus, 1758)

Mezi obývané lokality patří železniční násep, rybníky pod motokrosem, mez na poli u železniční trati, pole u soutoku Petrůvky a Radeckého potoka. Byla zjištěna v nivě Odry u Bohumína kde je poměrně hojným druhem na lokalitách: Starý Bohumín, Vrbice, Pudlov. Běžná je i v dolním Poolzí jak uvedli ŠUHAJ et al. (2005). PAVLÍK (2009) jí v Petrovicích u Karviné zjistil na lokalitách: břehový porost u toku Petrůvka (2006), seřaďovací nádraží (2007), okraj skládky odpadů (2008), louka S od kóty 244.2 (2007), parčík u sv. Martina (2008). V Dolních Marklovicích na lokalitách: železniční násep (2008), louky S od Radeckého potoka (2007), motokrosová dráha a okolí (2007). V Prstné na lokalitách: m. č. Pustky na loukách a okolí (2007), m. č. Háje na loukách a remízcích (2008).

ještěrka živorodá (*Zootoca vivipara* Jacquin, 1787)

Výskyt byl zjištěn na lokalitách: rybníky pod motokrosem, okolí 1. rybníku na Radeckém potoce, les Borek u Karviné – břeh rybníku 50 m S od d. č. 28. V nivě Odry u Bohumína ji ŠUHAJ et al. (2003a) pozorovali ve Starém Bohumíně (2003) a Koblově (2003). ŠUHAJ et al. (2005) zjistili v dolním Poolzí několik ostrůvkovitých populací např.: v Dolní Lutyni, Dolních Marklovicích, Prstné a Starém Městě. PAVLÍK (2009) jí v Petrovicích u Karviné zjistil na lokalitách: les u skládky odpadů (2007), les u kóty 255.1 (2007). V Dolních Marklovicích na lokalitách: tvrdý luh u rybníků u celnice (2008), les Borek u státní hranice (2006). V Prstné na lokalitách: les Borek (2008), m. č. Dolánek – lesní rybníčky a okolí (2007), les v okolí kóty 264.1 (2007).

ještěrka sp. (Lacerta agilis a Zootoca vivipara)

Jedná se o jedince, které se nepodařilo určit do druhu. Byly zjištěny na různých lokalitách. V budoucnu bude vhodné upřesnit, který druh se vyskytuje na jaké lokalitě, popřípadě zda se nevyskytují oba druhy spolu, jako je tomu u rybníků pod motokrosem.

slepýš křehký (*Anguis fragilis* Linnaeus, 1758)

Z nivy Odry u Bohumína je uváděn pouze z Koblova v sousedním okrese (ŠUHAJ et al., 2003a). Z dolního Poolzí je ŠUHAJEM et al. (2005) citován výskyt v Dolní Lutyni (1997). PAVLÍK (2009) jej v Petrovicích u Karviné zjistil na lokalitě: okraj skládky odpadů (2008). V Dolních Marklovicích na lokalitách: louky S od Radeckého potoka (2007), motokrosová dráha a okolí (2008). V Prstné jej nalezl na lokalitách: m. č. Pustky – louky a okolí (2007), m. č. Podlesí – suché louky (2008), m. č. Háje – louky a remízky (2008).

užovka hladká (*Coronella austriaca* Laurenti, 1768)

Vlastním výzkumem nepotvrzena. První nález v okrese učinil PAVLÍK (2009) v Prstné roku 2007 na ovsíkové louce na okraji lesa jižně od kóty 264.1. Známé jsou lokality v okrese Frýdek-Místek: kamenolom u Žermanické přehrady, Třinec – Borek a Dolní Lištná (MIKÁTOVÁ et al., 2001).

užovka obojková (*Natrix natrix* Linnaeus, 1758)

Mezi lokality výskytu patří: soustava rybníků na Radeckém potoce a okolí, soustava rybníků pod motokrosem, soustava rybníků u hraničního přechodu, niva Petrůvky. Dle ŠUHAJE et al. (2003a) se jedná o běžný druh v nivě Odry u Bohumína. Běžná je také v nivě dolního Poolzí (ŠUHAJ et al., 2005). PAVLÍK (2009) v Petrovicích u Karviné zjistil výskyt na lokalitách: sádky u Radeckého potoka (2007), rybník Urbančík I a II (2006, 2008). V Dolních Marklovicích na lokalitách: rybníky u celnice (2007), rybník u státní hranice na Radeckém potoce (2008), Radecký rybník (2008), dvojitý rybník u kříže na Radeckém potoce (2008), Adamecký rybník (2008), soustava lesních rybníčků (2006). V Prstné na lokalitách: rybníčky u restaurace (2007), m. č. Dolánek – lesní rybníčky (2006), soustava 5 rybníků na toku Šotkůvka (2007).

užovka podplamatá (*Natrix tessellata* Laurenti, 1768)

Tento druh nebyl v Dolních Marklovicích nalezen. V okrese Karviná se vyskytuje v Havířově a ojediněle je nalézána i jinde: niva Odry u Bohumína, soutok Olzy s Odrou (ŠUHAJ et al., 2003a; ŠUHAJ et al., 2005). VLČEK et al. (2010) zjistili početnou rozmožující se populaci v Havířově u vodních nádrží na potoku Sušanka, druh byl nalezen také v Polsku u obcí Kaczyce Górne a Brzezówka, jedná se tak o nový druh plaza pro Polsko.

zmije obecná (Vipera berus Linnaeus, 1758)

V katastru Dolních Marklovic nenalezena. Informaci o výskytu v sousední Prstné místní části Háje do/v 70. let/ech 20. století poskytl KANIA (in verb.). Podobně Wąsik (in verb.) se zmiňuje o výskytu po roce 2000 v Polsku na katastru Kaczyc Dolnych v lese Podświnioszów. V obou případech nelze vyloučit záměnu za užovku obojkovou, která se vyskytuje poměrně často nebo jiného plaza. V Kaczycach Dolnych mohlo jít i o užovku podplamatou. V okrese Karviná byla zjištěna výjimečně: MIKÁTOVOU v Albrechticích roku 1984 (MIKÁTOVÁ et al., 2001). V roce 1999 došlo k uštknutí dítěte ve Věřňovicích (ŠUHAJ et al., 2005).

ZÁVĚR

Tato práce shrnuje výsledky sledování obojživelníků a plazů v katastrálním území Dolní Marklovice a pro srovnání uvádí zjištění publikovaná v odborné literatuře týkající se jak dotčeného katastru, tak celé obce i okresu. Bylo zjištěno třináct druhů obojživelníků a pět druhů plazů. Mezi nejcennější nalezené druhy patří čolek velký (*Triturus cristatus*), blatnice skvrnitá (*Pelobates fuscus*) a skokan ostronosý (*Rana arvalis*). Nejčastěji byli sledováni zástupci komplexu zelených skokanů (*Pelophylax esculentus* complex), rosnička zelená (*Hyla arborea*), kuňka ohnivá (*Bombina bombina*) a zástupci rodu kuňka (*Bombina* sp.). Mezi běžné ale méně často sledované druhy lze zařadit ropuchu zelenou (*Pseudepidalea viridis*), skokana hnědého (*Rana temporaria*), skupinu „zemních“ skokanů (*Rana* sp.) a ropuchu obecnou (*Bufo bufo*). Malý počet sledování skokana krátkonohého (*Pelophylax lessonae*) a skokana skřehotavého (*Pelophylax ridibundus*) je dán obtížností jejich determinace. Podobně je tomu u skokana ostronosého (*Rana arvalis*) mimo období rozmnožování. Absence čolků je pravděpodobně dána nedostatkem zkušeností při jejich sledování

nebo nevhodnou metodou, protože z jiných prací jsou udávány sledování tří druhů z více lokalit katastru. Vzhledem ke skrytému způsobu života nepřekvapuje nižší počet pozorování blatnice skvrnité (Pelobates fuscus). Celkem je z území necelých 500 ha udáván výskyt 15 druhů obojživelníků: Lissotriton vulgaris, Mesotriton alpestris, Triturus cristatus, Bombina bombina, B. variegata, Pelobates fuscus, Bufo bufo, Pseudepidalea viridis, Hyla arborea, Pelophylax lessonae, P. ridibundus, P. esculentus complex, Rana temporaria, R. arvalis, R. dalmatina a 5 druhů plazů: Emys orbicularis, Lacerta agilis, Zootoca vivipara, Anguis fragilis, Natrix natrix. V budoucnu bude potřeba výše uvedené druhy spolehlivou formou doložit (nahrávky akustických projevů, fotografie, videonahrávky) aby nedocházelo ke zpochybňování biodiverzity herpetofauny Dolních Marklovic. Nejcennějšími lokalitami jsou rybníky na Radeckém potoce, rybníky pod motokrosem a rybníky nad hraničním přechodem. Menší počet druhů na ostatních lokalitách je pravděpodobně zapříčiněn malou četností jejich návštěv. Rybníky na Radeckém potoce a pod motokrosem jsou součástí EVL Dolní Marklovice, která by jim do budoucna v kategorii přírodní památky měla poskytnout vhodnou ochranu.

LITERATURA

AOPK ČR, 2010: Nálezová databáze AOPK ČR. Praha.

BARUŠ, V., OLIVA, O. (eds.), 1992: Fauna ČSFR: sv. 25: Obojživelníci – Amphibia. Academia, Praha, 1992. 340 s.

BROSCH O., 2005: Povodí Odry, Anagram, Ostrava, 323 s.

CULEK M. a kol., 2003: Biogeografické členění České republiky: II. díl, Agentura ochrany přírody a krajiny, Praha, 590 s.

ČESKÝ STATISTICKÝ ÚŘAD, 2010: Vybrané statistické údaje za obec. Databáze online [cit. 2010-04-14]. Dostupné na: http://vdb.czso.cz/vdbvo/tabdetail.jsp?kapitola_id=5&potvrd=Dokon%C4%8Dit+%C3%BApravy&cislotab=MOS+ZV01&pro_4382338=599077&str=tabdetail.jsp

DEMEK J., MACKOVIČIN P. (eds.), 2006: Zeměpisný lexikon ČR: Hory a nížiny, Agentura ochrany přírody a krajiny ČR, Brno, 582 s.

FILIPOVÁ K., 2006: Moravskoslezský kraj, s. 82–89. In: VYDROVÁ A., KUCHAŘOVÁ P., GRULICH V. (eds.), 2006: Optimalizace výsledků mapování přírodních biotopů a jejich aktuálního zastoupení na území ČR jako předmětu ochrany v současné síti maloplošných zvláště chráněných území v ČR. Vč. sb. přír. – Práce a studie. Pardubice, suppl. 1 (2006), 218 s. Online [cit. 2010-04-07]. Dostupné na: http://www.mzp.cz/www/vav.nsf/index.html

HAJZLEROVÁ I., 2006: Petrovice u Karviné: 700 let od první písemné zmínky., Obec Petrovice u Karviné a Zemský archiv v Opavě – Státní okresní archiv Karviná, Petrovice u Karviné, 160 s.

HARTL J., POLÁŠEK Z. a kol., 2003: Mapování výskytu obojživelníků na toku řeky Olše a v bezprostředním okolí, Závěrečná zpráva projektu 191303, Realizátor: ZO ČSOP 73/05 OLZA, Závada, 12 s. + přílohy. Depon. ZO ČSOP 73/05 OLZA, Petrovice u Karviné. Nepubl.

KUPKA J., 2001: Mlok skvrnitý (Salamandra salamandra) v přírodní rezervaci Velké doly. Těšínsko – Časopis muzea Těšínska, 44 (2): 30 – 31. Archiv online [cit. 2010-04-24]. Dostupné online na: http://www.muzeumct.cz/obrazy/casopis_tesinsko/Tesinsko_2_01.pdf

LUTTERER I., MAJTÁN M., ŠRÁMEK R., 1982: Zeměpisná jména Československa: Slovník vybraných zeměpisných jmen s výkladem jejich původu a historického vývoje. Mladá fronta, Praha, 376 s.

MIKÁTOVÁ B., VLAŠÍN M., ZAVADIL V. (eds.), 2001: Atlas rozšíření plazů v České republice. Atlas of the distribution of reptiles in the Czech Republic. AOPK ČR, Brno – Praha, 257 s.

NEUHÄUSLOVÁ Z. & MORAVEC J. (eds.), 1997: Mapa potencionální přirozené vegetace České republiky. Map of Potential Natural Vegetation of the Czech Republic. Botanický ústav AV ČR.

NEUHÄUSLOVÁ Z. a kol., 1998: Mapa potencionální přirozené vegetace České republiky: Textová část. Map of Potential Natural Vegetation of the Czech Republic: Explantatory text. Academia, Praha, 344 s.

NOVÁK J., 1999 – 2010: Síťová pole. BioLib. Encyklopedie online [cit. 2010-04-21]. Dostupné na: http://www.biolib.cz/cz/glossaryterm/id229/

PAVLÍK P., 2009: Plazi a obojživelníci katastru obce Petrovice u Karviné (Česká republika). Acta Mus. Beskid., 1: 109–114

PELZ - BIOPHON., 2006: Hlasy našich žab.

POLÁŠEK Z., 1988: Předběžná informace o průzkumu obojživelníků a plazů v okrese Karviná. Karvinské mládí – Hyla, 28: 3–10

SEAL, S.R.O. & MOONFACE S.R.O., 1998 – 2004: Informace o katastrálním území Dolní Marklovice. Databáze online [cit. 2010-04-15]. Dostupné na: http://www.isu.cz/uir/scripts/vfcob.asp

ŠANDERA M., 2008: Hnědí skokani ČR. AOPK ČR, 2 s. Klíč online [cit. 2010-04-29]. Dostupné na: http://www.nature.cz/publik_syst2/files08/klic_hnedi_skokani.pdf

ŠUHAJ J., POLÁŠEK Z., KOČÁREK P. & STOLARCZYK J., 2003a: Předběžná zpráva o inventarizaci obojživelníků (Ampbibia) a plazů (Reptilia) v nivě Odry u Bohumína. Acrocephalus (Ostrava), 19: 34–40

ŠUHAJ J., STOLARCZYK J., VLČEK P. & POLÁŠEK Z., 2003b: Výskyt želvy nádherné (Trachemys scripta) v české části Slezska. Acrocephalus (Ostrava), 19: 41–44

ŠUHAJ J., VLČEK P. & JABLONSKI D., 2005: Obojživelníci (Amphibia) a plazi (Reptilia) dolního Poolzí. Acrocephalus (Ostrava), 21: 51–56

ŠUHAJ J., TEISTER F. J., 2006: Zeměpisné názvy v hraničních meandrech Odry dříve a nyní. Poodří – časopis obyvatel horní Odry, 9 (1): 13–19

ŠUHAJ J., NYTRA L., 2009: Výskyt želvy bahenní (Emys orbicularis) v Petrovicích u Karviné. Occurrence of the European Pond Turtle (Emys orbicularis) in Petrovice u Karviné. Acrocephalus (Ostrava), 25: 104–106

VLAŠÍN M., 1995: Klíč k určování obojživelníků a plazů. EkoCentrum Brno, Brno. 72 s.

VLAŠÍN M., 2007: Klíč k určování obojživelníků a plazů. Rezekvítek, Brno, 40 s.

VLČEK P., 2003: Některá batrachologicky významná vodní stanoviště v okrese Karviná. Acrocephalus (Ostrava), 19: 29–33

VLČEK P., NAJBAR B. & JABLONSKI D., 2010: First records of the Dice Snake (Natrix tessellata) from the North-Eastern part of the Czech Republic and Poland. Herpetology Notes, 3: 23–26. Časopis online [cit. 2010-04-30]. Dostupné na: http://www.seh-herpetology.org/herpetologynotes/contents.html

VYHLÁŠKA č. 395/1992 Sb. ministerstva životního prostředí České republiky ze dne 11. června 1992, kterou se provádějí některá ustanovení zákona České národní rady č. 114/1992 Sb., o ochraně přírody a krajiny. Legislativa online [cit. 2010-04-13]. Dostupné na: http://www.mzp.cz/cz/platne_pravni_predpisy

WEISSMANNOVÁ H. a kol., 2004: Ostravsko. Chráněná území ČR, svazek X. Agentura ochrany přírody a krajiny ČR a EkoCentrum Brno, Brno, Praha, 456 s.

PARASITIZATION OF THE SECOND EUROPEAN CORN BORER GENERATION (*OSTRINIA NUBILALIS* HBN.) BY *LYDELLA THOMPSONI* HERTING AT THE LOCATION GABČÍKOVO

Perniš M., Cagáň Ľ.

Department of Plant Protection, Faculty of Agrobiology and Food Resources, Slovak University of Agriculture in Nitra, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic

E-mail: pernismiro@gmail.com

ABSTRACT

This paper reports on parasitization of the second European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) generation by the tachinid parasitoid *Lydella thompsoni* Herting. Our objective was to describe the incidence of the *Lydella thompsoni* adults able to attack the second generation corn borer larvae in autumn on maize plants in Slovakia. It is a first study that discussed occurrence of parasitoids attacking the second generation larvae of European corn borer (ECB). On October 7 in 2010 together 660 larvae of the pest were collected from maize plants at the location Gabčíkovo. Larvae were reared on simplified artificial diet in 200 ml glasses in laboratory conditions (22 °C, relative air humidity 60%).

Three parasitoid species, *Lydella thompsoni* Herting, *Sinophorus turionus* (Ratz.) and *Eriborus terebrans* (Gravenhorst), were reared from field-collected second generation ECB larvae in the region Gabčíkovo in south-western Slovakia. The level of parasitism was relatively low (3.03%) and the emerged parasitoids were fourteen individuals of *Lydella Thompsoni* (Diptera, Tachinidae), three females of *Sinophorus turionus and* three females of *Eriborus terebrans* (both Hymenoptera, Ichneumonidae). *Lydella thompsoni* was the most abundant parasitoid (2.1%) and represented 70% of all emerged parasitoid species attacking the second generation pest's larvae.

The pupation of *L. thompsoni* started on October 20 and the last pupa was found on November 17. More than 50% larvae of *Lydella thompsoni* pupated till November 12, twenty two days after the beginning of pupation.

The flight of the *Lydella thompsoni* adults started at the beginning of November in laboratory conditions. The last adults emerged on November 30 in 2010. The length of the flight period corresponded with the length of the pupation period. All pupae of the tachinid appeared in the period of twenty nine days and all the adults emerged within twenty eight days. The pupal stage lasted from ten to fourteen days and the average time for the pupal stage was 12. 21 days.

Important question is what adults of *L. thompsoni* did attack the larvae at the end of September or beginning of October? It is known, that about one-third of *L. thompsoni* adults emerge from first generation ECB larvae at the end of the growing season in Slovakia. The rest overwinter in host and emerge in spring in next year. Until now it was unknown what host did the "autumn generation" of *L. thompsoni* attack. According to our study, these adults parasitize larvae of second ECB generation and probably overwinter in these larvae in the field conditions. This is the first described occurrence of the second generation larvae of the ECB and their parasitoids in Slovakia.

Key words: *Ostrinia nubilalis;* European corn borer; bivoltine population; *Lydella thompsoni;* parasitoid

Acknowledgement: The authors thank O. Janovičová and Ing. I. Demová for technical assistance.

INTRODUCTION

In Slovakia, Cagáň *et al.* (1995) studied the parasitization of the European corn borer larvae (ECB), *Ostrinia nubiallis* Hbn. for the first time and described the occurrence of larval parasitoids from *Tachinidae, Ichneumonidae* and *Braconidae.* Bokor (1998) described six species of the first generation ECB larval parasitoids. These were *Lydella thompsoni, Sinophorus turionus, Microgaster tibialis, Eriborus terebrans, Sympiesis viridula* and *Exeristes robotator*. Regular incidence of the parasitoids was recorded for two species only: *Lydella thompsoni* and *Sinophorus turionus.*

The works of these two authors are the only published information about larval parasitoid of ECB from Slovakia. They reported on the occurrence, bionomy, phenology and the parasitism rate of four parasitoid species gained from the first generation larvae of ECB from different locations in Slovakia (CAGÁŇ and BOKOR, 1998; BOKOR and CAGÁŇ, 1999a, b; CAGÁŇ *et al.*, 1999). Because there was no second generation of ECB described in former times, except the partial second generation in 1994, when two remnants of pupae were observed by Cagáň (1998) in maize stalks in autumn, there are no works discussing parasitism of the second ECB generation larvae by larval parasitoids.

However, due to changing climatic conditions in last 15 years, there was a possibility for bivoltine populations shifting northwards in central Europe. Kocmánková *et al.* (2008) used the meteorological data from Czech Republic from 1961 to 2000 to predict the potential geographical distribution of ECB populations. According to the study, the present area of the univoltine population will increase due to temperature increases even above 800 m a.s.l. In addition there is a risk of the establishment of a bivoltine population in the main agricultural areas and 38% of arable land in the Czech Republic before 2050. In Hungary the incidence of bivoltinism shifted northwards in years 1999-2001 due to the mild spring and the hot rainy summer (KESZTHELYI, 2006). During the year 2006, a second generation of the pest was detected for the first time in Saxony (Leipzig region) in Germany (PÖLITZ *et al.*, 2007). In Serbia (south-eastern Europe), the ratio between the first and the second generation has been changed in period 1987-2007 so that the larger number is the second generation: on the average 1 : 5.94 (first : second generation) (BAČA *et al*., 2007). Despite of this knowledge, information about parasitism of the second European corn borer generation is missing in central Europe.

According to Thomson *et al.* (2008) the effectiveness of natural enemies in controlling pests will decrease if pest distributions shift into regions outside the distribution of their natural enemies, although a new community of enemies might then provide some level of control. On October 7 we

observed larvae of second ECB generation generally in 3rd instar on maize ears and leaf axils at the location Gabčíkovo (south-western Slovakia). Our objective was to find out, if there are some adults of *Lydella thompsoni* able to attack the second generation ECB larvae in time of their incidence on maize plants in Slovakia.

MATERIALS AND METHODS

To define the parasitization by *L. thompsoni*, the second generation larvae of the pest were collected at the location Gabčíkovo (south-western Slovakia) on October 7 in 2010. Larvae of the 2nd, 3rd and 4th instar were recovered from the ears and leaf axils of the corn plants and than placed into 200 ml glasses. Together 660 larvae of the second generation were collected.

Each glass contained 20 larvae of the second ECB generation and few cubes of the artificial diet for feeding and water intake by the larvae. The composition of the simplified artificial diet described by Nagy (1974) is shown in the Table 1. The artificial diet has been changed once a week. Glasses were covered by two layers of cloth, which was damped periodically, and placed in wooden cages in laboratory temperature 22 °C and relative air humidity 60 %. The photoperiod was changed every 7 days to imitate the daylight in natural conditions. From October 7 to October 14 the photoperiod was set on 11 h 20 min., in October 15 – 22 the photoperiod was 11 hours, in October 23 – 30 it was 10 h 35 min., in October 31 – November 6 it was 10 hours, in November 7 – 14 the photoperiod was 9 h 35 min., in November 15 – 22 it was 9 hours, in November 23 – 30 the photoperiod was set on 8 h 42 min.

To monitor the development of the parasitoid, the glasses were checked daily and the appeared pupae and cocoons were inserted in the tubes separately. Tubes were enclosed with cotton wool and placed into same laboratory conditions as well as the glasses with larvae. The cotton wool was damped daily and the cocoons were checked for adult emergence every day.

The time of appearance of each parasitoid pupae and of emergence of the adult were recorded.

The emerged parasitoid adults were kept in the same laboratory conditions as aforementioned. After their death, they are kept in 70 % ethanol until the subsequent species identification.

Table 1. Composition of the simplified artificial diet for European corn borer larvae (Nagy, 1974)

Component	**Volume/Weight**
Water	2.6 l
Wheat sprouts	250 g
Granular Lucerne	200 g
Acetic acid	8 ml
Sorbic acid	4 g
Methylparaben	5 g
Agar	40 g
Ale yeasts	80 g

RESULTS

Table 2 shows the parasitization of the second generation ECB larvae. Total number of parasitoids emerged from host larvae was twenty and the rate of parasitization was 3. 03 %. There were fourteen individuals of *Lydella Thompsoni* (Diptera, Tachinidae), three females of *Sinophorus turionus* (Hymenoptera, Ichneumonidae) and three females of *Eriborus terebrans* (Hymenoptera, Ichneumonidae) emerged in autumn in laboratory conditions.

Table 2. The rate of ECB larvae parasitization by the different species

	ECB larvae	**L. thompsoni**	**S. turionus**	**E. terebrans**	**Total**
Number of samples	660	14	3	3	20
% of parasitization	-	2.1	0.45	0.45	3.03

Table 3 shows the pupation and adults' emergence time of the parasitoid *Lydella thompsoni*. The first pupa of *Lydella thompsoni* appeared on October 20 in 2010 in laboratory conditions and all the individuals finished their pupation till November 17. More than 50 % larvae of *Lydella thompsoni* pupated till November 12, twenty two days after the beginning of pupation. The most intensive pupation was taking place in the days within November 8 in 2010 and November 17 in 2010. In this period, nine of the fourteen pupae appeared and the average number of pupae was 0.9 per day.

The flight of the *Lydella thompsoni* adults started at the beginning of November in laboratory conditions. The last adults emerged on November 30 in 2010. The length of the flight period corresponded with the length of the pupation period. All pupae of the tachinid appeared in the period of twenty nine days and all the adults emerged within twenty eight days. The pupal stage lasted from ten to fourteen days and the average time for the pupal stage was 12. 21 days.

Table 3. Development of Lydella thompsoni (LT) emerging from the second generation ECB larvae in laboratory conditions

Sample number	**Date of LT pupa appearance**	**Date of LT adult emergence**
14.1	20.10.2010	03.11.2010
03.1	22.10.2010	04.11.2010
16.1	26.10.2010	08.11.2010
26.1	30.10.2010	10.11.2010
02.1	03.11.2010	15.11.2010
12.1	08.11.2010	18.11.2010
03.2	10.11.2010	24.11.2010
20.1	12.11.2010	24.11.2010
28.2	12.11.2010	22.11.2010
18.1	14.11.2010	26.11.2010
20.2	15.11.2010	28.11.2010
07.1	15.11.2010	26.11.2010
17.1	17.11.2010	30.11.2010
25.1	17.11.2010	30.11.2010

DISCUSSION

Three parasitoid species, *Lydella thompsoni* Herting, *Sinophorus turionus* (Ratz.) and *Eriborus terebrans* (Gravenhorst), were reared from field-collected second generation European corn borer larvae in the region Gabčíkovo in south-western Slovakia. The level of parasitism was low (3.03 %) which could be caused by the maize hybrid planted in the field (CLARK *et al*., 2001), the local landscape structure without wooded edges needed by *E. terebrans* especially (LANDIS and HAAS, 1992; DYER and LANDIS, 1996, 1997) and relatively low number of collected host larvae. Clark *et al*. (2001) described three parasitoids, *Eriborus terebrans* (Gravenhorst), *Macrocentrus grandii* Goidanich, and *Lixophaga* sp. reared from second generation corn borer larvae in Nebraska. The ichneumonid, *Eriborus terebrans*, was the only parasitoid species reared from second generation host's larvae, with the exception of a single tachinid *Lydella thompsoni* in Ohio in 1988 and 1989 (PAVUK and STINNER, 1992). Studies on the parasites of Ostrinia nubilalis on maize in south-central Minnesota showed that the larvae of second generation were parasitized by *Macrocentrus grandii* and *Eriborus terebrans* (WINNIE and CHIANG, 1982).

The most abundant parasitoid of the second European corn borer generation larvae at the location Gabčíkovo was *Lydella thompsoni*. The rate of parasitism by this tachinid fly was 2.1%. This occurrence corresponds with parasitization of the first corn borer generation in Slovakia. Bokor (1998) stated that the parasitism rate by *Lydella thompsoni* was up to 22.10% in Slovakia in 1993 – 1995, which was the highest of all parasitoid species incident in Slovakia at the time. The emerged adults of *Lydella thompsoni* represented 70 % of all emerged parasitoid species attacking the second generation pest's larvae.

In the Friuli region of Italy, larvae of second generation were parasitized by the tachinid *Lydella thompsoni* and the ichneumonids *Eriborus terebrans*, *Sinohorus turionus* and *Eristicus clericus*, of which *L. thompsoni* was the most widely occurring species in all areas (BARBATTINI, 1986). The rate of parasitism by *L. Thompsoni* reached 30% and 8.6% in these areas in 1982 and 1983 respectively. In the north regions of Italy, the parasitism by *L. thompsoni* on overwintering (second generation) larvae ranged from 1.6 to 13.9% (MANACHINI, 2000). The observations in Somogy (Hungary) showed that a tachinid fly *Lydella thompsoni* (11.25%) and an ichneumon wasp *Sinophorus alkae* (*S. turionus*) (4.87%) were the most important parasitoids of the corn borer moth population in this area (KESZTHELYI, 2004). The most frequently found species on overwintering larvae was *L. thompsoni* (8.33-22.22%) in the province of Pontevedra in north-western Spain (MONETTI *et al*., 2003). Also the researches conducted in the different regions all over France show the tachinid fly *Lydella thompsoni* to be the most frequently parasitoid species of the second generation corn borer larvae in this areas (FOLCHER *et al*., 2008). Manojlovič (1989) reports *Lydella thompsoni* as the most abundant and most frequently occurred parasitoid in former Yugoslavia.

Whereas in Slovakia and many European regions with bi- or multivoltine ECB populations *Lydella thompsoni* plays a major role in attacking the second generation larvae, its importance decreased in compare with other parasitoid species in North America.

During observations in 1995 and 1996 there was described none emergence of *Lydella thompsoni* from larvae of the second ECB generation in Nebraska (CLARK *et al.*, 2001). According to Pavuk (1992) the ichneumonid *Eriborus terebrans* is the primary parasitoid (parasitism rate ranged from 2.1 to 29.1%) of the second European corn borer generation in Ohio which was also confirmed by observations of Landis *et al.* (1992) and Dyer (1996) in Michigan. Results from Michigan in 1992 showed that the rate of parasitism by *E. terebrans* ranged from 4.9 to 18.7% and from 9.1 to 10.2% on the first and second host's generation respectively. *Eriborus terebrans* accounted for 99.2% of the second generation parasitism during 1989; and for 99.1% during 1990 (LANDIS *et al.*, 1992). Our results show that the parasitism rate of *E. terebrans* was only 0.45% at the location Gabčíkovo in 2010 and accounted for 15% of parasitism. These results are similar to those of Bokor and Cagáň (1999b) who stated that 0-0.56% of the first ECB generation was parasitized by *E. terebrans* in Slovakia during 1993-95. Losey *et al.* (1992) reports that *Macrocentrus grandii* was the principal parasitoid, emerging from 17.4% of the overwintering larvae collected in Pensylvania in 1990. The other specimens, *Lydella thompsoni* and *Eriborus terebrans*, were recovered from less than 3% of the overwintering larvae. The most abundant parasitoid of ECB was *Lixophaga sp.* near *L. variabilis* in South Carolina during 1986-87 (WILSON and DURANT, 1991).

In our observation, first pupa of *Lydella thompsoni* appeared on October 20 in 2010 in laboratory conditions (22 °C and relative air humidity 60 %) and all the individuals finished their pupation till November 17. It is likely that in warm, suitable environmental conditions, larvae of *L. thompsoni* do not enter the diapause and continue with development. In natural conditions this individuals would probably overwinter as larvae inside the hosts and start their pupation in next year's spring. In laboratory conditions adults began to emerge from the second generation ECB larvae on November 3 and the last one emerged on November 30. The pupal stage lasted from ten to fourteen days and the average time for the pupal stage was 12. 21 days at 22 °C. Our observations confirm the results of Galichet *et al.* (1985) who stated the length of pupal stage at 12 – 12.2 days at 21 °C. Further, he reports that the larva needs 10.9 – 11.2 days for its development at 21 °C. Our results differ in this point markedly. If the larval stage would take even 12 days, all individuals had to pupate till October 19 at latest, because all the larvae of corn borer were collected on October 7. But in our research, pupae of the *L. thompsoni* kept appearing till November 17, forty days after sampling the host larvae. How is this possible? Most probably reason is that the corn borer larvae fed with simplified artificial diet had lower weight growth per day and their development was slowed down. Therefore the development of *L. thompsoni* larvae was influenced and retarded by development of the host.

Cagáň *et al.* (1999) observed a considerable number of *L. thompsoni* puparial cases during the autumn during 1994-96. This indicated that about one-third of *L. thompsoni* adults emerged from first generation ECB larvae at the end of the growing season in Slovakia. First empty puparial cases

were found in field on August 25 and on August 27 in 1995 and 1996 respectively. Almost all collected pupal cases were empty at the end of September. But at that time there were no young ECB larvae available for parasitization, because there was only one ECB generation per year in Slovakia (CAGÁŇ, 1993). These adults could probably parasitize an alternate host, fifth instar of the ECB larvae or they died without parasitization on any host. Thompson and Parker (1928) discussed the improbability of successful attacking the thick-skinned late instar ECB larvae by *L. thompsoni* adults emerged in autumn. However, due to changing climatic conditions probably, we observed ECB larvae of second generation in Slovakia in 2010. These were most likely parasitized by that part of parasitoid adults that emerged from first generation larvae in autumn, described by Cagáň *et al*. (1999) aforementioned. According to Bokor (1998) the longevity of *L. thompsoni* imagos is more than 30 days and autumn-adults could, after the pre-larval stage, attack the host in the second decade of September. Based on this data we can enounce that the second generation corn borer larvae were parasitized by the autumn generation of *Lydella thompsoni* emerged from the first generation corn borer larvae and that there occurred better synchronization between this two species in autumn in Slovak climatic conditions during last fifteen years.

CONCLUSION

The most abundant parasitoid of the second European corn borer generation larvae at the location Gabčíkovo is *Lydella thompsoni*. However, the rate of parasitism is relatively low (2.1%) and its importance in suppressing the population of the second ECB generation is probably not significant. Our study provides the first information about incidence of the second ECB generation and its parasitoids in Slovakia. For more relevant results, the observations from more locations on more ECB larvae are needed.

REFERENCES

Bača, F. *et al*. (2007): European corn borer (Ostrinia nubilalis Hbn) population fluctuation at Zemun Polje between 1986 and 2005. Maydica, 52(3):325-328

Barbattini, R. (1986): Ostrinia nubilalis Hb. (Lepidoptera Pyralidae) on maize in Friuli. III. Study on entomophagous insects. Frustula Entomologica, 9: 63-75.

Bokor, P. (1998): Parazitoidy lariev vijačky kukuričnej (Ostrinia nubilalis Hbn.): Dizertačná práca. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita. 141 s.

Bokor, P. - Cagáň, Ľ. (1999a): Phenology, basic biology and parasitism of Microgaster tibialis (Hymenoptera, Braconidae), a parasitoid of the European corn borer, Ostrinia nubilalis, in Central Europe. Biologia (Bratislava), 54(5): 567-572.

Bokor, P. - Cagáň, Ľ. (1999b): Occurrence and bionomics of Eriborus terebrans (Gravenhorst) (Hymenoptera: Ichneumonidae), a parasitoid of the European corn borer, Ostrinia nubilalis Hbn. (Lepidoptera: Pyralidae), in central Europe. Plant Protection Science, 35(1): 17-22.

Cagáň, Ľ. (1998): Voltinism of the European corn borer, Ostrinia nubilalis Hbn., in Slovakia. Plant Protection Science, 34(3): 81-86.

Cagáň, Ľ. (1993): Vijačka kukuričná, *Ostrinia nubilalis* Hbn.- škodca kukurice na Slovensku: Habilitačná práca. Nitra: VŠP. 344 s.

Cagáň, Ľ. - Bokor, P. (1998): Sinophorus turionus Ratz, the parasitoid of the European corn borer, Ostrinia nubilalis Hbn. in Slovakia, Czech Republic and Southwestern Poland. Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica, 33(3/4): 435-445.

Cagáň, L. *et al.* (1995): Control of the European corn borer on maize. Acta Fytotechnica, 50: 53-55.

Cagáň, Ľ. *et al.* (1999): Lydella thompsoni Herting (Dipt., Tachinidae), a parasitoid of the European corn borer, Ostrinia nubilalis Hbn. (Lep., Pyralidae) in Slovakia, Czech Republic and south-western Poland. Journal of Applied Entomology, 123(10): 577-583.

Clark, T. L. - Witkowski, J. F. - Foster, J. E. (2001): Parasitism rates in European corn borer (Lepidoptera: Crambidae) larvae collected from six maize hybrids. Journal of Entomological Science, 36(4): 342-351.

Dyer, L. E. - Landis, D. A. (1996): Effects of habitats, temperature, and sugar availability on longevity of Eriborus terebrans (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Environmental Entomology*, vol. 25, no. 5, pp. 1192-1201.

Dyer, L. E. - Landis, D. A. (1997): Influence of noncrop habitats on the distribution of Eriborus terebrans (Hymenoptera: Ichneumonidae) in cornfields. Environmental Entomology, 26(4): 924-932.

Folcher, L. *et al.* (2008): Parasitoids of Ostrinia nubilalis Hübner distribution in France - synthesis from 2001 to 2004. Unpaginated.

Galichet, P. F. - Riany, M. - Agounke, D. (1985): Bioecology of Lydella thompsoni Herting, (Dip. Tachinidae) within the Rhone Delta in southern France. Entomophaga, 30 (4): 315-328.

Keszthelyi, S. (2004): Insect parasitological researches on the population of European corn-borer (Ostrinia nubilalis Hbn.) in the years 2000-2001. Acta Agraria Kaposváriensis, 8(2): 51-56.

Keszthelyi, S. (2006): Comparative light trap studies in Hungary on the flight of the European corn borer (Ostrinia nubilalis Hübner) in 1999-2001. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 39(1): 15-23.

Kocmánková, E. *et al.* (2008): Comparison of two mapping methods of potential distribution of pests under present and changed climate. Plant Protection Science, 44(2): 49-56.

Landis, D. A. - Haas, M. J. (1992): Influence of landscape structure on abundance and within-field distribution of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) larval parasitoids in Michigan. Environmental Entomology, 21 (2): 409-416.

Losey, J. E. *et al.* (1992): Larval parasitoids collected from overwintering European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) in Pennsylvania. Journal of the Kansas Entomological Society, 65(1): 87-90.

Manachini, B. (2000): Lydella thompsoni Herting (Diptera, Tachinidae), parasite of Ostrinia nubilalis Hübner (Lepidoptera, Pyralidae) in North Italy. Phytophaga (Palermo), 10: 69-78.

Manojlovič, B. (1989): Distribution and importance of parasitoids of the corn borer Ostrinia nubilalis Hbn. (Lepidoptera: Pyralidae) in maize hybrids of different FAO maturity groups. Zaštita Bilja, 40(2): 115-130.

Monetti, L. *et al.* (2003): Parasitoids incidence and diversity on maize stem borers Sesamia nonagrioides Lefèbvre and Ostrinia nubilalis Hübner in NW Spain. Maydica, 48(2): 133-139.

Nagy, B. (1974): Rearing of the European corn borer (Ostrinia nubilalis Hbn.) on a simplified artifical diet. Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae, 5: 73-79.

Pavuk, D. M. - Stinner, B. R. (1992): Influence of weed communities in corn plantings on parasitism of Ostrinia nubilalis (Lepidoptera Pyralidae) by Eriborus terebrans (Hymenoptera Ichneumonidae). Biological Control, 2(4): 312-316.

Pölitz, B. - Schnee, H. - Kühne, A. (2007): The infestation status of European corn borer in Saxony, occurrence of a second generation for the first time and some natural enemies of the pest. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes, 59(11): 264-266.

Thompson, W. R. - Parker, H. L. (1928): The European corn borer and its controlling factors in Europe. U. S. D. A. . Techn. Bull.,(59): 63 pp.

Thomson, L. J. - Macfadyen, S. - Hoffmann, A. A. (2008): Predicting the effects of climate change on natural enemies of agricultural pests. Biological Control, In Press, Corrected Proof.

Wilson, J. A., Jr. - DuRant, J. A. (1991): Parasites of the European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) in South Carolina. Journal of Agricultural Entomology, 8(2): 109-116.

Winnie, W. V. - Chiang, H. C. (1982): Seasonal history of Macrocentrus grandii (Hym.: Braconidae) and Eriborus terebrans (Hym.: Ichneumonidae), two parasitoids of the European corn borer, Ostrinia nubilalis (Lep. Pyralidae). Entomophaga, 27(2): 183-188.

THE RATE OF UNWANTED DASHES IN SEPARATED BIODEGRADABLE WASTE

Plošek L., Stejskal B.

Department of Agriculture, Food and Environmental Engineering, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xplosek@mendelu.cz, bohdan.stejskal@uake.cz

ABSTRACT

The main aim of this thesis was evaluated by monitoring the quantity of unwanted dashes in biodegradable municipal waste (BMW) in the Central Composting Plant in Brno.

Exploitation of biodegradable waste (BDW) is one of the general problems which waste management solves in this time in the Czech Republic. It is suitably to use modified BDW as an organic fertilizer for many reasons. These reasons can be: reduction of BDW in municipal landfills, returning of soil organic matter etc.

In this thesis describes aerobic transformation of BDW - composting. Good quality of incoming raw material is basic postulate for production good quality compost. It means BDW without unwanted dashes.

An analysis of sorted biodegradable municipal waste composition was carried out. By repeated measurements of samples weighing more than 200 kg it was found that the undesirable impurities rate of sorted waste varies from 0.25 to 9.03% of weight (average 1.68% of weight). It is operationally difficult to separate biodegradable matter from non-biodegradable materials.

Key words: composting plant, plastic waste, biodegradable waste, unwanted dales

ÚVOD

Biologicky rozložitelné odpady (zkráceně BRO) jsou jednou ze základních složek odpadů, pod které můžeme zahrnout všechny organické odpady, které lze za normálních okolností rozložit pouze pomocí přírodě blízkých postupů. Pod pojem BRO můžeme zahrnout biologicky rozložitelné komunální odpady (zkráceně BRKO), odpad ze zeleně a kuchyňský odpad. V současné době se pro BRO vžil termín bioodpady.

Práce byla zaměřena především na problematiku nakládání s BRKO, a právě nakládání s nimi je v současné době jedním z největších problémů v rámci nakládání s odpady v ČR. V rámci Plánu odpadového hospodářství ČR je jedním z cílů snížit množství ukládaného BRKO na skládky v souladu s harmonogramem stanoveným v tomto Plánu odpadového hospodářství. Tento cíl bohužel stále není naplňován.

V praktické části jsem se zabýval monitoringem nežádoucích příměsí v odděleném BRKO vyskytujícím se na Centrální kompostárně Brno. Pod pojem nežádoucí příměsi si lze představit všechny druhy odpadu, které nejsou biologicky rozložitelné nebo které nějakým způsobem inhibují proces rozkladu BRO. Jedná se např. o plasty, kovy, znečištěný papír, komunální odpady, stavební odpady, nebezpečné odpady apod.

MATERIÁL A METODIKA

Předmětem analytických prací bylo zmapovat množství nežádoucích příměsí v BRKO na Centrální kompostárně Brno (CKB).

Po návozu BRKO na CKB byly dané odpady uloženy odděleně od ostatních BRKO, tak aby nemohlo dojít k jejich smíšení s jinými odpady, či jinému znehodnocení daného vzorku. Analýza daného odpadu byla prováděna nejpozději druhý den po jejich návozu. Vlastní analýza začínala rozvrstvením daného BRKO po prostoru CKB, tak aby vrstva BRKO dosahovala maximálně 0,5 m na výšku. Toto rozvrstvení zajišťoval pracovník CKB, pomocí manipulačních prostředků.

Analyzovaný vzorek byl stanoven na hodnotu cca 200 kg BRKO. Tzn. na počátku bylo potřeba provést kontrolní zvážení BRKO, aby se stanovil pravděpodobný počet odebíraných vzorků (tj. pokud byla počáteční hmotnost BRKO 4,5 kg pro odměrnou nádobu, tak na celkový rozbor - 200 kg BRKO bude potřeba provést cca 44 odběrů). Na základě velikosti plochy, na které se vyskytovalo BRKO, a stanovenému počtu kontrolních odběrů se určily místa, ve kterých byly odběry prováděny. Postupoval jsem vždy od kraje do středu vzorku.

Pro analýzu byly použity nádoby kruhového průřezu o objemu 20 dm^3. Po naplnění první nádoby v kontrolním bodě došlo k jejímu zvážení a následnému odstranění nežádoucích příměsí, které byly uchovávány v druhé nádobě. Tak se postupovalo až do doby, dokud nebylo dosaženo celkové

hmotnosti analyzovaného vzorku ± 200 kg. Po skončení analýzy byly zváženy i nežádoucí příměsi a odhadem byl určen i jejich objem.

Všechny hodnoty získané během měření byly zapsány do poznámkového sešitu a u každého měření byla provedena fotodokumentace navezeného BRKO a také příměsí, které se v daném návozu objevily. Tyto hodnoty byly poté zpracovány do tabulky a následně bylo vypočteno procentuální zastoupení nežádoucích příměsí v daném vzorku.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Výsledky z měření jsou přehledně zaznamenány v tabulce č. 1, ve které jsou uvedeny hmotnosti BRKO a jejich příměsí, na základě kterých se poté dělal přepočet na souhrnný vzorek (200 kg), a také orientační objemy BRKO a jejich příměsí. Veličiny hmotnosti a objemu BRKO byly měřeny pro volně ložený materiál, který nebyl žádným způsobem stlačován.

Tab. 1: Naměřené hodnoty příměsí na Centrální kompostárně Brno

Číslo měření	**Datum měření**	**m (kg) BRKO**	**V (dm^3) BRKO**	**m (kg) příměsí**	**V (dm^3) příměsí**	**m´ (kg) příměsi**	**%**
1.	16. 9. 10	203	560	4,1	12	**4,04**	**2,02**
2.	14. 10. 10	201	780	1,9	8	**1,89**	**0,95**
3.	14. 10. 10	200	740	7,8	28	**7,8**	**3,9**
4.	1. 11. 10	198	880	1,45	20	**1,46**	**0,73**
5.	1. 11. 10	200,5	880	1,25	10	**1,25**	**0,63**
6.	11. 11. 10	201,5	820	1,65	10	**1,64**	**0,82**
7.	11. 11. 10	199,5	820	1,55	12	**1,55**	**0,78**
8.	7. 4. 11	201	820	3,3	45	**3,28**	**1,64**
9.	21. 4. 11	201,5	960	18,2	125	**18,06**	**9,03**
10.	14. 9. 10	201, 6	1220	1,3	10	**1,29**	**0,65**
11.	16. 9. 10	201,5	1300	1,05	10	**1,04**	**0,52**
12.	16. 9. 10	201	540	0,5	3	**0,5**	**0,25**
13.	1. 10. 10	201	1200	2,6	12	**2,59**	**1,3**
14.	1. 11. 10	198	1440	0,55	4	**0,56**	**0,28**

m BRKO…celková hmotnost BRKO

V BRKO…celkový objem BRKO

m příměsí…celková hmotnost příměsí

V příměsí….celkový objem příměsí (odhad)

m´ příměsí…přepočet hmotnosti příměsí na vzorek 200 kg BRKO

%...procentuální zastoupení příměsí ve vzorku 200 kg BRKO

Tučně označená měření č. 1-9 jsou BRKO z lokalit Modřice a Ivančice. Ostatní měření jsou z BRKO z různých lokalit, nejčastěji ze sběrných dvorů v Brně, případně BRO živnostenské v měření č. 12.

Průměrná hmotnost příměsí:

$\mathbf{m'_{příměsí}} = (m'_1+\ldots+m'_n)/n$ [kg]

$m'_1 \ldots m'_n$ - hmotnost příměsí přepočítaný na směsný vzorek jednotlivých dílčích měření [kg]

n - celkový počet měření

a) měření č. 1 - 9

$\mathbf{m'_{1příměsí}} = (m'_1+\ldots+m'_9)/9 =$ **4,55 kg**

b) měření č. 1 - 14

$\mathbf{m'_{2příměsí}} = (m'_1+\ldots+m'_{14})/14 =$ **3,35 kg**

Průměrné procentuální zastoupení příměsí:

$\mathbf{\%} = (\%_1+\ldots+\%_n)/n$ [%]

$\%_1 \ldots \%_n$ - procentuální zastoupení příměsí u jednotlivých dílčích měření [%]

n - celkový počet měření

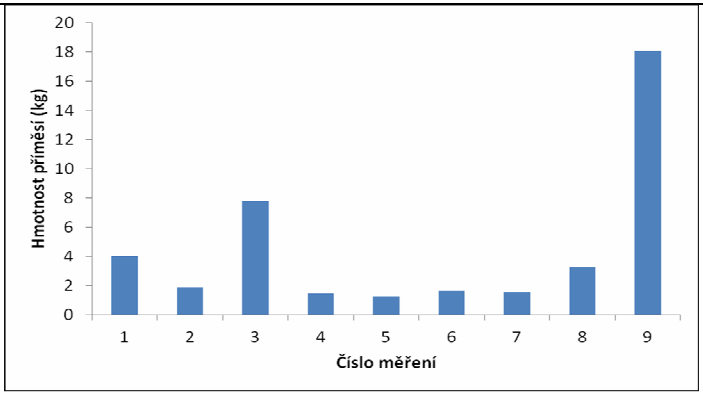
a) měření č. 1 - 9

$\mathbf{\%_1} = (\%_1+\ldots+\%_9)/9 =$ **2,28 %**

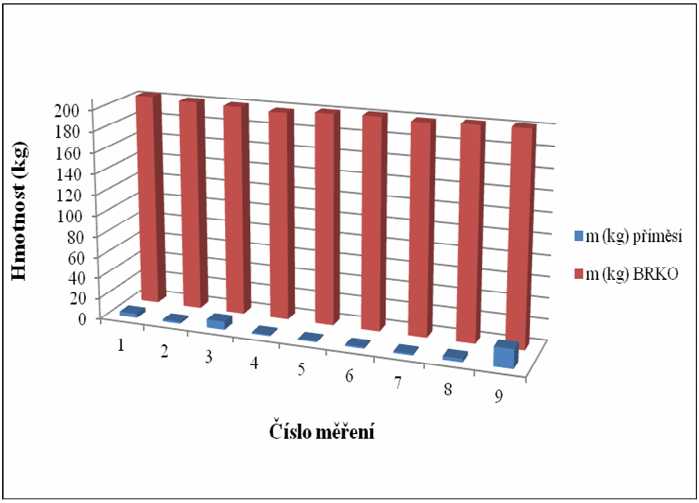
b) měření č. 1 - 14

$\mathbf{\%_2} = (\%_1+\ldots+\%_{14})/14 =$ **1,68 %**

Pro následné grafické vyhodnocení měření jsou již použity pouze data, získaná z lokalit původu BRKO Ivančice a Modřice (tzn. měření č. 1-9) a to z toho důvodu, že BRKO pochází z podobných lokalit a jedná se vždy převážně o odpad ze zahrad od obyvatel daných obcí, které jsou svářeny dohromady. Ostatní měření nemůžou být do grafického vyhodnocení zahrnuty, jelikož se jedná vždy pouze o jedno měření pro daný návoz BRKO z vybrané lokality. Pro porovnání a vyvození závěrů by bylo potřeba provést více měření z dané lokality.



Obr. 1: Tabelární zpracování výsledku měření pro BRKO z Modřic a Ivančic



Obr. 2: Porovnání měření hmotnosti BRKO a příslušných příměsí

ZÁVĚR

V rámci měření jsem se zabýval zjišťováním množství nežádoucích příměsí v BRKO a BRO naváženém na Centrální kompostárnu Brno.

Navážené BRO a BRKO byly znečištěny nežádoucími příměsemi v rozmezí 0,25 - 9,03 hmotnostních % (průměrná hodnota byla 1,68 %). BRKO z parkových a zahradních úprav a BRO živnostenské vykazovaly poměrně nízké hodnoty pro nežádoucí příměsi u BRKO pocházejících od občanů z Ivančic a Modřic byly naměřené hodnoty vyšší (průměrná hodnota 2,28 %).

Příloha č. 5 vyhlášky MŽP 341/2008 Sb. o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady, ve znění pozdějších předpisů, udává povolenou míru příměsí pro kompostování dva hmotnostní procenta. Z toho vyplývá, že ze 14 měření na Centrální kompostárně Brno došlo ve třech případech k překročení hranice 2 hmotnostních % příměsí (z toho v jednom případě pouze o 0,02 % nad tuto hranici). Překročení bylo naměřeno vždy u BRKO pocházejících z Ivančic a Modřic. Měření u ostatních bioodpadů ani v jednom případě nedosáhlo hranice 2 hmotnostních procent. Často byly spíše pod hranicí 1 hmotnostního procenta (9 vzorků ze 14 této hranice nedosáhlo).

U měření, kde došlo k překročení stanovené hranice, se jednalo vždy o BRKO pocházející od občanů obcí Ivančice a Modřice. A jelikož v zákoně není žádný postih pro občany, kteří špatně zařazují jednotlivé druhy odpadu, tzn. vhazují do nádob na BRKO i odpady, které tam v žádném případě nemají co dělat. U měření č. 1 a 3 jsou hodnoty pro příměsi ovlivněny pouze občany, kteří daný odpad vyprodukovali. Toto nelze s určitostí říci u měření č. 9, které vykázalo nezvykle vysoké množství příměsí v daném vzorku. Navíc příměsi, jejíž největší část tvořily převážně pytle s komunálním odpadem, byly nahromaděny pouze v jedné části svezeného BRKO, tzn. mohlo dojít k tomu, že svozová firma k vytříděnému BRKO přibrala i nějakou nádobu s komunálním odpadem.

Pokud hodnoty naměřené na Centrální kompostárně Brno srovnáme s jinými výzkumy na dané téma, které byly provedeny v ČR, tak dojdeme k závěru, že míru nežádoucích příměsí v separovaných BRKO ovlivňuje jen lidský faktor při třídění a sběru BRKO. Ing. Stejskalem, který prováděl měření nežádoucích příměsí v BRKO ve městě Kroměříž v roce 2009 a městě Náměšť nad Oslavou a v obcích Březník, Jinošov a Naloučany v roce 2010, byly naměřeny hodnoty nežádoucích příměsí v lokalitě Kroměříž v rozmezí 1 - 9 hmotnostních % (průměrná hodnota 5,42 hmotnostních %) a lokalitě Náměšť nad Oslavou a okolní obce v rozmezí 0 - 1,78 hmotnostních % (průměrná hodnota 0,83 hmotnostních %). Z toho lze usuzovat, že i přes osvětu občanů ve všech lokalitách lze zpozorovat, že s nárůstem velikosti obce a míry anonymity občanů v obci se zvyšuje množství nežádoucích příměsí v separovaném biologicky rozložitelném komunálním odpadu.

LITERATURA

HŘEBÍČEK, J., KALINA, J., TOMEK, J. (2010): Projektování nakládání s bioodpady v obcích.

STEJSKAL, B. (2009): Zhodnocení aktuální kvality třídění biologicky rozložitelného komunálního odpadu občany města Kroměříž. *Waste Forum.* [online]. In Waste Forum. 2009. sv. 2009, č. 2, s. 70-73.

STEJSKAL, B. (2010): Zhodnocení čistoty vstupní suroviny v kompostárně CMC Náměšť, a. s. *Waste Forum.* [online]. In Waste Forum. 2010. sv. 2010, č. 3, s. 212-216.

Vyhláška č. 341/2008 Sb. o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady, ve znění pozdějších předpisů.

EFFECT OF AGRICULTURAL CROPS ON SURFACE RUNOFF IN CONDITIONS OF ČESKOMORAVSKÁ VRCHOVINA

Sochorec M., Hejduk S.

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

Object of this study was to evaluate differences in surface runoff from different agricultural crops on experimental plots in Forage research station in Vatín. As monitored crops intensively and extensively managed grasslands, winter wheat, potatoes and silage maize were chosen. Bare soil was used as a control variant for comparison of effects of rains. On bare soil and maize stands 10.6% of precipitation flowed off as the surface runoff. In potatoes the value was 4.0%. The stand of winter wheat had very low values of surface runoff, only 1.1%. The values of intensively and extensively managed permanent grasslands were 0.7% and 1.3% respectively. The highest protective effect of vegetation cover against the creation of surface runoff was at grasslands and winter wheat. Stand of potatoes and silage maize showed the lowest protective effect.

Key words: surface runoff, precipitations, agricultural crops, infiltration

Acknowledgement: This study was supported by the Internal Grant Agency Faculty of Agronomy MENDELU n. TP 2/2011.

ÚVOD

Na území České republiky nepřitéká žádný významnější tok, proto jsou u nás jediným zdrojem vody pro povrchové i podzemní zdroje především atmosférické srážky. Odtok vody z krajiny je však urychlen nevhodným hospodařením na zemědělsky využívané půdě. V zemědělské krajině převažuje velkovýrobní hospodaření, které je spojeno s využíváním velkých půdních celků a těžké zemědělské mechanizace. Tyto faktory vytvářejí podmínky pro vznik povrchového odtoku se všemi jeho negativními důsledky.

Na našem území se průměrně vyskytne v každém místě za rok 5 až 6 krátkodobých přívalových dešťů se srážkovými úhrny nad 10 mm. Zejména při těchto deštích dochází na svažitých pozemcích k povrchovému odtoku (Janeček a kol., 2005). Vlivem změny klimatu v posledních desetiletích, roste nebezpečí výskytu extrémních srážek a vzniku povrchového odtoku (Dufková, Toman 2004).

Povrchový odtok je příčinou nižší dotace podzemních vod ze srážek, roste poškozování půdy erozí, odnos živin z půdy s následným znehodnocováním kvality stojatých a tekoucích vod splaveninami, chemickými sloučeninami a eutrofizací (Kasprzak, 1990).

MATERIÁL A METODIKA

Pokus probíhal ve Výzkumné pícninářské stanici ve Vatíně. Lokalita se nachází v regionu Českomoravské vrchoviny, 7 km jižně od Žďáru nad Sázavou na jižní hranici CHKO Žďárské vrchy. Nadmořská výška stanoviště je 540 m n.m. Průměrná roční teplota (1970-2000) zde dosahuje 6,9°C, ve vegetačním období 12,2°C a průměrný roční úhrn srážek (1970-2000) činí 617,5 mm, ve vegetačním období 440 mm. V roce 2010 spadlo 881,5 mm srážek z toho ve vegetačním období 561,6 mm. Půdním druhem jsou hlinitopísčité půdy, půdní typ je kambizem kyselá na deluviu orthoruly.

Měření probíhá na 12 odtokoměrných plochách po šesti dvojicích se severní a jižní expozicí. Velikost parcel je 2,5 x 4 m ($10 m^2$) se sklonem 5°. Parcelky jsou ohraničeny betonovými obrubníky. Ve spodní části se nachází sběrný žlab, který svádí povrchový odtok do záchytných nádrží v podzemní šachtě. Množství povrchového odtoku v nádrži bylo měřeno po každé srážce a následně pokud byl způsoben smyv půdy, byl odebrán vzorek vody ke stanovení množství sedimentů odtečených z parcelek. Dvojice parcelek (severní, jižní expozice) byly osety a osázeny plodinami typickými pro danou oblast: silážní kukuřice, pšenice ozimá a brambory. Další dvojice se udržovala jako holá půda a sloužila jako kontrola. Na následujících parcelách byl založen trvalý travní porost s intenzivním a extenzivním využíváním. Porost byl ošetřován následujícím způsobem: Intenzivní travní porost byl 3 x sečený a hnojený. Extenzivní travní porost byl nehnojený a sečený 2 x. Porosty silážní kukuřice, brambor a pšenice byly ošetřeny herbicidem a hnojeny jako v zemědělské praxi. Holá půda byla po celý rok udržovaná v bezplevelném stavu za pomoci totálního herbicidu.

Pro porovnání výsledků povrchových odtoků z jednotlivých plodin byla zvolena holá půda. Jelikož u ní nedochází k omezení kinetické energie dopadajícího deště a odtoku vlivem vegetace.

Srážkové úhrny byly zaznamenávány automatickým ombrografem se záchytnou plochou 200 cm^2, který se nachází v blízkosti odtokových polí.

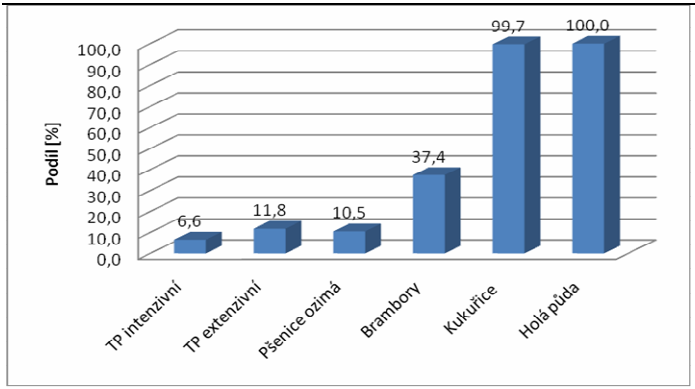
VÝSLEDKY A DISKUZE

Během vegetačního období roku 2010 bylo zaznamenáno 19 případů srážek, které vyvolaly povrchový odtok vody alespoň na jedné ploše. Jak uvádí tabulka 1, došlo k nejvyšším odtokům u holé půdy (596,1 $m^3.ha^{-1}$), následně z kukuřice (594,4 $m^3.ha^{-1}$) a brambor (223,1 $m^3.ha^{-1}$). Výrazně nižší odtoky byly zjištěny na stanovištích pšenice ozimé (65 $m^3.ha^{-1}$) a trvalých travních porostů (extenzivní 81,3 $m^3.ha^{-1}$ a intenzivní 40,5 $m^3.ha^{-1}$). V provozních podmínkách by byly odtoky zřejmě vyšší díky zhutnění půdy pohybem zemědělské techniky a pastevních zvířat, které snižuje infiltrační schopnost.

Tab. 1: Přehled naměřených odtoků a ochranného účinku vegetace u vybraných plodin za vegetační období

Plodina	Povrchový odtok [$m^3.ha^{-1}$]	Ochranný účinek vegetace [%]
TP intenzivní	39,2	93,4
TP extenzivní	70,6	88,2
Pšenice ozimá	62,5	89,5
Brambory	223,1	62,6
Kukuřice	594,4	0,3
Holá půda	596,1	0,0

Uvažujeme-li povrchový odtok z holé půdy jako 100 % (graf 1), pak odteklo u kukuřice 99,7 % odtoku z holé půdy a u brambor 37,4 %. To může být zapříčiněno tvorbou půdního škraloupu. Dle KASPRZAKA (1980) vzniká po přívalových srážkách vlivem kinetické energie dopadajícího deště rozrušení půdních agregátů a k následnému ucpání půdních pórů. Na povrchu půd nedostatečně chráněných vegetací tak po vyschnutí vzniká půdní škraloup. Ten následně omezuje infiltraci vody do půdy a na sklonitých pozemcích napomáhá k tvorbě povrchového odtoku. Výrazně menší odtoky ve srovnání s holou půdou byly naměřeny u pšenice 10,5 % a u travních porostů 11,8 % (extenzivních) a 6,6 % (intenzivních). K podobným výsledkům dospěli i HEJDUK a KASPRZAK (2008) analýzou dat naměřených v Brně – Kníničkách, kde potvrdili vysokou ochrannou funkci travních porostů proti vzniku povrchového odtoku a eroze. Také HOLÝ (1994) poukazuje na fakt, že vlivem vegetačního pokryvu dochází k ochraně povrchu půdy před destruktivním působením dopadajících kapek a zpomalování povrchového odtoku. Hodnoty ochranného účinku vegetace proti tvorbě povrchového odtoku byly porovnávány s holou půdou, u které byl stanoven ochranný účinek jako nulový (tab. 1).



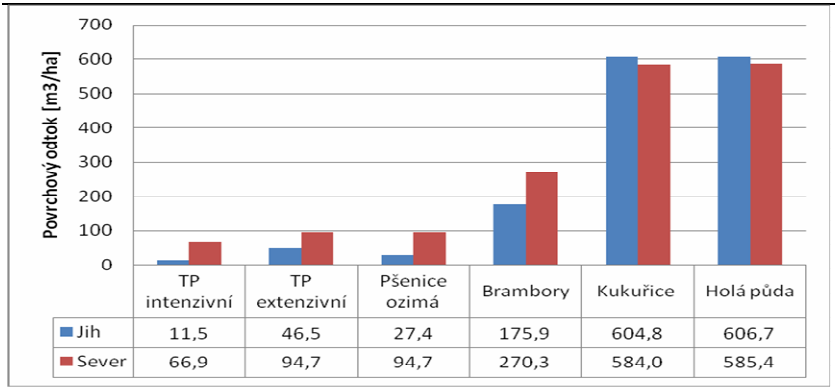
Graf 1: Povrchový odtok z vybraných plodin v porovnání s holou půdou

V tabulce 2 je zaznamenáno 7 případů přívalových dešťů, které vyvolaly erozní smyv minimálně na jedné parcelce. Při těchto deštích došlo k největším odtokům zejména při přívalových deštích 19.7. kdy napršelo 84,5 mm srážek a 26.7., kdy bylo naměřeno 45,5 mm srážek.

Tab. 2: Průměrný povrchový odtok z přívalových dešťů vyvolávajících erozní smyv

Datum	**Srážky [mm]**	**Povrchový odtok [$m^3.ha^{-1}$]**					
		TP intenzivní	TP extenzivní	Pšenice ozimá	Brambory	Kukuřice	Holá půda
1.6.	30,8	1,2	5,0	5,0	29,0	46,0	37,0
3.6.	24,8	0,6	2,0	1,9	7,2	13,6	12,7
14.6.	31,0	3,0	5,8	12,5	61,5	70,5	76,0
21.6.	11,5	0,5	1,8	0,9	6,5	20,5	18,5
19.7.	84,5	9,0	9,0	13,5	65,0	160,0	160,0
26.7.	45,5	4,0	7,5	9,0	21,0	141,0	145,0
24.8.	9,2	1,8	2,5	1,0	5,0	51,0	59,5
Celkem	**237,3**	**20,0**	**33,5**	**43,8**	**195,2**	**502,6**	**508,7**

Porovnáme-li vliv expozice svahu na povrchový odtok, zjistíme, že na severní straně dochází k větším odtokům u brambor, pšenice a travních porostů (graf 2). To je dáno zřejmě vyšší vlhkostí půdy, která má vliv na zpomalení infiltrace vody do půdy. Dalším důvodem může být převažující směr větru od severu v průběhu srážek, vyvolávajících odtok. U kukuřice a holé půdy je tomu naopak. Příčinou může být fakt, že se při přívalových deštích 19.7. a 26.7. nepodařilo zachytit veškerý odtok a došlo tak k podhodnocení skutečných výsledků.



Graf 2: Vliv expozice svahu na povrchový odtok

Pro porovnání povrchového odtoku z parcelek byl použit odtokový součinitel (poměr odtokové výšky a výšky srážek za vegetační období). Z údajů v tabulce 3 vyplývá, kolik z celkového množství srážek za vegetační období (561,6 mm) odteče povrchovým odtokem a jaká část se infiltruje do půdy, zadrží na povrchu terénu, zachytí na listech nebo se vypaří. Hodnoty součinitele odtoku jsou u holé půdy a kukuřice srovnatelné (10,6 %). Zde je však nutno brát v úvahu mírné podhodnocení dat ztrátou části objemu povrchových odtoků vlivem nedostatečné velikosti záchytných nádrží. U brambor činil odtokový součinitel 4,0 %. U pšenice odteklo 1,1 % srážkové vody a u travního porostu extenzivního 1,3 % a intenzivního 0,7 %.

Tab. 3: Odtokové součinitele pro jednotlivé plodiny za vegetační období 2010

Plodina	Povrchový odtok [m^3/ha]	Odtokový součinitel [%]
TP intenzivní	39,2	0,7
TP extenzivní	70,6	1,3
Pšenice ozimá	62,5	1,1
Brambory	223,1	4,0
Kukuřice	594,4	10,6
Holá půda	596,1	10,6

ZÁVĚR

Ve sledovaném období se vyskytlo dvacet případů srážek, které alespoň na jedné pokusné parcele způsobily povrchový odtok. Nejvyšší odtoky byly naměřeny u holé půdy 596,1 $m^3.ha^{-1}$ a kukuřice 594,4 $m^3.ha^{-1}$. Poměrně vysoké hodnoty odtoku byly zaznamenány také u brambor 223,1 $m^3.ha^{-1}$.

Nejnižší odtoky vykazovala pšenice ozimá 62,5 $m^3.ha^{-1}$ a trvalý travní porost 70,6 $m^3.ha^{-1}$ (extenzivní) a 39,2 $m^3.ha^{-1}$ (intenzivní).

Při porovnání ochranného účinku vegetace proti vzniku povrchového odtoku bylo zjištěno, že největší ochranu poskytují intenzivní (93,4 %) a extenzivní (88,2 %) travní porosty. Další plodinou s vysokým ochranným účinkem je pšenice ozimá (89,5 %). U porostu brambor byl ochranný účinek 62,6 % a u kukuřice pouze 0,3 %.

Travní porosty byly ve vegetačním období schopny nejlépe bránit vzniku povrchových odtoků a převádět srážkové vody do podpovrchových vod. Mají rovněž výraznou protierozní funkci, neboť celoročním pokryvem chrání povrch půdy před přímým účinkem dešťových kapek a zpomalují odtok srážkové vody.

LITERATURA

DUFKOVÁ, J., TOMAN, F. 2004: *Eroze půdy v podmínkách klimatické změny.* In *mezinárodní vědecká konference Extrémy počasí a podnebí.* Brno: Brno ČHMÚ.

HEJDUK, S., KASPRZAK, K. 2008: *Vliv travních porostů na erozi půdy a povrchový odtok vody*. Trávníky 2008, Hrdějovice: Agentura BONUS, s. 13 - 16.

HOLÝ, M. 1994: *Eroze a životní prostředí.* ČVUT Praha, 383 s.

JANEČEK, M. a kol. 2005: *Ochrana zemědělské půdy před erozí*. ISV Praha, 195 s.

KASPRZAK, K. 1980: *Výzkum vlivu některých přírodních a antropogenních faktorů na utváření vodních zdrojů*. Závěrečná zpráva VUT Brno, 108 s.

KASPRZAK, K. 1990: *Vliv fyzikálních vlastností agropedosféry na tvorbu zásob podzemní vody.* Závěrečná zpráva VUT Brno, 86 s.

DYNAMIC OF PHYTOPLANKTON OF THE BRNO RESERVOIR DURING THE MEASURES AGAINST CYANOBACTERIA

Straková L., Kopp R.

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

E-mail: luciestraka@gmail.com

ABSTRACT

Due to the disruption of water ecosystem Brno reservoir is dealing with problem of heavy cyanobacterial water bloom for the long term. As a spillway dam there is a constant supply of biogenic elements from Svratka basin. In recent years, several measures were implemented to reduce the amount of toxic cyanobacteria. Research was followed by liming of exposed shores, an installation of the aerations towers and by chemical treatment in the river bed.

Monitoring of the physico – chemical parameters of the water and regular determination and quantification of the phytoplankton community are necessary parts of all water treatment and measures against cyanobacteria. As shown in this study realized measures have been partly effective. Compare to other summer seasons the quantity of cyanobacteria *Microcystis* in the water dramatically decreased and did not exceed the limit of World health Organization (WHO) for whole vegetation season. It is positive that these realized measures are meaningful and problem of abnormal cyanobacteria development is solvable, but it is still necessary to improve water quality of whole river basin and reduce the supply of biogenic elements into the Brno reservoir.

Key words: cyanobacteria, phytoplankton, quantification, water reservoir

Acknowledgement: This study was supported by the Research plan No. MSM6215648905 “Biological and technological aspects of sustainability of controlled ecosystems and their adaptability to climate change“, which is financed by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic and research plan IGA MENDELU TP5/2011.

ÚVOD

V důsledku narušení ekologické rovnováhy se Brněnská přehrada, stejně jako další vodní díla, potýká s problémem nadměrného rozvoje vodního květu sinic již po několik desetiletí. Tato nádrž je průtočného typu, což zajišťuje neustálý přísun živin z celého povodí a tedy perfektní podmínky pro rozvoj fytoplanktonu. Z tohoto důvodu je nutné provádět komplexní opatření k omezení masového rozvoje sinic nejen v nádrži, ale v celém povodí řeky Svratky.

Díky schopnosti heterotrofní výživy patří mezi příčiny masového rozvoje sinic v první řadě množství rozpuštěných látek ve vodě. Dalším významným faktorem je také obsah dusíku a fosforu a vzájemný poměr těchto dvou prvků. (HARPER, 1992, BALDWIN et.al., 2003, HETEŠA a KOČKOVÁ, 1997). Eutrofizace vodní nádrže je postupný proces. Nejvýznamnějším zdrojem biogenních prvků jsou nedostatečně upravené průmyslové i komunální odpadní vody, smyvy zemědělské půda a hnojiva.

Na rozvoj vodního květu má vliv také hodnota pH a s ní související množství uhličitanů. (HETEŠA a SUKOP, 1985). Cyanobakterie se vyskytují většinou v podmínkách vyššího pH. Metabolickou činností zvyšují ve svém okolí hodnoty pH na 9 – 11. Při těchto hodnotách již není přítomen řasám nejvíce přístupný oxid uhličitý. (MARŠÁLEK, 2000).

Díky své konkurenceschopnosti převládají sinice nad ostatními druhy fytoplanktonu a voda se stává nebezpečnou jak pro zvířata, tak pro lidský organizmus. Jejich škodlivost spočívá zejména v produkci cyanotoxinů, jejichž pravá funkce není dosud známa. Tyto toxiny mohou způsobovat alergické reakce či poškozovat zažívací trakt a další vnitřní orgány citlivých jedinců. Pro bližší pochopení složení planktonu ve vodě je nutná pravidelná kvantifikace a kvalifikace jednotlivých druhů. Vzhledem ke schopnosti sinic přežívat v sedimentu dna je nezbytný taktéž monitoring inokula sinic v sedimentech nádrže.

MATERIÁL A METODIKA

Na Brněnské přehradě je již po několik let prováděn monitoring složení fytoplanktonních společenstev. Odběry vzorků probíhají v pravidelných čtrnáctidenních intervalech po celou vegetační sezónu. Vzorky vody byly odebírány z lodi na 10 lokalitách pomocí „Andělovi tyče“, tj. 30cm pod hladinou a uchovány v 50ml plastových vzorkovnicích. Mikroskopická analýza fytoplanktonu probíhala na Ústavu zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství. Vzorky byly zpracovávány v živém stavu. Zahuštění prováděno na filtračním zařízení (Marvana, 1957), následně byly determinovány jednotlivé taxony a spočítáno množství buněk na 1ml vody pomocí Burkerovi krevní komůrky při zvětšení 400x. Světová zdravotnická organizace stanovuje normu pro koupací vody 100 tis.b/ml vody.

Kromě mikroskopických rozborů bylo prováděno měření pomocí fluorescenční sondy, která stanovuje množství jednotlivých zástupců fytoplanktonu in situ. Na stanovených lokalitách byly také měřeny hodnoty pH, množství rozpuštěného kyslíku, teplota vody po celé délce vodního sloupce.

Jihomoravský kraj se rozhodl problém nadměrného rozvoje vodního květu sinic řešit již před několika lety a v současné době bylo uskutečněno několik opatření jak v samotném těle nádrže, tak i v povodí. Pozornost je věnována zejména přísunu N a P z ČOV a nakládání okolních rekreačních objektů s odpadními vodami.

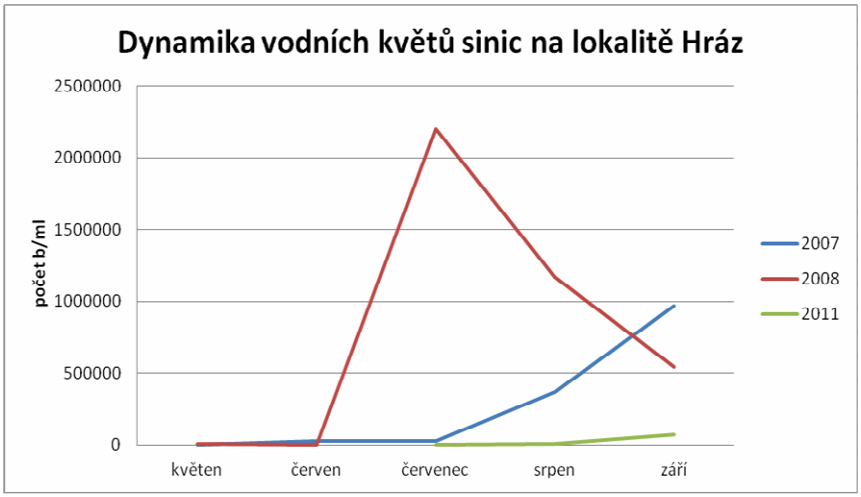
V letech 2007, 2008 a 2009 byla po snížení hladiny provedena letecká aplikace vápenatého hydrátu (na ploše 120 ha v množství 400 kg/ha) jež má za následek urychlení mineralizace dna a břehů. Část naplavenin byla také odtěžena mechanicky. Toto opatření je nezbytné pro snížení množství inokula sinic v sedimentech.

Od roku 2010 jsou v nádrži instalovány aerační (5) a míchací věže (15) jež prokysličují spodní vrstvy nádrže, narušují teplotní stratifikaci a tím snižují konkurenceschopnost sinic. Do vody přitékající do nádrže je navíc kontinuálně dávkován síran železnatý za účelem vysrážení fosforu. Byly provedeny změny v obsádce ryb, jež mají také nemalý vliv na složení fytoplanktonu. Na hladině nádrže se po celou sezónu pohybovalo plavidlo separující plovoucí biomasu.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Vegetační období roku 2011 se vyznačovalo průměrnými letními teplotami vzduchu, avšak díky umístění jemnobublinných aeračních věží do tělesa nádrže neproběhla klasická teplotní stratifikace. Měřením bylo zjištěno, že teplota vody se ve vodním sloupci téměř neměnila. Jak ukazuje graf č.1 dynamika fytoplanktonu se v roce 2011 výrazně odlišovala od předcházejících let. Kvantifikace poukazovala na výrazně menší množství buněk sinic a limit světové zdravotnické organizace (WHO) nebyl překročen za celou vegetační sezónu. Vzhledem k tomu, že v minulých letech docházelo až k desetinásobnému překročení limitu 100 tis.b./ml a to po celou dobu monitoringu, je tento jev velice neobvyklý. V letech 2003 až 2005 nebyli výjimkou hodnoty v desítkách milionů sinic na 1ml vody. Letošní letní sezónu jsme mohli pozorovat dominantní rozsivky druhu *Asterionella* či *Fragillaria sp.* a opakovaně se stávala dominantou ve vodním sloupci také obrněnka rodu *Ceratium sp*. Abundance v jiných letech vždy dominantní sinice rodu *Microcystis* zůstala nízká. Na počátku měsíce června jsme zaznamenaly větší výskyt vláknitých sinic *Aphanizomenon* a *Anabaena* sp. přičemž zejména *Aphanizomenon* vytvářel zajímavé morfotypy. Neobvyklý tvar vláken a utváření kulovitých kolonií lze přisuzovat změnám fyzikálních parametrů okolí či ošetření vody síranem železnatým. Tyto vláknité sinice nejsou natolik citlivé ke změnám stratifikace a můžeme je ve větším množství nalézt zejména v rybnících. Změny ve složení ostatních skupin řas nebyly příliš patrné, objevovali se zejména typičtí zástupci zelených řas *Desmodesmus, Pediastrum, Coleastrum.*

Graf. 1: Dynamika vodního květu sinic na lokalitě Hráz v letech 2007, 2008 a 2011:



ZÁVĚR

Sledování dynamiky fytoplanktonu v roce 2011 ukázalo výrazné změny v rozvoji i složení fytoplanktonu. Kvantifikace prokázala mnohonásobně nižší abundanci sinic oproti dříve sledovaným sezónám. Limit WHO nebyl překročen, nebylo tedy nutné přistoupit k zákazu koupání. Konkurenceschopnost sinice *Microcystis* byla výrazně snížena v důsledku promíchávání vodního sloupce v nádrži, i když množství inokula v sedimentu nádrže je stále značné. Vzhledem ke skutečnosti, že se sledovaná vegetační sezóna nelišila podprůměrnými teplotami či jinými meteorologickými zvraty lze předpokládat, že výrazně menší množství sinic v nádrži zajistila provedená opatření. Účinnost je však nutné potvrdit dalším sledováním v průběhu dvou či tří let.

Je pozitivní, že jsou tato opatření smysluplná a problém nadměrného rozvoje vodních květů sinic řešitelný. V první řadě je ale nutná snaha o další zlepšení kvality vody celého povodí a snížení přísunu biogenních prvků do nádrže. Tato komplexní opatření se jeví do budoucna jako ekologičtější i více ekonomické než provoz výše uvedených zařízení a aplikace chemických látek.

LITERATURA

Baldwin, D. S., Whittington, R., Oliver, R. (2003): Temporal variability of dissolved P speciation in a eutrophic reservoir – implications for predicating algal growth. Water research 37, 4595-4598

Harper, D. (1992): Eutrophication of Freshwaters: Principles, problems and restoration. Chapman and Hall, London, 327 pp.

Heteša, J., Sukop, I. (1985): Aplikovaná hydrobiologie - II. Skriptum VŠZ, Brno, 83 s.

Heteša, J.,Kočková, E. (1997): Hydrochemie. Skriptum MZLU, Brno, 95 s.

Maršálek, B. (2000): Hledání Achillovy paty cyanobakterií, sborník referátů

Marvan, P. (1957): K metodice kvantitativního stanovení nanoplanktonu pomocí membránových filtrů. Preslia 29: 76 – 83

WIND EROSION APPEARANCE AND INTENSITY

Urban T., Grešová L.

Departure of Landscape, Faculty of Horticulture and Landscape Engineering, Planning and Ground Design, Slovak Agricultural University in Nitra, Hospodárska 7, 94901 Nitra, Slovak Republic

E-mail: tomass.urban@gmail.com, lenka.gresova@gmail.com

ABSTRACT

Wind erosion is in the Middle Europe rarely appearing and hardly observed event. It appears mainly in the spring period on the light soils with no vegetation cover and harvested left products.

Wind erosion intensity was observed by catching moving soil particles with special deflameter, which was left free lying on the top soil. Repeated three measurements were made in the duration of 60 minutes by various time periods and wind speeds. In the first measurements there were coughed the most transported soil particles, after calculating it makes the soil transport of 1299.6 $kg.ha^{-1}$. Because of the lower wind speed and top soil erodibility were caught less particles in the deflameter in the other two measurements.

We tried to observe the wind erosion events and measure them in the selected field in the cadastral area of Močenok. From the 5^{th} till the 15^{th} of April 2011 there were observed together 5 wind erosion events and erosion effective winds lasting 58 hours. With the volumetric method we calculated the total soil loss from the field where the wind erosion occurred.

Key words: wind erosion, deflameter

ÚVOD

Erózia je prírodný proces, ktorý sa pôsobením rôznych eróznych činiteľov (vody, snehu, vetra, organizmov a človeka) podieľa na neustálom kolobehu látok v prírode. Jej účinky sa nedajú úplne odstrániť žiadnymi opatreniami ani zásahmi, možné je len znížiť jej intenzitu na prípustnú hodnotu (Antal, 2005).

Veterná erózia sa prejavuje najmä v nížinách Západného Slovenska (Záhorská a Podunajská nížina). Má obyčajne nižšiu intenzitu prejavu a vo väčšine prípadov nepodmieňujú úplný odnos pôd, ale len jej povrchových častí (Čurlík, 1998).

Podstata veternej erózie (eolickej) spočíva v rozrušovaní pôdneho povrchu mechanickou silou vetra (abrázia), v premiestňovaní a odnášaní pôdnych častíc (agregátov) vetrom (deflácia) a v ich ukladaní na inom mieste (akumulácia) (Streďanský, 1993a).

Procesom veternej erózie sú spôsobované škody na poľnohospodárskej pôde najmä odnosom pôdnych častíc, hnojív, osív a pesticídov, sú obnažované korienky rastlín, unášanými pôdnymi časticami sú poškodzované najmä mladé výhonky rastlín. Táto erózia nespôsobuje škody len v poľnohospodárstve, ale aj v iných odvetviach hospodárstva a to zanášaním komunikácií, vodných tokov, tvorením návejov, znečisťovaním ovzdušia a podobne (Dumbrovský et al., 2004).

MATERIÁL A METODIKA

Poľné meranie, pri ktorom sme sa pokúsili o zachytenie pohybujúcich sa pôdnych častíc v dôsledku vetra pomocou špeciálneho deflametra prebiehalo v dňoch 8. a 13.4 2011. Meranie sa uskutočnilo v katastrálnom území Močenok, 8 km severovýchodne od okresného mesta Šaľa. Záujmové územie spadá do klimatickej oblasti T2 – okrsok teplý, suchý s miernou zimou. Z geomorfologického hľadiska sa nachádza v oddieli Podunajskej roviny. Charakter územia je rovinatý s maximálnym prevýšením do 1 m. Z priestorovej analýzy vyplýva, že na najviac ohrozenej časti honu, ktorá je postihnutá veternou eróziou (cca 8,4 ha) sa nachádza BPEJ pod kódom 0037002 ktorá sa pre výpočet potenciálnej ohrozenosti územia zaraďuje medzi pôdy bez erózneho ohrozenia.

Počas obdobia 5. – 15. apríla 2011 sa pre vznik veternej erózie vyskytlo spolu päť veterných udalostí, kedy bola prekročená rýchlosť 3,3 $m.s^{-1}$(rýchlosť meraná pri povrchu pôdy). Táto hodnota bola stanovená Pasákom ako kritická rýchlosť pre suchú piesočnatú a hlinitopiesočnatú pôdu. Rozborom pôdnej vzorky v laboratórnych podmienkach sme zistili, že na našom záujmovom (erózne ohrozenom) území sa nachádza hlinitopiesočnatá pôda s obsahom častíc I. kategórie 13 %.

Údaje o rýchlostiach vetra sme získali z SHMU pre najbližšiu meteorologickú stanicu Nitra – Janíkovce. Keďže sa rýchlosť na tejto stanici meria vo výške 9 metrov, kritická rýchlosť pre piesočnatú a hlinitopiesočnatú pôdu prepočítaná na túto výšku je 4,5 $m.s^{-1}$. Z priemerných

minútových rýchlostí sme vypočítali priemerné hodinové rýchlosti nakoľko samotné meranie deflametrom trvalo 60 minút.

Deflameter sa skladá zo vstupnej zúženej časti, cez ktorú prúdiaci vzduch vniká a samotného tela deflametra, v ktorom sa tlmí kinetická energia vetra. Vo vnútri deflametra sú umiestnené tri filtre, ktoré zachytávajú pôdne častice. Vstupnú časť tvorí otvor ktorý je 5 cm široký a 20 cm vysoký. Deflameter bol počas merania voľne položený na povrchu pôdy v smere prúdenia vetra severozápad – juhovýchod. Dĺžka erodovanej plochy bola ohraničená melioračným kanálom na začiatku, ktorý tvorí hranicu pôdneho celku a deflametrom na konci, umiestnenom na rozhraní honov (obr.1). Pri severozápadnom vetre tak na dĺžke 265 metrov a šírke deflametra 5 cm predstavovala maximálna erodovaná plocha 13,25 m^2, z ktorej sa unášané pôdne častice zachytávali v deflametri. Povrch pôdy bol počas merania suchý, pomerne hladký (nepravidelná drsnosť 6 – 8 mm), bez vegetačného krytu a pozberových zvyškov, bez povrchovej kôry.

Okrem zachytávania pohybujúcich sa pôdnych častíc sme skúmali intenzitu veternej erózie aj pomocou volumetrickej metódy, ktorá je založená na priamom zisťovaní objemov nánosov a návejov akumulovanej pôdy pričom objem sa vypočíta zmeraním priečnych profilov a dĺžok akumulovaných produktov eróznej činnosti.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Analýzou dát (priemerné minútové údaje o rýchlosti a smere vetra), ktoré nám poskytlo SHMU sme zistili, že sa v danej oblasti v čase od 5. do 15. 4. 2011 vyskytlo spolu päť erózne účinných vetrov. Za erózne účinný vietor sme v našom prípade zvolili rýchlosť vetra, ktorá je vyššia ako kritickú rýchlosť vetra pre hlinitopiesočnatú pôdu. Prepočítaná kritická rýchlosť na výšku v akej meria meteorologická stanica je tak > 4,5 $m.s^{-1}$. V nasledujúcich tabuľkách sú uvedené priemerné hodinové rýchlosti erózne účinných vetrov a ich čas trvania podľa jednotlivých veterných udalosti.

Tab. č. 1: Analýza 1. veternej udalosti pre stanicu Nitra-Janíkovce (SHMU, 2011)

Začiatok veternej udalosti: 7.4.2011 o 9:05 hod.				
Koniec veternej udalosti: 8.4.2011 o 1:15 hod.				
Priemerná hodinová rýchlosť vetra ($m.s^{-1}$)	4,5-4,9	5,0-5,9	6,0-6,9	7,0-7,9
Trvanie erózne účinného vetra (hod.)	5	2	4	0

Tab. č. 2: Analýza 2. veternej udalosti pre stanicu Nitra-Janíkovce (SHMU, 2011)

Začiatok veternej udalosti: 8.4.2011 o 1:16 hod.				
Koniec veternej udalosti: 9.4.2011 o 19:09 hod.				
Priemerná hodinová rýchlosť vetra ($m.s^{-1}$)	4,5-4,9	5,0-5,9	6,0-6,9	7,0-7,9
Trvanie erózne účinného vetra (hod.)	4	13	5	2

Tab. č. 3: Analýza 3. veternej udalosti pre stanicu Nitra-Janíkovce (SHMU, 2011)

Začiatok veternej udalosti: 10.4.2011 o 7:05 hod.				
Koniec veternej udalosti: 10.4.2011 o 18:50 hod.				
Priemerná hodinová rýchlosť vetra ($m.s^{-1}$)	4,5-4,9	5,0-5,9	6,0-6,9	7,0-7,9
Trvanie erózne účinného vetra (hod.)	0	3	4	2

Tab. č. 4: Analýza 4. veternej udalosti pre stanicu Nitra-Janíkovce (SHMU, 2011)

Začiatok veternej udalosti: 12.4.2011 o 8:48 hod.				
Koniec veternej udalosti: 12.4.2011 o 16:12 hod.				
Priemerná hodinová rýchlosť vetra (m.s^{-1})	4,5-4,9	5,0-5,9	6,0-6,9	7,0-7,9
Trvanie erózne účinného vetra (hod.)	1	3	0	0

Tab. č. 5: Analýza 5. veternej udalosti pre stanicu Nitra-Janíkovce (SHMU, 2011)

Začiatok veternej udalosti: 13.4.2011 o 4:00 hod.				
Koniec veternej udalosti: 13.4.2011 o 21:40 hod.				
Priemerná hodinová rýchlosť vetra (m.s^{-1})	4,5-4,9	5,0-5,9	6,0-6,9	7,0-7,9
Trvanie erózne účinného vetra (hod.)	2	7	1	0

Z výsledkov analýzy veterných udalostí vyplýva, že počas sledovaného obdobia erózne účinné vetry trvali spolu 58 hodín. Najčastejšia priemerná hodinová rýchlosť vetra sa pohybovala v intervale 5,0-5,9 m.s^{-1} a doba výskytu trvala spolu 28 hodín. Maximálna priemerná minútová rýchlosť dosiahla 12,3 m.s^{-1} a maximálny náraz vetra dosiahol 17,3 m.s^{-1}.

Dňa 8.4.2011 sa počas druhej veternej udalosti medzi 16 ^{00} a 17 ^{00} hod. (dĺžka merania 60 minút) pri priemernej rýchlosti vetra 5,7 m.s^{-1} v deflametri zachytilo 1722 gramov erodovanej pôdy, čo po prepočte predstavuje odnos 1299,6 kg.ha^{-1}.hod.

Pri druhom meraní 13.4.2011 sa na tom istom mieste počas piatej veternej udalosti medzi 10 ^{00} a 11 ^{00} hod. pri priemernej rýchlosti vetra 5,6 m.s^{-1} zachytilo 364,4 gramov erodovanej pôdy. Po prepočte to predstavuje 275,0 kg erodovanej pôdy z plochy jedného hektára počas jednej hodiny.

Tretie meranie prebehlo medzi 11 ^{00} až 12 ^{00} hod. toho istého dňa na tom istom mieste pri priemernej rýchlosti 4,3 m.s^{-1}. V deflametri sa zachytilo 199 gramov pôdy čo činí odnos 150, 2 kg.ha^{-1}.hod.

Ak porovnáme prvé a druhé meranie, rýchlosť vetra je porovnateľná, no nameraný odnos sa značne líši. Je to spôsobené erodovateľnosťou pôdneho povrchu, ktorá klesá s narastaním doby výskytu (trvaním) vetrov počas jedného obdobia. Druhé a tretie meranie prebiehalo za sebou počas jedného dňa. Pri treťom meraní sa zachytilo opäť menej pôdnych častíc ako pri druhom meraní. Na znížení odnosu sa nepodieľala len erodovateľnosť pôdneho povrchu, ale aj rýchlosť vetra, ktorá v priemere klesla o 1,3 m.s^{-1}, čo sa prejavilo v znížení nameraného odnosu o 76 gramov.

Zachytené pôdne vzorky sme podrobili agregátovej analýze (laserový analyzátor pôdnych častíc FRITSCH ANALYSETTE 22) pričom nás zaujímala veľkosť a percentuálne zastúpenie pôdnych častíc. Analýza každej vzorky prebehla v troch opakovaniach pričom sa vyhodnocoval priemer týchto opakovaní. Výsledky tejto analýzy sú uvedené v tabuľke číslo 6.

Analýzou pôdnych vzoriek sme zistili, že erodovateľnosť pôdneho povrchu postupne klesá s dĺžkou výskytu erózne účinných vetrov. Potvrdzuje to rozdielne zastúpenie agregátov v prvej a druhej vzorke. Veľkosť zachytených pôdnych častíc sa zmenšila a dlhodobým trvaním erózne účinných vetrov bol erodovaný jemnejší materiál. Kým napr. v prvej vzorke tvoril obsah častíc do 50 µm 48,9 %, do 200 µm 89,3 %, v druhej vzorke to bolo 61,1 % a 97 %. V tretej vzorke bol zachytený

materiál ešte jemnejší, no keďže meranie prebiehalo tesne za druhým, nebolo to spôsobené nižšou erodovateľnosťou povrchu, ale nižšou rýchlosťou vetra, ktorá poklesla o 1,3 $m.s^{-1}$.

Tab. č. 6: Agregátová analýza zachytených vzoriek pôdy

Veľkosť častíc (µm)	% obsah častíc vo vzorke (V)		
	V1 (1. meranie)	V2 (2.meranie)	V3 (3. meranie)
< 10	16,8	18,5	23,1
< 50	48,9	61,1	71,8
< 100	67,5	82,6	90,4
< 200	89,3	97	99,1
< 500	100	100	100

Transportované pôdne častice boli akumulované na miestach s drsnejším povrchom pôdy a tam, kde došlo k zníženiu rýchlosti vetra účinkom vetrolamu. Volumetrickou metódou sme počítali objem návejov a nánosov, ktoré sa vytvorili pred vetrolamom a v jeho vnútornej časti, v priekope na rozhraní honov a medzi riadkami na vedľajšom hone, kde bola vysadená kukurica. Výsledky meraní sú uvedené v tabuľke číslo 7.

Tab. č. 7: Vypočítané objemy akumulácie pôdy

Miesto akumulácie	Obsah priečneho profilu (m^2)	Dĺžka (m)	Vypočítaný objem (m^3)
Návej pred vetrolamom	0,38	130	49,4
Vetrolam	1,35	130	175,5
Priekopa na rozhraní honov	0,12	160	19,2
Nános medzi riadkami	1,51 (v počte180)	160	241,2
Spolu			**485,3**

Suma všetkých nánosov a návejov tvorí objem 485,3 m^3 akumulovanej pôdy, ktorá bola erodovaná a transportovaná na iné miesto. Pri objemovej hmotnosti 1,1 $g.cm^{-3}$ (mierne uľahnutá ornica, 60% pórovitosť) je hmotnosť erodovaného materiálu 533,8 ton, čo po prepočte predstavuje odnos 63,5 $ton.ha^{-1}$. Miesta deflácie a akumulácie pôdnych častíc sú znázornené na obr. 2.

ZÁVER

V čase od 5. do 15. apríla 2011 sa v oblasti Nitry vyskytlo spolu päť veterných udalosti, ktoré v sebe zahŕňali aj erózne účinné vetry v trvaní 58 hodín. Najdlhšie trvala druhá veterná udalosť (takmer 42 hodín), počas ktorej erózne účinné vetry fúkali 24 hodín. Počas tejto veternej udalosti dňa 8.4.2011 sa v deflametri za časové obdobie 60 minút pri priemernej rýchlosti vetra 5,7 $m.s^{-1}$ zachytilo 1722 g erodovanej pôdy z maximálnej erodovanej plochy 13,25 m^2. Pri ďalších meraniach bolo zachytené množstvo odnášaných častíc menšie, nakoľko erodovateľnosť pôdneho povrchu bola vplyvom dlhotrvajúceho vetra nižšia. Laboratórnym rozborom zachytených pôdnych vzoriek sme zistili, že erodovateľnosť pôdneho povrchu sa vplyvom výskytu dlhotrvajúcich erózne účinných vetrov znižuje. Postupne je erodovaný menší objem materiálu, ktorý je jemnejší a tvoria

ho častice s menším priemerom. V danej lokalite bolo veternou eróziou postihnutých približne 8,4 ha ornej pôdy (obr.2). Volumetrickou metódou bol vypočítaný objem nánosov a návejov, ktoré sa akumulovali pred vetrolamom, v jeho vnútri a na vedľajšom hone. Spolu tak tento objem tvorí 485,5 m^3 ornice, čo po prepočte predstavuje stratu 63,5 ton/ha.

LITERATÚRA

ANTAL, J. 2005. Protierózna ochrana pôdy. Nitra: SPU, 2005. 79 s. ISBN 80-8069-572-5.

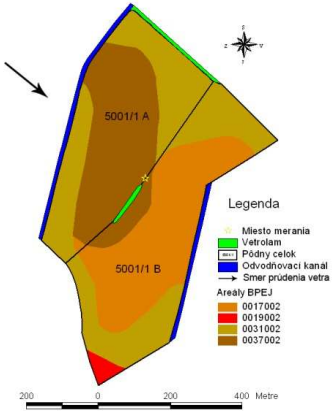
ČURLÍK, J. 1998. Zraniteľnosť pôd po degeneračných procesoch. In Trvaloudržatel'ná úrodnosť pôdy a protierózna ochrana, Nitra: VÚPÚ, 1998. s. 49 - 62, ISBN 80-85361-36-1.

DUMBROVSKÝ M., MEZERA J., STŘÍTECKÝ L., 2004. Metodický návod pro vypracování návrhů pozemkových úprav. ČMPKÚ, 190 s.

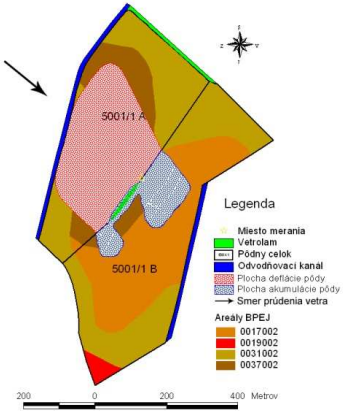
JANEČEK, M., et al. 1998. Nové směry v protieróznej ochrane půdy. Praha: ÚZPI, 1998. 56 s. ISBN 80-86153-93-2.

PASÁK, V. 1970. Wind erosion on Soils. VÚM, Zbraslav n/V1., 1970.

STREĎANSKÝ, J. 1993a. Veterná erózia pôdy. Nitra: VŠP, 1993. 66 s. ISBN 80-7137-094-0.



Obr.1: Mapa súčasného stavu a BPEJ



Obr.2: Mapa deflácie a akumulácie pôdy

RELATIONSHIP OF THE CORPORATE SOCIAL RESPONSIBILITY AND ORGANIC AGRICULTURE FOR SPECIFIC EXAMPLE

Válová A.

Department of Management, Faculty of Business and Economics, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xvalova3@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this article is to show the relationship between corporate social responsibility and organic agriculture. The analysis of Sonnentor firm' products was based on studies of corporate materials and empirical research. This analysis has to confirm or refute the assumption that every company doing business in organic agriculture is a socially responsible company. The assumption was able to confirm, but with some reservations.

Key words: corporate social responsibility, organic agriculture

Acknowledgement: This article is part of the project IGA SP 1110361/2101/112 processed in the dissertation thesis.

ÚVOD

Společenská odpovědnost firem je v současné době moderní strategií jak se odlišit od konkurence a přilákat další zákazníky. Ačkoliv ve skutečnosti nejde o žádný nový způsob podnikání, pro mnohé firmy je tato strategie novinkou a teprve se s ní seznamují. V České republice je společenská odpovědnost spíše doménou velkých firem. V závěrečné zprávě (2008, s. 6) výzkumu Business Leaders Fora na téma „Společenská odpovědnost firem – nový faktor firemní konkurenceschopnosti" se uvádí, že existuje závislost mezi velikostí firmy a znalostí konceptu CSR. *„S růstem velikosti firmy roste pravděpodobnost, že firma se s konceptem CSR již setkala."* Zatímco se 61 % dotázaných malých podniků s pojmem CSR ještě nesetkalo, z velkých firem se s ním nesetkalo pouhých 19 %.

Dle CzechInvestu (2011) se za velký podnik považuje takový, který zaměstnává více než 250 zaměstnanců a jeho aktiva v účetnictví přesahují korunový ekvivalent částky 43 mil. EUR nebo má obrat/příjmy přesahující korunový ekvivalent 50 mil. EUR.

Společenská odpovědnost firem se za svou krátkou dobu existence dostala do popředí zájmu společnosti a veřejnosti. Ale právě kvůli rychlému vývoji nejsou v této oblasti ujasněny definice pojmů a strategie CSR je nejrůznějšími způsoby upravována a překrucována. Hned v úvodu je třeba říci, že správně uplatňovaný přístup CSR přináší výhody nejen společnosti jako takové, ale samozřejmě také firmě.

Dle výzkumu TNS AISSA (2011) má každý osmý občan České republiky zájem o společenskou odpovědnost firem.

SPOLEČENSKÁ ODPOVĚDNOST FIREM

Na stránkách BusinessInfo.cz v článku Společenská odpovědnost firem (2008) je CSR vysvětleno následovně: *„Pojem společenská odpovědnost firem je českým překladem anglického výrazu Corporate Social Responsibility, pro který používáme zkratku CSR. Je vymezen jako dobrovolný závazek firem chovat se v rámci svého fungování odpovědně k prostředí i společnosti, ve které podnikají."*

Společenská odpovědnost představuje komplexní přístup hned k několika oblastem, přičemž ale není určeno, zda se firma musí angažovat ve všech oblastech a do jaké míry. Podle Pavlíka a Bělčíka (2010, s. 19) i Trnkové (2004, s. 7) jsou za nejznámější považovány následující tři definice CSR:

„CSR je dobrovolné integrování sociálních a ekologických hledisek do každodenních firemních operací a interakcí s firemními stakeholders." (Evropská unie, Zelená kniha, 2001)

„CSR je kontinuální závazek podniků chovat se eticky, přispívat k ekonomickému růstu a zároveň se zasazovat o zlepšování kvality života zaměstnanců a jejich rodin, stejně jako lokální komunity a společnosti jako celku.“ (World Business Council for Sustainable Development)

„CSR je způsob podnikání, který odpovídá či jde nad rámec etických, zákonných, komerčních a společenských očekávání.“ (Nevládní organizace Business for Social Responsibility)

Existují i mnohá další vymezení pojmu CSR, v nichž se víceméně opakují nejdůležitější prvky odpovědnosti: dobrovolnost, dlouhodobost a to, že jdou nad rámec povinností daných zákonem. Společenská odpovědnost spočívá v zahrnutí sociálních a environmentálních hledisek do každodenního života firmy.

Koncept společenské odpovědnosti firem stojí na třech vzájemně provázaných pilířích: ekonomickém, environmentálním a společenském. Do ekonomického pilíře lze dle Trnkové (2004, s. 7) zařadit následující oblasti: kodex podnikatelského chování firmy, příp. etický kodex, transparentnost, uplatňování principů dobrého řízení (corporate governance), odmítání korupce, chování ke stakeholderům a ochranu duševního vlastnictví.

Environmentální pilíř zahrnuje například tyto body: ekologickou výrobu, produkty a služby splňující standardy řady ISO 14000 a EMAS, ekologickou firemní politiku (recyklaci, používání ekologických produktů), zmenšování dopadů na životní prostředí a ochranu přírodních zdrojů. Prskavcová (2008, s. 19) považuje za nezbytnou součást každého subjektu dbát principů trvale udržitelného rozvoje. Uvádí jeho definici z WCED (Western Cape Education Department): *„Trvale udržitelný rozvoj je takovým rozvojem, který naplňuje potřeby přítomných generací, aniž by ohrozil schopnost naplňovat je i generacím budoucím.“*

Ve společenském (nebo také sociálním) pilíři mohou být rozlišeny následující oblasti: firemní filantropie, zdraví a bezpečnost zaměstnanců, rozvoj lidského kapitálu, dodržování pracovních standardů, zákaz dětské práce, vyváženost pracovního a osobního života zaměstnanců (work-life balance), rovné příležitosti (pro ženy a muže a ostatní znevýhodněné skupiny obecně), rozmanitost na pracovišti (etnické minority, handicapovaní a starší lidé), zajištění rekvalifikace propouštěných zaměstnanců pro jejich další uplatnění, jistota zaměstnání, lidská práva.

Kotler a Lee (2005, s. 178) uvádí, že strategie společenské odpovědnosti firem má unikátní schopnost vybudovat silné a skutečné vztahy s místními komunitami. Také pomáhá udržet spokojené a motivované zaměstnance. Společenská odpovědnost firem zvyšuje firmě její image a také poskytuje příležitost k prezentaci výrobků a služeb.

EKOLOGICKÉ ZEMĚDĚLSTVÍ (EZ)

Dle příručky 90 argumentů pro ekologické zemědělství (2007, s. 1) je ekologické zemědělství v zákoně 242/2000 Sb. charakterizováno jako *„systém hospodaření, který používá pro životní prostředí šetrné způsoby k potlačování plevelů, škůdců a chorob, zakazuje použití syntetických pesticidů a hnojiv, v chovu hospodářských zvířat klade důraz na pohodu zvířat, dbá na celkovou*

harmonii agroekosystému a jeho biologickou rozmanitost a upřednostňuje obnovitelné zdroje energie a recyklaci surovin.“

Ekologické zemědělství podléhá v České republice Zákonu 242/2000 Sb. a Nařízení Rady č. 834/2007 o ekologické produkci a označování ekologických produktů a o zrušení nařízení (EHS) č. 2092/91 a Nařízení Komise č. 889/2008 (prováděcí předpis) platné od 1. 1. 2009. Dodržování těchto právních předpisů je kontrolováno akreditovanými kontrolními organizacemi, jimiž jsou KEZ o. p. s., ABCERT AG a BIOKONT CZ, s. r. o. Produkty ekologického zemědělství a biopotraviny se v ČR označují českým logem BIO.

Výzkum DAPHNE ČR – Institutu aplikované ekologie (2006, s. 13) naznačuje, že nevýhodou ekologického zemědělství mohou být vyšší administrativní nároky, nutnost žádat o dotace, nechat si provádět pravidelné kontroly apod. Proto se stává, že určití zemědělci, ačkoliv produkují potraviny splňující podmínky ekologického zemědělství, je nemohou označovat jako „biopotraviny“. Někteří zemědělci označili za hlavní problém ekologického zemědělství malou zpětnou vazbu a napojení na odbyt. Stěžovali si na nedostatečnou možnost výkupu a porážky dobytka. Chov koní dokonce považovali v systému ekologického zemědělství za nereálný. Od vstupu do ekologického zemědělství některé zemědělce odradila velká administrativa. Bylo zjištěno, že farma zaměřená na chov ovcí fungující v podstatě pouze z vlastních zdrojů není zařazena v ekologickém zemědělství, neboť dle vlastních výpočtů je zátěž plynoucí z podmínek ekologického zemědělství vyšší než potenciální výhody. *„Nekompromisní trvání na podmínkách spojené s hrozbou vrácení dotací a placení penále prohlubuje averzi vůči komunikaci s příslušnými úřady. Takový přístup vede k tomu, že zemědělci volí cestu nejmenšího odporu a vstupují do titulů, které pro ně znamenají nejmenší zátěž a riziko problémů. Tím poněkud přichází v niveč snaha nabídnout zemědělcům tituly, které by diverzifikovaly hospodaření a podporovaly jeho extenzifikaci.“*

VZTAH EKOLOGICKÉHO ZEMĚDĚLSTVÍ A CSR

Jak již bylo zmíněno, společenská odpovědnost firem se dělí do tří pilířů, přičemž ten environmentální je z velké části pokryt pravidly ekologického zemědělství. Důkazem toho může být i to, že podstatou ekologického zemědělství je takové využívání půdy, aby byla zachována její obnovitelnost a udržitelnost.

Mezi výhody ekologického zemědělství, které naznačují souvislost se společenskou odpovědností firem lze zařadit:

- Bioovoce a biozelenina obsahují více látek významných pro lidské zdraví: Mají vyšší obsah flavonoidů a jiných polyfenolů jako např. resveratrolu, který patří k nejaktivnějším antioxidantům a je obsažen zejména v červených hroznech. Jde o látku chránící cévy. Pomáhá tedy předcházet srdečním a cévním onemocněním. *„Kromě toho chrání tyto látky rostliny před houbovými chorobami a v pokusech in vitro u nich byla prokázána účinnost proti rakovinný buňkám.“*

- Bioovoce obsahuje více hodnotných látek.: *»Pokusy s jablky odrůdy „Golden delicious prokázaly, že jablka z EZ obsahovala o 32 % více fosforu, o 9 % více vlákniny, o 19 % více fenolických látek (přírodních antioxidantů). Kromě toho měla jablka z EZ o 14 % větší pevnost, o 15 % vyšší technologickou kvalitu, o 15 % lepší organoleptické hodnocení a o 66 % vyšší index vitality.«*

- *„Ekologičtí zemědělci používají organická hnojiva – hnojí harmonicky. Ekologičtí zemědělci hnojí své půdy a porosty dobře ošetřovanými organickými hnojivy (hnůj, močůvka) a sklízejí tak produkty harmonicky živených rostlin. Syntetická dusíkatá hnojiva a lehce rozpustná fosforečná hnojiva jsou v EZ zakázána.“*

- *„Listová biozelenina obsahuje méně dusičnanů: Přehledné studie o kvalitě bioproduktů z let 1926 až 1998 ukazují, že listová zelenina z ekologického pěstování obsahuje o 10 až 40 % méně dusičnanů. Ekologické ovoce a zelenina obsahuje více vitaminů. Také při pokusech s možností volby krmiva dávají zvířata většinou přednost bioproduktům před konvenčními krmivy.“*

- Bioprodukty neobsahují rezidua pesticidů ani nedovolené pomocné látky. Bioovoce a biozelenina obsahují průměrně 200 až 250krát méně reziduí pesticidů než konvenční produkty. Bioprodukty jsou jen zřídka znečištěny nedovolenými pomocnými látkami; a v tom případě pouze ve stopovém množství, například jako důsledek kontaminace z okolních polí. Avšak každý druhý plod nebo každá druhá zelenina z obvyklého (konvenčního) zemědělství je zatížena pesticidy.

- Rostliny z ekologické produkce jsou chráněny před syntetickými prostředky: Syntetické prostředky jsou v ekologickém zemědělství zakázány. Tím je dána jistota, že do produktů nejsou vnášena škodlivá rezidua. V ekologickém zemědělství jsou také zakázány herbicidy. Zemědělci se zbavují plevelů mechanickou kultivací, přitom zároveň kypří půdu. Ekologické zemědělství nepoužívá při produkci polních plodin žádné „zázračné“ syntetické prostředky: Je zakázáno používání regulátorů růstu, urychlovačů zrání apod., neboť je to nepřirozené a zanechává to škodlivá rezidua v půdě.

- Ekologičtí zemědělci chtějí produkovat přírodním způsobem: Genové technologie odporují zásadám ekologického zemědělství produkovat způsobem co nejbližším přírodě, proto jsou v ekologickém zemědělství zakázány geneticky modifikované rostliny, zvířata a pomocné látky. Pro zákazníky z toho plyne určitá výhoda v tom, že dosud jsou tyto látky užívány příliš krátce na to, aby bylo možno zjistit, jaký mají vliv na lidský organismus.

- Zvířata a rostliny jsou více než shluk genů: Ekologické zemědělství je založeno na celostním pohledu na přírodní systémy. Na organismus nahlíží jako na celek, a ne jako na shluk genů. Úcta k živé bytosti má vysokou hodnotu. Ekologická krmiva neobsahují žádné stimulátory růstu nebo užitkovosti.

- Ekozemědělci používají bioosivo: Ekologičtí zemědělci musejí používat osivo a sadbu z ekologické produkce. Proto jsou už i mladé rostliny přizpůsobené ekologickému zemědělství.

- Každý nový ekologický podnik musí nejprve projít dvouletým přechodným obdobím: Od začátku přechodného období se musí dodržovat všechna velká pravidla a směrnice. Toto „čekatelské období" dává velkou jistotu, že nebudou v bioproduktech nalezena rezidua přípravků na chemickou ochranu rostlin.

- Jako BIO může být označen pouze produkt, který odpovídá zákonným požadavkům, a to ať už je vyprodukován v České republice nebo v zahraničí. Navíc musí být tento nejen vyprodukován ekologicky, ale jeho výrobce musí mít certifikát na ekologickou výrobu. Ekologicky hospodařící podniky jsou nejméně jednou za rok podrobeny důkladné kontrole. K tomu se provádějí další namátkové kontroly. Kontrolní a certifikační organizace jsou akreditovány a kontrolovány ministerstvem zemědělství.

- Zpracovatelé a obchodní společnosti pracují transparentně: Toky zboží musí být detailně dokládány.

- Ekologičtí zemědělci chrání opylovače květů: Z živočichů, kteří opylují květy kulturních a volně rostoucích rostlin, je velká část ohrožována způsobem obdělávání půdy. Patří k nim např. divoké druhy včel, mnoho druhů hmyzu, malé druhy ptáků a netopýrů. Hlavní příčinou ohrožení těchto druhů je intenzivní zemědělství a chemická ochrana rostlin. Ekologické zemědělství nepoužívá syntetické prostředky ochrany rostlin a tím například podporuje výskyt motýlů atd.

- Ekologické zemědělství chrání před povodněmi: Studie FAL (Spolkového ústavu pro zemědělství) Braunschweig ukazují, že ekologicky obhospodařované plochy poskytují lepší ochranu před povodněmi než plochy konvenční. Vysoká infiltrační schopnost půdy s neporušenou strukturou může snížit intenzitu povodní.

- Ekologické zemědělství chrání zdraví zemědělců: Zákaz používání pesticidů v EZ chrání zdraví zemědělců, neboť každý 20. člověk, který pesticidy aplikuje, má v důsledku toho zdravotní potíže.

(Zdroj: 90 argumentů pro ekologické zemědělství, 2007)

Produkty ekologického zemědělství tedy prospívají jak zákazníkům, životnímu prostředí (půdě, okolní fauně i floře), tak i samotným ekologickým zemědělcům. Díky šetrnému zacházení s přírodními zdroji, dochází k úsporám ve spotřebované energii, což představuje naplňování prvního pilíře společenské odpovědnosti firem, neboť se tím snižují náklady firmy. V ekologickém zemědělství je výdej energie o 30 až 509 % nižší. Dle 90 argumentů pro ekologické zemědělství (2007) se při použití poloviční dávky hnojení výnos sníží jen o 20 % oproti integrovanému zemědělství. K dalším úsporám energie dochází díky tomu, že se v ekologickém zemědělství nesmí

používat (nebo jen v omezeném množství) pesticidy, dusíkatá, hořečnatá a fosforečnatá hnojiva, při jejichž výrobě je značná spotřeba energie.

Zákaz používání těchto hnojiv chrání podzemní vody, řeky a jezera, jež jsou integrovaným zemědělstvím znečišťována. Vodním živočichům navíc tyto látky škodí i v nepatrných koncentracích.

Ekologickému zemědělství je někdy vytýkáno, že je dražší než integrované zemědělství. Problémem je, že v běžném porovnávání nákladů nejsou zahrnuty negativní externality, tedy náklady na čištění vody a zatížení životního prostředí, se kterým se budou muset vyrovnat budoucí generace, stát, nebo uživatelé znečištěné vody. Ekologické zemědělství tedy prospívá společnosti jako celku tím, že nevytváření negativních externality a navíc zvyšuje počet pracovních míst.

Na vztah mezi společenskou odpovědností firem a ekologickým zemědělstvím lze poukázat i v případě dovozu. Základem ekologického zemědělství je totiž hospodárné využívání přírodních zdrojů a v souvislosti s tím také omezení nesmyslně dlouhých transportů. Tato výhoda ovšem není patrná vždy, neboť v obchodech se lze setkat s bio mrkví ze Španělska, bio sušenými rajčaty a meruňkami z Turecka a slunečnicí z Číny apod. V těchto případech je sice myšlenka ekologického zemědělství alespoň částečně naplněna, ale společenská odpovědnost firem alespoň z části ne.

METODIKA

Před započetím výzkumu byl stanoven předpoklad, že ekologické zemědělství ve své podstatě odpovídá definici společenské odpovědnosti firem, a tudíž jsou všechny podniky působící v ekologickém zemědělství zároveň společensky odpovědné.

Na základě studia literatury byla definována společenská odpovědnost firem a ekologické zemědělství a vymezena jejich podstata a souvislosti. Na konkrétním příkladě firmy Sonnentor Kräuterhandels GmbH pak byla analyzována podobnost obou přístupů. Zvláštní na tomto příkladu je, že firma Sonnentor patří mezi střední a nikoliv velké podniky a přitom je téměř ukázkovým příkladem uplatňování společenské odpovědnosti firem ve všem, co dělá.

SONNENTOR KRÄUTERHANDELS GMBH - VÝSLEDKY A DISKUZE

Společnost Sonnentor byla založena v roce 1988 třiadvacetiletým Johannesem Gutmannem. Jeho podnikatelským záměrem bylo uvést bylinné speciality biopěstitelů z jeho rodného dolnorakouského Waldviertlu pod společným logem usměvavého sluníčka na nadnárodní a mezinárodní trh. Hlavním rysem jeho myšlenky bylo dalekosahající zušlechťování suroviny přímo na biozemědělských farmách, aby tak umožnil přežít i malým zemědělcům a navíc mohl využít jejich zkušenosti a pečlivost. Už zde lze vypozorovat základní rysy společenské odpovědnosti firmy, kdy cílem založení společnosti není pouze zisk, ale také rozvoj okolního prostředí, různorodosti plodin a nabídka kvalitních produktů/služeb zákazníkům.

Společnost Sonnentor používá pro své produkty logo usměvavého sluníčka, které představuje *„středověký symbol života a světla s 24 paprsky“*.

(Zdroj: internetové stránky společnosti Sonnentor GmbH)

Firma Sonnentor se hlásí ke společenské odpovědnosti např. následujícími slovy: *„Ruční práce a tradice přispívají k vynikající kvalitě bylinných a kávových směsí Sonnentroru. Specializace a ruční práce jsou nejjednodušší opatření k tomu, aby úroveň zemědělství neklesala. Jako firma přebíráme regionální zodpovědnost za Waldviertel a zříkáme se pracovních kroků vedoucích k automatizaci, abychom tak mohli našim pěstitelům a obyvatelům umožnit podílet se na řetězci tvorby hodnot. Pro Sonnentror začíná férové obchodování přímo ve vlastním domě.“* Zde je poukázáno na vztah k regionu a lidem v něm žijícím a opět také na kvalitu.

V současné době je ve firmě zaměstnáno 120 zaměstnanců. Podnik dále zásobuje 150 kontrolovaných smluvních biopěstitelů z Waldviertlu a východního Rakouska a celosvětově uznaných a certifikovaných biopodnikatelů.

Společnost Sonnentor Kräuterhandels GmbH prodává svoje produkty v Německu, Švýcarsku a České republice. Její bylinné, kávové a kořeněné směsi jsou k dostání v Kanadě, Japonsku, Bali, Austrálii a na Novém Zélandu. Speciality firmy jsou celkově vyváženy do více než 40-ti zemí, přičemž podíl exportu činí 75 %.

Gutmann dle vlastních slov nechtěl převzít podnik rodičů, ale chtěl jít svou vlastní, novou cestou. *„Přestože nejdříve jak od své rodiny, tak i od pěstitelů v regionu sklidil posměch, když jim navrhl sdružit jejich bio-produkty pod jedno společné logo, stál si Gutmann pevně za svou myšlenkou. Vyvinul logo a obal pro bio-bylinné produkty a doslova s ním putoval od trhu k trhu. … Postupně se Gutmannovou myšlenkou nadchlo stále více specializovaných pěstitelů bylin, kteří rádi opatřili své produkty etiketou Sonnentor, která vedle usměvavého sluníčka nesla také jejich jméno a vzdávala tím úctu jejich práci. Neboť až dodnes hraje identita pěstitelů a jejich rodin pro*

Johannese Gutmanna důležitou roli. Všude na půdě podniku Sonnentor Kräuterhandelsgesellschaft GmbH se nacházejí fotografie Elfriede Huberové, rodiny Grünstäudlových, Kurta Kainze a mnoha jiných pěstitelů, kteří Gutmannovo podnikání od počátku podporovali. Johannes Gutmann také proto nikdy nemluví o „svém" úspěchu, nýbrž vždy o „našich" výkonech a možnostech." Společenská odpovědnost se běžně používaným firemním strategiím vymyká právě i v tomto ohledu – vnímá člověka jako individualitu a váží si ho jako takového. Zaměstnanci, dodavatelé, zákazníci i další zainteresované skupiny to pochopitelně ocení.

Johannes Gutmann tvrdí, že společnost v současné době využívá pouze 20 % svých možností a chtěl by Sonnentor dále rozvíjet. Jeho *„management kvality neobsahuje pouze to, že všechny produkty pochází z kontrolovaného ekologického zemědělství, jsou bez barviv, konzervačních látek a umělých aromat a jsou dále šetrně zpracovávány na více než 600 produktů, nýbrž také to, že každý produkt může být bez problémů přiřazen jeho výrobci, že pěstitelé přejímají část zušlechťování a balení přímo na svých farmách, že mnoho pracovních kroků je prováděno ručně a nikoliv za pomoci strojů, že pěstitelé v tuzemsku i v zahraničí mohou žít z výnosu své sklizně a že všichni spolupracovníci se mohou ztotožnit s podnikatelskou filozofií a mají radost z práce. Dobrá chuť přírodních přísad je nakonec obsažena v každém čajovém sáčku, v každém šálku kávy a každé směsi koření."*

Co se týče sociálního pilíře, naplňuje jeho podstatu například projekt Rozsviťte slunci i Vy, v rámci něhož společnost Sonnentor spolupracuje s občanským sdružením Zdravotní klaun, které má podporovat psychickou pohodu hospitalizovaných dětí, geriatrických pacientů a seniorů, tímto má také pomáhat ke zlepšení jejich celkového zdravotního stavu.

ZDRAVOTNÍ KLAUN

Firma Sonnentor se staví do pozice společensky odpovědné firmy prohlášením na svých internetových stránkách: *„Sonnentor má z projektů tohoto typu radost. Myšlenka občanského sdružení Zdravotní klaun je nám velice blízká a sympatická. Rozhodli jsme se podporovat Klauny tím, že z každé prodané krabičky Raráškova čaje Klauni s červenými nosy z Raráškovy řady čajů odvedeme 1 Kč. Tuto informaci naleznete také na etiketě krabičky tohoto čaje. Přispějte i vy koupí krabičky čaje a rozsviťte sluníčko tam, kde je zataženo."* Toto je ukázkový příklad sdíleného/sociální marketingu, který spadá do sociálního pilíře společenské odpovědnosti firem. Jeho podstatou je to, že firma kromě sebe propaguje i neziskovou organizaci nebo nějaký její projekt. Takováto činnost může přilákat nové zákazníky a vést ke zvýšení vlastních tržeb.

Předpoklad, jenž byl stanoven na začátku práce *„že ekologické zemědělství ve své podstatě vyhovuje definici společenské odpovědnosti firem, a tudíž jsou všechny podniky působící v ekologickém zemědělství zároveň společensky odpovědné“* není tak docela správný, neboť ekologické zemědělství v sobě nezahrnuje sociální pilíř společenské odpovědnosti. Může tedy docházet k nenaplnění některých oblastí, např. vyváženosti pracovního a osobního života zaměstnanců, jistoty zaměstnání, firemní filantropie a podobně.

Nicméně za společensky odpovědnou je vlivem nejednotné definice, mnohdy považována též firma, která nenaplňuje všechny oblasti jednotlivých pilířů. V mnoha zdrojích se například za společensky odpovědnou považuje Skupina ČEZ produkující jaderný odpad, jenž dosud nejsme schopni nijak zpracovat, a proto je zatěžujícím činitelem pro budoucí generace.

Tím, že se společnost na svých stránkách hlásí k sociální a ekologické zodpovědnosti, naplňuje hned dva pilíře společenské odpovědnosti firem. Lze předpokládat, že o ten ekonomický, tedy zisk (apod.) usiluje také. Co se týče ekologické zodpovědnosti, firma poukazuje na to, že její *„dlouholetá sociální a ekologická angažovanost byla v roce 2008 oceněna TRIGOSEM, vyznamenáním za zodpovědné jednání firmy. Podaným projektem „Koloběh jako základní princip“ mohl biospecialista z Waldviertlu dosáhnout vítězství v kategorii Ekologie středních podnikatelů. SONNENTOR ukazuje, že hospodářský úspěch a příkladné obchodování jdou ruku v ruce a že jsou dávno součástí jeho podnikatelské strategie. Iniciátoři TRIGOSU, základna z hospodářství a NGO (Charita, Rakouský červený kříž, SOS dětské vesnice, vrcholný orgán životního prostředí, Rakouská hospodářská komora, Business Consultant Group, průmyslová koalice, tisk) vyznamenávají jen firmy se zodpovědným podnikatelským vedením.“*

ZÁVĚR

Vzhledem k nejasné definici CSR, resp. jejím mnoha variantám, může být společensky odpovědnou firmou nazývána jakákoliv společnost podnikající v rámci ekologického zemědělství, neboť naplňuje minimálně environmentální pilíř společenské odpovědnosti firem. Nicméně by bylo vhodné, aby své etické myšlení uplatňovala ve všech oblastech a byla tedy společensky odpovědnou firmou v plném slova smyslu, ne pouze ve třetím pilíři.

Důvodů k takovému jednání je stejně jako u ekologického zemědělství mnoho. Mimo jiné zlepšuje společensky odpovědné chování image a chrání proti nejrůznějším postihům, neboť vždy musí být v rámci zákona, resp. přinášet i něco navíc. Dle Trnkové (2004, s. 8) společensky odpovědné chování přináší výhodu ve vyšší transparentnosti, přitažlivosti pro investory, posiluje důvěryhodnost, loajalitu a produktivitu zaměstnanců, také umožňuje přilákání a udržení si kvalitních zaměstnanců. Dále přináší výhodu v odlišení se od konkurence, pomáhá navazovat vztahy se stakeholdery a mnoho dalšího.

Ekologičtí zemědělci by se tedy měli začít prezentovat také jako společensky odpovědně podnikající společnosti nebo jednotlivci.

LITERATURA

BusinessInfo.cz. (29. února 2008): Oficiální portál pro podnikání a export. Společenská odpovědnost firem. [online]. [cit. 24. dubna 2011]. Dostupné na WWW: <http://www.businessinfo.cz/cz/clanek/podnikatelske-prostredi/spolecenska-odpovednost-firem-pruvodce/1001234/47816/>.

Czech Invest. Agentura pro podporu podnikání a investic. (1999–2011): Definice malého a středního podnikatele. [online]. [cit. 24. dubna 2011]. Dostupné na WWW: <http://www.czechinvest.org/data/files/msp-296-cz.pdf>.

CSR Společenská odpovědnost firem nový faktor firemní konkurenceschopnosti. Závěrečná zpráva z výzkumu na téma: „Společenská odpovědnost firem – nový faktor firemní konkurenceschopnosti“. [online]. 2008 [cit. 24. dubna 2011]. Dostupné na WWW: <http://csr-online.cz/Page.aspx?pruzkum>.

Kotler, P., Lee, N. (2005): Corporate Social Responsibility: Doing the Most Good for Your Company and Your Cause. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., 2005. 307 s. ISBN 0-471-47611-0. Vlastní překlad.

Pavlík, m. – Bělčík, m. & kol. (2010): Společenská odpovědnost organizace. CSR v praxi a jak s ním dál. První vydání. Praha: Grada Publishing, a. s. 176 s. ISBN 978-80-247-317-5.

Prskavcová, M., Maršíková, K., Řehořová, P., Zbránková, M. (2008): Společenská odpovědnost firem, lidský kapitál, rovné příležitosti a environmentální management s využitím zahraničních zkušeností. První vydání. Liberec: Technická univerzita v Liberci. 162 s. ISBN 978-80-7372-436-8.

Samsonová, P. (2007): Praktická příručka č. 3: 90 argumentů pro ekologické zemědělství, podle originálu FIBL Frick „90 Argumente für den Biolandbau“, vydal Bioinstitut, o.p. s., Institut pro ekologické zemědělství a udržitelný rozvoj krajiny, grafická úprava a tisk: Reprotisk s. s.r. o., Šumperk, distribuce: Bioinstitut, o.p. s. a PRO-BIO Svaz ekologických zemědělců, ISBN 978-80-87080-08-5

Sonnentor.cz (2011) Tady roste radost. [online]. [cit. 8. října 2011]. Dostupné na WWW: <http://www.sonnentor.cz/>.

TNS AISA. (květen 2011): Zájem Čechů o CSR. Zpráva TNS AISA, 16: 6.

Trnková, j. Business Leaders Forum. (únor 2004): Společenská odpovědnost firem (Corporate Social Responsibility) Kompletní průvodce tématem & závěry z průzkumu v ČR. [online]. [cit. 24. dubna 2011]. Dostupné na WWW: <http://www.blf.cz/csr/cz/vyzkum.pdf>.

Veverková, Z., Desetová, L., Hájek, J., Střelec, M. (2006): Co chtějí zemědělci říct a co potřebují slyšet? DAPHNE ČR – Institut aplikované ekologie, grafická úprava, sazba a prepress: Attavena, o.p.s., tisk tiskárna Posekaný, České Budějovice, vydala Attavena, o.p.s., náklad 100 kusů, ISBN: 80-86778-23-1,

Section – Rural Development

ENVIRONMENTAL ASPECTS OF DEVELOPMENT AND OPERATION OF WIND POWER STATIONS

Frýželková L., Knotek J., Borkovcová M.

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

E-mail: xfryzel0@mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this study was to use the survey to find out as much as possible the aspects influencing events around the wind turbines and the results of a questionnaire to establish the tasks that need to be addressed in this issue. Researching the topic was carried out using two questionnaires, one directed to people living near wind turbines and the second for college students. The results of both surveys confirmed the existence of so-called NIMBY syndrome - the acceptance of wind farms in those people who are not directly concerned, as well as general concerns about environmental disturbance and especially the negative impact of wind farms on biodiversity in the area. Further research should therefore identify endangered species and monitor their response to wind turbines already built.

Key words: wind, wind energy, scenery

Acknowledgement: This study was supported by project IGA MENDELU TP5/2011 “Možnosti zpomalení ústupu biodiverzity při zachování produkčních i mimoprodukčních funkcí krajiny“, which is funded by the Mendel University in Brno, Czech Republic.

ÚVOD

Dnes se k výrobě elektrické energie nejčastěji využívají technologie spalující fosilní paliva. Tato zásobárna energie vznikala miliony let ze zbytků rostlinných a živočišných těl. K těmto palivům řadíme ropu, zemní plyn, černé i hnědé uhlí a rašelinu. Tento způsob výroby energie však není šetrný k životnímu prostředí z hlediska vypouštění emisí a zplodin do ovzduší. Jako další výrazné negativum lze považovat neobnovitelnost těchto zdrojů, které jsou omezené, a časem se vyčerpají.

Alternativou těchto neobnovitelných zdrojů může být využití zdrojů energií, které se samy „obnovují“, jako voda, vítr, slunce. Tyto obnovitelné zdroje se také označují jako alternativní nebo regenerativní energie.

Mezi obnovitelné zdroje energií řadíme:

- Energii ze slunce
- Energii z vody
- Energii z větru
- Energii z biomasy
- Tepelnou energii zemského jádra

Cílem této práce bylo pomocí dotazníkového šetření zjistit co možná nejvíce aspektů, ovlivňujících dění kolem větrných elektráren a na základě výsledků dotazníku stanovit úkoly, které je potřeba v této problematice řešit.

METODIKA

Nejpříhodnějším způsobem provedení výzkumu, řešené problematiky, se jevila forma anonymních dotazníků. Před samotným šetřením bylo nejprve rozdáno jen několik vzorových dotazníků, podle nichž se některé otázky upravily tak, aby byly pro respondenty srozumitelnější. Aby prezentované výsledky bylo možno porovnat, rozhodla jsem se pro realizaci dvou dotazníkových šetření, které jsem následně vyhodnotila.

První dotazník byl směřován obyvatelům dotčeného území a blízkého okolí a zajímal se o názory občanů na realizovanou stavbu větrného parku. Cílem bylo získat reprezentativní vzorek výpovědí místních občanů.

Druhý dotazník byl vytvořen formou formuláře na doméně Google.com a rozeslán školním systémem studentům AF Mendelovy univerzity v Brně.

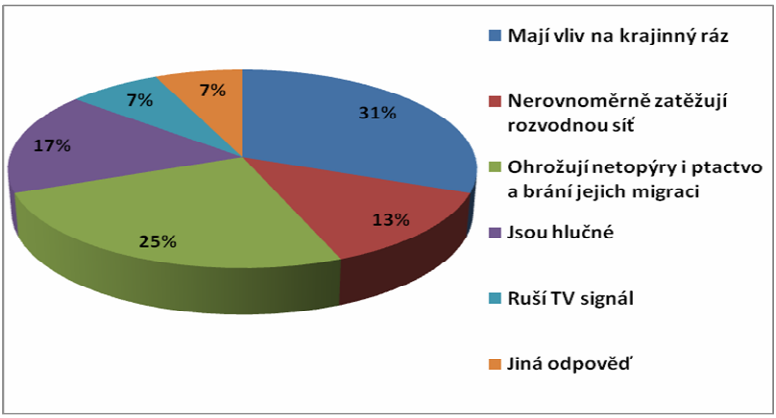
VÝSLEDKY A DISKUZE

Z provedeného průzkumu je patrno, že přes obecně podporovanou myšlenku větrných elektráren, s ní souhlasí lidé, kterých se výstavba přímo netýká, tzv. NIMBY syndrom (z angli-ckého Not In My Back Yard – ne na mém dvorku), kdy sice lidé podporují myšlenku větrných elektráren, ovšem ne v blízkosti jejich bydliště. Zatímco respondenti, v jejichž okolí bydliště větrná elektrárna (dále jen VTE) není, mají k rozvoji těchto staveb kladný vztah a podporovali ji, občané z dotčené obce byli spíše proti výstavbě. Výsledky potvrdily i závěry práce Bishop (2002), který tvrdí, že jinak působí větrná turbína či farma na místní obyvatele, kteří ji vídají denně, než na turisty, kteří kolem projedou jen jednou.

Je také průkazné, že především mladší lidé jsou k větrným elektrárnám a obecně obnovitelných zdrojům daleko tolerantnější, než starší generace.

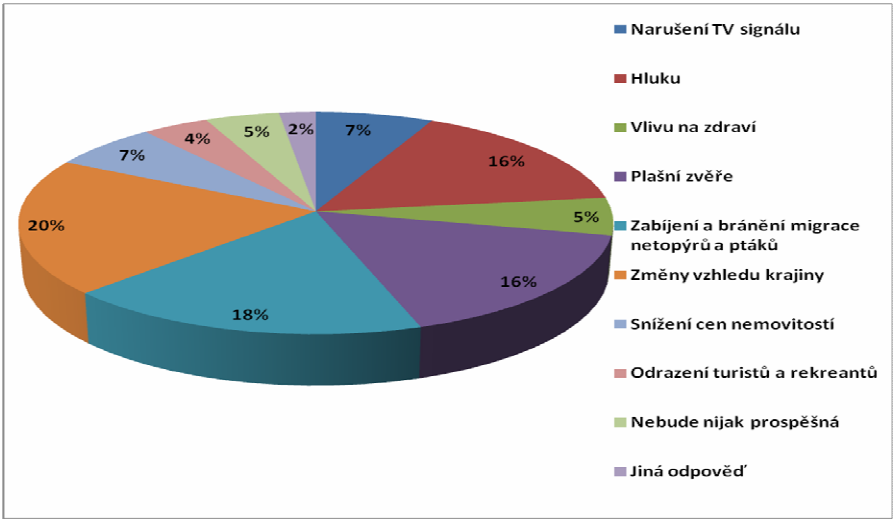
Co se týká spokojenosti obce Horní Loděnice, je pro ni větrný park velkým přínosem. Obci je ročně vyplácena renta v podobě finanční částky cca 500 tisíc ročně, což je pro obec příjem, který by jinde těžko sháněli. Dalším přínosem obci bylo opravení stávajících a vybudování nových přístupových cest k jednotlivým větrným elektrárnám, jejichž správu má na starosti provozovatel větrného parku, firma Ventureal, s.r.o. Zimní údržbu a odstraňování případných poruch zajistila firma spoluprací s obcí Těšíkov a Šternberk, což znamená také i vytvoření nových pracovních pozic. Dá se tedy do budoucna počítat se skutečností, že stále více obcí se bude snažit vybudovat VTE ve svém katastrálním území a tedy i celkový rozvoj takovéto výroby energie.

Graf 1 Názor respondentů na negativa větrných elektráren



Pro většinu dotazovaných představují VTE přijatelnou součást krajiny, kdy se jim stavby dokonce velmi líbí pro jejich „elegantnost a ladnost“, přesto většině respondentů vadí narušování krajinného rázu a celá čtvrtina dotazovaných se obává ohrožení ptáků a netopýrů či bránění jejich migraci.

Graf 2 Možnosti negativních dopadů výstavby větrné elektrárny, kterých by se dotazovaní osobně obávali



Mezi možnými dopady větrných elektráren na své okolí se mimo hluku a narušení krajiny objevovaly výrazné obavy z plašení zvěře, mortality či bránění migrace a tím i možné narušení narušení životního prostředí a snížení biodiverzity v blízké oblasti.

Právě na tuto oblast bych ráda navázala a zaměřila se ve své disertační práci a získala co nejvíce informací o vlivu VTE na úmrtnost ptáků a netopýrů či ovlivňování jejich chování v blízkosti VTE. Přestože již vyšlo mnoho článků a publikací o větrné energetice, hodnocení vlivu větrných elektráren na avifaunu, a zejména netopýry se jich příliš mnoho nezabývá. Proto se domnívám, že v této problematice je velký prostor k výzkumu a sledování. Je třeba si uvědomit, že ztrátou byť jediného jedince, ztrácíme zároveň část genetické biodiverzity.

V rámci svého nového výzkumu budu sledovat 3 různé větrné parky: Horní Loděnice (počet VTE 9), Ostružná (počet VTE 6) a Hraniční Petrovice (počet VTE 2). Mezi jmenovanými větrnými parky jsou rozdíly, jak v počtu VTE, tak v jejich výšce, typu i stáří. Součástí výzkumu bude i porovnání získaných výsledků mezi jednotlivými parky. Data budou získávány systematickým monitoringem v určitém okruhu kolem jednotlivých větrných elektráren.

Budoucí výzkumy by tedy měly vytipovat ohrožené živočišné druhy a sledovat jejich reakci na již stávající větrné elektrárny. Za tím účelem budu v průběhu svého doktorského studia kontaktovat orgány veřejné správy a provádět vlastní sledování podle metodik prováděných v zahraničí.

ZÁVĚR

Zpracovávání mé diplomové práce mi bylo velikým přínosem. Ať už se jedná o rozšíření obzorů v problematice větrných elektráren a ochrany přírody a krajiny, nebo o jednání s lidmi, ať už s odborníky nebo laiky. I připravování a roznášení dotazníků o názoru obyvatel na výstavbu větrného parku mi byla velkou zkušeností. Uvědomila jsem si, jak se lidé obávají projevit svůj názor nahlas, ať už při veřejných projednáváních, na která raději nechodí, nebo při vyplňování zmíněného dotazníku. Přišlo mi, jako by se za svůj názor styděli nebo možná snad ani svůj vlastní názor neměli.

Indikativní plán, kterému se Česká republika zavázala při vstupu do Evropské unie, a jenž nám ukládal zvýšit podíl obnovitelných zdrojů energie na 8 %, byl již splněn.

V rámci EU byly na následující období do roku 2020 dojednány nové cíle. Na rozdíl od indikativního plánu, jsou tyto závazné a Česká republika si stanovila cíl 20 % podílu z obnovitelných zdrojů energie.

Přestože v roce 2010 byl podíl větrné energie ze všech obnovitelných zdrojů, které se podílely na splnění indikativního cíle nejnižší, tvořil 5,7 %, lze předpokládat, že se budou nadále plánovat výstavby nových větrných elektráren či farem. Je proto velice důležité, aby se dodržovala všechna pravidla pro možnosti umístění těchto staveb v krajině, aby nedocházelo k výstavbě v oblastech migračních tahů ptáků a tím zvýšené mortalitě, aby se provádělo biologické hodnocení před plánovanou výstavbou i monitoring během provozu. Je třeba brát ohled na krajinnou strukturu a stávající přírodní či harmonické dominanty v krajině, aby nedocházelo ke zbytečným kolizím těchto dominant.

A především je třeba uvědomit si, zda nám těch pár procent podílu větrných elektráren v rámci obnovitelných zdrojů stojí za další narušování krajiny a tvoření nových technických, leč pro někoho třeba esteticky zajímavých, dominant.

LITERATURA

Bishop I. (2002): Determination of treshold of visual impal: the case of wind turbines. Environment and Planning B: Planning and Desing., vol. 29, no. 5, 707-718 s.

Cetkovský S., et al., (2010): Větrná energie v České republice: hodnocení prostorových vztahů, environmentálních aspektů a socioekonomických souvislostí, Ústav geoniky AV ČR, 209 s.

Frýželková L., (2011): Diplomová práce

Kočvata R., (2010): Přehled výsledků sledování mortality ptáků a netopýrů v souvislosti s provozem VTE na území ČR v letech 2006-2010, Časopis Slezského Muzea Opava, 256-262 s.

Quaschning V., (2010): Obnovitelné zdroje energií, Grada Publishing, a. s., 296 s.

THE COMPARATIVE ANALYSIS OF CHOSEN SMALL TOWNS OF MATROPOLITAN AND PERIFERIAL COUNTRYSIDE IN SOUTH MORAVIAN REGION - INITIAL ANALYSIS

Kniezková T., Pákozdiová M.

Department of Applied and Landscape Ecology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xkniezko@node.mendelu.cz, 1Mary1@seznam.cz

ABSTRACT

The aim of this paper was to analyze and compare, according to chosen parameters, if there are any differences between the peripheral and metropolitan countryside type of South Moravian Region. For the comparison two exemplary small towns representing the peripheral area (Mikulov a Velké Opatovice) and two exemplary small towns (Kuřim a Rajhrad) representing the metropolitan region were chosen. The main presumption of this choice was the number of population, their proper, opposite location in the Region and the typical representativeness of the given countryside types based on typology of small towns according to Vaishar (2008). Five parameters were chosen: Land-use, nature conservation, unemployment and job opportunities, civic amenities and traffic connection. Small towns were compared using these criteria. The information was gained from relevant literary sources and spatial plans. A field survey of the cadastral territories of studied small towns was carried out, where the photo-documentation was provided.

For comparison, small towns the peripheral and metropolitan countryside of South Moravian region, Brno is the most important parameter of size and distance from the regional city of Brno. In terms of comparing peripheral small towns is the most important position in the region.

It should be noted that the comparison sample, only two small towns as the representatives of selected types of rural South Moravian Region can not formulate a generally valid conclusions, which should apply to a particular type of countryside. For the formulation of generally valid conclusions about similarities and differences in land use small rural towns monitored types would be appropriate to carry out follow-up analysis of other small towns of rural types, the best comparison set of the small towns of the metropolitan and rural peripheral type.

Key words: small towns, peripheral and metropolitan countryside, South Moravian Region

Acknowledgement: This paper was written as a part of project "Small towns - engines of rural development of the South Moravian Countryside “under the grant project from the Internal Grant Agency of the Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, number TP4/2011.

ÚVOD

Podle dosavadních poznatků existují tři základní typy Jihomoravského venkova, které bychom mohli charakterizovat jako suburbanizovaný, metropolitní venkov, mezilehlý relativně dobře dostupný, prostupný venkov a periferní venkov. Příspěvek řeší metropolitní a periferní venkov. Metropolitní typ venkova zde reprezentují malá města Kuřim a Rajhrad. Malá města Mikulov a Velké Opatovice jsou představiteli periferního typu venkova. Co se týče začlenění malých měst do určitého typu, v jednotlivých případech může existovat řada výjimek a přechodných typů (Vaishar, 2008).

Město Mikulov se nachází v Jihomoravském kraji, v okrese Břeclav, 50 km jihovýchodně od města Brna. Město Kuřim najdeme v okrese Brno-venkov, cca 15 km severozápadně od města Brna. V tom stejném okrese se nachází rovněž město Rajhrad, vzdálené asi 13 km od metropole. Velké Opatovice leží v okrese Blansko a jsou vzdálené cca 57 km od krajského města.

Obr. 1 Lokalizace vybraných malých měst Mikulov, Velké Opatovice, Kuřim a Rajhrad (Zdroj: www.czso.cz)

Tab. 1 Vybraná malá města Jihomoravského kraje (Zdroj: ČSÚ, vlastní úpravy)

Název města	Počet obyvatel (k 1. 1. 2010)	Výměra k. ú. (ha) (k 31. 12. 2010)
Velké Opatovice	4 046	2 593
Rajhrad	3 126	948
Mikulov	7 450	4 532
Kuřim	10 773	1 737

MATERIÁL A METODIKA

V experimentu bylo použito metody regionální geografie a srovnávací analýzy vybraných parametrů studovaného území. Hlavní snahou bylo analyzovat rozdíly a podobnosti mezi malými městy v periferním a metropolitním typu venkova Jihomoravského kraje a jejich srovnání. Byly vybrané dvě vzorové malé města reprezentující periferní oblasti Jihomoravského kraje a dvě vzorové malé města reprezentující metropolitní region. Hlavním předpokladem volby byl počet obyvatel, jejich vhodné, protilehlé umístění v kraji a typické reprezentativnosti daných typů venkova na základě typologie malých měst dle Vaishara (2008). Bylo vybráno pět parametrů: využití území, přírodní podmínky, nezaměstnanost a pracovní příležitost, občanská vybavenost a dopravní spojení, podle kterých byly tato města srovnávány. Parametry byly zvoleny tak, aby výsledná zjištění co nejlépe charakterizovaly buď rozdílnost, nebo podobnost vybraných území. Došlo k prostudování příslušných literárních zdrojů a provedení terénního průzkumu katastrálních území měst Mikulov, Velké Opatovice, Kuřim a Rajhrad. Během tohoto průzkumu byla pořízena také příslušná fotodokumentace. Významnými dokumenty, poskytujícími řadu důležitých informací byly také Územní plány jednotlivých měst, které však nebyly dohledatelné u všech vybraných území. Na základě zjištěných informací pak došlo k porovnání všech tří měst a vyvození patřičných závěrů.

VÝSLEDKY A DISKUZE

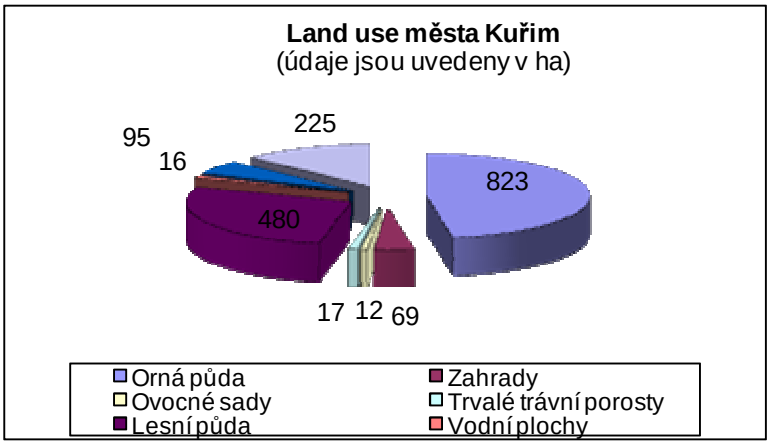
Využití území

Využití území sledovaných malých měst, což lze říci i obecně, je odvislé od přírodních podmínek daného území, od jejího funkčního napojení na okolí, vzdálenosti od většího města, od historického vývoje a dalších faktorů. Srovnání využití území vybraných měst metropolitního a periferního venkova ukazuje tabulka 2.

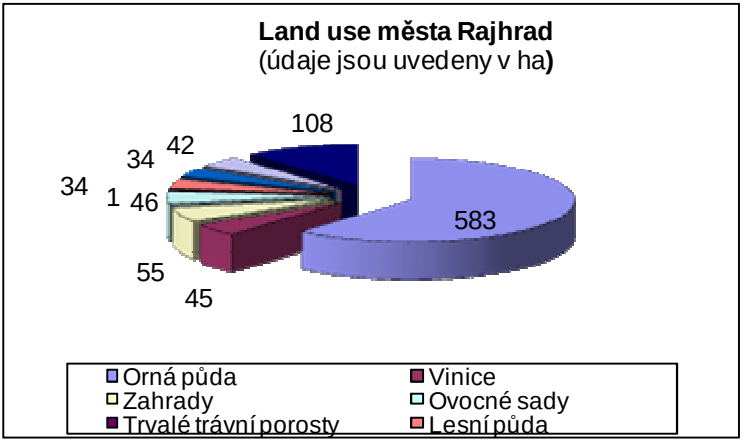
Pro lepší ilustraci byla struktura pozemků jednotlivých měst zobrazena v následujících grafech.

Tab. 2 Srovnání využití území (Zdroj: ČSÚ, vlastní úpravy)

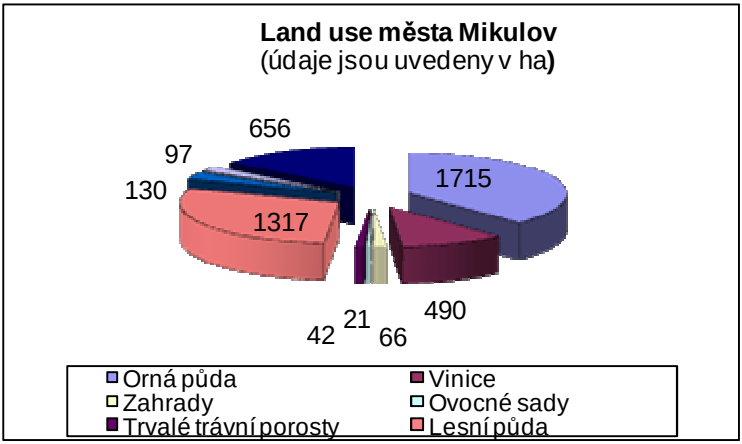
Název plochy	**Zastoupení plochy v území v ha**			
	Kuřim	**Rajhrad**	**Mikulov**	**Velké Opatovice**
Orná půda	823	583	1715	1 391
Vinice	-	45	490	-
Lesní půda	480	34	1317	12
Zahrady	69	55	66	58
Ovocné sady	12	46	21	6
Trvalé travní porosty	17	1	42	238
Vodní plochy	16	34	130	12
Zastavěné plochy	95	42	97	48
Ostatní plochy	225	108	656	208
Celková výměra (ha)	**1 737,33**	**947,50**	**4 532,00**	**2 593,00**



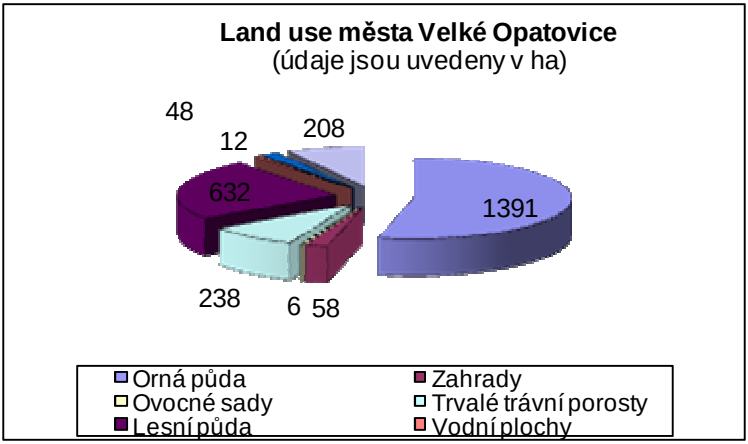
Graf 1 Land use města Kuřim (Zdroj: ČSÚ, vlastní úpravy)



Graf 2 Land use města Rajhrad (Zdroj: ČSÚ, vlastní úpravy)



Graf 3 Land use města Mikulov (Zdroj: ČSÚ, vlastní úpravy)



Graf 4 Land use města Velké Opatovice (Zdroj: ČSÚ, vlastní úpravy)

Všechny údaje popisující využití území (rozdělení pozemků) v katastrálních územích jsou k 31. 12. 2010.

Ochrana přírody

Obecně determinují ochranu přírody přírodní podmínky a přítomnost nebo absence přírodních prvků. Dále záleží na rozloze, využití území a jeho členitosti. Rovněž ji podmiňují historické a jiné, navenek se neprojevující, souvislosti.

Příspěvek se zaměřil na sledování těchto chráněných fenoménů: přírodní parky v rámci obecné ochrany přírody; zvláště chráněná území maloplošná a velkoplošná, území navržená a chráněná v ochranném režimu NATURA 2000 a prezence nebo absence památných stromů, ve studovaných katastrálních územích.

V k. ú města Kuřimi se nachází 3 maloplošně zvláště chráněná území (viz tabulka 3). Lokalita Zlobice je navržena na zařazení do celoevropské sítě chráněných ploch Natura 2000. Nenajdeme zde žádné památné stromy.

Tab. 3 Maloplošně chráněná území v k. ú. města Kuřim (Zdroj: Strategický plán rozvoje města Kuřimi (2006) a Seznam chráněných území na stránkách ATUR ČR (Asociace turistických regionů České republiky)

Zvláště chráněné území	Katastrální území	Rozloha (ha)
Přírodní památka Zlobice	Malhostovice, Kuřim	53,00
Přírodní památka Šiberná	Kuřim	16,40
Přírodní rezervace Holé vrchy	Kuřim, Lelekovice	11,82

V k. ú. Rajhrad se nenachází žádné zvláště chráněné území, žádný přírodní park, ani žádné „naturové“ území. Nejbližší chráněné území leží v k. ú. obce Syrovice, sousedící západně s Rajhradem. Jedná se o evropsky významnou lokalitu s názvem Bezourek. Nacházejí se zde 4 památné stromy: dub letní (1) a topol bílý (3). Stromy rostou na území významného krajinného prvku Rajhradská bažantnice (Mackovčin, 2007).

Mikulov se nachází v přírodním parku Novohradské hory. 81 % území k. ú. města se nachází v CHKO Pálava. V Mikulově najdeme 6 maloplošných zvláště chráněných území, které uvádí podrobněji tabulka 4. V rámci soustavy NATURA 2000 byla v k. ú. města vyhlášená evropsky významná lokalita Horní Malše a ptačí oblast Novohradské hory. Dále je zde významná také Biosférické rezervace programu Man and Biosphere s názvem Dolní Morava.

Tab. 4 Maloplošně chráněná území v Mikulově (Zdroj: Mapový server AOPK a Seznam chráněných území na stránkách ATUR ČR (Asociace turistických regionů České republiky)

Zvláště chráněné území	Katastrální území	Rozloha (ha, a)
Přírodní rezervace Turold	Mikulov	42,50 a
Přírodní rezervace Svatý kopeček	Mikulov	37,23 ha
Přírodní rezervace Šibeničník	Mikulov	37,10 ha
Přírodní památka Růžový kopec	Mikulov	4, 03 ha
Přírodní památka Kienberk	Mikulov	6, 39 ha
Přírodní památka Úval Dolní Příbrání	Mikulov, Dolní Přibrání	29,00 ha

V k. ú. Velké Opatovice se nenachází žádné zvláště chráněné území, žádný přírodní park, ani žádné „naturové“ území. Nachází se tady jeden památný strom, a to Lípa velkolistá v zámeckém parku (Mackovčin, 2007).

Nezaměstnanost a pracovní příležitosti

Míra nezaměstnanosti se výrazně liší v oblastech metropolitního a periferního venkova. Zatímco v malých městech periferních oblastí se tato hodnota pohybuje podle nejnovějších údajů ze srpna roku 2011 kolem 10%, v malých městech periférie je to pouze kolem 7%. Hlavním důvodem je především vzdálenost vybraných lokalit od hlavního centra Jihomoravského kraje - Brna, které poskytuje pracovní místa značné části obyvatel celého regionu. Pro mnohé práceschopné obyvatelé periferního venkova je tako dojezdová vzdálenost příliš náročná, jak z důvodů časových podmínek, tak i z hlediska financí (vyšší náklady na dopravu) a zhoršené dopravy (nevyhovující jízdná řády, nedostačující frekvence spojů).

Tab. 5 Nezaměstnanost ve vybraných městech v srpnu 2011 (Zdroj: portal.mpsv.cz)

Název města	Míra zaměstnanosti (%)	Volná místa
Rajhrad	7,2	8
Kuřim	7,9	49
Velké Opatovice	10,4	7
Mikulov	11,5	15

Občanská vybavenost

Pod pojem občanská vybavenost spadají budovy, které primárně slouží k prospěchu společnosti. Stavby občanské vybavenosti lze rozdělit dle jejich využití na:

- stavby pro výchovu a vzdělání - školy, školky, jídelny
- stavby cestovního ruchu a veřejného stravování - penziony, hotely, ubytovny, restaurace
- stavby pro obchod a služby - obchodní centra, prodejny, salony, logistická centra
- sportovní a tělovýchovné stavby - tělocvičny, herny, sportovní střediska
- administrativní stavby - pro státní správu, výrobní i nevýrobní společnosti
- zdravotnické stavby - lékárny, ordinace, zdravotní střediska, zdravotní centra
- stavby s kulturním využitím - divadla, kina, společenská centra.

Při plánování a výstavbě je snaha o co nejmenší šířky štítů a o maximální začlenění stavby, nebo souborům staveb, jejich implementace do okolního prostředí. Samozřejmě se bere v potaz i hledisko ekonomické stavby. Návrhy staveb musí být doplněny o návrhy ozelenění a terénních úprav (www.obcanske-stavby.cz).

Všechny sledované malé města mají veškerou občanskou vybavenost, poskytující svým obyvatelům i obyvatelům okolních sídelních útvarů maximální potřebné služby. Ze základní technické vybavenosti se zde nachází pošta, veřejný vodovod, kanalizace s napojením na ČOV, plynofikace, policie, byty. Občanskou vybavenost zde tvoří mateřská škola, základní škola, základní umělecká škola, knihovna, galerie, dům dětí a mládeže, hřbitov, hotely, koupaliště, krytý bazén, hřiště, tělocvičny, ordinace praktických lékařů a lékárny (www.risy.cz). Kromě této výše popsané, základní občanské vybavenosti poskytují vybraná města také další služby, které se už nenacházejí všude. Ve městě Rajhrad je navíc zbudovaná střední zahradnická škola a odborné učiliště, Dům léčby bolesti s hospicem sv. Josefa, TJ Sokol, zámek, záchranná stanice pro dravé ptáky. V Kuřimi najdeme ambulantní zařízení, krytý bazén, venkovní koupaliště, penzion pro důchodce, věznici, Společenské centrum, galerii, SOŠ a SOU Kuřim, s. r. o., nafukovací sportovní halou, fotbalový stadion, tenisové kurty, saunu, fitness centrum se soláriem a lezeckou stěnu. Město Mikulov má také kino, letní kino, muzeum, zámek, galerii, smuteční síň, státní okresní archiv, městské koupaliště, tenisové krty, denní stacionář, záchrannou službu, domy s pečovatelskou službou. Ve Velkých Opatovicích bylo vybudováno také kino, letní kino, střední umělecko-průmyslová a technická škola, terénní pečovatelská služba a organizace Paprsek (poskytuje komplexní péči mentálně postiženým mužům), Moravské kartografické centrum a galerie (www.mistopisy.cz).

Dopravní spojení

Pro srovnání malých měst jihomoravské periferie a metropolitního regionu Brno je nejdůležitějším parametrem velikost města a také vzdálenost od krajského města Brna. Z hlediska porovnání periferních malých měst je nejpodstatnější poloha v regionu. Velké Opatovice jsou, díky své poloze na nejvzdálenějším severu kraje, nejhůře dostupným porovnávaným městem, naopak Mikulov, který leží na hranici s Rakouskem, je významným dopravním uzlem z celoevropského hlediska. Města metropolitního regionu mají díky své nevelké vzdálenosti od Brna výborné dopravní spojení, a to jak vlaky a autobusy, tak automobily. Celý Jihomoravský kraj je dobře propojený sítí Integrovaného dopravního systému Jihomoravského kraje (IDS JMK), který zajišťuje autobusovou i vlakovou přepravu a jejich vzájemnou návaznost v přestupních uzlech.

Ve všech sledovaných městech se nachází vlaková stanice, pouze pokud jedeme z Brna do Velkých Opatovic, musíme jednou přestoupit (ve Skalici nad Svitavou), do ostatních měst jede z Brna přímý vlak. Na území Mikulova se nachází železniční stanice Mikulov na Moravě, ležící v km 106,871 jednokolejné železniční trati Břeclav - Znojmo (Mackerle, 2001). Vlakové spojení ve Velkých Opatovicích zajišťuje trať Skalice nad Svitavou - Chornice (www.velkeopatovice.cz). V Kuřimi zastavuje několik rychlíků Brno hl.n. - Havlíčkův Brod - Praha hl.n., které jsou v úseku Brno hl.n. - Kuřim - Tišnov začleněny do IDS JMK jako linka R 3 (www.kurim.cz). V Rajhradu se nachází železniční koridor tratě č. 250 Brno - Břeclav (Komrska, 1997).

Katastrálním územím Mikulova procházejí silnice: I/52 Brno - Pohořelice - Mikulov - st. Hranice, I/40 Mikulov - Poštorná, II/414 Lechovice - Mikulov, II/421 Terezín - V.Pavlovice - Mikulov, III/0522 Mikulov - okružní, III/0524 Mikulov - příjezdná, III/0525 Mikulov - st. Hranice, III/42120 Mikulov - Klentnice - Pavlov, III/42124 Mikulov - Lednice (Mackerle, 2001). Ve Velkých Opatovicích je silniční doprava vedena odbočkou ze státní silnice Brno - Svitavy v Letovicích, Žďár n. Sázavou - Prostějov v Boskovicích a Olomouc - Hradec Králové v Moravské Třebové (www.velkeopatovice.cz). Katastrálním územím města Kuřim prochází důležitá silnice I/43 Brno - Svitavy (www.kurim.cz). Tato dopravní komunikací má evropský význam. Spojuje totiž Vídeň, Bratislavu a Brno s Wroclaví, Dolním Slezskem a východními Čechami a je součástí sítě transevropských komunikací (E 461)(Daněk, 2006). Na význam dopravní polohy Kuřimi ukazuje i připravovaná výstavba rychlostní komunikace R43 v blízkosti města poměrů. Z celostátního hlediska silniční sítě je Kuřim napojena na připravovanou realizaci trasy rychlostní silnice R 43, která probíhá západně od města a sleduje zhruba trasu tzv. "německé dálnice". Propojí dnešní dálnici D1 přes Bystrc do prostoru Boskovice a poté se napojí na rychlostní silnici R 35 (D 35) (Zemánek, 1998).

Fotodokumentace

Obr. 2 Velké Opatovice (Zdroj: Kniezková)

Obr. 3 Mikulov (Zdroj: Kniezková)

Obr. 4 Kuřim (Zdroj: Pákozdiová)

Obr. 5 Rajhrad (Zdroj: Pákozdiová)

ZÁVĚR

Hlavní snahou v rámci celého projektu a pro účely tohoto příspěvku bylo analyzovat rozdíly a podobnosti mezi malými městy v periferním a metropolitním typu venkova Jihomoravského kraje a jejich srovnání. Bylo vybráno těchto pět parametrů: využití území, přírodní podmínky, nezaměstnanost a pracovní příležitost, občanská vybavenost a dopravní spojení, podle kterých byly tato města srovnávány. Parametry byly zvoleny tak, aby výsledná zjištění co nejlépe charakterizovaly buď rozdílnost, nebo podobnost vybraných území.

Pro srovnání malých měst jihomoravské periferie a metropolitního regionu Brno je nejdůležitějším parametrem velikost města a také vzdálenost od krajského města Brna. Z hlediska porovnání periferních malých měst je nejpodstatnější poloha v regionu. Přesto, že Mikulov i Velké Opatovice spadají do periferního venkova, jsou mezi nimi značné rozdíly, které jsou dány především jejich polohou v regionu, zatímco Mikulov je hraniční město, nacházející se na důležité dopravní tepně, Velké Opatovice leží v nejzapadlejší, severní, málo frekventované části kraje, sousedící s krajem Vysočina. Rozdíly mezi vybranými zástupci metropolitního venkova jsou zanedbatelné, přestože jedno město leží na severu a druhé na jihu. Co se týče využití půdy, tak ve všech čtyřech zvolených

městech shodně výrazně převažuje orná půda. Z hlediska ochrany přírody, nebyly nalezeny výrazné rozdíly, ve městě Rajhrad a Velké Opatovice se nenachází žádné ochranné režimy, přičemž se jedná o zástupce obou typů venkova. Míra nezaměstnanosti se výrazně liší v oblastech metropolitního a periferního venkova. Zatímco v malých městech periferních oblastí se tato hodnota pohybuje podle nejnovějších údajů ze srpna roku 2011 kolem 10%, v malých městech periférie je to pouze kolem 7%. Hlavním důvodem je především vzdálenost vybraných lokalit od hlavního centra Jihomoravského kraje - Brna, které poskytuje pracovní místa značné části obyvatel celého regionu. Všechny sledované malé města mají veškerou občanskou vybavenost, poskytující svým obyvatelům i obyvatelům okolních sídelních útvarů maximální potřebné služby, liší se pouze další, nadstandardní občanskou vybaveností, jako je přítomnost kina, letního kina, galerie, zámku, krytého bazénu, koupaliště, střední školy apod. Celý Jihomoravský kraj je dobře propojený sítí Integrovaného dopravního systému Jihomoravského kraje (IDS JMK), který zajišťuje autobusovou i vlakovou přepravu a jejich vzájemnou návaznost v přestupních uzlech. Ve všech sledovaných městech se nachází vlaková stanice, pouze pokud jedeme z Brna do Velkých Opatovic, musíme jednou přestoupit (ve Skalici nad Svitavou), do ostatních měst jede z Brna přímý vlak. Velké Opatovice jsou, díky své poloze na nejvzdálenějším severu kraje, nejhůře dostupným porovnávaným městem, naopak Mikulov, který leží na hranici s Rakouskem, je významným dopravním uzlem z celoevropského hlediska. Města metropolitního regionu mají díky své nevelké vzdálenosti od Brna výborné dopravní spojení, a to jak vlaky a autobusy, tak automobily.

Je třeba konstatovat, že z porovnání vzorku pouze dvou malých měst jako reprezentantů vybraných typů venkova Jihomoravského kraje však nelze formulovat obecně platné závěry, které by platily pro určitý typ venkova. Pro formulaci obecně platných závěrů o podobnostech a odlišnostech ve využití území malých měst sledovaných typů venkova by bylo vhodné uskutečnit navazující analýzu dalších malých měst jednotlivých typů venkova, nejlépe srovnání souboru všech malých měst metropolitního a periferního typu venkova.

LITERATURA

AOPK (Agentura ochrany přírody a krajiny ČR). Www.mapy.nature.cz [online]. 2008 [cit. 2011-08-06]. Ochrana přírody. Dostupné z WWW: http://mapy.nature.cz/mapinspire/MapWin.aspx?M_WizID=8&M_Site=aopk&M_Lang=cs>.

ATUR CR (Asociace turistických regionů České republiky) - Součást prezentačního a rezervačního systému Doménová koule. Www.tourism.cz [online]. 1998-2011 [cit. 2011-10-05]. Turistické regiony ČR. Dostupné z WWW: <http://tourism.cz/encyklopedie/seznam.phtml?typ=142&menu=&nazev=&popis=&fulltext=&kraj=&okres=&id_obce=&id_obce_2=&id_obce_3=&id_ulice=&id_nuts_2=&id_m_obvodu=&id_m_casti=&id_t_oblasti=&id_uzemi=&id_t_regionu=&od=100&limit=50&lng=&order_by=&user=24&session=58348551>.

Český statistický úřad Brno [online]. 2007 [cit. 2011-08-03]. Statistický průvodce obcemi Jihomoravského kraje 2007. Dostupné z WWW: <http://www.czso.cz/xb/edicniplan.nsf/p/13-6210-07>.

DANĚK, P. Strategický plán rozvoje města Kuřimi. [online]. Kuřim: Město Kuřim, 2006 [cit. 2011-06-01]. Dostupné z WWW: <http://www.kurim.cz/cs/obcan/rozvoj-mesta/strategicky-plan-rozvoje-mesta.html>.

http://vdb.czso.cz/ [online]. období: 31.12.2010 [cit. 2011-06-08]. Veřejná databáze ČSÚ - Vybrané statistické údaje za obec - Kuřim. Dostupné z WWW: <http://vdb.czso.cz/vdbvo/tabdetail.jsp?kapitola_id=5&pro_1_154=583758&cislotab=MOS+ZV01>.

http://vdb.czso.cz/ [online]. období: 31.12.2010 [cit. 2011-06-08]. Veřejná databáze ČSÚ - Vybrané statistické údaje za obec - Rajhrad. Dostupné z WWW: <http://vdb.czso.cz/vdbvo/tabdetail.jsp?kapitola_id=5&pro_1_154=583758&cislotab=MOS+ZV01>.

Intergovaný portál MPSV : zaměstnanost [online]. Praha : Generální ředitelství Úřadu práce ČR, 2011 [cit. 2011-10-03]. Nezaměstnanost v obcích a mikroregionech. Dostupné z WWW: <http://portal.mpsv.cz/sz/stat/nz/uzem?stat=2000000000053&obdobi=H&rok=2011&uzemi=103000&send=send&_piref37_240429_37_240428_240428.pohled=1&_piref37_240429_37_240428_240428.xslselect=poc_ekon_akt&_piref37_240429_37_240428_240428.xslorder=1&_piref37_240429_37_240428_240428.usr1=0>.

KOMRSKA, L. Koncepce veřejné infrastruktury, včetně podmínek pro její umísťování : Doprava. In Změna č. 2 územního plánu sídelního útvaru Rajhrad [online]. Židlochovice : Městský úřad Židlochovice, 1997 [cit. 2011-10-03]. Dostupné z WWW: <http://www.zidlochovice.cz/mestsky-urad/odbory-mestskeho-uradu/odbor-uzemniho-planovani-a-stavebni-urad/uzemni-plany-obci-orp-zidlochovice/200-mesto-rajhrad?phpMyAdmin=beff70ba8988e9ee9d806f1dbb625cb5>.

MACKERLE, P., et al. Mikulov - územní plán města. In Územně analytické podklady ORP Mikulov [online]. Brno : Urbanistické středisko Brno, 2001 [cit. 2011-07-28]. Dostupné z WWW: <http://www.mikulov.cz/mesto-mikulov/samosprava-mesta/koncepcni-a-rozvojove-materialy/detail/?contentId=88936>.

Město Kuřim : Doprava [online]. Kuřim : 2010 [cit. 2011-09-27]. Dostupné z WWW: <http://www.kurim.cz/cs/obcan/doprava/>.

Mikulov-město s vůní jihu [online]. Mikulov : 2008 [cit. 2011-05-27]. Dostupné z WWW: <http://www.mikulov.cz/mesto-mikulov/>.

MACKOVČIN, P., et al. Brněnsko: IX. svazek Edice Chráněná území ČR. Praha: Agentura ochrany přírody a krajiny ČR a EkoCentrum Brno, 2007. 932 s.

Místopisný průvodce po ČR : Součastnost obce a občanská vybavenost [online]. Rožnov pod Radhošťem : PROXIMA Bohemia s.r.o., 2009 [cit. 2011-10-04]. Dostupné z WWW: <http://www.mistopisy.cz/>.

Občanské stavby : Stavby občanské vybavenosti [online]. Plzeň : 2010 [cit. 2011-10-04]. Dostupné z WWW: <http://www.obcanske-stavby.cz/>.

Regionální informační servis - RIS : Krajské RIS [online]. Praha : 2011 [cit. 2011-10-04]. Dostupné z WWW: <http://www.risy.cz/cs/krajske-ris/jihomoravsky-kraj>.

Turistika [online]. 2007 [cit. 2011-08-01]. Velké Opatovice. Dostupné z WWW: <http://www.turistika.cz/mista/velke-opatovice#tabs>.

VAISHAR, A., et al. - Geografie malých měst a jejich úloha v systému osídlení. Brno: Ústav geoniky AV ČR, v. v. i, 2008. 107 s.

Velké Opatovice [online]. 2011 [cit. 2011-08-01]. Úvod. Dostupné z WWW: <http://www.velkeopatovice.cz/>.

ZEMÁNEK, V., et al. Územní plán SÚ Kuřim - návrh : Průvodní. In [online]. Brno : Studio Z, 1998 [cit. 2011-09-27]. Dostupné z WWW: http://www.kurim.cz/cs/obcan/rozvoj-mesta/uzemni-planovani.html.

STRATEGIC PLANNING IN THE MINING MICROREGION SOKOLOV - EAST

Lipovská Z.

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

The decline or the finish of mining means a very problematic period for mining regions as their economic base is significantly disrupted. While the negative impacts of mining remain or even arise both in environmental and socioeconomic sphere, positive aspects are usually not visible. Such positive aspects can be found in post-mining resources which are represented e.g. by extensive infrastructure, vast free spaces which remained after extraction, mining heritage etc. The main aim of key actors of post-mining regions is to come up with the ideas which would utilize such resources.

The paper tries to outline possibilities for regional development which could minimize negative aftermath of the end of mining on the example of the Sokolov-East Microregion in the Czech Republic. SWOT analysis, TOWS matrix and workshop with key actors of the Microeregion were used as tools for strategic planning.

Key words: strategic planning, mining region, post-mining potentials

Acknowledgement: This paper was written within the ReSOURCE project. This project is implemented through the CENTRAL EUROPE Programme co-financed by ERDF. Opinions expressed in this publication are in the sole responsibility of the author; the programme bodies are not liable for any use that may be made of the information contained.

ÚVOD

Těžba představovala základ rozvoje industriálních společností po celém světě (Conlin, Jolliffe, 2011). Mnoho evropských hornických regionů dnes trpí útlumem těžby nebo jejím úplným ukončením. Lintz a Wirth (2009) uvádí, že v roce 2006 v Evropě existovalo celkem 226 hornických regionů a z toho 54% jich bylo v tomto roce stále aktivních. Období po ukončení těžby představuje ve vývoji hornických regionů období velmi problematické – na jedné straně jsou již vyčerpané zdroje a na druhé straně vyvstává celá řada nových problémů.

Problémy spojené s těžbou a jejím poklesem mohou být v zásadě rozděleny do dvou základních kategorií: environmentální a socioekonomické. Co se týče první kategorie, povrchová těžba ovlivňuje všechny složky krajiny. Značné jsou zejména vlivy na biodiverzitu, kvalitu vody a využití krajiny. Dá se říci, že těžba je jednou z antropogenních aktivit nejzávažněji narušujících stav přírody a krajiny (Ibarra, Heras, 2005). Sklenička a Lhota (2002) označují tento proces jako ztrátu paměti krajiny. Narušen přitom není pouze probíhající vývoj krajiny, ale navíc jsou odstraněny všechny původní ekosystémy a výrazně změněna je i původní topografie. Povrchová těžba tak vyúsťuje v totální ekologickou destabilizaci, v zánik estetických hodnot a rekreačního potenciálu krajiny (Sklenička et al., 2004). Navíc je tento proces doprovázen nemalými změnami v sídelní struktuře (viz např. Bulmer, 1975).

Rekultivace krajiny je dnes více než kdykoliv předtím považována za základní prostředek ochrany životního prostředí (např. Dias, Panagopoulos, Loures, 2008) a těžební společnosti jsou povinny vytvářet finanční rezervy pro budoucí rekultivaci území poškozených těžbou. Kromě lesnických a zemědělských rekultivací jsou v současnosti uplatňovány nové formy rekultivací. V rámci středoevropského prostoru jsou dnes populární zejména vodní rekultivace (např. Lužice v Německu, území mezi městy Władysławów, Kozmin a Adamów v Polsku, Mostecko v České republice). Hydrický způsob rekultivace je považován za všeobecně prospěšný nejen z environmentálního úhlu pohledu, ale i z hlediska perspektivy budoucího využití území pro turismus a rekreaci. Oproti tomu někteří výzkumníci (např. Brzóska et al., 2002) upozorňují na související problémy, jako je nedostatek vody pro zatápění dolů a zejména budoucí kvalita vody v nádržích.

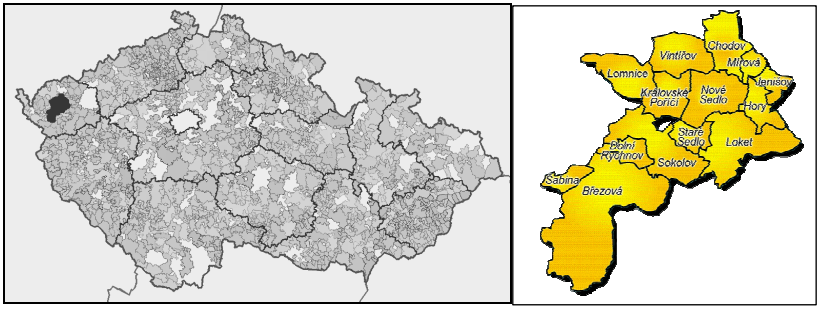
Co se týče socioekonomického úhlu pohledu, těžba je obvykle spojena s ekonomickou monostrukturou, a pokles těžby má tak za následek krizi celé regionální ekonomické základny. To vede k vysoké míře nezaměstnanosti se všemi souvisejícími sociálními problémy, které nakonec mohou vyústit až ve vlnu emigrace (Wirth, Lintz, 2006).

Útlum nebo úplné ukončení těžby znamená všeobecný útlum rozvoje hornického regionu. Pro zabránění nepříznivých důsledků tohoto vývoje je potřeba přijít s inovativními strategiemi pro rozvoj regionu. Největší výzvu tak představuje přesvědčit místní, regionální i národní aktéry, že skomírající průmysl může skrývat zdroje, které se mohou stát základem pro nové strategie.

Jedním z projektů, který usiluje o prosazení myšlenky přeměny problémů post-hornických regionů v potenciály, je projekt ReSource, v jehož rámci vznikl tento příspěvek. Projekt ReSource usiluje o obnovu konkurenceschopnosti post-hornických oblastí a stimulaci jejich udržitelného rozvoje. Dále nabízí optimální základnu pro mezinárodní výměnu a společný vývoj nových přístupů. Projekt zahrnuje deset partnerů z pěti zemí střední Evropy. Regionálními partnery jsou Ekonomický region Chemnitz-Zwickau, IBA Fürst-Pückler-Land a Centrum pro podnikání a technologie, region Mansfeld (Německo), Štýrská železná stezka (Rakousko), Mikroregion Sokolov-východ (Česká republika), město Salgotarjan (Maďarsko) a Regionalní centrum pro rozvoj Zagorje (Slovinsko). Vědeckými partnery jsou Leibnizův institut pro ekologický a regionální rozvoj (Německo), Univerzita Štýrský Hradec (Rakousko), Institut urbanizace Ljubljana (Slovinsko), Universita Eötvöse Loránda v Budapešti (Maďarsko) a Mendelova univerzita v Brně (Česká republika).

Jedním z cílů projektu ReSource je nalezení strategických variant pro post-hornické regiony, které by tvořily základnu pro strategické plánování na regionální úrovni. Z metod byly použity SWOT analýza (silné a slabé stránky, příležitosti a hrozby) a TOWS matice (vylepšení SWOT analýzy). Výsledky získané pomocí těchto metod pro mikroregion Sokolov-východ jsou shrnuty v tomto příspěvku.

PŘÍPADOVÉ ÚZEMÍ



Obr. 1 Pozice Mikroregionu Sokolov – východ v rámci ČR (mapy Copyright ©CRR ČR, T-MAP spol. s r.o., SHO CArt, spol s.r.o. 2009, zpracovala Zdeňka Lipovská) a mapa katastrálních území obcí Mikroregionu (zdroj www.sokolov-vychod.cz)

Svazek obcí Mikroregion Sokolov – východ (Obr. 1) je situován do západních Čech, konkrétně do Karlovarského kraje, okresu Sokolov a okrajově do okresu Karlovy Vary. Sestává ze 14 obcí, rozložených ve východní části sokolovského okresu, severovýchodně až východně od města Sokolova a v západní části karlovarského okresu, jihozápadně od města Karlovy Vary.

Mikroregion Sokolov-východ vznikl jako svazek obcí podle ustanovení § 49, zákona o obcích č. 128/2000 Sb. Spojovacím prvkem vytvořeného mikroregionu je snaha o společný postup, partnerství a soudržnost při prosazování společných zájmů a řešení problematiky obcí v těsné blízkosti povrchových dolů. Obce spojené ve svazku jsou zasaženy aktivní dolovou činností, která bude poblíž některých obcí pokračovat přibližně do roku 2030. Dalším charakteristickým znakem mikroregionu se stala protékající řeka Ohře, která tvoří přirozený spojovací článek mezi některými obcemi. Členy jsou města Březová, Chodov, Loket, Nové Sedlo a Sokolov a vesnice Dolní Rychnov, Hory, Jenišov, Královské Poříčí, Lomnice, Mírová, Vintířov, Staré Sedlo a Šabina.

MATERIÁL A METODIKA

Použitá metodika vychází z metodiky projektu ReSource (balíčky 3 a 5; vice viz http://www.resource-ce.eu/en/project-results/scientific-support/). SWOT analýza (anglická zkratka pro slova silné stránky - strengths, slabé stránky - weaknesses, příležitosti - opportunities a hrozby - threats) byla použita pro definování vnějších a vnitřních faktorů mikroregionu a následně byla použita TOWS matice (zkratka týchž slov) k identifikaci strategických variant. Výsledky obou fází byly pak diskutovány s klíčovými aktéry mikroregionu Sokolov - východ a místní akční skupiny Sokolovsko (dále MAS Sokolovsko).

SWOT analýza má původ v podnikovém managementu a pomáhá organizovat a zdůraznit základní problémy subjektu ve vztahu k jeho prostředí (Foutakis, Thoidou, 2007). Během 80. let si veřejná správa osvojila tento klasický model strategického plánování a upravila ho pro potřeby takových oblastí, jako jsou regionální rozvoj a územní plánování (např. Bryson, Roaring, 1987). Ačkoliv SWOT analýza pochází již ze 60. let 20. století, je stále považována za užitečný nástroj pro účely plánování (Helms, Nixon, 2010) a nadále se ve značné míře používá v regionálním plánování po celém světě (viz např. Terrados, Amonacid, Hontoria, 2007, Brink et al., 2008, Tan Li, Chun Yan Zhang, 2010, Brebbia, Beriatos, 2011).

SWOT analýza vychází se skutečnosti, že z interakce mezi subjektem a vnitřním a vnějším prostředím vyplývají čtyři situace: silné stránky, slabé stránky, příležitosti a hrozby. První dvě přitom souvisí s vnitřním a poslední dvě s vnějším prostředím subjektu (Foutakis, Thoidou, 2007).

V našem případě byla SWOT analýza zpracována na bázi dokumentů vztahujících se ke strategickému plánování mikroregionu, členských obcí, MAS Sokolovsko a širšího území (především Územní plán mikroregionu Sokolov - východ, Integrovaná rozvojová strategie mikroregionu Sokolov-východ, Strategický plán MAS Sokolovsko a Program rozvoje obce Královské Poříčí).

K identifikaci nejdůležitějších klíčových faktorů a ke zjednodušení následného procesu vývoje strategií bylo požádáno pět regionálních aktérů, aby zhodnotili jednotlivé faktory v závislosti na jejich důležitosti pro celý region (stupnice 0 - 3, přičemž 0 znamená žádný význam, 1 malý význam, 2 střední význam a 3 vysoký význam). V dalším kroku bylo pracováno pouze s faktory ohodnocenými hodnotou 2 nebo více. Regionální aktéři také mohli přidávat do SWOT analýzy nové faktory, pokud zhodnotili, že některé důležité chybí.

SWOT analýza dále sloužila jako základ pro přípravu párové matice (TOWS matice). TOWS matici zavedl v roce 1982 Weihrich (Weihrich, 1982 in Berndt, 2000) pro formulaci podnikových strategií. Představuje podpůrný prostředek pro hledání všech možných kombinací interních a externích faktorů SWOT analýzy. Čtyři různé párové matice představují čtyři různé typy strategií.

1. Matice silných stránek a příležitostí - “Maxi-Maxi" strategie, které využívají silné stránky k maximalizaci příležitostí.

2. Matice silných stránek a hrozeb - “Maxi-Mini” strategie, které využívají silné stránky k minimalizaci hrozeb.

3. Matice slabých stránek a příležitostí - “Mini-Maxi” strategie, které minimalizují slabé stránky využitím příležitostí.

4. Matice slabých stránek a hrozeb - “Mini-Mini” strategie, které minimalizují slabé stránky, aby předešly hrozbám.

Párové matice byly využity jako podklad při organizaci worshopu, kde byly diskutovány strategie a vize s klíčovými aktéry regionu (členové mikroregionu a MAS). Navíc tyto matice sloužily jako základ pro návrh nových strategií během diskuze.

Nakonec byly naležené strategie z jednotlivých matic uspořádány podle tématických celků. Vznikla tak finální TOWS matice (viz. Tab. 1), která shrnuje strategické směry nalezené během diskuze.

VÝSLEDKY A DISKUZE

SWOT analýza

Následující SWOT analýza shrnuje současné status quo mikroregionu Sokolov - východ v podobě silných a slabých stránek, příležitostí a hrozeb. Jednotlivé faktory jsou uspořádány podle skóre (uvedeno v závorkách), které obdržely v rámci hodnocení regionálními aktéry.

Silné stránky

Nově rekultivovaná území (2,6)

Jsou to zejména koupaliště Michal, jezero Medard, golfové hřiště Sokolov. Mikroregion se je snaží využít pro rozvoj turistiky.

Dobrá spolupráce mezi MAS LEADER+ a Mikroregionem Sokolov - východ (2,6)

Dobrá dostupnost a příznivá poloha (2,2)

Komunikace I/6 (budoucí dálnice D6 Praha – Bavorsko) tvoří osu mikroregionu. Centrum regionu Karlovy Vary je velmi blízko a mikroregion se nachází uvnitř lázeňského trojúhelníku (Karlovy Vary, Mariánské Lázně a Františkovy Lázně.

Existence přírodního dědictví (2,2)

Chráněná krajinná oblast Slavkovský les.

Existence tradičního průmyslu (sklářství, výroba porcelánu) (2,2)

Faktor času (2,0)

Těžba bude zřejmě probíhat přibližně do roku 2030. Je tedy dost času na návrh vhodných opatření.

Stabilní populace v rámci mikroregionu a příznivá demografická struktura (1,8)

Obr. 2 Jenišov – suburbanizace (foto Zdeňka Lipovská)

Mikroregion jako celek měl v období 2002 – 2009 mírný přírůstek obyvatel (278). Jen ve třech největších městech počet obyvatel v téže periodě poklesl. Nejvyšší přírůstek byl zjištěn v obcích Jenišov (viz Obr. 2) (110% v období 2002 - 2009), Mírová (22%) a Hory (15%). Tento trend je způsobem především suburbanizací Karlových Varů.

S výjimkou Březové je průměrný věk obyvatel v jednotlivých obcích mikroregionu nižší, než je celostátní průměr.

Existence kulturního dědictví (1,8) (historické město Loket)

Potenciál pro využití obnovitelných zdrojů energie (pěstování biomasy na výsypkách, využití geotermální energie z důlních vod) (1,4)

Tyto potenciály zatím nebyly využity, ale v současnosti je zpracovávána studie zaměřená na možné využití geotermální energie (spolupráce s regionem Mansfeld-Südharz).

Projekty podporující tradiční řemesla a kulturní vyžití (1,2)

Rekonstrukce statku Bernard a jeho přeměna v centrum tradičních řemesel představuje příklad úspěšné revitalizace tradičních řemesel.

Slabé stránky

Nepříznivá sociální a vzdělanostní struktura (3,0)

Těžiště kvalifikace obyvatel mikroregionu[1] spočívá v osobách vyučených (včetně středních odborných škol bez maturity) a v osobách se základním vzděláním (včetně nedokončeného). Mírně nadprůměrný je i podíl osob bez vzdělání. Naproti tomu podíl osob s úplným středním, vyšším a vysokoškolským vzděláním je z hlediska celorepublikové situace podprůměrný

Vysoká závislost zaměstnanosti na největším zaměstnavateli Sokolovské uhelné a.s. (3,0)

Jediná těžařská společnost na Sokolovsku, Sokolovská uhelná a.s. (dále jen SUAS), má kolem 4500 zaměstnanců a zhruba 6000 pracovních míst je odhadováno v navazujících odvětvích.

Nedostatečná spolupráce mezi SUAS a mikroregionem (2,8)

Neochota spolupracovat ze strany těžařské společnosti.

Strukturální změny v ekonomice provázené nezaměstnaností (2,6)

Míra nezaměstnanosti v okrese Sokolov je vysoce nad celonárodním průměrem. To je spojeno zejména s útlumem těžby. V souvislosti s útlumem těžby množství lidí ztratilo zaměstnání a kvůli nedostatečné kvalifikaci je pro ně obtížné sehnat práci v jiných odvětvích.

Špatná image regionu zejména v souvislosti se životním prostředím (2,6)

Těžba hnědého uhlí a navazující průmysl mají velmi negativní vliv na všechny složky životního prostředí (znečištění, „měsíční krajina“). Sokolovsko je známo jako jeden z nejvíce zničených regionů České republiky.

Důsledky poválečné výměny obyvatel (2,2)

Většina původních obyvatel regionu byla po 2. světové válce odsunuta. Počet nuceně odsunutých Němců jen v samotném Sokolově se odhaduje na 8 000. Na jejich místa nastoupili v naprosté většině Češi z celého tehdejšího Československa. V padesátých a šedesátých letech přišlo do regionu mnoho lidí za prací související s těžbou uhlí. Tento vývoj způsobil nedostatečnou sepjatost nově příchozích s regionem.

Příležitosti

Využití rekultivovaných oblastí pro turistiku (2,8)

Největší potenciál v této oblasti mají jezero Medard a golfové hřiště Sokolov.

[1] Sčítání lidí, domů a bytů 2001, Český statistický úřad Praha

Spolupráce s Bavorskem a Saskem (2,6)

Velký potenciál mají zejména společné projekty týkající se rozvoje cestovního ruchu, inovací, vzdělávání atd.

Politická podpora obnovitelných zdrojů energie (pěstování biomasy, geotermální energie…) (2,2)

V rámci České republiky bylo zpracováno několik studií zkoumajících využití geotermální energie z důlních vod (např. v rámci projektů Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy Možnosti využití geotermální energie důlních vod z uhelných dolů České republiky, Grantové agentury ČR Výzkum surovinově-energetického využití potenciálu důlních vod zatopených uranových dolů a projektu Ministerstva průmyslu a obchodu Využití geotermální energie hlubinných dolů v souladu s trendy udržitelného rozvoje). Také Mikroregion Sokolov - východ plánuje zpracovat studii zaměřenou na využití geotermální energie (ve spolupráci s německým regionem Mansfeld-Südharz) v rámci projektu ReSource.

Všeobecně se také předpokládá rozvoj pěstování biomasy pro energetické účely, neboť Česká republika se zavázala k tomu, že 8% spotřebované energie do roku 2010 a 13% do roku 2020 bude pocházet z obnovitelných zdrojů.

První pilotní projekt pěstování biomasy na výsypkách (Projekt Bioindikace a revitalizace toxických antropogenních substrátů a vodních zdrojů: využití sinic, řas, půdních bakterií a symbiotických hub Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR) byl uskutečněn na Mostecku poblíž Chomutova. Pěstování biomasy má poměrně velký potenciál. Budoucí vývoj však bude záležet především na národní energetické koncepci a na objemu dotací pro pěstování biomasy pro energetické účely.

Lepší využití fondů EU (2,0)

Podpora malých a středních místních podnikatelů (2,0)

Vyšší zájem o bydlení na venkově (1,2)

Hrozby

Odchod kvalifikovaných pracovníků z regionu (3,0)

Rostoucí nezaměstnanost a s ní spojené vylidňování regionu (2,8)

Všeobecný trend stárnutí populace (2,4)

Nalezené strategické alternativy

Tab. 1 Final TOWS matrix (authors Z. Lipovská, A. Vaishar)

		Externí faktory	
		Příležitosti	Hrozby
Interní faktory	Silné stránky	**Turismus** důlní zakladač jako rozhledna turistické stezky skanzen hornictví **Energetika** vodní elektrárna biomasa, fotovoltaika, tepelná čerpadla **Průmysl** průmyslové zóny – chemický, dřevozpracující, sklářský a keramický průmysl Technologické centrum regionu **Výzkum, vývoj** ve strojírenství, rekultivacích, turistice *"Maxi-Maxi"*	**Rekultivovaná území** zlepšení stavu životního prostředí vyšší standard bydlení **Průmysl** průmyslové zóny – chemický, dřevozpracující, sklářský a keramický průmysl Technologické centrum regionu **Odpady** centrum zpracování odpadů spalování odpadů v elektrárně Vřesová **Senioři** služby pro seniory *"Maxi-Mini"*
	Slabé stránky	**Struktura zaměstnanosti** přeměna struktury zaměstnanosti – služby, průmyslové zóny, zpracování odpadů **Vzdělání, rekvalifikace** střední školy (obnovitelné zdroje energie, rekultivace, záchranné služby), rekvalifikace, univerzitní fakulta Regionální multifunkční centrum integrovaných záchranných složek **Vodní plochy** zásobárna vody protipovodňová ochrana **Energetika** vodní elektrárna biomasa, fotovoltaika, tepelná čerpadla **Turismus** propagace regionu jako turistické oblasti *"Mini-Maxi"*	**Struktura zaměstnanosti** přeměna struktury zaměstnanosti – služby, průmyslové zóny, zpracování odpadů **Vzdělání, rekvalifikace** střední školy (obnovitelné zdroje energie, rekultivace, záchranné služby), rekvalifikace, univerzitní fakulta Regionální multifunkční centrum integrovaných záchranných složek **Služby pro obyvatele** Sportovní vybavení **Senioři** služby pro seniory *"Mini-Mini"*

Finální TOWS matice (Tab. 1) znázorňuje obecné strategické směry navržené v průběhu procesu strategického plánování. Tyto strategické směry byly pojmenovány co nejjednoduššími názvy a jednotlivé alternativy, které spadají pod tyto směry, jsou detailněji popsány níže. Jak je patrné z matice, některé alternativy se vyskytují v několika kvadrantech a jsou tedy multifunkční.

Jako typický hornický region je Sokolovsko plně závislé na jediném sektoru, kterým je těžba. Proto je velmi důležité diverzifikovat regionální ekonomiku do různorodých sektorů.

Průmysl

Ačkoliv se předpokládá, že většina pracovních míst bude alokována do sektoru služeb, průmysl by měl i nadále zůstat důležitým sektorem regionu. Hlavní výzvou pro místní a regionální aktéry je diverzifikovat ekonomiku a přetvořit ji směrem k produktům s vyšším podílem přidané hodnoty. Pro zajištění podpory místního průmyslu je plánována výstavba průmyslových zón. Jejími iniciátory jsou především SUAS a obce mikroregionu. Jedna průmyslová zóna (u Nového Sedla) je již ve výstavbě. Problémem však zůstává, že stále chybí přesná vize specializace těchto zón. Jako nejlepší varianta se jeví zaměření na tradiční průmyslová odvětví regionu: chemický, keramický a dřevozpracující průmysl.

Představitelé mikroregionu prosazují vybudování Regionálního technologického centra poblíž Sokolova. Toto centrum by sloužilo jako základna pro průmyslovou výrobu regionu a jednu část centra by mělo tvořit pracoviště pro aplikovaný výzkum zaměřený na obory aplikovatelné v regionu (např. rekultivace, strojírenství).

Vodní plochy

Mnoho vizí a strategií regionu je vázáno na vznik nových jezer, která mají být vytvořena prostřednictvím hydrických rekultivací. Jedno rozsáhlé jezero (Medard, téměř 500 ha) již takto vzniklo a předpokládá se zatopení i zbývajících dvou dolů Jiří a Družba. Tyto vodní plochy by byly využívání pro účely zásobování vodou a protipovodňovou ochranu regionu.

Energie

Vodní plochy mohou být využity také pro energetické účely a to prostřednictvím přečerpávací vodní elektrárny a tepelných čerpadel. Sokolovsko by tak mohlo zachovat svou tradici energetického regionu a přitom jít cestou udržitelného rozvoje při využití obnovitelných zdrojů energie.

Jak již bylo zmíněno výše, perspektivu může skýtat především pěstování biomasy na výsypkách. A to jednak proto, že tento energetický zdroj je považován za zdroj s největším potenciálem z obnovitelných zdrojů v českých podmínkách, tak i z důvodu, že půda na výsypkách většinou nemůže být využita k produkci potravin. V rámci České republiky byly již uskutečněny určité výzkumy zaměřené na pěstování biomasy na výsypkách v Mosteckém regionu a to s poměrně velkým úspěchem (nař. Usťak, Mikanová 2008).

Další možností je využití fotovoltaik, avšak ta nemají na Sokolovsku v důsledku nedostatku solárního záření větší potenciál.

Odpadové hospodářství

Další příležitostí pro rozvoj regionu může představovat odpadové hospodářství. Strategie zaměřené na tuto oblast jsou založeny na stále se zpřísňujících podmínkách pro nakládání s odpady.

Jádro této alternativy spočívá ve vybudování komplexního střediska zpracování odpadů (zahrnovalo by třídění odpadů, jejich zpracování, recyklaci a dále napojení doplňkových technologií pro nové produkty z recyklovaných surovin). Netříditelná složka by pak byla zpracována v elektrárně Vřesová (viz Obr. 3). Tuto elektrárnu vlastní těžební společnosti SUAS, která plánuje její postupnou přeměnu, kdy místo hnědého uhlí má být hlavním zdrojem energie odpad.

Obr. 3 Elektrárna Vřesová (foto Zdeňka Lipovská)

Turismus

Jedna ze strategií mikroregionu se zaměřuje na rozvoj turismu. Ačkoliv tento sektor regionální ekonomiky nemá potenciál stát se tím nejzásadnějším, může alespoň částečně přispět k rozvoji lokální a regionální ekonomiky i tvorbě pracovních míst. Nově rekultivovaná území (vodní plochy s rekreačním vybavením, lesní plochy, golfové hřiště), přírodní dědictví (chráněná krajinná oblast Slavkovský les) a kulturní dědictví (historické město Loket) mají potenciál stát se hlavními turistickými atrakcemi. Co se týče kulturního dědictví, v regionu stále chybí symboly hornické tradice. Vedení mikroregionu chce tuto situaci zlepšit a přitom se z velké části inspiruje příklady z německých post-hornických regionů. Uvažuje se tak o využití starého těžební zakladače, který by sloužil jako rozhledna na Smolnickou výsypku. Dále je navrhováno vybudování turistických stezek podél hornických atrakcí a hornický skanzen (s železnicí a replikací budov). Zvýšit se má také rekreační potenciál oblasti. Vybudování sportovišť a rekreačního komplexu má přispět k udržení mladých a vzdělaných lidí v regionu.

Vzdělání, rekvalifikace

Jak již bylo zmíněno výše (v části **S**WOT analýza), vzdělanostní struktura regionu je poměrně nepříznivá. To je spojeno s nízkými požadavky na kvalifikaci v hornictví na jedné straně a na druhé straně s poměrně vysokými platy v tomto odvětví. Výsledkem pak je, že horníci, kteří přišli o zaměstnání, jsou velmi znevýhodněni na trhu práce. Rozvoj vzdělání (a to jak středního a vysokoškolského, tak i rekvalifikačního) by proto měl přispět ke změně ve struktuře zaměstnanosti (zejména z odvětví těžby směrem ke službám). Střední školy by měly být zaměřeny na oblasti aplikovatelné v regionu (strojírenství, obnovitelné zdroje energie, rekultivace, záchranářské služby atd.). Místní aktéři podporují myšlenku lokalizace univerzitní fakulty v rámci mikroregionu. Příhraniční poloha může být využita pro zakládání dvoujazyčných škol, k organizaci dvoujazyčných táborů a výměnných programů ve spolupráci s Německem. Dalším ambiciózním projektem, který by mohl představovat velký přínos pro region, je Regionální multifunkční centrum integrovaných záchranných složek. Tento mnohoúčelový komplex by měl sloužit jak potřebám výcviku integrovaného záchranářského systému, tak i dobrovolným záchranářům. Takovýto komplex stále ještě v České republice chybí, a proto by toto centrum mohlo nabýt celostátního významu. Také umístění centra poblíž jezera Medard se zdá příhodné pro úspěch projektu.

Výzkum a vývoj

Dalším strategickým směrem je výzkum a vývoj. Plánuje se založení centra aplikovaného výzkumu jako součásti Regionálního technologického centra. Oblasti zájmu by měly být v souladu s ostatními strategiemi. To znamená, že výzkum by měl být zaměřen především na strojírenství, malé vodní elektrárny, testování tepelných čerpadel v systému voda-voda, rekultivace a ekologickou sukcesi, turismus, regionální rozvoj a informační technologie.

Senioři

Zaměření na seniory je spojeno s obecným trendem stárnutí populace. Ačkoliv má mikroregion poměrně příznivou věkovou strukturu populace, tento problém nemůže být zanedbán ani zde. Proto by měla být podporována nejen výstavba zdravotnických, rehabilitačních a sociálních zařízení, ale i zakládání podniků zaměřených na aktivity pro seniory (především na různé formy rekreace a trávení volného času).

Rekultivovaná území, služby pro obyvatele

Jednou ze strategií závislých na ostatních strategiích je zbavení se nepříznivé image Sokolovska. Právě nepříznivá image regionu (a to jak ve smyslu environmentálním, tak i sociálním) je jedním z jeho největších problémů, neboť odrazuje nejen od rozvoje turistiky, ale zejména také od usazení se v regionu. Kromě tvorby atraktivních přírodních území (vodní plochy, lesy), je důležitá propagace regionu jako zeleného regionu (např. jako turistické oblasti, jako regionu orientovaného na obnovitelné zdroje energie, s podniky s pozitivním přístupek k ochraně životního prostředí atd.).

Kromě špatné image je další nevýhodou, která snižuje atraktivnost regionu pro nově příchozí nízký standard bydlení. Předpokládá se, že zlepšení standardu bydlení by přilákal vzdělanější a ekonomicky silnější skupiny lidí, což by umožnilo postupnou přeměnu společenské struktury regionu.

Zhodnocení jednotlivých strategických směrů

Navržené strategické alternativy nemohou být vnímány jako rovnocenné. Každá z alternativ má jinou hodnotu z hlediska inovativnosti, přenositelnosti do jiných hornických regionů, přijatelnosti pro regionální aktéry a také potenciální synergie s ostatními strategiemi. Proto je důležité zhodnotit jednotlivé možnosti ze všech těchto hledisek. V tomto případě byla kritéria inovativnost, přenositelnost a potenciální synergie s ostatními možnostmi zhodnocena autorkou a dalšími vědeckými partnery projektu ReSource na základě expertního názoru, zatímco přijatelnost pro klíčové aktéry regionu byla popsána na základě rozhovorů s představiteli mikroregionu a MAS Sokolovsko. U jednotlivých pojmů se vycházelo z definic, které byly vytvořeny v rámci projektu: Inovativnost v tomto pojetí znamená, že strategická varianta je jedinečná, nová a zásadní problémy řeší novým způsobem myšlení. Přenositelnost znamená, že strategická varianta může být realizována i v jiných regionálních podmínkách.

Co se týče přenositelnosti, všechny navržené varianty se zdají být použitelné i v ostatních post-hornických regionech.

Jako inovativní se zdá zejména regionální technologické centrum, neboť představuje základnu pro průmysl stejně jako pro aplikovaný výzkum v oblastech uplatnitelných v regionu. Hlavní překážku však představuje závislost na rozhodnutí Karlovarského kraje, který ačkoliv původně podporoval myšlenku umístit jej v rámci mikroregionu Sokolov-východ, v současnosti se zdá, že nakonec bude zvoleno jiné místo. Průmyslové zóny představují mnohem pravděpodobnější variantu. Některé z nich jsou již ve výstavbě. Tatím však chybí představa o přesnější specializaci těchto zón. Mikroregion navrhuje obnovit tradici regionálních odvětví průmyslu, jako jsou chemický, dřevozpracující, sklářský a keramický.

Také centrum pro zpracování odpadů znamená pro mikroregion velkou výzvu. Právě mikroregion přišel s touto myšlenkou a nakonec získal i podporu SUAS. I přesto hrozí, že města z okolních regionů založí podobná centra dříve, a pak by projekt mikroregionu nebyl realizovatelný.

Myšlenka zachování tradice Sokolovska jako energetického regionu a zaměření na obnovitelné zdroje energie je v českých podmínkách poměrně inovativní. Tato strategie je navíc v synergii s využitím nových vodních ploch pro zásobování vodou a rekreačním využitím. Podle vyjádření zástupců mikroregionu však tato varianta naráží na typickou povahu horníků, kteří nevěří, že uhlí je možné nahradit obnovitelnými zdroji energie, a navíc také na neochotu Karlovarského kraje investovat do tohoto projektu, ačkoliv původně myšlenku plně podporoval.

Co se týče orientace na turistické využití území, naráží zde na sebe dva hlavní aktéři mikroregionu. Zatímco vedení mikroregionu tuto vizi do značné míry podporuje, těžební společnost SUAS ji

nepovažuje za přínosnou z hlediska tvorby pracovních míst, a tudíž odmítá spolupráci v této oblasti. Na tomto problému zatím ztroskotala myšlenka vytvoření památníku hornictví vztyčením starého těžebního zakladače, neboť SUAS jej souhlasila poskytnout jen za cenu druhotné suroviny. Ta se však pohybuje okolo desítek milionů korun a mikroregion si takovouto částku nemůže dovolit zaplatit.

Co se týče vzdělávání, rozvoj středního vzdělávání se zdá jako pravděpodobná varianta, zatímco šance na založení univerzitní fakulty jsou v současnosti poměrně malé, neboť nová fakulta je již plánovaná v Karlových Varech. Dvoujazyčné školy, tábory a výměnné programy ve spolupráci s Německem představují dobrý způsob využití příhraniční polohy mikroregionu.

Regionální multifunkční centrum integrovaných záchranných složek je považováno za velmi přínosné pro mikroregion, neboť bude mít pravděpodobně celonárodní význam.

Z hlediska synergie s jinými projekty je nejlepší variantou myšlenka vzniku vodních ploch zatopením lomů, neboť podporuje či podmiňuje naplnění mnoha dalších strategií. Jsou to především vize zaměřené na zásobování vodou a na využití vodní energie a také na rozvoj turismu. Navíc je tato vize podporována všemi klíčovými aktéry (mikroregion, okolní obce, SUAS a Karlovarský kraj).

ZÁVĚR

Závěrem lze říci, že SWOT analýza a TOWS matice doplněná diskusí s klíčovými aktéry se osvědčily jako efektivní způsob hledání strategií v regionálním plánování.

Nalezené strategie se zdají být přínosnými nejen pro mikroregion Sokolov – východ, ale lze je pokládat za přenositelné na jiné post-hornické regiony. Navíc jsou jedinečné a inovativní z regionálního úhlu pohledu.

Na základě zkušeností z workshopu lze prohlásit, že vedení mikroregionu si je vědomo možných strategií a je aktivní ve vytváření plánů a vizí.

Hlavní problém však spočívá ve skutečnosti, že jediným reálným stakeholderem v regionu je těžařská společnost SUAS. Tato společnost vlastní značnou část půdy v regionu a navíc její představenstvo věří, že mohou rozhodovat o budoucnosti regionu nezávisle na názoru místních obyvatel. Z toho vyplývá, že pokud těžební společnost nesdílí vize mikroregionu, jejich většina nemůže být naplněna. Zejména vize a plány spojené s turismem naráží na tuto překážku, neboť SUAS turismus nepokládá za schopný ani částečně nahradit ztracená pracovní místa.

Strategie podporované mikroregionem i těžařskou společností mají mnohem větší šanci na úspěch. Mezi tyto strategie patří např. centrum zpracování odpadů, rozvoj průmyslu a Regionální multifunkční centrum integrovaných záchranných složek.

Ve většině případů je však nutná i podpora Karlovarského kraje. Ten totiž rozhoduje o lokalizaci většiny regionálních projektů.

Proto je potřeba zdůraznit, že je nutná spolupráce všech možných aktérů. Stejně tak důležité je i rychlé jednání, neboť projekty v rámci mikroregionu mohou nahradit konkurenční projekty v okolních regionech. Ačkoliv do úplného ukončení těžby zbývá více než dvacet let, s řešením problémů není možné čekat. Dlouhodobé plánování a nové inovativní vize jsou zásadním krokem, kterým je potřeba začít, aby se předešlo krizi celého post-hornického regionu.

LITERATURA

Berndt R. (2000): Innovatives Management. Springer, 363 s.

Brebbia C.A., Beriatos E. (2011): Sustainable development and planning V. WITpress, Southhampton,971 s.

Brink P., Miller C., Kettunen M., Ramsak K., Farmer A., Hjerp P., Anderson J. (2008): Critical thresholds, evaluation and regional development. 18(2): 81–95.

Bryson J.M., Roaring W.D. (1987): Applying Private Sector Strategic Planning in the Public Sector, *Journal of the American Planning Association*, 53: 9-22.

Brzóska M., Chvátalová A., Kunc K. (2002): Hydrické rekultivace jako součást obnovy krajiny v Podkrušnohoří. In: Geografie. Sborník České geografické společnosti. Univerzita Jana Evangelisty Purkyně v Ústí nad Labem, s. 230-241.

Bulmer M. I. A. (1975): Sociological models of the mining community. The Sociological Review, 23: 61–92.

Conlin M., Jolliffe L. (2011): What Happens When Mining Leaves? In: Conlin, Jolliffe [eds.]: Mining Heritage and Tourism. A Global Synthesis. Routledge London and New York, s. 3-10.

Dias S., Panagopoulos T., Loures, L. (2008): Post-mining Landscape Reclamation: A Comparison between Portugal and Estonia. In: Panagopoulos T., Vaz T., Antunes M. [eds.]: New Aspects of Energy,Environment, Ecosystems and Sustainable Development. WSEAS Press Athens, s. 440-445.

Foutakis D., Thoidou E. (2007): Development Planning and Territorial Integration Prospects in South Eastern Europe: A Foresight Exercise in the Region of Central Macedonia. In: Getimis, P., Kafkalas, G. [eds.]: Overcoming Fragmentation in Southeast Europe. Spatial Development Trends and Integration Potential. Ashgate Publishing Limited Aldershot, s. 127- 166.

Helms M. M., Nixon J. (2010): Exploring SWOT analysis – where are we now?: A review of academic research from the last decade. Journal of Strategy and Management, 3(3): 215–251.

Ibarra J. M. N., Heras M. M. (2005): Opencast Mining Reclamation. *Forest Restoration in Landscapes*, Springer New York, 370 s.

Lintz G., Wirth P. (2009): Erfolgsfaktoren der Sanierung und Entwicklung von bergbauregionen. GeoScape, 4 (supplement), s. 222-238.

Sklenička P., Přikryl I., Svoboda I., Lhota T. (2004): Non-productive principles of landscape rehabilitation after long-term open-cast mining in Northwest Bohemia. *Journal of the South African Institute of Mining and Metallurgy*, 104: 83-88.

Sklenička P., Lhota T. (2002): Landscape heterogeneity - a quantitative criterion for landscape reconstruction. Landscape and Urban Planning, 58(2): 147-156.

Tan Li, Chun Yan Zhang (2010): A Proof Research on Regional Integration of Industry Based on the SWOT Analysis. Applied Mechanics and Materials, 33: 663-668.

Terrados J., Almonacid G. Hontoria L. (2007): Regional energy planning through SWOT analysis and strategic planning tools: Impact on renewables development. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 11(6): 1275-1287.

Usťak S., Mikanová O. (2008): Pěstování a využití komonice bílé při biologické rekultivaci důlních výsypek. Metodika pro praxi. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. Praha, 23 s.

Wirth P., Lintz G. (2006): Rehabilitation and Development of Mining Regions in Eastern Germany – Strategies and Outcomes. Moravian Geographical Reports, 14(2): 69–82.

INNOVATION OF RURAL SOCIOLOGY COURSE

Novotná K., Lipovská Z.

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, zdenka.lipovska@mendelu.cz

ABSTRACT

The paper tries to present the project of the University Development Fund (in Czech Fond rozvoje vysokých škol) the Innovation of Rural Sociology Course, which is taught within the branch Rural Development at the Faculty of Agronomy of Mendel University in Brno. Innovation of the course, which is still in progress, consists of analytical and realization parts. The analytical part, which is already finished, consisted of studying and analyzing of the current state of teaching of Rural Sociology at the Institute of Applied and Landscape Ecology, Mendel University in Brno, and also in collecting experiences from teaching Rural Sociology and related subjects at partner workplaces in both the Czech Republic and abroad. The second part of the Innovation of Rural Sociology course consists in the development of a new syllabus, PowerPoint presentations of selected lectures and multimedia teaching tools.

The crucial part of the paper shows a few selected topics that will be incorporated into the teaching of Rural Sociology. These themes include the importance of „cottaging“ for rural areas, leisure activities of seniors in the countryside, suburbanization of rural area, Shared Space concept, the importance of partnerships between producers and consumers, and public participation.

The aim, which the project investigators try to achieve, is to modernize the teaching towards greater involvement of students in the form of controlled discussions on these themes at seminars. An integral part is to encourage students to critically reflect (social) problems that they may face in the country today.

Key words: rural sociology, innovation, teaching

Acknowledgement: This paper arose within project FRVŠ (Fond of Universities Development) 301/2011/G5 Inovation of Rural Sociology Course.

ÚVOD

V České republice existují poměrně rozsáhlé zkušenosti s výukou sociologie na filozofických fakultách, respektive fakultách sociálních studií, ale též na fakultách ekonomických. Aplikace sociologie na problematiku venkova je však v českých podmínkách ještě v počátcích. Zřejmě nejdále je tým prof. Majerové působící na Provozně ekonomické fakultě České zemědělské univerzity v Praze. Další odborníky, kteří se vyskytují spíše jako jednotlivci, nalezneme na pracovištích sociologie, sociální geografie, ekonomiky apod. V západní Evropě, USA a Austrálii je výuka sociologie venkova dále než u nás. Zřejmě nejvýznamnější roli na tomto poli v Evropě hraje nizozemská Wageningen Universiteit. Obsah a způsob výuky sociologie venkova na západě je významným zdrojem inspirace. Je však třeba je aplikovat na podmínky České republiky (specifikem, se kterým se musí česká sociologie venkova vyrovnat, je zejména sociální transformace posledních dvaceti let).

V současné době chybí ve výuce předmětu Sociologie venkova na Mendelově univerzitě v Brně zvláště hlouběji pojatá aplikace obecných sociologických poznatků na problematiku venkova, která by se odrazila v sylabu a přednáškách. Dále jsou ve výuce předmětu postrádána skripta či modernější e-learningová pomůcka. Tyto problémy jsou řešeny v rámci projektu FRVŠ Inovace předmětu Sociologie venkova. Cílem tohoto příspěvku je pak představit tento projekt, zejména část, která se zabývala možnými tématy, které lze do výuky zahrnout.

MATERIÁL A METODIKA

Inovace předmětu Sociologie venkova se skládá z analytické a realizační části. Analytická část, která již plně proběhla, spočívala v prostudování a analýze současného stavu výuky předmětu vyučovaném na Ústavu aplikované a krajinné ekologie Mendlovy univerzity v Brně a dále ve sbírání zkušeností z výuky sociologie venkova a podobných předmětů na partnerských pracovištích jak v České republice (Katedra humanitních věd na Provozně ekonomické fakultě České zemědělské univerzity v Praze), tak v zahraničí (Institut für Geographie und Raumforschung Karl Franzens Universität in Graz).

V květnu 2011 proběhla krátkodobá stáž řešitele a spoluřešitele na výše zmíněném pracovišti České zemědělské univerzity v Praze, kde se vyučuje předmět Sociologie venkova (též Rurální sociologie) a podobné předměty (Základy sociologie, Sociologie venkova a zemědělství, Metody a techniky sociálního výzkumu, Metodologie výzkumu v sociálních vědách apod.). Třídenní stáž spočívala v rozhovorech s garanty předmětů a vyučujícími. Zajímala nás zejména struktura cvičení, jejich obsah, podmínky ukončení, praktický způsob výuky a náročnost pro studenty. Součástí stáže bylo i studium písemných materiálů, zejména podkladů pro výuku (sylabů jednotlivých předmětů, powerpointových prezentací jednotlivých přednášek i cvičení), studijních materiálů poskytovaných

studentům (včetně prostudování funkcí univerzitního e-learningu), zadání jednotlivých úkolů pro studenty (seminární práce, dílčí úkoly ve cvičeních) a literatury týkající se sociologie a sociologie venkova v knihovně Katedry humanitních věd.

Během měsíce srpna 2011 proběhla týdenní stáž na Institut für Geographie und Raumforschung Karl Franzens Universität in Graz. Zde se řešitel a spoluřešitel seznámil s výukou Sociologie venkova a příbuzných předmětů spojených jak se sociologií, tak zejména s venkovem. Náplní stáže bylo též studium podkladů pro výuku a navazující literatury, tématické terénní exkurze do rurálních oblastí Štýrska, které během výuky absolvují studenti Institut für Geographie und Raumforschung. Byla nám představena a názorně ukázána práce studentů v terénu a navržena některá možná nová témata pro výuku předmětu Sociologie venkova na našem pracovišti.

Kromě výše zmíněných stáží se řešitel a spoluřešitel zúčastnili několika tuzemských seminářů a konferencí zaměřených na sociologii venkova či problematiku venkova obecně (např. konference Urbánní a regionální laboratoře UK „Nové sociálně prostorové nerovnosti, lokální rozvoj a kvalita života“, seminář „Venkov – Kdo mi pomůže?“ pořádaný GaREP, spol. s r.o. a konference „Countryside – Our World na ČZU v Praze). Řešitel se navíc zúčastnil XXIV. kongresu Evropské společnosti pro rurální sociologii na téma "Inequality and Diversity in European Rural Areas".

Druhá část Inovace předmětu Sociologie venkova spočívá (na základě získaných zkušeností z jiných pracovišť a studia dostupné literatury) ve vypracování nového sylabu předmětu a powerpointové prezentace vybraných přednášek. Následně má být vytvořena výuková multimediální pomůcka pro studenty, která má být realizována ve formě e-learningu. Nedílnou součástí projektu je i zpracování adresáře (mailing list) pro výměnu pedagogických i vědeckých zkušeností a realizací stáží jak studentů, tak pedagogů na jiných pracovištích v Česku i v zahraničí.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Předmět Sociologie venkova je na Mendelově univerzitě v Brně vyučován od roku 2007, kdy byl otevřen nový magisterský obor Rozvoj venkova. V současné době jsou přednášky předmětu rozčleněny na dvě části – obecně sociologické přednášky, uvádějící předmět, vývoj, hlavní směry a metody sociologie (tyto přednášky nejsou předmětem inovace) a přednášky věnující se různým tématům sociologie venkova (úvod do sociologie venkova; sociologie zemědělského podniku, kolektivizace, její vliv na dnešní venkov; venkovské sociální skupiny, rodina; kultura vesnice, úloha vzdělávání, náboženství, vliv médií; politika, administrativa, správa a řízení na venkově; využití volného času a venkov; kvalita života na venkově; sociální charakteristika malých měst jako středisek venkovských regionů).

Nelze popřít, že uvedená témata jsou pro výuku sociologie venkova stěžejní. Je však třeba, aby reflektovala aktuálnější témata, která se sociologie venkova i venkova obecně dotýkají. Nová témata(některá z nich uvádíme níže) tak mohou být začleněna do stávajících, případně je mohou vhodně doplnit.

Chataření a chalupaření

V České republice představují objekty druhého bydlení kolem 20 % všech obytných staveb (Fialová 2004) což vychází z dlouhé historie chataření a chalupaření u nás. První chatové osady začaly vznikat podél říčních niv již po roce 1900, výrazněji pak po roce 1920. Prvními chataři byli trampové, vycházející často z řad skautů, kteří preferovali skalnaté partie větších řek (zejména v okolí Prahy). Na těchto místech pak zakládali první (trampské) srubové osady. Ve druhé polovině 20. století však chataření nabylo takových rozměrů, že chaty vznikaly v podstatě na jakýchkoliv místech, odkud bylo vidět na les či vodu. (Cílek in Zapletalová 2007: 379-382)

Chataření s sebou často přináší řadu negativních jevů. Nejvýrazněji se projevuje zastavění přírodovědně a esteticky cenných lokalit (zejména říčních niv) chatovými osadami. Tyto osady, či dnes častěji kolonie, jsou v krajině rušivým prvkem a to zvláště díky absenci smysluplné struktury. Naopak chalupaření hrálo a hraje významnou roli při záchraně stavebního fondu lidové architektury. Jeho význam se projevil zvláště v oblastech Sudet po vysídlení Němců, kdy zůstala celá řada velmi cenných staveb lidové architektury opuštěna. Chalupáři tak pomohli tyto stavby zachránit. S tím souvisí i menší tendence chalupářů přestavovat původní objekty, která se projevuje u běžných obyvatel (Fialová, Marada 2003).

Václav Cílek (in Zapletalová 2007) si v jiných státech nebývalý rozvoj chataření a chalupaření vysvětluje několika základními faktory. Prvním z nich je touha po svobodě prvních trampů. Dalším je útěk z města za kvalitnějším (čistším) životním prostředím a přírodou, za jiným sociálním prostředím do míst, kde se všichni navzájem znají. Chataření a chalupaření zároveň před rokem 1989 představovalo náhražku nedostupné ciziny. A v neposlední řadě se zde projevovala touha a potřeba lidí tvořit, přestavovat, zlepšovat („*Smysl chalupářství ale není ve výsledku, v chalupě. Je v činnosti.*“(Czumalo 2005: 66).

Senioři a trávení volného času

Stárnutí populace je a bude i nadále významným demografickým trendem, a to ve všech zemích Evropské unie. Ani Česká republika není v tomto ohledu výjimkou. Podle statistiky ČSÚ bylo koncem roku 2009 v České republice 1,56 milionů osob starších šedesáti pěti let, což představuje 14,9 % obyvatel ČR. Do roku 2030 předpokládá střední varianta prognózy ČSÚ (ČSÚ 2009) nárůst na 23,1 % (2,52 milionů osob starších 65 let), do roku 2050 pak na 31,1 % (3,38 milionů osob) a do roku 2065 až na 32,2 % (3,44 mil. osob).

S rostoucím podílem seniorů bude kladen stále větší požadavek na přizpůsobování vzhledu měst i obcí této populační skupině. Problematikou měst přátelským k seniorům se zabývá Světová zdravotnická organizace WHO, která vydala příručku Globální města přátelská seniorům: Průvodce (2009). Obdobnou problematikou vztahující se k obcím se české publikace však zatím nezabývají. Ze zahraničních prací se na preference ve trávením volného času seniorů a na z toho plynoucí doporučení pro obce zabývá např. Hansen-Møller (2010).

Možnosti volnočasového vyžití seniorů se značně liší právě v závislosti na velikosti obce, ve které člověk žije. Ačkoli se venkovské prostředí zdá pro trávení volného času seniorů příhodnější (např. zahrádkaření, jízda na kole), je zde oproti městu menší výběr aktivit, které jsou určeny přímo pro seniory a které jim poskytují různé organizace a instituce (např. cvičení pro seniory, univerzity třetího věku).

Volnočasové aktivity mohou u starších lidí výrazně napomoci v prevenci sociálního vyloučení, pocitů samoty, zlepšení zdravotního stavu a tedy i potřeby péče ze strany státu (např. Bočková 2011; Holmerová et al. 2006). Proto by měly být všestranně podporovány jak ze strany státu, tak i ze strany samotných měst a obcí.

Suburbanizace

Suburbanizace je významným fenoménem, který mění nejen fyzické prostředí venkova, ale i jeho sociální strukturu. Na suburbanizaci můžeme nahlížet jako na změnu způsobu života obyvatel přicházejících do suburbií. Ti částečně přizpůsobují svůj životní styl životním podmínkám v novém bydlišti a zároveň ovlivňují i charakter suburbánních lokalit. Nové obyvatelstvo s sebou přináší některé zvyky, způsoby chování a trávení volného času, které mají vliv na původní obyvatelstvo. Dochází k prostorovému šíření městských prvků a městského způsobu života. Kromě negativních jevů s tím spojených (zvláště neschopnost či neochota nových obyvatel začlenit se do sociálních struktur obce) (Sýkora 2002; Hnilička 2005), přinášejí často nově příchozí nové nápady, jsou aktivní a mají řadu kontaktů, které lze využít při rozvoji obce. Nově příchozími jsou většinou mladé páry či rodiny se středním a vyšším vzděláním a tedy i s vyšším socioekonomickým statusem (Čermák 2005; Potočný 2006).

Shared Space

Shared space je koncept, který je zaměřen na integrované využívání veřejných prostranství. Koncept Shared Space přestává oddělovat auta, cyklisty, chodce a další účastníky provozu. Ruší obrubníky, svislé i podélné značení a spoléhá na ohleduplnost všech zúčastněných. Tím je umožněno všem uživatelům veřejných prostor navazovat různé sociální kontakty (pokud ulice patří převážně automobilům, je navazování sociálních vztahů výrazně obtížnější). Tento koncept nejen že zklidňuje dopravu, ale přispívá k větší bezpečnosti účastníků provozu (řidiči jsou opatrnější, bystřejší a soustředěnější – nezbývá jim nic jiného než se domlouvat jak mezi sebou, tak s chodci a cyklisty). Na místo dopravních pravidel nastupují pravidla sociální (Monderman et al. 2006).

Otcem konceptu Shared Space je Hans Monderman. Myšlenka vznikla již v roce 1985, větší prostor však dostala až v rámci projektu European Shared Space Project (jež byl součástí Interreg IIIB-North Sea Programme), který probíhal v letech 2004 až 2008. Shared Space je rozšířen v řadě nizozemských (Makkinga, Haren, provincie Fryslan apod.), dánských (např. Middelfar), belgických (Oostende), německých (Bohmte, Ettenheim, Endingen, atd.), britských (Londýn-Kensington High Street, Brighton, Ipswich, atd.), švédských (Norrkoping apod.), australských, amerických a nově i rakouských (Graz) obcích a městech (Keuninginstitut 2008). Koncept Shared Space se lze využít zvláště při řešení veřejných prostranství venkovských obcí.

Partnerství mezi zemědělci a spotřebiteli

Spolupráce a navazování kontaktů mezi producenty (zvláště potravin) a spotřebiteli se jeví velmi významná zejména v případě zemědělství – ať už se jedná o podporu lokálních či ekologicky hospodařících zemědělců nebo ochranu a zachování kulturní krajiny. Jedním z příkladů spojení široké veřejnosti se zemědělci (konkrétně ekologicky hospodařícími) byl projekt ZO ČSOP Kosenka *„Přiveď ovečku do valašské krajiny“*. Cílem projektu bylo zlepšit dosavadní péči o chráněná území Bílých Karpat (týkalo se 55 ha nejcennějších pozemků ve valašskokloubucké části CHKO Bílé Karpaty) navrácením ovcí na valašské pastviny a zároveň pomoci ekologickým zemědělcům v začátcích podnikání (Lokoč 2006). Ovce byly zakoupeny z prostředků jednotlivců a následně byly svěřeny zemědělcům. Ti pak zajišťovali přepasení travnatých ploch maloplošných chráněných území. Dobrovolníci z řad veřejnosti koupí ovečky vložili do projektu potřebný kapitál, který se jim však časem vrátil v podobě tří beránků, které si mohli převzít živé, nebo dostat v mase či penězích. Ziskem tohoto projektu tak nebylo pouze obnovení tradičního využívání travnatých ploch v okolí valašskoklobouckа, ale i navázání vztahu přispěvatelů a spotřebitelů se zemědělci Vytvořili se tak nové sociální (nejen spotřebitelské) sítě (Miroslav Janík – autor projektu - k tomu řekl: *„Velmi významná byla i ta parketa společenská, že to nebylo jen na nich [zemědělcích, pozn. autora], ale zatáhli jsme do toho i ty lidi přes univerzity. Je zajímavé, že ovce si více kupovali více ekologicky uvědomělí lidé z měst a nevládních organizací, aktivisté, z místních jen 25 %.“* (Janík in Lokoč 2009: 109).

Biokluby a (bio)bedýnky jsou další alternativou, která umožňuje větší provázání producentů potravin se spotřebiteli. Biokluby jsou většinou zakládány lidmi se vztahem k produktům ekologického zemědělství a to většinou v situaci, kdy bio potraviny nejsou v obchodech v dané lokalitě běžně k dostání. Biokluby pak svým členům zprostředkovávají produkty (převážně) od místních zemědělců – zejména čerstvé a sezónní potraviny a to nejčastěji ve formě tzv. (bio) bedýnek. (Bio)bedýnky jsou systémem, při kterém farmář pravidelně dodává své výpěstky zákazníkům, a to jak přímo, tak prostřednictvím bioklubů.

Zvyšující se zájem spotřebitelů o kvalitu potravin a touha poznat člověka, který danou potravinu vypěstoval či vyrobil, se projevuje ve stále větší oblibě tzv. farmářských trhů. Tyto trhy, kromě jiného, usnadňují realizování kontaktů mezi farmáři a obyvateli měst.

Výše zmíněné příklady umožňují spotřebitelům poznat svého farmáře a tím i původ svého jídla, to, jak bylo vyrobeno a z jakých surovin a za jakých podmínek. Pokud farmář osobně zná své zákazníky, ve většině případů se snaží z vlastní iniciativy zajišťovat co nejvyšší kvalitu svých produktů (Guthová 2006). Díky vzájemné komunikaci mezi zemědělcem (producentem potravin) a spotřebitelem vzniká vztah, který je založen na důvěře a pochopení. Přínos těchto vztahů spočívá mimo jiné ve vytváření hodnot, které posilují místní vazby a zároveň vytvářejí vztah k přírodě.

Zapojování veřejnosti/občanská participace

Občanskou participaci můžeme chápat jako zapojení občanů ve veřejné sféře; jejím prostřednictvím občané artikulují, organizují a prosazují své zájmy (Rakušanová 2003). Participace a spolupráce

jsou pojmy, které se čím dál častěji objevují ve sféře spravování veřejných věcí na všech úrovních, od lokální samosprávy až po centrální vládu. Občanská participace bývá spojována s efektivním demokratickým vládnutím (Stachová 2008). V České republice však nástroje občanské participace zatím nejsou dostatečně uplatňovány.

Je možné popsat celou řadu důvodů, proč je důležité veřejnost do plánovacích procesů zapojovat a informovat je o probíhajícím dění. Těmito důvody se zabývá řada metodik (např. Marek 2008; MPSV 2009; Metodika procesu zapojení veřejnosti do plánování rozvoje obce 2010) a ty nejdůležitější lze shrnout do následujících bodů:

Občané jako znalci místního prostředí: Běžný občan má tu nejlepší znalost místního prostředí a často dovede upozornit na zásadní dopady zamýšleného plánu, o kterých by místní správa ani odborníci neuvažovali.

Nová, originální řešení: Hledání řešení se účastní více aktérů, čímž se zvyšuje možnost objevovat nová řešení. Účastníci otevřeného procesu plánování si vzájemně vyměňují informace, učí se od sebe navzájem.

Místní odborníci: Mezi občany se rovněž mohou nacházet místní odborníci (každý expert někde bydlí). Podněty a rady odborníka, který je zároveň znalcem tématu i prostředí, jsou neocenitelným přínosem.

Snadnější dosažení konsenzu a jeho větší udržitelnost: Při plánování potenciálně konfliktních záměrů bude díky zapojení veřejnosti přijetí konsensu pravděpodobnější. Hledání společenského konsenzu navíc přináší dlouhodobá a společensky udržitelnější řešení.

Aktivnější účast na realizaci: Občané, kteří se účastní plánování a přípravy jednotlivých aktivit, se pak aktivněji účastní i jejich realizace.

Důvěra ve vedení: Otevřená a upřímná snaha o zapojení veřejnosti získává její důvěru a usnadňuje postup řešení.

Včasné odhalení problémových aspektů či zjištění velkého nesouhlasu veřejnosti: Včasné, efektivní a transparentní informování včas odhalí potencionální problémové aspekty připravovaného rozhodnutí a vytvoří dostatečný časový prostor pro překonání sporných otázek. Tímto způsobem může zapojování veřejnosti ušetřit nejen spoustu času, ale i finančních prostředků. Přínosem však může být i zjištění, že nesouhlas veřejnosti s plánovaným záměrem je příliš velký a jeho realizace by přinesla ekonomicky neúnosné náhrady.

Vytváření vazeb: Zástupci veřejné správy, běžní občané, organizace, experti, podnikatelé a další se vzájemně setkávají a společně hledají řešení. Proces participace znamená především komunikaci s lidmi, sdílení emocí, ale také navázání přátelství. Dochází tak k vytváření nových vazeb a vztahů mezi členy dané komunity (v odborném jazyce jsou tyto vazby nazývány sociálním kapitálem). Komunita tak získává do budoucna vyšší rozvojový potenciál.

Omezení tzv. *„NIMBY syndromu“*: NIMBY je zkratkou angl. výrazu *„Not In My Back Yard“*, česky *„ne na mém dvorku“*. *„NIMBY syndrom“* se projevuje tím, že občané protestují proti navrhovanému rozhodnutí, pokud má být uskutečněno v jejich okolí, bez ohledu na jeho správnost a prokazatelný přínos pro společnost. Participace pomáhá předejít tomuto syndromu jednak vyšší informovaností, uváděním alternativ a snahou o vytvoření dialogu. tak, že místo prostého zesílení "opevněných" pozic proti rozvoji se uvádí alternativy a snaží se vytvářet dialog (Richardson, Dusík, Jindrová 1999).

Různé způsoby participace jsou velmi přehledně popsány v metodickém manuálu Metody techniky práce s veřejností, komunikační dovednosti (Diváková 2009).

ZÁVĚR

Předmět Sociologie venkova vyučovaný na Agronomické fakultě MENDELU v Brně by měl studenty přivést zejména k tomu, aby byli schopni kriticky reflektovat problémy (některé jsou představeny i v tomto příspěvku), se kterými se na současném venkově můžeme setkat. A to nejen sociální ale i environmentální, demografické a ekonomické. V rámci výuky by pak měly být představeny i některé fenomény naší doby, které mají dopad na venkovské komunity (globalizace, suburbanizace, turismus apod.). Zároveň je možné představit i některé příklady „dobré“ praxe (např. Shared Space, Biokluby atd.). Součástí inovace je i snaha o modernizaci výuky směrem k většímu zapojení studentů formou řízených diskuzí o daných tématech na cvičeních. Tímto směrem se tak ubírají práce na inovaci tohoto předmětu.

LITERATURA

Czumalo, V. (2005): Architektura v národě chatařů a chalupářů. In: ERA21, č. 3, s. 64-67.

Čermák, Z. (2005): Migrace a suburbanizační procesy v České republice. Demografie, 47, č. 3, s. 169–176.

ČSÚ (2009): Projekce obyvatelstva České republiky do roku 2065. [online] Zveřejněno dne 19.5. 2009. [cit. 2011-08-11]. Dostupné z www: http://www.czso.cz/csu/2009edicniplan.nsf/t/B6003AA37A/$File/40200901.pdf

Diváková D. (2009): Metody techniky práce s veřejností, komunikační dovednosti. [online] Institut Komunitního rozvoje, o.s. 23 s. [cit. 2011-09-09] Dostupné z www: http://dataplan.info/cb21/archiv/akce/_nszm/nszm05/ls_seminare05/js/7_Divakova_skripta.pdf

Fialová, D. (2004): Druhé bydlení jako součást geografického výzkumu. Universitatis Ostraviensis. Acta Facultatis Rerum Naturalium. Geographia-Geoplogia, 216, 9, s. 21-32

Fialová, D., Marada, M. (2003): Chalupářství: příklad venkovské turistiky. In: Hasman, J. a kol. ed.: Cestovní ruch v České republice. Problémy a možnosti jejich řešení. JČU ZF KCR, Tábor, s. 116-123.

Guthová, Z., (2006): Trhy s místními produkty – šance pro stabilizaci venkova. In: Místní produkty – produkce a zpracování potravin v malých provozech, česká a rakouská zkušenost. Rosa, České Budějovice, s.7-8

Hnilička, P. (2005): Sídelní kaše. Otázky k suburbánní výstavbě kolonií rodinných domů. Brno: Era, 131 s.

Holmerová I., Jurašková B., Rokosová M., Vaňková H., Veleta P. (2006): Aktivní stránutí. Česká geriatrická revue. 4 (3):63-68.

Lokoč, R. (2009): Čeští zemědělci jako správci krajiny?. Brno, 190 s. Dizertační práce. Masarykova univerzita.

Marek O. (2008): Zapojení veřejnosti, nástroj pro správu věcí veřejných. In: Zapojování veřejnosti, nástroj pro správu věcí veřejných. Komunitní plánování sociálních služeb v Česku, Slovensku, Maďarsku a Polsku. Centrum pro komunitní práci. s. 2-8.

Potočný, T. (2006): Lidé na okraji: Případová studie satelitního městečka. [online] IVRIS Working papers [cit. 2011-08-11] Dostupné z WWW: <http://ivris.fss.muni.cz/workingpapers/index.php?page=cislawp&id=1>.

Keuninginstitut (2008): Shared Space: Final Evalution and Results [online]. Leeuwarden, [cit. 2011-09-07]. Dostupné z WWW: <http://www.shared-space.org/>.

Richardson T., Dusik J., Jindrová P. (1999): Paralelní participace veřejnosti: odpověď na lhostejnost při rozhodování. In: Urbanismus a územní rozvoj, 1: s. 2-8

Stachová J. (2008): Participace a spolupráce v malých městech České republiky. In: Čermák D. (ed.) Aplikace principů partnerství a participace v prostředí malých měst České republiky. Edice Sociologické studie/Sociological Studies 09:6. Sociologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha, s. 51-62.

Sýkora, L. ed. (2002): Suburbanizace a její sociální, ekonomické a ekologické důsledky. Ústav pro ekopolitiku. Praha. 191 s.

Zapletalová, Z. (2007) Chatařství/Summerhouses: Architektura lidských snů a možností. Praha: ERA, 416 s.

POTENTIAL OF THE RURAL DEVELOPMENT ON THE CASE STUDY OF MICRO-REGION ROVINA

Pavličková K., Molitoris Ľ.

Department of Landscape Ecology, Faculty of Natural Sciences, Comenius University in Bratislava, Mlynská dolina B-2, 842 15 Bratislava, Slovak Republic

E-mail: pavlickova@fns.uniba.sk, molitoris@fns.uniba.sk

ABSTRACT

Rural areas in Slovakia have been facing massive environmental regression in last fifty years and serious socio-economical regression since the Gentle revolution in 1989. Previous political system has distorted not just the environment but also the local rural economy completely. The tourism issue gained on the importance as one of priorities of national economy, when Slovakia became the part of the EU. By proper execution, there are much fewer negative impacts on the environment than by other branches of the industry. Existing risks connected with the disturbance and the devastation of natural environment by mass, uncoordinated tourism, oriented only on higher profits cannot be forgotten.

The research area is situated in the middle part of the district Trebišov. It is characteristic rural area lying in the Eastern Slovak lowland and the edge of Zemplin Mountains, with the lonely standing volcano hills of the name Avaš and Veľký vrch. In spite of the high quality of natural potential, the development of the tourism in the micro-region is in the stagnation. This paper can serve as an example of the implement tool which offers a general overview for natural assumes to the development of the tourism in a connection with environmental planning and management. The paper is focusing on natural, social-economic and cultural conditions, possibilities or limitations for the potential of tourism development in the micro-region Rovina based on recreational activities.

Key words: rural areas, indicator, category, development, tourism

Acknowledgement: The paper is prepared under projects GUK G-11-196-00 and VEGA 1/0544/11

ÚVOD

Rozvoj turizmu na regionálnej úrovni je nutné plánovať koordinovane a v súlade s ostatnými socio-ekonomickými aktivitami a krajinným potenciálom. Takéto koodinované plánovanie zabezpečí, že nedôjde k environmentálnym problémom a stretom záujmov s ochranou prírody a krajiny.

Podľa európskej stratégie trvalo udržateľného rozvoja (EC, 2010) rozvoj znamená spojitosť a rovnováhu medzi ekonomickým rastom, environmentálnym aspektom a sociálnymi princípmi. K dosiahnutiu riešenia je nutné realizovať nasledové kroky a to implementovať v praxi interdisciplinárny prístup či už riadicich orgánov alebo vedeckých disciplín, skvalitniť environmentálnu legislatívu, posilniť environmentálne záujmy a taktiež posliniť možnosti verejnosti v rozhodovacom procese. V súčastnosti má turizmus dôležitú úlohu v rozvoji regiónu. Podľa nových ekonomickýchštúdií odvetvie turizmu sa stane najdynamickejšie sa rozvijajúcim odvetvím hospodárstva v budúcej dekáde. Predpokladá sa , že sa vytvorí približne 5 miliónov pracovných miest v tomto odvetví EÚ v súlade s jej princípmi ako voľný pohyb v Schengenskom priestore, deregulácia transportu, voľný trh, harmonizácia daní a ešte otvorenejší prístup k demokracii. Formovanie mikroregiónu je možné dosiahnuť niekoľkými prístupmi. Najdôležitejším z nich je envionmentálny prístup, ktorý si vyžaduje spojitosť medzi sociánym a ekonomickým rozvojom s dôrazom na ochranu a tvorbu životného prostredia. Súčastný konvenčný spôsob využívania krajiny spôsobuje environmentálnu degradáciu územia, znižovanie a degradácii prírodných zdrojov a môže byť len ťažko základom pre udržateľný ekonomický rozvoj.

Existuje výrazný vzťah medzi ekonomickou činnosťou a kvalitou životného prostredia. Kvalita životného prostredia je kľúčovým kritériom, ktoré určuje špcifické formy manažmentu územia (Pavličková, Chrenšová, Hudecová, 2006). V posledných rokoch boli publikované nové diela založené na vzťahu medsi turizmom a životným prostredím (napr. Butler et al. 1997, Krogmann, 1998, Ryan, 2003, Pavličková, 2008, Krnáčová et al., 2010).

Článok sa zaoberá prírodnými, socio-ekoomickými a kultúrnymi podmienkami, možnosťami a limitmi pre potenciál rozvoja turimu v mikroregióne Rovina založenom na rekreačných aktivitách.

METODIKA

Metodika „Hodnotenia rekreačného potenciálu krajiny“ autorov Andel, Balej, Suchevič 2008 je založená na súbore hodnotiacich indikátorov. Metodológia bola modifikovaná podľa charakteru skúmanej oblasti. Boli vybrané nasledovné indikátory:

- prírodný potenciál (vrátane chránených území)

- kultúrno-historický potenciál

- rekeačná infraštrktúra

- environmentálna infraštruktúra

Každý indikátor pôsobí na jednotlivé rekreačné aktivity individuálne. Preto sú rekreačné aktivity rozdelené do týchto funkcií príslušných pre daný región: pešia turistika, cykloturistika, vidiecka turistika, poľovníctvo, vodná rekreácia a rybárstvo, nešpecifikovaná turistika (lietanie, paragliding, jazdectvo, alternatívne športy a. i.)

A. Prírodný a kultúrno-historický potenciál

V prvom kroku sme rozdelili indikátori prírodného potenciálu resp. ŽP do jednotlivých kategórií.

Jednotlivé indikátory ŽP predstavujú kategórie a ich príslušné bodové hodnoty1 až 4

A1 Lesné plochy (L) – Kategórie L1 až L4 vypočítané v prostredí GIS ako výmera lesnej plochy v katastri k celkovej výmere katastra vyjadrená v percentách, L1 (0-5 %), L2 (5-30 %), L3 (30-60%, L4 (>60 %)

A2 Vodné plochy (V) – hodnotené podľa vrstiev v prostredí GIS , mapy a počtu rybárskych revírov. Kategórie V1 až V4 určené prostredníctvom jednotiek. Jednotky tvoria vodné plochy a rybárske revíry. V1 (0-2 jednotky), V2 (3-5), V3 (6-7), V4 (≥8 jednotiek)

A3 Lúky a pasienky (LP) – Kategórie LP1 až LP4 vypočítané v prostredí GIS ako výmera plochy lúk a pasienkov v katastri k celkovej výmere katastra vyjadrená v percentách, LP1 (0-5 %), LP2 (5-30 %), LP3 (30-60%, LP4 (>60 %)

A4 Ostatné plochy (vinice, chmeľnice, sady a záhrady) (O) – Kategórie O1 až O4 vypočítané v prostredí GIS ako výmera ostatných plôch v katastri k celkovej výmere katastra vyjadrená v percentách, O1 (0-2 %), O2 (3-5 %), O3 (6-7%), O4 (≥8 %)

A5 Chránené územia (CH) – hodnotené podľa atlasu krajiny SR, podľa vrstiev v prostredí GIS, kategórie CH1 až CH4 určené podľa počtu CHÚ v katastri, CH 1 (1 chránené územie), CH 2 (2), CH 3 (3), CH 4 (4 chránené územia)

A6 Kultúrnohist. pamiatky mimo kostolov (K) - hodnotené podľa mestskej a obecnej štatistiky (MOŠ). Kategórie K1 až K4 určené podľa počtu kultúrnohist. pamiatok K1 (1 pamiatka), K2 (2-3), K3 (4-5), V4 (≥ 6 pamiatok)

B. Rekreačná a environmentálna infraštruktúra

V ďalšom kroku rekreačná infraštruktúra už nebola diferencovaná podľa funkcií. Nakoľko sa jedná o územie kde takmer neexistuje rekreačná infraštruktúra, za každú jednotku infraštruktúry bol pridelený jeden bod.

B1 ubytovanie – zdrojové dáta MOŠ, B2 inf. stredisko - zdrojové dáta MOŠ, B3 Turistické trasy – hodnotené podľa mapy, B4 športové zariadenia- zdrojové dáta MOŠ, B5 kultúrne zariadenia- zdrojové dáta MOŠ, B6 verejný vodovod - zdrojové dáta MOŠ, B7 kanalizačná sieť pripojená na ČOV- zdrojové dáta MOŠ, B8 zneškodňovaný komunálny odpad- zdrojové dáta MOŠ.

C. Váha indikátorov

V treťom kroku sme priradili váhu indikátorom, v hodntách od 1 po 4, podľa funkcie rekreačnej aktivity

Tabuľka č.1 Hodnotiaca tabuľka indikátorov rekreačného potenciálu (váhy 1-4)

		funkcie a ich váhy pre jednotlivé kategórie					
A. Prírodný potenciál		pešia turistika	cyklo-turistika	vidieckatu ristika	poľov-níctvo	Vodná rekreácia a rybárstvo	nešpecifik. turistika
A1 Lesné plochy		4	3	3	4	1	2
A2 Vodné plochy		1	1	2	1	4	2
A3 Lúky a pasienky		2	3	4	3	1	2
A4 Ostatné plochy *		1	2	4	1	1	1
A5 Chránené územia		4	4	2	x	1	x
A6 Kultúrnohist. pamiatky		3	4	2	x	1	x

* vinice, chmelnice, sady a záhrady

VÝSLEDKY

Hodnotenie prírodného potenciálu cestovného ruchu prebiehalo v postupných krokoch kde podľa vyššie uvedených kritérií boli jednotlivým katastrom prideľované body.

Tabuľka č.2 Hodnotenie prírodného potenciálu

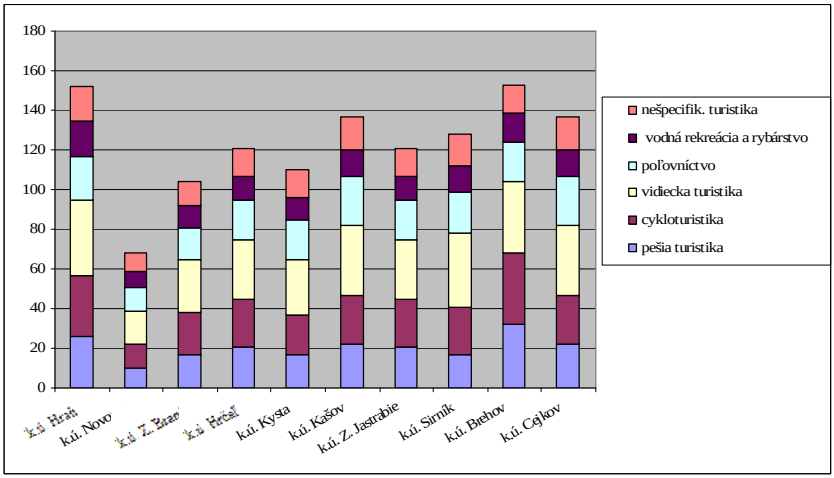
	funkcie (počet bodov predstavuje kategóriu prenásobenú váhou)						
	kategória 1-4	pešia turistika	cyklo-turistika	vidiecka turistika	poľov-níctvo	Vodná rekreácia a rybárstvo	nešpecifik. turistika
k.ú. Hraň							
A1 Lesné plochy	2	8	6	6	8	2	4
A2 Vodné plochy	2	2	2	4	2	8	4
A3 Lúky a pasienky	3	6	9	12	9	3	6
A4 Ostatné plochy	3	3	6	12	3	3	3
A5 Chránené územia	1	4	4	2	x	1	x
A6 Kultúrnohist. Pamiatky	1	3	4	2	x	1	x
spolu		26	31	38	22	18	17
k.ú. Novosad							
A1 Lesné plochy	1	4	3	3	4	1	2
A2 Vodné plochy	1	1	1	2	1	4	2
A3 Lúky a pasienky	2	4	6	8	6	2	4
A4 Ostatné plochy	1	1	2	4	1	1	1
A5 Chránené územia	x	0	0	0	x	0	x
A6 Kultúrnohist. Pamiatky	x	0	0	0	x	0	x
spolu		10	12	17	12	8	9
k.ú. Zemplínsky Branč							
A1 Lesné plochy	1	4	3	3	4	1	2
A2 Vodné plochy	1	1	1	2	1	4	2
A3 Lúky a pasienky	3	6	9	12	9	3	6
A4 Ostatné plochy	2	2	4	8	2	2	2
A5 Chránené územia	1	4	4	2	x	1	x
A6 Kultúrnohist. Pamiatky	x	0	0	0	x	0	x
spolu		17	21	27	16	11	12
k.ú. Hrčeľ							
A1 Lesné plochy	2	8	6	6	8	2	4
A2 Vodné plochy	1	1	1	2	1	4	2
A3 Lúky a pasienky	3	6	9	12	9	3	6
A4 Ostatné plochy	2	2	4	8	2	2	2
A5 Chránené územia	1	4	4	2	x	1	x
A6 Kultúrnohist. Pamiatky	x	0	0	0	x	0	x
spolu		21	24	30	20	12	14

k.ú. Kysta							
A1 Lesné plochy	2	8	6	6	8	2	4
A2 Vodné plochy	1	1	1	2	1	4	2
A3 Lúky a pasienky	3	6	9	12	9	3	6
A4 Ostatné plochy	2	2	4	8	2	2	2
A5 Chránené územia	x	0	0	0	x	0	x
A6 Kultúrnohist. Pamiatky	x	0	0	0	x	0	x
spolu		17	20	28	20	11	14
k.ú. Kašov							
A1 Lesné plochy	3	12	9	9	12	3	6
A2 Vodné plochy	1	1	1	2	1	4	2
A3 Lúky a pasienky	3	6	9	12	9	3	6
A4 Ostatné plochy	3	3	6	12	3	3	3
A5 Chránené územia	x	0	0	0	x	0	x
A6 Kultúrnohist. Pamiatky	x	0	0	0	x	0	x
spolu		22	25	35	25	13	17
k.ú. Zemplínske Jastrabie							
A1 Lesné plochy	2	8	6	6	8	2	4
A2 Vodné plochy	1	1	1	2	1	4	2
A3 Lúky a pasienky	3	6	9	12	9	3	6
A4 Ostatné plochy	2	2	4	8	2	2	2
A5 Chránené územia	1	4	4	2	x	1	x
A6 Kultúrnohist. Pamiatky	x	0	0	0	x	0	x
spolu		21	24	30	20	12	14
k.ú. Sirník							
A1 Lesné plochy	1	4	3	3	4	1	2
A2 Vodné plochy	1	1	1	2	1	4	2
A3 Lúky a pasienky	4	8	12	16	12	4	8
A4 Ostatné plochy	4	4	8	16	4	4	4
A5 Chránené územia	x	0	0	0	x	0	x
A6 Kultúrnohist. Pamiatky	x	0	0	0	x	0	x
spolu		17	24	37	21	13	16
k.ú. Brehov							
A1 Lesné plochy	2	8	6	6	8	2	4
A2 Vodné plochy	1	1	1	2	1	4	2
A3 Lúky a pasienky	3	6	9	12	9	3	6
A4 Ostatné plochy	2	2	4	8	2	2	2
A5 Chránené územia	3	12	12	6	x	3	x
A6 Kultúrnohist. Pamiatky	1	3	4	2	x	1	x
spolu		32	36	36	20	15	14

k.ú. Cejkov							
A1 Lesné plochy	3	12	9	9	12	3	6
A2 Vodné plochy	1	1	1	2	1	4	2
A3 Lúky a pasienky	3	6	9	12	9	3	6
A4 Ostatné plochy	3	3	6	12	3	3	3
A5 Chránené územia	x	0	0	0	x	0	x
A6 Kultúrnohist. Pamiatky	x	0	0	0	x	0	x
spolu		22	25	35	25	13	17

Najkvalitnejší prírodný potenciál pre cestovný ruch v modelovom území majú katastre obcí Brehov (153 bodov) a Hrane (152 bodov). Využitie tohto potenciálu je výrazne poddimenzované. Naopak najmenšie hodnoty dosiahli katastre Zemplínsky Branč (110 bodov) a Novosad (68 bodov). Vzhľadom na veľkosť záujmového územia, neprekvapil fakt, že väčšina katastrov ma podobný prírodný potenciál pre rozvoj cestovného ruchu. To isté platí aj pri diferenciácii prírodných predpokladov pre jednotlivé funkcie cestovného ruchu. Potenciály pre jednotlivé funkcie sú s výnimkou Novosadu veľmi podobné. Taktiež potenciál pre pešiu turistiku a cykloturistiku je takmer identický.

Graf č.1 Hodnotenie rekreačného potenciálu



Tabuľka č.3 Hodnotenie rekreačnej a environmentálnej infraštruktúry

	k.ú. Hraň	k.ú. Novosad	k.ú. Zempl. Branč	k.ú. Hrčeľ	k.ú. Kysta
B1 ubytovanie	0	0	0	0	0
B2 inf. stredisko	0	0	0	0	0
B3 turistické trasy	0	0	0	0	0
B4 športové zariadenia	2	1	0	1	1
B5 kultúrne zariadenia	0	1	0	1	0
B6 verejný vodovod	1	1	1	1	1
B7 kanalizačná sieť	0	0	0	0	0
B8 zneškodňovaný KO	1	1	1	1	1
spolu	4	4	2	4	3

	k.ú. Kašov	k.ú. Z. Jastrabie	k.ú. Sirník	k.ú. Brehov	k.ú. Cejkov
B1 ubytovanie	0	0	0	0	0
B2 inf. stredisko	0	0	0	0	0
B3 turistické trasy	0	0	0	0	0
B4 športové zariadenia	0	1	0	1	1
B5 kultúrne zariadenia	0	0	0	1	1
B6 verejný vodovod	1	0	1	1	0
B7 kanalizačná sieť	0	0	0	0	0
B8 zneškodňovaný KO	1	1	1	1	1
spolu	2	2	2	4	3

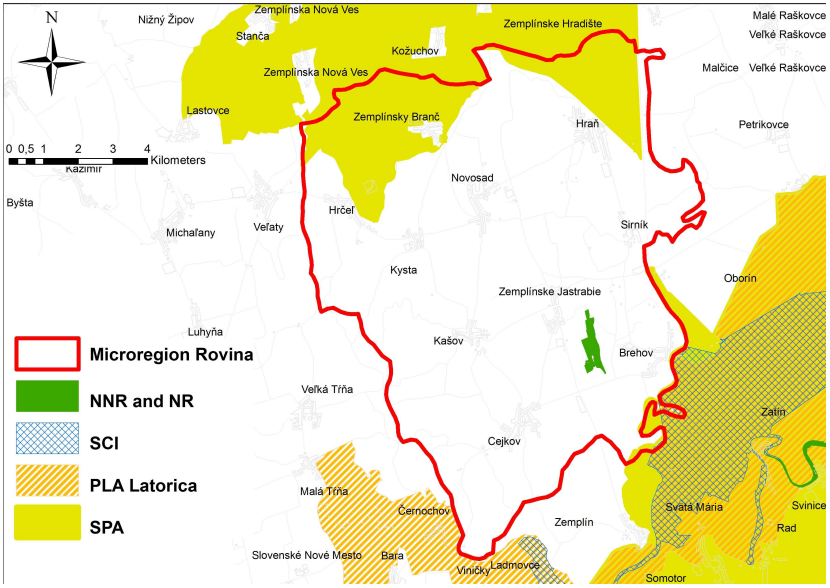
Výsledky v tabuľke č. 3 ukázali, že celá oblasť mikroregiónu Rovina je takmer bez rekreačnej infraštruktúry. Čo sa týka environmentálnej infraštruktúry je pomerne dobre rozvinutá sieť verejného vodovodu, taktiež nechýba zber KO v každej obci. Kanalizačná sieť s napojením na ČOV je všeobecne problém rurálnej oblasti celej Východoslovenskej oblasti.

DISKUSIA

Z obrázka č.1 vyplýva, že väčšina územia leží mimo chránených území (CHÚ). Do záujmového územia zasahuje v severnej časti Chránené vtáčie územie Ondavská rovina a v k.ú. Zemlínske Jastrabie leží Prírodná rezervácia Zemplínska jelšina.

Obrázok č.1 Chránené územia a mikroregión Rovina

CHVÚ – Chránené vtáčie územie, NPR – Národná prírodná rezervácia, PR – Prírodná rezervácia, ÚEV – územie európskeho významu



Zdroj: ŠOP SR, S CHKO Latorica

Hodnotenie prírodného potenciálu musí byť vždy v spojitosti s ochranou prírody a krajiny a socio-ekonomickými aspektmi. V súčasnosti je často krát rozvoj turizmu v konflikte záujmov s ochranou prírody a krajiny. Tento fakt vôbec neprekvapuje nakoľko konvenčný turizmus stavia do popredia maximalizáciu zisku v čo najkratšom čase bez ohľadu na environmentálne a soci-ekonomické aspekty. Taktiež súčasný turizmus je závislý na veľkých počiatočných finančných vstupoch, náročné na veľké investície pre „veľké“ atrakcie ako napr. aquaparky, lunaparky, lyžiarske strediská atď. Na druhej strane „mäkký“ turizmus a najmä agroturizmu ponúka mnohé možnosti. Nepotrebuje veľké finančné vstupy a zakladá sa na poľnohospodárskom využití zeme a kultúrno – historických tradíciách.

Hodnotenie prírodného potenciálu v tomto článku, nemusí slúžiť iba ako ukazovateľ potenciálu rozvoja turizmu ale môže byť zároveň ukazovateľom ekologickej stability. Kataster obce Novosad tvoria z 90 % poľnohospodárske monokultúry. V tomto území je žiaduce zvýšiť podiel prírodných a poloprírodných plôch, aby sa zvýšila ekologická stabilita územia.

Ochrana prírody v súčasnosti bazíruje už na existujúcich prvkoch a predmetoch ochrany, ale vhodným manažmentom a využívaním zeme, sa tieto chránené náležitosti môžu spontánne rozšíriť

aj do oblastí mimo chránených území. Ochrana prírody na Slovensku v súčasnosti čelí mnohým problémom ako je zánik predmetu ochrany, fragmetácií biotopov, vyhlasovanie nových CHÚ, najmä Natury 2000, na súkromných pozemkoch a nerešpektovanie vlastníckych práv štátom, zlá komunikácia medzi zainteresovanými skupinami, porušovanie zákazových činností, legislatívne nedostatky. Preto vhodný manažment a využívanie zeme môžu byť výrazným nástrojom na zlepšenie celkového stavu v ochrane prírody a krajiny.

Za zmienku taktiež stojí fakt, že takmer v každom katastri skúmaného územia sa vyskytuje pomerne veľké percento opustených poľnohospodárskych plôch – úhorov. Tieto plochy by mohli byť využité na pestovanie fytomasy, či už na energetické účely alebo iné priemyselné odvetvia ako farmácia a stavebníctvo.

ZÁVER

Problematika rozvoja vidieka v slovenských podmienkach je nesmierne komplexná. Tento článok môže poslúžiť ako príklad implementačného nástroja pre rozvoj cestovného ruchu v mikroregione. Môže poslúžiť pre štátnu, verejnú správu a hlavne miestnu samosprávu ako nástroj na efektívne využívanie finančných zdrojov z EÚ pri budovaní environmentálnej a finančnej infraštruktúry. Vytvára priestor pre otázku ako rozvíjať turizmus s rešpektovaním všetkých environmentálnych aspektov. V skúmanom mikroregióne Rovina napriek vysokému prírodnému potenciálu a absencii priemyslu, za posledných 20 rokov nedošlo k akémukoľvek náznaku rozvoja turizmu. Zlá socio-ekonomická situácia v regióne, by mala byť kľúčovým aspektom pre kompetentné samosprávy na naštartovanie tohto rozvoja. Rozvoj trvalo udržateľného turizmu a typických vidieckych aktivít v súlade s ochranou prírody a krajiny, by mohlo byť riešením problémov v danom regióne.

LITERATÚRA

Anděl, J., Balej, M., Suchevič, S., (2008): Hodnocení rekreačního potenciálu krajiny, In: Komplexní geografický výzkum kulturní krajny, II. díl, KG PrF UJEP v Ústí nad Labem, Ing. Tomáš Mikulenka, Ústí nad Labem, s. 113-125

EC, (2001): Regard to the European Strategy of Sustainable Development

Hanušin, J. et al., (2000): Výkladový slovník termínov z trvalej udržateľnosti, STUŽ, Bratislava, 158 s.

Hrnciarova, T. et al., (2002): Landscape Atlas of the Slovak Republic, Ministry of the Environment of the Slovak Republic, Bratislava, Esprit, Banska Stiavnica

Krnáčová, Z., Pavličkova, K., Hrnčiarová., (2010): Ekologický model rozvoja vidieckeho cestovného ruchu v súlade s krajinnoekologickým potenciálom krajiny. Ústav záhradného a krajinného inžinierstva STU Bratislava, s. 39-60

Krogmann, A., (1998): Exogénny turizmus Slovenskej republiky. In: Geografické informácie 5. Nitra: UKF, 1998. s. 61-64

Pavlickova, K., Chrenscova, V., Hudecova, B., (2006): Different approaches to the evaluation of land use according to social-economic conditions, In: Implementation of Landscape Ecology in New and Changing Conditions, Nitra : Institue of Landscape Ecology of the Slovak Academy of Sciences, p. 42-43

Pavlickova, K., (2008): Hodnotenie vplyvov rozvoja vidieka na životné prostredie na príklade zariadení cestovného ruchu, Geographia Cassoviensis, II, 1/2008, s. 117 - 121

Pokladníková, H., (2004). Agroturistika na Znojemsku. In: Zborník z konferencie Venkovská krajina, Slavičín, 2004 s. 157 – 160

Ryan, C., (2003): Recreation and Tourism: Demands and Impacts, Channel View Publications, Clevedon, 358 p.

Šarapatka, B., Niggli, U.,(2008): Zemedelství a krajina. Cesty k vzájemnému souladu, Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc, 271 s.

VKÚ Harmanec, (2004): Rybárska mapa Slovenskej republiky 1:250 000

VKÚ Harmanec, (2001): Zemplínske vrchy - Latorická rovina - turistická mapa č. 148

VKÚ Harmanec, (2004): Východoslovenská rovina – Veľké Kapušany - turistická mapa č. 147

http://www.sazp.sk/

http://www.sopsr.sk/

http://www.statistics.sk/

POSSIBILITIES FOR UTILIZATION OF THE DISPERSED SETTLEMENT POTENTIAL OF NOVÁ BAŇA "ŠTÁL" AREA

Šuhajdová L., Hamada M.

Department of Regional and Rural Studies, Faculty of European Studies and Regional Development , Slovak University of Agriculture in Nitra, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic

E-mail: lenka.suhajdova89@gmail.com

ABSTRACT

In Slovakia, there are as much as five areas characterized by the typical dispersed settlement. One of them is Nová Baňa "štál" area in the central Slovakia which is the object of the article. The dispersed settlement was established there in 14th century and it has still preserved its typical features: besides the settlement itself, there are various cultural peculiarities, typical events, high quality environment. However, housing is no longer the only function of the area. The whole area possesses important potential for the development of rural tourism, particularly ecotourism. It is mainly due to diversity of all components of nature connected with the specific settlement. In the article we mention concrete proposals for better utilization of the potential in three main areas: the dispersed settlement itself, the development of sport and recreational activities and facilities, and the awareness of the microregion.

Key words: dispersed settlement, ecotourism, rural tourism

ÚVOD

Sídelná štruktúra na Slovensku je charakteristická vidieckym osídlením, z toho dôvodu vytvára krajina vhodný potenciál pre rozvoj vidieckeho cestovného ruchu. Jeho rozvoj na slovenskom vidieku chápeme ako súčasť regionálneho rozvoja a ochrany životného prostredia. V súčasnom období sa do popredia na trhu cestovného ruchu dostávajú najmä individuálne formy cestovného ruchu, orientované na tiché a pokojné miesta, kde si rekreant môže nielen oddýchnuť, regenerovať svoje sily, ale má i priamy kontakt s prírodou resp. s vidieckym prostredím, kde sa môže oboznamovať i s množstvom zaujímavých kultúrnohistorických pamiatok. *Petrovič a Muchová (2008)* uvádzajú ako jeden zo zachovaných historických krajinných štruktúr kopaničiarske alebo rozptýlené osídlenie, ktoré má potenciál práve pre uvedené formy turizmu.

Rozptýlené osídlenie predstavuje svojbytný fenomén, ku ktorému sa dá pristupovať z najrôznejších hľadísk: historického, národopisného, sociálno-antropologického, demografického, urbanistického, či krajinnoekologického, ale i viacerých ďalších. Rozptýlené osídlenie, vzhľadom na svoje relatívne dobre zakonzervované unikátne črty, ale aj preto, že je zo všetkých sídelných typov najviac poznamenané depopulačnými tendenciami s nasledujúcou zmenou pôvodného charakteru až zánikom, predstavuje aktuálnu výzvu pre vedu a výskum. Rozptýlené osídlenie, krajina s rozptýleným osídlením a transformačné procesy, ktoré v nich prebiehajú, sú však nielen teoretickým, ale ešte viac praktickým problémom, ktorým je potrebné sa zaoberať *(Huba – Ungerman, 1997).*

Rippon, Fyfe a Brown (2006) z historického hľadiska hovoria o vzorci rozptýleného osídlenia. Ide o "početné izolované usadlosti umiestnené mimo prechodných ciest, prístupné úzkymi cestičkami; pár samôt stojacich najmä pri križovatkách a farských kostoloch." Autori ďalej popisujú miestne cesty ako vlnité a úzke, hovoria tiež o štvorcoch poľnohospodárskej pôdy.

Pojem kopanica nie je jediným pojmom označujúcim rozptýlené sídlo založené na báze poľnohospodárstva. Daný typ osídlenia označujú aj ďalšie regionálne názvy (napr. lazy, štále, rale, pľace, klčoviská, kopánky, nivky, vrchy a iné). Pojem vyjadruje spôsob získania a obrábania pôdy. Na Slovensku sa vyčleňuje päť hlavných oblastí: (1.) oblasť kopaničiarskeho osídlenia v Slovenskom Rudohorí a v okolitých pohoriach Slovenského stredohoria (Detvianska laznícka oblasť), (2.) Javorníckobeskydská kopaničiarska oblasť, (3.) Kopaničiarska oblasť Bielych Karpát a Myjavskej pahorkatiny, (4.) Novobanská kopaničiarska (štálová) oblasť, (5.) oblasť kopaničiarskeho osídlenia v Strážovských vrchoch (Valašsko-belianska oblasť) *(Petrovič,2007).*

Podľa *Šardzíkovej – Zubriczkého (2008)* predstavovalo rozptýlené osídlenie počas celej svojej histórie extrémny sídelný prejav, pohybovalo sa vždy vlastne na okraji „bytia a nebytia“ a vykazovalo najmenšiu stabilitu v porovnaní s ostatnými sídelnými typmi. Jeho rozvoj kulminoval

v minulom storočí, no v súčasnosti predstavujú kopaničiarske sídla sídelný typ najmarkantnejšie postihnutý depopuláciou a mnohé postupne zaniknú.

METODIKA A MATERIÁL

Príspevok bol spracovaný na základe bakalárskej práce ocenenej v rámci Študentskej vedeckej činnosti. Objektom výskumu bola Novobanská štálová oblasť. Zamerali sme sa na charakteristiku danej oblasti jednak na základe literatúry, ale tiež osobnej skúsenosti (autorka sama z uvedenej oblasti pochádza) a následne sme zhodnotili jej potenciál pre rozvoj vidieckeho turizmu. Napokon sme dospeli k niekoľkým záverom, uskutočniteľným v praxi pre daný región.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Charakteristika a vývoj záujmového územia

Charakteristickou črtou regiónu je tzv. štálový typ osídlenia. Dominuje hlavne v časti Novej Bane, ktorá sa nazýva Štále a v obciach Malá Lehota a Veľká Lehota. Podľa geomorfologického členenia patrí spomínaný typ rozptýleného osídlenia do Novobanskej štálovej oblasti. Rozprestiera sa na vrchovine pohorí Tríbeč, Pohronský Inovec a Vtáčnik. Táto oblasť zahŕňa obce medzi Novou Baňou, Zlatými Moravcami, Žarnovicou a Oslanmi až po Handlovú. Základné údaje o Novobanskej štálovej oblasti sú uvedené v nasledujúcej Tab. 1. Z daných údajov vidíme razantný pokles štálov, ktorý nie je však ovplyvnený ich zánikom, nakoľko v porovnaní s rokom 1961 sa počet štálov znížil iba o 5 zo 174 na 169. V súčasnosti už niekoľko štálov nemá stálych alebo pôvodných obyvateľov, pričom tento trend bude pravdepodobne narastať a dá sa predpokladať, že o pár rokov bude väčšina oblastí rozptýleného osídlenia transformovaná na rekreačné oblasti.

Tab. 1 Základné údaje o Novobanskej štálovej oblasti

	Počet obyv.	Hustota obyv. (na km^2)	Počet obyv. v centách obcí	Počet štálov	Počet obyv. v štáloch	Podiel obyv. v centrách obcí (%)	Podiel obyv. (%)
1.3.1966	20 846	66,4	12 755	174	8 091	61,2	39
30.6.2006	18 442	58,8	16 123	169	2 357	87,2	13
Rozdiel (v %)	-11,53	-11,53	26,41	-5	-70,87	42,48	-67,01

Zdroj: Enviromagazín, roč. 9, 2007, č. 3, vlastné spracovanie.

Kopaničiarske osídlenie priamo v mikroregióne vznikalo pôvodne v 14. storočí v spojitosti s baníctvom, uhliarstvom a pastierstvom, neskôr v dôsledku hospodársko- spoločenských zmien aj v súvislosti s poľnohospodárstvom. Termín „štále“ definuje *Stránska (1966)* v súvislosti s terminológiou stredoslovenského nemeckého obyvateľstva, ktoré sa sem dostalo v období rozvoja baníctva v 14.storočí. Nemeckí prisťahovalci svoje chotárne, sezónne sídla volali „stande“, a aj slovenské štále boli spočiatku iba sezónnym osídlením s obydliami a hospodárskymi budovami,

ktoré slúžili na letné ale aj zimné ustajnenie dobytka. V prípade Novej Bane a susedných Lehôt sa však už v druhej polovici 14.storočia väčšina týchto sezónnych sídiel mení na trvalé sídla. K ľudovej architektúre oblasti patrili blokové, prípadne zrubové domy so slamenou alebo šindľovou strechou. Bývali omazané a obielené, aj podpivničené a stavané do svahu. Vo Veľkej Lehote bolo ešte v 60. rokoch zachovaných mnoho pôvodných objektov ľudovej architektúry so slamenými strechami.

Súčasný stav rozptýleného osídlenia v mikroregióne Nová Baňa

Malú Lehotu tvorí 17 štálov a Veľkú Lehotu 15 štálov. Vzdialené sú od seba aj niekoľko kilometrov. Osamelé skupinky domov a časti štálov sú pomenované podľa ich majiteľov, napr. Hubačov, Pacalajov, Debnárov, Blaškov a podobne. Väčšina názvov samôt, skupín domov novobanských Štálov je odvodená od osobných mien pôvodných alebo neskorších majiteľov príponou, napr. Bartošovci, Ištvánikovci, Feriancovci, Osúchovci, Lietajovci a podobne.

Rozptýlené osídlenie v skúmanej oblasti ostalo takmer v pôvodnej forme a podobe, avšak už neplní len svoju primárnu funkciu – bývanie. Do popredia sa dostáva hlavne chalupárstvo. Je to osobitá forma cestovného ruchu, ktorá sa v danej oblasti rozvíja už od 90-tych rokov minulého storočia. Maximálnu intenzitu však nadobúda až v posledných rokoch. Tento jav sa dá pozorovať na množstve trvalo neobývaných domov, ktoré z veľkej časti slúžia ako chaty. Spomínanú situáciu môžeme sledovať v Tab.2.

Tab. 2 Stav domového fondu rozptýleného osídlenia v roku 2001

Obec/časť mesta	Počet obyv.	Neobývané/opustené domy	Obývané domy	Chaty	Spolu
Novobanské Štále	952	36	262	94	392
Veľká Lehota	1 202	54	398	57	509
Malá Lehota	923	77	334	120	531

Zdroj: Interné materiály - Obecný úrad Veľká Lehota, Obecný úrad Malá Lehota, Mestský úrad Nová Baňa, vlastné spracovanie

Rozptýlené osídlenie je typické zachovávaním rôznych ľudových tradícii a zvykov, a to hlavne počas veľkonočných a vianočných sviatkov, ale aj počas fašiangov, kedy nesmie v obciach Malá a Veľká Lehota chýbať tradičný ľudový nástroj – **gajdy**. Tento nástroj v súčasnosti vytláča harmonika, či heligónka a keďže gajdošov a gajdošských muzík už nie je veľa, každoročne sa v obci Malá Lehota v piatok pred Popolcovou stredou konajú Gajdošské fašiangy. Je to festival gajdošov s medzinárodnou účasťou. Folklór má dominantné postavenie aj vo Veľkej Lehote. Zachoval sa ľudový kroj, kultúrne tradície a zvyky, ako sú fašiangy, páračky, výroba tkaných kobercov a spievanie vianočných kolied. Kultúrne tradície obce udržujú ženské, mužské aj detské **spevácke skupiny**. V novobanských Štáloch takisto ľudové tradície neutíchajú. Veľkú noc oslavuje

hlavne mladá generácia veľmi špecificky. V nedeľu poobede sa koná **hromadná oblievačka**. Chlapci v krojoch a s vedrami plnými vody si posadajú na voz, ktorý je vedený traktorom a idú za dievkami, ktoré poriadne pooblievajú. Popri tom si spievajú ľudové pesničky a hrajú na ľudových nástrojoch. V pondelok poobede prichádzajú na rad dievčatá. Oblečú si kroje, uviažu si stužky do vlasov a nasadnú na voz. Vedrá vymenia za ručne pletené korbáče a pri hlasitom speve sprevádzanom hudbou vyplácajú nedeľňajších návštevníkov.

Skúmané územie je charakteristické aj **materiálnym kultúrnym** a **prírodným dedičstvom**. V každej oblasti sa nachádza kostol, viacero kaplniek a zaujímavým kultúrnym prvkom sú unikátne drevené kríže. Čo sa týka prírodného dedičstva, územie disponuje viacerými prírodnými pamiatkami. Nachádza sa tu národná prírodná pamiatka Andezitové kamenné more, prírodná rezervácia Sokolec, Jazvínska jaskyňa a zaujímavým prvkom prírody je náučný chodník Vojšín a hlavne jeho prvá zastávka, ktorou je národná prírodná pamiatka Starohutiansky vodopád.

V oblastiach s rozptýleným osídlením nechýbajú ani **športovo-rekreačné aktivity**, nakoľko dané územie poskytuje množstvo možností pre rekreáciu. V každej oblasti môžeme nájsť minimálne jeden **ranč** alebo **jazdeckú školu.** Veľmi atraktívne pôsobí Horský ranč v časti novobanských Štálov. Poskytuje nielen jazdecké kurzy pre začiatočníkov a pokročilých a možnosti ustajnenia koní, ale aj možnosti ubytovania, detských táborov, animoterapie, dokonca aj zoštíhľujúcich pobytov. Pre novobanské Štále je typická rekreačná oblasť Tajch, ktorej dominantou je vodná nádrž. V lete slúži turistom na kúpanie, ale okrem iného aj rekreačnému a športovému rybolovu. V zime je využívaná ako klzisko. Rekreačná oblasť je vybavená aj kempingom, ktorý je určený na kempovanie a karavany. Veľká Lehota má vytvorené priaznivé podmienky pre zimné športy, najmä pre **lyžovanie**. K dispozícii sú tri lyžiarske strediská a to na Vojšíne, Drozdove a Hubačove. Stredisko Vojšín poskytuje možnosť večerného lyžovania pri umelom osvetlení a stredisko Drozdovo sa stalo miestom konania súťaží Majstrovstiev Slovenska v psích záprahoch, ktoré sú sprevádzané atraktívnymi podujatiami ako je jazda na koni či let v balóne.

Zhodnotenie nadobudnutých výsledkov

Pri sledovaní a analýze danej problematiky sme dospeli k názoru, že daný región disponuje čarom nedotknutej prírody, pričom hodnota atraktivity regiónu spočíva hlavne v existencii rozptýleného osídlenia. Potenciál ďalšieho rozvoja vidíme v trende ekoturistiky, čo je zodpovedné cestovanie do prírodných oblastí, ktoré je ohľaduplné k životnému prostrediu a zlepšuje kvalitu života lokálneho obyvateľstva a taktiež je súčasťou trvalo udržateľného turizmu (*Weaver,2001).*

Ekoturizmus je novou formou cestovného ruchu, ktorá má malý dopad na životné prostredie, čo je v súčasnej dobe veľmi potrebné. Tento druh turistiky je spojený s putovaním prírodou a jej bližším spoznávaním. Najvhodnejším dopravným prostriedkom pre túto formu cestovného ruchu je bicykel. Ekoturizmus sa snaží podporovať trvalo udržateľný rozvoj a zvyšuje chrániť prírodné a kultúrne dedičstvo. Napomáha však aj miestnym obyvateľom, ktorým poskytuje pracovné miesta napr. prostredníctvom propagácie regiónu a jeho ľudových remesiel a tradícii. Na základe prírodných a kultúrnych podmienok, ktoré sa v mikroregióne nachádzajú, by bolo vhodné rozvíjať práve

spomínanú formu cestovného ruchu-ekoturizmus a to i z toho dôvodu, že súčasným trendom cestovného ruchu je skracovať si dovolenky a aktívne ich využívať na získavanie nových zážitkov. Tie môžu dovolenkárom poskytnúť práve trvalo udržateľné formy turizmu.

Pre ďalší rozvoj mikroregiónu a jeho rozptýleného osídlenia, zvýšenie jeho atraktivity navrhujeme nasledovné opatrenia, resp. možnosti využitia vidieckej krajiny v danom území, ktoré sme rozdelili do troch skupín. Prvú skupinu tvoria návrhy pre rozvoj rozptýleného osídlenia. V prvom rade by bolo potrebné podporovať rozvoj cestovného ruchu vo forme vidieckeho turizmu s podporou chatárčenia alebo tzv. „druhého bývania“, aby nedošlo k zániku niektorých častí spomínaného územia, ale naopak, aby bolo impulzom pre ďalší rozvoj. Na danom území sa nachádza len veľmi málo zariadení založených na myšlienke trvalej udržateľnosti, z toho dôvodu by sa mohol podporiť ich vznik resp. skvalitnenie existujúcich zariadení a zvýšenie informovanosti o ich existencii prostredníctvom informačných panelov a máp. Oblasť rozptýleného osídlenia je typická zachovávaním a rozvíjaním kultúrneho dedičstva, čo môže prispieť k rozvoju cestovného ruchu a to aj vďaka rekonštrukcie remeselných dvorov, obnovy tradičných remeselných postupov, podpory folklóru a ľudových tradícii, ale aj zapojením miestnych obyvateľov do rozvoja regiónu prostredníctvom ukážok tradičných remesiel a výrobkov, čím sa môže rozšíriť ponuka pracovných príležitostí. Zvýšenie návštevnosti môžu umožniť aj rôzne kultúrne a pravidelne opakujúce sa regionálne kultúrne podujatia, ktoré rozvíjajú jedinečnosť miestnej kultúry a miestnych tradícií. V oblastiach s roztratenými sídlami je veľký problém s frekvenciou autobusových spojov spájajúcich územia s rozptýleným osídlením s územiami mestského charakteru, preto je potrebná rekonštrukcia dopravnej infraštruktúry. V druhej časti sme sa zamerali na podporu rozvoja športovo-rekreačných aktivít a zariadení. V oblasti nie je vybudovaná kvalitná cykloturistická trasa, pričom jej vybudovanie by posilnilo podmienky cyklistickej dopravy v regióne. S tým súvisí aj rozšírenie a skvalitnenie značkovania náučných chodníkov, trás pre bežecké lyžovanie a cykloturistiku. Pravidelné upravovanie a udržiavanie stavu trias, prípadne zriadenie informačných a smerových tabúľ aj v cudzích jazykoch by prispelo k lepšej informovanosti návštevníkov o okolí regiónu. Taktiež by bolo potrebné skvalitniť služby a vybavenie lyžiarskych stredísk, skvalitniť a rozšíriť parkovacie služby, ale aj ubytovacie a stravovacie služby, udržiavať lyžiarske svahy, a poskytovať požičiavanie alebo predaj športových potrieb. Čo sa týka rekreačného strediska Tajch, navrhujeme dokončiť jeho rekonštrukciu, vyčistiť vodnú nádrž, dobudovať rekreačné zariadenia, a tým zvýšiť atraktivitu územia. Neodmysliteľnou súčasťou rekonštrukcie je aj modernizácia kempingového ubytovania vrátane oplotenia a osvetlenia. V poslednej časti sme sa venovali rozvoju informovanosti o mikroregióne. Aj napriek tomu, že územie disponuje vysokým potenciálom pre rozvoj cestovného ruchu, návštevníci sú slabo informovaní o existencii niektorých zariadení alebo atrakcií, ktoré im daná oblasť ponúka, preto by bolo vhodným riešením rozšíriť ponuku informácií a skvalitniť služby v existujúcom informačnom centre, ktoré je umiestnené v meste Nová Baňa a v okolitých obciach umiestniť odkazy na príslušné centrum.

ZÁVER

Originalita typu rozptýleného osídlenia spočíva v jeho obmedzenom výskyte. Pri súčasných vývojových tendenciách môže dôjsť až k zániku tohto špecifického a raritného osídlenia, a preto by sa mu mala venovať nielen zvýšená pozornosť, ale aj hľadať riešenia na zachovanie historických krajinných štruktúr, ktoré v týchto regiónoch tvoria dominantné prvky krajiny *(Petrovič, 2007)*.

Kopaničiarske oblasti mikroregiónu sú typické nenarušenou krásou prírody, zachovávaním tradičných remesiel a zvykov, ale aj postupným zánikom primárnej funkcie rozptýleného osídlenia, ktorým je v prvom rade bývanie, meniace sa na sekundárnu funkciu-chatárčenie. Priaznivá lokalizácia v turisticky atraktívnej krajine, v mozaike lúk, pasienkov a lesov spôsobuje nárast krátkodobej rekreácie a následne zmenu domového fondu. Pozitívnym prvkom tejto zmeny je vo väčšine prípadov zachovanie pôvodnej architektúry, čo následne môže kladne ovplyvniť vnímanie sledovaného územia aj pre budúcich, perspektívnych návštevníkov. Predpokladom úspešného rozvoja územia je zdôrazniť a rozvinúť novodobú formu turizmu - ekoturizmus, zabezpečiť kvalitné uspokojovanie potrieb turistov prostredníctvom vybudovania, rekonštrukcie a skvalitnenia športovo-rekreačných zariadení, zachovávaním tradičných zvykov a na základe propagácie regiónu prispieť k informovanosti o atraktivite regiónu.

LITERATÚRA

FENNELL, D. A. 2006. Ecotourism: an introduction. 2.vyd. New York: Routledge, 2006. 236s. ISBN 0-41530-364-8

HINDICKÝ, J. 1992. Miestne a pomiestne názvy Novej Bane. Nová Baňa: Mestský úrad Nová Baňa, 1992. 28 s.

HORVÁTH, P. 1980. Historický prehľad vzniku a rozvoja chotárnych sídel v slovenskej časti Karpat. In Slovenský národopis, roč. 28, 1980, č. 1, s. 8-17.

HUBA, M., UNGERMAN, J. 1997. Kopaničiarske osídlenie, životné prostredie a trvalo udržateľný spôsob existencie. In Životné prostredie [online], roč. 31, 1997, č. 2, [cit. 2011-01-11]. Dostupné na: <file:///D:/%C5%A0kola/Bakal%C3%A1rka/huba-kopanice-definicie.htm>.

PETROVIČ, F. 2007. Originalita rozptýleného osídlenia na Slovensku. In Enviromagazín, roč. 9, 2007, č. 3, s. 24-25.

PETROVIČ, F. 2006. Vzťah rozptýleného osídlenia k morfometricko-polohovým vlastnostiam reliéfu. In Acta environmentalica universitatis comenianae, roč. 14, 2006, č. 1, s. 105-113. ISSN 1335-0285.

PETROVIČ, F., MUCHOVÁ, Z. 2008. Vývoj krajiny s rozptýleným osídlením na príklade obce Horné Hámre. In Geografická revue, roč. 4, 2008, č. 2, s.350-363.

RIPPON, S. J. - FYFE, R. M. - BROWN, A. G. 2006. Beyond Villages and Open Fields: The Origins and Development of a Historic Landscape Characterised by Dispersed Settlement in South-West England. [online] In Medieval Archeology, roč. 50, 2006. [cit. 2011-10-01] . Dostupné na: https://eric.exeter.ac.uk/repository/bitstream/handle/10036/20862/beyond%20villages.pdf?sequence=1 ISSN 0076-6097

STRÁNSKA, D. 1966. K otázce zvýšených staveb na Slovensku. In Slovenský národopis, roč. 14, 1966, č. 1, s. 65-122.

ŠARDZÍKOVÁ, M., ZUBRICZKÝ, G. 2008. Geografický výskum rozptýleného vidieckeho osídlenia na príklade obce Papradno. In Geografická revue, roč. 4, 2008, č. 2, s. 429-440.

WEAVER, D. 2001. The encyclopedia of ecotourism. Londýn:CABI Publishing, 2001. 668 s. ISBN 0-85199-368-0.

PRECONDITIONS FOR THE DEVELOPMENT OF A RURAL MICROREGION SITUATED IN AN INNER PERIPHERY – CASE STUDY OF JEVÍČKO

Žitňáková J., Vaishar A.

Department of Applied and Landscape Ecology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: janazitnakova@seznam.cz

ABSTRACT

The aim of the thesis was to define the microregion Jevíčko and to provide a brief look on the entire territory and its villages, to give a summary of the most important strong and weak points, opportunities and threats (a SWOT analysis) and to evaluate the development potential of Jevíčko as a rural peripheral region according to the results of the analysis. The thesis itself is based on a literature research, on an analysis of statistical data, on a detailed survey of the region and on results of a questionnaire. The whole microregion currently ranks among economically weak regions with poor transport infrastructure and low business activity. The location on the border of three administrative regions, the necessity of commute to workplaces, a poor condition of roads and an underdeveloped tourism infrastructure – all these belong to the weaknesses in this area. The location in Malá Haná, environment without heavy industry, the nature of soils suitable for agriculture and connection to the IDS JMK (an integrated transport system of the South Moravian region) – these things can strongly support the future development of the region Jevíčko. The threats are especially aging population, migration of young people to cities and growing unemployment. With such a high unemployment rate this region represents a good business opportunities because it is a source of cheap labour. The region also has good preconditions for the development of small businesses and agrotourism. A long time ago suggested construction of the road R43 is a source of conflicts in this region. The construction could create new jobs but it could also harm a valuable part of this territory.

Key words: inner periphery, the town of Jevíčko, Malá Haná, village, rural area, microregion Jevíčsko, Moravskotřebovsko region

ÚVOD

Vnitřní periferie je tradiční českou venkovskou oblastí, kde v krajině vznikalo velké množství malých sídel, která jsou relativně blízko u sebe a navazují jedno na druhé. V 50. a 60. letech 20. století byla tato oblast hlavním zdrojem pracovních sil při poslední vlně emigrace z venkova do center těžby, strojírenství a těžkého průmyslu. V období koncentrace z těchto sídel prakticky zmizela přirozená hospodářská základna včetně provozů zemědělské výroby a občanské vybavenosti. Vzhledem k velikosti obcí byla a je občanská vybavenost na poměrně nízké úrovni. Pracovní příležitosti pro obyvatele této oblasti jsou především v okresních městech či regionálních centrech, která jsou však excentricky situována a je nutné do těchto měst dojíždět. Dalším problémem těchto regionů je nízká intenzita veřejné dopravy. Venkovská stavení v jednotlivých sídlech začali využívat obyvatelé měst jako chalupy, v blízkosti větších sídel se rychle rozvíjely chatové a zahrádkářské osady. (Perlín, 1998)

Mikroregion Jevíčko leží v úrodné oblasti Malé Hané a je tvořen obcemi Bělá u Jevíčka, Biskupice, Březina, Březinky, Hartinkov, Chornice, Jaroměřice, Jevíčko, Slatina, Víska u Jevíčka, Vrážné a Vysoká. Celá oblast spadá pod správu Pardubického kraje, okres Svitavy, správní obvod Moravská Třebová. Jevíčsko patřilo do roku 1960 k historickému území Moravy, nicméně od daného data je území součástí Čech, což znamenalo jednak změnu spádovosti, ale i změny v běžném životě lidí. Dosud zde přetrvává určité napětí mezi správní příslušností (východní Čechy) a historickými, kulturními i dopravními vazbami na Moravu. Lze také říci, že území se vyznačuje trojnásobnou periferností, jelikož leží na okraji okresu Svitavy, Pardubického kraje a historické země Morava. Zároveň je jeho poloha na rozmezí Pardubického, Olomouckého a Jihomoravského kraje. Samotné město Jevíčko je spádovým centrem jednak pro obce mikroregionu, ale z hlediska existence lékařského a školního zařízení i pro nejbližší sídla v okrese Blansko. Celá oblast mikroregionu se v současné době řadí mezi hospodářsky slabé regiony s nedostatečnou dopravní obslužností a minimem podnikatelských aktivit.

MATERIÁL A METODIKA

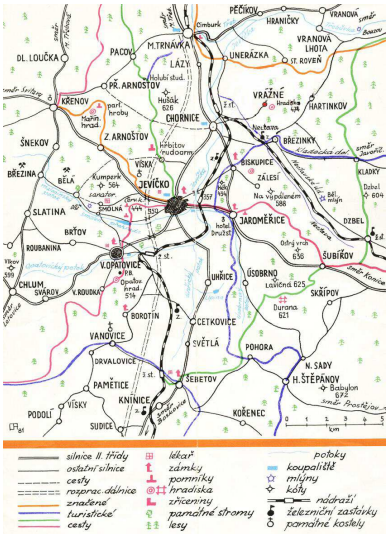
Prvotním úkolem bylo zhodnocení dostupné literatury k danému území a materiálů, které poskytl MěÚ Jevíčko. Dále byly zpracovány výsledky vlastního dotazníkového šetření a rozhovorů s občany jednotlivých obcí, informace z webových stránek obcí a v neposlední řadě také poznatky získané terénním průzkumem celé oblasti. Celkem bylo zpracováno 259 dotazníků (z toho 116 za město Jevíčko). Ženy a muži byli v poměru 145:114. Velký význam, zejména pro představu o budoucnosti obcí, mělo zapůjčení územních plánů. Současně byla provedena analýza statistických dat k mikroregionu, která vychází z údajů Českého statistického úřadu a Úřadu práce Svitavy. Pro konečné hodnocení získaných poznatků byla použita metoda SWOT analýzy. Do jednotlivých skupin této analýzy bylo vybráno šest nejvýznamnějších charakteristik pro danou oblast a po zhodnocení jejich vzájemné interakce byly navrženy možnosti pro budoucí rozvoj mikroregionu Jevíčsko.

VÝSLEDKY A DISKUZE

K 31. 12. 2010 žilo v mikroregionu celkem 6 740 obyvatel na rozloze 11 504 ha a průměrný věk byl 40,2 let. Celkový přírůstek obyvatel za období 2001 - 2010 činil + 46 obyvatel. Hustota zalidnění 58,6 obyvatel/km^2 je v porovnání s republikovým (133 obyv./km^2), krajským (114 obyv./km^2) a okresním (76 obyv./km^2) průměrem téměř poloviční. V obyvatelstvu má významné zastoupení produktivní složka, ale tento stav lze pokládat pouze za dočasný. Předpokládáme, že bude docházet ke stejným změnám, které postihují celou ČR. Přijde úbytek osob v předproduktivním věku a růst počtu starších obyvatel. Druhým významným předpokladem, jenž bude ovlivňovat demografické poměry, bude nižší porodnost.

Obr. 1 Vymezení daného území v rámci Pardubického kraje a okresu Svitavy (www.czso.cz, 2011)

Obr. 2 Upravená mapa mikroregionu Jevíčsko a jeho okolí (www.vrazne.unas.cz, 2011)



Občanská i technická vybavenost jednotlivých obcí odpovídá jejich charakteru a velikosti, ale z hlediska jejich rozvoje se jedná o oblast dosti zanedbávanou. Nejvíce obsáhlou infrastrukturu má samozřejmě spádové Jevíčko. Zde je občanská vybavenost města zastoupena jak vzdělávacími institucemi (mateřská škola, základní škola, zvláštní škola, gymnázium a základní umělecká škola), tak i zdravotnickým a sociálním zařízením. Dále je k dispozici poštovní úřad, knihovna, kino, kostel a hřbitov nebo třeba koupaliště. Napojení na ČOV má pět obcí z regionu a šest sídel je plynofikováno.

I přes svoji perifernost má mikroregion poměrně dobré napojení na regionální silniční a dálkové trasy, a to na silnice I/35 a I/43. Nejdůležitějšími komunikacemi jsou silnice II. a III. třídy, které navazují na komunikace místního významu. Řada úseků je ve špatném technickém stavu, což negativně ovlivňuje jejich průjezdnost a bezpečnost silničního provozu. Územím prochází regionální železniční trať č. 262 ve směru Skalice nad Svitavou - Česká Třebová, na kterou se v Chornicích napojuje trať č. 271 Chornice - Prostějov. Na obou železnicích jsou v provozu pouze motorové vlaky. Na území mikroregionu zasahuje IDS JMK a to tarifní zóna č. 290. Dopravní spojení v rámci mikroregionu hodnotili dotázaní vesměs jako dostatečné. Spojení do větších měst hodnotili jako dobré (Brno, Letovice, Moravská Třebová). Lidé si však velmi často stěžovali na špatnou dostupnost okresního a krajského města, která byla pro většinu dotázaných velice problematická z hlediska malé četnosti spojů a především nutnosti častého přestupu.

Obr. 3 Autobusové spoje pro obce regionu kromě Jevíčka (vl. šetření, www.idos.cz, duben 2011)

Obec mikroregionu	Počet obsluhujících autobusových linek
Bělá u Jevíčka	*4*
Biskupice	*7*
Březina	*9*
Březinky	*1*
Hartinkov	*2*
Chornice	*13*
Jaroměřice	*10*
Slatina	*5*
Víska u Jevíčka	*8*
Vrážné	*1*
Vysoká	*1*

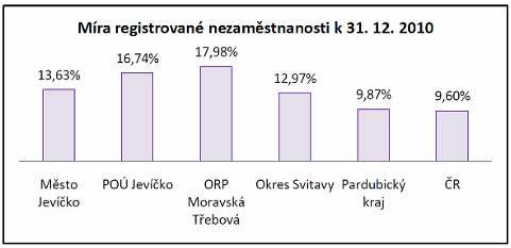
Bodem střetu v tomto území je plánovaná výstavba rychlostní silnice R43, která by měla propojit dálnici D1 Praha - Brno s rychlostní silnicí R35 Hradec Králové - Olomouc. Silnice by měla být čtyř a více proudová a od jejího provozu se očekává, že dojde ke zlepšení dostupnosti nejen pro město Jevíčko, ale i jednotlivé obce v regionu Svitavsko. Z dotázaných občanů bylo 48 % pro výstavbu této silnice, 25 % obyvatel bylo proti a pro ostatní nebyla tato problematika zajímavá.

V ekonomické struktuře regionu nastaly po roce 1991 zásadní změny. Jednak to byly masivní privatizace ve všech sférách, značný úbytek pracovních příležitostí v zemědělství a průmyslu, rozštěpení bývalých státních podniků nebo pokles zaměstnanosti ve velkých organizacích a nárůst v drobných a středních podnicích. Významný byl také vstup zahraničních investorů především do města Jevíčka. V roce 2000 bylo na území mikroregionu registrováno 913 podnikatelských

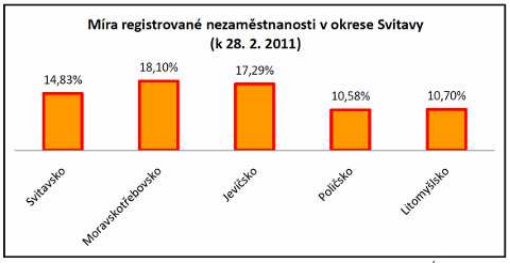
subjektů. K 31. 12. 2010 jich bylo celkem 1 133. Rozhodujícími zaměstnavateli v regionu Jevíčsko jsou firmy Czech Blades, s. r. o.; GST Automotive Safety Czech s.r.o.; WOODEX CZ, a.s.; MATOUŠEK CZ, a.s.; OLÚ Jevíčko. Počet zaměstnanců se u těchto podniků pohybuje v rozmezí 100 - 199 osob.

Na konci roku 2008 byl mikroregion Jevíčsko, stejně jako celá Česká republika, zasažen celosvětovou ekonomickou krizí, která se projevila v nárůstu nezaměstnanosti. Nejvíce postižena byla firma GST Automotive Safety Czech s.r.o., která ještě v říjnu 2006 disponovala 941 zaměstnanci. V dubnu roku 2010 se předpokládalo kompletní uzavření celého provozu, které nakonec nebylo realizováno a část výroby byla přesunuta na východ, ale k 31. 12. 2010 zde bylo zaměstnáno jen 105 lidí. K 28. 2. 2011 připadalo v regionu Jevíčsko na 3 volná pracovní místa celkem 560 nezaměstnaných (ženy 266, muži 294). Z dotazníkového šetření vyplynulo, že nejfrekventovanějšími obcemi pro dojížďku za prací jsou Jevíčko, Chornice, Březina, Moravská Třebová, Velké Opatovice a Letovice (obojí okres Blansko) a Svitavy.

Obr. 4 Srovnání míry nezaměstnanosti ve vybraných územních celcích (data ČSÚ)



Obr. 5 Charakteristika nezaměstnanosti v okrese Svitavy (data Úřad práce Svitavy)



Jevíčsko, díky sporadickému rozmístění průmyslových podniků, které mají z hlediska znečišťování pouze lokální charakter, patří k oblastem s nízkým znečištěním ovzduší. Skládka komunálního odpadu pro region leží v katastru obce Slatina.

Obecní spolky v jednotlivých obcích se starají o kulturní život v regionu. Asi nejvýznamnější jsou z tohoto hlediska Biskupice s bohatým kulturním programem, který dokáže přitáhnout ročně stovky návštěvníků. Biskupice svými akcemi usilují o zachování kultury Malé Hané, v neposlední řadě pak místního nářečí, kterým je hanáčtina.

Z hlediska cestovního ruchu je propagace mikroregionu na velmi nízké úrovni a kapacita ubytovacích zařízení je nedostatečná. Toto odvětví se zde opírá především o turistiku a cykloturistiku. Celá oblast mikroregionu disponuje poměrně bohatou sítí cyklistických tras různé obtížnosti. Střed města Jevíčka je vyhlášen městskou památkovou zónou. Z hlediska marketingové klasifikace cestovního ruchu náleží území do turistické oblasti č. 29 - Svitavsko. Oblast je zajímavá z hlediska přírodních hodnot, pokud jde o architektonické památky, tak pouze místního významu. Město Jevíčko je turisticky atraktivní pro 59 % z dotázaných obyvatel města. Významnou složku tvoří chataři a chalupáři, jejichž největší koncentrace je v Hartinkově, Vrážném a Vysoké, kde tvoří spolu s místními poměrně dobře fungující komunitu.

Obr. 6 Bělá u Jevíčka (www.belaujev.cz)

Obr. 7 Biskupice (autor)

Obr. 8 Chornice (autor)

Obr. 9 Jevíčko (autor3,14)

Obr. 10 Slatina (autor)

Obr. 11 Vysoká (Google Earth)

Konečným výsledkem práce je následující tabulka SWOT analýzy.

Obr. 12 Tabulka výsledné SWOT analýzy (autor)

SILNÉ STRÁNKY	SLABÉ STRÁNKY
• Geografická poloha (obl. Malé Hané) • Prostředí nenarušené průmyslem • Dobré půdní podmínky pro zemědělství • Neexistence velkého zaměstnavatele • Vysoký podíl zeleně • Napojení na IDS JMK	• Poloha na rozhraní krajů • Špatný stav komunikací • Málo rozvinutá infrastruktura • Vyjížďka obyvatel za prací • Nízká propagace území • Málo vyvinutá infrastruktura cestovního ruchu
PŘÍLEŽITOSTI	**HROZBY**
• Výstavba R 43 (nové prac. příležitosti) • Rozvoj drobného a středního podnikání • Podpora kvalitního bydlení • Rozvoj (agro)turistiky • Podpora činností pro všechny věkové kategorie • Nízká úroveň mezd, nezaměstnanost	• Výstavba R 43 (zničení cenného území) • Stárnutí obyvatelstva • Odchod mladých lidí do měst • Růst nezaměstnanosti • Zhoršování tech. stavu komunikací • Přechod na tuhá paliva při neustále se zvyšujících cenách plynu a elektřiny

ZÁVĚR

Bylo potvrzeno, že v prostředí je třeba vytvářet vhodné podmínky pro rozvoj malého a středního podnikání. Tyto podniky mají velký význam z hlediska vytváření konkurenčního prostředí a zajišťují diverzifikaci ekonomické struktury, ale je nutné brát také v úvahu jejich zranitelnost a vysokou pravděpodobnost zániku. Pro rozvoj tohoto podnikání je nutná modernizace technické i sociální infrastruktury, neboť Jevíčsko je v tomto směru dosti zanedbané. Území se vyznačuje nižší úrovní mezd a nezaměstnaností, což je dáno i postavením kraje, který měl v roce 2010 třetí nejnižší průměrnou hrubou mzdu mezi kraji. Z této slabiny je však třeba udělat přednost, neboť díky tomu může být toto území zajímavé pro nové investory z hlediska "levné" pracovní síly. Neexistence velkého zaměstnavatele je velkou výhodou, jelikož jeho případné problémy by nemohly ovlivnit situaci v celém území. Určitou možností, jak řešit vysokou nezaměstnanost, by mohlo být přesunutí částí výroby velkých podniků z regionálních center do oblasti Jevíčska. Z hlediska rozvoje infrastruktury, pro provázanost vzdělávacího systému s trhem práce, pro podporu činnosti pro všechny věkové kategorie je potřeba navázat silnější kontakt s místní akční skupinou. V obcích bych doporučila provézt širší dotazníkové šetření pro zjištění potřeb jejich obyvatel. Mohlo by se případně zamezit budování něčeho, co místní vůbec nepotřebují. Důležitá je spolupráce na úrovni státní správy a samospráv. Přestože je v současné době nutné dojíždění za prací, tak z hlediska napojení na IDS JMK, jeho případné rozšíření na ostatní obce a pravidelnosti autobusových linek, by mohlo být méně problematické. V obcích je třeba podporovat kvalitu bydlení a k tomu by mohly přispět i revitalizace veřejných prostranství. Agrárně - výrobní charakter oblasti dává prostor výrobě zdravých potravin nebo racionální výživy. Případně je možné se zaměřit na výrobu biomasy či bioplynu prostřednictvím odpadů, dřevní hmoty či speciálních

plodin. Na výstavbu silnice R43 je třeba se dívat z několika úhlů pohledu. Na jedné straně by se její výstavbou zlepšila dostupnost celé oblasti, což by mohlo přilákat investory a tím by se snížila nezaměstnanost, došlo by k odlehčení místních komunikací a zviditelnění mikroregionu a vůbec celé oblasti Moravskotřebovska - Jevíčska. Na straně druhé však výstavbou dojde k poškození úrodných půd a jejich obnova bude velmi náročná až nemožná. Významným problémem, který by se měl v této oblasti řešit, je velmi špatný technický stav komunikací. I kvalitní komunikace II. třídy a v dobrém stavu mohou přispět k rozvoji regionu.

Mikroregion Jevíčko tedy určitě není zapomenutým regionem kdesi na periferii, jelikož toto území je schopno poskytnout jak svým obyvatelům, tak i širšímu okolí různé možnosti pro jeho využití.

LITERATURA

1. Budín, Z. *Vyprávění o Velkých Opatovicích*. Vyd. 1. Velké Opatovice: Městský úřad Velké Opatovice, 2002. 183 s.

2. Glück, A. – Magel, H. *Venkov má budoucnost.* Praha: Brázda, 1992. 220 s. ISBN 80 – 209 – 0235 – X.

3. Heintel, M. *Einmal Peripherie - immer Peripherie?.* Wien: Universität Wien, 1999. 265 s. ISBN 978 – 3 – 900830 – 32 – 8.

4. Janda, T. – Lídl, V. a kol. *Německá průchozí dálnice: 1. díl Severní úsek*. Praha: Ředitelství silnic a dálnic, 2008. 52 s.

5. Kubeš, J. *Problémy stabilizace venkovského osídlení.* České Budějovice: Pedagogická fakulta Jihočeské univerzity, 2000.

6. Kuča, K. *Města a městečka v Čechách, na Moravě a ve Slezsku. Díl 2. H- Kole*. Vyd. 1. Praha: Libri, 1997. 938 s. ISBN 80 – 85983 – 14 – 1.

7. Mackerle, J. *Letopis města Jevíčka*. Vyd. 2. Jevíčko: Město Jevíčko, 2008. 279 s. ISBN 978 – 80 – 254 – 1124 – 7.

8. Majerová, V. – Čmejrek, J. a kol. *Český venkov 2005: Rozvoj venkovské společnosti*. Vyd. 1. Praha: Česká zemědělská univerzita, 2005. 165 s. ISBN 80 – 213 – 1274 – 2.

9. Majerová, V. – Herová, I. a kol. *Český venkov 2008: Proměny venkova*. Vyd. 1. Praha: Česká zemědělská univerzita, 2009. 187 s. ISBN 978 – 80 – 213 – 1911.

10. Moseley, M. J. *Rural development : principles and practice.* London: SAGE, 2003. 227 s. ISBN 0 – 7619 – 4767 – 1.

11. Nekuda, V. *Moravskotřebovsko. Svitavsko.* Brno: Muzejní a vlastivědná společnost, 2002. 843 s. ISBN 80-7275-026-7.

12. Nunvářová, S. *Rozvoj venkova*. Vyd. 1. Brno: Masarykova univerzita, 2007. 211 s. ISBN 978 – 80 – 210 – 4314 – 5.

13. Perlín, R. *Venkov, typologie venkovského prostoru*. 20 s. Dostupné z http://aplikace.mvcr.cz/archiv2008/odbor/reforma/perlin.pdf

14. Pinkava, M. *Jevíčský sborník: statě z dávné i nedávné minulosti města*. Vyd. 1. Jevíčko: Městský úřad, 1997. 177 s.

15. Popelka, B. *Vlastivěda moravská – Jevický okres*. Vyd. 1. Brno: Garn, 2007. 226 s. ISBN 978 – 80 – 86347 – 68 – 4.

16. Suchomel, J. *Čtení o Jevíčku a Malé Hané*. Jevíčko: J. Suchomel, 2007. 133 s. ISBN 978 – 80 – 254 – 5142 – 7.

17. www.belaujev.net

18. www.biskupice.cz

19. www.czso.cz

20. www.hartinkov.cz

21. www.idos.cz

22. www.idsjmk.cz

23. www.jaromerice.cz

24. www.jevicko.cz

25. www.leader.isu.cz

26. www.obecbrezina.com

27. www.obec-slatina.cz

28. www.regionmtj.cz

29. www.risy.cz

30. www.svitavy.cz

31. www.velkeopatovice.cz

32. www.vrazne.unas.cz

33. www.wikipedia.org

34. Mapové podklady sledovaného území

35. Strategický plán rozvoje města Jevíčko 2009 – 2015

Section – Food Technology

PROTEIN PROFILE OF *TENEBRIO MOLITOR*

Bednářová M.[1], Adam V.[2], Jelen F.[3], Borkovcová M.[4]

[1] Institute of Service of information technology, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

[2] Department of chemistry and Biochemistry, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

[3] Institute of Biophysics, Academy of Sciences of the Czech Republic, v.v.i., Královopolská 135, 612 65 Brno, Czech Republic

[4] Department of Zoology, Fisheries, Hydrobiology and Apiculture, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: bednarova@mendelu.cz

ABSTRACT

Our objective was to gather the results of previous studies of protein profile of the insect species *Tenebrio molitor* and to complete this data with analysis of the amount and composition of purines of this species, which haven't been done yet. Liophilisation, variance-analysis, mineralization and differential pulse voltammetry were used for the analysis. *T. molitor* contains an average of 13.26% protein, of which 50.10% are essential amino acids. All the essential amino acids were detected in analyzed proteins. Most abundant amino acid was lysine (9.52%); the limiting amino acid was tryptophan (0.32%). The content of purine compounds in comparison with chicken meat and egg white was in the rate of 30:1:0.5 (chicken:egg white:*T. molitor*). This work discusses the possibility of using proteins of *T. molitor* as functional foods for patients with medically ordained limited protein intake.

Key words: essential amino acids, purine, kidney-illness

ÚVOD

Jedním z možných důvodů, proč přijmout hmyz jako jednu z kvalitních komodit ve výživě člověka, může být i zjištění, že nejen v zemích třetího světa, ale také ve vyspělých zemích může u některých sociálních skupin obyvatelstva docházet přechodně k nedostatečnému příjmu nutných živin. Například adolescence je kritické životní období provázené změnami v životním stylu, kdy rodiče částečně ztrácí kontrolu nad skladbou jídelníčku dítěte (Samuelson, 2000). Nedostatečný příjem potravy a/nebo nedostatek konkrétních živin může vést k vyčerpání energetických zásob, úbytku svalové hmoty a mnoha dalším zdravotním poruchám (Eisenstein, 1997).

Významnou roli ve správné výživě člověka hrají bílkoviny, a to zejména bílkoviny živočišného původu. Kromě tradičních zdrojů (hovězí, vepřové, drůbež, ryby, plody moře) se nabízí využití mnoha druhů hmyzu. Hmyz, představující více než polovinu všech známých žijících organismů, nabízí úžasnou biodiverzitu a také vysokou nutriční hodnotu (Ramos-Elorduy, 1996). Zvýšený zájem o hmyz se projevil už i v zemích střední Evropy, a tedy i v České republice (Kráčmar, et al., 2005; Borkovcová et al., 2005). Zde jsou chováni v největší míře cvrčci (*Grillus assimillis*), and potemníci (*Tenebrio molitor* – konzumují se larvální stádia). Aby tyto zdroje mohly být využity ve výživě člověka, je třeba provádět důkladné analýzy nutričního složení. Proto bylo cílem této práce zjistit skladbu bílkovinného komplexu druhu *T. molitor* a navrhnout vhodný způsob začlenění této bílkoviny jako potraviny ve výživě člověka.

MATERIÁL A METODIKA

Pro stanovení základních nutričních hodnot a možnosti jejich ovlivnění byly navrženy 4 kategorie s odlišnou krmnou dávkou, a sice otruby, otruby a karotka (6:1), otruby a sušená syrovátka (3:1) a otruby a pivovarské kvasnice (3:1). Dále byla vytvořena kategorie nedostatečně krmení mouční červi. Pro úplnost přehledu o možnostech využití druhu *T. molitor* byly dále provedeny rozbory svlečků a exkrementů. Do každé kategorie bylo zařazeno 100 g moučných červů, kteří byli po dobu 14 dnů krmeni navrženou směsí ad libitum, kategorie nedostatečně krmených jedinců dostávala malé množství otrub až po zkonzumování dosavadní krmné dávky. V každé kategorii byla provedena 3 opakování. Mouční červi byli získáni z komerčního chovu (Fa R. Frýželka, Česká republika)

Stanovení sušiny, N-látek a tuku bylo provedeno na přístroji SPECTER AA 30 Varian. Stanovení brutto energie bylo provedeno na přístroji Bomb Calorimeter 1281 (f. PAAR).

Pro stanovení purinových derivátů byla provedena mineralizace a pulzní voltametrie u vzorku moučných červů, a pro srovnání také u vzorku syrového kuřecího masa a sušeného bílku. Příprava vzorku pro diferenční pulzní voltametrii – mineralizace - proběhla následovně: sušený a rozdrcený vzorek (0,025 g) byl smíchán s HCl (6 M, 0,5 ml). Připravený vzorek byl přenesen do skleněné

vialky (MG5) a umístěn v rotoru (64MG5). Rotor se vzorky byl umístěn v mikrovlnném systému a následně mineralizován (Multiwave3000, Anton PaarGmbH, Německo). Podmínky mikrovlnné rozkladu byly následující: výkon 100 W, rampa 10 min, doba provozu 140 min, doba chlazení 10 min.

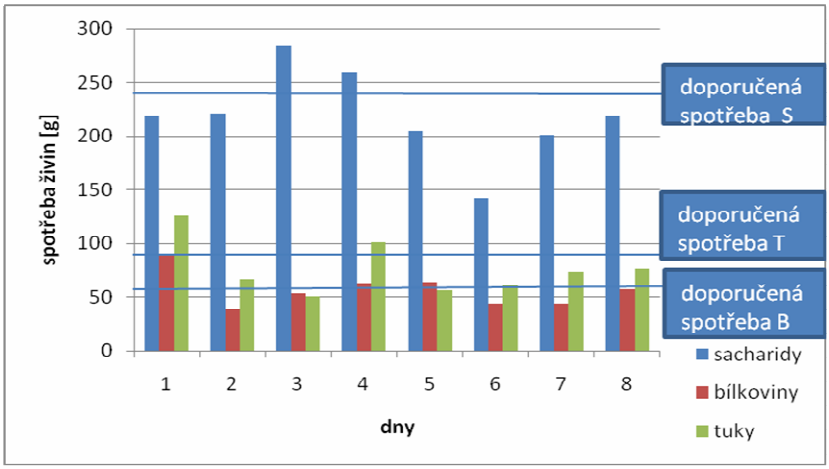
Vlastní měření purinových derivátů bylo provedeno pomocí diferenční pulzní voltametrie, která patří mezi elektroanalytické metody a lze s její pomocí analyzovat purinové deriváty i v přítomnosti kationtů dvojmocné mědi. Analýza je založena na tvorbě komplexu Cu(I)-purin, jeho nahromaděním na elektrodě, a jeho následným rozpuštěním za vzniku voltametrického píku. Příslušné rovnice jsou na schématu:

CPE: : 1. krok $Cu(II) + e^- \rightarrow Cu(I)$

$Cu(I) + purin \rightarrow Cu(I)\text{-}purin$

2. krok $Cu(I)\text{-}purin \rightarrow Cu(II) + purin + e^-$

Pro stanovení optimální diety sledovaného pacienta bylo provedeno 7denní měření příjmu živin (Graf 1) a na základě srovnání s doporučovaným příjmem živin celkově a esenciálních aminokyselin (Tab. 1) byl navržen jídelníček s přidáním hmyzích bílkovin.



Graf 1: Příjem jednotlivých živin klientem během sedmidenního sledování [g]

Legenda: čísla 1-7 označují po sobě jdoucí dny

číslo 8 udává průměrnou hodnotu z předcházejících sedmi dnů

	požadavky (mg/kg tělesné hmotnosti/den)		
	kojenci	děti	dospělí
histidin	28	?	10
izoleucin	70	28	10
leucin	161	42	14
lysin	103	44	12
metionin a cystein	58	22	13
fenylalanin a tyrosin	125	22	14
treonin	87	28	7
tryptofan	17	3,3	3,5
valin	93	25	10

Tab. 1: Požadavky na příjem esenciálních aminokyselin u různých věkových kategorií (National Research Council, 1989.

VÝSLEDKY A DISKUZE

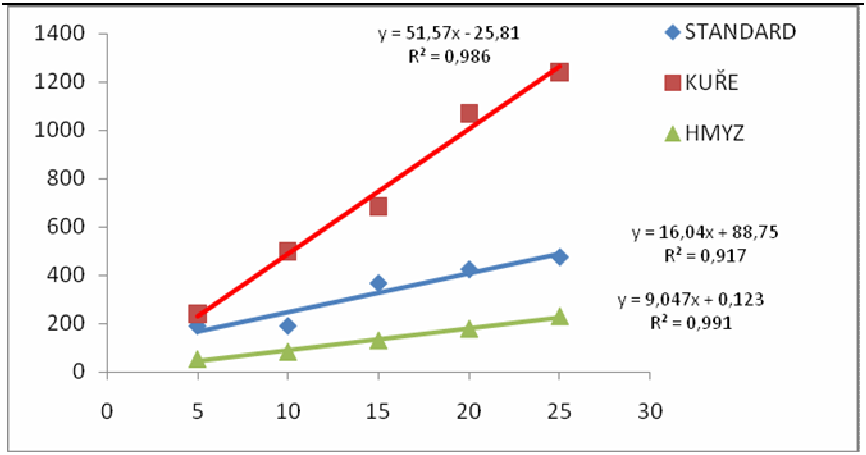
Základní nutriční hodnoty larev *T. molitor* byly následující: průměrný obsah sušiny 294,12 g/ kg, obsah N-látek 469,84 g/kg sušiny, obsah tuku 375,70 g/kg sušiny. Těmto vysokým hodnotám obsahu N-látek a tuku také odpovídá brutto energie - 26,995 MJ/kg (Tab. 2). Obsah jednotlivých aminokyselin ve vzorku moučných červů krmených standardní směsí je v Tab. 3. Srovnání množství purinových látek ve vzorku sušeného bílku, kuřecího masa a moučných červů je v Grafu 2. Srovnání výskytu jednotlivých aminokyselin při různé dietě je v Tab. 4.

% sušiny	% tuku v sušině	BE MJ/kg	% NL	Průměrný obsah NL (%)
29,412	37,570	26,995	47,120	46,984

Tab. 2: Základní nutriční hodnoty moučných červů krmených otrubami

cys	asp	met	thr	ser	glu	pro	gly	ala	val	ile	leu	tyr	phe	his	lys	arg
4,7	34,8	4,9	20,4	26,4	52,5	26,6	39,8	47,3	27,5	17,5	30,8	20,5	3,9	11,5	44,7	47,5

Tab. 3: Obsah aminokyselin ve vzorku moučných červů krmených otrubami



Graf 2: Srovnání obsahu purinových látek u standardu (vaječný bílek), kuřete a hmyzu

g/1000 g vzorku	Otruby	Otruby + kvasnice	Otruby + karotka	Otruby + syrovátka
cys	2,873	2,953	2,940	2,745
asp	31,513	34,340	34,510	31,430
met	4,555	4,804	4,313	4,167
thr	23,560	24,416	25,557	24,196
ser	22,487	24,426	23,482	24,150
glu	45,480	53,770	49,688	44,333
pro	32,584	18,222	25,396	27,093
gly	37,036	39,091	41,571	39,552
ala	45,963	46,611	50,247	48,913
val	29,667	30,006	33,058	30,401
ile	18,604	19,128	19,889	18,394
leu	29,457	29,793	32,787	29,147
tyr	1,000	1,131	1,158	0,704
phe	0,682	0,501	0,520	0,986
his	16,602	15,543	14,960	18,426
lys	27,151	27,282	29,283	26,336
arg	10,823	13,333	7,655	9,828

Tab. 4: Srovnání obsahu aminokyselin ve vzorcích T. molitor při různé skladbě krmiva

Ve snaze zpomalit progresi onemocnění ledvin se v řadě případů (ne ve všech) omezuje spotřeba bílkovin ve stravě. Tento kontrolovaný příjem bílkovin má pozitivní vliv i na snížení příjmu fosfátů a purinů, jejichž zvýšená hladina v organismu je pro tato onemocnění typická.

Vzhledem k vysokému podílu esenciálních aminokyselin a nízkému obsahu purinových látek se bílkovina moučných červů jeví jako vhodná pro pacienty s ledvinovou nedostatečností. Jako nová komodita byl do jídelníčku klienta zařazen hmyz, a sice na všední den předem upečené tyčinky z mouky, lněného semínka a hmyzu, a na víkendy pokrmy s přídavkem hmyzu.

ZÁVĚR

V práci bylo provedeno stanovení dusíkatých látek a jednotlivých aminokyselin u druhu *T.molitor*. Bylo potvrzeno, že bílkovina tohoto druhu hmyzu je poměrně kvalitní, obsahuje vysoký podíl esenciálních aminokyselin a zároveň malý podíl purinových látek, a je tedy vhodnou potravinou pro pacienty s ledvinovou nedostatečností.

LITERATURA

Bednářová M., Borkovcová M., Zorníková G., Zeman L. (2010): Hmyz jako potravina v České republice- nutriční hodnota, legislativní rámec, zájem veřejnosti. In MendelNet 2010 Proceedings of International Ph.D. Students Conference. 1. vyd. Brno: Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, 2010, 674-682. ISBN 978-80-7375-453.

Borkovcová M., Hönigová 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, 101-104. ISBN: 80-7305-521-X.

Eisenstein E. (1997): Chronic undernutrition during adolescents. Ann. N. Y. acad. sci. 817, 138-161

Kráčmar S., Borkovcová M., Hönigová M., Hedbávný J., Fialová M., Zeman L. (2005): Risk elements in insects used as a part of pets and farm animals diet. In Hredzak S., Bindas L. (2005): XIV. Vedecké symposium o ekológii vo vybraných aglomeráciach Jelšavy - Lubeníka a Stredného Spiša. 1. vyd. Košice: Ústav geotechniky SAV Košice, 75 -78.

Ramos-Elorduy J. (1997): Insects: A sustainable source of food? Ecology of food and nutrition, 36, 2-4, 247-276.

Samuelson G. (2000): Dietary habits and nutritional status in adolescents over Europe. An overview of current studies in the Nordiv countries. Eur. J. clin. Nutr. 54 (Suppl. 1), S21-S28.

National Research Council (1989): Recommended Dietary Allowances, 10th Edition, National Academy of Sciences.

TOTAL POLYPHENOLS CONTENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY IN CHOICE VARIETY PEARS AND APPLES

Bončíková D., Tomáš J., Tóth J.

Department of Chemistry, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture, Nitra, Slovak Republic

E-mail: dominika.boncikova@gmail.com

ABSTRACT

Our work goal focused of total polyphenols content and antioxidant activity in four varieties of pears and apples. These chosen antioxidant were determined by spectrofotometric method. Polyphenolic compounds are effective antioxidants regarding their ability to reat with free radicals of fatty acid and oxygen (free radical scavening effect). One of the richest sources of polyphenolic compounds in human nutrition are apples (*Malus pumila Mill.*) and pears *(Pyrus communis).*Total antioxidant activity were evaluated according the method of Brand William (1995). For the determination of total polyphenols we used photometric method according of Lachman (2003). Relationships between content of total polyphenols and antioxidant activity is affected by varietal differences.

Key words: apples, pears, antioxidant activity, total polyphenols contents

Acknowledgement: This work was supported by project VEGA 1/0339/08

ÚVOD

Výroba a spotreba ovocia i zeleniny na Slovensku je už roky nízka a nič na tom nezmenil ani vstup SR do EÚ v roku 2004. Obyvatelia Slovenska dokonca skonzumujú ročne menej ovocia a zeleniny ako v roku 1989, hoci ponuka predovšetkým čerstvých vitamínov sa neporovnateľne zlepšila. Za posledných 17 rokov klesla priemerná ročná spotreba ovocia z 54 na 51 kg. Za zníženou spotrebou sú predovšetkým zlé stravovacie návyky a žiaľ aj peniaze. Pre mnohých ľudí je ovocie a zelenina po finančnej stránke drahou komoditou (Euro Info, 2010).

Ovocie je cenené nielen preto, že obsahuje živiny a nutrične významné látky, ale aj zložky so špecifickými liečivými účinkami. Všeobecne zvyšuje imunitu, obranyschopnosť organizmu proti chorobám, znižuje riziko ochorení, pôsobí proti choroboplodným mikroorganizmom, spomaľuje nežiaduce procesy v ľudskom tele alebo chráni iným spôsobom zdravie človeka. Tieto rôznorodé špecifické látky súhrnne nazývame chemoprotektívne zložky (Valšíková, Kopec, 2005).

Mnohé výskumné štúdiá preukázali, že ovocie i zelenina obsahujú rôzne zložky s antioxidačnou aktivitou, ktoré sú zodpovedné za ich priaznivé zdravotné účinky. Patria k nim vitamín C, vitamín E, karotenoidy, polyfenoly (široká trieda komponentov, vrátane fenolových kyselín, katechíny, flavonoly a antokyaníny) (Giovanelli a Buratti, 2008).

Ovocie je v porovnaní so zeleninou na polyfenoly bohatšie, pričom fenolové kyseliny predstavujú 1/3 z celkového príjmu polyfenolov, flavonoidy zvyšné 2/3. Ľudia konzumujúci pestrú stravu by mali prijímať viac než 1g fenolických kyselín a flavonoidov denne (Mandelová, 2005).

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* (Jabloňové) 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).

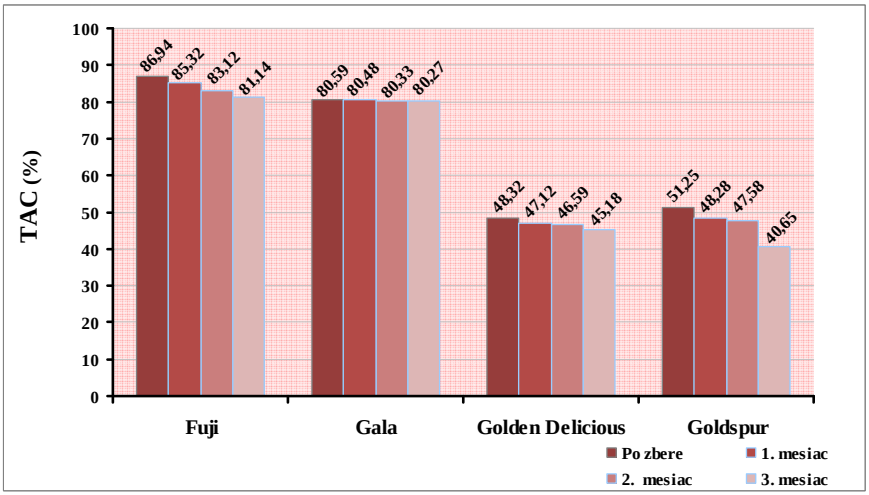
MATERIÁL A METÓDY

Vzorky rastlinného materiálu sme pre potreby tohto experimentu zberali v štádiu plnej zrelosti. Odberným miestom boli dve poľnohospodárske družstvá, PD Nové Zámky a PD Gemerprodukt Valice (Rimavská Sobota). Odobraté vzorky sme analyzovali jednotlivými zvolenými metodikami v časovom rozmedzí troch mesiacov. Na získanie extraktu zo šúp vybraných odrôd jabĺk a hrušiek bol použitý 80%-ný etanol. 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. Obsah polyfenolových látok sme prepočítali na obsah kyseliny galovej v $mg.kg^{-1}$.

Antioxidačnú aktivitu (TAC) sme merali pomocou radikálu DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl) spektrofotometricky pri vlnovej dĺžke 515,6 nm (Brand – Williams, 1995).

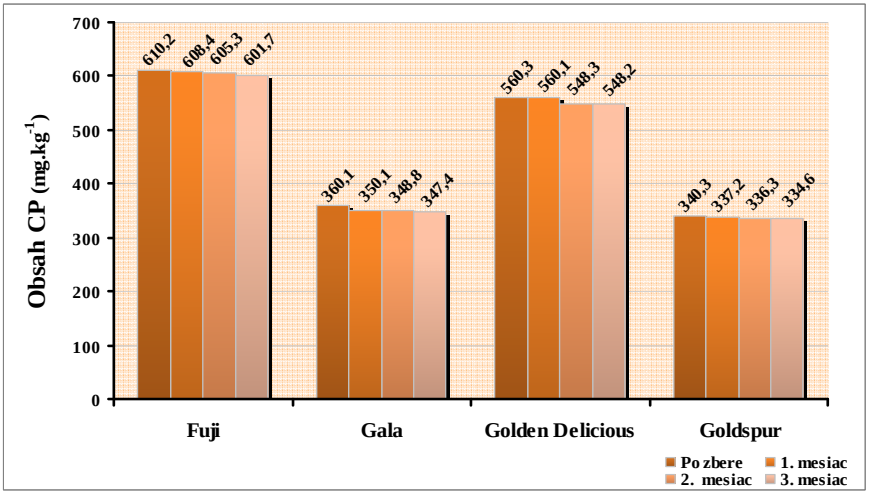
VÝSLEDKY A DISKUSIA



Celková antioxidačná aktivita (TAC %) vo vybraných odrodách jabĺk (šupy)

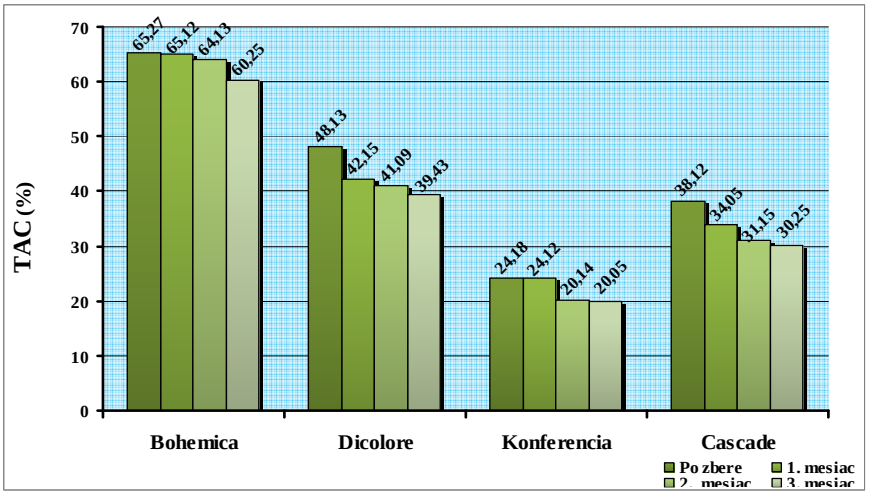
Najvyššiu antioxidačnú aktivitu nameranú po zbere má zo sledovaných odrôd jabĺk v rámci extraktu zo šúp jabĺk odroda Fuji (86,94 %), pričom táto odroda v porovnaní s ostatnými odrodami jabĺk vykazovala pomerne vysoké hodnoty antioxidačnej aktivity aj po treťom mesiaci skladovania (81,14 %) Najnižšiu antioxidačnú aktivitu zistenú z analyzovaných odrôd po zbere mala odroda Goldspur (51,25%). Ako je z obrázku č.1 zrejme, hodnoty antioxidačnej aktivity zistené po zbere a neskôr počas jednotlivých fáz skladovania vo vybraných odrodách jabĺk (extrakt zo šúp) sa rapídne nemenili ani u jednej z vybraných odrôd jabĺk. Pri odrode Fuji, hodnoty antioxidačnej aktivity boli najvyššie od zberu i počas celej doby skladovania, Vo všetkých vybraných odrodách jabĺk v rámci extraktu zo šúp jabĺk sa prejavil pokles antioxidačnej aktivity v závislosti od doby skladovania, pričom môžeme skonštatovať, že išlo však o minimálne zmeny hodnôt antioxidačnej aktivity. Pri odrodách Gala, Golden Delicious a Goldspur sme zaznamenali pomerne vyrovnané hodnoty antioxidačnej aktivity, pričom priemerná hodnota antioxidačnej aktivity u týchto odrôd bola 56,4 %.

Antioxidačnú aktivitu ovplyvňuje viacero faktorov, ako je skladovanie, prítomnosť iných výživných látok a vzájomné interakcie medzi nimi (Cardelle-Cobas, 2005.)



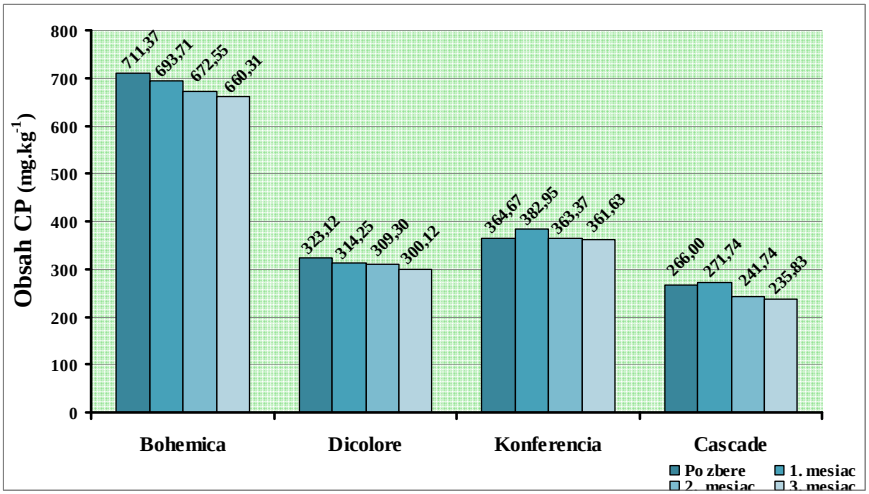
Celkový obsah polyfenolov v mg.kg^{-1} vo vybraných odrodách jabĺk (šupy)

Podľa Leja et al. (2003), Napolatino et al. (2004) polyfenoly prítomné v jablčnom extrakte sú zodpovedné za antioxidačnú aktivitu. Mierny pokles obsahu celkových polyfenolov meraných v extrakte zo šúp jabĺk počas celej doby skladovania sme zaznamenali len u odrody Goldspur, kde zistený obsah celkových polyfenolov po zbere klesol z hodnoty 340,3 mg.kg^{-1} na hodnotu obsahu celkových polyfenolov 334,6 mg.kg^{-1}, nameranú po treťom mesiaci skladovania.



Celková antioxidačná aktivita (TAC %) vo vybraných odrodách hrušiek (šupky)

Z obrázku č.3 vyplýva, že najvyššiu antioxidačnú aktivitu po zbere sme namerali pri odrode Bohemica (65,27%) a výrazne najnižšia antioxidačná aktivita bola v odrode Konferencia (24,18 %). Po troch mesiacoch skladovania sa pokles antioxidačnej aktivity výrazne neprejavil ani u jednej nami vybraných odrôd hrušiek.



Celkový obsah polyfenolov v mg.kg^{-1} vo vybraných odrodách hrušiek (šupy)

Z uvedeného obrázku č.4 vyplýva, že najvyšší obsah celkových polyfenolov meraných v extrakte zo šúp hrušiek po zbere sme zistili pri odrode Bohemica 711,37 mg.kg^{-1} a najnižší pri odrode Cascade 266,00 mg.kg^{-1}.Odroda Konferencia vykazovala hodnotu celkových polyfenolov po zbere 364,67 mg.kg^{-1}. Priemerná hodnota obsahu celkových polyfenolov vo vybraných odrodách hrušiek v extrakte zo šúp meraná po zbere predstavovala 416,29 mg.kg^{-1}. Z obrázku je viditeľný veľký rozptyl nameraných hodnôt medzi jednotlivými odrodami, čo je samozrejmé pre odrodovú diferenciu vybraných odrôd hrušiek. Pri odrode Cascade obsah celkových polyfenolov počas troch mesiacov skladovania klesol len minimálne, a to z hodnoty 266,00 mg.kg^{-1} na hodnotu celkových polyfenolov 235,83 mg.kg^{-1}.

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 diferencia.

LITERATÚRA

Materi Boyer, J., Liu, R. H. (2006): Polyphenols in apple extrakt and risk in epidemiologic studies. Journal of Clin. Nutritional, 31: 17 – 25.

Brand Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995): Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie - Food Science and Technology, 28: 25 - 30.

Bravo, L. (1998): Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. Nutr. Rev. 56 (11): 317-333.

Cardelle-Cobas, A., Moreo, F. J., Corzo, N., Olano, A., Villamiel, M. (2005): Assessment of initial stages of Mailard reaction in dehydrated onion and garlic symplex. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53: 9078-9082.

Giovanelli, G., Buratti, S. (2008): Comparison of plyphenolic composition and antioxidant activity of wild Italian blueberries and some cultivated varietes. Food chemismy, 112: 903-908.

Mandelová, L. (2005): Polyfenoly: Rozdelení a zdroje v potravě. Výživa a potraviny, 60 (1): 11-14.

Pamplona, R. D. (2005): Encyklopédia léčivých rostlin. Praha, 2005, p. 385

Valšíková, M., Kopec, K. (2005): Vplyv zeleniny na zdravie človeka, Dostupné na internete < http: //www.agroporadenstvo.sk/rv/zelenina/zdravie.htm>

QUALITY OF SUGAR BEET AND DYNAMICS OF CHANGES DURING VEGETATION IN THE REGION OF MIDDLE MORAVIA

Chodurová M., Hřivna L.

Food technology, Institute of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xchodur0@node.mendelu.cz

ABSTRACT

Within four year field trials in the region Haná grow and progress of sugar beet was monitoring at the twenty stations during vegetation. Simultaneously the yield and technological quality tubers were examined. Takeovers of samples started in the last decade of July and were continuing till the beginning of September. Sugar beet leaf area increased till the third decade when reached to 730 grams per plant, than falled. Root equally increased and reached growths between particular takeovers didn't vary. Beets weight in beginning of September was observed 755 grams per plant. Digestion the most growth in the turn of July and August, but was substandard (14.8%) in the last takeover. Water-soluble ash content was positive and decreased from 0.47% to 0.38%. Deepest fall was observed in the August. Positive trend was detected in alpha amino nitrogen, which provable felled in the all takeovers to finally 27 mg in the 100 grams sugar beet. This positively evaluated means of alpha amino nitrogen and water-soluble ash cause better quality class in MB factor resolution, when it finally reached 24.5. Excepted digestion we evaluate this conclusion as positive, it is confirmed testified to yield of beets, determined in the last takeover of 69 tons per hectare.

Key words: sugar beet**,** digestion, soluble ashes, alpha-aminonitrogen, MB factor

ÚVOD

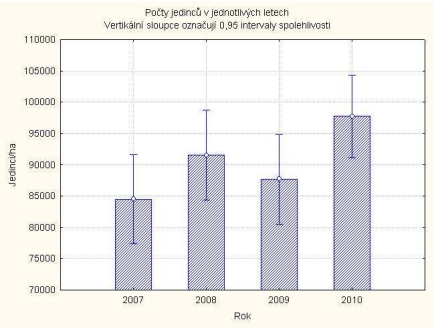
Pod pojmem technologická jakost cukrovky rozumíme komplex biologických, chemických, fyzikálně chemických a mechanických vlastností řepné bulvy, které rozhodují o jejím rentabilním a vhodném skladování a továrním zpracování při dosažení vysoké výtěžnosti bílého cukru (rafinády) (DRAYCOTT, CHRISTENSEN, 2003). Z biologických vlastností (znaků) jsou to hlavně tvar, velikost, hmotnost bulvy, její technologická vyzrálost, zdravotní stav a rezistence vůči skládkovým chorobám (PULKRÁBEK ET AL., 2007). Z vlastností chemických jsou nejdůležitější obsah sacharózy a obsah necukrů, zejména solí sodných a draselných, dusíkatých látek (amidů a volných aminokyselin) a redukujících cukrů (invertů). Z fyzikálně-chemických vlastností je to hlavně pH, turgor (osmotický tlak) buněčné šťávy (JŮZL ET AL, 2000). Z mechanických vlastností je to pružnost, pevnost a odpor k řezání. Pokud jde o tvar bulvy, optimální je kuželovitý s nevětveným kořenem. Opakem je tvar celerovitý „mrcasatý“ s postranními kořeny, které se při sklizni, dopravě a manipulaci ulamují. Taková řepa je technologicky méně hodnotná, hůře se skladuje a při plavení, praní a zpracování vykazuje vyšší ztráty (ZAHRADNÍČEK, PULKRÁBEK, 2000). Jedním z nejdůležitějších kritérií technologické jakosti je cukernatost (digesce), rozpustný popel (Pp), alfa–amino dusík a MB faktor (množství vyrobené melasy v % vztaženo na 100 kg vyrobeného bílého cukru), který charakterizuje vyzrálost cukrovky (SKALICKÝ, 1994). Na technologickou jakost cukrovky působí řada vlivů, které ovlivňují její konečné zpracování. Je to vliv prostředí, stanoviště, půdních a povětrnostních podmínek, odrůdy, použité agrotechniky, působení chorob, škůdců a plevelů (PULKRÁBEK ET AL., 2011). Tyto faktory se také promítají v dynamice růstu kořene i nadzemních částí rostlin cukrovky a ovlivňují tvorbu kvalitativních parametrů během vegetace. Vliv těchto faktorů na růst a tvorbu kvalitativních parametrů cukrovky během vegetace byl pozorován v rámci námi prováděného monitoringu.

MATERIÁL A METODIKA

Dynamika změn byla sledována u 20 - ti vybraných ploch porostů cukrovky nacházejících se ve středomoravském regionu. Lokality byly systematicky vybrány u jednotlivých pěstitelů tak, aby reprezentovaly cca 4000 ha ploch osetých cukrovkou. Odběrová stanoviště byla vybrána tak, aby vždy jedno stanoviště reprezentovalo plochu cca 200 ha. Navíc byly rozmístěny tak, aby odebírané vzorky charakterizovaly průměrný stav porostu v celém rajonu. Na vybraných odběrových místech byly v rámci pěstitelské technologie uplatňovány agrotechnické postupy zajišťované místními agronomickými pracovníky daného zemědělského subjektu, kterému pěstitelská plocha patřila. V rámci našeho pozorování jsme se zaměřili z agrotechnických dat na získání informací o použitých výsevcích. Ze získaných informací vyplynulo, že se počet jedinců každým rokem měnil (graf 1) a pohyboval se v rozmezí od 84 535 do 97 755 jedinců/ha. Na každém stanovišti byly

v porostu cukrovky vybrány vždy dva řádky, které charakterizovaly průměrný stav na daném pozemku. Tyto řádky byly od sebe navzájem vzdáleny 10 m a nacházely se mimo okraje pozemku. Při každém odběru bylo odebráno 10 řep. V následujícím vzorkování byly v řádku vždy vynechány 3 rostliny cukrovky a pokračovalo se průběžně na stejném řádku (FRIML, TICHÁ 1986).

Odběry byly zahájeny v poslední dekádě měsíce července (24.7.) a pokračovaly ve 14 - ti denních intervalech. Celkem za vegetaci byly provedeny 4 odběry (24.7.; 7.8.; 21.8.; 4.9.). U odebraných vzorků cukrovky byly stanoveny technologické parametry. V každém odběru byla zjištěna i hmotnost bulev a chrástu. Jednotlivé parametry technologické kvality bulev byly stanoveny po homogenizaci na Staňkově krouhačce. Obsah rozpustného popela byl stanoven konduktometricky po výluhu řízků destilovanou vodou v poměru 6,87 : 1, obsah sacharózy pak byl stanoven studenou digescí po číření octanem olovnatým a filtrát byl proměřen na polarimetru. Stanovení alfa-aminodusíku bylo provedeno kolorimetricky (FRIML, TICHÁ 1986). Dále byla sledována vyzrálost cukrovky definovaná hodnotou MB-faktoru stanoveného výpočtem.



Graf 1 Počet jedinců v jednotlivých letech

Stanovení digesce: Vlastní měření vzorku připraveného dle výše uvedené metodiky proběhlo na přístroji POLAMAT S nebo POLARTRONIC E.

Stanovení rozpustného popela v řepě: Po přípravě vzorku bylo vlastní měření realizováno na konduktometru Inolab Level WTW.

Stanovení α – animodusíku: škodlivý dusík byl stanoven kolorimetricky na základě srovnání vzorků se standardní škálou barev etalonu.

Pro výpočet **MB faktoru** byla využita znalost digesce (Dg, cukernatost), rozpustného popela (Pp) a α – aminodusíku (αN.)

Vzorce pro výpočet:

B – faktor: Výtěžnost bílého cukru (rafinády) v % pomocí Lüdeckeho vzorce.

$$B = Dg - 4{,}25 \cdot Pp - \alpha N \cdot 25$$

M – faktor: Výtěžnost melasy %.

$$M = 8 \cdot Pp$$

MB – faktor: Vyjadřuje množství vyprodukované melasy na vyrobený bílý cukr v %.

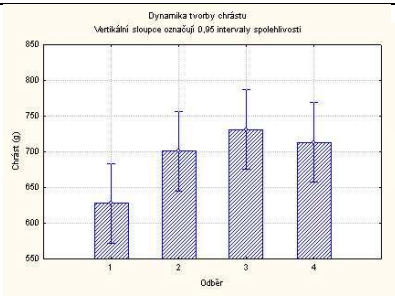
$$MB = \frac{100 \cdot M}{B}$$

Vyhodnocení výsledků

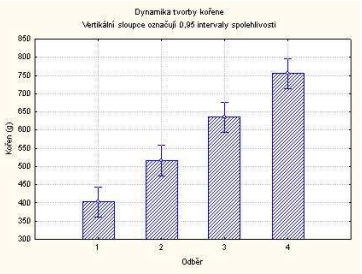
Hodnocení získaných dat bylo provedeno metodou jednofaktorové analýzy variance s následným testováním průkaznosti rozdílů dle Tukeye (STÁVKOVÁ, DUFEK 2005) při využití software STATISTICA 8.0 (StatSoft, Inc.).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Dynamika tvorby chrástu a bulev je zachycena v grafech 2 a 3. Z dosažených výsledků vyplývá, že největší hmotnost a tedy i největší asimilační plochu vykazovaly listy cukrovky při třetím odběru tj. 21.8., následně začalo docházet k redukci listové plochy, což bylo spojeno s přetrvávající dynamickou tvorbou kořenové části, která intenzivně rostla v průběhu celého pozorování. Zatímco přírůstky kořene mezi jednotlivými odběry dosahovaly průkazných hodnot, dynamika změn listové plochy během našeho pozorování vykazovala změny neprůkazné. Je to dáno tím, že chrást, jak uvádí (DRAYCOTT, CHRISTENSEN, 2003, HŘIVNA ET AL. 2004) se tvoří především v první polovině vegetace, kdy v růstu předbíhá kořenovou část. Ta se začíná tvořit intenzivně až v průběhu měsíců července a srpna a právě v srpnu jsou přírůstky kořene nejvyšší. To potvrzují i naše výsledky, podle kterých se vyrovnává hmotnost kořene a chrástu mezi 3. a 4. odběrem, tj v poslední dekádě měsíce srpna. Následně se pak hmotnost kořene zvyšuje, zatímco růst nových listů nestačí plně kompenzovat úbytek listové plochy v důsledku odumírání starých listů a hmotnost chrástu oproti předcházejícímu odběru klesá.



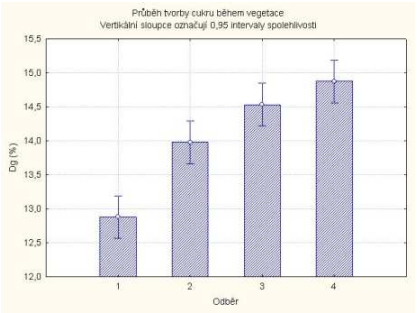
Graf 2 Dynamika změn chrástu



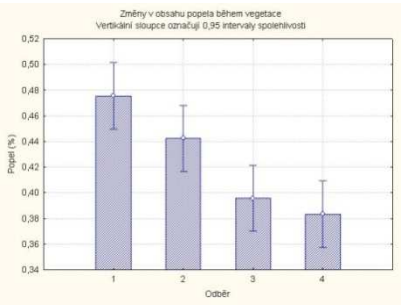
Graf 3 Dynamika změn kořene

Digesce na začátku vzorkování byla velmi nízká a dosahovala v průměru hodnot 12,8 % (graf 4). Mezi 1. a 2. odběrem se tvorba cukru průkazně zvyšovala (o 1,2 %) až na hodnotu 14 %. Při posledním odběru tj. začátkem měsíce září se průměrná digesce pohybovala na úrovni 14,8 %, což ukazovalo na podprůměrné hodnoty (ŠNOBL, PULKRÁBEK, 2007). Uvádí se, že cukernatost by se měla pohybovat v období sklizně v rozmezí 16 – 18 %, což s ohledem na termín posledního odběru bylo stěží dosažitelné (KUČEROVÁ, 2007). Tvorba cukru a jeho translokace do bulev korelovala s jejich růstem, byla ale méně intenzivní a to se v konečné cukernatosti negativně odrazilo.

Obsah rozpustného popela se pohyboval během celé vegetace v průměru v rozmezí hodnot 0,47 – 0,38 % (graf 5). Postupně klesal, což příznivě ovlivnilo technologickou jakost cukrovky a pozitivně se odrazilo v produkci melasy.



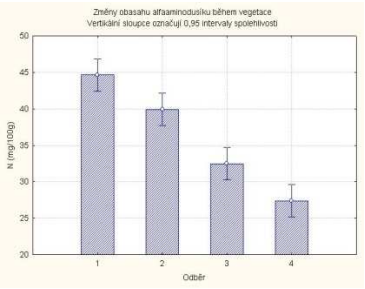
Graf 4 Dynamika změn digesce



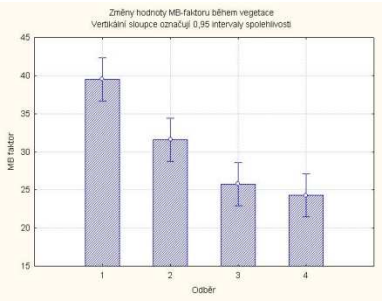
Graf 5 Dynamika změn rozpustného popela

Stejně příznivé trendy byly zaznamenány i v obsahu alfa – aminodusíku, kde byly nejvyšší hodnoty pozorovány při 1. odběru (44,8 mg/100 g řepy), poté se postupně průkazně snižovaly až na průměrnou hodnotu 27 mg/100 g řepy (graf 6), což charakterizuje vysokou kvalitu suroviny. Nízký obsah škodlivého dusíku korespondoval zřejmě s použitou agrotechnikou, uplatňovanou většinou

zemědělských subjektů založenou na omezených vstupech dusíkatých hnojiv. Svou roli zde v některých ročnících sehrál zřejmě i průběh povětrnosti. Např. intenzivní srážky v období měsíce května v roce 2010, které přispěly k tomu, že cukrovka neměla k dispozici nadbytek dusíku v důsledku jeho vyplavení do spodních vrstev mimo dosah kořenového systému.

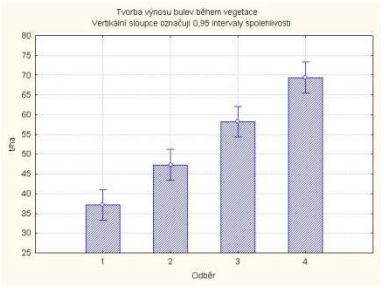


Graf 6 Dynamika změn alfa-aminodusíku



Graf 7 Dynamika změn MB faktoru

Se snižováním obsahu rozpustného popela a alfa - aminodusíku se během vegetace snižovala i hodnota MB faktoru (graf 7). Na konci monitoringu tj. při 4. odběru byla hodnota MB faktoru v průměru 24,5 (graf 7). Vzhledem k tomu, že se jednalo o cca 14dní před sklizní některých z porostů, můžeme tuto hodnotu považovat za příznivou, protože se dalo předpokládat, že sklizňová hodnota bude ještě příznivější a dosáhne hodnot v rozmezí 12-22 , což lze považovat za cukrovku vyzrálou a pro sklizeň vhodnou (ZAHRADNÍČEK, JARÝ, 2003). S výjimkou stanovené digesce můžeme výsledky monitoringu považovat za příznivé, svědčí o tom i výše výnosu bulev stanovená při posledním odběru, který dosahoval 69 t.ha^{-1}.



Graf 8 Dynamika tvorby výnosu

ZÁVĚR

Uvedené výsledky polního pokusu vykázaly různé hodnoty v jednotlivých letech monitoringu a slouží jako kontrola jakosti cukrové řepy v jedné z nejvýznamnějších lokalit jejího pěstování. Rozdílná dynamika výnosových a kvalitativních charakteristik koresponduje s výsledky uváděnými

v literatuře. Výnosové parametry cukrovky odpovídají požadavkům, avšak kvalitativní ukazatele, jako je cukernatost nebo MB faktor, mající přímý vliv na zhodnocení produktu, nedosáhly požadovaných hodnot. Příčinou byly nepříznivé povětrnostní podmínky ve sledovaných letech, které negativně ovlivnily především obsah cukru. Pokus má význam nejen jako průběžný monitoring s důležitými výsledky pro pěstitele, ale i jako modelový příklad pro studenty závěrečných prací.

LITERATURA

Friml, M., Tichá, B.: Laboratorní kontrola cukrovarnické výroby. Díl I Základní rozbory. Praha: VÚPP Středisko technických informací potravinářského průmyslu, 1986, 152 stran.

Hřivna, L., Borovička, K., Bízik, J., Veverka, K., Bittner, V.: Komplexní výživa cukrovky. Vydáno ve spolupráci se Svazem pěstitelů cukrovky ČR a časopisem Listy cukrovarnické a řepařské, 2004.

Jůzl, M., Pulkrábek, J., Diviš, J. a kol.: Rostlinná výroba III. 1. vydání. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně 2000, 232 stran. ISBN 80–7157–446–5.

Kučerová, J.: Technologie sacharidů – návody do cvičení, 2. vydání. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně 2007, 96 stran. ISBN 978-80-7375-114-2.

Pulkrábek, J., Urban, J., Pazderů, K., Švachula, V. (2011): Pěstování cukrové řepy a její vliv na životní prostředí. *Listy cukrov. a řep.*, roč.127, č.2. s. 57-62

Stávková, J., Dufek, J. (2005): Biometrika. MZLU v Brně. 194 s.

Šnobl, J., Pulkrábek, J. (2007): Základy rostlinné produkce. 1. dotisk, 2. přepracovaného vydání. Praha. Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů Česká zemědělská univerzita v Praze. 172 s. ISBN 978-80-213-1340-8.

Vaněk, V. a kol.: Výživa a hnojení polních a zahradních plodin. 3. vydání. Praha: Redakce odborných časopisů, 2002, 132 stran. ISBN 80–902413–1-3.

Zahradníček, J., Jarý, J.: Technologická jakost cukrovky a vlivy na ni působící. Listy cukrovarnické a řepařské. VUC Praha, a.s., ročník 119, č. 12, prosinec 2003. ISSN 1210–3306.

http://www.agroweb.cz/Vynosova-schpnost-cukrovky_s44x10564.html

http://www.agroweb.cz/Vliv-animalni-a-mineralni-vyzivy-na-metabolismus-a-technologickou-jakost-cukrovky_s45x9471.html

http://stary.agroweb.cz/projekt/clanek.asp?cid=9444

BAKING QUALITY OF WHEAT-RYE MIXTURES

Dvořáková P.[1], Burešová I.[2], Kráčmar S.[1], Matoušek T.[3], Pnížil P.[3], Kučerová J.[4], Faměra O.[5]

[1] Department of Food Analysis and Chemistry, Faculty of Technology, Tomas Bata University in Zlín, nám. T. G. Masaryka 275, 762 72 Zlín, Czech Republic

[2] Department of Food Technology and Microbiology, Faculty of Technology, Tomas Bata University in Zlín, nám. T. G. Masaryka 5555, 760 01 Zlín, Czech Republic

[3] Depatment of Physics and Materials Engineering, Faculty of Technology, Tomas Bata University in Zlín, nám. T. G. Masaryka 275, 762 72 Zlín, Czech Republic

[4] Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

[5] Department of Quality of Agricultural Products, Czech University of Live Sciences Prague, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 – Suchdol, Czech Republic

E-mail: pdvorakova@ft.utb.cz

ABSTRACT

The most important chemical compounds for wheat dough are gluten proteins – gliadins and glutenins which have the distinctive rheological ability to form a dough matrix that determines bread quality. Other cereal flours as rye flour do not have these unique properties, but they can improve nutritional aspects of daily consumed breads such as higher intake of fibre which has a positive effect on digestion and decreases risk of hypercholesterolemia, obesity and heart disease, and current trend in bakery is to replace part of wheat flour with rye flour. In this work 11 ratios of wheat-rye mixtures were prepared; flour quality (Zeleny sedimentation volume, Hagberg falling number, water absorption), machine workability of dough and consequently bread quality characteristics (bread shape, mean bread volume, dough yield, pastry yield, baking loss, texture parameters, image analysis) were investigated. The results showed that parameters of final product are significantly affected by wheat-rye ratio and flour quality. Moreover the addition of rye flour does not influence machine workability of the mixtures.

Key words: wheat, rye, flour, bread, quality, texture

Acknowledgement: The research was supported by the internal grant of TBU in Zlín No. IGA/16/FT/11/D funded from the resources of specific university research. The research work of Tomáš Matoušek was co-supported by the internal grant of Tomas Bata University in Zlín No. IGA/13/FT/11/D funded from the resources of specific university research.

INTRODUCTION

Wheat (*Triticum aestivum* L.) flour is functional in many applications and these unique characteristics absolutely differ from other cereals and can be ascribed to the visco-elastic properties of gluten proteins. Gluten proteins represent about 80 to 85% of total wheat proteins and consist of monomeric gluten units (gliadin) which cause viscous behaviour while polymeric gluten units (glutenin) are elastic. When kneading and/or mixing wheat flour with water, gluten proteins, facilitate a formation of cohesive visco-elastic dough able to retain gas produced during fermentation. That results in typical foam structure of bread. Although the role of other flour components is important too, it is evident that gluten protein functionality is crucial (Veraverbeke and Delcour, 2002; Wang et al., 2006). Other cereal flours are then worse treatable in comparison with wheat flour. Wannerberger et al. (1997) claims that the baking quality of rye flour is much lower, which is related to the lower gas holding capacity of rye dough. Rye flour is often used in sour doughs because the low pH resulting from acetic and lactic acid originating from fermentation is believed to improve the baking performance. Baking performance of rye has been ascribed to the pentosans (arabinoxylans and arabinogalactans). These polysaccharides are thought to stabilise foams by decreasing the gas diffusion, nevertheless rye pastry will never give such volume and shape typical for wheat bread, but can improve an intake of dietary fibre and antioxidants which is far below the recommendations. Nowadays consumers are paying more attention on the quality and nutritional aspects of foods. Nutritional specialists propose consumption of cereal-based products for the nutritional benefits as improvement in blood glucose level regulation, preventing obesity, reducing the risk of cardiovasculat diseases (Horszwald et al., 2009; Hansen et al., 2004, Dewettinck et al., 2008). Ragaee and Abdel-Aal (2005) discovered that in case of cookies and cakes, replacement of wheat flour up to 30% of rye had no significant effects on the quality and sensory properties and developed healthier products with higher portion of fibre.

The aim of this work was to investigate the effect of the wheat/rye ratio in wheat-rye mixtures on machine workability and properties of baked bread.

MATERIALS AND METHODS

The research was realized on wheat and rye flour provided by commercial mill Penam, a.s. Wheat-rye mixtures were inscribed "TS" (*Triticum aestivum* L.*; Secale cereale* L.) and 11 ratios T 100, TS 1090, TS 2080, TS 3070, TS 4060, TS 5050, TS 6040, TS 7030, TS 8020, TS 9010 and S 100 (for example T 100 means 100% of wheat flour; TS 1090 means 10% (w/w) of wheat flour and 90% of rye flour in mixture) were prepared and subjected to analyses.

Flour technological quality

Hagberg falling number was assessed according to ISO 3093 (ISO, 2004). Obtained values depend on α-amylase activity through changes in starch viscosity. Excessive activity has a deleterious effect on the bread-making quality. Sedimentation volume according to Zeleny was measured by ISO 5529 (ISO, 1992). The method is based on suspension of test flour in a lactic acid solution in the presence of bromophenol blue. After specified shaking and rest times the volume of the deposit was determined. Flours and mixtures water absorption was obtained by Egger promylograph in accordance with ICC standard no. 115 (ICC, 1992). Each laboratory test was carried out on two test portions simultaneously or rapidly one after the other. The arithmetic mean of the two determinations was taken as a result if the conditions of repeatability set by standards were satisfied. If the absolute difference between two independent single test results was outside standard limits the two determinations were performed again.

Baking test

Baking test was conducted on 300 g flour samples using a straight-dough baking formula and short fermentation time (ICC, 1980). High speed dough mixing and a short fermentation time are typical of this method. Bread loaves were evaluated in relation to yield (dough and bread), baking loss, volume, shape (loaf height/width ratio) and crumb characteristics. Dough was prepared from flour (100%), 1.8% dry yeast, 1.5% salt, 1.86%, 0.005% ascorbic acid related to flour weight, water according to pharinographic parameters.

Image analysis

Crumb of bread loaves was submitted to pore size estimation. The principle of this method is scanning a plane surface of a cellular material and consequent digital image analysis of the scan (Matoušek et al., 2011).

Texture analysis

Texture analysis of bread crumb was performed on cylinder of 2.5 cm diameter and 2 cm thickness using Texture Analyser TA.XT Plus (Stable Micro Systems, Surrey, UK) which was equipped with a compression cell of 30 kg and a matrix of 500 mm in diameter. The speed of matrix was set at 1 mm s^{-1}. This analysis was performed twice, 24 hours after baking and 72 hours after storage at 27±1 °C and relative humidity of 50±1% according to Xie at al. (2003).

The texture analyses were carried out by two sequential penetration events (penetration depth 10 mm, probe speed 2 mm s^{-1}, trigger force 5 g). The test was performed using a 50 mm stainless steel cylinder and the force-deformation curve was recorded. Hardness (force needed to attain a given deformation – maximum force during the first penetration cycle; N); adhesive power (relative strength of adhesive power between the bread crumb and the probe surface – ratio of the absolute value of the negative force area to the positive force area of the first peak; unitless); elasticity (length to which the sample recovers in height during the time that elapses between

the end of the first compression cycle and the start of the second compression cycle; unitless); cohesiveness (strength of the internal bonds of bread crumb – ratio of the positive force area of the second peak to that of the first peak; unitless); chewiness (product of hardness times cohesiveness times elasticity; unitless) and gumminess (product of hardness times cohesiveness; unitless) (Mochizuki, 2001) were observed.

Statistical analysis

Results were analysed using one way analysis of variance (ANOVA) and the test of Fisher's least significant difference at a significance level of 0.01. These tests were realized in Statistica 9 software (StatSoft, Inc.). Samples S 100 and T 100 were selected as the standards and statistically significant differences between them and remaining samples were assessed.

RESULTS AND DISCUSSION

Flour technological quality

Zeleny sedimentation test, Hagberg falling number, bread shape and mean bread volume showed rising tendency with increasing amount of wheat in the mixture. Contrariwise water absorption (the highest water absorption achieved S 100 – 70.3%, the lowest value T 100 – 62.0%) and dough yield exposed decreasing trend (from 173% for S 100 to 166% for T 100). Concerning the pastry yield and baking loss, both indicated not regular but apparent downtrend/upward trend resp., with higher portion of wheat in the mixture. These results indicate that different chemical composition of wheat and rye flour notably affects basic characteristics applied on rye flour, especially pentosans and different amylase activity. It is well known that rye flour has lower amylase activity thus cannot reach the values of Hagberg falling number as wheat flour (307 s) whereas rye flour 183 s which is in agreement with Burešová and Palík (2010). Wannerberger et al. (1995) in his work proved that proteins present in rye grain have similar properties as gliadin, but these are not expressed in flour which explains these results obtained by Zeleny sedimentation test where the highest value was detected for T 100 (36 ml) and the smallest for S 100 (<10 ml). All these factors affect remaining parameters too – mean volume of 100% wheat bread attained 1.13 (height/width quotient) while 100% rye bread only 0.68 as can be seen in Table 1 (see appendix).

Bread quality

Samples were first provided to analyses on texture analyser 24 hrs after baking then all the obtained parameters were statistically evaluated (Table 2, appendix). Statistically significant differences for hardness [N] were found between S100 (61.7 N) and all other samples including the second standard T100 (12.4 N), however statistically significant differences stressed to the standard T 100 were proved only for TS 1090 (40.2 N), TS 2080 (30.3 N), TS 3070 (28.1 N), TS 4060 (21.3 N), and between S 100 and TS 5050 (19.8 N). Other significant differences were found between S100 (0.539) and TS 2080 (0.669), TS 5050 (0.654), TS 6040 (0.679), TS 7030 (0.702), TS 8020 (0.704), TS 9010 (0.676) and T100 (0.684), and between T100 and TS 1090 (0.546), S100 for cohesiveness. Next, chewiness and gumminess were discovered. For chewiness statistically significant

differences were found between standard S100 (116.1) and all of the remaining samples, while for the standard T100 (28.1) only samples TS 1090 (78.2) to TS 4060 (47.0) were found as statistically different. Concerning the gumminess all the samples were statistically significantly different from the standard S100 (33.2), but only TS 1090 (21.9) to TS 5050 (12.9) were significantly different from the second standard T100 (8.4). Regarding adhesive power and elasticity, no statistical differences were found between the standards and remaining samples.

Table 3 (appendix) shows statistical significant differences and mean values of mixtures after 72 hrs of storing. Statistically significant differences were found for hardness [N] between S100 (81.1 N) and all other samples except from TS 2080 (75.1 N) furthermore for the standard T100 (25.1 N) samples TS 1090 (61.6 N) to TS 4060 (47.3 N) and TS 6040 (37.9 N) to TS 9010 (28.0 N). For adhesive power the only difference was found between both standards S 100 (-0.0001), T 100 (0) and TS 1090 (-0.011289). Cohesiveness showed statistical differences between S 100 (0.514) and TS 7030 (0.582), and T100 (0.551) and TS 1090 (0.491), TS 2080 (0.503). Chewiness was different for S 100 (162.6) and all of the remaining samples except from TS 2080 (135.9) and T 100 (49.6) differed from TS 1090 (110.5) and TS 2080. Regarding gumminess S 100 (41.6) differed from all other samples except from TS 2080 (37.8), and standard T 100 (13.9) differed from S 100 and TS 1090 (30.2) to TS 4060 (24.9) and TS 6040 (20.5). No significant differences were observed for elasticity.

Other statistical analysis calculated significant differences between all texture bread characteristics measured after 24 and 72 hours and showed that parameters hardness, cohesiveness, chewiness and gumminess change during storing and their values proved statistical differences while adhesive power and elasticity do not (see Table 4, appendix).

Generally, all of the observed parameters deteriorated during stalling at defined conditions, which is in agreement with Xie et al. (2003), Moore et al. (2004). This phenomenon is caused by partial crystallization of gelatinized starch named retrogradation while cooling down the brad to ambient temperatures. These changes along with moisture migration through the crust imply hardening of starch gel hence causes the increasing firmness of bread crumb Fessas (1998). According to Vinkx and Delcour (1995) rye arabinoxylans (pentosans) increase starch retrogradation which is in agreement with these results that showed increasing hardness, chewiness and gumminess with raising amount of rye flour in mixtures.

The last statistically evaluated parameter was mean volume of bread, which revealed that with the addition of rye bread volume decreased nevertheless no statistical significant difference was found.

Image analysis

Table 5 (appendix) describes bread image analysis. The studied set of wheat-rye mixtures showed that increasing amount of wheat flour caused decreasing density of the sample (T 100 – 0.38 g/cm^3; S 100 – 0.79 g/cm^3) that can be caused by chemical composition of rye flour and especially pentosans which are responsible for condensation of the pores Fessas (1998). Concerning the mean pore size the samples TS 3070, TS 4060, TS 5050, TS 6040 and TS 7030 exposed similar mean

pore size (~ 0.13 mm^3) while remaining samples with higher portion of rye/wheat flour were different (from 0.011 to 5.260 mm^3). And finally the pore size distribution was very concentrated except from samples TS 9010 (3.471 mm^2) and T 100 (5.752 mm^2) thanks to the protein-polysaccharide complex and its interactions which ensure gas retention, better maturing thus regular distribution of number of pores. Other observed parameters – pore wall thickness, total pore wall area and total count of pores – did not show regular tendency, but concerning the total count of pores, absolutely highest amount of pores confirmed the samples S 100 (18 982) and TS 1090 (28 474), contrariwise T 100 – 117 and TS 9010 – 265.

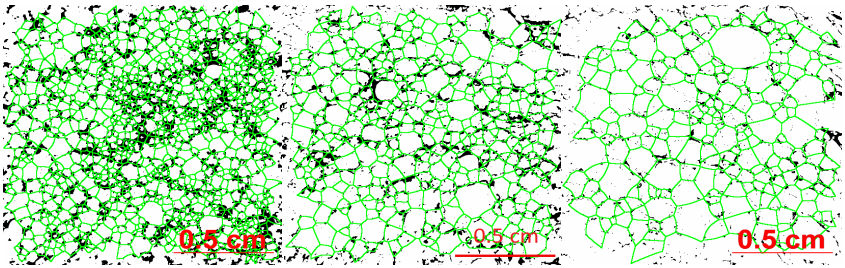


Fig. 1 Image analysis of pore size estimation; from the right: S 100, TS 5050, T 100

CONCLUSIONS

The data demonstrated that flour quality changed with varying ratio of wheat-rye mixtures. Consequent analyses proved that this fact significantly affected final quality of baked bread samples. Changes of texture parameters were caused by chemical composition of rye flour, especially pentosans which evoked deterioration of all observed parameters. Moreover these changes were also caused by natural processes during bread storing such as water loss and starch retrogadation. Shape and distribution of the pores throughout the crumb were connected with protein-polysaccharide complex and dough gas retention during proofing.

All these findings proved that with varying amount of wheat/rye in the mixture quality of bread changed, but all the samples reached satisfactory values, furthermore test machine workability of all tested mixtures was confirmed.

REFERENCES

Burešová I., Palík S. (2010): Food quality of rye grain [Czech]. *Obilnářské listy*, 18, 2010, 4, 110-112.

Dewettinck K., Van Bockstaele F., Kühne B., Van de Walle D., Courtens T. M., Gellynck, X. (2008): Nutritional value of bread: Influence of processing, food interaction and consumer perception. Journal of Cereal Science. Doi: 10.1016/j.jcs.2008.01.003.

Fessas D., Alberto S. (1998): Texture and staling of wheat bread crumb: effect of water extractable proteins and “pentosans”. *Thermochimica Acta.* Doi: 10.1016/S0040-6031(98)00473-0.

Hansen H. B., Møller B., Andersen S. B., Jørgensen J. R., Hansen Å. (2004): Grain Characteristics, Chemical Composition, and Funcional Properties of Rye (*Secale cereal* L.) As Influenced by Genotype and Harvest Year. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Doi: 10.1021/jf0307191.

Horszwald A., Troszyńska A., Castillo M. D., Zieliński H. (2009): Protein profile and sensorial properties of rye breads. *Eropean Food Research Technologies.* Doi: 10.1007/s00217-009-1129-6.

ICC 115 (1992): Method for using the Brabender Farinograph.

ICC 131 (1980): Test Baking of Wheat Flours

ISO 3093 (2004): Wheat, rye and respective flours, durum wheat and durum wheat semolina -- Determination of the Falling Number according to Hagberg-Perten.

ISO 5529 (2007): Wheat -- Determination of the sedimentation index -- Zeleny test.

Matoušek T., Ponížil P., Křemen F., Burešová I., Dvořáková P. (2011): Pore size estimation. The 4th WSEAS International Conference on ENGINEERING MECHANICS, STRUCTURES, ENGINEERING GEOLOGY (EMESEG ´11), July 14.-16. Corfu Island, Greece, pp. 372-377, ISBN 978-1-61804-022-0

Mochizuki Y. (2001): Texture profile analysis in Current Protocols in Food Analytical Chemistry. Doi: 10.1002/0471142913.fah0203s00.

Moore M. M. Schober T. J., Dockery P., Arendte E. K. (2004): Textural Comparisons of Gluten-Free and Wheat-Based Doughs, Batters, and Breads. Cereal Chemistry. Doi: 10.1094/CCHEM:2004.81.5.567.

Ragaee S., Abdel-Aal E. M. (2005): Pasting properties of starch and protein in selected cereals and quality of their food products. Food chemistry. Doi: 10.1016/j.foodchem.2004.12.012.

Veraverbeke W. S., Delcour J. A. (2002): Wheat Protein Composition and Properties of Wheat Glutenin in Relation to Breadmaking Functionality. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. Doi: 10.1080/10408690290825510.

Vinkx C. J. A., Delcour J. A. (1996): Rye (Secale cereal L.) Arabinoxylans: A critical review. Journal of Cereal Science. Doi: 10.1006/jcrs.1996.0032.

Wang J., Zhao M., Zhao Q. (2007): Correlation of glutenin macropolymer with viscoelastic properties during dough mixing. Journal of Cereal Science. Doi: 10.1016/j.jcs.2006.07.006.

Wannerberger L., Eliasson A. C., Sindberg A. (1997): Interfacial Behaviour of Secalin and Rye Flour-milling Streams in Comparison with Gliadin. Journal of Cereal Science. Doi: 10.1006/jcrs.1996.0085.

Xie F., Dowell F. E., Sun X. (2003): Comparison of near-infrared reflectance spectroscopy and texture analyzer for measuring wheat bread changes in storage. Cereal Chemistry. Doi: 10.1094/CCHEM.2003.80.1.25.

APPENDIX

Tab. 1 Selected parameters of basic analyses and rapid mix test

Mixtures (ratio)	Moisture [%]	SEDI [ml]	FN [s]	Water absorption [%]	Bread shape (height/width)	Mean bread volume [ml]	Dough yield [%]	Pastry yield [%]	Baking loss [%]
S 100	11.49	<10	183	70.3	0.68	200	173	149	13.86
TS 1090	11.62	12	211	70.2	0.74	225	174	151	13.47
TS 2080	11.92	15	215	70.1	0.79	238	173	150	13.35
TS 3070	11.98	25	226	70.0	0.84	250	172	147	14.71
TS 4060	12.11	25	222	68.0	0.98	275	171	146	14.89
TS 5050	12.38	27	235	67.9	0.92	313	172	149	13.18
TS 6040	12.60	29	243	68.1	0.96	363	171	149	13.10
TS 7030	12.81	31	243	66.5	0.97	375	170	148	12.70
TS 8020	12.91	33	259	64.5	1.08	400	168	141	16.35
TS 9010	13.21	34	301	63.6	1.12	425	167	142	15.12
T 100	13.52	36	307	62.0	1.13	433	166	141	15.12

SEDI Zeleny sedimentation volume, *FN* Hagberg falling number

Tab. 2 Bread characteristics – mean values of mixtures (24 hrs after baking)[a]

Mixtures (ratio)	Hardness	Adhesive power	Elasticity	Cohesiveness	Chewiness	Gumminess
S 100	61.7f	-0.004a	3.50ab	0.539b	116.1ff	33.2g
TS 1090	40.2e	-0.005a	3.56ab	0.546b	78.2de	21.9f
TS 2080	30.3d	-0.016a	4.23b	0.669a	83.8e	19.8ef
TS 3070	28.1cd	-0.008a	3.44ab	0.621abc	59.8cd	17.4de
TS 4060	21.3bcd	-0.003a	3.49ab	0.631abc	47.0bc	13.5cd
TS 5050	19.8abc	-0.009a	3.32a	0.654ac	42.9abc	12.9bc
TS 6040	15.3ab	-0.004a	3.36a	0.679a	34.8ab	10.4abc
TS 7030	14.4ab	-0.001a	3.33a	0.702a	33.6ab	10.1abc
TS 8020	12.5ab	0a	3.30a	0.704a	29.1ab	8.8ab
TS 9010	11.6a	0a	3.36a	0.676a	26.3a	7.8a
T 100	12.4ab	0a	3.33a	0.684a	28.1a	8.4a

[a]Different letters in the same column indicate a significant difference between means at 1% level according to Fisher LSD test.

Tab. 3 Bread characteristics – mean values of mixtures (72 hrs after baking)[a]

Mixtures (ratio)	Hardness	Adhesive power	Elasticity	Cohesiveness	Chewiness	Gumminess
S 100	81.1f	0a	3.89b	0.514a	162.6e	41.6e
TS 1090	61.6de	-0.011b	3.66ab	0.491a	110.5cd	30.2cd
TS 2080	75.1ef	0a	3.59ab	0.503a	135.9d	37.8de
TS 3070	45.8c	0a	3.69ab	0.523ab	88.6bc	23.9bc
TS 4060	47.3cd	0a	3.59ab	0.528ab	89.5bc	24.9bc
TS 5050	36.0abc	0a	3.47ab	0.533ab	66.6ab	19.2ab
TS 6040	37.9bc	0a	3.59ab	0.538ab	73.9ab	20.5ab
TS 7030	24.8ab	0a	3.39a	0.582b	49.1a	14.5a
TS 8020	23.9a	0a	3.27a	0.547ab	43.1a	13.1a
TS 9010	28.0ab	0a	3.52ab	0.545ab	53.4a	15.3a
T 100	25.1a	0a	3.54ab	0.551ab	49.6a	13.9a

[a]Different letters in the same column indicate a significant difference between means at 1% level according to Fisher LSD test.

Tab .4 Bread characteristics[a]

Time (after baking)	Hardness	Adhesive power	Elasticity	Cohesiveness	Chewiness	Gumminess
24 hrs	24.58a	-0.004912a	3.45a	0.534a	52.89a	15.08a
72 hrs	48.53b	-0.000944a	3.56a	0.643b	80.89b	22.38b

[a]Different letters in the same column indicate a significant difference between means at 1% level according to Fisher LSD test.

Tab. 5 Bread image analysis

Mixtures (ratio)	Density [g/cm^3]	**E***V* [mm^3]	σ_V	**E***S* [mm^2]	σ_S	Pore wall thickness [mm]	In 1cm^3 of sample: Total pore wall area [mm^2]	In 1cm^3 of sample: Total count of pores
S 100	0.79	0.011	0.001	0.120	0.005	0.347	2277	18982
TS 1090	0.71	0.010	0.006	0.110	0.042	0.227	3124	28474
TS 2080	0.72	0.051	0.011	0.330	0.047	0.396	1819	5521
TS 3070	0.61	0.110	0.014	0.554	0.047	0.311	1964	3543
TS 4060	0.56	0.198	0.083	0.804	0.228	0.313	1791	2226
TS 5050	0.53	0.101	0.003	0.526	0.011	0.218	2436	4632
TS 6040	0.52	0.074	0.007	0.424	0.027	0.188	2767	6527
TS 7030	0.50	0.157	0.106	0.671	0.306	0.235	2131	3175
TS 8020	0.41	0.817	0.178	2.102	0.306	0.270	1518	722
TS 9010	0.35	2.444	4.111	3.471	3.943	0.379	922	265
T 100	0.38	5.260	9.038	5.752	6.651	0.561	677	117

Density density of dried bread, *EV* mean volume of pores, σV standard deviation of pores volumes, *ES* mean pores surface area, σV standard deviation of pore surface.

EFFECT OF CONSUMPTION OF PROBIOTICS AND SYNBIOTICS ON THE COMPOSITION OF INTESTINAL MICROFLORA

Kolářová M., Sládková P., Komprda T., Rožnovská D.

Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xkolaro1@node.mendelu.cz

ABSTRACT

Effect of consumption of probiotics (bifidobacteria- and *Lactobacillus acidophilus*-containing yogurt) and synbiotics (probiotics with addition prebiotic [inulin]) was carried out using on the composition of microbiota in the human gut our in vivo study. Three groups: P (Probiotic), S (Synbiotic) and K (Control, without yogurt) by 22 healthy adults was used for this experiment. P and S groups had without consumption of probiotics for 10 days (adaptation phase). Then a daily serving of yogurt for 21 days. Control group without consumed of yogurt during of experiment. Fecal samples were collected at days: 0 (the end of adaptation phase), 7, 14, 21 (yogurt consumption) and 26, 28 (wash out period). The results of the study suggest that the human fecal bacterial community could be altered by consumption yogurt. After consumption of prebiotics/synbiotics increased counts of LAB, including *Lactobacillus acidpophilus* and bifidobakteria respectively. The bigest increase of bacterial counts between zero and 14th day of an experiment was observed in the species *L. acidophilus*. The same was true regarding the genus *Bifidobacterium*, where the addition of inulin indicated growth support. The group synbioitc is inhibited growth of *E. coli* during consumption. In this regard, our experiment confirmed the previous data that bifidobacteria can act antagonistic toward some genera of pathogenic bacteria.

Key words: probiotics, prebiotics, synbiotics, microbial community, human intestinal tract

Acknowledgement: This research was supported by grant IGA MENDELU IP 19/2011.

ÚVOD

Střevní mikroflóra je nesmírně důležitá pro správnou funkci trávicího traktu. Gastrointestinální mikroflóra je velice různorodá a složitá - skládá se z více než 400 různých bakteriálních druhů. Mikrobiální osídlení je značně individuální a vyvíjí se v průběhu života a také vlivem vnějších podmínek. Bakterie přítomné v trávicím traktu hrají důležitou úlohu ve vývoji imunitního systému a ochraně lidského zdraví. Ve střevní mikroflóře se v horní části střevního traktu nacházejí převážně fakultativně anaerobní bakterie (např. rody *Enterobacte*r, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium* a *Bacillus*), v dolní části střevního traktu pak bakterie striktně anaerobní (např. rody *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium* a *Clostridium*) (Holm, 2001).

Probiotické bakterie udržují střevní mikroflóru v rovnováze, čímž zmírňují potíže způsobené léčbou antibiotiky, infekcí, poruchami imunity, průjmy nebo naopak zácpou a řadu dalších (Gill, 1998). Pro dosažení nápravy těchto symptomů, tedy ke zlepšení zdraví, je podstatná pravidelná konzumace probiotik v dostatečném množství. Za terapeutické minimum se považuje denní konzumace alespoň 100 g mléčného výrobku s minimálním obsahem 10^6 probiotických bakterií v 1 g nebo v 1 ml.

V souvislosti s probiotiky je nutné zmínit prebiotika a synbiotika. Prebiotikum je nestravitelná složka potravy, která stimuluje růst jednoho nebo více druhů bakterií ve střevě. Synbiotikem se pak rozumí taková potravina, která obsahuje probiotickou kulturu, a zároveň prebiotikum, které selektivně podporuje růst konkrétního probiotika. Nejjednodušším příkladem synbiotika pro lidskou výživu je jogurt s obsahem probiotických bifidobakterií a prebiotickou oligofruktózou nebo inulinem.

MATERIÁL A METODIKA

Ke sledování vlivu konzumace probiotik, resp. synbiotik byly sestaveny 3 skupiny osob: skupina K (kontrolní) s vyloučením konzumace fermentovaných mléčných výrobků, skupina P (probiotická) s konzumací bílého selského jogurtu s probiotickou kulturou BIFI a *Lactobacillus acidophilus* o hmotnosti 200 g (Hollandia, Karlovy Vary) a skupina S (synbiotická) s konzumací bílého selského jogurtu s probiotickou kulturou BIFI a *Lactobacillus acidophilus* a přídavkem inulinu o hmotnosti 200 g (Hollandia, Karlovy Vary).

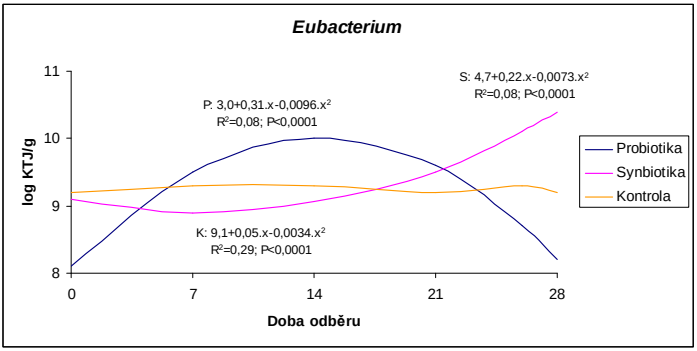
Každá skupina byla složena z 22 probandů v průměrném věku 22 ± 3 roky. Pokus byl zahájen desetidenním adaptačním obdobím následovaným třemi týdny konzumace a byl ukončen týdnem doznívání. V průběhu pokusu byl skupinám 6x odebrán vzorek stolice, a to 0. den (konec adaptační fáze), 7., 14., 21. den (konec konzumace) a ve fázi doznívání 26. a 28. den. Pro odběr stolice byly použity sterilní odběrové tampóny s aktivním uhlím (Vitrum, Česká republika).

Při rozborech byl použito pomnožovaní médium Nutrient Broth Peptone (Himedia, Italie). Kultivace probíhala plotnovou metodou pomocí roztěru, při níž byly stanovovány tyto skupiny mikroorganismů: celkový počet mikroorganismů (CPM) na PCA (Biokar Diagnostics, Francie) při 30 °C za 72 h aerobně. Bakterie mléčného kvašení (BMK) na MRS agaru (Biokar Diagnostics, Francie) při 37 °C za 72 h anaerobně. *E. coli* na ENDO agaru (Biokar Diagnostics, Francie) při 37 °C za 72 h aerobně. Rod *Enterococcus* na médiu Slanetz - Bartley (Biokar Diagnostics, Francie) s přídavkem suplementu TTC (Merck, Německo) při teplotě 37 °C po dobu 48 h aerobně, rod *Lactobacillus acidophilus* na MRS agaru (Biokar Diagnostics, Francie) s přídavkem suplementu Clindamycin hydrochloride (Sigma-Aldrich, USA) při 37 °C za 72 h anaerobně. Rod *Bifidobacterium* na BSM agaru (Fluka, Švýcarsko) s přídavkem BSM suplementu (Fluka, Švýcarsko) při teplotě 42°C po°dobu 125 h anaerobně, rod *Eubacterium* na půdě Wilkins-Chalgren anaerobe (Oxoid, VB) při°37°C za 72 h anaerobně, rod *Clostridium* na Bouillon RCM de Hirsch (Biokar Diagnostics, Francie) s přídavkem Bacteriological agar Type E (Biokar Diagnostics, Francie). Po ukončení kultivace byly na jednotlivých Petriho miskách odečteny narostlé kolonie a výsledek vyjádřen v KTJ/g.

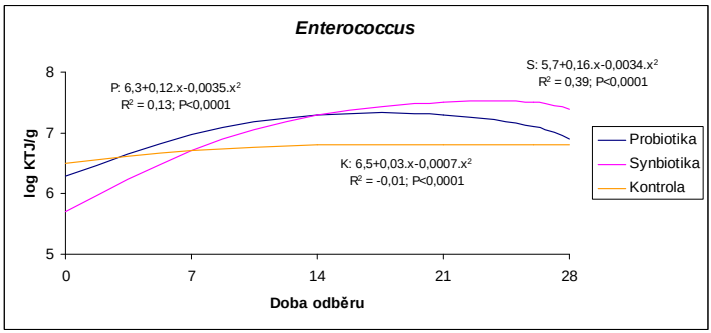
Mikrobiologické ukazatele byly měřeny ve dvou opakováních u každého odebraného vzorku. Průměry z těchto dvou měření byly použity ve statistickém vyhodnocení. Program Statistica 8 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA) byl použit pro výpočet základních statistických charakteristik a regresí (testování kvadratické funkce), rozdílů mezi skupinami vzorků v počtu mikrobiálních kolonií (jednostupňové třídění analýzy rozptylu, včetně post hoc Duncanova testu).

VÝSLEDKY A DISKUSE

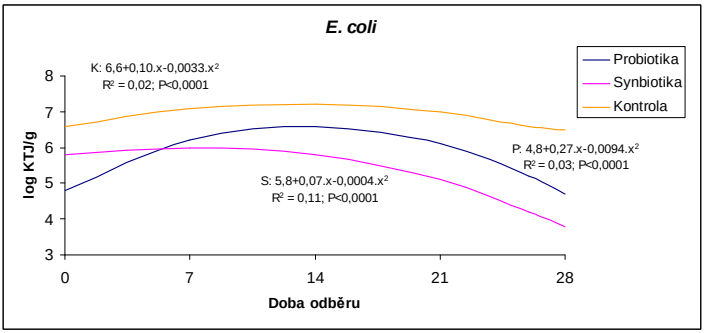
Výsledky stanovení počtů závislosti jednotlivých sledovaných mikroorganismů přítomných ve°stolici probandů jednotlivých skupin (P, S, K) na době odběru je znázorněno na Obr. 1 až 6.



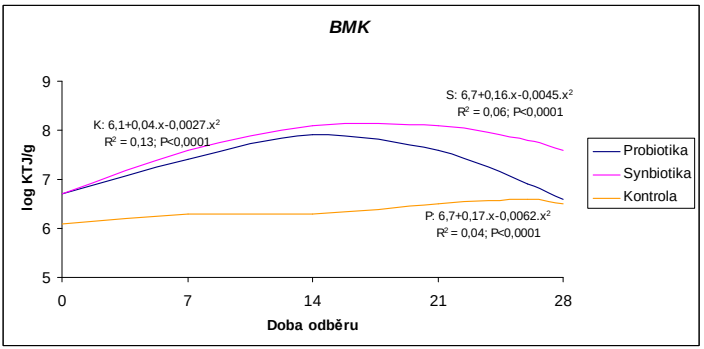
Obr. 1 *Celkový počet baktérií rodu Eubacterium ve vzorcích stolice*



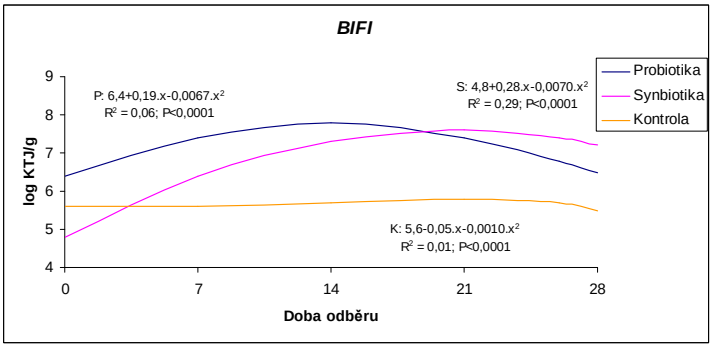
Obr. 2 *Celkový počet enterokoků ve vzorcích stolice*



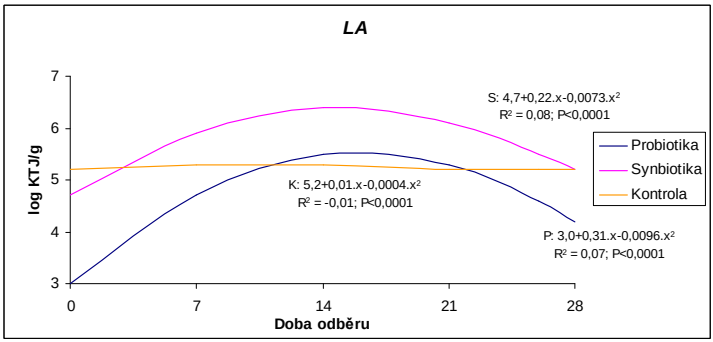
Obr. 3 *Celkový počet baktérií druhu E. coli ve vzorcích stolice*



Obr. 4 *Celkový počet bakterií mléčného kvašení ve vzorcích stolice*



Obr. 5 *Celkový počet bifidobakterií ve vzorcích stolice*



Obr. 6 *Celkový počet baktérií druhu Lactobacillus acidophilus ve vzorcích stolice*

Z Obr.1 vyplývá, že největší zastoupení ve vzorcích stolice probandů všech tří skupin převládal rod *Eubacterium*. Eubaktérie patří mezi hlavní osídlovatele střevní mikroflóry, avšak nejsou příliš prozkoumány. U skupiny konzumující synbiotika je patrný pokles počtu eubaktérií od 0. po 7. den. Od 14. dne docházelo k jejich postupnému vzrůstu. Oproti tomu u skupiny konzumující probiotika došlo v době mezi 0. a 14. dnem k nárůstu eubaktérií a od 14. dne k jejich snížení. Vysvětlením pro zvyšování a snižování počtu baktérií rodu *Eubacterium* mohou být rozdíly ve stravovaní mezi skupinami probandů. Některé vznikající metabolické produkty pak mohly ovlivnit jejich růst (Belenguer et al., 2006). U kontrolní skupiny zůstávaly počty eubaktérií po celou dobu pokusu přibližně ve stejných hodnotách.

Na Obr. 2 je patrný vliv konzumace probiotik a synbiotik na zvyšování počtů baktérií rodu *Enterococcus*. U skupiny konzumující synbiotika docházelo k nárůstu až do 26. dne, oproti tomu u skupiny konzumující probiotika, u které docházelo k vzrůstu baktérií do 21. dne, u obou skupin se následně počty enterokoků začaly snižovat. Konzumací synbiotik docházelo v porovnání s konzumací probiotik k udržení stejného počtu enterokoků i po dobu doznívání. Podle výzkumu

Belenguer et al. (2006) byl u skupiny konzumující synbiotika zaznamenán vyšší nárůst těchto baktérií než u skupiny konzumující probiotika, čímž se potvrdila i naše studie.

Bakterie druhu *E. coli* početně převládaly u kontrolní skupiny (o celý jeden logaritmický řád, tj 1.10^8 KJT/g oproti 1.10^7 KTJ/g) ve srovnání s ostatními dvěma skupinami (Obr. 3). Na základě těchto zjištění je možné usuzovat, že u skupiny konzumující probiotika docházelo ke snížení zástupců druhu *E. coli* od 14. dne. U synbiotické skupiny bylo potlačení baktérií druhu *E. coli* výraznější než u skupiny probiotické, ke snižování docházelo již od 7. dne konzumace. Tyto výsledky potvrdily hypotézu Gagnona et al. (2004), který uvádí, že bifidobakterie potlačují růst potenciálně patogenních bakterií rodu *Escherichia*.

V počtech BMK je patrný rozdíl mezi skupinami probandů konzumujících probiotika a synbiotika v porovnání se skupinou kontrolní, u níž byl počet BMK po celé časové období experimentu nižší (Obr. 4). Z hlediska orientace experimentu jsme se zaměřili na sledování rodu *Bifidobacterium* a druhu *Lactobacillus acidophilus*, které patřily mezi důležité faktory v konzumaci probiotik a synbiotik, s ohledem na jejich ovlivňování ostatních sledovaných zástupců baktérií v trávicím traktu člověka. Rovněž Collado et al. (2006) zaznamenali zvýšení počtu bifidobakterií ve stolici během konzumace kysaného mléka. Tato studie také potvrdila schopnost bifidobaktérií přežívat průchod gastrointestinálním traktem s opětovnou životaschopností buněk v lidských exkrementech.

Z Obr. 5−6 byl u kontrolní skupiny počet bifidobakterií i druhu *Lactobacillus acidophilus* nižší než u skupin probandů konzumujících probiotika a synbiotika. Tyto skupiny měly u druhu *Lactobacillus acidophilus* od počáteční doby konzumace po 14. den tendenci růstu a následně docházelo ke klesání až do fáze doznívání (Obr. 6). Naproti tomu byl pokles počtu bifidobaktéri u skupiny konzumující synbiotika zaznamenán až od 21. dne (ukončená konzumace jogurtu). Z porovnání křívek vo době doznívání (Obr. 5 a 6) vyplývá, že životaschopnost bifidobakterií oproti druhu *Lactobacillus acidophilus* je vyšší. Celkový počet BMK (včetně bifidobaktérií a *Lactobacillus acidophilus*) převládal u skupiny konzumující synbiotikum. Autoři Klein a kol. (2008) zjistili ve stolici probandů průkazně vyšší množství druhů *Bifidobacterium lactis* a *L. acidophilus* v reakci na konzumaci 300 g jogurtu obsahující tato probiotika po dobu 5-ti týdnů. Také výsledky autorů Uyeno et al. (2008) ukázaly, že v průběhu 20denní konzumace probiotických jogurtů došlo k zvýšení počtu životaschopných laktobacilů ve střevě, po ukončení konzumace však došlo k tzv. „vymytí“ laktobacilů z tlustého střeva. Podané jogurty neobsahovaly prebiotickou složku.

ZÁVĚR

Bylo zjištěno, že u obou skupin probandů konzumujících probiotika, resp. synbiotika docházelo ke zvýšení celkového počtu BMK (vč. bifidobakterií a druhu *Lactobacillus acidophilus*), a zároveň u skupiny konzumující synbiotika došlo ke snížení potenciálních patogenů (*E. coli*) ve stolici, což zabraňuje vzniku nežádoucích infekcí zažívacího traktu člověka. U skupiny synbiotické byly pozorovány lepší výsledky než u skupiny probiotické (např. snížení počtů baktérií druhu *E. coli*, nárůst BMK).

Výsledky experimentu naznačují pozitivní vliv konzumace jak probiotického, tak synbiotického jogurtu. V případě synbiotik se navíc prokázal podpůrný vliv prebiotika na růst pozitivní střevní mikroflóry během konzumace jogurtů a udržení životaschopnosti bifidobakterií i ve fázi týdenního doznívání, kdy byly ze stravy vyloučeny fermentované mléčné výrobky.

LITERATURA

Belenguer A , Duncan S. H., Calder A. G., Holtrop G., Louis P., Lobley G. E. & Flint H. J., 2006. Two routes of metabolic cross-feeding between *Bifidobacterium adolescentis* and butyrate-producing anaerobes from the human gut. Applied and Environmental Microbiology 72: 3593 – 3599.

Collado, M.C., Moreno, Y., Cobo, J.M., Mateos, J.A., Hernández, M., 2006. Molecular detection of Bifidobacterium animalis DN-173010 in human feces during fermented milk administration. Food Research International 39, 5, p. 530-535.

Gagnon, M., Kheadr, E. E., Blay, G., Fliss, I., 2003: In vitro inhibition of *Escherichia coli* O157:H7 by bifidobacterial strains of human origin. International Journal of Food Mikrobiology 92, 69 – 78.

Gill, H. S., 1998. Stimulation of the immune system by lactic cultures. Int. Dairy J. 8, 535 – 544.

Holm F., Gut Health [online]. FoodGroup Denmark**:** 2001 [cit. 2011-10-02]. Dostupný z WWW: <www.flair-flow.com>.

Klein, A., Friedrich, U., Vogelsang, H., Jahreis, G., 2008: *Lactobacillus acidophilus* 74-2 and *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* DGCC 420 modulate unspecific cellular immune response in healthy adults. European Journal of Clinical Nutrition 62, 584-593.

Uyeno, Y., Sekiguchi, Y., Kamagata, Y., 2007: Impact of consumption of probiotic lactobacilli-containing jogurt on microbial composition in human feces. International Journal of Food Mikrobiology 122, 16 – 22.

COMPARISON OF DIFFERENT TECHNIQUES OF MEASUREMENT OF QUALITATIVE PARAMETERS WITH USING NEAR INFRARED SPECTROSCOPY

Kozelková M., Šustová K., Lužová T.

Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xkozelk2@mendelu.cz

ABSTRACT

Near infrared spectroscopy (NIR) is very fast non-destructive analysis physical method, which use the radiation of known wavelength usually 800–2 500 nm (wave number 12 500–4 000 cm^{-1}) and is useful to measure several of parameters concurrent in one sample. Since 1981 can be used the term "rennet" for all enzyme preparates, which can coagulate milk for production cheese.

The aim of this study was compared for different techniques measure of rennet and after that to determine, which technique is suitable for other analysis. The next point my study was to evaluate, whether the FT-NIR spectroscopy with using algorithm for discriminant analysis is can to determine the age of rennet. Six samples were stored in fridge (5 °C) during three months. Spectra were measured: by opened and truth mount by opened, in the reflectance (integrate sphere) transmittance (cell) and interactance (optical probe) mode between 4 000 and 10 000 cm^{-1}, averaging 80 scans and spectral resolution 4 cm^{-1}. Each sample was analyzed three times and average spectrum was used for calibration. The measured data were processed using the TQ Analyst. We can say, that change of spectrum rennet after three months is associated with the change properties of rennet (power rennet). The results showed that FT NIR was able to distinguish rennet measured after opened and rennet measured after three months.

Key words: near infrared spectroscopy, FT-NIR, rennet, qualitative analysis

Acknowledgement: This research has been supported by the No. 12/2011 "Using of near infrared reflectant spectroscopy (FT-NIR) for evaluation of quality of rennet and cheese curd in during storage" which is financed by the Internal Grant Agency of Mendel University in Brno.

ÚVOD

Blízká infračervená spektroskopie (FT-NIR s Fourierovou transformací) je analytická metoda, kterou řadíme k tzv. nedestruktivním metodám. Vzorky není třeba před analýzou nijak upravovat a měření je proto velmi rychlé (Šustová, Kuchtík, 2007). Spektrofotometr využívá zdroje emitujícího záření známé vlnové délky obvykle 800 – 2 500 nm, tj. 12 500 – 4 000 cm^{-1} a umožňuje získat kompletní obraz složení analyzovaného materiálu (Mlček, 2008). Principem metody je absorpce, nebo reflexe vlnových délek záření při průchodu vzorkem. Analytickým výstupem je infračervené spektrum, které je grafickým zobrazením funkční závislosti energie, většinou vyjádřené v procentech transmitance (T) nebo jednotkách absorbance (A) na vlnové délce dopadajícího záření (Snášelová at al., 2002). V potravinářství se NIR využívá při kontrole jakostních ukazatelů potravinářských surovin, meziproduktů i finálních výrobků. Avšak použití NIR spektroskopie je mnohem širší a zahrnuje i stanovení senzorických a fyzikálně-chemických parametrů (hustota, bod mrznutí, pH, velikost částic) (Rodriguez-Otero, a kol, 1997).

The Food and Nutrition Boardof the United States National Research Council přijal roku 1981 klasifikační systém, v němž může být termín „syřidlo“ použit na všechny enzymatické přípravky, které mohou srážet mléko pro výrobu sýrů (Jenness, 1999). Syřidlo je proteolytický enzym s optimem působení v kyselé oblasti. Živočišná syřidla jsou získána z žaludečních (slezových) výtažků sajících telat. Hlavním syřidlovým enzymem je chymosin a pepsin. Obvykle se jedná o čirou žlutavě-hnědou kapalinu bez sedliny nebo zákalu, kořeněné vůně s pH 4 až 6, s obsahem NaCl 18-22 %, bez škodlivých mikroorganismů. Je-li skladováno v temnu při teplotách okolo 5 °C má trvanlivost 6 měsíců (Zimák, 1988). Vzhledem k vysoké spotřebě začaly být pro průmyslové použití syřidlové enzymy vyráběny i ze žaludků hovězích, vepřových a kuřecích, nebo také mikrobiologickou cestou s použitím kvasinek, bakterií nebo plísní (Šustová, 2005).

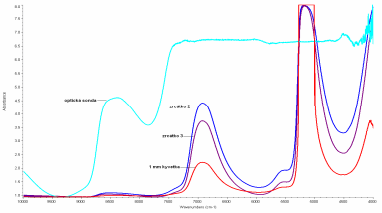
MATERIÁL A METODIKA

Pro analýzy a vytvoření kalibračních modelů bylo použito šest různých tekutých syřidel běžně dostupných v tržní síti České republiky. Syřidlo Laktochym a Laktosin (Milcom a.s.), Leb Stremsel (Ketris s.r.o.), Naturen®Premium, CHy-Max®M a Hannilase®2000L (Chr. Hansen s.r.o.) Syřidla byla skladována na Ústavu technologie potravin, AF MENDELU v Brně v lednici (5 °C) po dobu 3 měsíců, kde byly i analyzovány. Syřidla byla proměřena ihned po jejich prvním otevření, a pak po 3 měsících skladovaní. K měření vzorků byl použit spektrofotometr FT-NIR Antaris (ThermoNicolet, USA) měřící v rozsahu 4 000 - 10 000 cm^{-1} s 80 scany, s časem snímání jednoho spektra ~ 1,25 min, při spektrálním rozlišením 4 cm^{-1}. Každý vzorek byl proměřen dvakrát, a pro kalibraci bylo použito průměrné spektrum (***obr.1***.).

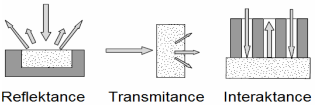
Pro měření infračervených spekter byly použity tři různé techniky měření:

1. Měření v režimu **reflektance** na integrační sféře, kde byl zajištěn odraz paprsku kovovým zrcátkem s h = 2 a 3;
2. Měření v režimu **transmitance** s využitím transflektanční kyvety s optickou drahou 1mm;
3. Měření v režimu **interaktance** s využitím optické sondy.

Naměřená data byla zpracována pomocí programu TQ Analyst. K vytvoření kalibračního modelu pro kvantitativní analýzu byl použit algoritmus Diskriminační analýzy. Programem TQ Analyst funkcí Diagnostic Multiple Summary byli i vytvořené modely validovány



a)

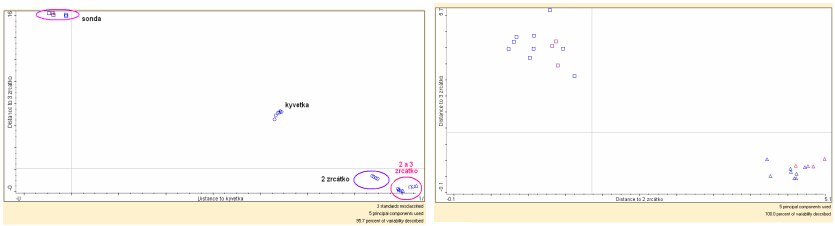


b)

Obr. 1a) *Průměrná NIR spektra syřidla získané různými technikami měření: světle modré spektrum – optická sonda (interactance), tmavomodré a fialové spektrum-integrační sféra(reflektance), červené spektrum - kyveta (transmitance).* ***b)*** *Schematické znázornění odrazu či průchodu záření u jednotlivých technik měření.*

VÝSLEDKY A DISKUZE

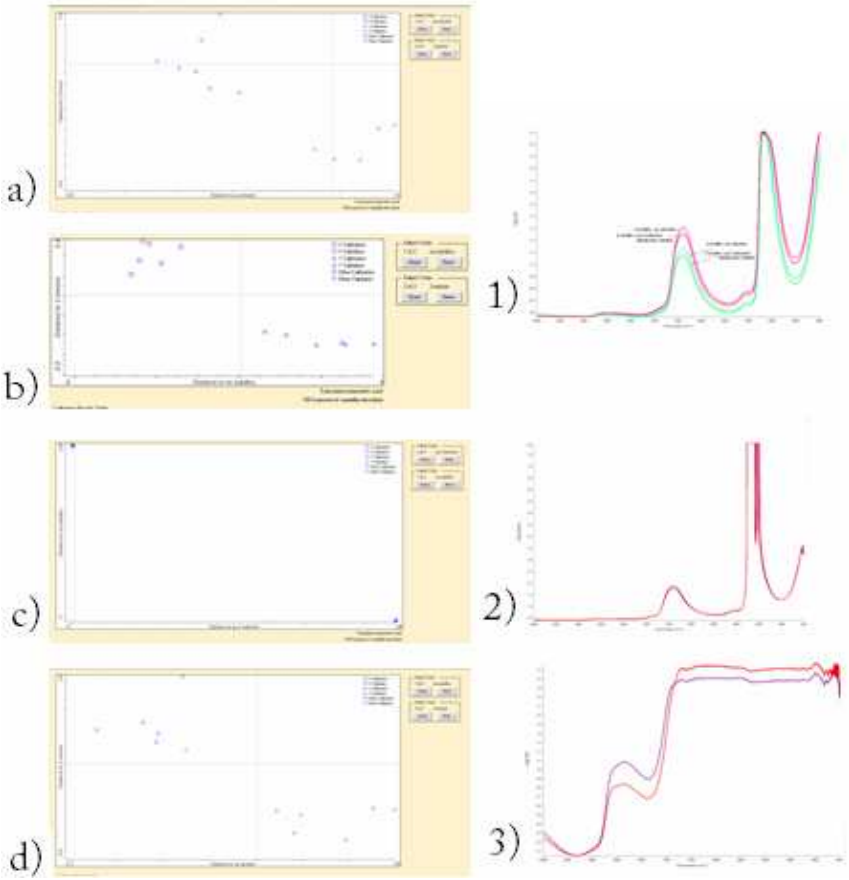
Cílem práce bylo porovnat různé metody měření syřidel, a poté určit, která technika je vhodná pro následné kvalitativní analýzy. Dále zhodnotit, zda je FT-NIR spektroskopie schopna pomocí Diskriminační analýzy (DA) rozlišit stáří. Rozlišovací analýza je spektrální klasifikační technika, která využívá schůdnosti vzorku se standardem resp. řadí spektra do charakterově nejbližší předem definované třídy. Pokud je spektrofotometr schopen rozlišit spektra náležející do jednotlivých tříd, tak se nám vytvoří tzv. CLUSTER, což je shluk shodných spekter, které mají shodné vlastnosti. Při porovnávání spekter jednotlivých technik měření syřidel došlo k vytvoření clusterů, a i k tvorbě tzv. DISKRIMINAČNÍHO KŘÍŽE, což značí, že FT - NIR spektrometr dokázal spolehlivě rozlišit jednotlivé techniky měření (***obr. 2)***. Pro velkou podobnost spekter získaných měřením na optické sféře s využitím zrcátka 2 a 3, byla provedena samostatná diskriminační analýza, která spolehlivě rozlišila tyto dvě techniky od sebe. Pro validaci bylo použito 12 vzorků.



a) *b)*

Obr.2 a) Diskriminační analýza různých technik měření syřidel (□ optická sonda, o kyveta a 2 zrcátko, Δ 3 zrcátko). b) Diskriminační analýza techniky měření syřidel na optické sféře s využitím zrcátka 2 a 3(□ zrcátko 2, Δ zrcátko 3)

Z obrázku 2 vyplývá zjištění, že rozdíl mezi spektry jednotlivých měřících technik je patrný, a proto pro další analýzy nemůžeme spektra naměřena jednou technikou použít pro vyhodnocení spekter naměřených jinou technikou. Tyto spektra také nesmíme sloučit do jedné skupiny, pro tvorbu kalibračních modelů, protože od sebe průkazně liší a kalibrační modely by byly nefunkční. Pro rozlišení stáří syřidel jsme tedy vytvořily pro každou techniku měření svůj kalibrační model (***obr.3***).



Obr. 3 Diskriminační analýza syřidel měřených po otevření a po třech měsících otevření a skladování v lednici: ***a)*** *optická sféra se zrcátkem 2,* ***b)*** *optická sféra se zrcátkem 3,* ***c)*** *kyveta,* ***d)*** *optická sonda. Průměrná NIR spektra syřidla měřeného po otevření po 3 měsících skladování v lednici:* ***1)*** *zrcátko 2 a 3,* ***2)*** *kyveta,* ***3)*** *optická sonda.*

Cílem rozlišovací analýzy bylo určit zda lze rozpoznat různě stará syřidla. V DA byly použity syřidla měřena ihned po otevření a syřidla skladována 3 měsíce v lednici. Na ***obrázku 3. 1-3)*** lze vidět, že spektra syřidla měřeného po 3 měsících skladování se viditelně liší od spektra syřidla měřeného ihned po otevření. Pro vyhodnocení spekter a vytvoření kalibračních modelů, byly použity pouze některé části regionů (viz. ***tab. 1***). Spektra nebyla dále nijak upravována.

Tab. 1 Použité regiony pro vytvoření kalibračních modelů DA při určení stáří syřidel.

Technika měření	Použitý region (cm^{-1})
Optická sféra – zrcátko h=2mm	9004,01 - 5 401,21
Optická sféra – zrcátko h=3mm	7514,57 - 4510,03
Kyveta	8838,53 – 5306,08
Optická sonda	9348,32 – 785151

Na ***obr. 3*** lze vidět přehledné rozdělení spekter do clusterů a vytvoření diskriminačního kříže. Přístroj FT-NIR tedy s vysokou spolehlivostí rozeznal u všech technik měření rozdíl mezi různě starými syřidly. Kalibrační metoda pro rozlišení stáří syřidel vytvořena ze spekter naměřených s použitím kyvety, se nám jeví jako velice přesná, protože vzdálenost clusterů je velká a vzdálenost spekter v clusteru je nepatrná. Pro validaci metody bylo použito opět 12 vzorků.

ZÁVĚR

Výsledky získané diskriminační analýzou nám potvrdily, že existuje rozdíl mezi spektry získanými použitím různých technik měření. Kalibrační model je tedy nutno vytvořit pouze ze spekter naměřených stejnou technikou měření (optická sféra, kyveta nebo sonda). Stárnutím syřidla se mění jeho charakteristiky. Nejdůležitější charakteristika pro mlékárenský průmysl je síla syřidla, která se po otevření syřidla pomalu snižuje, což prokázali i naše laboratorní pokusy. Určení stáří syřidel pomocí FT-NIR spektrometrie, by mohlo sloužit jako rychlá metoda jak stanovit, že syřidlo nemá takové vlastnosti jako mělo na začátku.Všechny vytvořené kalibrační modely pro rozlišení stáří syřidel nám s vysokou přesností rozlišily syřidla po otevření a syřidla skladovaná 3 měsíce v lednici. Kalibrační metoda vytvořena ze spekter naměřených s použitím kyvety, se nám jeví jako velice přesná, protože vzdálenost clusterů je velká a vzdálenost spekter v clusteru je nepatrná. Avšak i ostatní metody dokáží určit stáří syřidla, a proto je jen na obsluze spektrometru, který způsob měření se jim bude jevit jako nejvhodnější. Tato práce pouze ověřovala, zda lze vytvořit funkční kalibrační modely pro určení stáří syřidel. Získané výsledky nám potvrdil, že FT-NIR spektrofotometr lze použít. Pro použití do praxe by bylo vhodné kalibrační modely rozšířit o větší škálu vzorků (syřidel).

LITERATURA

Jenness, R., Wong,N., P., Marth, E., H., Keeney, M.,(1999):*Fundamentals of dairy chemistry*, Third edition, 796,.

Mlček J., (2008): Využití NIR spektrometrie pro hodnocení kvality potravin a potravinových surovin, *Disertační práce*, Mendelova univerzita v Brně, s. 12-18.

Snášelová J., aj.(2002): Měření na IR analyzátoru s Fourierovou transformací, *Mlékařské listy 74*, s. 19-21.

Šustová, K., *Mlékárenské technologie – návody do cvičení*, Mendelova univerzita v Brně, 2005 V tištěné podobě nevydáno.

Rodriguez-Otero J., Hermida M, Centeno A., (1997): Analysis of Dairy products by Near – Infrared Spectroscopy, *A Review J. Agric. Food Chem.*, 5(8).

Šustová K., Kuchtík J.,(2007): Stanovení obsahových složek kozího mléka pomocí FT NIR spektrometrie, *Acta univ. Agric.et silvic.Mendel. Brun*., LV, no 4, str. 103-110.

Zimák E., (1988): *Technologie pro 4. ročník SPŠ studijního oboru zpracování mléka.*

EFFECT OF BARN MICROCLIMATE ON MILK CONTENT AND TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF BULK TANK SAMPLES IN CZECH FLECKVIEH COWS DURING THE WHOLE YEAR

Polák O., Falta D., Zejdová P., Večeřa M., Studený S., 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 research was to investigate the effect of barn microclimate on milk content and technological properties of bulk tank milk samples. It was analysed 53 week's samples on private farm in Říčany (3.6.2010–2. 6.2011). Milk originates from approx. 700 Czech Fleckvieh cows with average 7.500 kg/lactation. One day before taking samples average barn airspace temperature and relative humidity were recorded. The bulk tank samples were analysed for average values of fat content (%), protein content (%), lactose (%), SNF - solids non fat (%), casein content (%), TA - titratable acidity (Soxhlet Henkel), RCT - rennet coagulation time (s) and CQC – curd quality class (class 1-5).

It was found that the minimal and maximal daily temperature resp. relative humidity changed in range –7.4–26.2 °C resp. 48.2–99.9%. It means that in particular periods dairy cows were exposed to heat stress. In mentioned periods (when temperature was close to 26 °C) lower protein and fat content of milk was found and worse curd quality was frequently experienced although RCT was longer in colder period. Close correlation was confirmed between barn airspace temperature and protein, fat resp. SNF content ($r=–0.83$, $–0.81$, resp. $–0.83$; $P<0.01$). Correlation coefficients of stable relative humidity with other parameters were contrary to those of barn airspace temperature. Correlation between barn airspace temperature and relative humidity was $r=–0.55$ ($P<0.01$). Other parameters were not affected by barn airspace temperature or humidity.

Key words: cows, milk production, stable temperature, relative humidity, heat stress

Acknowledgement: This research was supported by grant project FA MENDELU, TP 8/2011 and research programme 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.

INTRODUCTION

The variation in milk yield within a species depends on many factors. Some of these factors are genetics, stage of lactation, daily variation, parity, type of diet and season. The process ability and quality of milk products such as cheese, butter are influenced significantly by these factors, as well (Ozrenk and Inci, 2008). Dairy cow´s thermoneutral zone is defined as enviromental air temperature range from 3 to 12 ºC and heat stress starts already from ≥25 ºC. That is the reason why cattle are phylogenetically determined as arctic animal (Hanuš *et al*., 2008). According to Vokřálková and Novák (2005), the thermoneutral zone of dairy cows ranges from −5 to +24 °C.

Although the milk cattle shows a high adaptability to a wide scale of climatic conditions, its performance can be influenced by great temperature fluctuations occurring within the year. Nowadays, effects of the heat stress represents a tropical problem also in Eastern and Central Europe. Summer climate causes the heat stress of dairy cows and the heat stress results in am depression in milk production. The heat stress occurs in situations when the ambient temperature is higher than that of the animal´s thermal neutral zone (Novák *et al*., 2009).

The heat stress problem is getting worse as production levels continue to rise (Mitlöhner *et al*., 2002; Beatty *et al*., 2006). The summer depression in production of milk causes significant economical losses in the dairy industry. The basic condition of dairy farm management depends on the knowledge of and understanding to factors affecting milk production at most, i.e. not only nutrition and health status of dairy cows but also the parity and calving season, technological systems, and, above all, microclimatic conditions (Maust *et al*., 1972; Gader *et al*., 2007). Livestock performance is affected by heat stress mainly due to the fact that animals having problems with high temperatures and heat try to control their thermoregulation and heat production by reduced feed intake (Davis *et al*., 2003; Mader *et al*., 2004).

There is a negative correlation between the environmental temperature on the one hand and amounts of milk fat and protein on the other. When the temperature is increasing the solids non fat tends to decrease (Ozrenk and Inci, 2008). Ng-Kwai-Hang *et al.* (1984) and Lacroix *et al.* (1996) reported that the percentage of fat, protein and casein was influenced by the seasonal variations. Hanuš *et al*. (2008) observed influence of summer period on milk composition particularly on protein and solids non fat which decreased. Also Dolejš *et al*. (1996) mentioned a decrease in protein and solid non fat content in milk with increase of air temperature. It is clear that influence of dairy cow milk yield level on fat content (Hanuš *et al*., 2007) is more intensive in Czech Fleckvieh but less intensive in Holstein (Janů *et al*., 2007) which is comparable to influence of

environmental temperature variation on fat. Dolejš *et al*. (1996) found also the milk fat content depression with air temperature increase.

The aim of this study was to determine the effect of barn microclimate on content (i.e. contents of protein, fat, lactose, non fat solids and casein) and technological parameters (titratable acidity, rennetability and curd quality class) of bulk milk samples collected in herds of Czech Fleckvieh breeds of cattle during the whole year.

MATERIALS AND METHODS

The study was performed on private farm in the South Moravian Region of the Czech Republic within the period from June 3rd 2010 to June 2nd 2011. The herd on the private farm consisted only from purebred Czech Fleckvieh dairy cows (in average 700 head). In this herd, the average milk performance was 7,500 kg per lactation. The farm is situated in a lowland region in the village of Říčany, Moravia, Czech Republic (GPS 49°12'32.319"N, 16°23'42.666"E) in the altitude of 349 m. All animals were kept under identical conditions in a loose housing system with bedding and received also a complete feeding ration *ad libitum*. They were milked twice daily also at 4.00 and 16.00 h. This experiment took place in the same barn as that used by Erbez *et al*. (2010). On both farms were optimized diet according to Petrikovič and Sommer (2002). Feeding ration consisted from common used feeds in this region (corn silage, cereal meals, solvent oil meals, minerals and vitamins supplements).

Within a period of 53 weeks, bulk milk samples were collected in herd once a week. The samples represented a mixture of morning and evening milk. The average barn airspace temperature and relative humidity (BAT in °C and RH in %) were measured on the day before milk sampling. Temperature and relative humidity measurements were performed every 15 minutes using three HOBO data loggers (H08-007-02, Onset Computer Corporation®), which were located approx. 1.40 m above the floor level in three different locations inside the barn to eliminate the effect of only one place of measuring.

On the next day, the average percentages of fat content, protein, lactate monohydrate, solids non fat (SNF) and casein were estimated in collected bulk milk samples together with values of titratable acidity (TA), rennetability (RCT), and curd quality class (CQC).

Milk rennetability was estimated using a „Nephelometric-turbidimetric test of milk coagulation (Chládek and Čejna, 2005). The test was performed using the preparation Laktochym 1:5000 (Milcom Tábor) in the dose of 1 ml per 50 ml of milk (after the dilution of the renneting agent in the ratio 1:4). Curd quality (CQC) was evaluated after 60 minutes of incubation of 50 ml of renneted milk at 35 °C and compared with tabular values (Gajdůšek, 1999) using the scale from (1 = the best to 5 = the worst). TA was measured in a milk sample of 100 ml using an alkaline solution up to light pink colour of the mixture (in ml of the 0.25 $molx1^{-1}$ NaOHx$100ml^{-1}$). The method was

performed pursuant provisions of the standard CSN57 0530. Contents of protein, fat and casein were estimated using the apparatus Milkoscope C5 (see the standard ČSN 57 0536).

For statistical analysis (by means of bi-factorial analysis of variance), programmes MS Excel and UNISTAT Version 5.1 were used.

The analyses carried on, including abbreviations and units of measurement were as follows:

Protein content = (%), g.100g^{-1}

Fat content = (%), g.100g^{-1}

Lactose content = (%), g.100g^{-1}

Casein content = (%), g.100g^{-1}

SNF = solid non fat (%), g.100g^{-1}

BAT = barn airspace temperature (°C)

RH = relative humidity (%)

RCT = rennet coagulation time (in seconds)

CQC = curd quality class

TA = titratable acidity (°SH).

RESULTS AND DISCUSSION

Mean, minimum, maximum, standard deviation and variation coefficient of data from analysis of cow´s milk content, technological properties, barn airspace temperature and humidity are shown in *Table* 1. It can be seen that average daily temperature resp. humidity was 10.87 °C resp. 76.09 % (in range -7.41−26.24 °C resp. 48.15−99.96 %). It means that in some periods dairy cows were exposed to heat stress (mainly when barn temperature was close to 26 °C). West (2003) recorded that air temperature above 23−26 °C are critical for dairy cattle and causes reduction in milk production. Other authors reminded that in high-yielding (i.e. > 6,500 kg) and, especially, older cows, the thermal stress developed at temperatures > 21°C (Novák *et al*., 2009; Vokřálková and Novák, 2005).

The content of protein resp. fat varied in range from 3.33 to 3.83 % resp. 3.67 to 4.41%. The average protein content resp. protein content was 3.57 resp. 4.07 %. The average content of lactose was 4.79 % (in range from 4.61 to 4.90 %). The average content of casein was 2.82 % (in range from 2.60 to 3.02 %).

Table 1: Basic statistical parametres of milk content and barn microclimate

	N	Mean	Min.	Max.	Std.
RCT	53	202.5	153.00	242.00	20.54
CQC	53	1.53	1.00	3.00	0.54
TA	53	7.08	3.51	7.72	0.58
Protein	53	3.57	3.33	3.83	0.15
Fat	53	4.07	3.67	4.41	0.21
Lactose	53	4.79	4.61	4.90	0.06
SNF	53	8.98	8.77	9.24	0.13
Casein	53	2.81	2.60	3.02	0.13
BAT	53	10.87	−7.41	26.24	8.95
RH	53	76.09	48.15	99.96	13.50

RCT – rennet coagulation time, **CQC** - curd quality class, **TA** – titratable acidity, **SNF** – solids non fat, **BAT** – barn airspace temperature, **RH** – relative humidity

The solids non fat was in range from 8.77 to 9.24 % and the average value was 8.98 %. The rennet coagulation time (RCT) was in interval from 153 to 242 second. We found the difference of 89 second between the best and the worst RCT. The average RCT for entire period was 202.5 second. The quality of curd after incubation time of 60 min was mostly in 2nd class. The average titratable acidity was 7.08 ^{o}SH.

Table 2 showed the correlation coefficients between milk content, technological properties and barn microclimate.

Table 2: Correlation coefficients between milk content, technological properties and barn microclimate.

	RCT	CQC	TA	Protein	Fat	Lactose	SNF	Casein
BAT (°C)	-0.39**	0.28*	-0.21	-0.83**	-0.81**	0.46**	-0.83**	-0.75**
RH (%)	0.46**	0.04	0.14	0.60**	0.67**	-0.50**	0.57**	0.55**

RCT – rennet coagulation time, **CQC** - curd quality class, **TA** – titratable acidity, **SNF** – solids non fat, **BAT** – barn airspace temperature, **RH** – relative humidity, *P<0.05; **P<0.01; N.S. – non significant (P>0.05)

As for barn airspace temperature the highest negative correlations were calculated with protein resp. SNF content (r= −0.83 resp. −0.83; P<0.01). *Fig.* 1 also represents the trend of increase protein and fat by temperature decrease. Ozrenk and Inci (2008) also found that the protein and fat content of milk change along the year and milk protein percentage of milk decreased in all cows during the warmer period and did not affect the lactose percentage. In addition, Bernabucci *et al.*

(2002) said that the milk yield during summer was 10 % lower than during spring, changing contralily with milk components with milk components. Correlation between air barn temperature and fat was also very high (r=−0.81; P<0.01). Positive correlation was statistically proven only for lactose content (r=0.46; P<0.01).

RCT was negatively correlated with air barn temperature (r=−0.39; P<0.01), which means when barn airspace temperature raised, the time needed for coagulation was shorter as showed by *Fig.* 2. This means that the higher the value of BAT, the shorter that of RCT. Average values of summer BAT indicated that during this season, the limit of heat stress could be trespassed on some days (Falta *et al*., 2008; Hanuš *et al*., 2008). As mentioned by Daviau *et al*. (2008), the shorter RCT was associated with a decrease in P content and also of casein. It was found out in this study that lower values of RCT were associated with a lower content of protein above all in the summer season; however, our results do not correspond with data published by Jõudu *et al*. (2008); Ikonnen *et al*. (2004) and Sevi *et al*. (2001) who obtained opposite results. This could be partly explained on the base of high summer temperatures recorded in our study.

Correlation coefficients of stable relative humidity with other parameters were contrary to those of barn airspace temperature. Correlation between barn airspace temperature and relative humidity was r=− 0.55 (P<0.01).

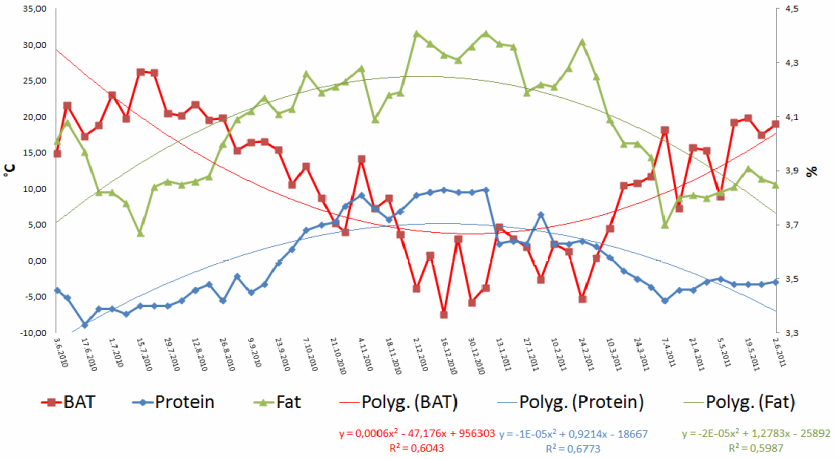


Fig. 1: Impact of barn airspace temperature on milk protein and fat content (P<0.01)

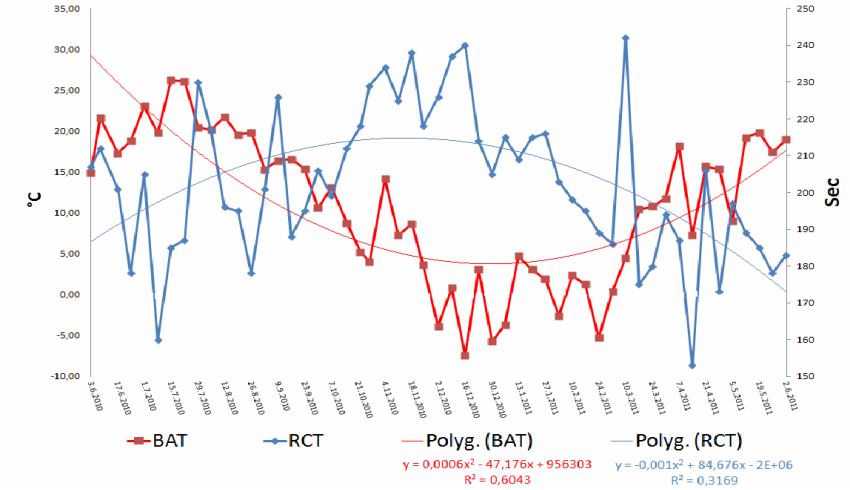


Fig. 2: Impact of barn airspace temperature on rennet coagulation time (P<0.01)

CONCLUSIONS

It was determined that the amount of milk components was affected by barn microclimate. According the results, it is possible to say that milk fat, protein and solids non fat percentages were the highest during the colder and the lowest during the warmer period. However, the lactose content had an opposite trend. As far as the technological properties is concerning the rennet coagulation time was shorter in warmer period as well as titratable acidity was lower. Stable relative humidity had opposite trend than temperature.

REFERENCES

Beatty, D. T., Barnes, A., Taylor, E., Pethick, D., Mccarthy, M., Maloney, S. K., 2006: Physiological response sof Bos taurus indicus cattle to prolonged, continuous heat and humidity. Journal of Animal Science, 84: 972−985. ISSN 0021-8812.

Bernabucci, U., Lacatera, N., Ronchi, B., Nardone, A., 2002: Hot season and milk protein fractions in Holstein cows. Anim. Res. 51: 25-33.

ČSN 57 0530, 1972: Methods for testing of milk and dairy products. Standart CNI prague, (in Czech).

ČSN 57 0536, 1999: Determination of milk composition by mid-infrared analyzer. (In Czech)

Daviau, C., Famelart, M. H., Pierre, A., Goudédranche, H., Maubois, J. L., 2000: Rennet coagulation of skim milk and curd drainage: Effect of pH, casein concentration, ionic strength and heat treatment. Lait 80, 4: 397−415. ISSN 1958-5586.

Davis, M. S., Mader, T. L., Holt, S. M., Parkhust, A. M., 2003: Strategies to reduce feedlot cattle heat stress: Effects on tympanic temperature. Journal of Animal Science, 81: 649−661. ISSN 0021-8812.

Dolejš, J., Toufar, O., Knížek, J., 1996: The temperature of rearing enviroment affects on milk chemical composition. (In Czech), Náš Chov, 7: 20. ISSN 0027-8068.

Erbez, M., Falta, D., Chládek, G., 2010: The relationship between temperature and humidity outside and inside the permanently open-sided cow's barn. Acta Universitatis agriculturae et silviculturae Mendelianae Brunensis. LVIII, 5: 91−96. ISSN 1211-8516.

Falta D., Walterová L., Skýpala M., Chládek G., 2008: Effect of stable microclimate on milk production of Holstein cows on the 2nd and 3rd lactation. Animal welfare, etológia és tartástechnológia. [online]7, URL:http://www.animalwelfare.szie.hu/Cikkek/200802/Szarvasmarha/AWETH2008104110.pdf.

Gader, Aza, Ahmed M-Ka, Musa Lm-A, Peters Kj, 2007: Milk yield and reproductive performance of Friesian cows under Sudan tropical conditions. Archiv Tierzucht. 50, 155−64. ISSN 0003-9438.

Gajdůšek, S., 1999: Milk processing II – practise. Mendel University in Brno, (in czech), p 92.

Hanuš, O., Frelich, J., Janů, L., Macek, A., Zajíčková, I., Genčurová, V., Jedelská, R., 2007: Impact of different milk yields of cows on milk quality in Bohemian spotted cattle. Acta Veterinaria Brno, 76: 563−571. ISSN 1801-7576.

Hanuš, O., Vyletělová, M., Genčurová, V., Jedelská, R., Kopecký, J., Nezval, O., 2008: Hot stress of Holstein dairy cows as substantiv factor of milk composition. Scientia Agriculturae Bohemica, 39 (4): 310−317. ISSN 0582 - 2343.

Chládek, G., Čejna, V., 2005: Measuring of rennet coagulation time by Nephelo-turbidimetric sensor of milk coagulation. Mléko a sýry 2005, (In Czech), Prague, 127−130. ISBN 80-8623-8-48-2.

Ikonnen, T., Morri, S., Tyrisevä, A. M., Routtinen, O., Ojala, M., 2004: Genetic and phenotypic correlations between milk coagulation properties, milk production traits, somatic cell count, cassein content and pH of milk. Journal of Dairy Science., 87: 458−467. ISSN 0022-0302.

Janů, L., Hanuš, O., Frelich, J., Macek, A., Zajíčková, I., Genčurová, V., Jedelská, R., 2007: Influence sof different milk yields of Holstein cows on milk quality indicators in the Czech Republic. Acta Veterinaria Brno, 76, 4: 553−561. ISSN 1801-7576.

Jõudu, I., Henno, M., Kaart, T., Püssa, T., Kärt, O., 2008: The effect of milk protein on the rennet coagulation properties of milk from individual dairy cows. International Dairy Journal, 18, 9: 964−967. ISSN 0958-6946.

Lacroix, C., Verret, P., Paquin, P., 1996: Regional and seasonal variations of nitrogen fraction in commingled milk. International Dairy Journal, 6: 947−961. ISSN: 0958-6946.

Mader, T. L., Davis, M. S., 2004: Effect of management strategies on reducing heat stress of feedlot cattle: Feed water intake. Journal of Animal Science, 82: 3077−3087. ISSN 0021-8812.

Maust, L. E., Mcdowell, R. E., Hooven, N. W., 1972: Effects of summer weather on performance of Holstein cows in three stages of lactation. Journal of Dairy Science, 55: 1133−1139. ISSN 0022-0302.

Mitlöhner, F. M., Galyean, M. L., Mclogn, J. J., 2002: Shade effects on performance, carcass traits, physiology, and behavior of heat-stressed feedlot heifers. Journal of Animal Science, 80: 2043−2050. ISSN 0021-8812.

Ng-Kwai-Hang, K. F., Hayes, J. F., Moxley, J. E., Monardes, H. G., 1984: Variability of test.day milk production and composition and relation of somatic cell counts with yield and compositional ganges of bovine milk. Journal of Dairy Science, 67: 361−366. ISSN 0022-0302.

Novák, P., Vokřálková, J., Brouček, J., 2009: Effects of the stage and number of lactation on milk yield of dairy cows kept in open barn during high temperatures in summer months. Archiv Tierzucht. 52, 6: 574−586. ISSN 0003-9438.

Ozrenk, E., Inci., S. S., 2008: The effect of seasonal variation on the composition of cow milk in Van Province. Pakistan Journal of Nutrition, 7 (1): 161−164. ISSN 1680-5194.

Petrikovič, P., Sommer, A., 2002: Potreba živín pre hovězí dobytok. Výskumný ústav živočišnej výroby Nitra, 6: 3−60. ISBN 80-88872-21-9.

Sevi, A., Annicchiarico, G., Albenzio, M., Taibi, L., Muscio, A., Dell´Aquila, S., 2001: Effects of solar radiation and feeding time on behavior, immune responses and production of lactating ewes under high ambient temperature. Journal of Dairy Science, 84: 629−640. ISSN 0022-0302.

Vokřálková, J., Novák, P., 2005: Climatic extrems and lactation. (In Czech), Náš chov, 9: 40−42. ISSN 0027-8068.

West, J. W., 2003: Effects of Heat-Stress on production in Dairy Cattle. Journal of Dairy Sciences, 86: 2131−2144. ISSN 0022-0302.

THE DYNAMIC OF MICROBIAL DEVELOPMENT IN THERAPEUTIC AGENT MADE OF ALOE

Přichystalová J.[1], Kalhotka L.[1], Pellizzoni M.[2], Růžičková G.[3]

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

[2] Institute of Agricultural and Environmental Chemistry, Università Cattolica del Sacro Cuore, Via Emilia Parmense, 84. I-29122 Piacenza, Italy

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

E-mail: jitka@prichystal.eu

ABSTRACT

Aloe is succulent plant which is widely used for therapeutic purposes. Aloe can heal various types of skin burn and injuries. Aloe extracts have been shown to have anti-inflammatory, anti-diabetic and anti-tumorigenic effect. It is also often used for cosmetic and pharmaceutical production.

For our experiment, three samples of therapeutic agent containing *Aloe barbadensis Miller*, *Aloe arborescens variety* cv. green and *Aloe arborescens variety* cv. grey were used. These samples were stored at two different temperatures – 6 °C (presenting storage at fridge) and 25 °C (presenting a room temperature) for 10 and 16 days. Total counts of microorganisms, coliform bacteria, psychrotrophic microorganisms, and yeast and moulds were determined by microbiological analysis each day of storage.

The aim of this paper was to realize if it is possible to keep these therapeutic agent in fridge for 10 days. From the results, it is clearly seen, that microorganisms didn't increase their counts rapidly while storage at 6 °C.

Key words: Aloe, microorganisms, antimicrobial activity, aloin, acemanan

ÚVOD

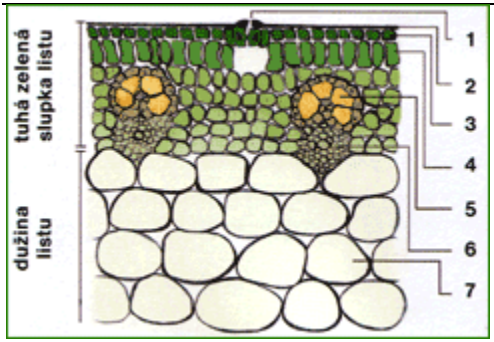
Existuje cca 275 druhů rostliny rodu aloe, z nichž jsou 3 druhy využívány komerčně. Pravděpodobně nejčastější druh využívaný pro komerční účely je *Aloe barbadensis Miller* neboli *Aloe vera*. Barva jeho silných a trny zakončených listů se liší od šedé po zelenou. Aloe svým vzhledem připomíná kaktus, ale ve skutečnosti patří do kmene *Liliaceae* takže je příbuzný česneku, cibuli a liliím. Pro *Aloe vera* je typický žlutý květ. (Gage, 1996).

Aloe bylo využíváno pro své léčivé účinky od dob starých Římanů a pravděpodobně už dlouhou dobu před nimi. Využívá se ve dvou formách, jako gel z listů a jako míza z vrchních vrstev listů (viz. Obr. 1). Během posledních desetiletí se však zájem o aloe rapidně zvýšil, vzhledem k tomu, že se začala využívat jako přídavek do kosmetických výrobků, léčivých přípravků aj. (Reynolds, Dweck 1999).

Tento druh aloe se často používá v bylinné medicíně. Byly provedeny mnohé vědecké studie o užívání aloe jako léčivé rostliny a byly nalezeny důkazy, že výtažky z aloe pravé mohou být užitečné při hojení ran a popálenin, cukrovce a zvýšené hladině krevních lipidů. Tyto pozitivní účinky jsou přisuzovány přítomnosti látek, jako jsou polysacharidy, antrachinony, C-glykosidy a lektiny.

Je nutné rozlišovat mezi průhledným gelem z aloe, který je bez chuti a mízou z vrchních částí listu (Reynolds, 1999). Při řezu listu vytékají dvě tekutiny s různými efekty a vlastnostmi. Žluto-zelená míza uniká z korových buněk a obsahuje značné množství aloinu. Z vnitřní části listu pak vytéká průhledný gel, který má zklidňující a hydratační účinky a podporuje hojení. Tyto dvě tekutiny se při výrobě léčiv oddělují, aby se omezily nežádoucí efekty na zdraví. Aloe vera je druh široce používáný v tradiční čínské, japonské, ruské, jihoafrické, jamajské a indické medicíně. Aloe vera je využíváno pro léčení pacientů s různými druhy zánětů, zažívacími potížemi, onemocněními kůže a střev (Langmead et al., 2004).

Míza aloe obsahuje anthrachinony, které ve svém středu obsahují molekulu anthracenu. Mezi antrachinony nacházejícími se v míze patří aloin, barbaloin, aloe-emodin aj. Při vyšších dávkách může míza působit projímavým účinkem (Lourdes, 2008).



Obr. 1 *Průřez listem Aloe* (www.aloeveraprodukt.cz)

1. štěrbina pro výměnu plynů
2. vosková vrstvička
3. uzavírací tkáň
4. korová buňka
5. pericyklická buňka naplněná hořkou šťávou s obsahem hořké látky aloinu
6. xylém a floém - vodící svazky pro přenos vody a živin
7. Vrstva parenchymatických buněk tvořící střed listu, tkáň uchovávající vodu a živiny

Gelu z aloe se nejčastěji přisuzuje schopnost hydratovat (Reynolds, 1999). Jsou zde ale obsaženy i jedny z nejdůležitějších látek s imunomodalutorními účinky – polysacharidy (Schechter, 1994). Pravděpodobně nejzajímavější složkou objevenou v *Aloe vera* je aktivní polysacharid známý jako acetylovaná mannosa čili acemannan. (Lourdes, 2008). Gel disponuje dalšími účinky jako jsou antimikrobiální, antifugální, antivirální působení (Klein a Penneys, 1988), antioxidační efekt (Newton, 1987). Současné výzkumy dokazují, že denní užívání jedné lžíce (15 ml) aloe gelu po 42 dnů významně sníží hladinu krevního cukru u žen trpících diabetem 2. typu. (Yeh et al., 2003).

Předpokládá se, že aloe snižuje hladinu krevního cukru a má pozitivní efekt při užívání léku proti diabetu. (Bush et al., 2007). Tento fakt může zvyšovat riziko vzniku hypoglykémie u pacientů, kteří jsou k ní náchylní. Při zvýšeném příjmu aloe se zvyšuje riziko nepříznivého působení spolu s užíváním určitých léků, protože může dojít ke ztrátám draslíku (Shaw et al., 1997).

MATERIÁL A METODIKA

Cílem experimentu bylo sledovat vývoj mikrobiálního společenstva v přípravcích vyrobených z aloe italskou firmou Dester Company v Manerba del Garda (Brescia), která se specializuje na tuto produkci již 20 let. Rostliny, jež byly použity pro výrobu přípravků z aloe, byly kultivovány za standardních podmínek v plastovém skleníku po 3 roky.

Složení přípravku z aloe:

500 g bio - medu

90 ml destilátu

350 g celých listů z aloe

Pro experiment byly použity 3 druhy přípravků:

1. s listy *Aloe barbadensis Miller* (*Aloe vera*) – obsahuje více betapolysacharidů

2. s listy *Aloe arborescens* cv. green – aloe se zelenými listy s vyšším obsahem aloinu

3. s listy *Aloe arborescens* cv. grey aloe se šedými listy, jehož obsah biomolekul tvoří přechod mezi *Aloe barbadensis Miller* a *Aloe arborescens* cv. green

Pro studium rozvoje mikroorganismů bylo použito celkem 6 vzorků léčivých přípravků skladovaných při 6 °C, odpovídající skladování v chladícím zařízení, a při 25 °C, odpovídající skladování při pokojové teplotě. Mikrobiologická analýza byla prováděna po 24 hodinách po dobu 10 dnů a v 16. den skladování vzorků.

1. *Aloe arborescens* cv. green 6 °C
2. *Aloe arborescens* cv. green 25 °C
3. *Aloe arborescens* cv. grey 6 °C
4. *Aloe arborescens* cv. grey 25 °C
5. *Aloe barbadensis Miller* 6 °C
6. *Aloe barbadensis Millller* 25 °C

Standardními metodami byly stanoveny tyto skupiny mikroorganismů: Celkový počet mikroorganismů (CPM) na PCA (Biokar Diagnostic, France) kultivovaných při 30 °C po 72 hodin, bakterie mléčného kvašení (BMK) na MRS médiu (Biokar Diagnostic, France) při 37 °C po 72 hodin, koliformní bakterie byly kultivovány na VRBL médiu (Biokar Diagnostic, France) při 37 °C po 24 hodin, psychrotrofní mikroorganismy byly stanoveny na PCA (Biokar Diagnostic, France) při 6 °C za 10 dní a plísně a kvasinky byly stanoveny na Chloramphenicol glucose agaru (Biokar Diagnostic, France) při 25 °C po 120 hodinách. Po kultivaci byly na Petriho miskách odečteny počty kolonií a výsledky byly vyjádřeny v KTJ/ml.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Při sledování rozvoje mikrobiálního společenstva v přípravcích z aloe bylo zjištěno, že nejvyššího celkového počtů mikroorganismů bylo dosaženo u 4. vzorku 4. den skladování, počty se blížily hodnotě 8.10^3 KTJ/ml. Celkový počet mikroorganismů je u všech vzorků nejvyšší právě ve 4 dni skladování, ale po 6. dnu se hodnoty vrací na počáteční hodnoty.

Kvasinky jsou velice často díky svým sacharolytickým schopnostem přítomné v cukernatých substrátech (Šilhánková, 1995), kam se řadí i med, jenž tvoří více jak polovinu přípravku. Lze tedy předpokládat, že se v přípravcích z aloe bude vyskytovat zvýšené množství kvasinek a jejich počet bude v průběhu skladování stoupat. Nicméně z výsledků lze pozorovat (viz Tab. 1 a Graf 2), že mírný nárůst byl zaznamenán pouze u vzorků 2, 4, a 6 a to v polovině skladování produktu, desátý den byly počty opět v řádech 10^2 jako tomu bylo ze začátku skladování. Zastavení rozvoje kvasinek může být způsobeno vysokým osmotickým tlakem a nemalý je význam biomolekul s antimikrobiálními účinky obsažených v listech z aloe. Ve studii Alemdara (2009) byla potvrzena antimikrobiální aktivita proti mnoha mikrobům, zejména proti *Mycobacterium smegmatis, Klebsiella pneuminidae, Enterococcus faecalis, Micrococcus luteus, Candida albicans.* Na mikroorganismy mohl pravděpodobně z velké části působit i inhibiční účinek alkoholu obsažený v přípravcích z aloe.

Dle předpokladu teplota skladování ovlivnila růst mikroorganismů. Nicméně vzhledem k tomu, že koliformní bakterie nebyly detekovány a celkový počet mikroorganismů byl relativně nízký, rozdíl v nárůstu mikroorganismů mezi vzorky skladovanými při teplotách 6 °C a 25 °C nebyl tak významný. Při zhoršených hygienických podmínkách by však mohlo docházet k mnohem rozsáhlejšímu pomnožování mikroorganismů, než je tomu u těchto 6 vzorků.

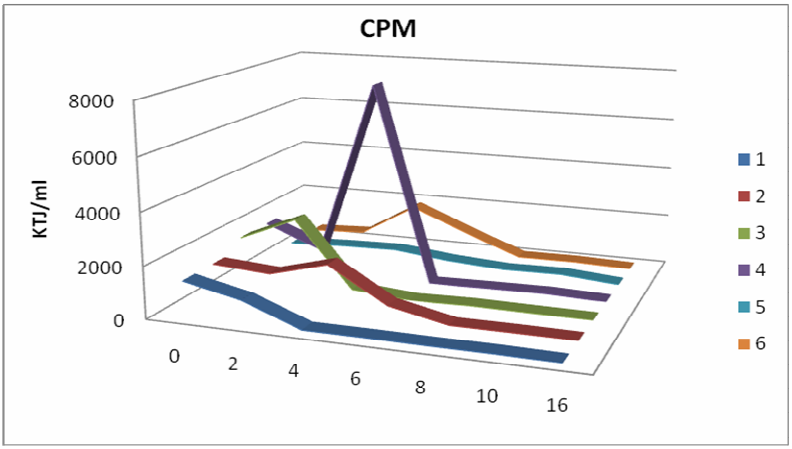
Vzhledem k relativně vysokému počtu plísní v přípravcích z aloe by měla být omezena doba skladování při teplotě 6 °C, protože by mohlo docházet vzhledem k vysoké vodní aktivitě a substrátu bohatému na živiny k plesnivění přípravků z aloe.

Tab. 1 Rozvoj mikrobiálního společenstva v průběhu 10 a v 16. den kultivace

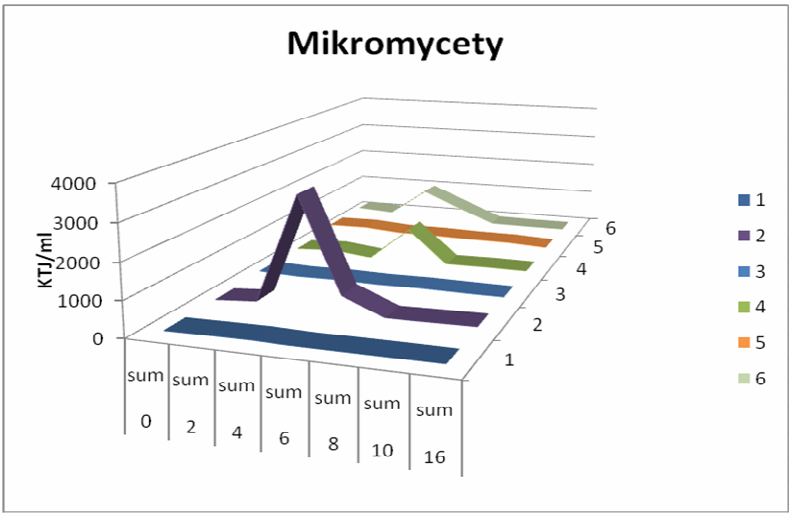
dny	vzorky	CPM	BMK	Koliformní bakterie	Psychrotrofní MO	Mikromycety		
						Celkem	Kvasinky	plísně
2.	1	900	ND*	ND*	ND*	23	9	14
	2	1227	ND*	ND*	ND*	91	ND**	91
	3	2740	ND*	ND*	ND*	32	23	9
	4	955	ND*	ND*	ND*	136	45	91
	5	495	45	ND*	50	237	182	55
	6	500	ND*	ND*	5	150	100	50
4.	1	50	ND*	ND*	5	32	23	9
	2	1818	ND*	ND*	45	3182	455	2727
	3	182	ND*	ND*	18	45	36	9
	4	7727	ND*	ND*	45	ND***		
	5	545	27	ND*	9	150	114	36
	6	1818	50	ND*	45	1000	500	500
6.	1	50	ND*	ND*	5	ND*		
	2	500	ND*	ND*	45	500	ND***	500
	3	ND**	ND*	ND*	5	20	ND*	20
	4	ND***	ND*	ND*	ND*	1000	ND***	1000
	5	300	18	ND*	5	145	109	36
	6	909	ND*	ND*	ND*	500	ND***	500
10.	1	36	9	ND*	ND*	5	ND*	5
	2	23	ND*	ND*	ND*	18	ND*	18
	3	27	14	ND*	ND*	15	5	10
	4	75	ND*	ND*	ND*	18	ND*	18
	5	191	ND*	ND*	ND*	109	95	14
	6	75	9	ND*	ND*	ND*		
16.	1	6	ND	ND	ND	1	ND	1
	2	4	ND	ND	ND	35	ND	35
	3	9	ND	ND	ND	2	ND	2
	4	3	ND	ND	ND	6	ND	6
	5	11	ND	ND	ND	48	47	1
	6	9	ND	ND	ND	ND		

ND – nedetekováno; * při ředění 10^{-1}; ** při ředění 10^{-2}; *** při ředění 10^{-3}

Graf 1 Rozvoj celkového počtu mikroorganismů v průběhu10 a v 16. den



Graf 2 Rozvoj plísní a kvasinek v průběhu 10 a v16 den



ZÁVĚR

Aloe je sukulentní rostlina, která má široké terapeutické využití, dokáže pomáhat při hojení popálenin, při léčbě nádorů, snižovat hladinu krevního cukru při diabetu. Dále vykazuje protizánětlivé účinky, obsahuje látky s imunomodulatornímim účinkem a hojně se využívá při výrobě kosmetických výrobků.

Při experimentu byly využity dva druhy rostlin aloe, které se využívají ke komerčním účinkům – *Aloe barbadensis Miller* a *Aloe arborescens*. U obou těchto rostlin byla potvrzena antimikrobiální aktivita proti některým gram-negativním i gram-pozitivním druhům bakterií. To může být důvodem, proč bylo při skladování přípravků s obsahem aloe, medu a destilátu zjištěno poměrně malé množství mikroorganismů i po 10 a v 16. den skladování jak při teplotě 6 °C tak při 25 °C.

Při dobré úrovni hygieny výroby a skladování, by tak bylo možné výrobek po otevření skladovat v chladícím zařízení do 10 dnů. Při delším skladování by ale mohlo díky vysoké vodní aktivitě docházet k plesnivění přípravků z aloe, proto by bylo vhodné spotřebitelům stanovit doporučení teploty a délky skladování při 6 – 8 °C po 10 dnů.

LITERATURA

Alemdar, S., Agaoglu, S. (2009): Investigation of in vitro antimicrobial activity of Aloe vera juice, Journal of Animal and Veterinary Advances, 8 (1) p. 99-102

Bush T., Rayburn K., Holloway S., Sanchez-Yamamoto D., Allen BL., Lam T., So BK., Tran de H., Greyber ER., Kantor S. Roth LW, Adverse interactions between herbal and dietary substances and prescription medications: a clinical survey.

Gage D. (1996): Aloe vera: Nature's soothing healer, Healing Arts Press, Vermont, 119 p.

Klein A.D., Penneys N.S. (1988): Aloe vera, Journal of the American Academy of Dermatology 18, p. 714–720

Langmead L, Makins RJ, Rampton D. (1997): Anti-inflammatory effecs of aloe vera gel in human colorectal mucosa in vitro Drug Saf, 17(5), p. 342-56.

Lourdes R., Jorge R., Scott B., Dea H., Eliseo T. (2004): Risks and Benefits of Commonly used Herbal Medicines in México**,** Aliment Pharmacol Ther,.19(5) 521-7

Newton, L.E. (1987): On the suitability of Kenyan aloes for commercial cultivation, East Africa Natural History Society Bulletin 17, p. 5–8.

Ni Y., Turner D., Yates K., Tizard I., (2004): Isolation and characterization of structural components of Aloe vera L. leaf pulp. Int Immunopharmacol., p. 1745-55.

Shaw D., Leon C., Kolev S., Murray V. (2007)Traditional remedies and food supplements. A 5-year toxicological study (1991-1995). Medical Toxicology Unit, Guy's and St Thomas' Hospital Trust, London, England. Altern Ther Health Med., 13(2) p. 30-5

Schechter S.R., (1994): Aloe vera:the healing plant. Health Foods Business, p. 23–24

Yeh G., Eisenberg D., Kaptchuk T., Phillips R.(2003): Systematic review of herbs and dietary supplements for glycemic control in diabetes, Diabetes Care, 26(4) p. 1277-94.

Obr. 1 viz: http://www.aloeveraprodukt.cz/ucinky_aloe_vera.html

THE IMPACT OF WINTER STORAGE OF LIVING CARPS ON CONTENT OF DI-N-BUTYL PHTHALATE AND DI-2-ETHYLHEXYL PHTHALATE FROM FARMED SOUTH MORAVIA

Puškárová L., Jarošová A., Mareš J.

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

Our objective was to determine the content of di-n-butyl phthalate (DBP) and di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) in carps. The carps from South Moravia area were selected. First group of carp was fished in autumn and second group was located to the concrete tubs until the winter. Samples from muscles, hepatopancreas and fat were analyzed. Samples of fishes were lyophilized and extracted with solvent mixture (acetone:hexan = 1:1). The gel permeation chromatography with column Bio-Beads S-X3 to clean samples was used. The levels of DBP and DEHP were determined by high performance liquid chromatography with column Zorbax Eclipse C8 with UV detection. The average values of DBP and DEHP in the muscle samples ranged from 0.16–0.18 $mg.kg^{-1}$ and 0.14–0.16 $mg.kg^{-1}$ of original weight. In the hepatopancrease samples were found the DBP concentration in range from 0.04–0.12 $mg.kg^{-1}$ and DEHP concentration in range from 0.06–0.12 $mg.kg^{-1}$ of original weight. The highest concentrations of DBP (2.83–6.75 $mg.kg^{-1}$ of original weight) and DEHP (2.90–5.93 $mg.kg^{-1}$ of original weight) were observed in fat samples. In the hepatopancrease and fat samples phthalate contents decreased during the winter storage. In the muscle samples increasing tendency was observed, it could be in relation to the metabolic changes in fish tissues during the winter storage (without feed).

Key words: phthalates, di-n-butyl phthalate, di-2-ethylhexyl phthalate, fish

Acknowledgement: The study was supported by Internal Grant Agency IP 09/2011.

ÚVOD

Ftaláty sú estery kyseliny ftalovej (PAE) a predstavujú rozsiahlu skupinu chemických látok. Najväčšie použitie našli ako zmäkčovadlá (plastifikátory) umelých hmôt. Používajú sa ako prídavné látky do polymérov, plastov, gúm, celulózy (Cano ai., 2002) a sú tak prítomné v mnohých spotrebných výrobkoch, vrátne stavebných materiálov, nábytku, oblečenia, kozmetiky, liečiv, potravných doplnkov, zdravotníckych pomôcok, zubných protéz, detských hračiek, obalových materiálov potravín, čistiacich prostriedkov, insekticídov (Schettler, 2006). V týchto materiáloch sú nekovalentne viazané (Lottrup ai., 2006) a preto sa môžu vylúhovať, migrovať, odparovať do vnútorného prostredia, atmosféry (Heudorf ai., 2007) a do materiálu, s ktorým sú v kontakte (Velíšek, 2002).

Vďaka svojim výhodným vlastnostiam sú široko používané a dopyt po nich stále rastie. Ftaláty sa stávajú jednými z najviac vyrábaných chemikálii na svete. V súčasnej dobe sa ich ročne vyrobí až 6 miliónov ton (Mackintosh ai, 2006; Salima ai., 2010). Vzhľadom na rozsah ich použitia a uvoľňovanie z matríc sú považované za všadeprítomné znečistujúce látky životného prostredia (Kang ai., 2005).

Produkty obsahujúce ftaláty môžu viesť k expozícii človeka prostredníctvom priameho kontaktu a používania, vylúhovania do iných produktov, alebo prostredníctvom kontaminovaného životného prostredia. Strava je považovaná za hlavnú cestu expozície dnešnej populácie (Schettler, 2006). Preto je nutná i kontrola vstupov do potravinového reťazca a sledovanie obsahu ftalátov v krmivách a kŕmnych komponentoch. Potvrdenie kumulácie a distribúcie toxických ftalátov v tele hospodárskych zvierat po perorálnej aplikácií je významné z hľadiska zdravotnej nezávadnosti surovín a potravín živočíšneho pôvodu (Jarošová, 2010).

Ftaláty a ich metabolity sa ukázali ako potenciálne škodlivé pre človeka a životné prostredie. Sú embryotoxické, hepatotoxické, nefrotoxické, spermiotoxické, teratogénne a karcinogénne. I keď vykazujú nízku akútnu toxicitu, pri dlhodobej expozícií nízkymi dávkami boli preukázané závažné negatívne účinky (Matsumoto ai., 2008). Mladé vyvíjajúce sa organizmy sú voči expozícii ftalátom citlivejšie než organizmy dospelé. Mimoriadne citlivé sú z tohto hľadiska hlavne mužské pohlavné orgány vo fáze vývoja (feminizácia chlapcov) (Casas ai., 2011).

Vzhľadom na ich potenciálne riziká pre ľudské zdravie a životné prostedie bolo mnohými národnými a medzinárodnými regulačnými organizáciami zaradených niekoľko ftalátov medzi prioritné rizikové látky. Európska komisia zverejnila zoznam látok, ktoré môžu narušiť endokrinnú činnosť. Zoznam zahŕňa aj di-n-butyl ftalát (DBP), benzylbutyl ftalát (BBP) a di-2-ethylhexyl ftalát

(DEHP). DEHP ako najvyrábanejší a najpoužívanejší bol zahrnutý do zoznamu prioritných látok v oblasti vodnej politky Európskej únie a Svetovej zdravotníckej organizácie. Limit bol stanovený na 8 $\mu g.l^{-1}$ v čerstvej a pitnej vode (Rada EÚ, 2001; Svetová zdravotnícka organizácia, 2003).

V Európskom spoločenstve nie sú stanovené limity ftalátov v potravinách. Európska komisia pre potraviny (*EEC Scientific Committee for Food*) stanovila tolerovateľný denný príjem (TDI) dibutyl ftalátu na 0,050 mg na kg živej hmotnosti a u di-2-ethylhexyl ftalátu na 0,025 mg na kg živej hmotnosti. Stanovená hodnota tolerovateľného denného príjmu (TDI) pre DEHP je 50 $\mu g.kg^{-1}$ telesnej hmotnosti, skutočný príjem ftalátov zo stravy sa odhaduje na 0,15-0,3 mg na osobu a deň, čo je medzná hodnota TDI (Velíšek, 2002).

Keďže sa ftaláty všeobecne výskytujú vo vodnom prostredí je pravdepodobné, že ryby sú tiež vystavené ftalátom cez vodný stĺpec, potravu a sediment (Peijnenburg a Struijs, 2006). V tejto práci bol sledovaný obsah najpoužívanejších ftalátov (di-n-butyl ftalátu a di-2-ethylhexyl ftalátu) v tele kapra obecného (*Cyprinus carpio*) z rybníkov Južnej Moravy po výlove a porovnaný s obsahom ftalátov sádkovaných kaprov. Vhľadom na lipofilný charakter ftalátov boli analyzované tkaniva o rozdielnom obsahu tuku.

MATERIÁL A METODIKA

Pre pokus boli vybrané vzorky rýb pochádzajúce z dvoch rybníkov Južnej Moravy. Spôsob hospodárenia bol na oboch rybníkoch obdobný, polykultúrna osádka s kaprom obecným (*Cyprinus carpio*) ako hlavnou chovanou rybou, s prikrmovaním obilninami. Výlov a sádkovanie rýb prebiehali v mesiacoch november-december 2010. Pri jesennom výlove bolo z oboch rybníkov (R1, R2) náhodným výberom odobraných 10 rýb na analýzu. Následne boli ryby umiestnené do sádok, teda prechodne uchovávané až do doby predaja (z rybníka R1 boli umiestnené do sádky S1, doba sádkovania bola 7 týždňov; z rybníka R2 do sádky S2, doba sádkovania 4 týždne). Ryby z jednotlivých rybníkov boli sádkované oddelene v rovnakých podmienkach (rovnaký objekt sádok). Po ukončení doby sádkovania bolo z oboch sádok náhodným výberom odobraných 10 rýb na analýzu. Celkový počet rýb použitých na analýzu bol 40.

Základné spracovanie rýb prebehlo v laboratóriu Ústavu zoologie, rybářství a hydrologie Mendelovy univerzity v Brně. Z tiel rýb bola po porážke a eviscerácii odobraná svalovina s kožou z pravej polovice tela, hepatopankreas a vnútorný tuk. Vzorky boli skladované pri mraziarenských teplotách -21 °C a analyzované na Ústavu technologie potravin Mendelovy univerzity v Brně. 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 každej ryby individuálne. Odobraná svalovina (svalovina s kožou), hepatopankreas a vnútorný tuk boli zhomogenizovnané, 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 kolonou Bio Beads S-X3, eluáty sa po GPC dočistili koncentrovanou kyselinou sírovou (65 %). Po vysušení 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 Zorbax Eclipse C8 s veľkosťou častíc 5 µm a rozmermi 4,6 mm × 150 mm. Mobilnou fázou bol acetonitril. Výsledné koncentrácie boli vypočítané na základe kalibračnej krivky v softwari Agilent Chemstation for LC and LC/MS systems. Vzorky boli analyzované duplicitne. Celkový počet analyzovaných vzoriek bol 240.

Výsledky boli štatisticky spracované v programe STATISTIKA 9. Použitý bol t-test a Duncanov test.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pre pokus boli vybrané dva rybníky Južnej Moravy s chovom kapra obecného (*Cyprinus carpio*). Vzorky boli odoberané pri jesennom výlove z rybníka (R1, R2) a po ich sádkovaní (S1, S2). Pri analýze vzoriek tkanív kapra obecného (svalovina, tuk, hepatopankreas) boli zisťované dva ftaláty, DBP a DEHP.

Koncentrácie ftalátov zistené vo vzorkách rýb z výlovu rybníka (R1) a po jeho sádkovaní (S1)

Analýze bolo podrobených 10 rýb z jesenného výlovu rybníka (R1) a 10 rýb po sádkovaní (S1). Z každej ryby bola analyzovaná svalovina (svalovina s kožou), hepatopankreas a tuk (vnútorný tuk). Počet analyzovaných vzoriek bol 120. Tab. 1 uvádza priemerné hodnoty zistené analýzou. Na Obr. 1−3 sú zobrazené priemerné koncentrácie DBP a DEHP po jesennom výlove rybníka a po sádkovaní.

Tab. 1 Priemerné koncentrácie DBP, DEHP a ich sumy [mg.kg^{-1} pôv. hm.] zistené vo vzorkách tkanív rýb (svalovina, hepatopankreas, tuk) po jesennom výlove rybníka (R1) a po sádkovaní (S1)

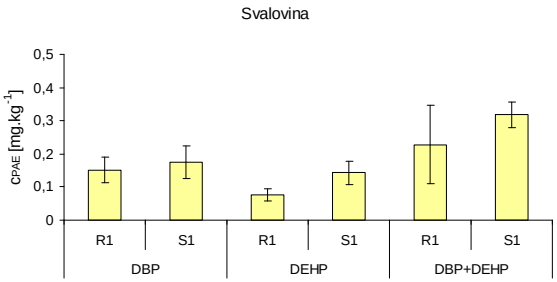
	Tkanivo	**SVALOVINA**			**HEPATOPANKREAS**			**TUK**		
	c_{PAE} [mg.kg^{-1}]	**DBP**	**DEHP**	**Σ DBP+DEHP**	**DBP**	**DEHP**	**Σ DBP+DEHP**	**DBP**	**DEHP**	**Σ DBP+DEHP**
Rybník R1	**priemer**	0,15	0,08	0,23	0,22	0,10	0,31	42,43	21,00	63,43
	median	0,14	0,08	0,21	0,15	0,07	0,22	35,44	17,06	52,50
	S.D.	0,04	0,02	0,05	0,23	0,09	0,32	16,57	9,37	25,78
	min	0,10	0,05	0,15	0,08	0,04	0,12	26,06	12,54	39,39
	max	0,24	0,11	0,34	0,90	0,37	1,27	82,21	45,88	128,09
Sádka S1	**priemer**	0,18	0,14	0,32	0,04	0,06	0,10	6,74	5,93	12,67
	median	0,17	0,14	0,32	0,02	0,04	0,05	6,80	5,97	12,59
	S.D.	0,05	0,04	0,08	0,05	0,04	0,08	1,24	1,01	2,05
	min	0,07	0,09	0,17	0	0,03	0,03	4,52	3,99	8,51
	max	0,25	0,20	0,45	0,15	0,15	0,30	8,76	8,20	16,03

(Medza stanoviteľnosti DBP a DEHP u tukových matríc - 0,2 mg.kg^{-1}, pre živočíšny materiál s nízkym obsahom tuku - 0,03 mg.kg^{-1}.)

Najnižšia priemerná koncentrácia DBP 0,04 mg.kg^{-1} pôvodnej hmotnosti bola zistené vo vzorkách hepatopankreasu po sádkovaní (S1) a najvyššia 42,43 mg.kg^{-1} pôvodnej hmotnosti vo vzorkých tuku po jesennom výlove rybníka (R1). Najnižšia priemerná koncentrácia DEHP 0,06 mg.kg^{-1} pôvodnej hmotnosti bola zistená vo vzorkách hepatopankreasu po sádkovaní (S1) a najvyššia 21 mg.kg^{-1} pôvodnej hmotnosti vo vzorkách tuku po jesennom výlove rybníka (R1).

Vplyv sádkovania na obsah ftalátov v svalovine (R1, S1)

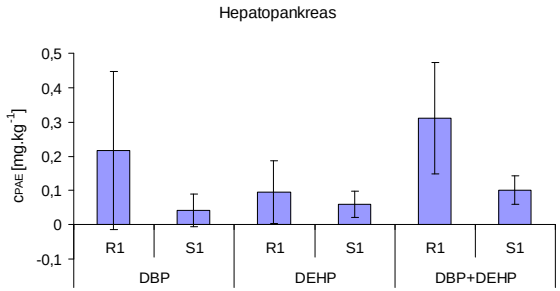
Priemerná koncentrácia sumy oboch ftalátov vo vzorkách svaloviny po jesennom výlove rybníka bola 0,23 mg.kg^{-1} pôvodnej hmotnosti, po sádkovaní 0,32 mg.kg^{-1} pôvodnej hmotnosti. Pri porovnaní priemernej koncentrácie DBP pred sádkovaním (R1 c_{DBP} = 0,15 mg.kg^{-1} pôv. hm.) a po sádkovaní (S1 c_{DBP} = 0,18 mg.kg^{-1} pôv. hm.) vo vzorkách svaloviny došlo k zvýšeniu priemerných koncentrácii ($p>0,05$). Pri porovnaní priemernej koncentrácie DEHP pred sádkovaním (R1 c_{DEHP} = 0,08 mg.kg^{-1} pôv. hm) a po sádkovaní (S1 c_{DEHP} = 0,14 mg.kg^{-1} pôv. hm.) došlo k zvýšeniu priemerných koncentrácii ($p<0,01$) (Obr. 1).



Obr. 1 Koncentrácia DBP, DEHP a ich sumy [mg.kg^{-1} pôv. hm.] vo vzorkách svaloviny kapra obecného po jesennom výlove rybníka (R1) a po sádkovaní (S1)

Vplyv sádkovania na obsah ftalátov v hepatopankrease (R1, S1)

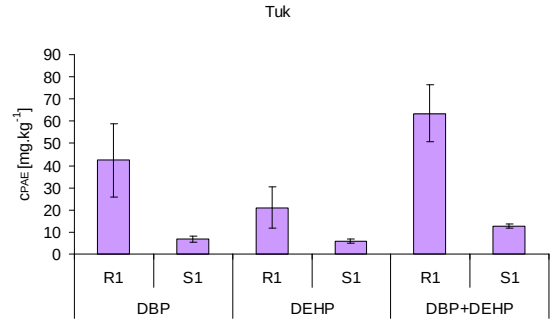
Priemerná koncentrácia sumy oboch ftalátov vo vzorkách hepatopankreasu po jesennom výlove rybníka bola 0,31 mg.kg^{-1} pôvodnej hmotnosti, po sádkovaní 0,10 mg.kg^{-1} pôvodnej hmotnosti. Pri porovnaní priemernej koncentrácie DBP pred sádkovaním (R1 c_{DBP} = 0,22 mg.kg^{-1} pôv. hm.) a po sádkovaní (S1 c_{DBP} = 0,04 mg.kg^{-1} pôv. hm.) došlo k zníženiu priemernej koncentrácie ($p<0,05$). Pri porovnaní priemernej koncentrácie DEHP pred sádkovaním (R1 c_{DEHP} = 0,10 mg.kg^{-1} pôv. hm.) a po sádkovaní (S1 c_{DEHP} = 0,06 mg.kg^{-1} pov. hm.) došlo k zníženiu priemernej koncentrácie ($p>0,05$) (Obr. 2).



Obr. 2 Koncentrácia DBP, DEHP a ich sumy [mg.kg^{-1} pôv. hm.] vo vzorkách hepatopankreasu kapra obecného po jesennom výlove rybníka (R1) a po sádkovaní (S1)

Vplyv sádkovania na obsah ftalátov v tuku (R1, S1)

Priemerná koncentrácia sumy oboch ftalátov vo vzorkách tuku po jesennom výlove rybníka bola 63,43 mg.kg^{-1} pôvodnej hmotnosti, po sádkovaní 12,67 mg.kg^{-1} pôvodnej hmotnosti. Pri porovnaní priemernej koncentrácie DBP pred sádkovaním (R1 c_{DBP} = 42,43 mg.kg^{-1} pôv. hm.) a po sádkovaní (S1 c_{DBP} = 6,74 mg.kg^{-1} pôv. hm.) došlo k zníženiu priemernej koncentrácie ($p<0,01$). Pri porovnaní priemernej koncentrácie DEHP pred sádkovaním (R1 c_{DEHP} = 21 mg.kg^{-1} pôv. hm.) a po sádkovaní (S1 c_{DEHP} = 5,93 mg.kg^{-1} pôv. hm.) došlo k zníženiu priemernej koncentrácie ($p<0,01$) (Obr. 3).



Obr. 3 Koncentrácia DBP, DEHP a ich sumy [mg.kg^{-1} pôv. hm.] vo vzorkách tuku kapra obecného po jesennom výlove rybníka (R1) a po sádkovaní (S1)

Koncentrácie ftalátov zistené vo vzorkách rýb z výlovu rybníka (R2) a po jeho sádkovaní (S2)

Analýze bolo podrobených 10 rýb z jesenného výlovu rybníka a 10 rýb (R2) po sádkovaní (S2). Z každej ryby bola analyzovaná svalovina (svalovina s kožou), hepatopankreas a tuk (vnútorný tuk). Počet analyzovaných vzoriek bol 120. Tab. 2 uvádza priemerné hodnoty zistené analýzou.

Na Obr. 4−6 sú zobrazené priemerné koncentrácie DBP a DEHP po jesennom výlove rybníka a po sádkovaní.

Tab. 2 Priemerné koncentrácie DBP, DEHP a ich sumy [mg.kg^{-1} pôv. hm.] zistené vo vzorkách tkanív rýb (svalovina, hepatopankreas, tuk) po jesennom výlove rybníka (R2) a po sádkovaní (S2)

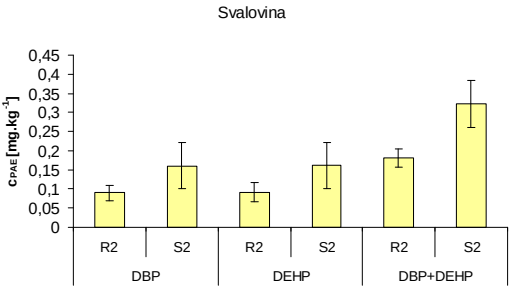
	Tkanivo	SVALOVINA			HEPATOPANKREAS			TUK		
	c_{PAE} [mg.kg^{-1}]	DBP	DEHP	Σ DBP+DEHP	DBP	DEHP	Σ DBP+DEHP	DBP	DEHP	Σ DBP+DEHP
Rybník R2	priemer	0,09	0,09	0,18	5,20	5,58	10,78	20,09	20,96	41,05
	median	0,10	0,10	0,20	5,36	5,47	10,70	18,09	18,37	36,62
	S.D.	0,02	0,03	0,05	0,75	0,95	1,66	9,31	8,97	17,80
	min	0,05	0,04	0,08	3,67	3,89	7,56	8,11	8,41	16,52
	max	0,12	0,12	0,24	6,35	6,92	13,27	40,55	40,77	81,32
Sádka S2	priemer	0,16	0,16	0,32	0,11	0,12	0,24	2,83	2,90	5,73
	median	0,15	0,15	0,30	0,12	0,13	0,25	2,52	2,47	4,99
	S.D.	0,06	0,06	0,12	0,04	0,05	0,10	1,25	1,31	2,56
	min	0,07	0,05	0,12	0,04	0,04	0,08	1,13	1,18	2,31
	max	0,28	0,28	0,55	0,19	0,21	0,40	5,06	5,08	10,14

(Medza stanoviteľnosti DBP a DEHP u tukových matríc - 0,2 mg.kg^{-1}, pre živočíšny materiál s nízkym obsahom tuku - 0,03 mg.kg^{-1}.)

Najnižšia priemerná koncentrácia DBP 0,09 mg.kg^{-1} pôvodnej hmotnosti bola zistené vo vzorkách svaloviny po jesennom výlove rybníka (R2) a najvyššia 20,9 mg.kg^{-1} pôvodnej hmotnosti vo vzorkých tuku po jesennom výlove rybníka (R2). Najnižšia priemerná koncentrácia DEHP 0,09 mg.kg^{-1} pôvodnej hmotnosti bola zistená vo vzorkách svaloviny po jesennom výlove rybníka (R2) a najvyššia 20,96 mg.kg^{-1} pôvodnej hmotnosti vo vzorkách tuku po jesennom výlove rybníka (R2).

Vplyv sádkovania na obsah ftalátov v svalovine (R2, S2)

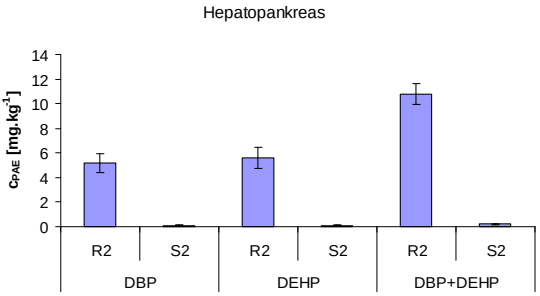
Priemerná koncentrácia sumy oboch ftalátov vo vzorkách svaloviny po jesennom výlove rybníka bola 0,18 mg.kg^{-1} pôvodnej hmotnosti, po sádkovaní 0,32 mg.kg^{-1} pôvodnej hmotnosti. Pri porovnaní priemernej koncentrácie DBP pred sádkovaním (R2 c_{DBP} = 0,09 mg.kg^{-1} pôv. hm.) a po sádkovaní (S2 c_{DBP} = 0,16 mg.kg^{-1} pôv. hm.) vo vzorkách svaloviny došlo k zvýšeniu priemernej koncentrácie ($p<0,01$). Pri porovnaní priemernej koncentrácie DEHP pred sádkovaním (R2 c_{DEHP} = 0,09 mg.kg^{-1} pôv. hm) a po sádkovaní (S2 c_{DEHP} = 0,16 mg.kg^{-1} pôv. hm.) došlo k zvýšeniu priemernej koncentrácie ($p<0,01$) (Obr. 4).



Obr. 4 Koncentrácia DBP, DEHP a ich sumy [mg.kg^{-1} pôv. hm.] vo vzorkách svaloviny kapra obecného po jesennom výlove rybníka (R2) a po sádkovaní (S2)

Vplyv sádkovania na obsah ftalátov v hepatopankrease (R2, S2)

Priemerná koncentrácia sumy oboch ftalátov vo vzorkách hepatopankreasu po jesennom výlove rybníka bola 10,78 mg.kg^{-1} pôvodnej hmotnosti, po sádkovaní 0,24 mg.kg^{-1} pôvodnej hmotnosti. Pri porovnaní priemerných koncentrácie DBP pred sádkovaním (R2 c_{DBP} = 5,20 mg.kg^{-1} pôv. hm.) a po sádkovaní (S2 c_{DBP} = 0,11 mg.kg^{-1} pôv. hm.) došlo k zníženiu priemernej koncentrácie ($p<0,01$). Pri porovnaní priemernej koncentrácie DEHP pred sádkovaním (R2 c_{DEHP} = 5,58 mg.kg^{-1} pôv. hm.) a po sádkovaní (S2 c_{DEHP} = 0,12 mg.kg^{-1} pôv. hm.) došlo k zníženiu priemernej koncentrácie ($p<0,01$) (Obr. 5).

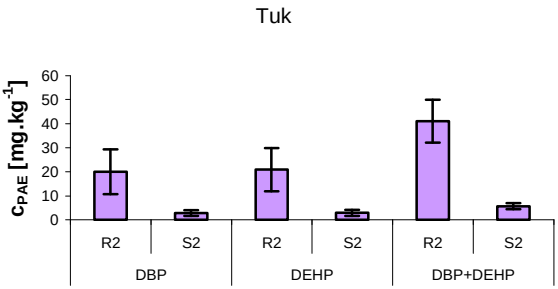


Obr. 5 Koncentrácia DBP, DEHP a ich sumy [mg.kg^{-1} pôv. hm.] vo vzorkách hepatopankreasu kapra obecného po jesennom výlove rybníka (R2) a po sádkovaní (S2)

Vplyv sákovania na obsah ftalátov v tuku (R2, S2)

Priemerná koncentrácia sumy oboch ftalátov vo vzorkách tuku po jesennom výlove rybníka bola 41,05 mg.kg^{-1} pôvodnej hmotnosti, po sádkovaní 5,73 mg.kg^{-1} pôvodnej hmotnosti. Pri porovnaní priemernej koncentrácie DBP pred sádkovaním (R2 c_{DBP} 20,09 mg.kg^{-1} pôv. hm.) a po sádkovaní (S2 c_{DBP} = 2,83 mg.kg^{-1} pôv. hm.) došlo k zníženiu priemernej koncentrácie ($p<0,01$). Pri porovnaní

priemernej koncentrácie DEHP pred sádkovaním (R2 c_{DEHP} = 20,96 mg.kg^{-1} pôv. hm.) a po sádkovaní (S2 c_{DEHP} = 2,90 mg.kg^{-1} pôv. hm.) došlo k zníženiu priemernej koncentrácie ($p<0,01$) (Obr. 6).



Obr. 6 Koncentrácia DBP, DEHP a ich sumy [mg.kg^{-1} pôv. hm.] vo vzorkách tuku kapra obecného po jesennom výlove rybníka (R2) a po sádkovaní (S2)

Ducanovým testom bol pozorovaný rozdiel koncentrácie DBP a DEHP medzi jednotlivými tkanivami (svalovina, hepatopankreas, tuk) v rámci každej skupiny (R1, S1, R2, S2). Testom bolo zistené, že vo všetkých skupinách sa priemery koncentrácií falátov svaloviny a hepatopankreasu významne nelíšili ($p>0,05$), narozdiel od tuku, kde sa štatisticky významne líšili ($p<0,05$). Iba u vzoriek z jesenného výlovu rybníka (R2) sa priemery koncentrácie DEHP medzi všetkými tkanivami významne nelíšili ($p>0,05$).

Vzhľadom na všeobený výskyt ftalátv vo vodnom prostredí je pravdepodobné, že ryby sú tiež vystavené ftalátom cez vodný stĺpec, potravu a sediment. Preto bolo našou snahou zistiť obsahy ftalátov u hospodársky najvýznamnejšej ryby v Českej republike, t.j. v požívateľných tkanivách kapra obecného (*Cyprinus carpio*), a tiež zistiť zmenu obsahu falátov po ich krátkodobom umiestnení v sádkach. Predpoklad obsahu ftalátov u rýb bol skúmaný u voľne žijúcich rýb v Holandsku, kde sa namerané priemerné koncentrácie DEHP a DBP pohybovali v rozmedzí 1,7–1,0 µg.kg^{-1} pôv. hm. (Peijnenburg a Struijs, 2006). Nami zistené hodnoty ftalátov v analyzovaných požívateľných tkanivách boli však vyššie. Priemerné hodnoty DBP v svalovine rýb určených pre spotrebiteľa boli 0,16−0,18 mg.kg^{-1} pôv. hm., DEHP 0,14−0,16 mg.kg^{-1} pôv. hm., v hepatopanrease boli hodnoty DBP 0,04−0,11 mg.kg^{-1} pôv. hm. a DEHP 0,06−0,12 mg.kg^{-1} pôv. hm., vo vzorkách tuku boli hodnoty DBP 2,83−6,74 mg.kg^{-1} pôv. hm. a DEHP 2,90−5,93 mg.kg^{-1} pôv. hm.

Značný prevod týchto znečistujúcich látok zo sedimentu na ryby môže predstavovať neočakávanú expozíciu človeka. Avšak k dispozícii je málo informácii o biologickej dostupnosti ftalátov pre ryby v riekach. Pre získanie nových informácii práve v tejto oblasti bola uskutočnená štúdia, ktorej cieľom bolo stanoviť koncentrácie ftalátov v sedimente a v rybách, vyhodnotiť ich vzťah ku kvalite

vody a posúdiť bioakumulačný faktor falátov. Hodnotených bolo 64 vzroriek sedimentu zo 17 hlavných riek na Taiwane. Priemerná úroveň DEHP v sedimente bola 4,1 (<0,05–46,5) $mg.kg^{-1}$ sušiny v období s pomalým prúdením, čo je štyrikrát vyššie ako v období s rýchlym prúdením. DEHP dosahoval najvyššie koncentrácie vo väčšine vzoriek sedimentu, čo bolo 20 až 30 násobne viac ako priemerné hodnoty BBP a DBP. Najvyššia úroveň DEHP bola nájdená v rieke Erren, ktorá je vážne kontaminovaná poľnohospodárstvom a priemyslom (Huang ai., 2008). Vo východnom Nemecku boli nájdené hodnoty DEHP v sedimente 0,2–8,44 $mg.kg^{-1}$ sušiny (Fromme ai., 2002). Uvažovali sme aj s predpokladom výskytu ftalátov v rybničnej vode a v sedimente, ako aj vo vode v sádkach. Aj keď ftaláty majú nízku rozpustnosť v čistej vode, môžu prenikať cez skládku humínové kyseliny a adsorbovať sa na častice, ktoré sa ukladajú v sedimente (Bauer a Herrmann, 1997; Bauer ai., 1998). Sediment môže teda zohrať úlohu pri priebežnej konverzii ftalátv zo životného prostredia na organizmy vo vodnom prostedí (Mackintosh ai., 2004). Vzorky rybničnej vody, sedimentu a vody so sádok sú odobrané, uchovávané pri mraziarenských teplotách a budú analyzované. Následne bude posúdený predpoklad kontaminácie rýb z prostedia rybníka, resp. sádky.

V ďalšej štúdii bol u všetkých vzoriek rýb prevládajúcim ftalátom DEHP, nasledoval BBP a DBP. Najvyššia priemerná úroveň DEHP bola 61,8 (1,7–253,9) $mg.kg^{-1}$ sušiny pre *L. subviridis*, nasledoval 33,6 (1,4–129,5) $mg.kg^{-1}$ sušiny pre *O. miloticus niloticus* u jednotlivých vzoriek rýb. U zmesných vzoriek rýb to bolo 70,3 $mg.kg^{-1}$ sušiny pre *A. schlegeli*, nasledovalo 32,9 (1,5–92,7) $mg.kg^{-1}$ sušiny pre *Z. platypus* (Huang ai., 2008). Ftaláty v sedimente môžu ovplyvniť ich bioakumuláciu v rybách. Iba menej ako 6 % DEHP v jemných časticiach sedimentu je ľahko dostpných pre mikrobiálny rozklad (Marttinen ai., 2003; Burkhard ai., 2004). Nájdenie vyšších úrovní DEHP v *L. subviridis* a *O. niloticus miloticus* je môžné kvôli tráveniu hrubých častíc obsahujúcich DEHP. Je tiež možné, že primárne zdroje potravy *L. subviridis* a *O. miloticus niloticus* sú získavané z dna, teda z blízkosti sedimentu, zatiaľ čo u *Z. platypus* je to skôr planktón (Huang ai., 2008). Fyzikálne a chemické vlastnosti organických látok v životnom prostredí môžu mať vplyv na vstrebávanie a elimináciu týchto látok v rybách (Burkhard, 2003). Kapor obecný je všežravec, v chove bol prikrmovaný obilninami. Vhodné by bolo analyzovať i krmivá používané v chove, pretože potrava je predpokladaným hlavným vstupom ftalátov do tela rýb, tie však neboli k analýze poskytnuté.

Významné poznatky týkajúce sa problematiky esterov kyseliny ftalovej boli získané na Výskumném ústavu veterinárního 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, kŕmnych 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 (Jarošová, 2010). Pokusným prasatám a kuracím brojlerom boli perorálne aplikované dávky DEHP a DBP (prasatám 5 g na kus a deň, brojlerom 100 mg na kus a deň) po dobu 14 dní. Za 14 dní od ukončenia aplikácie sa hladina DEHP znížila o 50 % v svalovine a tukových tkanivách prasiat. Za 14 dní po ukončení aplikácie dávok PAE brojlerom došlo k poklesu DEHP vo všetkých sledovaných

tkanivách. Pri výkrme hospodárskych zvierat sú považované krmiva za hlavný zdroj kontaminácie ftalátmi (Jarošová ai., 1999). Sledovanie obsahu ftalátov v krmivách a kŕmnych komponentoch v priebehu troch rokov ukázalo, že je nutná ich kontrola vstupov do potravného 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). Experimentom bolo zistené, že obsah PAE vo vzorkách kapra obecného získaných z troch rybníkoch Južnej Moravy sa pri jesennom výlove pohyboval v rozmezí 0,29-1,93 mg.kg^{-1} pôvodnej hmoty a po sádkování 0,22-2,10 mg.kg^{-1} pôvodnej hmoty (Jarošová ai., 2009). Predpodklad, že sa obsah PAE v tkanive rýb po sádkovaní, kedy už ryby neprijímajú potravu, zníži, sa potvrdil u dvoch rybníkov. U jedného rybníka bola situácia opačná (Jarošová, 2010). V našom experimente došlo v oboch prípadoch k nepatrnému zvýšeniu koncentrácie ftalátov vo vzorkách svaloviny, vo vzorkách hepotopankreasu a tuku však došlo k zníženiu obsahu ftalátov, čo bolo aj štatisticky preverené. Teda vo vzorkách hepatopankreasu a tuku došlo k predpokladanému zníženiu počas doby, kedy ryby potravu neprijímali. Vo vzorkách svaloviny došlo k zvýšeniu, čo môže byť dôsledkom metabolizmu ryby v dobe sádkovania (neprijímania potravy). Aby sme vedeli s určitosťou poukázať na príčinu zvýšenia koncentrácie ftalátov v svalovine, je potrebné analyzovať i vodu sádok, materiál sádok ako i uskutočniť nové pokusy.

Príjem z kontaminovaných potravín je pravdepodobne najväčším zdrojom expozície ftalátov v populácii. Ich obsahy v potravinách sú však veľmi variabilné a nemusia odrážať skutočnú úroveň expozície. Maximálny denný príjem je odhadovaný na 0,48 μg.kg^{-1}.deň$^{-1}$ pre di-n-butyl ftalát, 4.9–18 μg.kg.$^{-1}$deň$^{-1}$ pre di-2-etylhexyl ftalát 0,11–0,29 μg.kg^{-1}.deň$^{-1}$ pre butyl benzyl ftalát (Schettler, 2006).

ZÁVER

V tomto experimente bol sledovaný obsah falátov (DBP a DEHP) v tkanivách rýb (svalovina, hepatopankreas, tuk) po výlove z dvoch rybníkoch (R1 a R2) zmena ich obsahu po sádkovaní (S1 a S2). Priemerné hodnoty DBP v svalovine rýb určených pre spotrebiteľa boli 0,16−0,18 mg.kg^{-1} pôv. hm., DEHP 0,14−0,16 mg.kg^{-1} pôv. hm., v hepatopankrease boli hodnoty DBP 0,04−0,12 mg.kg^{-1} pôv. hm. a DEHP 0,06−0,124 mg.kg^{-1} pôv. hm., vo vzorkách tuku boli hodnoty DBP 2,83−6,75 mg.kg^{-1} pôv. hm. a DEHP 2,90−5,93 mg.kg^{-1} pôv. hm. V našom experimente došlo k nepatrnému zvýšeniu koncentrácie ftalátov vo vzorkách svaloviny. U S1 stúpla hodnota DBP v svalovine oproti R1 o 0,03 mg.kg^{-1} pôv. hm., t.j. 1,2 krát, hodnota DEHP o 0,06 mg.kg^{-1} pôv. hm., t.j. 1,8 krát, u S2 stúpla hodnota DBP oproti R2 o 0,07 mg.kg^{-1} pôv. hm., t.j. 1,8 krát, hodota DEHP o 0,07 mg.kg^{-1} pôv. hm., t.j. 1,8 krát. Vo vzorkách hepotopankreasu a tuku však došlo k zníženiu obsahu ftalátov, čo bolo aj štatisticky preverené. V hepatopankrase klesla hodnota DBP u S1 oproti R1 o 0,18 mg.kg^{-1} pôv. hm., t.j. 5,5 krát, hodnota DEHP o 0,04 mg.kg^{-1} pôv. hm., t.j. 1,7 krát, v tuku klesla hodnota DBP o 35,69 mg.kg^{-1} pôv. hm., t.j. 6,3 krát, hodota DEHP o 15,07 mg.kg^{-1} pôv. hm., t.j. 3,5 krát. U S2 oproti R2 klesla hodnota DBP v hepatopanrease o 5,09 mg.kg^{-1} pôv. hm., t.j. 47,3 krát, hodnota DEHP o 5,46 mg.kg^{-1} pôv. hm., t.j. 46,5 krát, v tuku klesla hodnota DBP o 17,26 mg.kg^{-1} pôv. hm., t.j. 7,1 krát, hodnota DEHP o 18,06 mg.kg^{-1} pôv. hm., t.h. 7,2 krát. Teda

vo vzorkách hepatopankreasu a tuku došlo k predpokladanému zníženiu počas doby, kedy ryby potravu neprijímali. Nepatrné zvýšenie hodnôt v svalovine mohlo byť spôsobené metabolizmom rýb v dobe sádkovania, poprípade kontamináciou vody sádok. Práve kontaminácia prostredia môže byť dôležitým zdrojom pre vstup ftalátov do tela rýb. Vzorky sedimentu, rybničnej vody a vody sádok boli odobrané, budú analyzoané a následne porovnané s obsahmi ftalátov v rybách. Za hlavný zdroj kontaminácie rýb falátmi je považovaná potrava. Predpoklad zníženia obsahu falátov v dobe sádkovania, kedy ryby potravu neprijímajú, bol potvrdený u vzoriek hepatopankreasu a tuku.

LITERATÚRA

Bauer M. J., Herrmann R. (1997): Estimation of the environmental contamination by phthalic acid esters leaching from household wastes. Sci. Total Environ. 208: 49–57.

Bauer M. J., Herrmann R., Martin A., Zellmann H. (1998): Chemodynamics, transport behaviour and treatment of phthalic acid esters in municipal landfill leachates. Water Sci. Technol. 38: 185–192.

Burkhard L. P. (2003): Factors influencing the design of bioaccumulation factor and biota–sediment accumulation factor field studies. Environ. Toxicol. Chem. 22: 351–360.

Burkhard L. P., Cook P. M., Lukasewycz M. T. (2004): Biota-sediment accumulation factors for polychlorinated biphenyls, dibenzo-p-dioxins, and dibenzofurans in southern lake Michigan Lake trout (Salvelinus namaycush). Environ. Sci. Technol. 38: 5297–5305.

Cano J. M., Marín M. L., Sánchez A., Hernandis V. (2002): Determination of adipate plasticizers in poly(vinyl chloride) by microwave-assisted extraction. Journal of Chromatography A, 963m: 401-409.

Casas L., Fernández M. F., Llop S., Guxens M., Ballester F., Olea N., Irurzun M. B., Rodríguez L. S. M., Riaño I., Tardón A., Vrijheid M., Calafat A. M., Sunyer J. (2011): Urinary concentrations of phthalates and phenols in a population of Spanish pregnant women and children. Environment International, 37 (5): 858-866.

Fromme H., Küchler T., Otto T., Pilz K., Müller J., Wenzel A. (2002): Occurrence of phthalates and bisphenol A and F in the environment. Water Res. 36: 1429–1438.

Heudorf U., Mersch-Sundermann V., Angerer J. (2007): Phthalates: Toxicology and exposure. International Journal of Hygiene and Environmental Health, 210 (5): 623−634.

Huang P., Tien Ch., Sun Y., Hsieh Ch., Lee Ch. (2008): Occurrence of phthalates in sediment and biota: Relationship to aquatic factors and the biota-sediment accumulation factor. Chemosphere, 73: 539-544.

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., Stancová V., Zorníková G. (2009): Di-2-ethylhexyl ftalát a di-n-butyl ftalát ve tkáních kapra obecného. In XXXIX. Lenfeldovy a Höklovy dny, Konference s mezinárodní účastí o hygieně a technologii potravin. Brno: VFU: 13-16.

Jarošová, A. (2010): Výskyt ftalátu v potravním řetězci. Sborník XXXVI. Semináře o jakosti potravin a potravinových surovin – „Ingrovy dny", Brno: 11−19.

Kang Y., Den W., Bai H., Ko F. H. (2005): Direct quantitative analysis of phthalate esters as micro-contaminants in cleanroom air and wafer surfaces by auto-termal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. Jorunal of Chromatography A, 1070: 137-145.

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.

Mackintosh C. E., Maldonado J. A., Ikonomou M. G., Gobas F. A. P. C. (2006): Sorption of phthalate esters and PCBs in a marine ecosystem. Environ. Sci. Technol. 40: 3481–3488.

Mackintosh C. E., Maldonado J., Hongwu J., Hoover N., Chong A., Ikonomou M. G., Gobas F. A. P. C. (2004): Distribution of phthalate esters in a marine aquatic food web: comparison to polychlorinated biphenyls. Environ. Sci. Technol. 38: 2001–2020.

Marttinen S. K., Kettunen R. H., Rintala J. A. (2003): Occurrence and removal of organic pollutants in sewages and landfill leachates. Sci. Total Environ. 301: 1–12.

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.

Peijnenburg W. J. G. M., Struijs J. (2006): Occurrence of phthalate esters in the environment of the Netherlands. Ecotoxicol. Environ. Safe. 63: 204–215.

Salima C. J.,. Liua S. H, Kennedy J. F. (2010): Com:parative study of the adsorption on chitosan beads of phthalate esters and their degradation products, Carbohydr. Polym. 81: 640–644.

Schettler T. (2006): Human exposure to phthalates via consumer products. Int. J. Androl., 290: 134-139.

Velíšek J. (2002): Chemie potravin 3. Tábor OSSIS, vydání 2. upravené: 343.

World Health Organization (2003): Chapter 8: Chemical Aspects, Guidelines for Drinking Water Quality, third ed. World Health Organization, Geneva (Draft).

DETERMINATION OF DEKARBOXYLASE ACTIVITY THE SELECTED BACTERIA HAZARRDOUS

Rejchrtová E., Sládková P., Komprda T., Zorníková G.

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

Biogenic amines (BA) are low-molecular nitrogenous bases formed in foods and food raw materials by decarboxylation of precursor amino acids by the action of bacterial decarboxylases. An ability of lactic acid bacteria (LAB), including genus *Enterococcus* (proved BA producers), to form tyramine and histamine was evaluated in the present experiment. Two methods for testing an ability of the isolates to form tyramine/histamine were used: liquid decarboxylating medium (LDM) and confirmation of BA formation by the HPLC method.

Regarding *Enterococcus* spp., all tested isolates were positive using both methods. As far as LAB are concerned however, only 10.5% of the isolates was identified as positive in LDM, while 41.7% positive isolates was confirmed by the HPLC. In the HPLC-positive isolates, only tyramine was detected, histamine was not present in any of the tested samples. Members of the genus *Enterococcus* were confirmed by the PYRA-test, species identification was consequently performed using the ENCOCCUS-test. Except one sample that was identified as *E. faecium*, all other enterococci isolates were identified as *E. faecalis.*

Key words: dekarboxylase activity, Enterococcus

Acknowledgement: Thank Internal Grant Agency for financial support our projects 234/2101 SP 21 10 181.

ÚVOD

Biogenní aminy (BA) vznikají v potravinách působením bakteriálních enzymů (dekarboxyláz), které odštěpují karboxyl z aminokyselin. Pro vznik BA je třeba tří podmínek: výskyt volných aminokyselin, bakterie vybavené dekarboxylázami a prostředí příznivé pro pomnožení těchto bakterií.

Mezi bakterie vyznačující se dekarboxylázovou aktivitou patří i krom jiných bakterie rodu *Enterococcus* a bakterie mléčného kvašení (BMK). Zástupci bakteriálního rodu *Enterococcus* se vyskytují jako saprofyté a komenzálové trávícího ústrojí. Jsou poměrně rezistentní, přežívají záhřev při 60 °C po dobu 30 min. Jejich výskyt v potravinách nelze dávat do souvislostí s přímou kontaminací fekáliemi, protože enterokoky se nezávisle na fekálním znečištění nacházejí i v životním prostředí (Burdychová a kol.,2007)

Někteří zástupci bakterií mléčného kvašení se přidávají do potravin jako kulturní či startovací mikroflóra nebo jako probiotika. Mnozí příslušníci skupiny BMK jsou často uváděny jako významní producenti biogenních aminů, včetně tyraminu a histaminu (Del Prete a kol.,2009).

MATERIÁL A METODIKA

V experimentu byly použity mikroorganismy (MO) získané při mikrobiologických rozborech sýrů zrajících pod mazem, které byly odebírány v různých fázích výroby. Kromě dalších MO jenž byly stanoveny, byly na selektivním mediu Slanetz-Bartley (NOACK, Francie) se suplementem TTC, který zajišťuje selektivitu media, stanoveny také počty bakterií rodu *Enterococcus* a na půdě MRS (NOACK, Francie) BMK vyznačující se dekarboxylázovou aktivitou.

Stanovení dekarboxylázové aktivity probíhalo nejprve pomocí tzv. Dekarboxylačního media (Tab.1). Před vlastní analýzou pomocí media jsme vzorky enterokoků přeočkovali na živnou půdu Plate count agat (PCA), aby výsledek nebyl ovlivněn červenou barvou kolonií. Dekarboxylační medium (Tab.1) se kromě aminokyselin (AMK) navážilo a doplnilo destilovanou vodou. Po vysterilizování byly přidány AMK rozpuštěné v HCl (M 0,1) na závěr bylo upraveno pH na hodnotu 5,3 čímž bylo vytvořeno vhodné prostředí pro mikroorganismy. Mezi toxikologicky nejvýznamnější biogenní aminy patří tyramin a histamin (Bover-Cid et al., 2000), proto byly do dekarboxylačního media přidány AMK tyrozin, histidin, z kterých dané BA vznikají. Médium bylo rozpipetováno do sterilních zkumavek a po přidání vzorků MO bylo inkubován airobně při 37 °C 5 dní v případě enterokoku a při 30 °C 5 dní v anairobním prostředí v případě BMK. Pozitivní výsledek se projevil změnou barvy media po odezvě změnu pH. Změna pH je závislé na vzniku více alkalických BA vytvořených z aminokyselin.

Tab.1: Složení dekarboxylačního media (Bower-Cid S. et al.,1999)

Dekarboxylační médium	
Složení	1l
Kryptone	5 g
Kvasničný extrakt	5 g
Masový extrakt	5 g
NaCl	2,5 g
Glukoza	0,5 g
Tween 80	1 g
$MgSO_4$	0,2 g
Mn SO_4	0,05 g
Fe SO_4	0,04 g
citrát amoný	2 g
Thiamin	0,01 g
K_2PO_4	2 g
Ca CO_3	0,1 g
Pyrodoxal-5- fosfát	0,05 g
Bromcresol pyrole	0,06 g
pH	5,3
aminikyseliny	10 g

Výsledky z měření pomocí dekarboxyláčního media nejsou zcela stoprocentní, protože v některých případech může docházet i k barevným reakcím bez současného vzniku biogenních aminů způsobené např. produkcí metabolitů alkalické povahy.

Proto byly výsledky v rámci experimentu prověřeny kontrolním měřením pomocí kapalinového chromatografu (HPLC). Z dekarboxylačního media (BOVER-CID, HOLZAPFEL,1999) bylo po kultivaci odebráno 0,5 ml vzorku, smícháno s 0,5 ml 0,1 M HCl, centrifugováno. Před HPLC analýzou proběhla derivatizace vzorku. Do vialky (8 ml) bylo přidáno 0,5 ml nasyceného Na_2CO_3 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 NH_3 a k promíchání vzniklé suspenze. NH_3 zreagoval se zbytkem danyslchloridu, 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 um a nastříknut na chromatografickou kolonu. BA obsažené ve vzorku byly separovány pomocí kapalinového chromatografu HP 1100 (Agilent Technologies, Wilmington, USA) s použitím fotometrického UV/VIS detektoru při 245 nm.

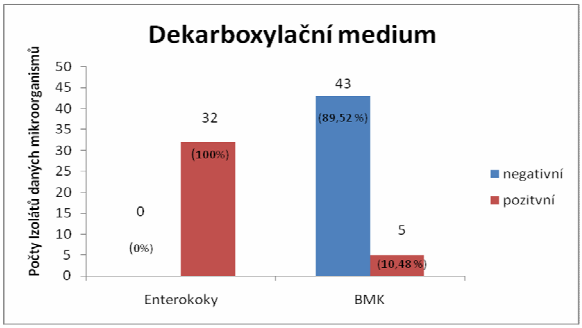
Získané mikrobiální kultury enterokoků byly prověřeny pomocí PYRAtestu (Pliva-Lachema Diagnostika ,ČR), jenž je určen pro rychlou detekci aktivity pyrrolidonylarylamidázy, sloužící pro potvrzení příslušnosti k rodu *Enterococcus*, tedy k rodové identifikaci enterokoků.

V rámci experimentu byla provedena ještě druhová identifikace a to pomocí EN-COCCUStest (Pliva-Lachema Diagnostika ,ČR). Souprava umožňuje provést identifikaci 36 druhů pomoci 8 biochemických testů, na základě jejichž změny barvy a pomocí diferenciační tabulky proběhne vyhodnocení. Z 24 hodinové kultury byla vytvořena bakteriální suspenze z našich izolátů, ta byla v množství 0,1 ml umístěna do mikrotitračních destiček do 8 jamek, které obsahovali již zmíněné biochemické testy, inkubace probíhala 24 hodin při 37 °C.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Při našem experimentu se nám podařilo zjistit, že všechny izoláty enterokoků získané ze sýrů zrajících pod mazem vykazovaly dekarboxylázovou aktivitu (Obr.1). Ercoskun a kol., 2010 označili rod *Enterococcus* jako významného producenta biogenních aminů, což se nám v rámci našeho experimentu potvrdilo. Kromě toho v současné době nabývá jeho význam z medicínského hlediska jako původce mnohých infekcí a to hlavně u pacientů s oslabenou imunitou (Kayser, 2003). Některé druhy jsou však v potravinářství používány jako součást probiotických kultur, nebo se vyznačují produkcí bakteriocinů (Kelein, 2003).

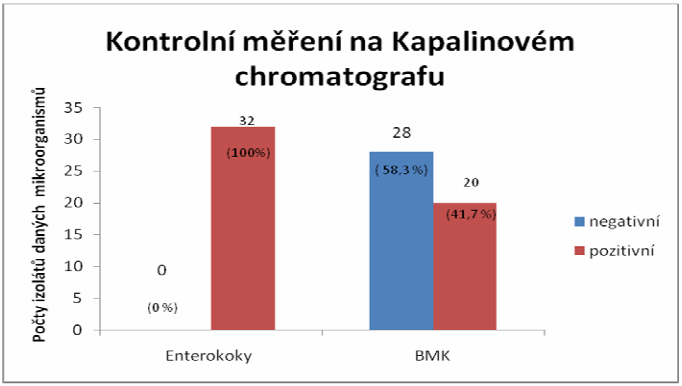
Obr.1 *Výsledky měření dekarboxylázové aktivity pomocí dekarboxylačního media*



Počty Izolátů daných Mikroorganismů (MO) byly získané při mikrobiologických rozborech sýrů zrajících pod mazem, které byly odebírány v různých fázích výroby, dané MO byly kultivovány na selektivních mediích, následně byly přečištěny přes jednu kolonii a použity pro stanovení dekarboxylázové aktivity. N**egativní vzorek**- nebyla prokázána dekarboxylázová aktivita, **pozitivní vzorek** - byla prokázána dekarboxylázová aktivita.

V rámci BMK bylo ze 48 vzorků po stanovení v dekarboxylačním mediu jako dekarboxyláza-pozitivních označeno 5 izolátů (Obr.1). Zbytek vzorků byl posouzen jako negativní. Mnozí příslušníci skupiny BMK jsou často uváděni jako významní producenti biogenních aminů, včetně tyraminu a histaminu (Del Prete a kol.,2009). V našem souboru izolátů BMK bylo jako dekarboxyláza-pozitivní označeno pouze 10,48 %. Jako kontrolní měření bylo použito stanovení BA v dekarboxylačním medium pomocí kapalinového chromatografu HP 1100 (Obr.2).

Obr.2 *Výsledky měření dekarboxylázové aktivity pomocí dekarboxylačního media prověřeného HPLC*



Počty Izolátů daných Mikroorganismů (MO) byly získané při mikrobiologických rozborech sýrů zrajících pod mazem, které byly odebírány v různých fázích výroby, dané MO byly kultivovány na selektivních mediích, následně byly přečištěny přes jednu kolonii a použity pro stanovení dekarboxylázové aktivity. N**egativní vzorek-** nebyla prokázána dekarboxylázová aktivita, **pozitivní vzorek** - byla prokázána dekarboxylázová aktivita.

V případě bakterií rodu *Enterococccus* se potvrdily naše poznatky získané dekarboxylačním médiem, kde veškeré vzorky byly pozitivní. Ve všech analyzovaných vzorcích byla zjištěna přítomnost tyraminu, histamin však nebyl detekován ani v jednom ze stanovovaných vzorků.

U výsledků zjištěných pomocí HPLC u BMK bylo procento pozitivních vzorků (detekce histamin/tyramin) výrazně vyšší, což poukazuje na nespolehlivost dekarboxylačního media a opodstatňuje i naše kontrolní měření. Stejně jako u enterokoků tak i u BMK byla stanovena přítomnost tyraminu pomocí HPLC u všech vzorků, histamin opět nebyl detekován ani v jednom ze vzorků.

Při experimentu se u enterokoků, kteří vykazovali dekarboxylázovou aktivitu provedla rodová (PYRAtest) a druhová (EN-COCCUStest) identifikace pomocí biochemických testů. Rodová příslušnost k rodu *Enterococcus* byla potvrzena u všech prověřovaných vzorků. Při druhové identifikaci bylo zjištěno, že kromě jednoho vzorku, který byl diagnostikován jako *Enterococcus faecium*, byly všechny ostatní izoláty na základě EN-COCCUstestu posouzeny jako *Enterococcus faecalis.*

ZÁVĚR

V rámci experimentu se nám podařilo zjistit, že veškeré námi izolované bakterie rodu *Enterococcus*, které byly získány při mikrobiologických rozborech sýrů zrajících pod mazem vykazovali dekarboxylázovou aktivitu. Výsledky získané objemy metodami (dekarboxylační

medium, HPLC) jež byly použity pro toto konkrétní měření bakterií rodu *Enterococcus* se svými výsledky naprosto shodovaly. Všech 32 vzorků použitých k danému stanovení bylo pozitivních na tyramin. Histamin nebyl v experimentu zaznamenán ani v jednom ze vzorků.

U BMK jsme v rámci měření na HPLC zjistili vyšší procento pozitivních vzorků než v případě dekarboxylačního media a to z původních 10,48 % na 41,7 %, což poukazuje na nespolehlivost dekarboxylačního media a ukazuje na možnost objevení falešně negativních reakcí a zároveň opodstatňuje i naše kontrolní měření**.**

Příslušnost k rodu *Enterococcus* byla potvrzena u všech prověřovaných vzorků. Při druhové identifikaci bylo zjištěno, že kromě jednoho vzorku, který byl identifikován jako *Enterococcus faecium*, byly všechny ostatní izoláty posouzeny EN-COCCUstestem jako *Enterococcus faecalis.*

V návaznosti na výše uvedené výsledky probíhá v současnosti detekce specifických genu (tyrosindekarboxylázy, histidindekarboxylázy). Pro identifikaci genů se využívá polymerázové řetězové reakce (PCR) se specifickými primery pro sledovaní genů *tyrdc* (tyrosindekarboxyláza) a *hdc* (histidindekarboxyláza) (Coton et al., 2005).

LITERATURA

Bover-Cid S., Hoizapfel W. H.(1999): Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bakteria. Food Microbiology: 33-41.

Bover-cid, S., Huga, M., Izquierdo-Pulido, M., Vidal-Carou, M.C. (2000).: Amino-acid decarboxylase aktivity of bakteria isolatér from fermented pork sausages. InternationalJ. Food Mikrobiology, vol. 6, p. 185-189

Burdychová, R., Sládková, P. (2007): Mikrobiologická analýza potravin. MZLZ v Brně, 218s.,ISBN 978-80-7375-116-6

Coton, E., Foton, M. (2005):Multiplex PCR for colony direkt detection og Gram-positive histamine- and tyramine-producing bakteria. J. Microbiol. Methods :63, s 296-304

Del Prete, V., Constantini, A.,Cecchini, F., Mossut, M., Garcia-Moruno, E.,(2009):Occurrence of biogenic amines in wines: The role of grapes. Food Chemistry 112, s 474- 481.

Kalač P., Křížek M. (2005): Biogenní aminy a polyaminy v potravinách a jejich vliv na lidské zdraví. Výživa: 40–43.

Kayser, F. H., (2003): Safety aspects of enterococcci from the medical point of view. International Journal of Food Mikrobiology,: 88, s.255-256.

Kelein, G. (2003): Taxonomy, ekology and antibiotik resistence of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. International Journal of Food Mikrobiology,: 88, s.123- 131

EFFECT OF FATTY ACIDS IN THE REPRESATION OF QUAIL EGGS BY SAGE SPANISH

Rozíková V., Zorníková G., Gregor T., Przywarová A.

Department of Food Technology Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xrozikov@node.mendelu.cz

ABSTRACT

Seeds of spanish sage contain high level of polyunsaturated fatty acids especially esencial fatty acids α-linolenic (65%) and linoleic (20%). Animal organism is able to synthesize from these fatty acids physiologically important metabolites eicosapentanoic acids (EPA) and docosahexanoic acids (DHA). In our work, we observe qualitative and qualitative representation in fat of quail eggs. The samples were divided into groups: control (0% spanish sage) and addition 5% and 7.5% of spanish sage. The experiment took 56 days, two laying cycles. Assessment of fatty acids was performed by gas chromatography. The result of experiment was slightly reduced amount of saturated fatty acids and statistically significant increase of α-linolenic acids a their metabolites DHA and statistically inconclusive increase of EPA. Addition of spanish sage had to also effect to sensory properties of eggs. This result led to involve sensory analysis to our work.

Key words: salvia hispanica, fatty acids, quails eggs

Acknowledgement: This project was made with support of Internal Grant Agency of The Faculty of Agronomy Mendel University, TP2/2011 “The effect of feed additives for livestock on their metabolism, the utilization absorbency of clay substrates in the animal and plant production”.

ÚVOD

Studie je založena na ovlivnění zastoupení mastných kyselin v tuku křepelčích vajec, cíleným navýšením polynenasycených mastných kyselin (PUFA). Zvýšení množství PUFA, především α-linolenové kyseliny a následně jejích metabolitů, které jsou tvořené v živočišném organismu, je docíleno zkrmováním určitého přídavku šalvěje španělské do směsi pro jejich výkrm. Semena šalvěje španělské (neboli chia) obsahují až 65% α-linolenové kyseliny a 20% linolové kyseliny, při čemž se tento procentický podíl dle literatury a semena liší u α-linolenové kyseliny 55-65% a pro linolovou kyselinu. 17-23%. Celkově semena obsahují 25-30% extrahovatelného oleje. Semena použitá v této studii obsahovala 30,8% extrahovatelného oleje a 62,6% α-linolenové a 18,1% linolové kyseliny. Výsledky byly získány stejnou metodou jakou jsou analyzovány následné vzorky.

Živočišný organismus je schopen pomocí elongáz a desaturáz syntetizovat z těchto esenciálních mastných kyselin fyziologicky významné mastné kyseliny, ale jejich konverze je druhově specifická. Linolenová kyselina (LNA) je výchozím metabolitem pro n-3 řady, mezi které patří eikopentanová (EPA, 20: n-3) a dokosahexaenová (DHA, 22:6 n-3) kyselina. Linolová kyselina je výchozím metabolitem n-6 řady, např. kyselina arachidonová (20:4 n-6). EPA a DHA působí protektivně na kardiovaskulární systém, zvýšený příjem LNA má za následek snížení agregace trombocytů, zvýšení vazodilatace nebo zvýšení HDL- cholesterolu (*Komprda, 2007*) Předpokladem naší práce je konverze linolenové kyseliny z chia semen do organismu křepelek a následné předání do jejích vajec. Pro tuto práci je významná změna složení mastných kyselin ve vejci, přechod α-linolenové kyseliny, EPA a DHA z krmiva do vejce, jejich navýšení a v neposlední řadě vliv tohoto navýšení na senzorické parametry vejce.

MATERIÁL A METODIKA

Křepelky byly rozděleny do skupin po 21 kusech dle přídavku na 0% (kontrolní), 5% a 7,5% šalvěje španělské. Takto byly křepelky krmeny po dobu dvou snáškových cyklů, tj. 56 dní. Ve všech případech byla semena šalvěje rozemleta a homogenizována s krmnou směsí v daných procentických přídavcích. Vejce byly analyzovány na začátku pokusu (odběr 0) a dále každé dva dny, po dobu prvních deseti dnů, následně po pěti dnech. Z každé krmné skupiny bylo odebíráno vždy 12 ks vajec, ze kterých byly vytvořeny 3 směsné vzorky po 4 vejcích. Vzorky vajec byly homogenizovány, lyofilizovány a extrahovány pomocí Soxhletova extraktoru petroleterem po dobu 4,5 hodiny. Navážka čistého vzorku byla rozpuštěna ve 3 ml isooktanu obsahujícího kyselinu pentadekanovou jako vnitřní standard (0,1g.l^{-1}). Derivatizace mastných kyselin byla provedena dle metody uvedené ve studii Komprda et al. (1999), která vychází z postupů Morrison a Smith (1964), Banon et al. (1982), Ichihara et al. (1996) a Sattler et al. (1996).

Stanovení příslušných methylesterů mastných kyselin bylo provedeno na plynovém chromatografu FISONS GC 8000 series. Na přístroji byl nastaven split poměr top/bottom 1 : 2, a range vytvářející rozsah píku na délku 0-1. Nosným plynem byl použit dusík o tlaku 100 kPa. Poměr vodíku: vzduchu byl 1 : 3, tj. 50 : 150 kPa. Při analýzách byl používán modifikovaný teplotní program využívaný firmou Supelco (USA) se začátkem při 140°C po dobu 5 minut, gradientem 4°C/min zvyšován na 240°C s výdrží 5 minut. Teplota injektoru a detektoru byla 260°C. Rychlost průtoku nosného plynu byla 1 $ml.min^{-1}$. Při analýzách byla použitá kapilární kolona Capital Analytical RH-1ms+ o délce třicet metrů vyrobená ze 100% dimethylpolysiloxanu. Veškerá vyhodnocení vzorků byla prováděna na počítači v programu Clarity *(Rozíková, 2010*)

V případě senzorické analýzy byly hodnoceny všechny tři skupiny po prvním a druhém snáškovém období. Vejce byla před hodnocením vařena odděleně dle skupiny 12 minut ve vroucí vodě. Po odloupnutí skořápky byla ještě teplá podávána k hodnocení po třech kusech od každé skupiny. Výsledky byly zaznamenávány hodnotiteli do protokolů, jež obsahovaly sedm deskriptorů (vůně bílku, vůně žloutku, textura žloutku, chuť bílku, chuť žloutku, barva žloutku a celkový dojem), s grafickou stupnicí s rozsahem 100-0 bodů.

VÝSLEDKY A DISKUZE

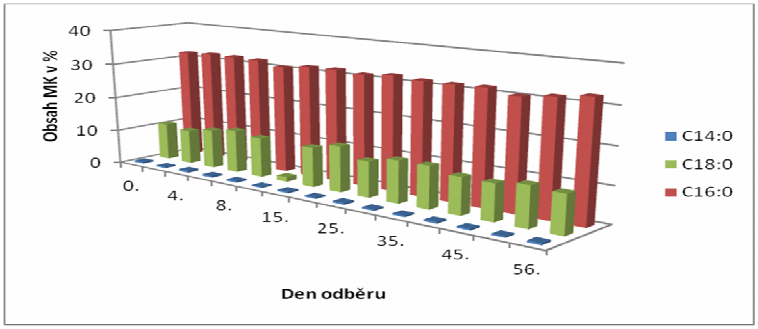
Rozhodnutím komise Evropské unie ze dne 13. října 2009 se povoluje uvedení semen chia *(Salvia hispanica)* na trh jako nové složky potravin dle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č.258/97 (2009/827/ES). Nařízení bylo podnětem pro experimentální měření obohacení křepelčích vajec o polynenasycené mastné kyseliny a celkové změny zastoupení mastných kyselin.

V naší studii jsme ve vzorcích křepelčích vajec metodou plynové chromatografie

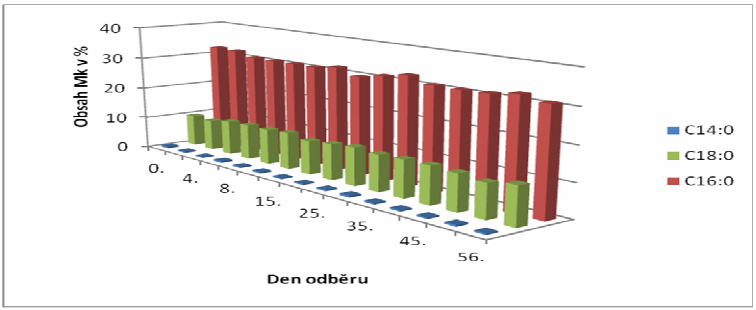
Kvantitativní zastoupení mastných kyselin závisí i na konverzi živin drůbeže, která je ovlivněna řadou faktorů: metabolismem, věkem, snáškovým obdobím, ročním obdobím, nastavením teploty a délky světla u intenzivního chovu a chemickou formou, ve které jsou živiny podávány. U chovných slepic a nosnic je stanovená konverze krmiva na přibližných 80%.

V rámci vyhodnocení jsme srovnávali množství MK mezi skupinami, zdali přídavek šalvěje změnil poměr jednotlivých mastných kyselin mezi skupinou kontrolní a skupinami s přídavkem. U jednotlivý skupin byla provedena analýza v ovlivnění množství mastných kyselin v závislosti na čase. Statistické vyhodnocení bylo provedeno v programu Statistica 9.

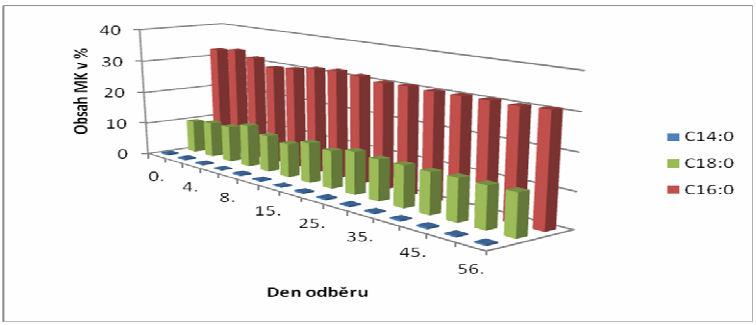
Graf. 1a Zastoupení nasycených mastných kyselin v tuku křepelčích vajec u skupiny s 0% přídavkem šalvěje španělské v krmivu v průběhu 56 dní



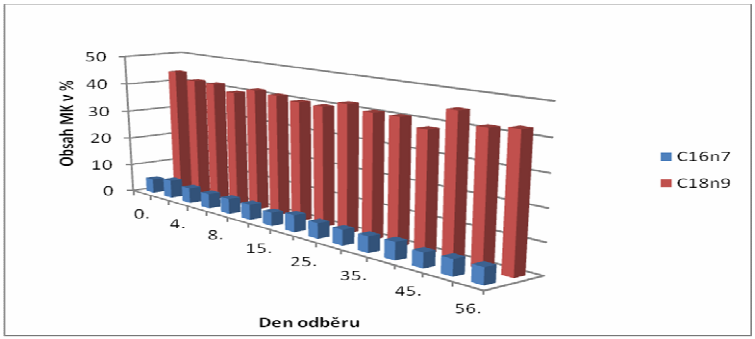
Graf. 1b Zastoupení nasycených mastných kyselin v tuku křepelčích vajec u skupiny s 5% přídavkem šalvěje španělské v krmivu v průběhu 56 dní



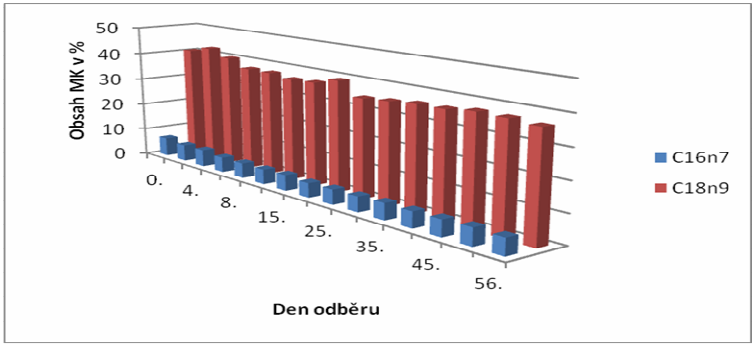
Graf. 1c Zastoupení nasycených mastných kyselin v tuku křepelčích vajec u skupiny s 7,5% přídavkem šalvěje španělské v krmivu



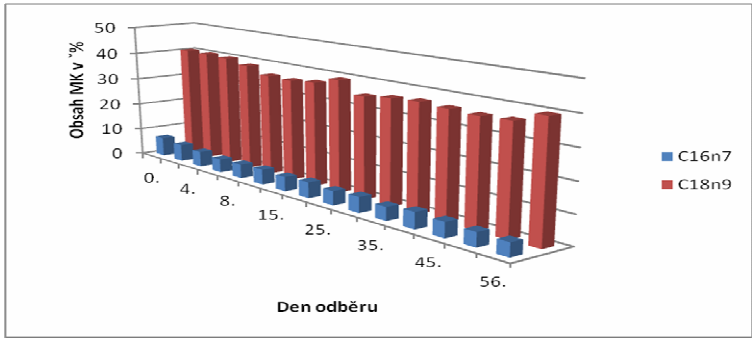
Graf. 2a Zastoupení monenasycených mastných kyselin v tuku křepelčích vajec u skupiny s 0% přídavkem šalvěje španělské v krmivu v průběhu 56 dní



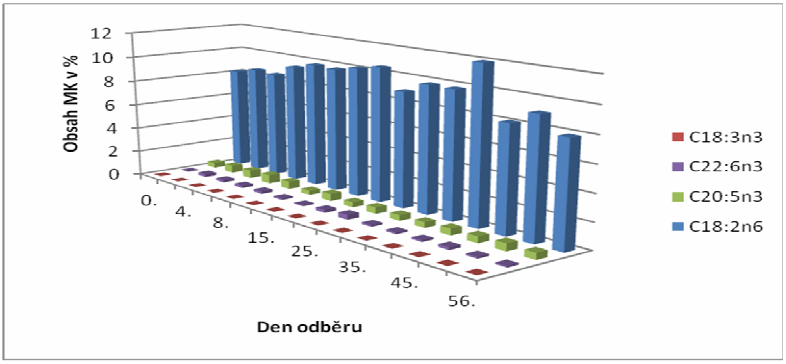
Graf. 2b Zastoupení monenasycených mastných kyselin v tuku křepelčích vajec u skupiny s 5% přídavkem šalvěje španělské v krmivu v průběhu 56 dní



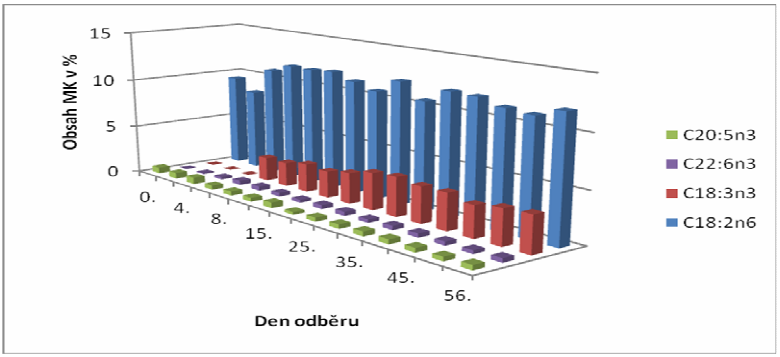
Graf. 2c Zastoupení monenasycených mastných kyselin v tuku křepelčích vajec u skupiny s 7,5% přídavkem šalvěje španělské v krmivu v průběhu 56 dní



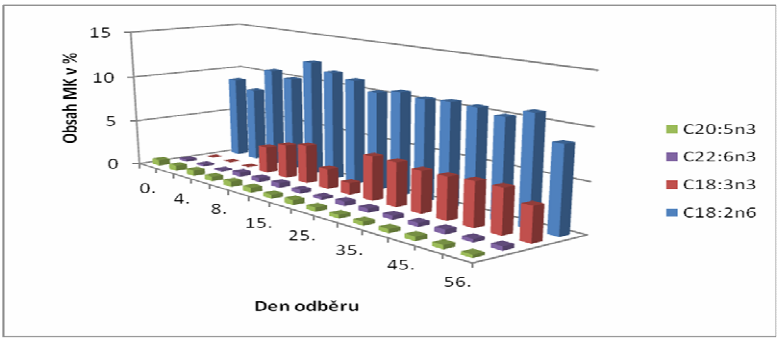
Graf. 3a Zastoupení polynenasycených mastných kyselin v tuku křepelčích vajec u skupiny s 0% přídavkem šalvěje španělské v krmivu v průběhu 56 dní



Graf. 3b Zastoupení polynenasycených mastných kyselin v tuku křepelčích vajec u skupiny s 5% přídavkem šalvěje španělské v krmivu v průběhu 56 dní



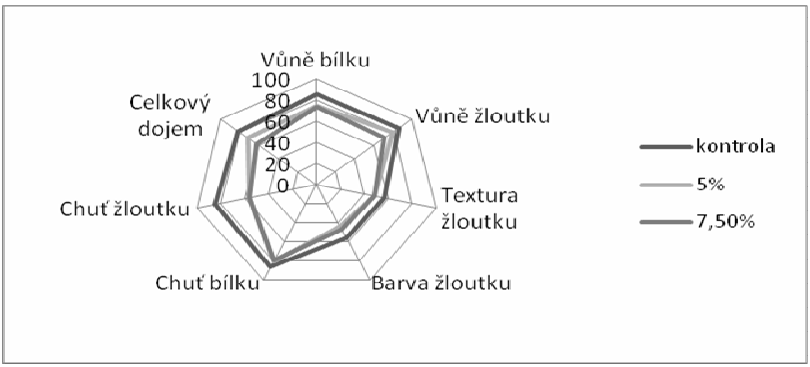
Graf. 3c Zastoupení polynenasycených mastných kyselin v tuku křepelčích vajec u skupiny s 7,5% přídavkem šalvěje španělské v krmivu v průběhu 56 dní



Palmitová kyselina je u kontrolní skupiny průkazně vyšší než u skupiny s přídavkem 5% šalvěje (P<0,05) a než u skupiny s přídavkem 7,5% šalvěje (P<0,01). Palmitoolejová kyselina je průkazně vyšší u přídavku 5% oproti skupině 7,5% (P<0,001) a stejná tendence byla pro stearovou kyselinu (P<0,001) (*Graf 1a-1c*). Statisticky průkazný rozdíl je registrován pro α-linolenovou a dokosahexaneovou kyselinu mezi kontrolní skupinou a skupinami s přídavkem (P<0,00001) (*Graf 3a-3c*) Navýšení polynenasycených mastných kyselin u skupin s přídavkem šalvěje mělo za následek vyšší hodnoty olejové kyseliny u kontrolní skupiny (P<0,0001) (*Graf 2a-2c*) Pro kyselinu myristovou a eikosapentaenovou nebylo srovnání mezi skupinami statisticky průkazné.

Porovnání ovlivnění kvantity MK v závislosti na čase očekávaně nevedlo u kontrolní skupiny ke změně. U skupiny s 5% přídavkem šalvěje časová závislost měla za následek průkazný pokles palmitoolejové kyseliny (P<0,05) a rovněž olejové kyseliny (P<0,01) (*Graf 2b)* Neočekávaným výsledkem byl pokles EPA (P<0,01) (*Graf 3b)* a nárůst stearové kyseliny (P<0,05) (*Graf 2a*). Potvrzením našeho předpokladu je průkazné navýšení linolové a α-linolenové kyseliny (P<0,00001) a dokosahexaenové kyseliny (P<0,001) (*Graf 3a-3c*). Hodnoty mastných kyselin naměřené u skupiny s 7,5% přídavku byly během trvání experimentu (56 dní) ovlivněny podobně jako u skupiny s 5% přídavkem. Průkazný pokles je zaznamenán u palmitové (P<0,05) (*Graf 1c),* palmitoolejové kyseliny (P<0,0001) a rovněž u olejové kyseliny (P<0,01) (*Graf 3c*). Nepředpokládaným výsledkem je pokles eikosapentaenové kyseliny (P<0,001) a navýšení stearové kyseliny (P<0,05) *(Graf 2c*). Vysoce průkazné je navýšení linolové, α-linolenové a dokosahexaenové kyseliny (P<0,0001) během celého průběhu experimentu, což tvoří jeho podstatu *(Graf 3c*).

Graf. 4 Senzorické parametry u křepelčích vajec hodnocené u kontrolní skupiny a skupin s 5% a 7,5% přídavkem šalvěje španělské



Ve všech parametrech byla nejvýše ohodnocená skupina kontrolní oproti skupině s 5% a 7,5% přídavkem šalvěje španělské. Obě skupiny s přídavkem měly podobné hodnocení. Vůně bílku poklesla oproti kontrolní skupině (85,5 bodů) u skupin s přídavkem 5% (74,5 bodů) a 7,5% (73,9

bodů). U chutě bílku nebylo toto ovlivnění tak významné (0%-85,7 bodů; 5%-80,5 bodů; 7,5%-79,5 bodů). V parametru vůně žloutku byla lépe hodnocená skupina s 5% přídavkem (79,1 bodů) než 7,5% skupina (70,8 bodů) a v barvě žloutku, kde měla zase vyšší hodnocení skupina (47,3 bodů) s 7,5% přídavkem oproti skupině s 5% přídavkem (43,6 bodů). Nejníže je v porovnáním s kontrolní skupinou (84,7 bodů) hodnocen parametr chuť žloutku u skupiny s 5% přídavkem (56,3 bodů) a u skupiny s 7,5% přídavkem (55,8 bodů). V celkovém dojmu byla nejlépe ohodnocena kontrolní skupina (80,8 bodů), následovala skupina s 5% přídavkem (71,2 bodů) a skupina s 7,5% měla (62 bodů). Vyšší obsah α-linolenové kyseliny se ze senzorického hlediska u skupin s přídavkem projevil hlavně zhoršením chuti žloutku, u které hodnotitelé popsali mírnou pachuť po rybině a jemně nahořklou chuť. Textura žloutku byla popsána u těchto skupin jako spíše mazlavá než drobivá. Statistické vyhodnocení bylo provedeno na základě Duncanova testu. Statisticky průkazný rozdíl byl zaznamenán mezi kontrolní skupinou skupinami s přídavkem, mezi skupinou s 5% přídavkem a 7,5% přídavkem statisticky průkazný rozdíl nebyl u žádného deskriptoru. Statisticky neprůkazné rozdíly se projevily u textury žloutku a v chuti bílku (*Graf 4*).

Semena šalvěje španělské se kvůli svému vysokému obsahu α-linolenové kyseliny využívají pro experimentální ovlivnění množství a zastoupení složek potravin, převážně pro zvýšení obsahu polynenasycených mastných kyselin a snížení LDL cholesterolu. Ve studii Peiretti a Gai (*2008)* bylo úkolem zaznamenání změn obsahu nenasycených mastných kyselin v závislost na vegetačních stádiích rostliny a jejich následné srovnání s výsledky jiných studií. Období bylo rozděleno na pět fází, od sadby až po sklizeň. Vývoj rostliny úzce souvisí s jejím stárnutím. Největší obsah α-linolenové kyseliny je na začátku vegetace a následně již klesá oproti ostatním mastným kyselinám, které v průběhu vegetace zvyšují svůj obsah. Závěrem bylo zjištěno, že nejlepší výživovou hodnotu má rostlina v období krátce před sklizní v celkovém zastoupení mastných kyselin. Ve studii Ayerza a Coates (*1998*) zkoumali vliv zkrmování šalvěje španělské na slepičí vejce a cholesterol. Tento experiment trval po dobu 4 týdnů pro kontrolní skupinu a skupinu s krmivem o obsahu 30% šalvěje. Celkově došlo k prokazatelnému zlepšení poměru nasycených a nenasycených MK, snížení obsahu nasycených mastných kyselin a zvýšení nenasycených mastných kyselin, např. pro α-linolenovou kyselinu to byl nárůst z 0% obsahu až na 12,72%. Předpokládané snížení obsahu cholesterolu ve žloutku nebylo prokázáno po dobu pokusu. Senzorická analýza neobjevila žádné změny v ovlivnění chuti. V našem případě byla změna v chuti až nepříjemné pachuti v pokusu zaznamenána, což je pravděpodobně dáno druhovou specifičností křepelčích vajec. V následné studii Ayerza a Cotes (*2000*) sledovali vliv 450 nosnic v bílé a hnědé barvě na krmivo obsahující 7, 14, 21 a 28% šalvěje španělské na obsah cholesterolu, tuku a mastných kyselin ve žloutku vajec po dobu 90 dní. Snížení obsahu cholesterolu bylo prokazatelně u skupin s 14, 21 a 28% šalvěje. Celkový obsah lipidů narůstal od kontrolní skupiny (7% lipidů) až po skupinu s přídavkem 28% šalvěje (13%) a rovněž i obsah α-linolenové kyseliny od 0,07% u kontrolní skupiny až po 5,78 % u skupiny s 28% přídavkem. Celkově můžeme říci, že nastalo prokazatelné navýšení α-linolenové kyseliny a celkově nenasycených mastných kyselin. Mírně vyšší tendence byla analyzovaná u bílých nosnic. Ayerza a Cotaes (*2002*) ve studiích pokračovali testováním změny obsahu cholesterolu, tuku, mastných kyselin a senzorických parametrů u slepic

Ross 308, které byly krmeny 10 a 20% obsahu šalvěje v krmivu. Experiment probíhal po dobu 49 dní a testovanými vzorky byla světlá (prsní) a tmavá (stehenní) svalovina slepice. U skupiny s 10% přídavkem šalvěje ve tmavé svalovině bylo prokazatelně nižší obsah tuku než u skupiny kontrolní. Celkově nižší je obsah je ve svalovině prsní oproti svalovině stehenní. Nižší obsah nasycených mastných kyselin byl detekován u obou skupin přídavkem šalvěje oproti skupině kontrolní. Stehenní svalovina brojlerů obsahovala větší procentuální zastoupení nenasycených mastných kyselin než prsní svalovina. Senzorická analýza neprokázala průkazné ovlivnění chuti ve skupinách s přídavkem šalvěje.

ZÁVĚR

Z výše uvedených hodnot můžeme celkově shrnout, že během experimentu kontrolní vzorky obsahovaly procentuálně vyšší zastoupení nasycených mastných kyselin než skupiny s přídavkem šalvěje ($P<0,05$), kde se klesající tendence projevila u kyseliny palmitové. Ovlivnění zastoupení nasycených mastných kyselin v závislosti na trvání experimentu nebylo statisticky průkazné u žádné ze skupin. Mononenasycené mastné kyseliny, tj palmitoolejová a olejová kyselina, měly vyšší zastoupení u kontrolní skupiny na rozdíl od skupin s přídavkem ($P<0,00001$). Tento pokles byl způsoben navýšením polynenasycených mastných kyselin. V závislosti na čase můžeme konstatovat, že mononenasycené kyseliny si drží klesající tendenci u skupin s přídavkem 5% ($P<0,001$) i pro skupinu s přídavkem 7,5% šalvěje ($P<0,0001$). Hlavním předpokladem naší práce bylo navýšení polynenasycených kyselin v křepelčích vejcích, což bylo potvrzeno jejich statisticky vysoce průkazným navýšením u obou skupin ($P<0,0001$). Jejich mírně rostoucí tendence byla zaznamenána během celého experimentu pro skupinu s 5% přídavkem ($P<0,00001$) a i pro skupinu s 7,5% přídavkem šalvěje ($P<0,001$). Potvrzeným faktem je, že kontrolní skupina neměla časovou závislostí ovlivněné zastoupení mastných kyselin.

Celkovým shrnutím našich výsledků s výsledky uvedených článků jsme dospěli k podobným závěrům. Nasycené mastné kyseliny měly klesající tendenci na rozdíl od polynenasycených mastných kyselin, které navýšily svůj obsah a to především kyselina αlinolenová. Senzorické parametry u křepelčích vajec vykazovaly oproti slepičím vejcím a masu změny v chuti a vůni.

LITERATURA

AYERZA, R.; COATES, W.: An w-3 fatty acid enriched chia diet: Influence on egg fatty

acid composition, cholesterol and oil content, Bioresources Research Facilit, The University of Arizona, Tucson, Arizona 1998, 6 stran.

AYERZA, R; COATES, W.: An w-3 fatty acid enriched chia diet: Influence on egg fatty acid composition, cholesterol and oil content, Poultry Science 79:724–739, 2000, 16 stran.

AYERZA, R.; COATES, W..; LAURIA, M.: Chia Seed (*Salvia hispanica* L.) as an *ω*-3 Fatty Acid Source for Broilers: Influence on Fatty Acid Composition, Cholesterol and Fat Content of White and Dark Meats, Growth Performance, and Sensory Characteristics; Poultry Science 81:826–837, 2002, 12 stran.

KOMPRDA, T.: Výživa člověka, skripta MZLU, 2007, Brno, 162 stran.

PEIRETTI, P.G.; GAI, F.: Fatty acid and nutritive quality of chia (Salvia hispanica L.) seeds and plat during growth, Institute of Science sof Food Production, National Researh Council, Italy, 2007, Animal Feed Science and Technology, 149 (2008) 267-275, 9 stran.

ROZÍKOVÁ, V.: Plynová chromatografie esterů mastných kyselin ve vybraných druzích potravin, AF Mendelu, 2010, Diplomová práce, 83 s.

ÚŘEDNÍ VĚSTNÍK EVROPSKÉ UNIE: L 294/14, 11.111. 2009, 3 strany.

COMPARISON OF CHEMICAL ANALYSIS OF „OLOMOUCKÉ TVARŮŽKY“ ACCORDING TO THEIR LOCATION DURING THE PROCESS OF RIPENING

Strnadová D., Konečná H., Šustová K.

Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xkrupkov@mendelu.cz

ABSTRACT

Olomoucké tvarůžky is skim, under the smear ripening, sour cheese which is produced from industrial curd. *Brevibacterium linens*, which are added during the production process, are reproducing and make gold-yellow smear cover. Experiment was based on observing of changes in chemical structure influenced by different location in a ripening cellar. PH of the cheese extract, SH, dry matter and concentration of salt were determined by chemical methods. Examination of results found out that in spring season the location of stand inside the ripening cellar do not have any influence to the process of ripening and chemical structure. In summer season, statistically evidential differences were found out. As the results, temperature in ripening cellar should be regularly supervised and also the process of ripening of Olomoucké tvarůžky during summer season should be inspected.

Key words: cheese, ripening, chemical

Acknowledgement: This project was made with support of Internal Grant Agency of The Faculty of Agronomy Mendel University, TP 10/2010.

ÚVOD

Jediným sýrem historicky domácího původu, který se dodnes jako jediný udržel a průmyslově se vyrábí, jsou Olomoucké tvarůžky. Nejstarší zprávy je uvádějí jako běžné jídlo, jak Kuxova zmínka z roku 1452, tak soupis pozůstalosti z Olomouce z roku 1583, kde se poprvé objevuje pojmenování tvarůžky. http://www.tvaruzky.cz/

Pravé Olomoucké tvarůžky jsou odtučněný měkký, pod mazem zrající sýr z netučného kyselého tvarohu. http://www.mu-lostice.cz/olomoucke-tvaruzky

Během výrobního procesu se rozmnožují bakterie *Brevibacterium linens*, přidávané do nasoleného tvarohu na začátku výroby. Tvarůžky mají povrch se zlatožlutým mazem a patrné světlejší jádro. Tvarůžky jsou speciální potravinou, která získává ideální, pro tvarůžky charakteristické vlastnosti, kterými jsou pikantní chuť a typická vůně, až po určité době zrání.

MATERIÁL A METODIKA

Pokus byl založen na sledování změn v chemickém složení Olomouckých tvarůžků při jejich rozdílném umístění ve zracím sklepu. Ve zracím sklepu se tvarůžky umísťují na zrací stojany, které jsou různě vzdálené od vstupních dveří. Posuzovány pak byly vzorky tvarůžků ze stojanu umístěného nejdále od dveří (stojan 2) s tvarůžky ze stojanu umístěného přímo u dveří (stojan 1). Cílem bylo zjistit, zda výměna vzduchu probíhající u vstupních dveří, a tedy u prvního stojanu s olomouckými tvarůžky, může mít vliv na průběh jejich zrání. Vzorky olomouckých tvarůžků byly ve výrobní fázi po sušení a odvětrávání a dále pak na konci výrobního procesu připravené k balení a expedici. Z každého stojanu byly odebrány 3 vzorky a každý z těchto vzorků byl stanoven ve dvou opakováních. Z výsledků pak byl udělán průměr. Vzorky byly odebrány v průběhu jarního a letního období a dle ČSN 57 0107 u nich byly stanoveny následující parametry: sušina, titrační kyselost, aktivní kyselost a obsah chloridu sodného. Vzorky byly vždy předem nastrouhané a důkladně homogenizované.

Pro statistické vyhodnocení byl použit program UNISTAT 5.1. analýza variance s mnohonásobným porovnáním. Byl proveden Tukeyův test. Hladiny významnosti byly vyznačeny do příslušných tabulek.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Cílem práce bylo zjistit, zda existuje statisticky průkazný rozdíl v chemických parametrech olomoucký tvarůžků umístěných na stojanu u dveří (stojan 1), oproti stojanu umístěnému nejdále od dveří (stojan 2), ve zrací místnosti. Posuzovány byly rozdíly ve výrobní fázi po sušení a odvětrávání (Tab. 1 a 3) a dále ve fázi po ukončení výrobního procesu, připravené k balení

a expedici (Tab. 2 a 4). Byly hodnoceny jednotlivě tvary koleček a tvary tyčinek a dále pak jarní (Tab. 1 a 2) a letní (Tab. 2 a 3) tvarůžky.

Tab. 1 Vzorky olomouckých tvarůžků ve výrobní fázi po sušení a odvětrávání v jarním období

	Kolečka				Tyčinky			
	pH	SH	NaCl (%)	Sušina (%)	pH	SH	NaCl (%)	Sušina (%)
Stojan 1	5,51	92,90	5,50	38,0158	5,59	81,84	5,75	37,45
Stojan 2	5,55	85,47	5,49	38,3803	5,61	81,51	5,86	37,13
Významnost	0,4309	0,0698	0,8105	0,6566	0,9173	0,9608	0,0576	0,3549
průkaznost	SN	SN	SN	SN	SN	SN	SN	SN

Pozn. SN … neexistuje statisticky průkazný rozdíl (P>0,05)

Tab. 2 Vzorky olomouckých tvarůžků na konci výrobního procesu připravené k balení a expedici v jarním období

	Kolečka				Tyčinky			
	pH	SH	NaCl (%)	Sušina (%)	pH	SH	NaCl (%)	Sušina (%)
Stojan 1	6,23	69,40	5,91	37,5080	6,05	57,25	5,90	37,29
Stojan 2	6,21	73,42	5,91	37,1139	6,08	58,74	5,91	38,41
Významnost	0,7449	0,2966	1,0000	0,4634	0,5145	0,5559	0,9387	0,1656
průkaznost	SN	SN	SN	SN	SN	SN	SN	SN

Pozn. SN … neexistuje statisticky průkazný rozdíl (P>0,05)

Tab. 3 Vzorky olomouckých tvarůžků ve výrobní fázi po sušení a odvětrávání v letním období

	Kolečka				Tyčinky			
	pH	SH	NaCl (%)	Sušina (%)	pH	SH	NaCl (%)	Sušina (%)
Stojan 1	5,54	75,49	4,98	37,66	5,71	73,38	4,99	36,53
Stojan 2	5,61	77,94	4,99	37,66	5,72	74,03	5,1	36,81
Významnost	0,1686	0,4094	0,9928	0,9989	0,8522	0,8279	0,0453	0,5784
průkaznost	SN	SN	SN	SN	SN	SN	*	SN

Pozn. SN … neexistuje statisticky průkazný rozdíl (P>0,05)

* … existuje statisticky průkazný rozdíl (P<0,05)

Tab. 4 Vzorky olomouckých tvarůžků na konci výrobního procesu připravené k balení a expedici v letním období

	Kolečka				Tyčinky			
	pH	SH	NaCl (%)	Sušina (%)	pH	SH	NaCl (%)	Sušina (%)
Stojan 1	6,05	58,21	5,23	36,82	6,21	50,38	5,09	35,73
Stojan 2	6,00	68,32	4,96	37,67	6,12	52,82	5,14	36,26
Významnost	0,0792	0,0014	0,1404	0,1251	0,3783	0,4478	0,4586	0,4389
průkaznost	SN	**	SN	SN	SN	SN	SN	SN

Pozn. SN … neexistuje statisticky průkazný rozdíl (P>0,05)

** … existuje vysoce statisticky průkazný rozdíl (P<0,01)

Z výsledků vyplývá, že u vzorků Olomouckých tvarůžků ve tvaru koleček, stejně jako ve tvaru tyčinek v jarním období, neexistuje žádný statisticky průkazný rozdíl ve všech sledovaných parametrech. Můžeme tedy říct, že v jarním období vstupování do místnosti nemá žádný vliv na průběh zrání Olomouckých tvarůžků umístěných na stojanu u dveří, ve srovnání s tvarůžky na stojanu dále od dveří. V jarním období tvarůžky zrají ve stejných teplotních podmínkách ve všech částech zrací místnosti.

Při statistickém porovnání zrání Olomouckých tvarůžků v letním období se vyskytly dva průkazné rozdíly. Statisticky průkazný rozdíl v obsahu soli u tvarůžků ve tvaru tyčinek, ve fázi po sušení a odvětrávání a vysoce statisticky průkazný rozdíl u hodnoty titrační kyselosti SH u tvaru koleček, ve fázi po dokončení výrobního procesu, připravené k balení a zrání.

Hodnota kyselosti tvarůžků se během výrobního procesu značně mění, má klesající tendenci a to u obou tvarů. Během sušení a odvětrávání titrační kyselost klesá, což je podle GÖRNER, VALÍK (2004) způsobeno pomnožením oxidačních kvasinek rodu Torulopsis a Candida. Tyto kvasinky za pomoci vzdušného kyslíku zoxidují nadbytečnou kyselinu mléčnou na CO_2 a H_2O. Toto potvrzuje i OLŠANSKÝ (1958), který rovněž udává, že působením oxidační mikroflóry dochází k poklesu titrační kyselosti. Hodnota titrační kyselosti na konci výrobního procesu byla na stojanu 1 statisticky vysoce průkazně nižší, než hodnota titrační kyselosti na stojanu 2. V tomto případě rozdíl může být způsoben změnou teplot, které se pohybují ve zracím sklepu v rozmezí 15-20 °C. V letním období, kdy jsou venkovní teploty značně vyšší, než teplota ve zracím sklepě může dojít k změně teploty v blízkosti dveří a tím ke změně průběhu zrání. Při porovnání titrační kyselosti v této výrobní fázi s tvarůžky z jarního období je zřejmé, že stojan 1 z letního období vykazuje nižší hodnoty titrační kyselosti, než ostatní stojany z jarního i letního období. Snížení titrační kyselosti je však typické pro další skladování v chladničkových teplotách, proto je pravděpodobné, že u stojanu v blízkosti dveří docházelo spíše ke snížení zrací teploty. Stojan dál od dveří měl v létě vyšší teplotu, nedocházelo u něj k ochlazení tak jako u dveří.

Sůl se přidává do tvarohu, před vlastní výrobou tvarůžků, a dále se již během výrobního procesu nepřidává. Průmyslový tvaroh se uchovává několik týdnů nasolený 3 – 5 % soli, přičemž podléhá určitému zrání (NEDOMOVÁ a CWIKOVÁ, 2006). U statisticky průkazného rozdílu v hodnotě obsahu soli bych tento výsledek přikládala spíše chybou měření, nežli vlivem změny teplot zrání. Stanovení soli argentometrickou titrací má svoji chybu měření. Statisticky průkazný rozdíl zřejmě bude vlivem této chyby.

ZÁVĚR

Posouzením výsledků chemického složení olomouckých tvarůžků bylo zjištěno, že v jarním období nemá vliv umístění stojanů ve zracím sklepě na průběh zrání a chemické složení tvarůžků. V letním období zde byly statisticky průkazné rozdíly v hodnotách obsahu soli a v hodnotě titrační kyselosti. V celkovém pohledu na statistické významnosti je taktéž zřejmé, že se hodnoty v letním období liší více, nežli hodnoty v jarním období. Během letního období by bylo vhodné zabránit průvanu ve zrací místnosti a tím zajistit stabilní teplotu ve zracím sklepě a pravidelně sledovat průběh zrání Olomouckých tvarůžků.

LITERATURA

GÖRNER, F., VALÍK L´. (2004): Aplikovaná mikrobiológia poživatin. Bratislava, Malé centrum

NEDOMOVÁ, Š., CWIKOVÁ, O. (2006): Změny senzorických a texturních vlastností olomouckých tvarůžků v průběhu zrání

OLŠANSKÝ, Č. a kol. (1958): Výzkum výroby olomouckých tvarůžků, IV. část. Kroměříž

JŮZL, M., BUBENÍČKOVÁ, A., KOZELKOVÁ, M., KONEČNÁ, H., KRUPKOVÁ, D. (2010): Jakostní parametry Olomouckých tvarůžků v jednotlivých fázích výroby. In III. Vedecka konferencia: Stretnutie mladych vedeckych pracovnikov v potravinarstve. 1. vyd. Bratislava: STU Bratislava, s 40. ISBN 978-80-227-3411-0

http://www.tvaruzky.cz/

http://www.mu-lostice.cz/olomoucke-tvaruzky

Section – Plant Biology

PROTEOME AND PHOSPHOPROTEOME ANALYSIS OF BUTENOLIDE ARABIDOPSIS THALIANA TREATED PLANTS

Baldrianová J.[1], Jedelský P.[2], Brzobohatý B.[1,3]

[1] Department of Molecular Biology and Radiobiology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

[2] Department of Cell Biology, Faculty of Science, Charles University in Prague, Viničná 7, 128 44 Praha 2, Czech Republic

[3] Institute of Biophysics AS CR, v.v.i. and Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: baldrianova@ibp.cz

ABSTRACT

Butenolide/karrikins constitute a chemically defined family of plant growth regulators. They were first discovered in 2003 in smoke from wildfires (Flematti et al. 2004 and Van Staden et al. 2004). Wildfire smoke can positively affect germination and post-germination stage(s) resulting in increased seedling vigour (Soós et al. 2009). To date, six members of butenolide/karrikin family have been found in smoke, KAR_1 and its five naturally occurring analogues (KAR_1–KAR_6), (Flematti et al. 2009). Smoke stimulates germination of numerous plant species including *Arabidopsis thaliana*. In this work we decided to use *A. thaliana* plants treated with butenolide to analyse changes on the protein and phosphoprotein levels. We employed total protein TCA-acetone precipitation for total protein extraction (Méchin et al. 2006) and the PhosphoProtein Purification Kit (QIAGEN) was used to obtain phosphoproteins. We then employed 2D electrophoresis using SDS polyacrylamide gels and gel image analysis (Decodon delta 2D) to analyse protein expression changes. Chosen spots with significant changes underwent in-gel tryptic digestion and identification by MALDI-TOF/TOF MS and MASCOT peptide mass fingerprint search. We identified 32 spots with changed protein expression from phosphoproteome analysis and 42 spots from total proteome analysis. Our work was focused on investigation of responses to butenolide on expression of phosphoproteins and total proteins in *Arabidopsis thaliana.* Our aim is to reveal the possible target(s) of butenolide action and further to understand the mechanism(s) of its action.

Key words: butenolide, proteome, phosphoproteome, *Arabidopsis thaliana*

YIELD AND QUALITY OF SPRING BARLEY IN RELATION TO ROOT SYSTEM SIZE

Klimešová J., Středa T., Hajzler 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: jana.klimesova@mendelu.cz

ABSTRACT

The work deals with statistic evaluation of the root system size of 19 barley varieties according to electrical capacity measurement in two locations with crops in 2009 and 2010. Statistically significant positive correlation between root system size (RSS) in the elongation phase and production (r = 0.610*) was ascertained in one of the locations in 2010. Relation between production and average RSS (r = 0.41) was discovered throughout the years and locations. RSS in both of the locations was compared to the qualitative parameters of the grain of the varieties grown in four official trials stations. Mostly, significant correlation between RSS and relative extract at 45 °C, and between RSS and the Kolbach Index was found in the heading phase. Between the RSS detected using digital image analysis and grain yield was found negative correlation (r = –0.88*) only in the locality Hrubčice in 2010. It was found significant relation between the RSS and qualitative characteristics at any location.

Key words: root system, barley, electric capacitance, image analysis, grain yield, quality

Acknowledgement: This work was supported by the grant project NAZV QI111C080

ÚVOD

Kořenový systém zajišťuje pro rostlinu příjem živin,vody a ukotvení v substrátu. Vývoj a struktura kořenů jsou významně ovlivněny genetickou dědičností (Bláha et Vyvadilová, 2010), a tudíž můžeme rozeznávat mezi rostlinami druhově i mezidruhově odlišné vlastnosti (délka a průměr kořenů, růstový potenciál, životnost) (Fitter, 2002). Při reakci na stres u obilnin z čeledi Poaceae včetně kukuřice je důležitá především schopnost změny morfologie kořenového systému, zvýšit hloubku jeho pronikání a vytvořit vhodný poměr mezi nadzemní a podzemní částí rostliny. V případě, že nedostatek vody trvá pouze po určitou část vegetace je velmi důležitá reverzibilní změna. Významná je také velikost a funkčnost kořenového systému během fáze plnění zrna (Bláha et Vyvadilová, 2010). Výběrem jedinců s vyhovujícími znaky kořenového systému pro další šlechtění je možné získat např. odrůdy odolné proti suchu

Příjem vody kořeny je závislý na hloubce pronikání kořenů, ale nenastává v nejhlubších vrstvách okamžitě, ale až za nedostatku vody ve svrchní části půdního profilu. Zároveň je příjem vody ovlivněn i rozdílnými agroklimatickými podmínkami, růstem a stářím kořenů (Gregory, 2006) Eshel et al. (2000) uvádějí, že efektivita příjmu vody je úměrně závislá na ploše a průměru kořenů. Obecně lze říci, že kořenový systém se stává hlubším, když se prostředí stává sušším (Schenk et Jackson, 2002). Podobně i s ubývajícími srážkami se mění poměr mezi nadzemní a podzemní částí rostlin ve prospěch kořenového systému u bylinných druhů (Gregory, 2006).

Velikost kořenového systému byla vybrána jako selekční kritérium pro výběr genotypů odolných proti suchu při šlechtění ječmene jarního (Chloupek et al., 2010). Možný vliv velikosti kořenového systému na odolnost rostlin vůči abiotickým stresům a využití této vlastnosti ve šlechtění byl nastíněn v práci de Dorlodot et al., (2007).

MATERIÁLY A METODIKA

Pokus s vybranými odrůdami ječmene jarního (*Hordeum vulgare*, L.) byl založen na dvou lokalitách Hrubčice a Želešice v roce 2009 a 2010. Bylo vybráno 19 odrůd ječmene. U odrůd byla ve třech růstových fázích zjišťována velikost kořenového systému (VKS) pomocí metody měření elektrické kapacity kořenového systému (Chloupek, 1977) Zároveň bylo vybráno 6 odrůd pro zhodnocení VKS pomocí analýzy obrazu. Byly hledány korelace mezi VKS a výnosem odrůd zjištěným na zkušebních stanicích Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského (ÚKZÚZ) a mezi VKS a jednotlivými kvalitativními parametry zrna a sladovnické jakosti. Hodnoty parametrů byly poskytnuty Výzkumným ústavem pivovarským a sladařským v Brně (VÚPS).

Měření elektrické kapacity

Pro hodnocení meziodrůdových rozdílů a vlivu VKS na výnos a kvalitu ječmene byla použita Metoda měření elektrické kapacity (Chloupek, 1977). Elektrická kapacita vzniká akumulací náboje v soustavě dvou izolovaných vodičů - desek (kondenzátor), kterou prochází střídavý elektrický proud. Desky v tomto případě tvoří povrch kořenů a půdní prostředí. Velikost náboje tzn. i kapacity je určována velikostí účinné plochy desek, vzdáleností mezi deskami (při zmenšování vzdálenosti se kapacita zvětšuje) a vlastnostmi prostředí (dielektrika), které izoluje obě desky. Kořenový systém projevuje nejvyšší funkční aktivitu především v laterálních kořenech. Předpokládá se, že kapacita je spíše mírou aktivního povrchu kořenů a tedy obecně rozměrů kořenové soustavy (Dalton, 1995).

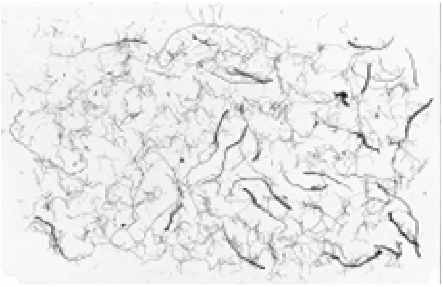
Elektrická kapacita kořenového systému byla měřena ve třech růstových fázích (sloupkování, metání, plnění zrn) v Želešicích v roce 2009 a v Hrubčicích v roce 2010. Pouze ve dvou fázích (sloupkování a plnění zrn) byla měřena v Hrubčicích v roce 2009 a v Želešicích v roce 2010. Elektrická kapacita [nF] byla měřena LCR metrem (Extech Instruments) při frekvenci 1 kHz. Jedna elektroda (kleště) byla umístěna na bázi stébla rostliny tak, aby byly spojeny všechny odnože, druhá elektroda byla asi v polovině sponu zasunuta do půdy (Obr. 1).

Obr. 1: Měření elektrické kapacity kořenového systému ve fázi sloupkování

Při měření elektrické kapacity jsou měřeny pouze živé části kořenů schopné polarizace membrán buněk procházejícím elektrickým proudem. Proto největší kapacitu mají mladé kořeny. Starší suberinizované kořeny vykazují větší vzdálenost mezi deskami, proto je naměřena menší kapacita. Vzhledem k závislosti měřených hodnot na půdní vlhkosti, stupni vývoje rostliny a umístění elektrod, byla kapacita měřena pouze mezi rostlinami na jedné lokalitě (stejné podmínky prostředí) a v jednom čase. Je také nutné dodržovat stejný způsob umístění elektrod. Naměřené hodnoty nejsou srovnatelné mezi lokalitami a mezi jednotlivými měřeními. Vlhkost půdního byla snímána automatickými elektromagnetickými čidly VIRRIB s dataloggerem v hodinovém kroku.

Digitální analýza obrazu

Vzorky půdy a kořenů byly odebírány soil – core metodou. Protože tato metoda je destruktivní, byl kořenový systém hodnocen až po fázi plnění zrn. Vzorek byl odebrán po odstranění nadzemní část rostliny přímo v místě růstu rostliny do hloubky 60 cm. Dílčí vzorky, byly co nejdříve zamrazeny při teplotě – 20 °C v polyetylenových sáčcích tak, aby nedošlo k nežádoucímu rozkladu kořenů. Po rozmrazení byl vzorek půdy ručně rozplaven pod tekoucí vodou nad soustavou sít o průměru ok 1,6 a 0,6 mm. Na sítech zachycené kořeny byly separovány od ostatního organického materiálu, mrtvých kořenů a kamínků a skladovány ve zkumavkách v roztoku vody a alkoholu. Při přípravě vzorku na skenování je nutné kořeny omýt vodou a následně barvit v roztoku methylenové modři po dobu 15 minut. Barvení se provádí z důvodu dosažení ostrého kontrastu mezi skenovanými kořeny a pozadím. Obarvené kořeny se propláchnou vodou, aby nedocházelo k zabarvení nádoby, ve které jsou skenovány. Připravené kořeny jsou rozprostřeny po ploše tácu ve vrstvě vody tak, aby se pokud možno nepřekrývaly (Obr. 2). Vzorek je následně naskenován pomocí skeneru Epson perfection 700 photo a analyzován programem WinRHIZO, verze Basic (Régent Instruments Inc., Quebec, Kanada). Analyzované kořeny byly následně vysušeny a zváženy.



Obr. 2: Vzorek kořenového systému odrůdy Aksamit z vrstvy 0 – 10 cm připravený na skenování

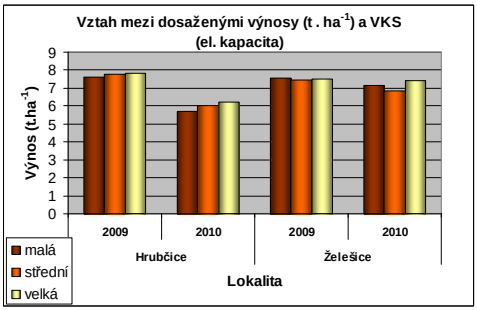
VÝSLEDKY A DISKUZE

Srovnání VKS zjištěné metodou měření elektrické kapacity s výnosy

V roce 2010 na lokalitě Hrubčice byla zjištěna vysoce průkazná pozitivní korelace mezi velikostí kořenového systému ve fázi sloupkování a výnosem (r = 0,610**). Zároveň byl zjištěn průkazný vztah mezi průměrnou VKS a výnosem (r = 0,461*). Avšak v roce 2009 nebyla korelace prokázána. V Želešicích se neprojevil vztah mezi výnosem a velikostí kořenového systému v žádné růstové fázi rostlin v žádném roce. Napříč lokalitami a ročníky byla nalezena souvislost mezi výnosem a průměrnou VKS (r = 0,41).

Hodnocené odrůdy byly rozděleny do třech skupin podle průměrné velikosti kořenového systému. Nebyla zjištěna průkazná korelace mezi VKS a výnosem. Na lokalitě Hrubčice v roce 2009 dosáhla skupina odrůd s nejmenší VKS nejnižšího výnosu (7,61 $t.ha^{-1}$) ve srovnání se skupinou odrůd se

střední (7,77 t.ha^{-1}) a velkou VKS (7,8 t.ha^{-1}). Obdobný trend byl prokázán na této lokalitě i v roce 2010. Na lokalitě Želešice se tento vztah neprojevil, ale v obou ročnících dosáhla nejmenšího výnosu skupina odrůd se středně velkým kořenovým systémem (Obr. 3).



Obr. 3*: Vztah mezi dosaženými výnosy (t . ha^{-1}) a VKS (el. kapacita)*

Srovnání VKS zjištěné metodou měření el. kapacity s ukazateli kvality

Hodnoty velikosti kořenového systému z obou lokalit byly srovnány s kvalitativními parametry pro dané odrůdy z pokusů ÚKZÚZ v roce 2010 na čtyřech zkušebních stanicích – Lednice, Chrlice, Čáslav, Vysoká. Hodnocena byla hmotnost tisíce semen, objemová hmotnost, podíl zrn na 2,5 mm a ukazatele sladovnické jakosti – bílkoviny v zrnu, relativní extrakt při 45 °C, extrakt v sušině sladu, Kolbachovo číslo, diastatická mohutnost, dosažitelný stupeň prokvašení, friabilita, β-glukany ve sladině, obsah bílkovin ve sladu, obsah dusíku ve sladu, glycidový extrakt, obsah škrobu v zrnu a výtěžnost v sušině. Zjištěné průkazné korelační koeficienty u jednotlivých vlastností a růstových fází zobrazuje Tab. 1 a Tab. 2.

Mezi kvalitativními parametry a velikostí kořenového systému byly nalezeny průkazné korelace na obou lokalitách ve všech růstových fázích. Ve fázi sloupkování na lokalitě Hrubčice VKS negativně korelovala v polovině případů s β – glukany, s obsahem škrobu v zrnu a s obsahem extraktu v sušině sladu. V dalších fázích se významněji projevil pouze obsah škrobu v zrnu při metání, který byl zaznamenán i u průměrných hodnot VKS. Napříč všemi zkušebními stanicemi se se zvětšující VKS na lokalitě Hrubčice ve fázi metání průkazně snižoval relativní extrakt při 45 °C a Kolbachovo číslo. Byla zjištěna i průkazná pozitivní souvislost s podílem zrn nad 2,5 mm. Fáze plnění zrn prokázala vliv především na kvalitu a množství bílkovin. Rostliny s větším kořenovým systémem měly průkazně vyšší obsah bílkovin v zrnu i ve sladu a diastatickou mohutnost. Při srovnání průměrné VKS ze všech tří fází se všemi parametry, byla ve třech případech prokázán záporný vztah s relativní extraktem při 45 °C, stejně jako tomu bylo ve fázi metání.

Při srovnání výsledků z Hrubčic s hodnotami kvality zrna se projevilo nejvíce korelací především se stanicí Lednice (16 případů korelace z 41 průkazných korelací u všech stanic), což je pravděpodobně dáno obdobnou úrodností půd a průběhem počasí. Hodnoty naměřené v Chrlicích

korelovaly především ve fázích sloupkování a metání; v Čáslavi ve fázích metání a plnění zrn. Parametry zjištěné na stanici Vysoká projevily vztah pouze v šesti případech.

Tab. 1*: Srovnání kvalitativních parametrů s VKS odrůd na lokalitě Hrubčice (2010)*

Růstová fáze	Kvalitativní parametr	Lednice	Chrlice	Čáslav	Vysoká
sloupkování	relativní extrakt při 45 °C	-0,464*			
	β – glukany	-0,498*	-0,740*		
	škrob v zrnu	-0,615*	-0,483*		
	podíl zrn nad 2,5 mm				0,516*
	extrakt v sušině sladu		-0,469*	-	
metání	relativní extrakt při 45 °C	-0,586*	-0,494*	-	-0,483*
	β – glukany	0,643*			
	škrob v zrnu	-0,679*	-0,720*		
	Kolbachovo číslo	-0,776*	-0,528*	-	-0,560*
	Friabilita	-0,709*			
	podíl zrn nad 2,5 mm		0,463*		0,548*
	objemová hmotnost			0,536*	
plnění zrn	obsah bílkovin v zrnu	0,505*		0,531*	
	diastatická mohutnost	0,508*	0,526*		
	obsah bílkovin v sladu	0,595*		0,527*	
	obsah dusíku v sušině sladu			0,541*	
průměrná kapacita	relativní extrakt při 45 °C	-0,527*	-0,472*		-0,483*
	Kolbachovo číslo	-0,600*			
	friabilita	-0,492*			
	β – glukany	0,525*			
	škrob v zrnu	-0,681*	-0,649*		
	podíl nad 2,5 mm				0,611*
	extrakt v sušině			-	

Tab. 2*: Srovnání kvalitativních parametrů s VKS odrůd na lokalitě Želešice (2010)*

Růstová fáze	Kvalitativní	Lednice	Chrlice	Čáslav	Vysoká
sloupkování	obsah škrobu v zrnu	-0,534*	-0,467*		0,536*
	podíl zrn nad 2,5 mm			0,488*	
plnění zrn	obsah škrobu v zrnu				0,520*
průměrná kapacita	obsah škrobu v zrnu	-0,507*			
	podíl zrn nad 2,5 mm			0,462*	0,544*

Na lokalitě Želešice se projevily průkazné korelace pouze mezi VKS a obsahem škrobu. Ve třech případech měly rostliny s větším kořenovým systémem ve fázi sloupkování menší obsah škrobu v zrnu. Tato souvislost se projevila i ve fázi plnění zrn a u průměrné VKS, ale již pouze u jedné lokality. Dále byla zjištěn pozitivní vztah mezi podílem zrn nad 2,5 mm a průměrnou VKS v polovině případů. Při porovnávání VKS na lokalitě Želešice s výsledky ze zkušebních stanic bylo nejvíce korelací zjištěno u stanice Vysoká, ačkoliv se od sebe obě stanoviště liší výrazně nadmořskou výškou, dlouhodobými průměrnými srážkami, teplotou i půdním typem. Naopak u stanice Chrlice, která má srovnatelné podmínky se Želešicemi byl nalezen pouze jediný případ průkazné korelace.

Variabilita vztahů mezi kvalitativními parametry a velikostí kořenového systému je ovlivněna genotypem rostliny, podmínkami prostředí a interakcemi mezi nimi. Vzhledem ke značné různorodosti zjištěných dat je nutné pro potvrzení možných korelací hodnotit víceleté výsledky.

Srovnání VKS zjištěné metodou digitální analýzy obrazu s výnosy (2010)

Tab.3: Srovnání VKS zjištěné metodou digitální analýzy obrazu s výnosy zrna (2010)

Lokalita	**Hrubčice**		**Želešice**	
Odrůda	**VKS**	**Výnos zrna**	**VKS**	**Výnos zrna**
Blaník	17,18	5,5	17,08	7,1
Aksamit	15,73	5,9	13,69	6,1
Prestige	12,69	5,8	10,92	6,8
Bojos	11,50	6,2	10,29	6,8
Radegast	11,22	6,4	9,99	7,1
Aktiv	10,55	6,3	6,50	6,9

Hodnoty velikosti kořenového systému zjištěné metodou digitální analýzy obrazu u rostlin z lokality Hrubčice vykazovaly průkaznou zápornou korelaci (r = -0,88*) s výnosy jednotlivých odrůd. Tedy, že se zvětšujícím se kořenovým systémem klesá úroveň výnosů. Tyto výsledky potvrzují i pokusy s pšenicí. Kdy rozsáhlý kořenový systém rostlin pěstovaných na stanovišti s optimálními vláhovými i nutričními podmínkami snižoval výnos zrna (Manske et Vlek, 2002). Na lokalitě Želešice nebyl nalezen vztah mezi VKS a výnosy zrna (r = -0,1). Taktéž při srovnání VKS a kvalitativních parametrů nebylo dosaženo statisticky průkazných hodnot na žádné lokalitě.

ZÁVĚR

Měření velikosti kořenového systému (VKS) vybraných odrůd ječmene jarního bylo provedeno pomocí metody měření elektrické kapacity kořenového systému a digitální analýzy obrazu. Větší kořenový systém byl faktorem výnosu obilnin. Zároveň se předpokládá pozitivní vliv VKS na výnos plodin za vláhově nepříznivých podmínek a nízkých vstupů minerálních hnojiv a prostředků na ochranu rostlin . Při měření VKS na dvou lokalitách – Hrubčice a Želešice ve dvou ročnících – 2009 a 2010 u devatenácti odrůd ječmene byla zjištěna vysoce průkazná pozitivní korelace mezi

VKS ve fázi sloupkování a výnosem (r = 0,610**) a průkazný vztah mezi průměrnou VKS a výnosem (r = 0,461*) na lokalitě Hrubčice v roce 2010. Napříč lokalitami a ročníky byla zaznamenána souvislost mezi výnosem a průměrnou VKS (r = 0,41). Je tedy statisticky prokázáno, že velikost kořenového systému se podílí na tvorbě výnosu. Rostliny s větší VKS by měly dosahovat vyšších výnosů zrna. Avšak VKS vybraných odrůd zjištěná metodou digitální analýzy obrazu ve srovnání s dosaženými výnosy (r = -0,88*) poukazuje na náročnost udržování rozsáhlého kořenového systému rostlinou v optimálních agroklimatických podmínkách. Rostliny s větším kořenovým systémem tak dosáhly nižších výnosů. Zároveň byla hodnocena velikost kořenového systému z obou lokalit v roce 2010 ve vztahu ke kvalitativním parametrům sladovnického ječmene zjišťovaným na čtyřech zkušebních stanicích ÚKZÚZ. Průkazné pozitivní i negativní korelace byly nalezeny napříč růstovými fázemi rostlin i zkušebními stanicemi. Nejčastěji se shoda projevila u ukazatelů, jako například relativní extrakt při 45 °C, Kolbachovo číslo a obsah škrobu v zrnu. Dané výsledky ovšem nevykazují statisticky průkazný trend, dle kterého by bylo možné učinit závěry, je však patrný vztah mezi VKS, výnosem a kvalitou produkce ječmene.

LITERATURA

Bláha, L., Vyvadilová, M.: Současné možnosti využití hodnocení kořenového systému při pěstování a šlechtění rostlin. 2010, s. 276 – 296. In: Bláha, L., Hnilička, F., Martinková, J. (ed): *Současné možnosti fyziologie a zemědělského výzkumu přispět k produkci rostlin (vybrané kapitoly).* Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha, 307 s.

Dalton, F. N.: In-situ root extent measurements by electrical capacitance methods, *Plant and Soil*. 1995, Vol. 173, p. 157 – 165.

De Dorlodot, S., Forster, B., Pages, L., Price, A., Tuberosa, R. Draye, X.: Root system architecture: opporutinites and constrains for genetic improvement of crops. *Trends in Plant Science*, 2007, vol. 12, p. 474 – 481.

Eshel, A., Waisel, Y.: Multiform and multifunction of various constituents of one root system, 1996, p. 175 - 192 In: Waisel, Y., Eshel, A., Kafkafi, U.(eds): *Plant Roots: The Hidden Half*. 2nd ed., Marcel Dekker, Inc., New YorkFitter, A.: Charakteristics and functions of root systems. 2002, s. 15 – 32 In: Waisel, Y., Eshel, A., Kafkafi, U. (ed.) : *Plant roots: The hidden half*. Marcel Dekker Inc., New York, 1120

Gregory, P.: *Plant roots, growth, activity and interaction with soils*. 2006, Blackwell Publishing, Oxford, 318 s.

Chloupek, O.: Evaluation of the size of a plant's root system using its electrical capacitance, *Plant and Soil*. 1977, Vol. 48, p. 525 – 532.

Chloupek, O., Dostál, V., Středa, T., Psota, V., Dvořáčková, O.: Drought tolerance of barley varietes in relation to their root system size, *Plant Breeding*. 2010, Vol. 129, p. 630 – 636.

Manske, G. B., Vlek, P. L. G.: Root Architecture – Wheat as a Model Plant, 2002, p. 249 – 260, In: Waisel, Y., Eshel, A., Kafkafi, U. (ed.) : *Plant roots: The hidden half*. Marcel Dekker Inc., New York, 1120 s.

Schenk, H. J., Jackson, R. B.:The global biogeography of roots. *Ecological Monographs.* 2002, Vol. 72, p. 311–328.

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF PEA SEED-BORNE MOSAIC VIRUS (PSBMV) RESISTANCE GENE

Konečná E.[1], Hanáček P.[1], Smýkal P.[2]

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

[2] Department of Plant Biotechnology, AGRITEC Plant Research Ltd., Zemědělská 2520/16, 787 01 Šumperk, Czech Republic

E-mail: eva.konecna@mendelu.cz

ABSTRACT

In recent years, biotechnology has permitted regulation of the expression of endogenous plant genes to improve agronomically important traits. Genetic modification of crops has benefited from emerging knowledge of new genes, especially genes that exhibit novel functions. Pea seed-borne mosaic virus (PSbMV), a member of the genus *Potyvirus*, family *Potyviridae*, is currently one of the most frequent viral pathogen causes yield losses of legumes. Beside aphid vectors, PSbMV is transmitted by infected seed batches. These losses can be easily prevented by growing resistant cultivars. In pea (*Pisum sativum*), recessive resistance genes to several potyviruses have been mapped genetically to linkage groups II and VI. Resistance to the common strains of PSbMV is conferred by a single recessive gene *eIF4E*, localized on linkage group VI (*sbm-1* locus). Homologues *eIF4E(iso)* gene was found in close relation to *sbm- 2* locus (on linkage group II). Eukaryotic translation initiation factor 4E (*eIF4E*) and its isoform *eIF4E(iso)* play a key role during virus infection in plants. The *eIF4E(iso)* genes from several pea lines were isolated and sequenced. Full genomic fragments of *eIF4E(iso)* were obtained and protein sequences were deduced. Mutations of *eIF4E(iso)* between resistant and susceptible genotypes have been identified but are not yet functionally assigned. Selected genotypes are currently tested by L1 (P2) PSbMV pathotype. Using the RACE method, sequences of 3´and 5´UTR regions, were obtained and used for specific primers design to detect any differences between resistant and susceptible genotypes. Quantitative expression analysis is conducted for both genes.

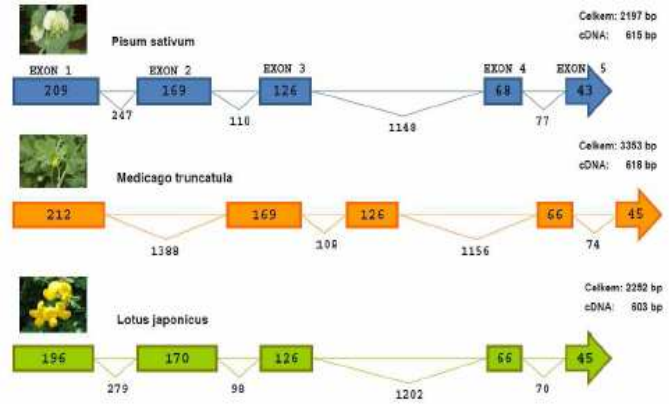
Key words: Pea seed-borne mosaic virus, resistance, *eIF4E*, *eIF4E(iso)*

Acknowledgement: IGA FA MENDELU Nr. TP 7/2011

ÚVOD

Pea seed-borne mosaic virus (PSbMV) patří mezi RNA viry, do čeledi *Potyviridae*, rodu *Potyvirus*. Spolu s virem enační mozaiky hrachu (Pea enation mosaic virus, PEMV) a virem žluté mozaiky hrachu (Bean yellow mosaic virus, BYMV) tvoří trojici hlavních virových patogenů, způsobujících hospodářsky významné škody na porostech hrachu a některých dalších zástupců luskovin. Virus PSbMV je přenášen semenem, mechanicky a hmyzímu vektory (mšicemi). K hlavním symptomům napadení PSbMV patří nápadné svinování okrajů, tvorba listové mozaiky, prosvětlování listových žilek, tvorba zkrácených internodií a různý stupeň zakrslosti rostliny. U napadených rostlin dochází k pozdějšímu kvetení. Květy jsou často deformované, mohou ale vykvést za vzniku deformovaných lusků. Následně jsou také postižena semena, s typickou mozaikou, je snížena jejich životaschopnost a kvalita. Nejúčinnějším nástrojem pro omezení výskytu je využití rezistentních genotypů, které již byly v minulosti v genových kolekcích identifikovány a jsou dnes využívány při šlechtění. U hrachu bylo popsáno několik lokusů rezistence k virovým patogenům rodu *Potyvirus*. Tyto lokusy tvoří dva shluky recesivních genů nacházejících se ve dvou odlišných vazebných skupinách (chromozomech). Vazebná skupina VI obsahuje shluk recesivních genů *sbm-1*, *sbm-3*, *sbm-4*, *cyv-2* a *wlv*, které zodpovídají za rezistenci k PSbMV P1, P3, P4; *Clover yellow vein virus* (ClYVV) a *Bean yellow mosaic virus* kmen white lupin (BYMV-W). Další shluk je umístěn na vazebné skupině II a zahrnuje *bcm*, *cyv-1*, *mo*, *pmv* a *sbm-2* zprostředkující rezistence k *Bean common mosaic virus*, *Clover yellow vein virus* (ClYVV), *Bean yellow mosaic virus*, *Pea mosaic virus*a PSbMV P2 (Provvidenti et al., 1990). Lokusu *sbm-1* (LG-VI) odpovídá eukaryotický translační iniciační faktor 4E (*eIF4E*) a v těsné vazbě s lokusem *sbm-2* byl nalezen jeho homolog *eIF4E(iso)*.

Obr. 1 Schéma genomických sekvencí u vybraných druhů čeledi Fabaceae



U virů čeledi *Potyviridae* je na 5´ konci RNA vlákna místo čepičky připojen protein VPg (viral protein genomelinked), který je při iniciaci translace rozeznán rostlinným *eIF4E* jako čepička a tím dochází k translaci virové RNA. Pokud je alela *eIF4E* mutovaná (*sbm-1*) v tzv. "oblasti vázající čepičku" (cap binding pocket), nedochází k jejímu navázání na VPg a polypeptid nemůže být vytvořen, protože nedojde k úspěšnému složení ribozomu. Blízkost lokusu *sbm-2* a *eIF4E(iso)* naznačuje, že P3 a *eIF4E(iso)* spolu interagují podobně jako VPg a *eIF4E*.

V roce 2010 byly publikovány úplné genomické sekvence *eIF4E* u hrachu, včetně přímých markerů pro MAS (Marker assisted selection), které jsou založeny na nukleotidových mutacích vedoucích k záměně aminokyselin v primárním řetězci polypeptidu a umožňují identifikaci, jak homozygotních náchylných nebo rezistentních jedinců se 100 % spolehlivostí, tak zároveň identifikaci heterozygotů (Smýkal et al., 2010).

Cílem této práce je s pomocí molekulárně biologických metod stanovit celkovou genomovou sekvenci genu *eIF4E(iso)* u vybraných položek hrachu (*Pisum sativum* L.), dříve popsaných jako rezistentní či senzitivní k patotypu P2 PSbMV. Výsledky porovnat s dosud publikovanými sekvencemi cDNA tohoto genu a provést predikci primární struktury proteinů. V případě zjištění polymorfismů vázaných na rezistentní genotypy navrhnout jednoduchý markerovací systém pro detekci těchto alel, jež by mohl být využitelný při MAS.

MATERIÁL A METODY

Rostlinný materiál: Semena hrachu byla získána z genofondové kolekce USDA-ARS Western Regional Plant Introduction Unit, Pullman, WA, USA.

Izolace genomové DNA a RNA: Izolace nukleových kyselin byla provedena pomocí komerčně dodávaných kitů. Genomová DNA byla izolována z jednotlivých suchých semen pomocí DNEasy Plant Mini Kit (Qiagen). Izolace RNA byla provedena z mladých listů za použití RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) dle protokolu výrobce.

PCR amplifikace fragmentů *eIF4E(iso)*: PCR amplifikace byla provedena v 25µl objemu v 0,2ml zkumavkách. Složení PCR reakční směsi bylo podle standardního protokolu výrobce s použitím Green GoTaq polymerázy (Promega). Seznam použitých PCR primerů viz tab. 1. Teplotní profil PCR reakce, počáteční denaturace 94°C: 3 minuty, 30 cyklů: 94°C/30s, 55°C/30s, 72°C/1min 30s a závěrečná elongace 72°C po dobu 10 minut. Sekvence 5´UTR oblasti byla získána pomocí SMARTer™ RACE cDNA Amplification Kitu (Clontech). Rozdělení PCR produktů bylo provedeno horizontální gelovou elektroforézou na 1% agarosovém gelu (Bioline, Velká Británie) v 1 x TAE pufru. Separace probíhala 30-45 minut při 75-120 V, detekce probíhala pomocí EtBR, vizualizace na UV transluminátoru a Gel Documentation System (Vilber Lourmat, Francie).

Klonování PCR produktu: Při klonování fragmentů bylo postupováno dle návodu k produktu pGEM-T Vector System (Promega) za použití originálních roztoků. Elektroporace kompetentních buněk byla provedena dle Ausubela et al. (1992). Na výsev buněk *E.coli* TOP 10 byly použity Petriho misky s pevným LB médiem a selekcí na ampicilin a komponenty pro blue/white selekci. Pro testování pozitivních kmenů *E.coli* nesoucích pGEM-T s inzertem byla použita PCR s primery T7 a SP6. Izolace plazmidové DNA byla provedena pomocí GeneJET Plasmid Miniprep Kit (Fermentas). Sekvenování bylo provedeno pomocí BigDye Terminator kitu (Applied Biosystems) v Macrogene Korea a Laboratoři sekvenace DNA PřF UK v Praze.

Tab. 1 Seznam použitých primerů

Název primeru	Sekvence (5´- 3´)	Pozice v *eIF4E(iso)*	Orientace
eIF4E-isoM-F	GTGTAGTTGCGAGTGTACGCCAGTG	786-710 F	F
eIF4E-isoM-R	CACTGGCGTACACTCGCAACTACAC	786-710 R	R
Ps- eIF4Eiso-F	ATATGGCAACAACAGAACCACTCG	0-22 F	F
sbm2-3UTR-Rev3	GATTTATGATTGTACAATCAACACAAC	3´UTR	R

VÝSLEDKY A DISKUZE

Sekvenací byla získána úplná genomová sekvence *eIF4E(iso)* vybraných položek hrachu. Exonové oblasti (cDNA) získaných *eIF4E(iso)* fragmentů byly porovnány s cDNA sekvencí dostupnou v databázi NCBI, konkrétně s genotypem Bonneville. U analyzovaných položek nebyl v oblasti exonů nalezen žádný délkový polymorfismus, byly v nich však zjištěny substituce v pozici 149 (C→A), 306,307 (TT→GA), 405 (C→A), 416 (C→G) a 521 (G→A). Délkový polymorfismus byl naopak nalezen v intronové oblasti, zejména u nejdelšího intronu 3. Podobný délkový polymorfismus, založený na opakované repetici, byl již popsán v intronu 3 u genu *eIF4E* ve vazbě na rezistentní alelu a bylo jej využito pro tvorbu markerů (Smýkal et al., 2010). Introny jsou sice během posttranskripčních úprav vystřiženy a nemají tedy vliv na primární strukturu proteinů, často však mohou sloužit jako regulátory genové exprese, rovněž je polymorfismus intronů vhodným základem pro tvorbu markerů využitelných ve šlechtění na rezistenci.

Tab.2 Seznam analyzovaných položek s vyznačenými mutacemi v kódující oblasti

(+ substituce v dané pozici, - bez substituce)

	Mutace v kódující oblasti					
Číslo položky	149 C→A	306,307 TT→GA	405 C→A	410 A→T	416 C→G	521 G→A
OSU 668	-	-	-	-	-	-
PI 193835	-	-	-	-	-	-
W6 15451	-	-	-	-	-	-
PI 347464/Z	+	-	-	-	-	-
PI 347464/K	+	-	-	-	-	-
JI 3135	+	-	-	-	-	-
Aa 134	+	-	-	-	-	-
VR-74-910-2	-	-	-	-	-	-
JI 1794	+	-	-	-	-	-
VIR 2523	+	+	-	-	-	-
VIR 60-70	+	+	-	-	-	-
VIR 2759	-	-	-	-	-	-
VIR 3424	-	-	-	-	-	-
PI 347422	-	-	-	-	-	-
PI 193835R	-	-	-	-	-	-
PI 347492/10	-	-	-	-	-	-
PI 347482	-	-	+	+	+	-
PI 347528	-	-	-	-	-	+

Role eukaryotních translačních faktorů v rezistenci k virovým patogenům rodu *Potyvirus* byla již popsána u několika druhů rostlin včetně salátu (Niciase et al., 2003), papriky (Ruffel et al., 2002), rajčete (Parrela et al., 2002), fazolu (Naderpour et al., 2010), ječmene (Stein et al., 2005), *Arabidopsis thaliana* (Lellis et al., 2002) a hrachu (Gao et al., 2004). Mutace v translačním faktoru mohou přerušit cyklus RNA virů, aniž by ovlivnily vývoj rostliny. Výsledky pokusů s *Arabidopsis thaliana* ukazují, že *eIF4E* i *eIF4E(iso)* jsou zapojeny do přirozené rezistence rostlin k potyvirům (Sato et al., 2005). Tyto výsledky by mohly potvrdit původní domněnku, kdy gen *eIF4E(iso)* a *sbm-2* lokus byly označeny za totožné. Tyto mutace lze využít v přirozené rezistenci rostlin k rychlé analýze nebo identifikaci a ulehčit screening genových kolekcí na požadovaný znak. Zatím se však nepodařilo najít takové rozdíly mezi senzitivní a rezistentní alelou, které by se daly jako v případě *sbm-1* využít při MAS (Marker assisted selection). Další možností při hledání polymorfismu mezi náchylnými a rezistentními genotypy jsou 5´ a 3´UTR oblasti. V předchozí práci jsme získali pomocí 3´ RACE postupu 3´ UTR oblast, která se v rámci jednoho genotypu vyskytovala ve třech délkově odlišných formách, její délka byla 292bp. Metodou 5´ RACE byla získána 82bp dlouhá sekvence 5´UTR oblasti *eIF4E(iso)*. Na začátek UTR oblastí byly navrženy primery, které jsme využili při hledání polymorfismu mezi náchylnými a rezistentními genotypy.

ZÁVĚR

Práce se zabývá sekvenační analýzou translačního iniciačního faktoru *eIF4E(iso)* u rodu *Pisum*, který se nachází ve vazebné skupině II a předpokládá se, že je lokusem *sbm-2* zodpovídajícím za rezistenci k patotypu P2 PSbMV viru. Bylo analyzováno 18 položek, zahrnující liniové, krajové a plané druhy hrachu setého, dříve popsaných jako senzitivní či rezistentní k patotypu P2. Sekevenováním byla zjištěna celková délka genomické úseku *eIF4E(iso)* a identifikovány mutace v *eIF4E(iso)* vedoucí k aminokyselinové záměně mezi rezistentními a náchylnými genotypy. Tyto mutace však nebyly dosud funkčně přiřazeny, nelze je pravděpodobně spojovat s rezistencí, neboť se vyskytují na ojedinělých pozicích a lze je tedy spíše přisuzovat vnitrodruhové variabilitě. Vybrané genotypy jsou testovány L1 (P2) PSbMV patotypem. Užitím metody RACE byla získána sekvence 5´a 3´UTR oblastí, které byly využity k návrhu specifických primerů a studiu sekvenčního polymorfismu a genové exprese. Rovněž se budeme snažit o charakterizaci dostupných TILLING mutantů, majících nové alely obou studovaných genů, které by mohly být přímo použitelné ve šlechtitelské praxi.

LITERATURA

Ausubel, F. M.; Brent, R.; Kingston, R. E.; Moore, D. D.; Seidman, J. G.; Smith, J. A.; Struhl, K. (2002) *Short protocols in Molecular Biology* Fifth edition, John Wiley and Sons, Inc.

Gao. Z., Eyers. S., Thomas. C., Ellis. N., Maule.A. (2004): Identification of markers tightly linked to sbm recessive genes for resistance to Pea seed- borne mosaic virus. Theor Appl Genet, 109:488-494

Hjulsager, C. K.; Olsen, B. S.; Jensen, D. M. K.; Cordea, M. I.; Krath, B. N.; Johansen, I. E.; Lund, O. S. (2006): Multiple determinants in the coding region of Pea seed-borne mosaic virus P3 are involved in virulence against sbm-2 resistance. *Virology*, *355* (3), 52–61.

Naderpour, M.; Lund, O. S.; Larsen, R.; Johansen, E. (2010): Potyviral resistance derived from cultivars of Phaseolus vulgaris carrying bc-3 is associated with the homozygotic presence of a mutated eIF4E allele. *Mol. Plant. Pathol.*, *11* (2), 255–263.

Niciase, V.; German-Retana, S.; Sanjuán, R.; Dubrana, M. P.; Mazier, M.; Maisonneuve, B.; Candresse, T.; Caranta, C.; LeGall, O. (2003): The Eukaryotic Translation Initiation Factor 4E Controls Lettuce Susceptibility to the Potyvirus Lettuce mosaic virus1. *Plant Physiol.*, *132*, 1272–1282.

Parrela, G.; Ruffel, S.; Moretti, A.; Morel, C.; Palloix, A.; Caranta, C. (2002): Recessive resistance genes against potyviruses are localized in colinear genomic regions of the tomato (Lycopersicon spp.) and pepper (Capsicum spp.) genomes. *Theor. Appl. Genet.*, *105*, 855–861.

Provvidenti, J. A.; Muehlbauer, F. J. (1990) Evidence of a cluster of linked genes for resistance to pea seedborne mosaic virus and clover yellow vein virus on chromosome 6. *PNL*, *22*, 43–46.

Ruffel, S.; Dussault, M. H.; Palloix, A.; Moury, B.; Bendahmane, A.; Robaglia, C.; Caranta, C.(2002): A natural recessive resistance gene against potato virus Y in pepper corresponds to the eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E). *Plant J.*, *32*, 1067–1075.

Sato, M.; Nakahara, K.; Yoshii, M.; Ishikawa, M.; Uyeda, I.(2005): Selective involvement of members of the eukaryotic initiation factor 4E family in the infection of Arabidopsis thaliana by potyviruses. *FEBS Lett.*, *579*, 1167–1171.

Smýkal P., Šafářová D., Navrátil M., Dostálová R. (2010): Marker assisted pea breeding: eIF4E allel specific markers to pea seed-borne mosaic virus (PSbMV) resistence. Mol Breeding. 26:425-438.

Stein, N.; Perovic, D.; Kumlehn, J.; Pellio, B.; Stracke, S.; Streng, S.; Ordon, F.; Graner, A. (2005): The eukaryotic translation initiation factor 4E confers multiallelic recessive Bymovirus resistance in Hordeum vulgare (L.). *Plant J.*, *42*, 912–922.

UPTAKE AND TRANSPORT OF PAH FLUORANTHENE IN PEA

Křížová B., Zezulka Š.

Department of Plant Physiology and Anatomy, Institute of Experimental Biology, Faculty of Science, Masaryk University, Kotlářská 2, 611 37 Brno, Czech Republic

E-mail: bara.kri-zova@seznam.cz

ABSTRACT

The aim of our study was to assess the root uptake of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) fluoranthene (FLT), its transport and distribution in 10 days old seedlings of *Pisum sativum* L. during 30 hour exposure period using its mixture with ^{14}C-labelled fluoranthene (9:4 n/n). The hazardous pollutants (PAHs) represent important group of environmental contaminants and FLT belongs to the most frequent ones. Obtained results demonstrated that pea seedlings were able to take up the FLT via roots from the nutrient solution already after 2 hours of exposure period and transport it into plant shoots. After 30 hours of exposure the highest content of ^{14}C-activity in shoots was found in basal part of stem and the lowest in its apical part. This study showed that toxic organic compounds like PAHs are taken up by plant roots very quickly, transported from roots to shoot, accumulated in plant tissues and therefore they can affect various biochemical and physiological processes in plants.

Key words: PAH ^{14}C-fluoranthene, uptake, transport, *Pisum sativum*

Acknowledgement: Czech Science Foudation project No. GAČR 522/09/P167

ÚVOD

Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs) jsou významnou skupinou perzistentních organických polutantů (POPs), které jsou vnášeny do prostředí zejména jako produkty nedokonalého spalování organické hmoty. Tyto environmentální kontaminanty se prostřednictvím rostlin, které je mohou přijímat různými cestami, dostávají do potravního řetězce a jsou potenciálními karcinogeny, mutageny a teratogeny (Wang et al. 2005). Pravděpodobně nejvýznamnějším zdrojem PAHs pro rostliny je atmosférická depozice způsobující vedle kontaminace nadzemních částí i částečnou kontaminaci půdy. Aplikace odpadních kalů a kompostů v zemědělství nebo úniky odpadních vod znečištění půd dále zvyšují. Většina doposud publikovaných prací hodnotících kvantitativně příjem PAHs do rostliny nerozlišuje kořenový a foliární příjem. Podíl kořenového systému a nadzemní části rostlin na příjmu PAHs z prostředí a jejich translokaci a akumulaci v rostlinných orgánech je možné spolehlivě posoudit pomocí radioaktivně (např. ^{14}C) značených látek (Kolb et Harms 2000).

Cílem této studie bylo posoudit kořenový příjem PAH fluoranthenu (FLT) pomocí jeho ^{14}C značené formy a vyjádřit se k jeho translokaci a distribuci v mladých rostlinách hrachu. FLT patří k nejčastěji se vyskytujícím PAHs v prostředí, jeho koncentrace je až o řád vyšší než ostatní PAHs.

MATERIÁL A METODIKA

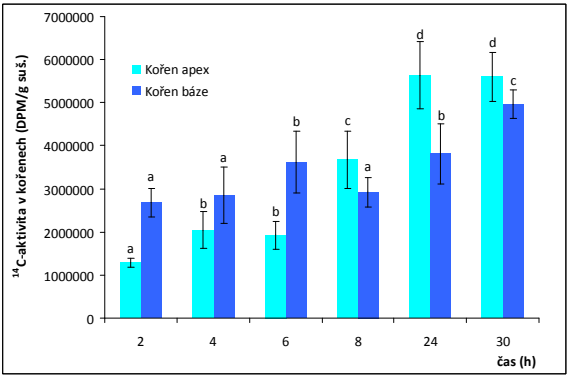
Experimentální rostlinou byl hrách (*Pisum sativum* L.). Po 24 hodinách imbibice a 3 dnech klíčení byly klíční rostliny umístěny do kultivačních nádob s Reid-York živným roztokem. Po 7 dnech kultivace v řízených podmínkách (teplota 22±2°C, relativní vzdušná vlhkost 60%, ozářenost 150 µmol/m^2/s, fotoperioda 12/12) bylo vybráno 60 rostlin, z nichž 30 bylo ponecháno v živném roztoku (kontrola) a 30 rostlin bylo umístěno do kultivačního roztoku s přídavkem směsi fluoranthenu (0.1 mg/l) a ^{14}C značeného fluoranthenu (5 µl/50 ml, o celkové aktivitě 1110000 dpm / 0.5 µCi). Poměr látkových množství FLT a ^{14}C-FLT v tomto nosičovém typu experimentu byl 9:4. Po 2, 4, 6, 8, 24 a 30 hodinách kultivace byly rostliny (po 5 rostlinách z obou variant) rozděleny na kořenový apex, kořenovou bázi, stonkovou bázi, střed stonku a stonkový apex. Získané vzorky byly po zvážení (čerstvá hmotnost) umístěny do skleněných ampulí a vysušeny do konstantní hmotnosti (sušina). Suché vzorky byly spáleny v proudu kyslíku (Kala et Peška 1980). Uvolněný CO_2 byl jímán do roztoku ethanolaminu a methanolu (2:1 v/v). Obsah uhlíku ^{14}C ve vzorcích byl stanoven metodou kapalinové scintilace pomocí scintilačního spektrometru Packard 2900 TR. Po odečtení pozaďové radioaktivity (obsah ^{14}C v kontrole) byly výsledky zpracovány a vyhodnoceny v programu Statistica.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Zjištěná hladina ^{14}C aktivity v apikální části kořene již po dvou hodinách expozice je dokladem rychlého příjmu FLT (obr. 1). Z uvedených hodnot je patrné, že množství přijatého FLT se

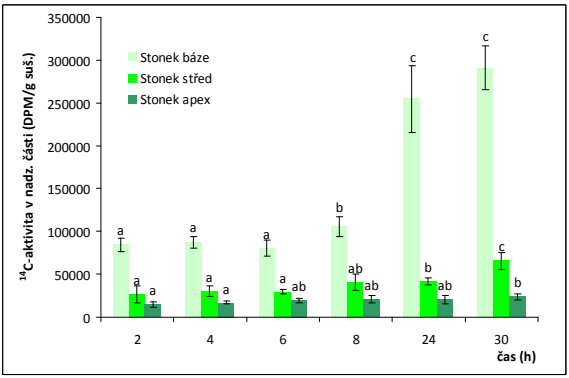
zvyšovalo v závislosti na délce expozice. Na kontaminaci báze kořene se vedle transportu FLT z apikální oblasti nesporně podílel i jeho příjem postranními kořeny.

Obr. 1 Obsah ^{14}C aktivity v apikální a bazální části kořene hrachu po 2, 4, 6, 8, 24 a 30 hodinách expozice.



Dokladem transportu FLT z kořenů do nadzemní části rostlin je již po dvou hodinách expozice zjištěná aktivita v bazální části stonku (obr. 2). V průběhu 30 hodinové expozice se hodnota ^{14}C aktivity v bazální, střední i apikální části stonku zvyšovala, nejvyšší hodnoty byly zjištěny v bázi stonku, nejnižší v jeho apexu.

Obr. 2 Obsah ^{14}C aktivity v bazální, střední a apikální části stonku hrachu po 2, 4, 6, 8, 24 a 30 hodinách expozice.



V kořenovém systému rostlin hrachu byla prokázána až 20-násobně vyšší hladina ^{14}C aktivity než v nadzemních částech.

ZÁVĚR

Tato studie potvrzuje, že toxické organické sloučeniny typu PAHs jsou ze znečištěného prostředí přijímány kořeny rostlin. V intaktní i transformované podobě jsou tyto látky již v krátkém časovém intervalu (po dvou hodinách) transportovány akropetálně z kořenů do nadzemních částí.

LITERATURA

Kala J., Peška J. (1980): Preparation and use of scintillation gel based on polyethylene dispersion in toluene scintillation solution (in Czech). In: Peška J., Černý V. (eds.), Use of Nuclear Methods and Ionizing Radiation in Genetics, Breeding and Plant Physiology (in Czech), Brno, Agr. Univ. Brno Press, pp. 170-173.

Kolb M., Harms H. (2000): Metabolism of fluoranthene in different plant cell cultures and intact plants. Environmental Toxicology and Chemistry 19(5): 1304-1310.

Wang D., Chen J., Xu Z., Qiao X., Huang L. (2005): Disappearance of polycyclic aromatic hydrocarbons sorbed on sufraces of pine (Pinua thubergii) needles under irradiation of sunlight: Volatilization and photolysis. Atmospheric Environment 39: 4583-4591.

THE USE OF *LEMNA MINOR* FOR EVALUATION OF FLUORANTHENE TOXICITY

Majerová A., Kummerová M.

Department of Plant Physiology and Anatomy, Institute of Experimental Biology, Faculty of Science, Masaryk University, Kotlářská 2, 611 37 Brno, Czech Republic

E-mail: adela.majerova@seznam.cz

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of fluoranthene (FLT), which is one of the most abundant PAHs with ubiquitous environmental distribution, and its increasing concentration (0, 0.1 and 1 $mg.l^{-1}$) on growth of *Lemna minor* L. (number of plants, leaf area) and primary photosynthetic processes (parameters of chlorophyll fluorescence and content of photosynthetic pigments). These rapidly-growing plants have found uses as a model system for studies in community ecology, ecotoxicology, production of biopharmaceuticals and as a source of animal feeds for agriculture and aquaculture. Significant decrease of plant number, biomass production and leaf area size was recorded only after 4 days of cultivation in FLT 1 $mg.l^{-1}$ treatment, whereas the lower concentration FLT 0.1 $mg.l^{-1}$ stimulated temporarily the content of photosynthetic pigments. Surprisingly, after 10 days of cultivation in both FLT treatments no significant negative effects to any assessed parameter were found.

Key words: PAH fluoranthene, *Lemna minor*, growth, chlorophyll fluorescence, photosynthetic pigments

Acknowledgement: Czech Science Foundation project no. GAČR 522/09/0239

ÚVOD

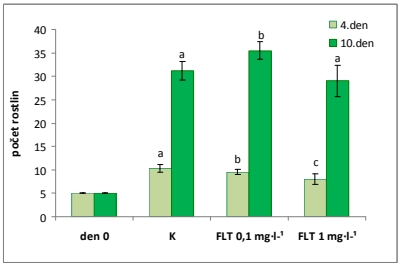
Terestrické a akvatické ekosystémy jsou ovlivňovány řadou toxických organických sloučenin především antropogenního původu. Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs) jsou rizikovou skupinou polutantů pro všechny živé organismy vzhledem k jejich distribuci v biosféře, rizikovým vlastnostem a schopnosti akumulace v živočišných tkáních a rostlinných pletivech. Rostliny stojící na počátku potravního řetězce umožňují příjem PAHs do vyšších trofických úrovní (Zuo et al. 2006). Řada rostlinných druhů je využívána pro testování toxicity chemických látek a jejich směsí např. v odpadních vodách, kontaminovaných sedimentech a výluzích z nebezpečných odpadů. Z vodních cévnatých rostlin je hojně využíván okřehek (*Lemna* sp.).

MATERIÁL A METODIKA

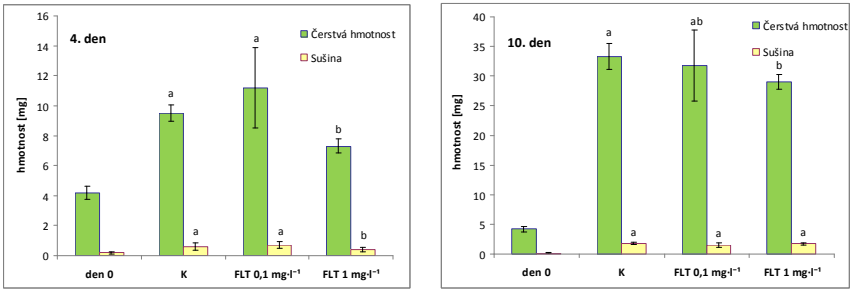
Experimentální rostlinou byl okřehek menší (*Lemna minor* L.), který byl kultivován v Steinbergově modifikovaném médiu (SMM). Experiment probíhal v mikrotitračních destičkách (6 jamek, objem jamky 12 ml). Přibližně stejné rostliny okřehku byly umístěny do destiček (5 rostlin na jamku) a kultivovány v SMM bez (kontrola) a s přídavkem fluorantenu (FLT, 0.1 a 1 mg l^{-1}). Po 4 a 10 dnech kultivace v řízených podmínkách (teplota 22±2°C, relativní vzdušná vlhkost 60%, ozářenost 150 µmol/m^2/s , fotoperioda 12/12) u každé experimentální varianty byl hodnocen počet rostlin, jejich čerstvá hmotnost a sušina. Obsah fotosyntetických pigmentů byl stanoven spektrofotomericky při použití 100% acetonu. Velikost listové plochy a parametry fluorescence chlorofylu (F_0, F_V/F_M, a NPQ) byly získány pomocí fluorometru HandyCam (PSI). Výsledky byly zpracovány a vyhodnoceny v programu Statistica.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Z výsledků (obr. 1 a 2) je patrno, že po 4 dnech kultivace okřehku v přítomnosti FLT 0,1 a 1 mg.l^{-1} byl zaznamenán v porovnání s kontrolou významně nižší počet rostlin. Jejich čerstvá hmotnost i sušina byly významně sníženy pouze koncentrací 1 mg.l^{-1}. Oproti tomu, nízká koncentrace FLT 0.1 mg.l^{-1} hmotnost rostlin stimulovala.

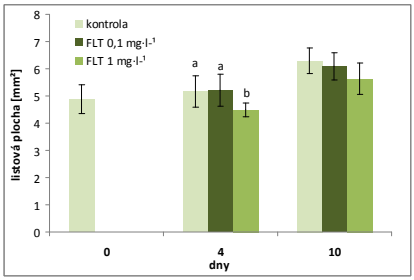


Obr. 1 Počet rostlin okřehku po 4 a 10 dnech kultivace v přítomnosti FLT



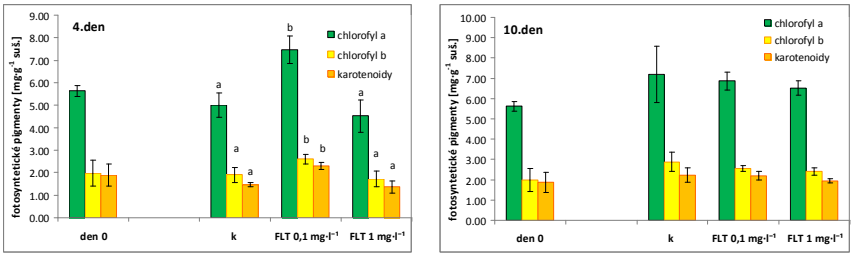
Obr. 2 Čerstvá hmotnost a sušina rostlin okřehku kultivovaných 4 a 10 dní v přítomnosti FLT

Rostliny okřehku rostoucí ve vyšší koncentraci FLT (1 mg.l^{-1}) měly po 4 dnech menší listovou plochu (obr. 3), po 10 dnech expozice však nebyly prokázány žádné významné rozdíly oproti kontrole.



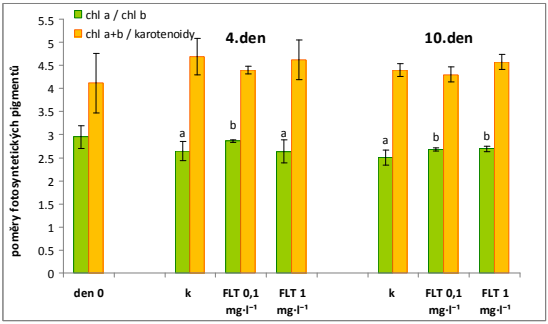
Obr. 3 Velikost listové plochy rostlin okřehku po 4 a 10 dnech kultivace v přítomnosti FLT

Obsah fotosyntetických pigmentů (chlorofyl ***a***, ***b***, karotenoidy; obr. 4) byl významně zvýšen pouze po 4 dnech kultivace okřehku nízkou koncentrací FLT (0,1 mg.l^{-1}), po 10 dnech kultivace však nebyly zjištěny žádné významné rozdíly mezi experimentálními variantami.



Obr. 4 Obsah fotosyntetických pigmentů v rostlinách okřehku po 4 a 10 dnech kultivace v přítomnosti FLT

Z vypočtených hodnot poměru množství chlorofylů ***a*** a ***b*** (chl ***a*** / chl ***b***) vyplývá, že zatímco po 4 dnech kultivace se na zvýšení jeho hodnoty podílel zejména vyšší obsah chlorofylu ***a***, po 10 dnech pak nižší obsah chlorofylu ***b***. Poměr sumy chlorofylů ***a*** a ***b*** k obsahu karotenoidů (chl ***a***+***b*** / kar) se v průběhu expoziční doby významně neměnil.



Obr. 5 Poměry obsahů fotosyntetických pigmentů u rostlin okřehku po 4 a 10 dnech kultivace v přítomnosti FLT

Parametry fluorescence chlorofylu (základní fluorescence F_0, maximální kvantový výtěžek PSII F_V/F_M, nefotochemické zhášení NPQ) obvykle signalizují přítomnost stresoru a jeho vliv na primární fotosyntetické procesy. Ze získaných výsledku je však zřejmé, že u rostlin okřehku vystavených vlivu FLT nebyly zaznamenány žádné významné změny jejich hodnot a to ani po 10 dnech kultivace.

Tab. 1 Parametry fluorescence chlorofylu u rostlin okřehku po 4 a 10 dnech kultivace v přítomnosti FLT

Dny kultivace	FLT [mg·l^{-1}]	F_0 (a.u.)	F_V/F_M	NPQ
0	kontrola	45,95 ± 4,42	0,77 ± 0,01	0,40 ± 0,04
4	kontrola	46,92 ± 2,84	0,77 ± 0,01	0,41 ± 0,05
	0,1	48,60 ± 2,89	0,72 ± 0,02	0,43 ± 0,05
	1	49,75 ± 3,51	0,71 ± 0,02	0,47 ± 0,12
10	kontrola	56,30 ± 4,52	0,72 ± 0,03	0,46 ± 0,12
	0,1	57,00 ± 4,75	0,70 ± 0,02	0,45 ± 0,03
	1	58,61 ± 4,73	0,67 ± 0,01	0,49 ± 0,04

ZÁVĚR

Po 10 denní kultivaci okřehku v prostředí s PAH fluorantenem nebyly prokázány významné změny ve sledovaných biochemických a fyziologických parametrech. *Lemna minor* je vodní cévnatá rostlina využívaná jako modelový druh pro posuzování toxicity chemických látek. Avšak, jak uvádí např. Drost et al. (2007), obvyklá 10 denní expozice neumožňuje spolehlivě posoudit vliv

kontaminantů – toxických kovů a, jak dokládají výsledky této studie, ani organických polutantů. Vzhledem k pravděpodobně nižší citlivosti této rostliny může být riziko kontaminace prostředí při dodržení standardních podmínek testu podhodnoceno. Koncentrace FLT 1 $mg.l^{-1}$ představuje již poměrně vysoké zatížení, které po stejné době expozice u terestrických rostlinných druhů vyvolává ve výše uvedených parametrech negativní změny (Kummerová et al. 2006).

LITERATURA

Drost W., Matuje M., Backhaus T. (2007). Heavy metal toxicity to Lemna minor: studies on the time dependence of growth inhibition and the recovery after exposure. Chemosphere 67: 36-43.

Kummerová M., Krulová J., Zezulka Š., Tříska J. (2006): Evaluation of fluoranthene phytotoxicity in pea plants by Hill reaction and chlorophyll fluorescence. Chemosphere 65(3): 489-496.

Zuo Q., Lin H., Zhang X.L., Li Q.L., Liu S.Z., Tao S. (2006): A two-compartment exposure device for foliar uptake study. Environmental Pollution 143: 126-128.

POLYMORPHISMUS OF STORAGE PROTEIN GENES IN WHEAT (*T. AESTIVUM* L.) WITH DIFFERENT COLOUR OF KERNEL

Musilová M.[1], Trojan V.[1], Vyhnánek T.[1, 2], Havel L.[1]

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

[2] CEITEC MENDELU, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: milena.musilova@mendelu.cz

ABSTRACT

Our objective involves characterization of the genetic variability in chosen loci determinating HMW glutenin subunits and searching for the presence/absence T1BL.1RS translocation in collection of wheat genotypes with differentiated kernel pigmentation. The allele identification of loci *Glu-A1*, *Glu-D1* and presence of locus *Sec-1* were realized on the collection of 16 genotypes, the 7 genotypes of wheat with purple pericarp, the 8 genotypes with blue aleuron layer and the one genotype with red pericarp. For the chosen allele detection were used SPLAT (Specific Polymorphic Locus Amplification Test) method and AS-PCR (Allele-Specific PCR). From the partial analysis results loci *Glu-A1*, *Glu-D1* for HMW (High Molecular Weight) glutenin subunits and locus *Sec-1* (rye translocation marker) in 16 wheat genotypes with different colored kernel was in one genotype with purple pericarp (Indigo) detected the occurrence of alleles *Glu-A1b* and *Glu-D1d*, and in three genotypes with blue aleuron layer (UC 66049, RU 440-6 and RU 440-5) was detected occurrence of alleles combinations for HMW glutenin subunits (*Glu-A1a* and *Glu-D1d*). Within the standard wheat with red pericarp, the remaining six genotypes with purple pericarp and the five genotypes with blue aleuron layer was detected allele *Glu-D1d*. Rye translocation *Sec-1* was not detected in any of the analyzed genotypes. From these results we can conclude that genotypes Indigo, UC66049, RU 440-6 and RU 440-5 have a genetic precondition to a good bread-making quality. Study of HMW glutenin subunits of wheat genetic resources collection with differentiated pigmentation is important for selecting strategies by their subsequent use in wheat breeding program.

Key words: HMW glutenin subunits, translocation, wheat

Acknowledgement: This study was supported by project IGA FA MENDELU No. TP 7/2011 and GAČR 204/09/H002. We acknowledge Ing. Petr Martinek (ARI Kroměříž, Ltd.) for seed samples, Petr Sekanina and Bc. Jana Podhorná for running laboratory experiments.

ÚVOD

Jednou z možných cest využití genotypů pšenice seté (*Triticum aestivum* L.) s rozdílným zastoupením přírodních barviv v obilce je rozšíření sortimentu cereálních výrobků. Pšeničná 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 (El-Sayed, 2003). Technologické využití barevných pšenic je spojeno nejenom s nutností poznání genetické determinace odchylek v zabarvení a následného využití ve šlechtitelském procesu pšenice, ale je spojeno i s poznáním genetické determinace technologické kvality. Geny pro determinující skladbu zásobních proteinů se nachází na odlišných chromozomech jako geny determinující zabarvení obilky. Proteiny přispívají unikátním způsobem k reologii, jež závisí na viskozitě ovlivňované prolaminy rozpustnými v alkoholech a na elasticitě, na níž se podílejí gluteniny, proteiny rozpustné ve slabých roztocích hydroxidů a kyselin (Bushuk a Bekes, 2002). Zásobní bílkoviny jsou zodpovědné za pekařskou jakost a přímo se podílejí na tvorbě lepku. Lepkové bílkoviny můžeme rozdělit na dvě hlavní frakce podle rozpustnosti v roztocích zředěných alkoholů na rozpustné gliadiny a nerozpustné gluteniny. Určující pro sílu lepku jsou zejména vysokomolekulární (HMW – High Molecular Weight) gluteninové podjednotky (Liu a Rathjen, 1996). Detekci HMW podjednotek gluteninů pšenice je možné realizovat na základě elektroforetické analýzy zásobních proteinů obilky pomocí polyakryalmidové elektroforézy (SDS-PAGE) (Černý a Šašek, 1998). Tato metoda byla využita nejenom pro charakterizaci odrůd, ale je i vhodným nástrojem pro charakterizaci genetických zdrojů pšenice seté pro jejich využití ve šlechtitelských programech zaměřených na zlepšování pekařské kvality (Bradová a Štočková, 2010).

Mimo HMW podjednotek gluteninů jsou významným faktorem, který ovlivňuje kvalitu, i prolaminovové proteiny. V rámci šlechtitelského programu pšenice jsou využívaný translokace chromozomů, např. 1BL/1RS – žitná translokace rezistence proti rzím (De Froidmont, 1998), 2BS/2RL – žitná translokace rezistence vůči bejlomorce (Friebe et al., 1990), aj. Z hlediska šlechtění na zlepšenou technologickou kvalitu je nejsledovanějším typem translokace u pšenice, tzv. žitná translokace T1BLS.1RS, která má pozitivní vliv na výnos a rezistenci, ale negativně se odráží na pekařské kvalitě pšenice (Payne et al., 1987). Přítomnost/absenci této translokace lze zjistit pomocí elektroforetické separace zásobních proteinů obilky (Bednář a Vyhnánek, 2004) nebo pomocí DNA markerů (např. RAPD, SPLAT) (Iqbal a Rayburn, 1995; Van Campenhout et al., 1995). Cílem naší práce bylo zhodnotit genetickou variabilitu ve vybraných lokusech determinující HMW podjednotky gluteninů a zjistit přítomnost/absenci translokace T1BL.1RS v kolekci pšenic s diferencovaným zabarvením obilky.

MATERIÁL A METODIKA

Jako experimentální materiál byly použity genotypy pšenice (*Triticum aestivum* L.), jarní a ozimé formy se standardním zabarvením obilky (červeným perikarpem) a genotypy z kolekce genových zdrojů pšenice s nestandardním zabarvením obilky (purpurovým perikarpem a modrým aleuronem) ze Zemědělského výzkumného ústavu Kroměříž, s.r.o (garant kolekce: Ing. Petr Martinek, CSc.) (Tab.1).

Identifikace alel lokusů *Glu-A1*, *Glu-D1* a přítomnosti lokusu *Sec-1* byla realizována u 16 genotypů pšenice (červeného, purpurového a modrého zabarvení). Koncentrace DNA ve vzorku byla po izolaci zjištěna spektrofotometricky (30 ng.μl^{-1}). Pro detekci jednotlivých alel lokusu *Glu-A1* byly použity primerové kombinace dle Lafiandra et al. (1997) a De Bustos et al. (2000), pro detekci alely *Glu-D1* byl využit protokol D´Ovidio a Anderson (1994) a pro detekci lokusu *Sec-1* primerová kombinace dle Chai et al. (2005). Pro detekci přítomnosti Sec-1 lokusu byla jako pozitivní kontrola využit tritikale odrůda Pawo. Reakční směs o celkovém objemu 25 µl obsahovala: 30 ng templátové DNA, 0,5 U Taq polymerázy (Promega, USA), 1x odpovídající pufr, 7,5 µM každého primeru a 100 µM každého dNTP. Teplotní a časový profil reakce pro PS primery vycházel z práce Vyhnánek et al. (2010) a Chai et al. (2005). Elektroforetická separace probíhala standardně na 1,5 % agarosovém gelu (barvení ethidium bromidem) a výsledné PCR produkty byly srovnány s velikostními standardy (pBR322 DNA *Hae*III /ABgene/ a λDNA/*Eco*471(*Ava*II) /MBI Fermentas/) podle velikosti výsledného amplikonu.

Tab. 1 Přehled analyzovaných genotypů pšenice seté

Barva pletiva	**Genotyp**	**Forma**
červený perikarp	Novosibirskaja 67	jarní
purpurový perikarp	ANK-28A	jarní
	ANK-28B	jarní
	Abissinskaja arrasejta	jarní
	Konini	jarní
	Purple	jarní
	Purple feed	jarní
	Indigo	ozimá
modrý aleuron	UC66049	jarní
	Tschermaks Blaukörniger Sommerweizen	jarní
	Tschermeks Blaukörniger	jarní
	48M	ozimá
	RU 440-6	ozimá
	RU 440-5	ozimá
	Barevná 9	ozimá
	Barevná 25	ozimá

VÝSLEDKY A DISKUZE

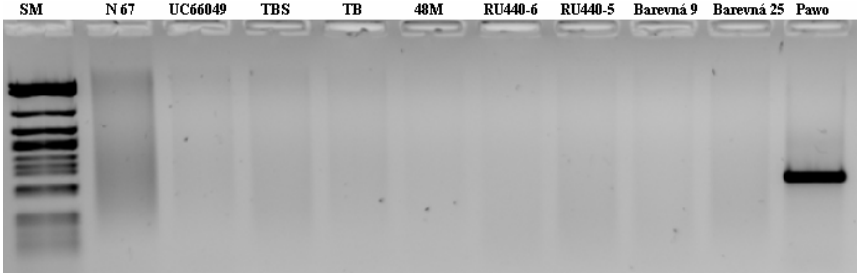
Vysokomolekulární HMW podjednotky pšeničných gluteninů mají průkazný vliv na pekařskou kvalitu pšenice. Tyto podjednotky jsou řízeny kodominantními alelami lokusů *Glu-A1*, *Glu-B1* a *Glu-D1*, jež bývají lokalizovány na dlouhých ramenech 1A, 1B a 1D pšeničných chromozomů (Kolster et al., 1992). Analýzu polymorfizmu HMW podjednotek gluteninů je možné analyzovat elektroforézou zásobních proteinů obilky pšenice. Nevýhodou analýzy zásobních proteinů je nemožnost realizovat selekci vhodných genotypů v raných fázích ontogeneze. DNA markery umožňují realizovat selekci v raných ontogenetických stádiích a nachází stále většího uplatnění i ve šlechtitelských programech pšenice na zlepšování pekařské kvality (Kocourková et al., 2008).

Tab. 2 Přítomnost/absence vybraných alel u genotypů pšenice s různým zabarvením obilek

GENOTYP	*Glu-A1*	*Glu-D1*	*Sec-1*
Červený perikarp			
Novosibirska 67 (N 67)	*b*	*	*
Purpurový perikarp			
ANK-28A	*b*	*	*
ANK-28B	*b*	*	*
Abissinskaja arrasejta	*a*	*	*
Konini	*a*	*	*
Purple	*a*	*	*
Purple feed	*a*	*	*
Indigo	*b*	*d*	*
Modrý aleuron			
UC66049	*a*	*d*	*
Tschermaks Blaukörniger Sommerweizen (TBS)	*a*	*	*
Tschermaks Blaukörniger (TB)	*a*	*	*
48M	*c*	*	*
RU 440-6	*a*	*d*	*
RU 440-5	*a*	*d*	*
Barevná 9	*c*	*	*
Barevná 25	*c*	*	*

Vysvětlivky: *Glu-A1a* (kóduje Ax1), *Glu-A1b* (Ax2), *Glu-A1c* (AxNull) a *Glu-D1d* (Dx5+Dy10); * - nebyla zjištěna přítomnost

PCR produkty pro alelu *Glu-A1a* byly detekovány u 57 % purpurových genotypů a u 63 % modrých genotypů (Tab. 2). Procentické zastoupení HMW podjednotky gluteninů *Glu* Ax2 (kódovaná alelou *Glu-A1b*) bylo v případě purpurových genotypů 42 %, u modrých genotypů nebyla tato alela zaznamenána. Přítomnost podjednotky *Glu-A1c* byla zjištěna u 38 % modrých genotypů, u purpurových zjištěna nebyla. Podjednotka *Glu-D1d* byla zaznamenána u 14 % purpurových genotypů a u 38 % genotypů modrých. Alela *Glu-D1d* determinující vysokomolekulární podjednotku gluteninů 1D 5x+10y je podle predikčních hodnot stanovených Paynem et al. (1988) markerem dobré pekařské kvality. Dotlačil et al. (2002) zjistili v rámci analýzy HMW podjednotek pšenice její nižší výskyt u starých a krajových odrůd v porovnání s moderními odrůdami. Pro co nejpřesnější predikci technologické kvality je nutné zmapovat výskyt dalších alel v lokusech *Glu-B1* a *Glu-D1* (Lukow et al., 1989). Dalším významný genetickým faktorem ovlivňující kvalitu je přítomnost/absence translokace T1BL.1RS determinující lokus *Sec-1* vyskytující se na pšeničném B chromozomu, který se pozitivně projevuje na výnosu, avšak na pekařské kvalitě se podílí negativně. Při analýzách genotypů s různým zabarvením obilky nebyl tento lokus detekován (Obr. 1).



Obr. 1 Ukázka detekce přítomnosti/ absence lokusu Sec-1 u genotypů pšenice s modrým aleuronem na agarósovém gelu

ZÁVĚR

Z výsledků analýz lokusů *Glu-A1*, *Glu-D1* pro HMW gluteninových podjednotek a lokus *Sec-1* (marker žitné translokace) u 16 genotypů pšenice s různě zabarvenou obilkou byl u jednoho genotypu s purpurovým perikarpem (Indigo) detekován výskyt alel *Glu-A1b* a *Glu-D1d*, a u tří genotypů s modrým aleuronem (UC 66049, RU 440-6, RU 440-5) byl zaznamenán výskyt kombinace alel pro HMW gluteninové podjednotky (*Glu-A1a* a *Glu-D1d*). U pšenice se standardním zabarvením obilky, zbylých šesti genotypů s purpurovým perikarpem a pěti genotypů s modrým aleuronem nebyla zjištěna přítomnost alely *Glu-D1d*. Žitná translokace *Sec-1* nebyla detekována u žádného z analyzovaných genotypů. Z těchto výsledků bychom mohli usoudit, že genotypy Indigo, UC66049, RU 440-6 a RU 440-5 mají genetický předpoklad k dobré pekařské kvalitě. Studium HMW podjednotek gluteninů u kolekce genetických zdrojů pšenice s diferencovaným zabarvením je důležité pro volbu strategie při jejich následném využití ve šlechtitelském programu pšenice.

LITERATURA

Bednář J., Vyhnánek T. (2004) Detection of the varietal purity in sample of harvested wheat

and triticale grains by prolamin marker. Pant Soil Environment. 49 (3): 95–98.

Bradová J., Štočková L. (2010) Evaluation of winter wheat collection in terms of HMW- and LMW-gluteninsubunits. Czech Journal of Genetics and Plant Breeding, 46 (Sp. Issue): 96-99.

Bushuk W., Bekes F. (2002) Contribution of protein to flour duality. Proceedings of Novel Raw Materials, Technologies and Products—New Challenge for the Quality Control26–29 May 2002. ICC 2002 Conference, Budapest 2002, 14–19.

Chai J.F., Liu X., Jia J.Z. (2005) Homoelogous cloning of omega-secalin gene family in a wheat 1BL/1RS translocation. Cell Research, 15 (8): 658-664.

Černý, J., Šašek, A. (1996) Bílkovinné signální geny pšenice obecné. ÚZPI Praha, 62 s.

De Bustos A., Rubio P., Jouve N. (2000) Molecular characterization of the inactive allele of the gene Glu-A1 and the development of a set of AS-PCR markers for HMW glutenins of wheat. Theoretical and Applied Genetics, 100 (7): 1085-1094.

De Froidmont D. (1998) A Co-dominant Marker for the 1BL/1RS Wheat.Rye Translocation via Multiplex PCR. Journal of Cereal Science, 27: 229-232

Dotlačil, L., Gregová, E., Hermuth, J., Stehno, Z., Kraic, J. (2002) Diversity of HMW-*Glu* Alleles and Evaluation of their Effects on some Characters in Winter Wheat Landraces and Old Cultivars. Czech Journal of Genetics and Plant Breeding, 38: 109-116.

D´Ovidio R, Anderson O. D. (1994) PCR analysis to distinguish between alleles of member of a multigene family correlated with bread-making quality. Theoretical and Applied Genetics, 88 (6-7): 759-763.

El-Sayed M., Anděl-Aal, Hucl P. (2003) Composition and Stability of Anthocyanins in Blue-Grained Wheat. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51:2174-2180.

Friebe B., Hatchett J. H., Sears R. G. and Gill B. S.(1990) Transfer of Hessian fly resistance from 'Chaupon' rye to hexaploid wheat via a 2BS/2RL wheat-rye chromosome translocation. Theoretical and Applied Genetics 79 (3): 385-389.

Iqbal M.J., Rayburn A.L. (1995) Identification of the 1RS rye chromosomal segment in wheat RAPD analysis. Theoretical and Applied Genetics 91 (6-7): 1048-1053.

Kocourková Z., Bradová J., Kohutová Z., Slámová L., Vejl P., Horčička P. (2008) Wheat breeding for the improved bread-making quality using PCR based markers of glutenins. Czech Journal of Genetics and Plant Breeding 44 (3): 105-113.

Kolster P., Kretchting C.F., Van Gelder W.M.J. (1992) Qualification of individual high-molecular-weight glutenin subunits of wheat using SDS-PAGE and scanning densitometry. Journal of Cereal Science, 15: 49-61.

Lafiandra D., Tucci G. F., Pavoni A., Turchetta T., Margiotta B. (1997) PCR analysis of x- and y-type genes present at the complex Glu-A1 locus in durum and bread wheat. Theoretical and Applied Genetics, 94 (2): 235-240.

Liu CY, Rathjen AJ (1996)Association of high and low molecular weight glutenin subunits with dough strength in durum wheats (*Triticum turgidum* ssp. *turgidum* L. conv. *durum* (Desf.)) in southern Australia. Australian Journal of Experimental Agriculture, 36 (4) 451 – 458.

Lukow, O.M., Payne, P.I. and Tkachuk, R. (1989) The HMW glutenin subunit composition of Canadian wheat cultivars and their association with bread-making quality. Journal of the Science of Food and Agriculture 46: 451-460.

Payne P.I. , Holt L.M., Krattiger A.F., Carrillo J.M. (1988) Relationships between seed quality characteristics and HMW glutenin subunit composition determined using wheats grown in Spain. Journal of Cereal Science, 7 (3): 229-235.

Payne P.I., Nightingale M.A., Krattiger A.F., Holt, L.M. (1987) The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality of British-grown wheat varieties. Journal of the Science of Food and Agriculture 40: 51-65.

Van Campenhout S., Vanderstappen J., Sagi L., Valckaert G. (1995) Locus-specific primers for LMW glutenin genes on each of the group 1 chromosome of hexaploid wheat. Theoretical and Applied Genetics 91 (2): 313-319.

Vyhnánek, T., Halouzková, E., Trojan, V., Martinek, P. (2010) Detekce alel pro vysokomolekulární podjednotky gluteninů u tritikale pomocí DNA markerů. Potravinárstvo [online], 4 (supplement): 545-551.

THE ROLE OF SOIL MICROORGANISMS IN THE CARBON CYCLE ON ALPINE MEADOWS

Nawrath A.[1], Tůma I.[2], Skládanka J.[1]

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

[2] Department of Agrochemistry, Soil Science, Mikrobiology and Plant Nutrition, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republice

E-mail: xnawrath@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this thesis was to describle the carbon cycle, focusing on the role of microorganisms in carbon transformations. The laboratory experiment was made outside of the literary part, which examined the intensity of respiration of enriched with nitrogen and phosphorus on Salatín habitat in the Western Tatras. The intensity of basal and potential respiration by collecting the carbon dioxide respirated on natrocalcite was then studied on these samples. It was proved that the strongest microbial activity took place in the soil samples fertilized by phosphorus. On the contrary, the supply of nitrogen led to a lower utilization rate by microorganisms, which were then no longer able to respond by higher intensity of respiration even if easily degradable organic matter was suppied. It was also proved that the microorganisms are able to utilize available nitrogen by immobilization in their biomass and thus prevent its leaching potential if the phosphorous is added.

Key words: Carbon, microorganisms, respiration, soil.

ÚVOD

Uhlík je základem všem organických sloučenin a také nejvýznamnějším biogenním prvkem, umožňujícím život na naší planetě. K nejvýznamnějším zásobníkům uhlíku na Zemi řadíme atmosféru, oceán, půdu a litosféru. Vůbec největším zásobníkem je litosféra, kde jsou tři čtvrtiny vázány v uhličitanech (Šimek, 2008). Pro cyklus uhlíku je typický významný přenos mezi suchozemskými ekosystémy a oceány na jedné straně a atmosférou na straně druhé. Koloběh uhlíku je těsně spojen s dalšími koloběhy a to zejména kyslíku, dusíku a vodíku. Nejvýznamnější roli v jeho biochemickém cyklu zaujímá oxid uhličitý. Tento plyn ačkoli se v atmosféře vyskytuje v poměrně malém množství, v současnosti okolo 0,038 %, je ústřední látkou při fotosyntéze (Nátr, 2006). Přes jeho důležitost však cyklus uhlíku není plně prozkoumán a to zejména jeho množství fixované při fotosyntéze. Globálně nejsou také přesně stanovena množství uvolňovaného oxidu uhličitého při mineralizaci. Pro komplexní porozumění globálního koloběhu uhlíku je tedy nutné tyto procesy nadále studovat a získávat tak zpřesňující informace o množstvích vstupů a výstupů uhlíku v jednotlivých ekosystémech.

Cílem práce bylo zjistit jaký vliv má zvýšená dostupnost dusíku a fosforu na aktivitu půdních mikroorganizmů (respiraci půdních mikroorganizmů), související s rychlostí mineralizace organické hmoty, a získané výsledky vyhodnotit a porovnat.

MATERIÁL A METODIKA

Pokusné plochy se nacházely pod vrcholem Salatín, který je v nadmořské výšce 1900 m. n. m. Vegetační pokryv zde tvoří vyfoukávané alpinské trávníky svazu *Juncion trifidi*. Průměrné roční teploty jsou zde -1,3 °C a průměrné srážky činí 1466 mm. Půdní pokryv zde tvoří železitý podzol.

Na popsané lokalitě bylo zřízeno celkem 12 pokusných ploch, každá o rozměrech 1,5 × 1,5 m. Plošky byly rozděleny do tří variant (bloků). Každý blok byl ovlivněn stimulací různého množství živin. blok 15N = 15 g N/m^2/rok, blok P = 6 g P/m^2/rok (aplikováno jako KH_2PO_4 v roztoku), blok C = kontrolní plocha, zde byla aplikována jen voda ve stejném množství.

Po odebrání půdních vzorků z nich byla získána jemnozem, která se poté navažovala na analytických vahách a váženky s vzorky byly poté umístěny do elektrické sušárny z čehož se následně po odečtení hmotností získala sušina. Dále bylo pro následné výpočty potřeba zjistit maximální kapilární vodní kapacitu-MKVK. Jemnozem přitom byla umístěna do novodurových válců opatřených polyamidovou síťkou do výše asi 1 cm pod okraj. Následně byly válce zváženy na analytických vahách a umístěny do nádoby s vodou, kde se nechala voda vzlínat po dobu jednoho dne. Další den byly válce vyjmuty, umístěny na filtrační papír k odstranění přebytečné vody a opět zváženy. Stanovení sušiny a MKVK bylo nutné pro zjištění množství navážky do květináčů a pro výpočet množství vody k ovlhčení substrátu na 70 %.

Pro stanovení intenzity bazální a potenciální respirace byla zvolena metoda jímání vyprodukovaného CO_2 natrokalcitem. Ke vzorkům půdy bylo přidáno takové množství vody, aby se dosáhlo vlhkosti 70 %. Následně byly vzorky půdy umístěny do květináčů, které měly zespod polyamidovou síťku a shora překryty tenkou vrstvou písku k zabránění odpařování vody. Tyto květináčky pak byly zváženy na analytických vahách a vloženy do inkubačních nádob o objemu 1 litr. Inkubační nádoby byly opatřeny těsnícím gumovým uzávěrem, aby nedocházelo k úniku CO_2. Spolu s květináči byla do inkubační nádoby umístěna také kádinka s natrokalcitem o známé hmotnosti. Inkubační nádoba se poté vzduchotěsně uzavřela a umístila do temna za laboratorní teploty. Následně probíhalo denní měření hmotnosti vysušeného natrokalcitu po dobu 36 dní. Jelikož natrokalcit na svůj povrch jímá nejen vydýchaný CO_2, ale také vodu, tak byla před každým vážením kádinka s natrokalcitem na hodinu vložena do elektrické sušárny, aby se zbavil přebytečné vlhkosti a poté vložena do exsikátoru k vychladnutí.

Z nárůstu hmotnosti natrokalcitu, který je přímo úměrný respiraci mikroorganizmů, potažmo půdní mikrobiální aktivitě, bylo zjištěno množství prodýchaného CO_2. Výsledná hodnota rozdílu hmotností natrokalcitu byla vynásobena empirickým koeficientem 1,45, zohledňujícím skutečnost, že uvolněný CO_2 nebyl v daném systému zachycen úplně. Množství čistého uhlíku je pak z molekuly CO_2 zjištěno přepočtem dle atomové hmotnosti. Kdy relativní atomová hmotnost uhlíku je 12,01 a kyslíku 16. Molekula CO_2 tedy má relativní atomovou hmotnost 44,01. Podíl hmotnosti uhlíku v molekule CO_2 je pak 0,27.

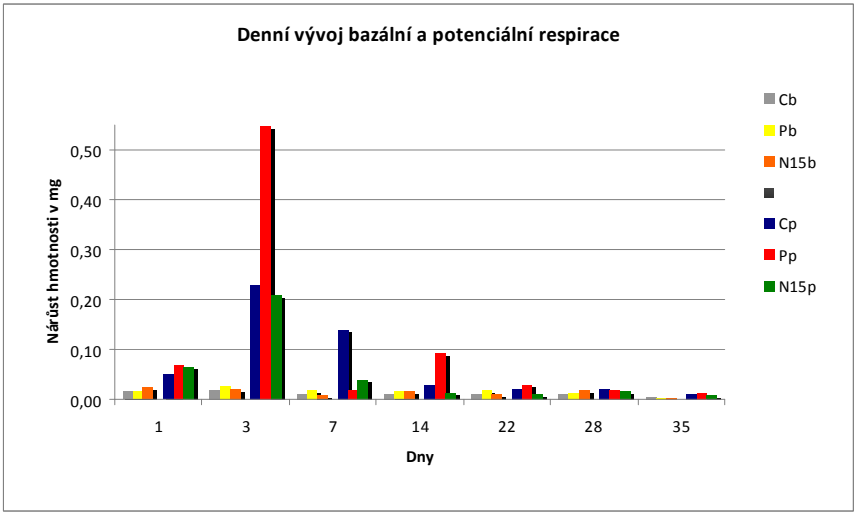
Bazální respirace ukazuje na respirační aktivitu mikroorganizmů, která vyplývá z jejich aktuálního stavu v půdě a zejména závisí na množství dostupného substrátu pro respiraci. Potenciální respirace je konstantní zvýšená rychlost respirace bezprostředně po přidání lehce využitelného substrátu do půdy. V našem případě bylo rozpuštěno 15 g sacharózy na 100 ml vody. Experiment pro stanovení potenciální respirace probíhal ve stejných krocích jako výše popsaný pokus pro bazální respiraci, jen byla namísto destilované vody, k doplnění vlhkosti na 70 %, přidána destilovaná voda se stimulační dávkou sacharózy. Každý vzorek byl zpracován ve čtyřech opakování, z nichž se získaly průměry, které se následně použily k vyhodnocování.

Ke statistickému zpracování dat byla zjištěna směrodatná odchylka a vyhodnocení metodou ANOVA ($P<0,05$), kdy se sledovalo, zda jsou statisticky průkazné rozdíly mezi jednotlivými variantami půdního dýchání. Rozdílná písmena nad sloupci grafu pak značí statisticky průkazný rozdíl.

VÝSLEDKY A DISKUZE

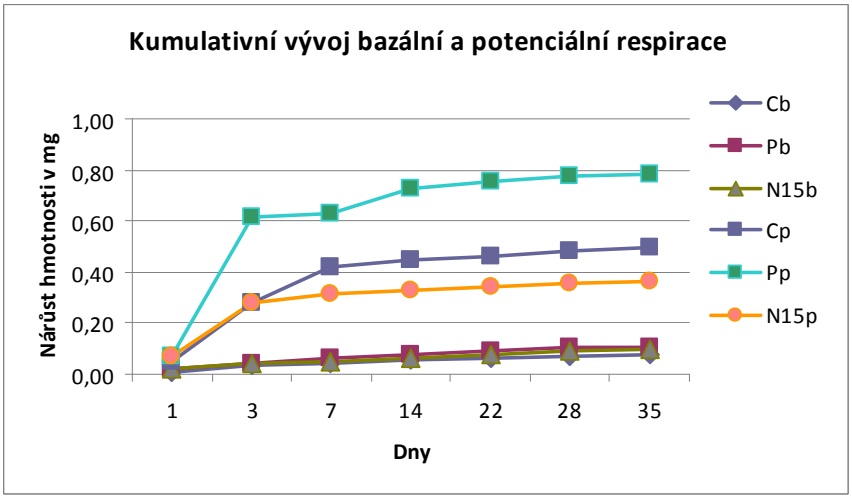
Zhodnotíme-li vývoj bazální a potenciální respirace během 36 dní (Obr. 1) zjistíme, že k nejintenzivnější respiraci došlo ve většině variant ve třetím dni od založení pokusu. Nižší úroveň respirace v prvních dvou dnech se dá vysvětlit adaptací mikroorganizmů na laboratorní teplotu. Ambrož (1979) udává, že v půdách mírného pásma se nachází převážný podíl mezofilních mikroorgamizmů. Proto také po přizpůsobení se laboratorní teplotě, za které pokus probíhal a která mezofylům nejvíce vyhovuje a dostatku snadno rozložitelné organické hmoty, byla intenzita

respirace nejvyšší. V dalších dnech se pak dá klesající trend respirace vysvětlit tím, že mikroorganizmy spotřebovaly lehce rozložitelný organický substrát a postupně začaly rozkládat složitější látky.



Obr. 1 Denní vývoj bazální a potenciální respirace, C-kontrolní vzorek, P-vzorek s dodáním fosforu, N15-vzorek s dodáním dusíku, b značí bazální respiraci, p potenciální.

Na obr. 2 můžeme sledovat kumulativní vývoj bazální a potenciální respirace v průběhu celého pokusu. Z grafu lze vysledovat, že největší kumulativní nárůst respirace nastal v počátečních fázích pokusu, a to především u potencionální respirace po dodání snadno rozložitelného substrátu do půdy ve formě sacharózy. Toto lze přisuzovat rozvoji skupin mikroorganizmů zaměřených na rychlé využití těchto snadno rozložitelných látek (r-stratégové). V dalších dnech, kdy mikroorganizmy dodaný substrát spotřebovaly a začaly spotřebovávat hůře rozložitelné látky, byl již nárůst mnohem pozvolnější. U bazální respirace byl trend kumulativního nárůstu respirace po celou dobu pozvolný a poměrně vyrovnaný.



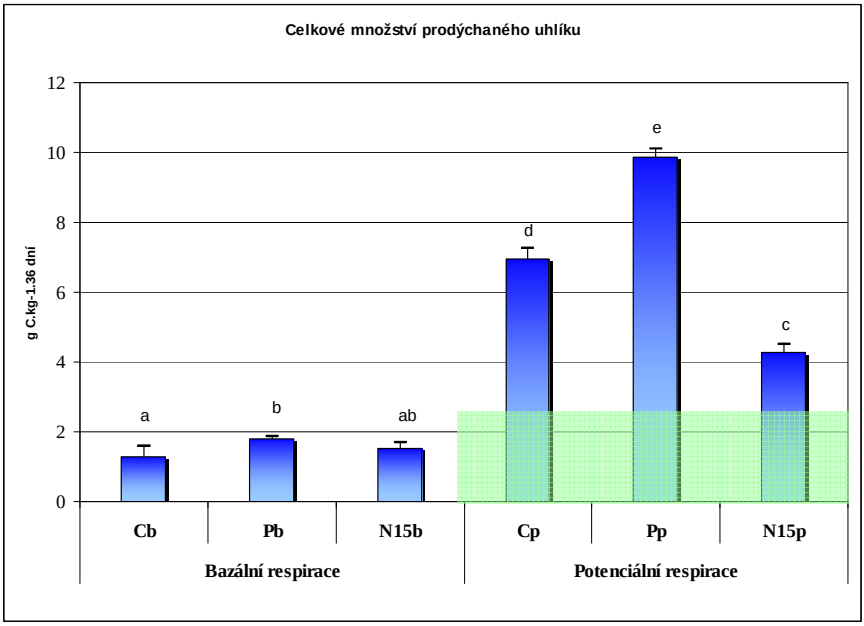
Obr. 2 Kumulativní vývoj bazální a potenciální respirace, C-kontrolní vzorek, P-vzorek s dodáním fosforu, N15-vzorek s dodáním dusíku, b značí bazální respiraci, p potenciální.

Na obr. 3 je zobrazeno celkové množství uhlíku uvolněného za dobu trvání celého experimentu u kontrolního vzorku půdy, dále půdy přihnojované fosforem a půdy přihnojované dusíkem. V levé části grafu vidíme intenzitu bazální respirace. Bazální respirace odráží reálnou aktivitu mikrobiálních společenstev. Při porovnání kontrolního vzorku se vzorkem, který byl přihnojován fosforem zjistíme, že došlo k statisticky průkaznému nárůstu respirace oproti kontrolnímu vzorku. Vzorek půdy přihnojované dusíkem nevykázal statisticky průkazný nárůst respirace oproti kontrolnímu stanovišti. Z výsledků bazální respirace lze tedy usuzovat, že sledované půdy jsou dostatečně saturovány dusíkem a jeho další přidání nemá na aktivitu mikroorganizmů větší pozitivní vliv. Naopak dodání fosforu je provázeno zvýšenou půdní respirací. To znamená, že fosfor je zde v určitém deficitu a může být limitujícím prvkem. Může to být způsobeno buď již samotnou pedogenezí, vlivem matečné horniny chudé na fosfor nebo nízkým pH, často ovlivněným kyselými depozicemi. Marendiak et al. (1987) uvádí, že při nízkých hodnotách pH dochází k tzv. zvrhávání fosforu, kdy se sloučeniny fosforu adsorbují na půdní částice a stávají se tak nedostupnými. Právě extrémní acidifikace zdejších půd, byla prokázána Bowmanem et al. (2008).

V druhé části grafu je patrný nárůst potenciální respirace oproti bazální. Potenciální respirací rozumíme konstantně zvýšenou rychlost respirace, která nastává po přídavku lehce využitelného substrátu (Šantrůčková, 1993), v našem případě roztoku sacharózy. Představuje tak maximální aktivitu půdního mikrobního společenstva za optimální dostupnosti organických látek. Porovnáme-li intenzitu potencionální respirace u kontrolního vzorku půdy a vzorku přihnojovaného fosforem (Obr. 2,3), je zřejmé, že množství prodýchaného CO_2 bylo po dodání fosforu statisticky průkazně vyšší. Varianta s vyšším vstupem dusíku vykazovala průkazně nejnižší hodnotu potencionální respirace. Malý rozdíl mezi bazální a potencionální respirací indukuje přítomnost využitelného

organického materiálu v půdě. V našem případě to neplatí, neboť zjištěná potenciální respirace je i několikanásobně vyšší než bazální. Je zde, a to především ve variantě s přidáním P, tedy možno uvažovat, že v této variantě by společenstvo půdních mikroorganizmů bylo schopno rozložit mnohem více organické hmoty než je přítomno na stanovišti díky omezenému množství organické hmoty v půdě a relativně malému přísunu rostlinné biomasy ve formě opadu tohoto horského ekosystému.

Světle zelená barva v pravé dolní části obr. 3 značí množství dodaného uhlíku ve formě stimulační dávky sacharózy. Je tedy patrné, že přidáním lehce dostupného substrátu došlo ke stimulaci mikrobiálního společenstva, které následně začalo využívat i hůře dostupný uhlík v půdní organické hmotě. Dny ve kterých došlo k prodýchání většího množství uhlíku, než bylo dodáno sacharózou zobrazuje tab. 1. Z tabulky je také patrné, že nejrychleji probíhala respirace u vzorků půd s dodaným fosforem, kdy došlo k prodýchání dodaného uhlíku v podobě sacharózy již ve třetím dnu. Celkově došlo vlivem dodání stimulační dávky sacharózy k prodýchání téměř pětinásobku množství uhlíku než bylo dodáno sacharózou. Nejpozději bylo množství dodaného uhlíku prodýcháno u vzorku půdy s dodaným dusíkem a celkově došlo k prodýchání pouze dvojnásobku uhlíku dodaného sacharózou. To ukazuje na malou schopnost rozložit případné zvýšené množství dodané organické hmoty.



Obr. 3 Množství zachyceného uhlíku při bazální a potenciální respiraci za dobu 36 dní. Rozdílná písmena nad sloupci znamenají statisticky průkazný rozdíl (ANOVA, P<0,05). C-kontrolní vzorek, P-vzorek s dodáním fosforu, N15-vzorek s dodáním dusíku, b značí bazální respiraci, p potenciální.

Tab. 1 Dny ve kterých bylo dosaženo překročení stimulační dávky sacharózy.

Vzorek půdy	Překročení stimulační dotace 2 g sacharózy	Dvoj násobné překročení stimulační dotace 2 g sacharózy	Troj násobné překročení stimulační dotace 2 g sacharózy	Čtyř násobné překročení stimulační dotace 2 g sacharózy
Cp	4 den	8 den	20 den	-
Pp	3 den	4 den	6 den	16 den
N15p	5 den	29 den	-	-

Z výše uvedených faktů lze usoudit, že dusík není pro mineralizaci organické hmoty na alpínských loukách v lokalitě Salatín limitujícím prvkem. Naopak vyplývá, že je ho v půdách dostatek a to pravděpodobně vlivem antropogenní činností a dálkového přenosu.

Rychlost mineralizace, též intenzita půdního dýchání, závisí na množství a složení organické hmoty. Je-li tedy v půdách dusíku a ostatních biogenních prvků dostatek, závisí rychlost mineralizace na množství biomasy, která se do půdy dostane. Halada et al. (2006) na této lokalitě zkoumali vliv přihnojování dusíkem a fosforem na druhové složení porostu a množství nadzemní biomasy. Vliv na druhové složení zde téměř zaznamenán nebyl, což jak dokládají, je způsobeno zřejmě tím, že zdejší nízké pH umožňuje růst jen skupině tolerantních druhů rostlin. Snížilo se jen nepatrně množství druhů lišejníků, mechů a bylin. Změny v množství nadzemní biomasy však patrné byly. Při dodání zvýšených dávek dusíku došlo k úbytku nadzemní biomasy, zatímco při přidání fosforu byl trend zcela opačný.

Bowman et al. (2008) uvádí, že následkem nadměrných depozic dusíkem v uplynulém půlstoletí došlo ve střední Evropě a severní Americe k acidifikaci půd a snížení druhové diverzity. Půdy horských poloh jsou velmi mělké a tudíž mají jen omezenou schopnost izolovat větší množství dusíku a hrozí jeho vyplavování. Acidifikace pak má za následek vyplavování iontů vápníku a hořčíku, což vede k dalšímu okyselení. Jsou-li tyto kationy vyplaveny začne docházet k uvolňování hliníku z půdy, často až k toxickým hladinám. Bowman et al. (2008) na lokalitě Salatín také prvně upozornil na možnou toxicitu železa, ke které může docházet při extrémních depozicích dusíku.

ZÁVĚR

Ze získaných výsledků lze usoudit, že nejvíce limitujícím prvkem pro rozklad organické hmoty v těchto horských ekosystémech je fosfor. Bylo zjištěno, že dodání fosforu spolu se snadno rozložitelnou organickou hmotou je schopno stimulovat mikrobiální společenstva, která pak mají větší potenciál rozložit i hůře dostupný uhlík v půdní organické hmotě. Také intenzita půdní

respirace je nejvyšší při dodání fosforu. Fosfor je tedy na těchto půdách v nedostatku, což je dáno zřejmě nízkými hodnotami pH. Naopak dusík je zde, zřejmě vlivem antropogenní činnosti v nadbytku. Jeho dalším dodáním tedy mikrobiální společenstvo již není schopno zareagovat zvýšením respirace na dodaný snadno rozložitelný organický substrát. Bylo však prokázáno, že dodáním fosforu jsou mikroorganizmy schopny dodaný dusík imobilizovat do své biomasy a jeho vyplavování takto omezit. Lze tedy konstatovat, že pokud bude vlivem lidské činnosti v těchto ekosystémech dusíku přibývat bude to mít následný negativní dopad na půdní mikrobiální společenstva a tedy i intenzitu rozkladu půdní organické hmoty, což může vézt k následnému zvýšení vyplavování dusíku a acidifikaci půd.

LITERATURA

Ambrož, Z., 1979: *Zemědělská mikrobiologie*. Vysoká škola zemědělská v Brně, 94 s.

Bowman, D. W., Cleveland, C. C., Halada, L., Hreško, J., Baron, S. J., 2008: Negative Impact of Nitrogen Deposition on Soil Buffering Capacity. *Nature Geoscience*, roč. 1, s. 767-770.

Halada, L., Záhora, J., Halabuk, A., Szostková, M., Holub, P., Tůma, I., 2008: Microbial Respiration and Nitrogen Transformation in Mountain Soil.

Marendiak D., Kopčanová L., Leitgeb S., 1987: *Polnohospodárska mikrobiológia*. Príroda, Praha, 444 s.

Nátr L., 2006: *Země jako skleník*. Academia, Praha, 142 s.

Šantrůčková, H., 1993: *Respirace půdy jako její biologické aktivity*. Rostlinná výroba, roč. 39, s. 769-778.

Šimek M., 2008: Skleníkové plyny v půdě 1, *Vesmír*, ročník 87, s. 600-604.

ROLE OF ROOTS IN HYPOCOTYL ELONGATION

Novák 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: jan.novak@mendelu.cz

ABSTRACT

There are many factors influencing hypocotyl elongation like light, temperature or hormones. It is known that light induces de-etiolation of seedlings while low light irradiance or dark leads to etiolation and produces yellowish seedlings with long hypocotyls and unopened cotyledons. We were interested whether light applied to roots have any impact on hypocotyl elongation and thus whether the shoot is influenced by irradiance of roots. Plants cultivated on MS are ordinarily exposed to light with all their surface including roots so we performed our experiments with roots exposed to low light and/or covered. We have found roots to play an important role in hypocotyl elongation in a light dependent manner comparable to the role of hormones in this process. Analysis of *Arabidopsis* mutants in hormone signalling reveal a potential role for cytokinins and ethylene in root-dependent hypocotyl elogation. The double mutant *ahk3ahk4* showed that cytokinins could support effects of roots while *etr1* mutant indicates that ethylene is more likely an inhibitor of this effect. We show that hypocotyl elongation correlates with elongation of cells in the hypocotyl. Moreover, we would like to highlight the importance of light quality applied to roots. Response of the hypocotyl is colour dependent. These results indicate the importance of light falling on roots on shoot development and open questions about other processes which could be influenced in a similar way. Thus, we could probably begin to re-consider the experimental conditions routinely used in investigating early plant development.

Key words: light, hypocotyl elongation, root, hormones

Acknowledgement: Work was supported by grants LC06034 and 1M06030 from the Czech Ministry of Education, Youth and Sports.

TRANSPIRATION AND BIOMASS INCREMENT IN SHORT ROTATION POPLAR COPPICE

Orság M.[1, 2], Trnka M.[1, 2]

[1] Institute of Agrosystems and Bioclimatology, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

[2] CzechGlobe, Centre for Global Climate Change Impact Studies, AS CR, Brno, Czech Republic

E-mail: orsag.matej@gmail.com

ABSTRACT

This paper deals with interaction between amount of water lost by tree transpiration and aboveground biomass increment in poplar based short rotation coppice in conditions of Czech-Moravian highlands. Stem sap-flow measured on 8 poplar trees by Granier heat dissipation method was put in relation with biomass increments measured both with automated dendrometers so with manual measurements with caliper gauge. Transpiration totals ranged between 28.3–175.6 liters per tree in executed period 3.8.–31.8.2011. Above-ground biomass increments in this period varied between 30.07–519.28 g per tree and mean value of water use efficiency of all monitored trees reached 2.76 $g.kg^{-1}$. Mean diurnal sap-flow total of all sampled trees was 3.25 liters. Results show that it is possible to establish relationship between transpiration totals and biomass increments (coefficient of determination $R^2 = 0.90$) and also relationship between transpiration totals and stem diameter ($R^2 = 0.81$). These results (especially after obtaining experimental data from spring growth conditions) can be further used for calculations of biomass increments and transpiration as scaling factors from tree level to whole stand level.

Key words: sap-flow, transpiration, biomass increment, poplar, short rotation coppice

Acknowledgement: Special thanks belong to Ing. Milan Fischer for his inspiration and support. This text is an output of the CzechGlobe Centre, that is being developed within OP RDI and co-financed from EU funds and state budget of the Czech Republic (Project: CzechGlobe – Centre for Global Climate Change Impacts Studies, Reg. No. CZ.1.05/1.1.00/02.0073), by the Research plan no. MSM 6215648905 “Biological and technological aspects of the sustainability of controlled ecosystems and their adaptability to climate change” financed by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic and by In-house grant Agency at MENDELU no. TP 3/2011.

INTRODUCTION

Short rotation coppice (SRC) generally means any high-yielding fast-growing woody species managed under coppice system grown for biomass production on arable land. Trees are usually coppiced every three to six years depending on genotype of the clone used, weather conditions and management practices, which influence survival rate and final vigor of the stand. In last decades SRC plantation based on poplar (Populus spp.) and willow (Salix spp.) are increasingly being grown in Europe as a sustainable source of bioenergy. The largest areas of SRC are situated in Scandinavia (Sweden 12 500 ha) (Dimitriou et al, 2011), Germany, UK, Italy, Belgium and France (Slater et al., 2001). Highest potential of SRC consists in vigorous juvenile growth and rapid biomass accumulation, reaching under conditions of the Czech-Moravian highland mean annual increment close to 14 tons of dry matter per hectare (Trnka et al., 2008). Beside its productive function the SRC could potentially provide other ecosystem services as e.g. increasing biodiversity, cooling landscape by transpiration, increasing carbon content in soil, utilizing municipal wastewater for irrigation/fertilization etc. In the early screening and breeding efforts on energy crops the main focus was on aspects such as potential productivity, disease and frost resistance, coppicing and resprouting ability (Hall & Hanna, 1995; Zsuffa, 1995). However, more recently it has been acknowledged that water will very often under practical conditions be the most important yield-limiting factor (e.g. Lindroth & Båth, 1999). The urge to determine relationship between water flux and biomass increment of plants led to the expression water use efficiency (WUE), which is a ratio between **biomass growth** (total dry matter produced) and the **water lost by transpiration** (de Wit, 1958). WUE of majority of energy plants vary between 0.3 – 14.2 g kg^{-1} (Jørgensen a Shelde, 2001). Biomass growth is usually estimated on the basis of dendrometric measurements, which can be practically performed only on the above-ground part. Therefore, WUE is mostly estimated for above-ground biomass production (Ciencialla, 1995). Diurnal transpiration of particular tree can be derived from the stem sap flow (Sellami, 2003). There are several methods for measuring sap-flow generally based on the analysis of how much of the heat applied to the conductive xylem is removed by the passing water flow in the stem. Granier (1985) developed a dual-probe sap flow measuring system, which is now commonly known as the Granier or thermal dissipation probe (TDP) method. This method is used for sap-flow measurements in this study.

This paper provides first processed data regarding sap-flow rates of poplar based SRC frequently planted in Czech Republic. Interconnection of above-ground biomass increments (ABi) measured in parallel with water loss through transpiration allows to prove their mutal relationship and brings better understanding of soil-plant-atmosphere water fluxes in SRC.

MATERIALS AND METHODS

In April 2001, a high density experimental field plantation of poplar clone J-105 (P. *nigra* x P. *maximowiczii*) with the total area of 4 ha was established in locality Domanínek, near Bystřice nad Pernštějnem (Czech Republic, Czech-Moravian highland, 49°521'N, 16°235'E, altitude 530 m, rain-fed area with mean annual precipitation 587.8 mm, mean annual temperature 6.6 °C). The plantation was established on agricultural land previously seeded predominantly with cereals and potatoes. Hardwood cuttings were planted in a double row design with inter-row distances of 2.6 m and spacing of 0.7 m within rows accommodating density of 10,000 trees/ha. Soil conditions at the location are representative to the wider region with deep luvic cambisol influenced by gleyic processes and with 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 of 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 2011 the examined poplar plantation was in the 3rd year of 2nd rotation. In mid June 2011 four automatic dendrometers (DRL 26) (EMS Brno, Czech Republic) were placed on randomly chosen poplar tress within 50 m^2 research plot. In late July 8 pcs of sap-flow measurement sensors (Granier) (UP GmbH, Cottbus, Germany) were purchased. The measurement method relies on the fact, that the sap flow is deducted from the thermal difference between a probe continuously heated at a constant power and a reference probe, using an empirical relationship determined in laboratory conditions. The measuring element consists of two cylindrical probes (2 cm long and 2 mm in diameter). Each of them contains a copper-constantant thermocouple. Those probes are radially inserted in the sapwood of the trunk at o distance of approximately 15 cm from each other. The upper probe is heated at a constant power (0.2 W) and the lower probe is considered as temperature reference. The two thermocouples are mounted in opposition so the temperature difference between the two probes can be measured. In early August four trees with DRL 26's were supplemented with 4 Graniers. Remaining 4 Graniers were installed on other 4 trees within the same plot. The sap-flow of 8 different poplar trees was continuously monitored in 10 min. measuring step for 1 month period (VIII). Sap flow was calculated according recommended equation: $\mathbf{v = 0.199*[(\Delta T_{max}/\Delta T) - 1]^{1.231}}$, [kg m^{-2} s^{-1}], where $\Delta T_{max} \geq \Delta T$ is the temperature difference for zero sap flow and is approximated by the maximum ΔT at nighttime. In addition, the temporal changes in DBH were measured either in 1 hour step (4 trees monitored automatically by DRL 26's) or 2 week step (4 trees measured manually by digital caliper gauge). The initial DBH ranged between 27.1 – 59.39 mm. The values of DBH [mm] increment were subsequently converted through the allometric equation: $\mathbf{y = 0{,}204x^{2{,}172}}$, ($R^2$ = 0.99) to increment of biomass [kg]. This equation describing relationship between DBH and weight originated from destructive sampling carried out in early spring 2011. Initial ABi contents were subtracted from final biomass contents and thus the ABI of particular tree and for whole period was obtained. Furthermore, the ABi of each tree was divided by sap flow totals and thus WUE was obtained.

RESULTS AND DISCUSSION

During monitored period 3. 8. – 31. 8. 2011 the stem sap flow and above-ground biomass increments of 8 poplar trees were measured. Tab. 1 summarizes all data collected and calculated.

Tab. 1 Summary of data collected and calculated.

Period 3. 8. - 31. 8. 2011					
Tree no.	Final DBH [mm]	Sap-flow totals [kg]	Diurnal average sapflow totals [kg day^{-1}]	Biomass increment [kg]	WUE [g kg^{-1}]
#1	60.56	116.70	4.02	0.42	3.64
#2	55.95	118.15	4.07	0.33	2.77
#3	31.69	41.21	1.42	0.07	1.70
#4	28.91	28.34	0.98	0.07	2.56
#5	55.34	175.61	6.06	0.52	2.96
#6	50.95	133.01	4.59	0.42	3.18
#7	52.66	109.04	3.76	0.47	4.33
#8	27.31	31.96	1.10	0.03	0.94

The initial DBH of poplar trees ranged between 27.1 – 59.39 mm, the final DBH varied between 27.31 – 60.56 mm. After 29 day (3. 8. – 31. 8. 2011) the mean DBH increment of all trees reached 0.95 mm, which represents mean above-ground biomass increment 292.41 g per tree. Maximal increment was observed by tree #5 – 519.28 g, the lowest increment had tree #8 – 30.07 g per period 3. 8. – 31. 8. 2011. The amount of water lost by transpiration depended on the particular tree DBH, as expected. Transpiration totals ranged varied 28.34 – 175.61 liters per tree and period. Average diurnal sap flow totals for particular trees reached from 0.98 liters (tree #4, DBH 28.34 mm) to 6.06 liters (tree #5, DBH 55.34 mm). WUE ranged from 4.33 to 0.94 and mean value of WUE of all monitored trees reached 2.76 g kg^{-1} (VIII 2011), which is in good agreement with values described in Fischer et al. 2010.

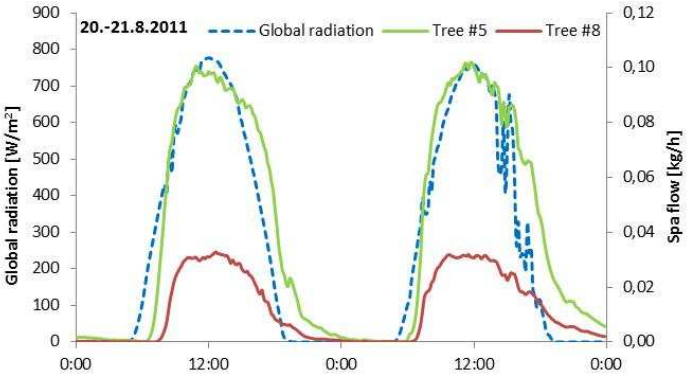


Fig. 1 Comparison of daily course of sap flow between tree #5 (DBH = 55.34 mm) and tree #8 (DBH = 27.31 mm).

In Fig. 1 is depicted daily course of sap flow of two contrasting trees. Tree #5 (final DBH = 55.34 mm) shows highest transpiration rate (21. 8. 2011 reached 10.16 liters in 24h), on the contrary the tree #8 (final DBH = 27.31 mm) showed lowest transpiration rate (21. 8. 2011 reached 6.1 liters in 24h) compared with all sampled trees.

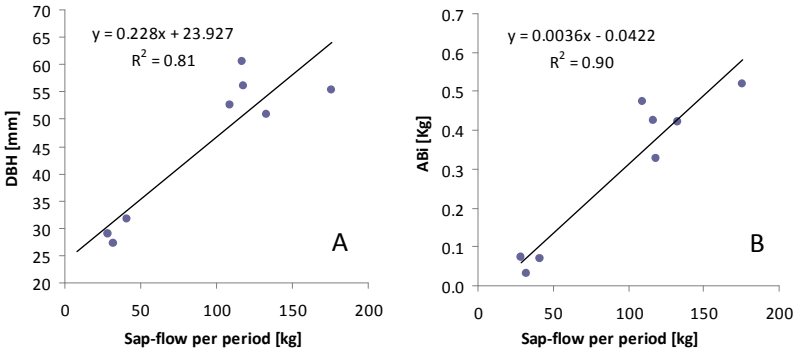


Fig. 2 A illustrates the relationship between DBH of particular tree and its sap flow. B illustrates the relationship between tree sap flow and above-ground biomass increment.

In figure 2 A is depicted relatively close relationship between DBH and transpiration totals for particular trees and period, with coefficient of determination $R^2 = 0.81$. However the "skill" of the linear function is significantly helped by the existence of two distinct group of points with trees having low DBH showing low Sap-flow values and similarly for high DBH. The trees from classes between 30 and 60 mm in diameter will be sampled during the next season. Part of the unexplained variability is due to the influence of soil moisture variability and mutual competition between trees and simultaneously between particular shoots on each stump which were not (yet) considered in this first study. Additional data regarding tree height, soil moisture variability or number of shoots growing from particular stump would provide more accurate results. Figure 2 B depicts similar linkage between transpiration totals and biomass increment. There is almost linear dependence ($R^2 = 0.90$) between an amount of water lost by transpiration and biomass increment, which confirms our initial presumption. As in the case of DBH the robustness of the relationship between Sap-flow and biomass increment have to be increased by additional measurements but the study has proved the concept and selected method.

CONCLUSIONS

Authors have found promising relationship between total amount of water lost by transpiration and above-ground biomass increment with coefficient of determination $R^2 = 0.90$. It was also showed, that the amount of water lost by transpiration is directly linked with DBH of particular tree. This relationship shows coefficient of determination $R^2 = 0.81$. The mean water use efficiency of sampled trees in August 2011 reached 2.76 g kg^{-1}, mean diurnal water loss is 3.25 kg per tree and

the mean above-ground biomass increment reached 292.41 g per tree. These results (after obtaining additional experimental data) can be further used as scaling factors for calculations biomass increments and transpiration from tree level to whole stand level.

REFERENCES

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, vol. 9: 295–301.

De Wit, C.,T. 1958: Transpiration and crop yields. Institute of Biological and Chemical Research on Field Crops and Herbage, No. 64.6, Wageningen, The Netherlands, 88pp.

Dimitriou, I., Rosenqvist, H., Berndes, G. 2011: Slow expansion and low yields of willow short rotation coppice in Sweden; implications for future strategies, Biomass and Bioenergy, Available online 29 September 2011

Hall, R., B., Hanna, R., D. 1995: Exchange, evaluation and joint testing of genetic stock. Biomass and Bioenergy 9, 81 – 88.

Jørgensen, U., Schelde, K. 2001: Energy crop water and nutrient efficiency, The International Energy Agency IEA Bioenergy Task 17, Short Rotation Crops.

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.

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 Environ., 54: 78 – 88.

Sellami, M., H., Sifaoui, M., S. 2003: Estimating transpiration in an intercropping system: measuring sap flow inside the oasis, Agricultural Water Management, Volume 59, Issue 3, 2, 191 – 204.

Wallace, J., S. 2000: Increasing agricultural water use efficiency to meet future food production, Agriculture, Ecosystems & Environment, Volume 82, Issues 1-3, 105 – 119.

Zsuffa, L., 1995. Characterisation of poplar and willow clones and cultivars. Biomass and Bioenergy 9, 53-68.

MAIZE GERMINATION: A PROTEOMIC ANALYSIS

Pavelková R., Černý M., Brzobohatý B.

Laboratory of Molecular Plant Biology, CEITEC MENDELU, Department of Molecular Biology and Radiobiology, Faculty of Agronomy, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: r.pavelkova@seznam.cz

ABSTRACT

Germination of seeds is a complex physiological process which has a tremendous effect on plant growth and development. It is triggered by several stimuli, including imbibition of water. However, exact molecular mechanisms on proteome level are still to be elucidated. The role of light stimulus and the effect of imbibition (24 h) and early germination (48 h) on *Zea mays* seeds proteome was investigated by 2D gel analysis. In proteome maps, significant differences were reproducibly observed for 49 and 35 protein spots in light and dark cultivated seeds, respectively. Further, it was found that absence of light stimulus is not manifested during imbibition, but has a negative effect on number of responsive proteins in the second phase of germination.

Key words: Proteomics, seed germination, 2D electrophoresis

Acknowledgement: This work was supported by grants IAA600040701, LC06034, 1M06030, GAČR 206/09/2062, AV0Z50040507, AV0Z50040702, AV0Z40310501, JCMM grant „Podpora nadaných studentů v rámci Středoškolské odborné činnosti (SOČ)“, and project CEITEC (CZ.1.05/1.1.00/02.0068) from European Regional Development Fund.

ÚVOD

Klíčení rostlin je jedním z tajů přírody, které fascinují lidstvo již odnepaměti. Znamená nejen nový život pro rostlinu, ale především u plodin využitelných v zemědělství i období, které má významný podíl na výsledném výtěžku. Schopnost urychlit či synchronizovat klíčení by zřejmě umožnila pěstovaní některých druhů rostlin i v oblastech, kde běžné vegetační podmínky jejich hospodárný růst neumožňují, či dosáhnout více reprodukčních cyklů během jedné sezóny. Procesy, kterými semínko během jednotlivých fází klíčení prochází, jsou proto intenzivně studovány řadu let, mezi jinými se otázkou klíčení zabýval již Charles Darwin (Darwin, 1855). Moderní metody jsou velkým přínosem při objasňování molekulární podstaty biologických procesů a mnohé je již známo i o klíčení (Weitbrecht a spol., 2011). Především proteomické přístupy se jeví jako velmi užitečné, protože narozdíl od genomických metod umožňují sledovat aktuální stav organismu včetně změn, které se odehrávají pouze na úrovni post-translačních modifikací.

MATERIÁL A METODIKA

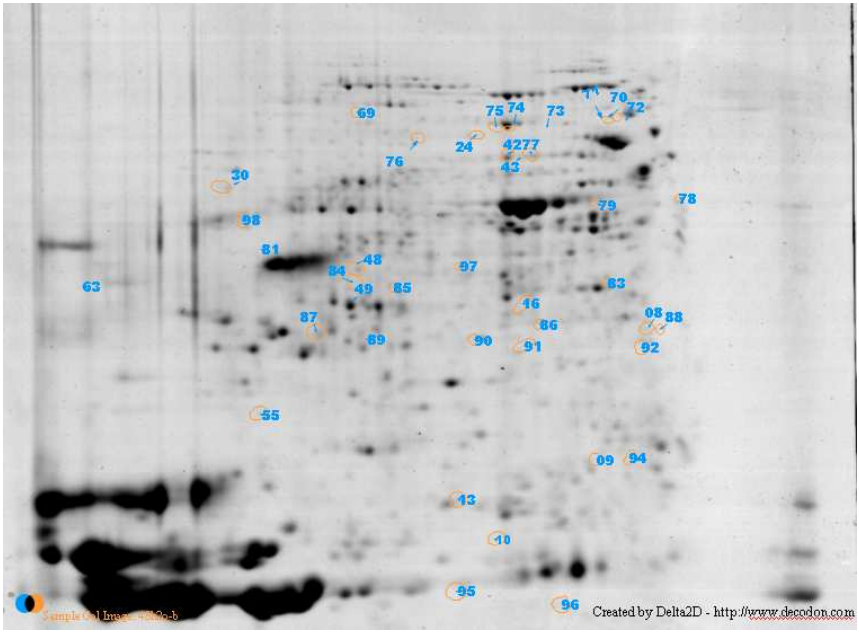
V experimentu bylo použito obilek kukuřice seté (*Zea mays*, kultivar CELUX, Čejč ČR). Obilky byly vysterilizovány [5 min 70% (V/V) ethanol v ddH_2O, 5 min 30% (V/V) roztok Sava v ddH_2O, 10× promytí ddH_2O, 2 min 70% (V/V) ethanol v ddH_2O], vysety na filtrační papír v Petriho misce 12×12 cm, převrstveny 10 ml ddH_2O pro stimulaci imbibice a následně kultivovány v kultivačním boxu Percival s následujícími parametry: (i) 25 °C, kontinuální světlo o intenzitě100 μmol min^{-1} m^{-2} a (ii) 25 °C, kontinuální tma 0 μmol min^{-1} m^{-2} (pro zajištění absence světla byly misky navíc obaleny alobalem). Materiál byl sbírán po 24 a 48 h kultivace a ihned zamražen v tekutém dusíku. Pro analýzu proteomu byla zvolena izolace celkového proteinu pomocí běžné aceton/TCA (kyselina trichloroctová) extrakce. Obilky byly nejprve homogenizovány mlýnem v tekutém dusíku a poté zpracovány způsobem popsaným např. v Černý a spol. (2011). Získaný protein byl pak rozdělen pomocí 2D elektroforézy (Bio-Rad), rozdělené proteiny byly vizualizovány pomocí koloidní Coomassie, digitalizovány pomocí kalibrovaného denzitometru (GS-800, Bio-Rad) a analyzovány softwarem Decodon 3.6 Delta2D (http://www.decodon.com). Spoty signifikantně regulované ve dvou opakováních ($P<0.05$, změna v relativním objemu >50 %) byly dále vyhodnoceny pomocí shlukové analýzy (Cluster 3.0, Java TreeView), vyřezány a připraveny pro identifikaci proteinu metodou MALDI MS.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Vedle teploty a světelné kvality je zřejmě nejvýznamnější stimulus spouštějící klíčení rostlin imbibice. Experimenty s modelovou rostlinou *Arabidospsis thaliana* ukázaly, že nová syntéza proteinů je zahájena již v průběhu prvních 8 hodin imbibice a maxima dosahuje mezi 16 a 24 hodinami (Rajjou a spol, 2006). Nicméně značná část proteomu je během této doby stále tvořena

zásobními proteiny uloženými během dozrávání, což je patrné i na Obr. 1. Cílem této práce bylo porovnat změny proteomu způsobené imbibicí (24 h) a dále průběh klíčení (48 h) kukuřice kultivované při kontinuálním osvětlení a ve tmě. Mapa proteomu obilky kukuřice ukázala průměrně 664 rozdělených proteinových spotů v rozsahu molekulové hmotnosti 10-250 kDa a pI 3-10 (Obr. 1).

Obr. 1 Mapa proteomu obilky kukuřice s vyznačenými proteiny regulovanými v průběhu prvních 48 h klíčení



Celkově bylo nalezeno 49 signifikantně regulovaných spotů v experimentu s kontinuálním osvětlením a 35 v absenci světla ($P<0,05$; 2 biologická opakování) (Obr. 1, Tab. 1). Bližší porovnání obou sad ukázalo, že první fáze (imbibice) vykazuje u řady proteinů podobný účinek na jejich regulaci a zřejmě se tedy tyto děje spouští pouhým pronikáním vody do obilky. Oproti tomu porovnání proteomu po 48 hodinách ukazuje markantní rozdíl v rostlinách klíčících v absenci světelného stimulu, kde evidentně dochází k utlumení účinků imbibice (Tab. 1).

Tab. 1 Rozdělení signifikantně regulovaných proteinových spotů v průběhu klíčení kukuřice

	24 h		***48 h***	
Osvětlení [μmol min^{-1} m^{-2}]	***Snížení množství proteinu***	***Nárůst množství proteinu***	***Snížení množství proteinu***	***Nárůst množství proteinu***
100	***33***	***4***	***35***	***11***
0	***25***	***4***	***9***	***10***

ZÁVĚR

Podařilo se získat náhled proteomu klíčící kukuřice. Experimenty ukázaly, že proteom výrazně reaguje na přítomnost/absenci světelného stimulu v průběhu 2. fáze klíčení. Práce poskytla řadu cenných informací, které poslouží jako základ dalších detailních studií.

Tato práce vznikla za finanční podpory projektů: IAA600040701, LC06034, 1M06030, GAČR 206/09/2062, AV0Z50040507, AV0Z50040702, AV0Z40310501 a podpory JCMM „Podpora nadaných studentů v rámci Středoškolské odborné činnosti (SOČ)“ a ERDF projektu CEITEC (CZ.1.05/1.1.00/02.0068).

LITERATURA

Černý M, Dyčka F, Bobál'ová J, Brzobohatý B (2011): Early cytokinin response proteins andphosphoproteins of Arabidopsis thaliana identified by proteome and phosphoproteome profiling. Journal of Experimental Botany, 62, 921-937.

Darwin CR (1855): Effect of salt-water on the germination of seeds. Gardeners’ Chronicle and Agricultural Gazette, 47, 773.

Rajjou L, Belghazi M, Huguet R, Robin C, Moreau A, Job C, Job D. (2006): Proteomic investigation of the effect of salicylic acid on Arabidopsis seed germination and establishment of early defense mechanisms. Plant Physiology, 141, 910–923.

Weitbrecht K, Muller K, Leubner-Metzger G (2011): First off the mark: early seed germination. Journal of Experimental Botany, 62, 3289-3309.

INDUCTION OF VIRAL AND INSECTS RESISTANCE IN PEA THROUGH TRANSGENESIS

Rohrer M., Břusková H., 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 aim of this work was to create a plasmid construct which should induce the resistance of pea plants to viral diseases and insects after the transformation with *Agrobacterium tumefaciens*. The final construct pWELL14 is based on the plasmid pWELL11, which was constructed in the vector system pGREEN. pWELL11 contained a serine protease inhibitor gene SPI2 fused with GFP reporter sequence, driven by 35S promoter (Triple X) and the OCS terminator. Furthermore pWELL11 carried the selection gene *bar* for resistance to phosphinothricin, *nptII* gene for bacterial resistance to kanamycin and the β-glucuronidase reporter gene *uidA*. Into this recombinant plasmid a part of the construct pWELL12 was inserted carrying cDNA fragments of the coat proteins (CP) of pea seed-borne mosaic virus (PSbMV) and pea enantion mosaic virus (PEMV) and a fragment of MP (PEMV) cDNA in sense / antisense orientation between the 35S promoter and OCS terminator. This cassette should produce after transcription a hairpin RNA conformation (hpRNA) which plays a key role in induction of post-transcriptional gene silencing (PTGS) causing in the transformed plants resistance to both viruses. The expression of the SPI2 gene for a protease inhibitor should cause resistance in the transformed plant to insect pests. The created pWELL14 construct was tested by transformation of tobacco leaf disks and subsequent GUS test with positive results.

Key words: pea, transformation, *A. tumefaciens*, post-transcriptional gene silencing, resistance

Acknowledgement: This work was supported by a grant IGA FA MENDELU Nr. TP7/2011.

ÚVOD

Hrách setý (*Pisum sativum* L.) patří k nejrozšířenějším luskovinám a vyznačuje se cennými agronomickými vlastnostmi. Luskoviny jsou obecně dobrou předplodinou především pro pšenici a představují významný zdroj rostlinných bílkovin a pro jejich úzký poměr k sacharidům jsou důležitou složkou v krmných směsích živočišné výroby nebo při přímém konzumu v lidské výživě (Candráková 2009). V zemědělství jsou kladeny stále větší nároky na objem a kvalitu produkce.

Jednou z nejčastějších viróz hrachu setého v ČR je enační mozaika hrachu (PEMV), často v komplexu se semenem přenosnou mozaikou hrachu (PSbMV). Tyto mohou být příčinou až 80% ztráty na výnosu semen. Jedním z přenašečů těchto viróz je kyjatka hrachová (*Acyrthosiphon pisum* Harris), právě z tohoto důvodu je vnímána jako nejzávažnější hmyzí škůdce hrachu v ČR (Seidenglanz 2011). Další z řad hmyzích škůdců jsou třásněnky (*Thripidae*), listopas čárkovaný (*Sitona lineatus L.*), nebo zrnokaz hrachový (*Bruchus pisorum L.*).

Chemická ochrana rostlin proti škůdcům a patogenům je značně nákladná a má negativní vliv na životní prostředí. Vhodnější je pěstování rezistentních odrůd zemědělských plodin.

Jednou z metod používanou genovým inženýrstvím pro tvorbu rezistentních rostlin vůči virovým onemocněním je využívání posttranskripčního utišení genů invertovanými sekvencemi (PTGS), který ve své práci popsal Berstein et. al., (2001). Při vnesení fragmentů genů virů do genomu rostlin v sense/antisense orientaci dochází k vytvoření vlásenkové hairpinRNA (hpRNA). Jako vnášené 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.

Proteolytické enzymy katalyzují štěpení molekuly bílkoviny na menší řetězce a posléze až na jednotlivé aminokyseliny. Serinové proteasy byly nalezeny v zažívacím traktu mnohých zástupců hmyzu, zejména řádu motýlů (*Lepidoptera*), který zahrnuje celou řadu významných škůdců kulturních rostlin. Inhibitory proteas inhibují proteasovou aktivitu těchto trávicích enzymů a snižují tak množství strávených proteinů. Inhibice proteas zároveň vede k nadprodukci trávicích enzymů, což má za následek vyčerpání rezerv sirných aminokyselin. Výsledkem těchto pochodů je oslabení hmyzu, jeho omezený vývoj a často i smrt. Inhibitory serinových proteas mají optimální pH prostředí 9-11, což koresponduje s obvyklým pH střevního traktu řady zástupců *Lepidoptera*

(Hraška 2006). Jedním z vhodných genů pro navození rezistence rostlin vůči požerovému hmyzu je *SPI2* izolovaný ze zavíječe voskového (*Galleria mellonella* L.) (Nirmala et al., 2001).

V této práci bylo využito jak PTGS, tak i inhibitorů proteas k vytvoření transgenních rostlin hrachu, s předpokladem vzniku rezistence rostlin vůči virům PSbMV a PEMV a rovněž také vůči hmyzím škůdcům.

MATERIÁL A METODIKA

V Práce byla rozdělena na dvě části. První část spočívala v tvorbě konstruktu pWELL12 obsahující sekvence genů plášťových proteinů virů semenem přenosné mozaiky hrachu (PSbMV) a enační mozaiky hrachu (PEMV) v sense/antisense orientaci, jehož T-DNA inkorporovaná do genomu rostliny by měla navodit rezistenci vůči oběma virózám. Druhá část práce zahrnovala přenesení kazety se sekvencemi genů plášťových proteinů virů v sense/antisense orientaci mezi 35S promotorem a OCS terminátorem z pWELL12 do již dříve vytvořeného konstruktu pWELL11B, který obsahuje gen (*SPI2*) pro inhibitor serinových proteas. Tento gen by měl navodit u transformované rostliny rezistenci vůči požerovému hmyzu.

Konstrukt pWELL12 byl vytvořen na základě vektorového systému pGREEN II. V práci byla použita verze pGREEN II 229, která obsahuje rovněž selekční gen *bar* pro rezistenci k fosfinotricinu (glufosinát - účinná látka komerčních herbicidů Liberty-Link®, Basta®, Finale®, Radicale), gen *nptI* pro bakteriální rezistenci k antibiotiku kanamycin a také reportérový gen *uidA*, který produkuje β-glukuronidázu. Mezi restrikční místo *Not*I byla vložena kazeta 35S::cpPSbMV:cpPEMV:mpPEMV. Pro sestavování této kazety byly vybrány sekvence cDNA virů PSbMV a PEMV s ohledem na ustálenost sekvencí u různých kmenů virů a s ohledem na použité restrikční enzymy a to: fragmenty cDNA genů pro cp (coat protein) virů PEMV (131 bp) a PSbMV (137 bp) a fragment cDNA genu mp (movement protein) PEMV (149 bp). Ty byly amplifikovány pomocí PCR za použití primerů obsahujících přídané cílové sekvence pro vhodné restrikční endonukleázy. Produkty PCR byly po agarózové elektroforéze purifikovány z gelu pomocí kitu Invisorb Fragment CleanUp (Invitek) a koncentrace DNA byla stanovena fluorimetricky. Jednotlivé fragmenty byly pomocí DNA-ligázy vloženy do vektoru pGEM-T (Promega). Elektroporací byly plazmidy pGEM-T transformovány elektrokompetentní buňky *Escherichia coli* kmen Top 10 a klonovány. Pomocí modro/bílé selekce byly vybrány pozitivní kolonie *E. coli* a ty byly přeneseny do roztoku Tris/ $MgCl_2$ (50mM $MgCl_2$, 50 mM Tis Cl pH 7), kde byly jednotlivé kolonie *E. coli* krátkodobě uchovány v chladničce a zároveň posloužily jako templát pro kontrolní PCR. Vybrané kolonie byly namnoženy v tekutém LB mediu a pomocí GeneJET Plasmid Miniprep Kit (Fermentas) z nich byla izolována plazmidová DNA, která byla testována pomocí PCR a restrikční analýzy a poté sekvenována.

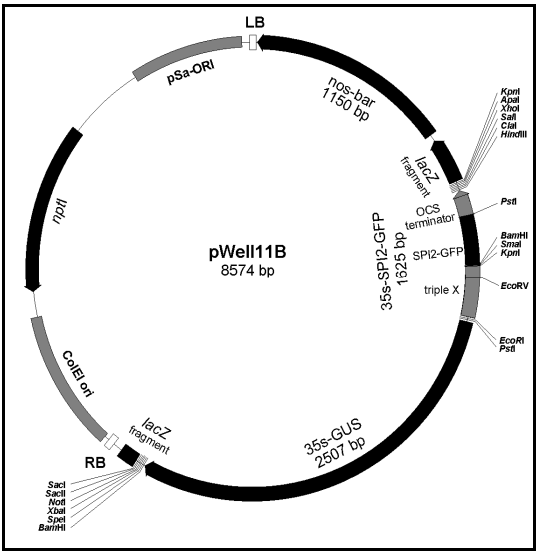
Jednotlivé fragmenty virové cDNA byly, po namnožení a kontrole, pomocí restrikce a následné ligace postupně klonovány za sebe do vektoru pBluescript. Po opětovném namnožení v *E. coli* a izolaci plazmidové DNA byla celá vložená sekvence amplifikována pomoci PCR za použití

primerů s jinými přídatnými cílovými sekvencemi pro restrikční endonukleázy. To umožnilo vložení obou těchto sekvencí do vektorového systému pHANNIBAL (CSIRO) v orientaci sense/antisense mezi 35S promotor a OCS terminátor tak, aby mezi nimi byl intron. Průběžně bylo prováděno testování pomoci PCR, restrikční analýzy a poté byla provedena sekvenace. Nakonec byla celá kazeta 35S::cpPSbMV:mpPEMV:cpPEMV přenesena do vektorového systému pGREENII. Hotový konstrukt byl nazván pWELL12 (Obr. 2).

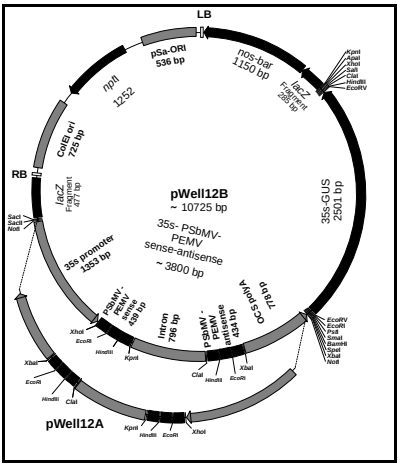
Po namnožení konstruktu pWELL12 a izolaci plazmidové DNA byly pomocí restrikční analýzy odlišeny dvě verze pWELL12A a pWELL12B v závislosti na směru čtení GUS genu *uidA*.

Elektroporací byly konstruktem pWELL12 spolu s pomocným plazmidem pSoup transformovány kompetentní buňky *Agrobacterium tumefaciens* kmen EHA 105. Pro ověření funkčnosti byl konstruktem pWELL12 transformován tabák virginský (*Nicotina tabacum*) kmen SR-1, jako modelová rostlina pro transformace pomocí *A. tumefaciens*. Tabák byl transformován metodou transformace listových disků. Korkovrtem byly vyřezány disky z listů tabáku a ty byly máčeny jednu minutu v suspenzní kultuře *A. tumefaciens*. Po osušení byly listové disky dány na kultivační médium MS 0,1/1. Po třech dnech kultivace byli explantáty převedeny na medium MS 0,1/1 s augmentinem a několik málo disků bylo použito na histochemický GUS test podle Fütterera et al. (1995). Tři až čtyři týdny staré regeneranty byly přeneseny na selekčním medium MS 0,1/1 s augmentinem a fosfinotricinem.

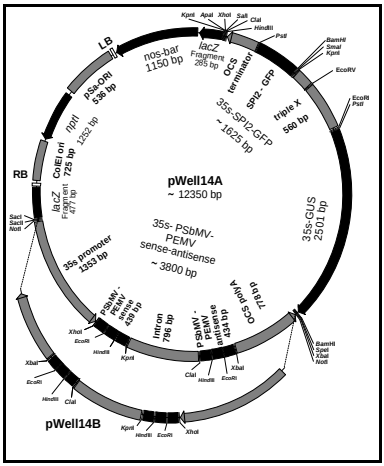
Dále byl vytvořen konstrukt pWELL14B (Obr. 3). Ze zhotoveného konstruktu pWELL12 byla pomoci restrikční endonukleazy *NotI* vyjmuta kazeta 35S::cpPSbMV:mpPEMV:cpPEMV a poté byla vložena do již dříve zhotoveného konstruktu pWELL11B (Obr. 1). Tento konstrukt byl také založen na vektorovém systému pGREENII 0229 a obsahoval navíc gen pro inhibitor serinových proteás SPI2 fúzovaný s reporterovým genem GFP. Tyto dva geny byly regulovány promotorem 35S (triple X) a terminátorem OCS. Hotový konstrukt pWELL14B byl opět průběžně testován pomocí PCR, restrikční analýzy, sekvenace a poté pomocí transformace rostlinných disků tabáku.



Obr. 1: konstrukt pWELL12A, B



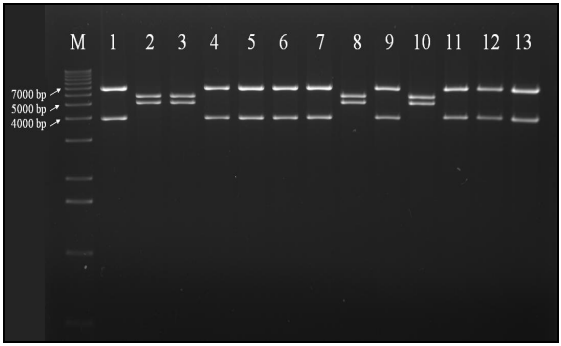
Obr. 2: konstrukt pWELL12B



Obr. 3: konstrukt pWELL14B

VÝSLEDKY A DISKUZE

V první části této práce se podařilo na základě vektorového systému pGREENII 0229 vytvořit konstrukt pWELL12, který nese fragmenty cDNA genů pro cp virů PEMV a PSbMV a fragment cDNA genu mp PEMV v sense/antisense orientaci mezi 35S promotorem a OCS terminátorem. Při tvorbě konstruktu byl využit plazmid pHANNIBAL. Wesley et. al., (2001) se ve své práci zmiňuje o vhodnosti plazmidu pHANNIBAL pro snadnější tvorbu konstruktů využívajících posttranskripční utišení genů a jeho používání při studiu genů. Bylo zjištěno, že intron mezi fragmenty poskládané v sense/antisense orientaci značně zvyšuje účinnost PTGS. Dále konstrukt obsahuje reportérový gen *uidA* vhodný pro rychlé testování transformovaných rostlin (například pomocí histochemického GUS testu), selekční gen *nos-bar* navozující rezistenci transgenní rostliny k herbicidům s účinnou látkou fosfinotricin, gen *Npt*I pro bakteriální rezistenci k antibiotiku kanamycin, *lacZ* gen kódující ß-galaktosidázu pro modrobílou selekci bakterií a dále obsahuje mnohonásobné klonovací místo (polylinker). Pro umožnění replikace v *E. coli* a A. *tumefaciens* plazmid dále nese dvě *ori* místa.

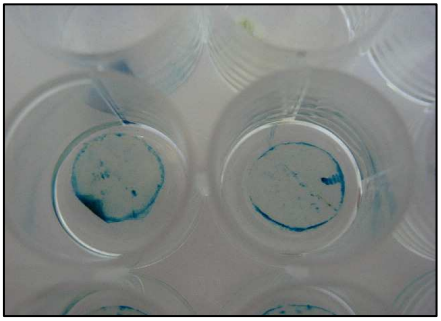


Obr. 4: Restrikční analýza (XhoI) M – velikostní marker 1kb ladder 1,4,5,6,7,9,11,12,13 – pWell12A 2,3,8,10 – pWell12B

Pomocí restrikční analýzy jsme rozlišili dvě varianty konstruktu a to pWELL12A a pWELL12B (Obr. 4). Tyto plazmidy se liší ve směru čtení operonu nesoucího *uidA.* Umístění promotoru na tomto genu by mohlo ovlivnit expresi i okolních genů. V průběhu práce byly prováděny kontroly pomocí PCR, restrikční analýzy a jednotlivé vkládané fragmenty byly sekvenovány pro ověření absence mutací. Hotovím konstruktem pWELL12 byl poté metodou transformace listových disků podle Dombrowského et al.(1994) transformován tabák jakožto modelová rostlina pro transformace pomocí *Agrobacterium tumefaciens*. Úspěšnost transformace byla prokázána pomocí pozitivního GUS testu listových disků tabáku. Po zregenerování celých rostlin bude GUS test opakován a doplněn PCR. Tento konstrukt by měl u cílové rostliny, což je hrách setý, který se bude transformovat metodou transformace hrachových semen *in vitro* podle Švábová et al., (2005), vyvolat rezistenci vůči virům PSbMV a PEMV způsobenou vlivem posttranskripčního utišení genů

PTGS. O využívaní PTGS při ochraně rostlin proti virózám pojednává Kyrychenko et. al., (2007) a Jones et al., (1998) jej využil při tvorbě hrachu odolnému k PSbMV.

V druhé části práce byl využit vytvořený konstrukt pWELL12 a dříve vytvořený konstrukt pWELL11B k tvorbě vektoru, který by spojil indukci rezistence k virům PSbMV a PEMV s indukcí rezistence proti požerovému hmyzu vyvolávané konstruktem pWELL11B. Zhotovený vektor pWELL14B byl opět v průběhu práce testován pomocí PCR, restrikční analýzy a sekvenování. Schopnost transformovat dvouděložné rostliny byla i tentokrát testována pomocí transformace listových disků tabáku a následného GUS testu, který dal pozitivní výsledky (Obr. 5). Další práce bude spočívat v transformování rostlin hrachu zhotoveným konstruktem pWELL14B.



Obr. 5: Pozitivní GUS test listových disků tabáku

ZÁVĚR

Podařilo se připravit konstrukt pWELL12, který nese fragmenty cDNA genů pro cp virů PEMV a PSbMV a fragment cDNA genu mp PEMV v sense/antisense orientaci mezi 35S promotorem a OCS terminátorem a transformovat tímto vektorem rostliny tabáku. Dále byl vytvořen konstrukt pWELL14B, který navíc obsahuje gen pro inhibitor serinových proteás *SPI2* a reportérový gen pro GFP taktéž pod regulací trojnásobného 35S promotoru a OCS terminátoru. Tento konstrukt spojuje navození rezistence vůči hmyzím škůdcům a virózám, které by měl indukovat v transformovaných rostlinách hrachu. Vzhledem k obtížnosti transformace hrachu je to významný krok k usnadnění přípravy transgenních linií rezistentních vůči uvedeným chorobám a škůdcům.

LITERATURA

Bernstein, E., Caudy, A., Hammond, S., Hannon, G. (2001): Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. Nature, 18: 363-6.

Candráková, E., Hanáčková, E. (2009): Kvalita semen hrachu siateho v závislosti od podmienok pestovania. Acta fytotechnica et zootechnica – Mimoriadne číslo: 88-95.

Dombrowski, J.E., Gomez, L., Chrispeels, J., Raikhel, N.V. (1994): Targeting of proteins to the vacuole. In: Gelvin, S.B., Schilperoort, R.A. (1995): Plant molecular biology manual, Kluwer academic publishers, Dordrecht.

Fütterer, J., Gisel, A., Iglesias, V., Klöti, A., Kost, B., Mittelsten S, O., Neuhaus, G., Neuhaus-Url, G., Schrott, M., Shillito, R., Spangenberg, G., Wang, Z.Y. (1995): Standard Molecular Techniques for the Analysis of Transgenic Plants. In: Potrykus, I., Spangenberg, G. (1995): Gene transfer to plants. Springer-Verlag, Berlin.

Hellens, R. P., Edwards, E. A., Leyland N. R., Bean, S., Mullineaux P. M. (2000): pGreen: a versatile and flexible binary Ti vector for Agrobacterium-mediated plant transformation. Plant Mol. Bio., 42: 819-832.

Hraška, M., Rakouský, S., Čurn, V. (2006): Inhibitory proteas, mechanism účinku a perspektivy jejich vyuțití v transgenozi rostlin. Chem. listy, 100: 501 – 507.

Jones, A., Johansen, I., Bean, S., Bach, I., Maule, A. (1998): Specificity of resistance to pea seed-borne mosaic potyvirus in transgenic peas expressing the viral replicase (Nlb) gene. J Gen Virol, 79: 3129-37.

Kyrchenko, A. M., Telegeyeva, T. A., Kovalenko, O. G. (2007): Molecular and Genetic Mechanisms of Resistance of Plants to Viruses. Tsitolgiya i Genetika, 41: 67-79.

Seidenglanz, M., Huňady, I., Poslušná, J., Loes, A. (2011) Influence of Intercropping whit Spring Cereals on the Occurrence of Pea Aphids (Acyrthosiphon pisum Harris, 1776) and their Natural Enemies in Field Pea (Pisum sativum L.). Plant Protect. Sci., 47: 25-36.

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.

Wesley, S., Helliwell, C., Smith, N., Wang, M., Rouse, D., Liu, Q., Gooding, P., Singh, S., Abbott, D., Stoutjesdijk, P., Robinson, S., Gleave, A., Green, A., Waterhouse, P. (2001): Construct design for effcient, effective and high-throughput gene silencing in plants. Plant J., 27: 581-90.

THE EFFECT OF COLD ACCLIMATIZATION AND DROUGHT ON *COR/LEA* GENES EXPRESSION LEVEL IN WINTER WHEAT

Ryšková T., Smutná P., 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: xsiplako@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of this study was to detect whether the plant acclimatization will result in changes in activation of drought-related *Cor/Lea* genes and whether this process will affect also the plant reaction on drought stress.

The cold acclimatization effect on the protective reactions of plants to drought stress was studied in two varieties of winter wheat (Etela and Venistar) with different level of drought tolerance.

The plant protective reactions were evaluated on the relative expression level of two *Cor/Lea* genes (*Wdhn13* and *Wrab17*). The plants after acclimatization showed more intensive reaction of *Wdhn13* and *Wrab17* to drought stress. Their survival role after second cycle of drought stress was lower. Higher relative expression of both genes was detected in variety Venistar which can be connected to better drought tolerance.

The immediate effect of cold acclimatization on the regulation of *Wdhn13* and *Wrab17* gene expression was not observed.

Key words: winter wheat, drought, cold acclimatization, expresion, *Cor/Lea* genes

Acknowledgement: This study was supported by the Internal Grant Agency of Faculty of Agronomy in Mendel University, project SP2100171

MODULATION OF HEAT-STRESS RESPONSIVE PROTEOME IN TRANSGENIC *ARABIDOPSIS THALIANA* PLANTS WITH INDUCIBLY-INCREASED LEVELS OF ENDOGENOUS CYTOKININS

Skalák J.[1], Černý M.[1], Jedelský P.[2], Vaňková R.[3], Brzobohatý B.[1]

[1] Laboratory of Molecular Plant Biology, CEITEC MENDELU, Mendel University in Brno & Institute of Biophysics AS CR, v.v.i Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

[2] Faculty of Science, Charles University in Prague, Czech Republic

[3] Institute of Experimental Botany AS CR, v.v.i. Prague, Czech Republic

E-mail: skalakjan7@gmail.com

ABSTRACT

Cytokinins (CK) are phytohormones with important role in plant growth and development and they are known to participate in number of plant signaling pathways. In our recent work we found link between temperature perception and early responses to CKs and in this follow-up project we studied the effect of inducibly-increased CK levels on temperature-stress responses. Plants were subjected to 3 different kinds of heat stress for up to 3 hours: heat stress from above (leaves), heat stress from below (roots) and heat stress on the whole plant. We analyzed heat stress induced responses by 2-D gel electrophoresis followed by MALDI-TOF/TOF protein identification in root proteome and Rubisco-immunodepleted leaf proteome in plants with increased endogenous CK levels, and wild-type (Col.). In numbers, we found more than 100 responsive proteins and most of these heat-stress responsive proteins exhibit strong modulations by increased CK levels. Moreover, our results indicate interesting interplay between heat-stress perception in roots and leaves.

Key words: cytokinins, temperature, *Arabidopsis thaliana*

Acknowledgement: Supported by grants IAA600040701, LC06034, 1M06030, GACR 206/09/2062, AV0Z50040507, AV0Z50040702, AV0Z40310501, and project CEITEC (CZ.1.05/1.1.00/02.0068) from European Regional Development Fund.

ÚVOD

Vzhledem k rostoucímu zájmu společnosti o ekologii, ale i snaha agronomů šlechtit rostliny odolnější vůči vnějším nepříznivým podmínkám, je studium environmentálních vlivů na rostlinné organismy v dnešní době velice populární, avšak málo probádané téma. Například o vnímání a signalizaci tepla v rostlinném těle na molekulární úrovni existuje pouze málo informací (Penfield, 2008). Proto tato práce řeší problematiku teplotního stresu na různé části rostlinného těla a zkoumá molekulární odpovědi pomocí moderních metod molekulární biologie, převážně proteomiky. Takto jsme schopni zaznamenat funkční a strukturní změny v odpovědi na teplotní stres a zkoumat tak podstatu ovlivněných molekulárních reakcí, ba co více, pomocí transgenních linií jsme schopni upravovat hladiny fytohormonů, které stojí za celou řadou odpovědí rostliny na změnu vnitřních, ale i vnějších podmínek. Existuje již několik prací, které předpokládají vliv hormonu cytokininu (CK) na vnímání teploty (Hare et al., 1997; Burkhanova et al., 2001; Jeon et al., 2010; Černý et al., 2010). Je známo, že cytokininy mají odlišný účinek na kořenovou a nadzemní část rostlin. Stejně tak lze očekávat, že i odpověď na změny v teplotě bude mít odlišný projev. Přesto doposud nebyla provedena žádná studie, která by důkladně sledovala tyto jevy současně. Teplotní stres je v této práci aplikován tak, aby částečně simuloval působení teploty na rostlinu během dne: (i) 40 °C pouze na listy, (ii) celou rostlinu a (iii) pouze na kořeny.

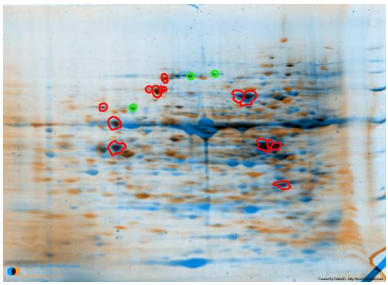
MATERIÁL A METODIKA

Pro studium účinku teploty a cytokininů byly použity rostliny *Arabidopsis thaliana* (Col-0) a transgenní linie *CaMV35S*>GR>*ipt* (pOpBK-*ipt*) (Craft et al., 2005), u kterých je možné indukovatelně zvýšit hladiny aktivních cytokininů. Rostliny byly pěstovány hydroponicky (Hoaglandovo medium) po 4 týdny za standardních podmínek (21 °C/19 °C den/noc, 16-h fotoperioda 90 µmol m^{-2} s^{-1} světelné intenzity) v kultivačním boxu (AR36LX, Percival). Po 4 týdnech kultivace byly rostliny ošetřeny 24 hodinovou aplikací 20 µM dexamethazonu (DEX), který slouží jako aktivátor systému transgenní linie. Poté byly rostliny vystaveny teplotnímu stresu zvlášť na kořeny, zvlášť na listy a na kořeny s listy dohromady. Sbírání vzorků probíhalo ve třech časových bodech (0 min, 30 min, 180 min). Po sběru byly vzorky okamžitě zamraženy v tekutém dusíku. Zmražené vzorky byly homogenizovány v množství po 180 mg a celkový protein byl vyextrahován pomocí 0,5 ml TBS pufru (10mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, pH 7,4) s přídavkem inhibitorů proteas a PVPP (polyvinylpyrrolidon, Sigma-Aldrich). Listový extrakt byl přenesen na IgY-Rubisco Spin Column (GenWay Bitech/Sigma-Aldrich). Po 20 minutách v třepačce (20°C, 800 RPM) byl vzorek zbavený RuBisCO získán centrifugací. Listové i kořenové vzorky byly zkoncentrovány pomocí Amicon Ultra-15 Centrifugal Filter Unit a extrahovány acetonovou (TCA) extrakcí (Damerval, 1986). Rozpuštěný proteom byl nanesen na IPG stripy (pI 3-10, nelineární

gradient, Bio-Rad, http://www.bio-rad.com/). Po izoelekrické fokusaci (150 V 20 min, 300 V 20 min, 600 V 20 min, 1500 V 20 min, 3000 V 20 min a 4000 V stoupající na 12 000 V za hodinu, PROTEAN IEF Cell Unit, Bio-Rad) byl proteom dále rozdělen pomocí SDS-PAGE (dodecylsíran sodný v gradientovém 8-20% polyakrylamidovém gelu, Mini-PROTEAN 3 Dodeca Cell, Bio-Rad: 100 V 10 minut a 150 V 60 minut). Výsledné gely byly několikrát promyty destilovanou vodou a obarveny Bio-Safe Coomasie G-250 (Bio-Rad). Obarvené gely byly neskenovány kalibrovaným Densitomentrem GS-800 (Bio-Rad) s rozlišením 700 dpi. Analýza obrazu byla provedena Decodon Delta 2D softwarem, kde míra signifikace byla nastavena při $p<0,05\%$ na +/- 1,4 (porovnání relativního objemu nultých bodů obou linií s ostatními časovými body). Signifikantní spoty byly vyřezány, digestovány trypsinem a analyzovány pomocí MALDI TOF/TOF MS.

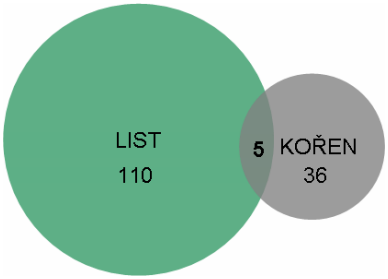
VÝSLEDKY A DISKUZE

Analýza obrazu 2D gelů ukázala, že v listovém proteomu je mnohem více teplotou regulovaných spotů než v kořenovém proteomu. Z celkového počtu regulovaných spotů patřilo 75% listové části a 25% kořenové části, i když celkový počet spotů je v obou rozděleních srovnatelný. Porovnání obrazu překryvu 2D map kořenového a listového proteomu (Obr 1.) ukazují veliké rozdíly mezi jednotlivými proteiny.



Obr. 1 Překryv 2D map proteomů kořene a listu. Barevně vyznačeny spoty se shodnou pozicí na gelu.

Po analýze hmotnostní spektrometrií bylo zjištěno, že překryv signifikantně regulovaných proteinů v kořenovém a listovém proteomu byl skutečně velice malý, a to pouze v 5 případech (Obr. 2).



Obr. 2 Překryv signifikantně regulovaných proteinů listového a kořenového proteomu.

ZÁVĚR

Tato práce úspěšně využila moderní metodu deplece Rubisco použitím IgY-Rubisco Spin Column, jejíž optimalizace pro 2D proteomiku byla nedávno publikována v Černý et. al, 2011. Z výsledku je patrné, že sledování proteomu kořene a listu je vhodné provádět separátně. Stresování teplem spolu se zvýšenou hladinou endogenních cytokininů se ukázalo jako velice důležité a doposud nedostatečně probádané téma. Získané výsledky poslouží k hlubšímu porozumění signalizace a odpovědí mezi kořenovým a listovým proteomem. Současná analýza proteomu zkoumaných rostlin spolu s dalšími přístupy jako transkriptomika nebo metabolomika napomůže k pochopení reakcí souvisejících s odpovědí rostlin na teplotní stres.

LITERATURA

Burkhanova E. A., Mikulovich T. P., Kudryakova N. V., Kukina I. M., Smith A. R., Hall M. A. and Kulaeva O. N. (2001) Heat shock pre-treatment enhances the response of *Arabidopsis thaliana* leaves and *Cucurbita pepo* cotyledons to benzyladenine. Plant Growth Regulation 33: 195–198.

Craft J., Samalova M., Baroux C., Townley H., Martinez A., Jepson I., Tsiantis M., Moore I. (2005) New pOp/LhG4 vectors for stringent glucocorticoid-dependent transgene expression in *Arabidopsis*. The Plant Journal 41, 899–918.

Damerval C., De Vienne D., Zivy M. and Thiellement H. (1986) Electrophoresis, 7, 52-54.

Černý M., Dyčka F., Bobál'ová J. and Brzobohatý B. (2010) Early cytokinin response proteins and phosphoproteins of *Arabidopsis thaliana* identified by proteome and phosphoproteome profiling. Journal of Experimental Botany, 1-17.

Černý M., Skalák J., Kurková B., Babuliaková E., Brzobohatý B. (2011) Využití komerční metody imunochemického odstranění RuBisCO v analýze rostlinného proteomu. Chemické Listy 105, 640-642.

Hare P. D., Drese W. A. and van Staden J. (1997) The involvement of cytokinins in plant responses to environmental stress. Plant Growth Regulation 23: 79–103.

Jeon J., Kim N. Y., KimS., Kang N. Y., Novák O., Ku S.-J., Cho Ch., Lee D. J., Lee E.-J., Strnad M. and Kim J. (2010) A Subset of cytokinin two-component signaling system plays a role in cold temperature ctress response in *Arabidopsis*. The Journal Of Biological Chemistry VOL. 285, NO. 30, 23371–23386.

EFFECT OF CADMIUM ON TOBACCO CELL SUSPENSION BY-2

Štěpán Z., Klemš M., Zítka O., Havel L.

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

E-mail: Zdenek279@gmail.com

ABSTRACT

Our objective was to clarify the character of influence of cadmium as a significant pollutant on tobacco cell suspension BY-2. Cadmium hardly damages tobacco cells, namely by oxidative stress. Concretely was studied the influence of cadmium on viability of suspension, number of cells of suspension, raising of pH of medium, morphology of suspension, dry matter of suspension and the content of glutathione in suspension cells. Viability was measured by means of fluorescence microscopy on Olympus IX 70 microscope, number of cells on Fuchs-Rosenthal hematocytometer, dry matter by means of lyophilisation, pH on pH meter, morphology microscopically on Olympus E 410 microscope, glutathione spectrophotometrically after reaction with Ellmann surfactant. All characteristics were influenced by cadmium. Viability was in both variants in which cadmium was added lower in comparison with control variants without content of this metal. The number of cells was in fifth and eighth day of experiment lower by variants with cadmium in comparison with variants with the same pH but without cadmium. Cadmium caused raise of medium pH from pH 3.5 to pH 5.5. It also caused decrease of dry matter of suspension cells in fifth and eight day of cultivation by cultivation in medium with pH 3.5. In case of glutathione, only the reduced form of it raised up, the oxidized form remained low. The experiment led to enrichment of knowledge about the influence of cadmium on plant cell

Key words: cadmium, tobacco cell suspension, BY-2, viability, cell number, glutathione

Acknowledgement: this experiment was supported by the help of collective grant IGA 7/2011

ÚVOD

Suspenze rostlinných buněk představují významný experimentální materiál, který se ve větším měřítku používá od druhé poloviny 20. století. Úspěšnost mnoha pokusů prováděných na suspenzích rostlinných buněk je dána do značné míry tím, že tyto suspenze představují jednodušší systémy, než jsou intaktní rostliny, a proto se u nich dá dobře odlišit vliv jednotlivých faktorů, jimiž jsou ovlivňovány. Disponují celou řadou fyziologických charakteristik, které velmi rychle a ochotně reagují na změnu podmínek či ošetření. Jednou z oblastí botaniky, ve které hrají suspenze rostlinných buněk významnou roli, je studium vlivu polutantů (například těžkých kovů) na rostlinnou buňku. Těžké kovy způsobují u buněk suspenzí řadu negativních změn, jako jsou například negativní změny v membránových přenosech, negativně ovlivňují fotosyntézu, činnost ATPázy, dělení buněk, jejich morfologii a viabilitu a způsobují oxidativní stres (ŹRÓBEK-SOKOLNIK et al., 2009). Rostlina na tyto negativní vlivy reaguje například tvorbou stresových proteinů, fytochelatinů, imobilizací buněčné stěny, programovanou buněčnou smrtí a celou řadou jiných fyziologických reakcí. Tyto jevy jsou u suspenzí rostlinných buněk dobře pozorovatelné a umožňují využití v oblastech studia vlivu polutantů na buněčnou morfologii a subcelulární struktury rostlinných buněk, na metabolismus na buněčné úrovni, na depozici těžkých kovů v rámci buněk suspenze a na procesy detoxikační, adaptační či degenerativní.

MATERIÁL A METODIKA

Vliv kadmia byl testován za použití 4 variant – varianta kontrola pH 5,5, varianta kontrola pH 3,5, varianta s obsahem kadmia pH 5,5 a varianta s obsahem kadmia pH 3,5. Dvě různé hodnoty pH byly použity z toho důvodu, že nižší hodnota pH podporuje příjem kadmia tím, že zvyšuje jeho rozpustnost. Odběry a pozorování byly prováděny celkem ve čtyřech termínech – 0 dní, 2 dny, 5 dní a 8 dní. Suspenze byla kultivována na modifikovaném médiu Linsmayer a Skoog (1964). Do každé varianty byl přidán 1 μM 2,4-D a do variant, které měly obsahovat kadmium, bylo přidáno 25 μM $Cd(NO_3)_2$. Byl stanoven počet buněk suspenze (pomocí Fuchs-Rosenthalova hematocytometru), viabilita (za použití flurorescenční mikroskopie na mikroskopu Olympus IX 70 a barvení fluorescein diacetátem a propidium jodidem), tvorba sušiny (lyofilizací), pH média (měřením na pH metru) a koncentrace glutathionu v oxidované a redukované formě (pomocí reakce thiol-selektivní Ellmannovy reagencie s volnými –SH skupinami, vzniklý produkt byl měřen spektrofotometricky).

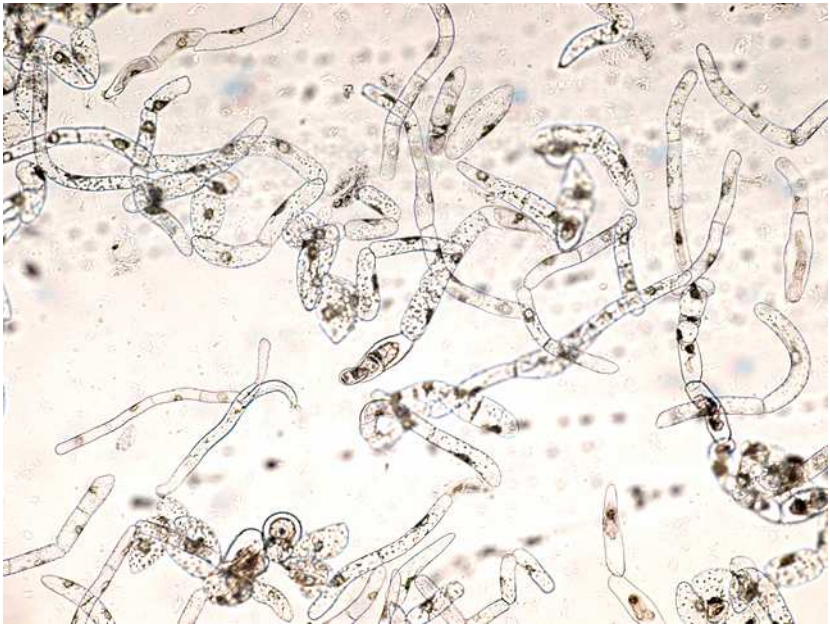
VÝSLEDKY A DISKUZE

Při studiu všech v metodice zmíněných charakteristik se u variant s přídavkem kadmia prokázal vliv tohoto toxického kovu. Viabilita byla snížena oproti variantám bez obsahu kadmia (viz graf 1), počet buněk byl nejvyšší u varianty kontrola s pH 5,5 a nejnižší u varianty s pH 3,5 s přídavkem

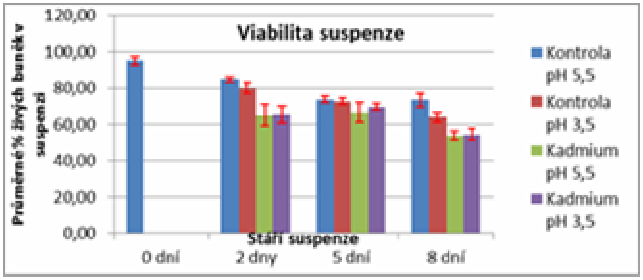
kadmia (viz graf 2). Významné snížení viability buněk tabákové suspenze po dodání kadmia pozorovali KUTHANOVÁ et al. (2004), oni ale použili dvakrát vyšší koncentraci (50 μM), než jaká byla použita v našem případě. To naznačuje, že kadmium má negativní efekt na viabilitu rovněž v nižších koncentracích. Morfologie suspenze byla u varianty s přídavkem kadmia kultivované na pH 3,5 výrazně horší, než u varianty kontrola s pH 5,5 (viz obr. 1 a obr. 2). Buňky byly u variant s obsahem kadmia výrazně protáhlejší (podobně, jako to pozorovali KUTHANOVÁ et al. 2003), u těchto variant se ovšem hojně vyskytovaly i clustery kulovitých buněk; u obou kontrolních variant bylo těchto clusterů pouze velice málo.

obr. 1 varianta s obsahem kadmia pH 3,5 8. den (zvětšeno 100X)

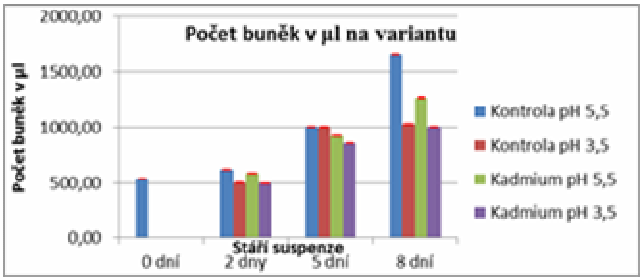
obr. 2 kontrola pH 5,5 5. den (zvětšeno 100X)



graf 1

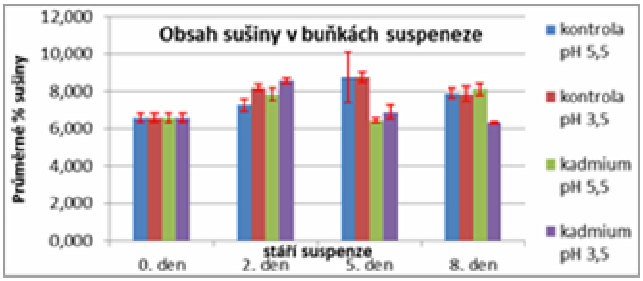


graf 2

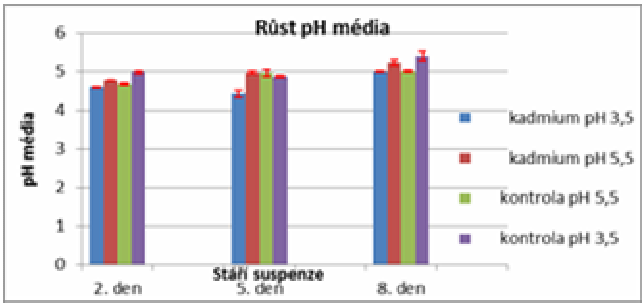


Kadmium způsobilo snížení sušiny buněk v 5. a 8. dni růstu suspenze při kultivaci v médiu pH 3,5 (viz graf 3). Rovněž způsobilo zvýšení pH média z 3,5 na 5,5 (viz graf 4). Redukovaný glutathion se zvyšoval v suspenzích kultivovaných za přídavku kadmia po celou dobu kultivace, oxidovaný od 5. do 8. dne kultivace (viz grafy 5 a 6).

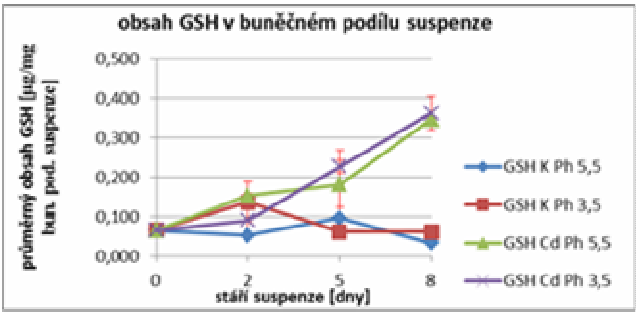
graf 3



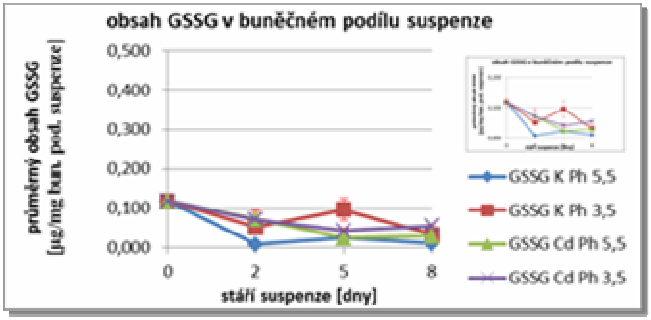
graf 4



graf 5



graf 6



ZÁVĚR

Bylo potvrzeno, že kadmium představuje významný polutant, který silně ovlivňuje růst, viabilitu a antioxidační aktivitu suspenzí rostlinných buněk. Zhoršuje výrazně všechny fyziologické parametry růstu suspenze. Zvyšuje obsah redukovaného a částečně i oxidovaného glutathionu, který slouží k jeho detoxikaci.

LITERATURA

Źróbek-Sokolnik A., Asard H., Górska-Koplińska K., Górecki R. J. (2009): Cadmium and zinc-mediated oxidative burst in tobacco BY-2 cell suspension cultures. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31(1): 43-49.

Kuthanová A., Gemperlová L., Zelenková S., Eder J., Macháčková I., Opatrný Z., Cvikrová M. (2004): Cytological changes and alterations in polyamine contents induced by cadmium in tobacco BY-2 cells. *Plant Physiology and Biochemistry* 42 (2004): 149–156.

INPUT OF HEAVY METALS INTO SOIL IN GROWED PLANTS AFTER THE BIOSLUDGE APPLICATION ON VPP KOLÍŇANY

Tóth J., Tóth T., Bončíková D., Árvay J.

Department of Chemistry, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic

E-mail: 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 and lead we did not exceed the limit value in either scenario. Exceeding the critival value of mobile forms of nickel was recorded in either variant and the critical levels were recorded in all variants of the lead. 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

Acknowledgement: The project was financed by the project VEGA no. 1|0339|08

ÚVOD

Pôda predstavuje viaczložkový systém, pretože pozostáva z pevnej, tekutej a plynnej fázy. Medzi jednotlivými fázami je úzky vzťah a navzájom na seba pôsobia. Hlavným zdrojom živín v pôde sú horninotvorné minerály a organické zlúčeniny, ktoré sa dostávajú do pôdy po odumretí rastlín a živočíchov, alebo sa tvoria v pôde činnosťou pôdnych mikroorganizmov. Elementárne zloženie pôd je v podstate obdobné ako zloženie zemskej kôry. Zloženie pôd sa vyznačuje veľkou rôznorodosťou a premenlivosťou a je podmienené zvetrávaním hornín a minerálov v pôdotvornom procese. Pevná fáza pôdy sa vytvorila dlhodobým pôsobením pôdotvorných činiteľov **(Bedrna, 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, Pospišil, 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 biologický nezastupiteľné mikroelementy (napr. Cu, Zn, Fe). Ako i početné neesenciálne chemické prvky (Cd, Pb, Cr, atď.). Toxické su aj biologický 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 ťažkých kovov 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 2010/2011 prebiehala podľa harmonogramu prác v súlade s vytýčenými cieľmi .

Odber a úprava pôdnych vzoriek

Pri výbere a identifikácii lokalít, odbere a úprave pôdnych a rastlinných vzoriek sme postupovali podľa Záväzných 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, Cd a Pb). 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 ^{o}C) a pred analyzovaním zhomogenizovali pomletím. V rastlinných vzorkách sme následne stanovili obsahy sledovaných ťažkých kovov 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 troch 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 %	Pb	Ni	Cd
vstup	27,31	4,72	6,6	9,7	0,74
výstup	47,98	7,12	6,7	10,5	1,41
medzná hodnota			**750**	**300**	**10**

Vstup – nevyhnitý substrát **Výstup –** vyhnitý substrát

V substráte, získanom po kontinuálnej výrobe bioplynu sme zistili, že v procese „vyhnívania" prišlo k nárastu podielu popola a sušiny. V prípade rizikových prvkov sme zistili, že zastúpenie olova, niklu a kadmia bolo vo vyhnitom substráte vyššie ako vo vstupnom substráte. Priemerný obsah olova v biokale predstavuje len 0,88 % podiel v porovnaní s limitnou (medznou) hodnotou a obsah kadmia 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 a olova je nižší ako je limitná hodnota pre jeho obsah v pôde stanovená v zákone č. 220/2004. Úroveň obsahu niklu je 65,1 % a z olova je 31,7% z limitnej hodnoty. Pri hodnotení možnej 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 obah 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} NH_4NO_3 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	parcela	H	pH/KCl	Ni lúčavka	Pb lúčavka	Cd lúčavka	Ni NH_4NO_3	Pb NH_4NO_3	Cd NH_4NO_3
K1	Kolíňany	Letisko	A	3,40	33,00	26,80	0,78	0,125	0,400	0,035
			B	4,60	34,80	26,00	0,80	0,065	0,320	0,029
			C	4,70	33,90	26,00	0,79	0,145	0,235	0,032
K2	Kolíňany	Letisko	A	4,70	34,20	22,40	0,81	0,140	0,305	0,038
			B	6,43	33,90	21,80	0,78	0,105	0,285	0,034
			C	6,30	32,50	22,40	0,70	0,115	0,290	0,032
K3	Kolíňany	Letisko	A	5,80	34,00	22,00	0,82	0,120	0,310	0,042
			B	5,94	33,40	21,80	0,79	0,105	0,305	0,040
			C	5,40	30,50	20,90	0,69	0,050	0,250	0,040
K4	Kolíňany	Letisko	A	6,43	31,50	21,20	0,70	0,160	0,325	0,049
			B	6,45	30,60	20,60	0,64	0,150	0,320	0,043
			C	5,89	29,60	20,40	0,66	0,135	0,285	0,042
Limitná hodnota					50	70	0,7	1,5	0,1	0,1
Priemerný obsah v celom súbore pôd					**32,51**	**22,33**	**0,71**	**0,131**	**0,292**	**0,040**
% pomer vo vzťahu k limitnej hodnote					**65,1**	**31,7**	**101,7**	**8,8**	**292,3**	**39,6**

Obsah rizikových prvkov v produktívnych častiach rastlín

Cieľom sledovania kontaminácie pôd ťažkými kovmi je aj predikcia ich vstupu do potravového 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 ťažkých kovov sú uvedené v tabuľke č. 4.

Tab. 4 *Najvyššie prípustné množstvá v rastlinách v mg.kg^{-1}*

plodina	**Ni**	**Pb**	**Cd**	
obilniny	3,0	1,0	0,1	Potravinový kódex SR
olejniny	x	1,0	0,5	Potravinový kódex SR
cukrová repa	x	1,0	0,1	Potravinový kódex SR
krmoviny	5,0	10,0	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 Pospišil 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 ťažkých kovov pestovateľských plodinách v mg.kg^{-1}*

variant		Plodina		Ni	Pb	Cd
1	kontrola	slnečnica	nadzemná biomasa	2,40	2,70	0,93
2	kal jeseň			3,00	3,00	0,85
3	kal jar			2,70	2,40	0,91
4	kontrola	jačmeň	zrno	0,55	0,25	0,15
5	kal jeseň			0,35	0,40	0,19
6	kal jar			0,40	0,25	0,10
7	kontrola	cukr.repa	buľvy	2,20	0,95	0,31
8	kal jeseň			1,10	0,80	0,22
9	kal jar			2,05	1,10	0,35
10	kontrola	cukr.repa	listy	3,70	2,60	1,21
11	kal jeseň			4,00	2,90	0,76
12	kal jar			3,00	3,70	1,08
13	kontrola	kukurica	siláž	3,10	1,00	0,25
14	kal jeseň			2,00	1,00	0,22
15	kal jar			2,10	0,90	0,24

Slnečnica siata

Pre posudzovanie obsahu rizikových prvkov v slnečnici platia limitné hodnoty : Cd : 1,0 mg.kg^{-1}, Pb : 100 mg.kg^{-1}, Ni : 5,0 mg.kg^{-1}. Z porovnaní vyplýva, že obsah niklu a olova 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 $mg.kg^{-1}$, Pb : 1,0 $mg.kg^{-1}$ Ni : 6,0 $mg.kg^{-1.}$ Z tabuľky 5 vyplýva, že obsah niklu a olova 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 buľvách a zistili sme, že rastliny cukrovej repy kumulujú v nadzemnej biomase v priemere o 95 % viac rizikových prvkov ako v buľvách. 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 krmovinárskeho hľadiska. Limitné hodnoty podľa Vyhlášky MP SR sú : Cd : 1,0 $mg.kg^{-1}$, Pb : 100 $mg.kg^{-1}$, Ni : 5,0 $mg.kg^{-1}$. Obsah niklu a olova 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. Buľvy cukrovej repy sme posudzovali podľa Potravinárskeho kódexu SR, kde sú stanovené tieto hodnoty najvyšších prípustných množstiev (NPM) : Cd : 0,1 $mg.kg^{-1}$ Pb : 1,0 $mg.kg^{-1}$ 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 :, Cd : 1,0 $mg.kg^{-1}$, Pb : 100 $mg.kg^{-1}$ Ni : 5,0 $mg.kg^{-1}$. Obsahy niklu, olova a kadmia sú nižšie ako je limitná hodnota. Z pohľadu hodnotenia biomasy silážnej kukurice možno konštatovať, že z hľadiska obsahu kadmia, olova 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 a Pb v biomase slnečnice 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 siláţnej kukurice na priame skrmovanie.

LITERATÚRA

1. BEDRNA, Z. 2002. Environmentálne pôdoznalectvo. 1. vyd. Bratislava: VEDA, 2002. 352 s.ISBN 80-224-0660-0

2. CHLPÍK, J., POSPIŠIL, R. 2004. Plošná charakteristika mechanických a chemických vlastností pôdy na Výskumnej báze Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre, lokalita Kolíňany. In : Acta fytotechnica et zootechnica, roč. 7, 2004, č 1., s. 6-10.

3. FIALA, K., KOBZA, J., MATÚŠKOVÁ, J. BREČKOVÁ, V., MAKOVNÍKOVÁ, J., BARANČÍKOVÁ, G., BÚRIK, V., LITAVEC, T., HOUŠKOVÁ, B., CHROMANIČOVÁ, A., VÁRADIOVÁ, D., PECHOVÁ, B. 1999. Závazné metódy rozborov pôd – čiastkový monitorovací systmém – pôda. Bratislava. Výskumný ústav pôdoznalectva a ochrany pôdy, 1999, 139 s.. ISBN 80-85361-55-8

4. MERIAN, E. 1991. Metals and Their Coumpounds in the Environment. Occurencie, 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 *Poľnohospodárstvo*, 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

STORAGE OF ANTHOCYANINS IN CARYOPSES OF COMMON WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.)

Trojan V., Musilová M., Vyhnánek T., Havel L.

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

E-mail: vaclav.trojan@mendelu.cz

ABSTRACT

The common wheat caryopses can be colored blue or purple if their genotypes content particular genes responsible for the production of different anthocynins. The blue color is caused predominantly by delphinidin-3-glucoside, the purple color is caused mainly by cyanidin-3-glucoside. Moreover, the pigments are stored in different layers of caryopsis – the blue pigments in aleuron, the purple pigments in pericarp. Our objective was to proof this localization in genotypes with blue and purple caryopses which we will use in studies of selected gene expression of anthocynins synthesis pathway. The caryopses of two genotypes with blue color (Tschermaks Blaukörniger Sommerweizen and UC66049) and two genotypes with purple color (Abyssinskaja arrasajta and ANK-28B) were analysed before full ripeness with light microscopy. The results proofed the expected localization of blue and purple pigments, resp.

Key words: blue wheat, purple wheat, wheat kernel, *Triticum aestivum* L., aleuron, perikcarp, caryopsis coat, kernel coat

Acknowledgement: This study was supported by project GAČR 204/09/H002 and IGA FA MENDELU No. TP 7/2011. We acknowledge Ing. Petr Martinek (Agricultural Research Institute Kroměříž, Ltd.) for caryopses samples and Ing. Tomáš Koloušek, head of the Botanical Garden and Arboretum of Mendel University in Brno, for growing of experimental plants.

ÚVOD

Obilky pšenice seté (*Tritium aestivum* L.) pěstovaných ve velkém jsou charakteristické červeným (červenohnědým) zbarvením, které je způsobeno přítomností fenolických látek v osemení a oplodí. Existují i genotypy, jejichž obilky vykazují jiné zbarvení: purpurové nebo modré. Toto zbarvení je vyvoláno přítomností anthokyanů především ve formě glykosidů nebo rutinosidů cyanidinu a delfinidinu. Při purpurovém zbarvení převládá jako aglykon cyanidin, při modrém zbarvení se více vyskytuje delfinidin (Farah et al. 2008, Abdel-all et al. 2008). Produkce těchto pigmentů je podmíněna příslušnými biochemickými drahami, které byly dostatečně charakterizovány, a řízena skupinou genů, které byly pomocí klasických genetických metod detekovány a lokalizovány na chromozomy. Bylo ukázáno, že distribuce uvedených barviv je v obilce přesně lokalizována. Ze studií provedených u jiných genotypů je známo, při purpurovém zbarvení obilky se pigmenty ukládají do perikarpu. Při modrém zbarvení se pigmenty ukládají do aleuronové vrstvy (srov. Trojan et al. 2010, Holton, Cornish 1995, Dixon, Stelle 1999). V rámci obilky dochází k k přesně lokalizované expresi daných genů s různou intenzitou (Liu et al. 2005).

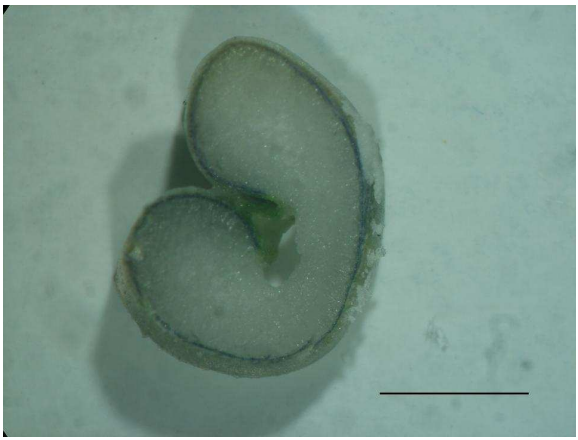
V předešlých pracích jsem detekovali pomocí SSR markerů genetickou příbuznost 24 různých genotypů s purpurovým zbarvením oplodí anebo modrým zbarvením aleuronové vrstvy (Musilová et al. 2011). Z nich jsme vybrali po dvou genotypech od obou zbarvení pro studium exprese a její intenzity vybraných genů ze syntetické dráhy anthokyanů. Aby práce odpovídala skutečnosti, bylo třeba potvrdit, že u daných genotypů skutečně převažující modré pigmenty ukládající se v aleuronové vrstvě a purpurové pigmenty v oplodí obilky.

MATERIÁL A METODIKA

Pro pozorování byly použity obilky pšenice seté (*Triticum aestivum* L.) v případě purpurového zbarvení obilek genotypu Abyssinskaja arrasajta a ANK-28B. V případě modrého zbarvení šlo o genotypy Tschermaks Blaukörniger Sommerweizen a UC66049. Obilky byly odebírány z rostlin pěstovaných v Botanické zahradě a arboretu Mendelovy univerzity v Brně ve vegetační sezoně 2011. Po odběru byly pořízeny ruční řezy, které byly pozorovány pod binokulární lupou Olympus SZH1O nebo tenké ruční řezy umístěné v kapce vody na podložním sklíčku a překryté krycím sklíčkem pod světelným mikroskopem Olympus Provis. Fotodokumentace byla pořizována digitálním fotoaparátem Olympus SP-350 s využitím programového vybavení QuickPHOTO Micro 2.3.

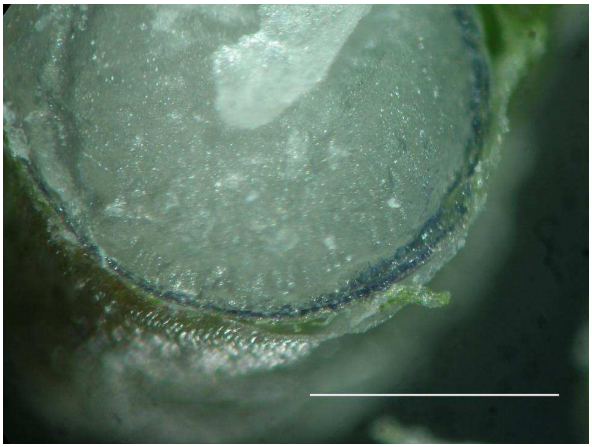
VÝSLEDKY A DISKUZE

Při pozorování příčného řezu obilkou genotypu těsně před stadiem zralosti pod binokulární lupou Tschermaks Blaukörniger Sommerweizen byla pod povrchem na okraji jasně viditelná modrá vrstva (obr. 1).



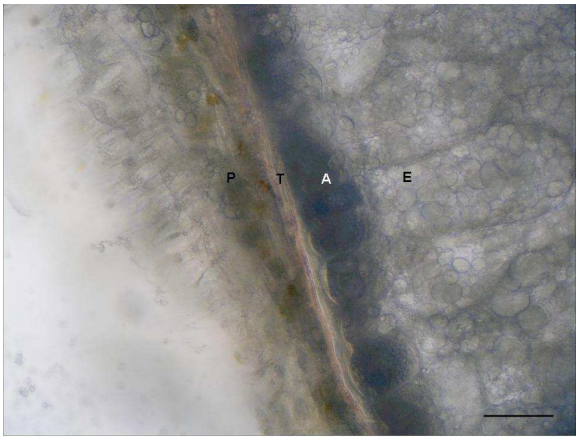
Obr. 1 Příčný řez obilkou genotypu Tschermaks Blaukörniger Sommerweizen (úsečka = 1 mm)

Větší zvětšení ukázalo, že u tohoto genotypu i ve stádiu blížícímu se zralosti jsou v povrchových



Obr. 2 Příčný řez obilkou genotypu Tschermaks Blaukörniger Sommerweizen. Povrchová vrstva obsahuje zelené pigmenty. Patrná je i vrstva obsahující modré pigmenty (úsečka = 0,5 mm)

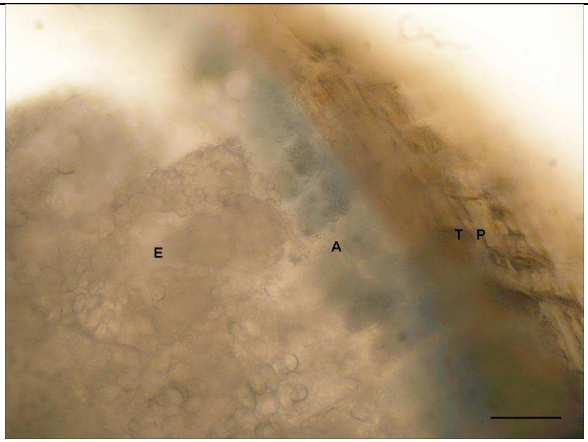
vrstvách přítomny zelené pigmenty, zřejmě chlorofyly, i v době, když už aleuronová vrstva obsahuje modré pigmenty (obr. 2). To potvrdilo ještě podrobnější pozorování pod mikroskopem. Vrstva oplodí je částečně zbarvena zeleně, buňky osemení jsou bez pigmentů. Buňky aleuronové vrstvy jsou zbarveny modře. Buňky endospermu, které bezprostředně přiléhají k buňkám aleuronové vrstvy jsou oproti ostatním endospermálním buňkám o mnoho větší (obr. 3).



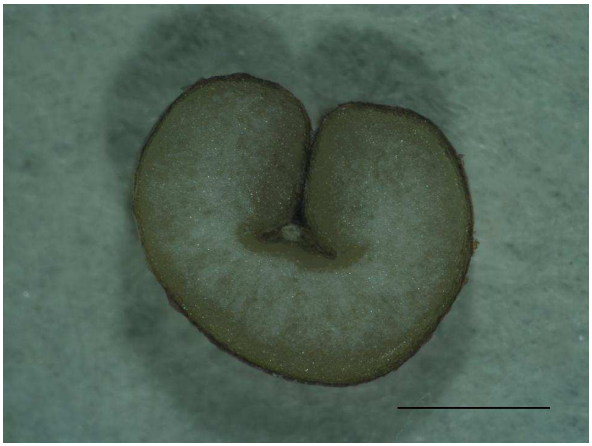
Obr. 3 Příčný řez obilkou genotypu Tschermaks Blaukörniger Sommerweizen. Oplodí (P) obsahuje zelené pigmenty. Osemení (T), které srůstá s oplodím neobsahuje pigment. Buňky aleuronové (A) vrstvy jsou zbarveny modře. Buňky endospermu (E) jsou bez pigmentů (úsečka = 200 μm)

Obdobná zbarvení bylo i u druhého sledovaného genotypu UC66049 s modrým zbarvením obilek. Ve stejném stupni zralosti však oplodí neosahovalo zelené pigmenty. U tohoto genotypu se podle zbarvení nedalo rozlišit oplodí od semení (obr. 4).

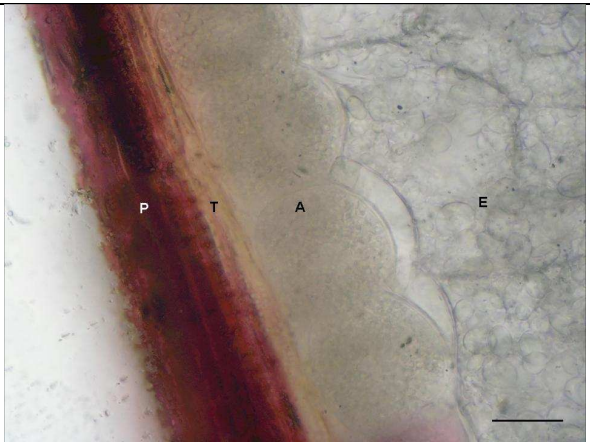
U genotypu pšenice seté s purpurově zbarvenými obilkami genotypu ANK-28B byla při pozorování pod binokulární lupou na povrchu viditelná vrstva s purpurovým zbarvení. Ostatní části obilky byly bez pigmentů (obr. 4). Při podrobnějším pozorování bylo zřetelně vidět, že purpurové pigmenty jsou uloženy v oplodí. Osemení, stejně jako aleuronová vrstva a endosperm žádné výrazné pigmenty neobsahuje. Velikost buněk aleuronové vrstvy a ostatních buněk endospermu nebyla tak výrazně odlišná jako u genotypů s modře zbarvenými obilkami. (obr. 6). Ne všechny části oplodí u genotypu ANK-28B byly purpurově zbarveny. Některé buňky neobsahovaly purpurové pigmenty vůbec. Jiné v omezené míře (obr. 7). V některých částech bylo rozložení pigmentů nerovnoměrné (obr. 8). U dalšího sledovaného genotypu s purpurovým zbarvením obilky (genotypu Abyssinskaja arrasajta) byla situace obdobná jako u genotypu ANK-28B (obr. 9)



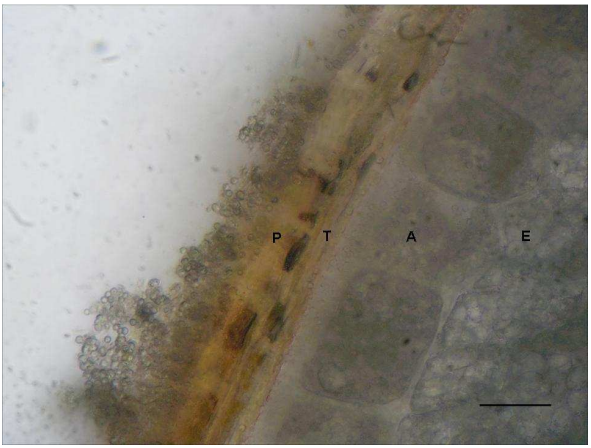
Obr. 4 Příčný řez obilkou genotypu UC66049. Oplodí (P) neobsahuje zelené pigmenty. Osemení (T) je zbarveno stejně jako oplodí. Buňky aleuronové (A) vrstvy jsou zbarveny modře. Buňky endospermu (E) jsou bez pigmentů (úsečka = 200 μm)



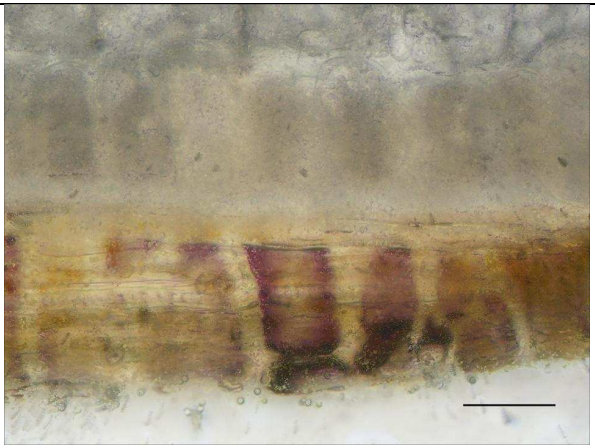
Obr. 5 Příčný řez obilkou genotypu ANK-28B (úsečka = 1 mm)



Obr. 6 Příčný řez obilkou genotypu ANK-28B. Oplodí (P) obsahuje purpurové pigmenty. Osemení (T), které srůstá s oplodím, neobsahuje pigment. Buňky aleuronové (A) vrstvy a buňky endospermu nejsou zbarveny (úsečka = 200 μm).



Obr. 7 Příčný řez obilkou genotypu ANK-28B. Buňky oplodí (P) neobsahují purpurové pigmenty vůbec nebo je ve velmi omezené míře. Osemení (T), které srůstá s oplodím, neobsahuje pigment. Buňky aleuronové (A) vrstvy a buňky endospermu nejsou zbarveny (úsečka = 200 μm).



Obr. 8 Příčný řez obilkou genotypu ANK-28B. Buňky oplodí obsahují purpurové různé míře (úsečka = 200 μm).

Obr. 9 Příčný řez obilkou genotypu Abyssinskaja arrasajta. Oplodí (P) obsahuje purpurové pigmenty (úsečka = 200 μm).

ZÁVĚR

Bylo potvrzeno, že pigmenty (anthokyany) způsobující purpurové zbarvení obilek genotypu Abyssinskaja arrasajta a ANK-28B jsou lokalizovány v oplodí a pigmenty způsobující modré zbarvení obilek genotypů Tschermaks Blaukörniger Sommerweizen a UC66049 jsou lokalizovány v aleuronové vrstvě obilky. Výsledky práce dovolují studovat expresi vybraných genů zodpovědných za tvorbu příslušných anthokynanů.

LITERATURA

Abdel-Aal E. S. M., Abou-Arab A. A., Gamel T. H., Hucl P., YoungJ. C., Rabalski I. (2008): Fractionation of blue wheat anthocyanin compounds and their contribution to antioxidant properties. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56(23): 11171–11177.

Hosseinian F. S., Li W., Beta T.(2008) Measurement of anthocyanins and other phytochemicals in purple wheat. Food Chemistry 109: 916-924.

Liu M-S, Wang F, Dong Z-X, Zhang X-S (2005): Expression analysis of dihydroflavonol 4-reductase genes involved in anthocyanin biosythesis in purpur grains of wheat. Journal of Integrative Plant Biology, 47(9): 1107-1114.

Molton T. A., Cornish E. C. (1995): Genetics and Biochemistry of Anthocyanin Biosynthesis. The Plant Cell 7: 1071-1083.

Musilová M., Trojan V., Vyhnánek T., Havel L. (2011): The variability of wheat genetic resources usable in breeding for functional foods. Potravinářství 5, (suppl.): 70-73.

Trojan V. Musilová M., Vyhnánek T., Havel L. (2010): Studium genetické variability kolekce pšenic s nestandardním zabarvením obilek. MendelNet 2010 Proceedings of International Ph.D. Students Conference. 1. vyd. Brno: Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, s. 845-851.

Section – Animal Biology

RUMEN BIOPSY IN RUMEN-CANNULATED DAIRY COWS

Čermáková J.[1], Doležal P.[1], Goselink R.M.A.[2]., Van Knegsel A.T.M.[3]

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

[2] Wageningen UR Livestock Research, PO Box 65, 8200 AB Lelystad, The Netherlands

[3] Adaptation Physiology Group, Wageningen University, Marijkeweg 40, 6709 PG Wageningen, The Netherlands

E-mail: jana.cermakova@mendelu.cz

ABSTRACT

The current contribution describes rumen biopsy as a method to evaluate rumen health and development of rumen papillae in dairy cows. Rumen biopsies were performed in 12 pregnant rumen-cannulated Holstein-Friesian cows in their first lactation in week -8, -6 and -2 before the expected date of calving and at day 3, 7, 14, 28 and 56 after calving. First, samples of rumen fluid were taken to measure pH and volatile fatty acid content. Then a full rumen evacuation was performed, rumen content was weighed and samples of rumen papillae were taken with a sharp biopsy forceps at four locations. Inspected locations were 1) in the dorsal rumen sac, right rumen wall, directly across the cannula opening (A); 2) in the atrium ruminis, front right rumen wall (B); 3) in the caudodorsal blind sac (C); and 4) in the caudoventral blind sac (D). Based on the dimension (length and width) of rumen papillae the rumen scores at each location were determined. The current contribution presents results based on one cow as an example. The average pH at week -8 to -2 relative to calving was 6.99 (±0.43). After calving (from day 3 to 56) the average pH decreased to 6.39 (±0.36). There was a tendency for increasing amount of fresh feed in the rumen from one week postpartum, whereas body weight of the cow decreased after calving. The average rumen score was highest in regions C and D. In contrast, rumen papillae density and dimensions were lowest in the region B.

Key words: rumen evacuation, papillae, pH

Acknowledgement: The authors would like to acknowledge financial supporters the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (Institutional research plan MSM 6215648905 „Biological and technological aspects of sustainability of controlled ecosystems and their adaptability to climate change“) and the Dutch Dairy Board, the Dutch Product Board Animal Feed and CRV, The Netherlands.

INTRODUCTION

The period after calving has been generally described as the period with increased incidence of health disorders in dairy cows (Mulligan and Doherty, 2008). The energy density of a diet should be increased in early lactation to supply the mammary gland with glucose as lactose precursor. As earlier reviewed (Nocek, 1997; Owens et al., 1998), increasing the energy density of the lactation diet by addition of readily fermentable carbohydrates (Lawrence, 1988; Penner and Oba, 2009) increases lactate production in the rumen which may result in an increased incidence of both clinical (pH < 5.0) and subclinical (pH < 5.5) acidosis (Van Knegsel, 2007). Due to clinical or subclinical acidosis the rumen wall may become damaged and fermentation and absorption can be impaired. Moreover, there are some suggestions that rumen acidosis may be related to other health problems such as laminitis (Goff and Hors, 1997; Nocek, 1997). The type of diet, and the proportion of volatile fatty acids produced by fermentative digestion of rumen micro-organisms, are responsible for the development and the structure of ruminal mucosa, which determines the absorptive and metabolic capacity of the organ (Sakata T. and Tamate H., 1979; Sakata and Yajima T., 1984; Dirksen et al., 1985). The length, width and surface of papillae increased in early weaned calves (6 weeks) fed higher amounts of concentrate and hay compared with calves fed milk and late weaned (9 weeks) calves (Zitnan et al., 1999). Following weaning, the development of the ruminant forestomach has been shown to be affected by the three most abundant volatile fatty acids, in the order: butyrate > propionate > acetate (Sakata and Yajima T., 1984). The absorptive capacity of the ruminal mucosa however, is influenced not only by its structure, but also by the respective pH of rumen content. At low pH value, acetate, propionate and butyrate are absorbed more rapidly than at a high pH (Masson and Phillipson, 1951). Usage of rumen-cannulated cows enables relatively easy collection of rumen fluid samples and rumen papillae samples. The main aim of the current contribution is to describe the rumen biopsy technique as a suitable method to evaluate rumen health and development of rumen papillae in dairy cows.

MATERIAL AND METHODS

Experimental design, animals and diets

All experimental protocols and interventions were approved by the Ethical Committee on Animal Experiments of the Animal Sciences Group of Wageningen UR.

In this trial, 12 pregnant rumen-cannulated Holstein-Friesian cows in their first lactation were used. The cows were housed in a cubicle barn at experimental farm “De Waiboerhoeve” in Lelystad, The Netherlands. Roughage was fed *ad libitum* in feeding troughs with automatic individual feed intake registration. All cows received 1 kg of concentrate per day starting 10 days before expected calving

through individual concentrate dispensers. After calving, the amount of concentrate was raised from 1 to 8.5 kg per day at day 17 postpartum. Above this amount, 1 kg of concentrate per day was supplied in the milking parlour for lactating cows. The cows were milked twice a day (milking interval 11 to 13 hours). All cows were weighed two times per day, before each milking.

Rumen biopsy

The rumen was inspected 8 times during the trial: in week -8, -6 and -2 before the expected day of calving and at day 3, 7, 14, 28 and 56 after calving. Each time, the rumen cannula was opened to collect rumen fluid between 0800h and 0900h for determination of pH and volatile fatty acid content. After that, the rumen was evacuated through the cannula and rumen content was weighed. The rumen wall was inspected at four locations. Inspected locations were 1) in the dorsal rumen sac, right rumen wall, directly across the cannula opening (A); 2) in the atrium ruminis, front right rumen wall (B); 3) in the caudodorsal blind sac (C); and 4) in the caudoventral blind sac (D). At each location, rumen papillae development was scored on a scale from 1 to 4:

- 1: flat wall, no clear papillae
- 2: short thickenings or papillae
- 3: thin papillae (<2mm wide)
- 4: broad papillae (>2mm wide)

The amount of papillae per cm^2 was counted to determine papillae density and about four biopsy samples of rumen papillae were collected with a sharp biopsy forceps at each location. Papillae were cut at the base to be able to determine full papillae dimensions. Papillae were measured and stored in formalin until histological examination.

RESULTS AND DISCUSSION

The rumen biopsy trial has been a part of large-scale experiment (entitled “Why Dry?”) which is still running and therefore only data collected from one particular cow as an example are presented in this paper. The weight of rumen content and live body weight changes are recorded in Table 1. There was a tendency for increasing amount of fresh feed in the rumen, whereas body weight of the cow decreased after calving. These results are in accordance with previous observations which reported depressed dry matter intake around calving, loss of body weight and a negative energy balance in early lactation cows (Bertics et al., 1992; Drackley, 1999; Hayirli et al., 2002).

Tab. 1 The rumen content and live body weight from week -8 to 4 relative to calving

Week	**-8**	**-6**	**-2**	**0.5**	**1**	**2**	**4**
Rumen content (kg)	57	60	65	65	74	72	80
Live weight (kg)	615	654	686	630	635	619	621
Rumen content: LW	0.09	0.09	0.09	0.10	0.12	0.12	0.13

Table 2 shows changes in rumen pH in week -8, -6 and -2 before the expected day of calving and at day 3, 7, 14, 28 and 56 after calving. The average pH at week -8 to -2 relative to calving was 6.99 (± 0.43). The pH after calving (from day 3 to 56 postpartum) decreased to an average of 6.39 (± 0.36). The additional concentrate was supplied to the cows starting 10 days before calving which could be the reason of the decrease in rumen pH in the period around calving (Steele et al., 2011).

Tab. 2 Rumen pH from week -8 to 8 relative to calving

Period	**Pre-calving**					**Post-calving**						
Week	**-8**	**-6**	**-2**	**-8 to -2**	**ST DEV**	**0.5**	**1**	**2**	**4**	**8**	**0.5 to 8**	**ST DEV**
pH	7.25	6.67	7.05	6.99	0.43	6.25	6.24	6.83	6.53	6.11	6.39	0.36

Rumen papillae density and rumen score were assessed at four regions, marked as A, B, C, D. Results are recorded in table 3. Rumen papillae density and their development (length and width) on the scale from 1 to 4 was highest in regions C and D, where the rumen score averaged 3.3 (±0.46) and 3.4 (±0.52), respectively. The lowest rumen score was in the region B, where it averaged 2.0 (±0.53) during the week -8 to 8 relative to calving.

Tab. 3 Rumen score from week -8 to 8 relative to calving

Location	**Week relative to calving**									
	-8	**-6**	**-2**	**0.5**	**1**	**2**	**4**	**8**	**-8 to 8**	**STDEV**
A	3	3	3	3	3	3	3	4	3.1	0.35
B	1	2	3	2	2	2	2	2	2.0	0.53
C	4	3	3	3	3	3	3	4	3.3	0.46
D	4	3	3	3	3	3	4	4	3.4	0.52

CONCLUSION

The results of current contribution are based on one cow as an example and therefore they are not statistically conclusive. The amount of fresh feed in the rumen increased after calving, whereas live weight of the cow decreased in the same period. Average pH value of rumen fluid decreased around calving, coinciding with the addition of concentrates in the diet. The rumen score determined by rumen biopsy was highest in the regions C and D and lowest in the region B.

The rumen biopsy technique is a suitable and efficient method to evaluate rumen health and rumen wall development in rumen-cannulated dairy cows.

REFERENCES

Dirksen, G.U., Liebich H.G., Mayer E. 1985. Adaptive changes of the ruminal mucosa and their functional and clinical significance. Bovine Pract. 20:116–120.

Fell, B.F., Weekes, T.E.C. (1975). Food intake as a mediator of adaptation in the ruminal epithelium. In Digestion and metabolism in the ruminant, ed. McDonald, I. W., Warner, A. C. I., pp. 101-108. Armidale: University of New England Publishing Unit.

Funk D.A., Freeman A.E., Berger D.J. (1987): Effect of previous days open, previous days dry and present days open on lactation yield. J Dairy Sci., 70(11): 2366-2373.

Goff J.P., Horst R.L. (1997): Physiology and management: Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. J Dairy Sci., 80(7): 1260–1268.

Goodland, R. A. (1981): Some effects of diet on the mitotic index and the cell cycle of the ruminal epithelium of sheep. Quarterly Journal of Experimental Physiology 66, 487-499.

Grummer R.R., Wiltbank M.C, Fricke P.M., Watters R.D., Silva-Del-Rio N. (2010): Management of dry and transition cows to improve energy balance and reproduction. Journal of Reproduction and Development, 56, Suppl(S22-S28).

Hayirli A., Grummer R.R., Nordheim E.V., Crump P.M. (2002): Animal and dietary factors affecting feed intake during the pre-fresh transition period in Holsteins. J Dairy Sci., 85(12): 3430–3443.

Lawrence, T.L.J. (1988): Feeding value of cereals and concentrates. World Anim. Sci. 4: 129-150.

Masson M. J., Phillipson A.T. (1951): The absorption of acetate, propionate and butyrate from the rumen of sheep. J. Physiol., 113, 189-206.

Mulligan F.J., Doherty M.L. (2008): Production diseases of the transition cow. Vet. J., 176, 3-9.

Nocek J.E. (1997): Bovine acidosis: implications on laminitis. J Dairy Sci., 80(5): 1005-1028.

Penner G.B., Oba M. (2009): Increasing dietary sugar concentration may improve dry matter intake, ruminal fermentation, and productivity of dairy cows in the postpartum phase of the transition period. J Dairy Sci., 92(7):3341–3353.

Pezeshki A., Mehrzad J., Ghorbani G.R., De Spiegeleer B., Collier R.J., Burvenich, C. (2008): The effect of dry period length reduction to 28 days on the performance of multiparous dairy cows in the subsequent lactation. Can. J. Anim. Sci., 88: 449-456.

Sakata T., Tamate H. (1979): Rumen epithelium cell proliferation accelerated by propionate and acetate. J Dairy Sci., 62(1):49-52.

Sakata T., Yajima T. (1984): Influence of short chain fatty acids on the epithelial cell division of digestive tract. Quarterly Journal of Experimental Physiology, 69, 639-648.

Schlamberger G., Wiedemann S., Viturro E., Meyer H.H.D., Kaske M. (2010): Effects of continuous milking during the dry period or once daily milking in the first 4 weeks of lactation on metabolism and productivity of dairy cows. J Dairy Sci., 93(6):2471-85.

Sørensen J.T, Enevoldsen C. (1991): Effect of dry period length on milk production in subsequent lactation. J Dairy Sci., 74(4):1277-1283.

Steele M.A., Croom J., Kahler M., AlZahal O., Hook S.E., Plaizier K., McBride B.W. (2011): Bovine rumen epithelium undergoes rapid structural adaptations during grain-induced subacute ruminal acidosis. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 300(6): R1515-R1523.

Owens F.N., Secrist D.S., Hill W.J., Gill D.R.. (1998): Acidosis in cattle: a review. J Anim Sci., 76:257-286.

Van Knegsel A. (2007): Energy partitioning in dairy cows: effect of lipogenic and glucogenic diets on energy balance, metabolites and reproduction variables in early lactation. PhD thesis, Wageningen Universtity, The Netherlands.

Zitnan R., Voigt J., Wegner J., Breves G., Schröder B., Winckler C., Levkut M., Kokardová M., Schönhusen U., Kuhla S., Hagemeister H., Sommer A. (1999): Morphological and functional development of the rumen in the calf: influence of the time of weaning. 1. Morphological development of rumen mucosa. Arch Tierernahr. 52(4):351-362.

THE INFLUENCE OF THE CZECH FLECKVIEH BULL INDIVIDUALITY AND PREPARATION METHOD TO THE SPERM ACTIVITY

Hanuláková Š., Máchal L.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

Email: sarinkas@seznam.cz

ABSTRACT

The main objective of this study was the comparison of five bulls of Czech Fleckvieh. Insemination doses were prepared by 3 different methods. Thirty insemination doses were used from each bull. The first used method was the thawing of insemination doses in water bath and the subsequent 5 min exposure to 0 °C, the second method was the thawing of insemination dose in the warm palm and the third one was standard preparation of insemination doses. The sperm activity was evaluated in 4 times tages (t = 0, t = 15 min, t = 30 min, t = 60 min). The obvious differencies in sperm activity were observed for the tested bulls. Conclusing differencies among tested methods were observed as well.

Key words: bull, Czech Fleckvieh, sperm activity, insemination dose

Acknowledgement: This project was supported by IGA TP8/2011

ÚVOD

Kvalitu plemenného býka nelze vidět jen v plemenné hodnotě, ale také v kvalitě reprodukčních funkcí, které limitují využitelnost i u plemenářsky špičkového samce. O genofond špičkových plemeníků je obrovský zájem a je tedy snahou, aby byli tito plemeníci maximálně využíváni (VĚŽNÍK et al., 2004). Inseminace řídí reprodukční proces a je podmínkou pro masový rozvoj kontroly dědičnosti. Zpětně umožňuje maximální využití nejlépe prověřených plemenných býků v připařování. Při jejím rozšíření lze úspěšně realizovat ústřední plemenářské programy v chovu skotu a podstatně zkrátit cestu k chovnému cíli s možností akcelerace selekčního programu. K rozhodující kvalitativní změně ve využití inseminace došlo však teprve po úspěšném vývoji metod kryokonzervace a dlouhodobého uchování býčího spermatu v prostředí tekutého dusíku a jejím zavedení do široké praxe (PETELÍKOVÁ et al., 1998). VĚŽNÍK et al. (2004) k tomu dodává, že základem pro úspěšný chov skotu je bezproblémové zvládnutí reprodukce - zajištění obratu stáda z vlastního chovu. Trendem posledních doby je ustupování od zajištění inseminace dodavatelskou formou od plemenářských podniků. Jejich úlohu v zemědělském podniku přebírají chovatelé, zootechnici, přičemž k vykonávání dané činnosti musí mít příslušné osvědčení. Úspěšnost inseminace závisí na řadě faktorů, které přímo souvisí s odborností inseminačního technika: stanovení optimální doby pro inseminaci plemenice, použití kvalitní inseminační dávky, správně provedený inseminační úkon a v neposlední řadě správná příprava inseminační dávky. KLIMENT et al. (1989) zdůrazňuje, že v provozu inseminačních stanic je nezbytné zajištění pravidelné kontroly kvality spermatu na vysoké odborné úrovni, protože na ní je velká závislost úspěchu inseminace a důvěry chovatelů k této biotechnické metodě v reprodukčním procesu u hospodářských zvířat. Základní vyšetření spermatu probíhá bezprostředně po jeho odběru a jedním z nejdůležitějších vyšetření je kontrola aktivity spermií, která se provádí před zamrazením ejakulátu i po jeho rozmražení. Podle GARNERA (1991) je schopnost pohybu spermií jednou z jejich nejunikátnějších vlastností. VĚŽNÍK et al. (2004) doplňuje, že většina autorů považuje progresivní pohyb spermií za významný ukazatel pro odhad fertilizační schopnosti semene. Z hlediska funkčního je pohyb spermií nutnou podmínkou jejich průniku do vaječné buňky. Proto je připravenost energie (ATP) výměnou látkovou základní potřebou buněčné vybavenosti každé spermie. Všechny faktory ovlivňující motilitu spermií, ovlivňují i výměnu látkovou a naopak. Důležitost progresivního pohybu spermie zdůrazňuje ve své publikaci i LOUDA et al. (2001), který uvádí, že přímý progresivní pohyb vpřed za hlavičkou je jedním z nejvýznamnějších ukazatelů oplozovací schopnosti ejakulátu a je znakem funkční plnohodnotnosti spermií.

Cílem práce bylo vyhodnotit vliv individuality býka zařazeného do testace na aktivitu spermií po rozmražení inseminační dávky za použití různých metod její přípravy a zjistit možný negativní dopad některých nestandardních metod přípravy inseminačních dávek běžně používaných v praxi.

MATERIÁL A METODIKA

K analýze byly použity inseminační dávky pěti býků českého strakatého skotu. Jednalo se o neprověřené plemeníky, kteří byli zařazeni do testačního programu v roce 2006. Býci byli umístěni na jedné inseminační stanici. Plemenná hodnota aktualizovaná v lednu 2011 býků je uvedena v tabulce 1. Od každého býka bylo hodnoceno 30 hluboce zmrazených inseminačních dávek o objemu 0,25 cm^3. Pro experiment byly zvoleny 3 způsoby přípravy inseminační dávky. První byla zvolena metoda standardního rozmražení inseminační dávky ve vodní lázni o teplotě 38 ºC. Doba rozmražení byla podle technologického návodu stanovena na 20 sekund, i když někteří autoři uvádí ve svých publikacích širší časové rozpětí. Např. LOUDA et al. (2001) uvádí dobu rozmražení mezi 12 – 25 vteřinami. Tato metoda byla považována za výchozí způsob pro srovnání s výsledky dalších nestandardních postupů přípravy inseminačních dávek. Po vyjmutí z lázně byla pejeta osušena buničitou vatou, byl odstřižen zatavený konec a dávka byla vložena do katetru. Následně byla překryta plastovou krytkou, což byla finální úprava dávky před jejím následným hodnocením. Tato metoda byla následně porovnána s metodami, které jsou využívány v praxi některými inseminačními techniky. Jedná se především o způsob rozmražení inseminační dávky v sevřené dlani. Na základě zkušebního testu byla stanovena doba k rozmražení dávky na 15 sekund. Po rozmražení se odstřihl zatavený konec a stejně jako u předchozí metody byla pejeta vložena do kovového katetru a překryta plastovou krytkou. U třetího způsobu bylo použito standardního způsobu rozmražení pejety ve vodní lázni o teplotě 38 ºC. Následně byla inseminační dávka vložena na do chladničky, kde ležela 5 minut při teplotě 0 °C. Tímto způsobem byla simulována situace, kdy je technikem v zimě rozmraženo více inseminačních dávek současně, a než proběhne vlastní inseminace, dojde k ochlazení rozmražené pejety.

Tab. 1: Dílčí selekční index pro reprodukci a plemenná hodnota býků (leden, 2011)

plemenná příslušnost	**DSI-REP**	**RPH - vlastní plodnost býka**	**RPH - plodnost dcer**
BÝK A C81A19	108	113	107
BÝK B C87A13	89	89	105
BÝK C C78A22	102	105	107
BÝK D C85A15	110	111	110
BÝK E C100	96	99	105

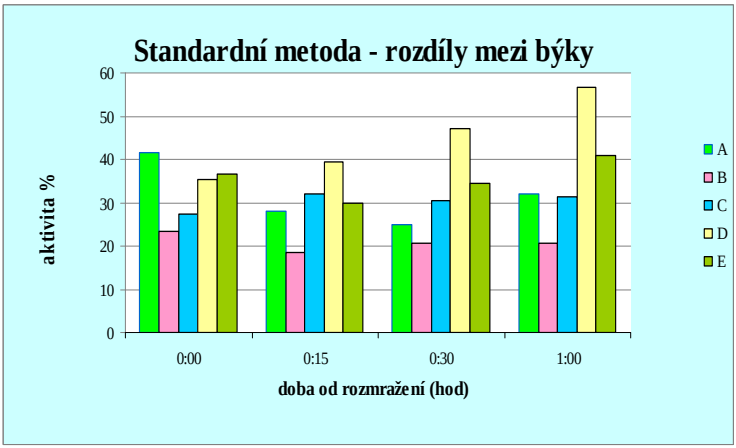
Aktivita spermií byla posuzována mikroskopicky při 200 – 300 násobném zvětšení s využitím výhřevné destičky (teplota 39 ºC ± 1 ºC). Motilita byla hodnocena vždy ze 3 zorných polí a odhadem se stanovilo procentické zastoupení spermií pohybujících se přímočarým pohybem vpřed za hlavičkou. Posouzení bylo provedeno ve všech případech stejným pracovníkem. Aktivita byla hodnocena ve čtyřech časech, aby bylo zjištěno, jak dlouho po rozmražení bude zachována předepsaná minimální 30% aktivita spermií po rozmražení. První hodnocení proběhlo ihned po rozmražení dávky a zasunutí do katetru (čas t_0). Druhé hodnocení proběhlo po 15 minutách (čas

t_{15}). Třetí hodnocení proběhlo v čase 30 minut od rozmražení (čas t_{30}) a poslední hodnocení ejakulátu proběhlo po jedné hodině od rozmražení (čas t_{60}). Po dobu čekání na další hodnocení byly katetry s inseminačními dávkami odloženy v laboratoři při teplotě 20 ºC ± 3 ºC. Přestože tato teplota neodpovídá standardnímu testování aktivity spermií, byla touto teplotou simulována situace, kdy technik ponechá ležet zavaděč s rozmraženou inseminační dávkou delší dobu ve stáji, kde se teplota prostředí pohybuje okolo 20 °C. Dávky jednotlivých býků byly otestovány zvolenými způsoby přípravy inseminační dávky a jejích individuální výsledky vzájemně porovnány.

Statistické vyhodnocení bylo provedeno pomocí statistického balíku STATISTICA 9.0. s využitím jednofaktorové anovy. K určení průkaznostní mezi metodami byl použit Scheffeho test.

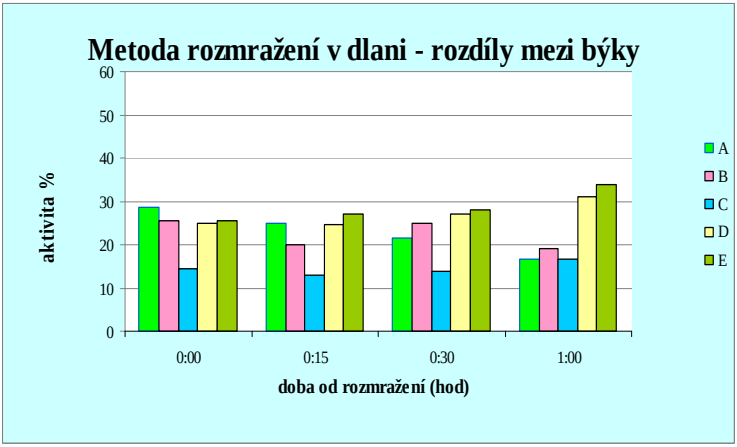
VÝSLEDKY A DISKUZE

Při použití standardní metody rozmražení pejety byla v čase t = 0 zaznamenána nejvyšší aktivita u býka A 41,5 % ± 13,8 %. Nejnižší hodnotu vykazoval býk B 23,5 % ± 6,3 %. Po 15 min byla naměřena nejvyšší aktivita u býka D a to 39,5 % ± 10,4 %. Nejnižší aktivitu vykazovaly vzorky od býka B, a to v průměru 18,5 % ± 5,8 %. Stejně jako u předchozího měření byla i v čase t = 30 zaznamenána nejvyšší aktivita u býka D 47,0 % ± 5,4 % a nejnižší u býka B 20,5 % ± 7,2 %. Po 1 hodině od rozmražení vzorků vykazoval nejvyšší motilitu opět býk D a to dokonce v průměru 56,5 % ± 3,4 %. Nejnižší hodnota byla naměřena u býka B 20,5 % ± 6,4 %. Z výsledků je patrné, že nejvyšší aktivitu u této metody přípravy inseminační dávky vykazoval býk D, a to ve všech měřených časech, nejnižší aktivita byla vyhodnocena u býka B. Změny aktivit u jednotlivých býků při použití standardní metody je graficky vyjádřeno v grafu 1.



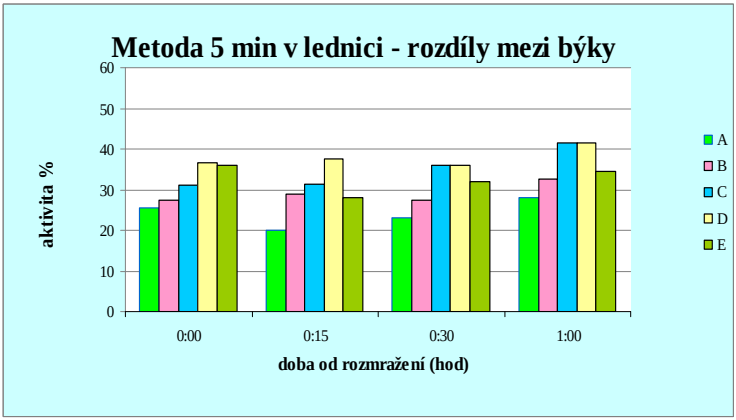
Graf.1: Rozdíly aktivit mezi jednotlivými býky u standardní metody rozmražení

Metoda rozmražení v dlani vykázala v čase t = 0 nejvyšší procento motilních spermií u býka A 28,5 % ± 11,3 % a nejnižší hodnotu u býka C 14,5 % ± 4,4 %. Po 15 minutách se jako nejlepší ukázal vzorek spermatu od býka E 27,0 % ± 6,3 %. Nejhorší aktivita byla zaznamenána u býka C 13,0 % ± 4,2 %. V čase t = 30 min byl nejlepším býkem vyhodnocen býk E s průměrnou aktivitou 28,0 % ± 8,6 %. Nejhorší průměrné aktivity v čase t = 30 dosáhl býk C 14,0 % ± 4,6 %. Po hodinovém měření vykazoval nejlepší motilitu spermií býk E 34,0 % ± 6,1 %. Nejhorší pak byli býci C a A, kteří měli shodně v průměru 16,5 % ± 6,7 %. Z grafického vyjádření výsledků (Graf. 2) vyplívá, že nejhorší aktivitu spermií při metodě rozmražení v dlani vykazoval býk C, a to ve všech měřených časech. Nejlepšího výsledku u tohoto způsobu přípravy inseminační dávky dosáhl býk E.



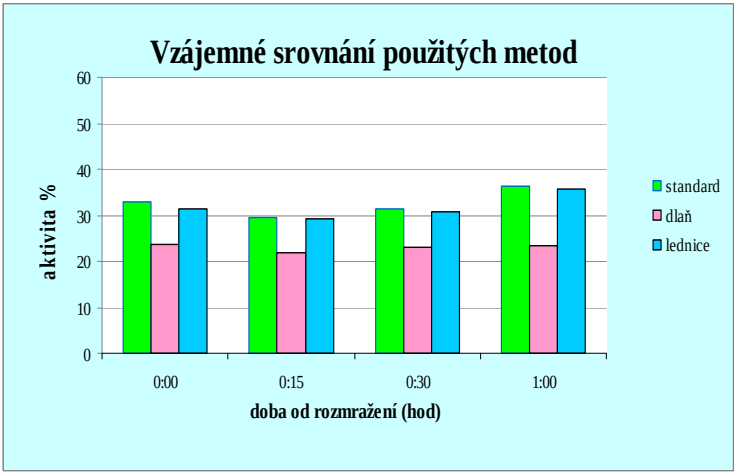
Graf. 2: Rozdíly aktivit mezi jednotlivými býky při použití metody rozmražení v dlani

Třetí metoda, která spočívala v uložení standardně rozmražené dávky na 5 min do chladničky o teplotě 0 °C, zaznamenala nejlepší výsledky u býka D, který vykázal ve všech měřených časech nejvyšší průměrnou aktivitu, a to v čase t = 0 36,5 % ± 4,1 %, v čase t = 15 min 37,5 % ± 5,9 %, v čase t = 30 min 36,0 % ± 5,2 % a v čase t = 60 min průměrnou hodnotu 41,5 % ± 10,3 %. Naopak nejnižší motilitu vykazovaly ve všech měřeních vzorky býka A, a to v čase t = 0 25,5 % ± 5,5 %, v čase t = 15 min 20,0 % ± 5,8 %, v čase t = 30 min hodnotu 23,0 % ± 6,7 % a v čase t = 60 min průměrnou hodnotu 28,0 % ± 7,1 %. Grafické vyjádření výsledků je zaznamenáno v grafu 3.



Graf. 3: Rozdíly aktivit mezi jednotlivými býky při použití 5 min ponechání při 0 ºC

Graf 4 znázorňuje rozdíly mezi všemi použitými metodami. Nejvíce chybnou metodou přípravy inseminační dávky se ukázala být metoda rozmražení pejety teplem působícím v sevřené dlani, kde aktivita spermií po rozmražení nedosahovala ani požadované hranice 30 %. Výsledky standardního způsobu rozmražení inseminační dávky a výsledky metody 5 min uložení dávky do lednice jsou srovnatelné, avšak standardní metoda ji ve všech měřených časech mírně převyšuje.



Graf. 4: Srovnání rozdílných aktivit v závislosti na použité metodě

Výrazně rozdílných výsledků dosáhl MUIÑO et al. (2009), který ve svém experimentu použil sperma Asturiana de los Valles býků, které pak bylo inkubováno při teplotě 37 ◦C. Tyto vzorky následně analyzoval, v čase 0h a 2h, pomocí systému CASA. Zatímco u čerstvého ejakulátu dosahovala motilita v průměru 95 % ± 4,4 %, u rozmraženého poklesla na 78,8 % ± 16,7 % a po 2 hod inkubace se ještě dále snížila na 76,9 % ± 16,7 %. BALLESTER et al. (2007) se rovněž zabýval aktivitou spermií po rozmražení. Ve své práci používal sperma býků Swedish red. Pejety byly rozmraženy ve vodní lázni o teplotě 35 ◦C po dobu 12 s. Sperma bylo analyzováno ihned po rozmražení a následně po 30 minutové inkubaci při 38 ◦C. BALLESTER et al. (2007) zjistil v čase t = 0 min hodnotu motilních spermií po rozmražení 49,5 % ± 13,9 %. Po 30 minutové inkubaci zaznamenali nárůst aktivních spermií na hodnotu 60,2 % ± 14,9 %. Experiment založený na různých způsobech rozmražení inseminační dávky provedl také CONTRI et al. (2010). Inseminační dávky býků Swiss Brown rozmrazoval standardní metodou rozmražení používanou v Itálii (10 min při 37 °C), dále použil k rozmrazení dávky teplotu 37 °C po dobu 1 min, a jako třetí způsob rozmrazoval 5 sekund při teplotě 70 °C. Při standardní metodě rozmrazení naměřil průměrnou hodnotu spermií s progresivním pohybem 48,1 % ± 7,6 %. U druhé metody zaznamenal hodnotu progresivního pohybu 45,0 % ± 5,0 %. U třetí metody zaznamenal hodnotu 45,5 % ± 8,1 %.

ZÁVĚR

Cílem tohoto experimentu bylo nejen porovnat motilitu ejakulátu po různých způsobech rozmražení, ale také vzájemně porovnat použité metody přípravy inseminační dávky a určit jejich použitelnost v praxi. Při srovnávání jednotlivých býků, kde byla zohledněna individualita zvířete vykázal nejlepší výsledky býk D, který se ukázal jako nejlepší ve 2 ze třech metod. Tento býk má také nejvyšší dílčí selekční index DSI-REP 110. U standardní metody byla zaznamenána nejnižší aktivita ve všech měřených časech u býka B, který v kontrole dědičnosti získal ze všech použitých býků nejnižší dílčí selekční index DSI-REP 89. Při použití rozmražení pejety v dlani byly nejlepší výsledky zaznamenány u býka E, který získal v kontrole dědičnosti DSI-REP 96. Velmi nízká aktivita byla zaznamenána u býka C, který získal DSI-REP 102. U metody 5 min ponechání pejet v lednici vykázal nejlepší výsledky opět býk D. Nejnižší aktivita byla zaznamenána u býka A, který získal v kontrole dědičnosti DSI-REP 108. Výsledky prokázaly vysoce statisticky průkazný rozdíl mezi jednotlivými býky. Zjištěné výsledky také prokázaly vysoce statisticky průkazný rozdíl mezi metodou rozmražení v dlani a zbývajícími použitými metodami. Na základě těchto výsledků můžeme konstatovat, že k rozmrazování inseminačních dávek je vhodné použít pouze standardní předepsanou metodu přípravy inseminační dávky ve vodní lázni o teplotě 38 °C. Vzhledem k tomu, že 5 min ponechání dávek v chladu výrazně neovlivnilo aktivitu ve srovnání se standardní metodou a nebyl mezi výsledky těchto dvou metod prokázán statisticky průkazný rozdíl, je pravděpodobné, že by se dala pejeta použít po delší době od rozmrazení i při nepříznivých klimatických podmínkách, se kterými se inseminátor může často setkat.

LITERATURA

BALLASTER, J. – JOHANNISSON, A. – SARAVIA, F. – HAARD, M. – GUSTAFSSON, H. – BAJRAMOVIC, D. – RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, H, 2007: Post-thaw viability of bull AI –doses with low-sperm numbers. Theriogenology 68, 934 – 943.

CONTRI, A. – VALORZ, C. – FAUSTINI, M. – WEGHER, L. – CARLUCCIO, A, 2010: Effect of semen preparation on casa motility results in cryopreserved bull spermatozoa. Theriogenology 74, 424 – 435.

GARNER, D.L, 1991: Artificial Insemination, s. 251-256, In: CUPPS, P.T. (ed.): Reproduction in domestic animals. Academia press, California, 669 s.

KLIMENT, J. – HINTNAUS, J. – NOVÁK, M. – ROB, O. – ŠŤASTNÝ, P, 1989: Reprodukcia hospodárskych zvierat. Priroda n.p. Bratislava, 2 vyd., 372 s.

LOUDA, F. – ČEŘOVSKÝ, J. – JEŽKOVÁ, A. – STÁDNÍK, L, 2001: Inseminace hospodářských zvířat se základy biotechnických metod. Česká zemědělská univerzita, Praha, 1 vyd., 225 s.

MUIÑO, R. - PEÑA, A. – RODRÍGEUZ, A. – TAMARGO, C. – HIDALGO, C, 2009: Effect

of cryopreservation on the motile sperm subpopulations in semen from Austrian de los Valles

bulls. Theriogenology 72, 860 – 868.

PETELÍKOVÁ, J, 1998: Historický vývoj, současný stav a výsledky inseminace skotu v České republice, s.12-18. In: 50 let inseminace v ČR, Českomoravská společnost chovatelů s.r.o, 94 s.

VĚŽNÍK, Z. – ŠVECOVÁ, D. – ZAJÍCOVÁ, A. – PŘINOSILOVÁ, P, 2004: Repetitorium spermatologie a andrologie, metodiky spermatoanalýzy. Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno, 258 s.

THE EFFECT OF DIFFERENT LEVELS OF THE CHROMIUM (PICOLINATE) ON THE LABORATORY VALUE OF EJACULATE BY BREADING 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 feeding organic form of chromium (picolinate) and its influence on changes of laboratory sperm values (sperm motion, volume ejaculate, concentration of sperms, percentage of patological sperms) by breeding boars. There were given 51 boars who were divided into three similar groups. The chromium dose was not got higher to control group (n = 16) of boars. The first group (n = 18) was fed on 60.6 µg/kg of chromium dose in feeding mixture orally. The second goup (n = 17) was fed on 121.21 µg/kg of chromium dose in feeding mixture orally

The chromium supplemantion increased percentage of patological sperms in the second group of boars ($P < 0.05$). Concentration, sperm motion and volume of ejaculate showed the same trend during the experiment in all groups. The increase of chromium level did not have direct influence on these parameters.

Key words: boars, ejaculate, chromium, pikolinate

Acknowledgement: The project was funded from the grant IGA TP 2/2011

ÚVOD

Chróm (Cr), jako esenciální stopový prvek ve výživě zvířat byl objeven v roce 1959. (SCHWARZ a MERTZ, 1959; cit., UNDERWOOD a SUTTLE, 1999). Požadavek na Cr roste v období zvýšeného stresu – např. při únavě, poranění, reprodukční vytíženosti, různých formách metabolického, fyzického a emocionálního stresu, tak jako environmentálních vlivech (ANDERSON, 1994; cit., ANDERSON a kol, 1997; WRIGHT a kol., 1994; LINDEMANN, 1999). V současné době je používání Cr v zemích evropské unie legislativně zakázáno (PECHOVÁ a PAVLATA, 2007).

Výzkumné práce vědců sledující působení chrómu na reprodukční schopnosti prasat byly do současné doby úspěšně provedeny na prasnicích (LINDEMANN a kol. 1995; PAGE a kol., 1993; AMOIKON a kol., 1995). Cílem naší studie bylo zjistit zda-li doporučená denní dávka chrómu přímo ovlivňuje laboratorní hodnoty ejakulátu u plemenných kanců..

MATERIÁL A METODIKA

Vlastní pokus byl proveden na inseminační stanici kanců ve Velkém Meziříčí. Do experimentu bylo zařazeno 51 plemeníků, kteří byli rozděleni do tří vyrovnaných skupin dle věku a plemenné příslušnosti. Pro sledování bylo využito kanců plemene Duroc, Bílé ušlechtilé, Landrase a otcovská plemena SL 38 (Pn x DU), SL 48 (LW x Pn). Pokusná zvířata byla ustájena individuálně a měla ad-libitní přístup k vodě.

Všem zvířatům bylo zkrmováno 3,3 kg základní krmné směsi (Tab. 1), obsahující 62 µg Cr/kg. Celkový příjem Cr u kanců (n = 16) skupiny kontrolní (SK) odpovídá pouze 31 % z doporučeného denního zásobení dle CLOSE a COLE (2003). Kancům (n = 18) první pokusné skupiny (S1) byl navíc perorálně aplikován organicky vázaný chróm v dávce 60,6 µg/kg celkový příjem tedy odpovídá 61,3 % doporučené denní dávky. Kancům (n = 17) druhé pokusné skupiny (S2) byla navýšena dávka chrómu o 121,21 µg/kg směsi což činí 91,6 % doporučené denní dávky. Skupinám kanců S1 a S2 by chróm doplňován v organické formě jako chróm pikolinát ve formě tablet. Tyto tablety byly podávány vždy při ranním krmení.

Pro projev spermatogeneze (cca 42 dní) byla stanovena délka pokusného sledování na 95 dní. Pokusné sledování bylo započato v polovině prosince 2010 a ukončeno v polovině března 2011. Experiment byl rozdělen na čtyři sledovaná období. První období trvalo 18 dní, druhé 31 dní, třetí 28 dní a čtvrté 18 dní. Kancům bylo semeno odebíráno dle aktuální potřeby produkce inseminačních dávek s ohledem na jejich zdravotní stav a věk kance, minimálně však 3x za měsíc. Zdravotní stav byl sledován veterinárním lékařem.

Makroskopické a mikroskopické hodnocení ejakulátu bylo provedeno v laboratoři na ISK. Objem ejakulátu byl stanoven pomocí odměrného válce. Stanovení motility spermií bylo provedeno do

15 minut po odběru kance, mikroskopicky z šetrně promíchaného spermatu. Koncentrace spermií se určovala fotometricky pomocí přístroje Spekol 11. Procento patologických spermií bylo stanoveno mikroskopicky z prvního odběru v měsíci.

Tab. I Složení krmné směsi pro kance

Komponenta	% zastoupení
Ječmen zrno	36,00
Pšenice zrno	20,36
Oves zrno	20,00
Sojový extrahovaný šrot	14,50
EKPO T	3,00
Bergafat	2,10
Uhličitan vápenatý	1,50
Monodikalciumfosfát	1,20
Minerálně vitaminózní premix pro kance	0,50
Chlorid sodný	0,40
Oxid hořečnatý	0,15
L-Lyzin HCl	0,14
L - Threonin	0,09
Methionin DL	0,06

Bergafat – palmový olej; EKPO T – biskvitová moučka

VÝSLEDKY

Experiment byl proveden dle stanovené metodiky. Během pokusného sledování nebyly u zvířat pozorovány žádné zdravotní problémy.

Motilita spermií byla u všech skupin po celou dobu pokusného sledování relativně neměnná. Skupina kanců SK měla na konci experimentu o 0,72 % vyšší pohyblivost spermií než na začátku sledování. U skupiny kanců S1 došlo k lineárnímu poklesu motility spermií. Na konci experimentu jsme naměřili celkové snížení o 2,37 %. Skupina kanců S2 na rozdíl od skupiny SK a S1 zaznamenala lineární zvýšení tohoto ukazatele o 1,81 % ve srovnání s obdobím na začátku sledování. Vývoj motility spermií je dobře patrný z tabulky II..

U objemu ejakulátu jsme zaznamenali u skupiny zvířat SK postupný pokles ve všech obdobích. Na konci experimentálního sledován snížení objemu semene u těchto zvířat činilo 8,15 % od začátku trvání pokusného pozorování. Skupina prasat S1 vykazovala variabilní hodnoty objemu ejakulátu. Nejvyšší nárůst (9,33 %) byl zaznamenán ve druhém období, poté nastala redukce až do čtvrtého období sledování. Zde byl již nárůst ve srovnání s prvním obdobím pouze 3,06 %. Pokusná skupina

kanců S2 zaznamenala obdobný trend vývoje kvantity ejakulátu jako u skupiny zvířat SK. U těchto zvířat došlo k postupnému snížení o 4,29 %. Vývoj objemu ejakulátu je znázorněn v tabulce II..

Vývoj koncentrace spermií měl u všech tří sledovaných skupin kanců klesající trend. Skupina zvířat SK zaznamenala propad od počátku sledování o 5,14 % v posledním období. U skupina kanců S1 byl naměřen obdobný pokles jako u skupiny SK, který činil 6,8 % na konci sledování. U experimentální skupiny zvířat S2 jsme zjistili nejvyšší pokles ze všech sledovaných skupin o 7,65 % ve srovnání s prvním obdobím. Nejvyšší hodnoty koncentrace spermií jsme zaznamenali u všech skupin ve druhém a třetím období sledování. Vývoj koncentrace spermií je patrný z tabulky II.

U posledního sledovaného parametru procenta patologických spermií byl nalezen vzestup u všech tří sledovaných skupin zvířat. U skupiny kanců SK byl vyhodnocen vzestup patologických spermií v poslední části pokusného sledování o 12,57 % v porovnání s prvním obdobím. Nejvyšší hodnota byla naměřena u této skupiny ve třetí části pokusu. U skupina zvířat S1 jsme zjistili obdobný trend jako u SK, u této skupiny kanců se zvýšilo procento patologických spermií o 20,24 %. I u skupiny kanců S2 došlo ke zvýšení tohoto reprodukčního ukazatele o 66,82 % toto navýšení bylo statisticky průkazné ($P < 0,05$). Z výsledků je patrné, že procento patologických spermií se zvyšovalo úměrně s dávkou chrómu v krmné dávce. Vývoj procenta patologických spermií je patrný z tabulky II.

Tab. II. Znázornění změn laboratorních hodnot ejakulátu kanců

Perioda	Skupina	Počet odběrů	Průměrný počet odběrů na jednoho kance	Ukazatele ejakulátu			
				Motilita spermií (%)	Objem ejakulátu (ml)	Koncentrace spermií (tis/mm^3)	Patologické spermie (%)
I.	**Kontrola**	42	2.62	70,42 ± 1,61	281,93 ± 74,39	387,47 ± 159,69	8,75 ± 6,33
	Pokusná S1	49	2,72	70,19 ± 1,83	260,00 ± 79,26	412,78 ± 128,78	10,72 ± 5,52
	Pokusná S2	46	2,70	70,39 ± 1,07	265,48 ± 84,54	417,84 ± 170,85	6,27 ± 4,68
II.	**Kontrola**	51	3.18	70,63 ± 1,65	260,31 ± 84,39	444,53 ± 131,53	8,66 ± 5,06
	Pokusná S1	67	3,72	69,95 ± 3,65	284, 26 ± 80,46	441,67 ± 136,23	9,70 ± 5,66
	Pokusná S2	60	3,52	70,66 ± 2,59	265,23 ± 73,37	438,48 ± 147,12	7,80 ± 4,87
III.	**Kontrola**	52	3.25	68,81 ± 8,44	263,32 ± 85,22	407, 38 ± 125,70	11,43 ± 7,60
	Pokusná S1	55	3,05	69,17 ± 3,44	250,06 ± 73,92	406,63 ± 123,70	11,22 ± 7,04
	Pokusná S2	60	3,52	71,13 ± 2,76	249,26 ± 72,49	456,52 ± 185,62	9,06 ± 4,59
IV.	**Kontrola**	34	2.12	71,04 ± 4,16	258,96 ± 94,88	365,68 ± 118,73	9,85± 8,12
	Pokusná S1	39	2,16	68,52 ± 12,52	267,96 ± 79,11	384,72 ± 119,82	12,89 ± 7,43
	Pokusná S2	40	2,35	71,67 ± 2,86	254,10 ± 86,04	385,88 ± 152,00	10,46 ± 5,34*

** symbol vyjadřující v rámci sloupce statisticky průkazné změny (ve srovnání s I obdobím tj. od počátku experimentu); P < 0,05 **

DISKUZE

V našem experimentu jsme nezaznamenali žádný pozitivní vliv přídavku chrómu pikolinátu (CrPi) na reprodukční výkonnost u plemenných kanců. K obdobným závěrům došel i GALL a kol. (2003), kdy testovali přídavek chrómu pikolinát na 153 kancích rozdělených do dvou skupin. Kanci přijímali 2,27 kg krmné směsi, byli obdobně jako v našem sledování doplňováni 200 ppb chrómu (pokusná skupina) a skupina kontrolní bez přídavku chrómu. Kanci byli odebíráni v průměru třikrát týdně. Experiment trval 135 dnů. Tento tým výzkumníků rovněž došel k závěru, že doplňování chrómu do krmných dávek kanců nemá žádný zásadní vliv na reprodukční ukazatele. Ve studií, která se zabývala vlivem chrómu na reprodukci u samců opice macaca zkrmoval ARULDHAS a kol. (2006), různé hladiny tohoto prvku v dávce 100, 200 a 400 ppb rozpuštěného ve vodě po dobu 180 dnů. Rovněž i v tomto pokusu nebyl zaznamenán žádný trend ve zlepšení reprodukčních ukazatelů. DESHMUKH a kol. (2009) přidávali do diety potkanů trojmocný chróm v dávkách 0, 4, 15 a 60 ppb. Mezi reprodukční ukazatele, které hodnotili zařadili motilitu, koncentraci spermií a morfologické změny na pohlavních orgánech. Jak tito autoři uvádí, za celé pokusné období nebyly pozorovány žádné změny v kvalitě ejakulátu, které by bylo možné přičíst příjmu chrómu. Nejlepších výsledků bylo dosaženo jak u motility, tak koncentraci spermií při dávce 4 ppb chrómu, tyto výsledky ovšem nebyly statisticky průkazné. V obdobném experimentu ANDERSON a POLANSKY (1981) zjistili u potkanů při podávání diety, která obsahoval méně než 100 ppb chrómu celkové snížení počtu spermií. Dále se snížila o 25 % úspěšnost oplodnění v porovnání se skupinou, které byl doplněn chróm do krmné dávky. CLOSE a COLE (2003) uvádí ve své publikaci, že je vhodné přidávat kancům v reprodukci do krmné dávky 200 ppb chrómu pro zlepšení reprodukčních ukazatelů. Podle těchto dvou autorů dodávání chrómu zvýšilo koncentraci spermií a celkovou plodnost u samců laboratorních potkanů. Dále dodávají, že přídavek chrómu v dávce 200 ppb má pozitivní vliv na celkový reprodukční potenciál plemenných kanců. V našem sledování se ovšem tato skutečnost nepodařila potvrdit.

ZÁVĚR

V experimentu provedeném na 51 kancích byl pozorován vliv zkrmování organické formy chrómu na laboratorní hodnoty ejakulátu plemenných kanců.

Přídavek chrómu do krmné směsi vedl k průkaznému zvýšení procenta patologických spermií ($P < 0,05$). U ostatních sledovaných hodnot jsme v našem experimentu nezaznamenaly žádných průkazných změn. Studium působení chrómu za stresových podmínek či podrobnější sledování faktorů ovlivňujících působení chrómu na celkové a reprodukční zdraví plemenných kanců by mělo být předmětem dalšího zkoumání

LITERATURA

AMOIKON, E. K., FERNANDEZ, J. M., SOUTHER, L. L., THOMPSON, D. L., WARD, T. L., OLCOTT, B. M. 1995: Effect of chromium tripicolinate on growth, glucose-tolerance, insulin

sensitivity, plasma metabolites, and growth-hormone in pigs. *Journal of Animal Science*, 73: 1123–1130.

ANDERSON, R. A., POLANSKY, M. M. 1981: Dietary chromium deficiency. Effect on sperm count and fertility in rats. *Biological Trace Element Research*, 3: 1-5. ISSN 01634984.

ANDERSON, R. A. 1997: Nutritional factors influencing the glucose/insulin system: Chromium. *Journal of American College Nutrition*, 16: 404–410.

ARULDHAS, M.M.; SUBRAMANIAN, S.; SEGHAR, P.; VENGATESH, G.; GOVINGARAJULU, P.; AKBARSHA, M.A. (2006): In vivo spermatotoxic effect of chromium as reflected in the epididymal epithelial principal cells, basal cells, and intraepithelial macrophages of a nonhuman primate (Macaca radiata Geoffroy). *Fertility and Sterility*. 88, s. 1097-1105. ISSN 00150282.

CLOSE, W. H., COLE, D. J. A. 2003: *Nutrition of Sows and Boars*. Vyd. 1. Nottingham: Nottingham University Press, s. 377 ISBN 978-1-897676-530.

DESHMUKH, N. S., BAGCHI, M., LAU, F. C., BAGCHI, G. 2009: Safety of a novel oxygen-coordinated niacin-bound chromiumnext term (III) complex (NBC): I. Two-generation previous termreproductionnext term toxicity study. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 103: 1748–1754 .

GALL, T. J., ROSEBOOM, K. J., MOSER, R. A., ORR, D. E., PURSER, P. R. 2003: Effect of feeding chromium tripicolinate as a top dress to boars upon sperm production. *Journal of Dairy Science*, 85: 161–163.

LINDEMANN, M. D. 1999: Chromium and swine nutrition. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*, 12: 149–161.

LINDEMANN, M. D., WOOD, C. M., HARPER, A. F., KORNEGAY, E. T., ANDERSON, R. A. 1995: Dietary chromium picolinate additions improve gain/feed and carcass characteristic in growing-finishing pigs and increase litter size in reproducing sows. *Journal of Animal Science*, 73: 457–465.

PAGE, T. G., SOUTHERN, L. L., WARD, T. L., THOMPSON, D. L. 1993: Effect of chromium picolinate on growth and serum carcass traits of growing-finishing pigs. Journal *of Animal Science*, 71: 656–662.

PECHOVA, A., PAVLATA, L. 2007: Chromium as an essential nutrient: a review. *Veterinarni Medicina*, 52: 1–18.

UNDERWOOD, E. J., SUTTLE, N. F. 1999: *The Mineral Nutrition of Livestock*. Vyd.3. London: CABI Publishing, 614 s. ISBN 0851991289.

WRIGHT, A. J., MOWAT, D. N., MALLARD, B. A. 1994: Supplemental chromium and bovine respiratory disease vaccines for stressed feeder calves. *Canadian Journal of Animal Science*, 74: 287–295.

EVALUATION OF HAIR, BLOOD PLASMA AND FAECES AS INDICATORS OF MINERAL STATUS IN HORSES AFTER ADDITION OF DIFFERENT COPPER SOURCES INTO FEED RATION

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: petra.jancikova@mendelu.cz

ABSTRACT

The purpose of our work was an evaluation of hair, blood plasma and faeces as indicators of mineral status in horses after the addition of different copper sources. Eighteen warm-blooded horses were divided into three groups. All groups received the same basic feeding rations, which was enriched with an inorganic form of copper for the first group and an organic form of copper for the second group. The results show that the intervention into the feeding ration of mares resulted in a highly significant increase ($P < 0.01$) of copper content excreted in the dry matter of faeces and highly significant increase ($P < 0.01$) of copper content deposited in the dry matter of hair in mares receiving inorganic form of copper. The same results were achieved in the mares receiving the organic form of copper but in the significance level of 0.05. There was the difference ($P < 0.05$) in the content of copper in the blood plasma between the mares supplemented with different sources of copper. Excess of copper showed the least changes in the levels of trace elements in blood plasma, significant interactions were found in hair that can serve as storage of excess materials and the most significant changes were found in the faeces of horses.

Key words: horse, copper, faeces, blood, hair

Acknowledgement: This work has been realized in the context of grant TP 8/2010 and TP 2/2011, financed by the Internal Grant Agency (IGA) of Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno.

ÚVOD

Krevní vzorky jsou často analyzovány s cílem determinovat minerální stav zvířat (Herdt a Hoff, 2011). Převážná většina mědi je vylučována výkaly, trávící trakt je také hlavní cestou vylučování zinku (Hoyt a kol., 1995), přičemž množství vyloučených mikroelementů výkaly jasně odpovídá dietnímu příjmu těchto prvků (Schryver a kol., 1980). Navzdory nedostatku vědeckých údajů k prokázání spolehlivosti, analýza žíní bývá propagována jako prognostický a diagnostický test pro dietní minerální imbalanci u koní (Wells a kol., 1990). Cílem naší práce bylo zhodnocení žíní, krevní plazmy a výkalů jako indikátorů minerálního stavu u koní po přídavku různého zdroje mědi.

MATERIÁL A METODIKA

Do čtrnáctidenního experimentu provedeného na farmě Boukdy – Velké Němčice bylo zařazeno 18 klisen plemene Český teplokrevník. Klisny různého věku (3,6 – 19,8 let), obdobné hmotnostní kategorie (520 - 580 kg) a lehkého pracovního zatížení, byly rozděleny do tří skupin a podrobeny odlišné minerální výživě. Klisny byly krmeny dvakrát denně. Během pokusu zvířata přijímala shodnou základní krmnou dávku, která byla tvořena 12 kg sena, 1,0 kg ovsa, 0,75 kg pšeničného šrotu a 0,75 kg ječného šrotu. Koním v prvé a druhé skupině byla navíc zkrmována při večerním krmení měď (Cu), v různých formách, v množství 120 mg/den. První skupina (n = 6) přijímala měď v organické formě – proteinát (Bioplex Cu, ALLTECH), druhá (n = 6) měď v anorganické formě – $CuSO_4.5H_2O$, třetí skupině (n = 6) nebylo množství mědi v krmné dávce navyšováno a sloužila jako skupina kontrolní. Na množství minerálních látek ve vodě nebyl brán zřetel.

Vzorky krve pro potřebné analýzy byly odebrány 1. a 14. den bilance. Odběry byly provedeny vždy ve stejnou dobu (2 hodiny po ranním nakrmení), klisny nebyly před odběrem fyzicky zatěžovány ani stresovány. Krev byla odebírána z *vena jugularis externa* do plastových vzorkovnic s antikoagulačním roztokem – heparin. Vzorky krve byly ihned po odběru umístěny do chladícího přepravního boxu a vždy nejpozději do 2 hodin zpracovány a uskladněny pro následné analýzy. Krev byla odstředěna (2300 otáček, po dobu 20 minut) a získaná plazma zamražena. Přímé kolorimetrické stanovení koncentrace mědi, zinku a železa bez deproteinace v plazmě bylo provedeno pomocí přístroje Konelab T 20 xt (THERMO ELECTRON OY, Finsko).

Dále byly odebrány vzorky žíní pro stanovení obsahu deponovaných stopových prvků. V den zařazení do sledování byl koním odstraněn na zátylku přibližně 4 cm široký kus hřívy, po 14 dnech byl proveden odběr z tohoto místa, získané žíně byly promyty v jarové vodě, usušeny a připraveny pro analýzu. Obsah jednotlivých prvků v žíních byl stanoven metodou atomové absorpční spektrometrie.

V závěrečných pěti dnech pokusného sledování byly také odebírány od koní výkaly, přibližně 200 g/den. Po vysušení dílčích vzorků, byl připraven vzorek zkušební, v němž byly hladiny vybraných stopových prvků stanoveny pomocí atomové absorpční spektrometrie. Navážka 0,5 g

homogenního vzorku byla mineralizována ve směsi koncentrované kyseliny dusičné a peroxidu vodíku v mikrovlnném systému ETHOS 1 (MILESTONE, Itálie). Po dekompozici vzorku byl roztok doplněn demineralizovanou vodou na objem 25 ml. Koncentrace prvků v takto připravených roztocích byla stanovena na atomovém absorpčním spektrometru s kontinuálním zdrojem záření s vysokým rozlišením ContrAA 700 (ANALYTIK JENA, Německo). Použité vlnové délky: Zn 213,857 nm, Mn 279,482 nm, Fe 248,327 nm, Cu 324,754 nm.

Získané výsledky byly statisticky vyhodnoceny pomocí Studentova t–testu.

VÝSLEDKY A DISKUZE

V průběhu experimentu bylo provedeno hodnocení žíní, krevní plazmy a výkalů jako indikátorů minerálního stavu u koní po přídavku organického a anorganického zdroje mědi. Průměrný počáteční a závěrečný stav sledovaných prvků v krevní plazmě koní zařazených do bilance, jejich směrodatné odchylky i statistické závislosti zachycuje tabulka 1. Z výsledků je patrné, že na počátku experimentu nebyl mezi skupinami v obsahu sledovaných prvků v krevní plazmě koní průkazný rozdíl. V odběru provedeném po 14 dnech jsme nalezli průkazný rozdíl ($P < 0,05$) v obsahu Cu mezi klisnami, kterým byla krmná dávka obohacena o tento stopový prvek, rozdíl ($P < 0,01$) byl u těchto klisen nalezen také v případě železa. Hladiny dalších prvků nebyly změněny. Hodnoty minerálních prvků v krvi nekorespondují s jejich obsahem v celém těle, protože výsledky složení plazmy mohou být ovlivněny doplněním nedostatků vysoce efektivními homeostatickými mechanismy (Radomska a kol., 2005; cit., Gabryszuk a kol., 2008; Lowe a kol., 2009). Přičemž jednorázové vysoké dávky minerálních prvků mají pravděpodobně za následek plazmatickou reakci, v porovnání s nižšími dávkami aplikovanými po delší časové období. Dlouhodobá aplikace může dokonce vést ke snížení obsahu minerálních prvků v plazmě, jak bylo prokázáno například při dlouhodobém doplňování zinku (Kreyenberg, 2003; cit., Kienzle a Zorn, 2006). Ve studii provedené Nailem a kol. (2005), který aplikoval ročkům do krmné dávky síran měďnatý a Cuplex došlo k průkaznému zvýšení ($P < 0,05$) její hladiny v séru koní přijímajících organickou formu v porovnání s koňmi doplňovanými síranem. Tento trend však byl nalezen pouze v jedné ze 3 period zkoušky. V naší studii nevedl přídavek mědi do krmné dávky klisen v porovnání s klisnami kontrolní skupiny k zvýšení její hladiny v krevní plazmě, což může být způsobeno činností homeostatických mechanismů. Nicméně byl nalezen průkazný rozdíl mezi klisnami přijímajícími bioplex a síranovou formu mědi, kde vyšší hladina mědi v plazmě byla nalezena u bioplexu, což by svědčilo o vyšší účinnosti této formy v organismu.

Tab. 1 Statistické vyhodnocení obsahu sledovaných prvků v krevní plazmě koní (průměr ± S_x)

Parametr	Odběr	Skupina	Minerální prvky		
			Zn	Cu	Fe
Plazma (μmol.l^{-1})	Počáteční	Kontrolní	7,96 ± 0,77^{a}	14,72 ± 1,64^{a}	24,86 ± 4,25^{a}
		Organická Cu	8,73 ± 0,65^{a}	15,09 ± 1,98^{a}	20,63 ± 4,60^{a}
		Anorganická Cu	8,56 ± 0,99^{a}	13,79 ± 1,78^{a}	28,53 ± 7,95^{a}
	Závěrečný	Kontrolní	9,08 ± 0,74^{a}	13,24 ± 2,08^{ab}	27,19 ± 6,74^{AB}
		Organická Cu	9,43 ± 1,62^{a}	14,63 ± 2,30^{b}	29,24 ± 2,80^{B}
		Anorganická Cu	8,36 ± 0,82^{a}	12,23 ± 1,30^{a}	22,57 ± 3,19^{A}

Rozdíly mezi skupinami v rámci jednotlivých odběrů a prvků byly: abc - průkazné (P < 0,05); ABC - vysoce průkazné (P < 0,01)

Předmětem zájmu bylo také zhodnocení žíní jako ukazatele stavu sledovaných stopových prvků (Tab. 2). Obsah mědi průkazně vzrostl (P < 0,05) u klisen přijímajících měď v organické formě a vysoce průkazně vzrostl (P < 0,01) u klisen doplňovaných síranem měďnatým v porovnání s klisnami bez přídavku tohoto stopového prvku. Zásah do krmné dávky klisen měl dopad na metabolismus železa a manganu, nevedl však ke změnám v obsahu zinku. Výzkumy naznačují, že koncentrace některých stopových prvků v žíních mohou být ve vztahu k příjmu jednotlivých látek z diety (Combs a kol.,1982). Dunnett a Lees (2003) provedli pokusy pro použití analýz žíní jako indikátoru minerálního stavu celého těla. Minerální látky včleněné do folikulů zřejmě odrážejí minerální stav v čase, ve kterém byla vlasová vlákna syntetizována (Combs, 1987). Dle Biricika a kol. (2005) neodrážela koncentrace Cu v séru a žíních klisen hladinu Cu použitou v dietě. V našem experimentu však došlo k ovlivnění obsahu mědi v žíních při zvýšeném příjmu tohoto prvku. Také Jacob a kol. (1978) uvádějí pozitivní korelaci mezi příjmem mědi a jejím obsahem v chlupech potkanů. Podobně i O'Mary a kol. (1970) usoudili, že hladina Cu v dietě ovlivňovala koncentraci Cu v žíních skotu. Sérum, ani žíně nebyly shledány dobrým indikátorem koncentrace Mn v dietě (Biricik a kol., 2005). Stopovými prvky, zejména mědí, zinkem a selenem se zabývali i Wichert a kol. (2002). Wells a kol. (1990) informuje, že synergické a antagonistické vztahy mezi minerálními prvky a jejich vliv na metabolismus by mohly mít větší vliv na obsah minerálních prvků v žíních, než vlastní nedostatek či nadbytek některého prvku. Nicméně, jsou zde stále obavy o tom, zda obsah žíní správně koreluje s hladinami celého těla. Platnost tohoto přístupu u koní je třeba teprve potvrdit (Hintz, 2001).

Tab. 2 Statistické hodnocení obsahu sledovaných prvků v sušině žíní koní (průměr ± S_x)

Parametr	Skupina	Minerální prvky			
		Zn	Mn	Cu	Fe
Žíně (mg.kg^{-1})	Kontrolní	167,27 ± 27,12^{a}	5,11 ± 2,86^{b}	13,04 ± 1,74^{aA}	194,44 ± 112,08^{ab}
	Organická Cu	152,82 ± 44,94^{a}	1,89 ± 1,13^{a}	15,26 ± 1,22^{b}	93,38 ± 66,66^{b}
	Anorganická Cu	180,43 ± 20,70^{a}	5,39 ± 2,78^{b}	17,53 ± 2,51^{B}	284,33 ± 181,96^{a}

Rozdíly mezi skupinami v rámci jednotlivých prvků byly: abc - průkazné (P < 0,05); ABC - vysoce průkazné (P < 0,01)

Vyhodnocen byl také vliv přídavku mědi na její obsah a hladiny dalších stopových prvků ve výkalech koní (Tab. 3). Výsledky naznačují, že zásahem do krmné dávky klisen pokusných skupin došlo k průkaznému zvýšení ($P < 0,01$) obsahu mědi ve výkalech. Obsah zinku byl u klisen pokusných skupin nižší než-li u klisen kontrolní skupiny, statisticky průkazný rozdíl ($P < 0,05$) byl však nalezen pouze mezi skupinou kontrolní a klisnami, jejichž základní krmná dávka byla doplněna o organickou formu mědi. Vysoce průkazný rozdíl ($P < 0,01$) byl v obsahu zinku i mezi klisnami pokusných skupin. Přídavek organické formy mědi měl také průkazný vliv ($P < 0,05$) na metabolismus železa a manganu. Pagan (2000) uvádí, že zinek a molybden bývají zahrnuty jako prvky narušující absorpci mědi u koní. Ze studie Hoyta a kol. (1995) vyplývá, že rostoucí příjem zinku z diety neměl průkazný vliv na zdánlivou absorpci mědi u koní a tedy ani na její vylučované množství ve výkalech. Rostoucí příjem zinku však byl příčinou průkazného navýšení ($P < 0,05$) vylučovaného zinku ve výkalech. Různé zdroje mědi také použili Naile a kol. (2005) z jejichž výsledků je patrné, že organická forma mědi byla ve dvou ze 3 period vylučována výkaly průkazně více ($P < 0,05$), než-li anorganická forma mědi. Absorpce železa je nižší při jeho zvýšeném příjmu a v případě výskytu vysoké koncentrace mědi, zinku, manganu, kadmia a kobaltu. Navíc, díky účinnému mechanismu zachování železa je vylučování železa nízké a ve výkalech nacházíme zejména neabsorbované železo z krmiv, než-li železo endogenního původu (Jackson, 1998).

Tab. 3 Statistické hodnocení obsahu sledovaných prvků v sušině výkalů koní (průměr ± S_x)

Parametr	Skupina	Minerální prvky			
		Zn	Mn	Cu	Fe
Výkaly (mg.kg^{-1})	Kontrolní	52,93 ± 9,86^{b}	209,01 ± 75,05^{b}	8,44 ± 0,53^{A}	1049,97 ± 167,84^{b}
	Organická Cu	41,30 ± 1,36^{aA}	136,41 ±13,03^{a}	11,46 ± 0,93^{B}	721,82 ± 196,68^{aA}
	Anorganická Cu	46,15 ± 1,85^{B}	139,89 ± 16,69^{ab}	12,09 ± 1,35^{B}	1380,07 ± 328,57^{B}

Rozdíly mezi skupinami v rámci jednotlivých prvků byly: abc - průkazné ($P < 0,05$); ABC - vysoce průkazné ($P < 0,01$)

ZÁVĚR

Cílem práce bylo zhodnocení žíní, krevní plazmy a výkalů jako indikátorů minerálního stavu po přídavku různého zdroje mědi u koní. Z výsledků naší studie vyplývá, že značné navýšení mědi v krmné dávce klisen je příčinou vzniku minerální disbalance u koní. Nadbytek mědi se nejméně projevil na změně hladin stopových prvků v krevní plazmě, značné interakce byly nalezeny v žíních koní, které mohou sloužit, jako úložiště nadbytečných množství látek a nejvýznamnější změny byly objeveny ve výkalech koní. Absorpce mědi byla nejméně efektivní u klisen přijímajících anorganickou formu mědi. Klisny v této skupině deponovali nejvyšší množství mědi do žíní a její hladina v krevní plazmě byla nejnižší. Naopak množství mědi vyloučené klisnami přijímajícími její organickou formu bylo nižší, hladina v krvi nejvyšší a obsah v žíních byl nižší, než-li v případě klisen přijímajících síran měďnatý. Vysoká biologická aktivita organické formy mědi byla však příčinou významných změn v metabolismu zinku, manganu a železa, které nebyly v případě anorganického zdroje pozorovány.

LITERATURA

Biricik, H., Ocal, N., Gucus, A. I., Ediz, B., Uzman, M. (2005): Seasonal Changes of Some Mineral Status in Mares. Journal of Equine Veterinary Science, 25: 346-348.

Combs, D. K. (1987): Hair Analysis as an Indicator of Mineral Status of Livestock. Journal of animal science, 65: 1753-1758.

Combs, D. K., Goodrich, R. D., Meiske, J. C. (1982): Mineral Concentrations in Hair as Indicators of Mineral Status: a Review. Journal of animal science, 54: 391-398.

Dunnett, M., Lees, P. (2003): Trace element, toxin and drug elimination in hair with particular reference to the horse. Research in Veterinary Science, 75: 89-101.

Gabryszuk, M., Sloniewski, K., Metera, E., Sakowski, T. (2010): Content of Mineral Elements in Milk and Hair of Cows from Organic Farms. Journal of Elementology, 15(2): 259-267.

Herdt, T. H., Hoff, B. (2011): The Use of Blood Analysis to Evaluate Trace Mineral Status in Ruminant. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, 27: 255-283.

Hintz, H. F. (2001): Hair as an Indicator of Nutritional Status. Journal of Equine Veterinary Science, 21: 199.

Hoyt, J. K., Potter, G. D., Greene, L. W., Anderson, J. G. (1995): Copper Balance in Miniature Horses Fed Varying Amounts of Zinc. Journal of Equine Veterinary Science, 15: 357-359.

Jackson, S. G. (1998): Trace minerals for the performance horse known biochemical roles and estimates of requirements. The Australian Equine Veterinarian, 16(3): 119.

Kienzle, E., Zorn, N. (2006): Bioavailability of Minerals in the Horse. In: Proceedings of the 3rd European Equine Nutrition & Health Congress.

Jacob, R. A., Klevay, L. M., Logan, G. M. (1978): Hair as a biopsy material: V. Hair metal as an index of hepatic metal in rats: copper and zinc. The American Journal of Clinical Nutrition, 31: 477-480.

Lowe, N. M., Fekete, K., Decsi, T. (2009): Methods of assessment of zinc status in humans: a systematic review. The American Journal of Clinical Nutrition, 89: 2040-2051.

Naile, T. L., Cooper, S. R., Freeman, D. W., Krehbiel, C. R. (2005): Effect of Mineral Source on Growth and Balance in Yearling Horses. The Professional Animal Scientist, 21: 121-127.

National Research Council (2007): Nutrient Requirements of Horses. 6. Washington, D. C.: The National Academies Press, 341 s. ISBN 0-309-10212-X.

O'Mary, C. C., Bell, M. C., Sneed, N. N., Butts, W. T. (1970): Influence of Ration Copper on Mineral in the Hair of Hereford and Holstein Calves. Journal of animal science, 31: 626-630.

Pagan, J. D. (2001): Micromineral requirements in horses. In PAGAN, J. D; GEOR, R. J. *Advances in Equine Nutrition II*. 1. Kentucky Equine Research Inc.: Nottingham University Press, s. 317-327. ISBN 1-897676-78-6.

Schryver, H. F., Hintz, H. F., Lowe, J. E. (1980): Absorption, excretion and tissue distribution of stable zinc and 65zinc in ponies. Journal of animal science, 51: 896-902.

Wells, L. A., Leroy, R., Ralston, S. L. (1990): Mineral Intake and Hair Analysis of Horses in Arizona. Equine Veterinary Science, 10: 412-416.

Wichert, B., Frank, T., Kienzle, E. (2002): Zinc, Copper and Selenium Intake and Status of Horses in Bavaria. The Journal of Nutrition, 132: 1776-1777.

ASOCIATION ANALYSIS IN HMGCR, TCFL, H-FABP AND FTO GENES WITH MEAT PRODUCTION OF PIGS

Kratochvílová L.[1], Pavelková M.[1], Vykoukalová Z.[1], Urban T.[1], Sláma P.[1], Šulcerová H.[2], Jůzl M.[2], Gregor T.[2], Rozíková V.[2], Knoll A.[1]

[1] Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

[2] Department of Food Technology**,** Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: l.krat@seznam.cz

ABSTRACT

Our objective was to analyze polymorphisms in *HMGCR, TCFL, H-FABP* and *FTO* genes and assess association with meat quality parameters. Testing took place on a set of 104 pigs Large White breed. As the polymorphism detection methods were used PCR (polymerase chain reaction) and RFLP (restriction fragment length polymorphism). In the test group were calculated the frequency of genotypes and subsequently was performed association analysis of commercial properties. We observed influence of A>G polymorphism in *HMGCR* gene to color (yellowness b). We proved statistically significant differences between genotypes *DD - dd* ($P < 0.05$) and *Dd - dd* ($P < 0.05$) for meat color (yellowness b). Moreover, we found association between *HMGCR* and L (lightness) ($P < 0.05$). *AC* genotype was associated with higher lightness when compared to *CC* and *AA* genotypes. No association was found between *TCFL, H-FABP* and *FTO* genes and intramuscular fat (IMF), ultimate pH, ultimate electrical conductivity and color.

Key words: *HMGCR, CFL, H-FABP, FTO*, meat production, Czech large white pig.

Acknowledgement: This study was supported by the IGA TP 7/2010.

ÚVOD

Stále zvyšující se důraz na kvalitu potravin, nejen ze strany konzumentů, klade vysoké nároky na produkci vepřového masa. V chovu prasat již tedy nejde jen o zvýšení užitkových vlastností, ale o vlastnosti jako jsou barva masa, jeho pH, obsah mastných kyselin, obsah vody a intramuskulárního tuku a dalších vlastností. Cílem této práce je analyzovat možné asociace vybraných genů s těmito vlastnostmi. Byl vybrán soubor jedinců plemene bílé ušlechtilé, jež má v našem státě v chovech prasat majoritní zastoupení. Geny byly vybrány na základě vědeckých prací, ve kterých je právě tato problematika diskutována.

Gen *HMGCR* (3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase) je limitujícím enzymem pro biosyntézu cholesterolu. Ovlivňuje tedy vlastnosti související s obsahem tuků, ale také vlastnosti kvality masa a produkční vlastnosti prasat. V této práci byla studována mutace c.807A>C v exonu 9, převzána z Canovas et al. (2010).

Gen *TCFL* (*TCF7L2*, transcription factor 7-like 2) byl vybrán k testování na základě asociačních studií, které prokázaly jeho široký vliv na nejrůznější vlastnosti kvality vepřového masa. Byly prokázány asociace *TCF7L2* s výškou hřbetního tuku, procentem lipidů či s barvou masa a denním přírůstkem (Du *et al*., 2009; Fan *et al*., 2010).

Gen *H-FABP* (fatty acid binding protein 3) významně ovlivňuje ukládání intramuskulárního tuku. U prasete je gen *H-FABP* lokalizován na chromozomu 6. Pro tuto práci byl vybrán polymorfismus 1811G>C lokalizovaný v intronu 2. Metodiky PCR-RFLP a sekvence primerů byly převzaty z publikace Pang *et al.* (2006).

Gen *FTO* (fat mass and obesity associated) Pro tuto práci byl vybrán polymorfismus *FTO*:g.276T>G, u něhož Fontanesi *et al*. (2010) prokázal vliv alely *T* na vyšší úroveň intramuskulární tuku a je asociována i s vyšším hřbetním tukem u populace italského duroca a komerčních linií prasat.

MATERIÁL A METODIKA

Testovaná skupina: Jednalo se o 104 prasnic plemene české bílé ušlechtilé pocházejících z jednoho chovu. Během porážky byla odebrána periferní krev, z níž byla vyizolována DNA pomocí QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN). Byly vybrány vhodné jednonukleotidové polymorfizmy.

Měření barvy syrového vepřového masa proběhlo s využitím systému CIE L*a*b* pomocí spektrofotometru Konica Minolta CM-3500d (Konica Minolta, Osaka, Japan). pH bylo měřeno po 24 hodinách post mortem pomocí pH-metru Portamess® 911 Ph (Knick Elektronische Messgeräte,

Berlín, Německo). Pro stanovení elektrické vodivosti masa byl využit konduktometr Fleischtester LF 191/F (WTW, Germany). Toto bylo provedeno na Ústavu technologie potravin.

Výsledky byly zpracovány v programu SAS for Windows 9.1.4. lineárním modelem s pevnými efekty GLM (Tab.1, Tab.2).

Polymorfismus *HMGCR*: c.807A>C byl testován metodou PCR-RFLP. Primery a navržená metodika byly převzaty z Canovas *et al*. (2010).

Primery:

F: 5´-CAAATCCTGTTACTCAGAGAG- 3´

F: 5CAGGAGCATAGCGTGTTATG- 3´

Složení reakční směsi:

1x *Taq* pufr kompletní (Top-Bio, Prague, Czech Republic), 100 µM každého nukleotidu (Fermentas, Vilnius, Lithuania), 0,2 µM každého primeru, 0,6 U *Taq* DNA polymerázy Unis (Top-Bio, Prague, Czech Republic) a 50 ng genomové DNA.

PCR byla provedena v termálním cykleru GeneAmp PCR System 2400 (Applied Biosystems).

Teplotní profil PCR reakce:

Celkový objem 12,5µl.

Počáteční denaturace: 95°C/5min,

35cyklů: (95°C/30s, 56°C/30s, 72°C/40s),

Závěrečná elongace 72°C/5min.

Získaný PCR fragment o velikosti 650 bp byl vizualizován na 3% agarózovém gelu pomocí ethidium bromidu pod UV světlem.

PCR fragment byl dále štěpen restrikčním enzymem *Hin*6I (izoschizomer *Hha*I). Podmínky restrikce byly následující: 1 U restrikčního enzymu *Hin*6I (Fermentas, Vilnius, Lithuania) při 37°C po dobu 16 hodin (přes noc). Dále byla provedena agarózová elektroforéza. Výsledné genotypy byly vizualizovany pomocí ethidium bromidu pod UV světlem. Při přítomnosti alely *A* zůstává PCR fragment neštěpen (650 bp), je-li přítomna alela *C*, je PCR produkt štěpen na 2 fragmenty o velikostech 450bp a 200 bp.

Polymorfismus *TCFL*: c.646+154A>G byl testován metodou PCR-RFLP. Primery a navržená metodika byly převzaty z Fan *et al*. (2010). Oproti původní metodice byla upravena teplota annealingu na 62°C.

Primery:

F: 5´- AGAAAGGAAAGGGTGCAGGT - 3´

F: 5´- GCGATAACTTGTCAGCACGA - 3´

Složení reakční směsi:

1x Taq pufr kompletní (Top-Bio, Prague, Czech Republic), 200 μM každého nukleotidu (Fermentas, Vilnius, Lithuania), 0,2 μM každého primeru, 1,25 U Taq DNA polymerázy Unis (Top-Bio, Prague, Czech Republic) a 50 ng genomové DNA.

PCR byla provedena v termálním cykleru GeneAmp PCR System 2400 (Applied Biosystems). Celkový objem byl 12,5μl.

Teplotní profil PCR reakce:

Počáteční denaturace: 95°C/5min,

35cyklů (95°C/30s, 62°C/40s, 72°C/40s),

Závěrečná elongace: 72°C/5min

PCR fragment o velikosti 314 bp byl štěpen restrikčním enzymem *Bse*NI . Podmínky restrikce byly následující: 1 U restrikčního enzymu *Bse*NI (Fermentas, Vilnius, Lithuania) při 65°C po dobu 16 hodin (přes noc). Genotypy byly určeny na 3% agarozovém gelu po elektroforéze pomocí ethidium bromidu pod UV světlem. Alela A zůstává neštěpena (314 bp), v případě přítomnosti alely *G* je PCR produkt štěpen na 2 fragmenty o velikostech 192 a 122 bp

Polymorfismus *FTO*:g.276T>G byl převzat z Fontanesi *et al.* (2010)

Primery:

F: 5´- ACAGGCCCTGAAGAGGAAAG - 3´

F: 5´- AGTAACCTGGAGTTCCTGTGG - 3´

Složení reakční směsi:

1x LA PCR pufr kompletní (Top-Bio, Prague, Czech Republic), 200 μM každého nukleotidu (Fermentas, Vilnius, Lithuania), 0,2 μM každého primeru, 2 U LA DNA polymerázy mix (Top-Bio, Prague, Czech Republic), 3 % DMSO a 50 ng genomové DNA.

Teplotní profil PCR reakce:

Počáteční denaturace 95°C/2min,

40x (95°C/30s, 64°C/40s, 68°C/50s),

Závěrečná elongace 68°C/7min, celkový objem 12,5μl.

Získaný PCR fragment o velikosti 397 bp byl vizualizován na 3% agarózovém gelu pomocí ethidium bromidu pod UV světlem a dále štěpen restrikčním enzymem *Tai*I. Podmínky restrikce byly následující: 1 U restrikčního enzymu *Tai*I (Fermentas, Vilnius, Lithuania) při 65°C po dobu 16 hodin (přes noc). Genotypy byly determinovány na 3% agarozovém gelu po elektroforéze pomocí ethidium bromidu pod UV světlem. Alela *T* zůstává neštěpena (397 bp), v případě alely *G* je PCR produkt štěpen na 2 fragmenty o velikostech 275 a 122 bp.

Polymorfismus H-FABP Y16180:g.1811G>C byl převzat z Pang *et al.* (2006).

Primery:

F: 5´- ATT GCT TCG GTG TGT TTG AG- 3´

F: 5´- TCA GGA ATG GGA GTT ATT GG - 3´

Složení reakční směsi:

1,1x *Taq* pufr kompletní (Top-Bio, Prague, Czech Republic), 1,4 mM Mg^{2+} (Top-Bio, Prague, Czech Republic), 216 μM každého nukleotidu (Fermentas, Vilnius, Lithuania), 0,2 μM každého primeru, 0,5 U *Taq* DNA polymerázy Unis (Top-Bio, Prague, Czech Republic) a 50 ng genomové DNA.

PCR byla provedena v termálním cykleru GeneAmp PCR System 2400 (Applied Biosystems). Celkový objem byl 12,5μl.

Teplotní profil PCR reakce:

Počáteční denaturace**:** 94°C/3min,

32 cyklů (94°C/1min, 62°C/1min, 72°C/2min),

Závěrečná elongace: 72°C/10min.

Statistická analýza:

Výsledky byly zpracovány v programu SAS for Windows 9.1.4. lineárním modelem s pevnými efekty GLM. Do výpočtu byla aplikována Bonferroniho korekce.

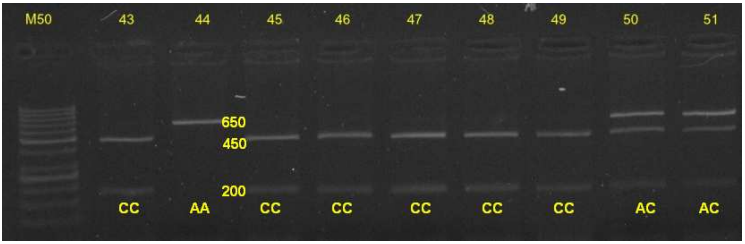
VÝSLEDKY A DISKUZE

Stanovení polymorfizmu v genu *HMGCR*: c.807A>C:

PCR produkt (650 bp) tvoří po štěpení restrikční endonukleázou Hin6I podle genotypu na fragmenty následujících velikostí:

Alela A - 650 bp (neobsahuje štěpné místo pro Hin6I)

Alela C - 450 a 200 bp



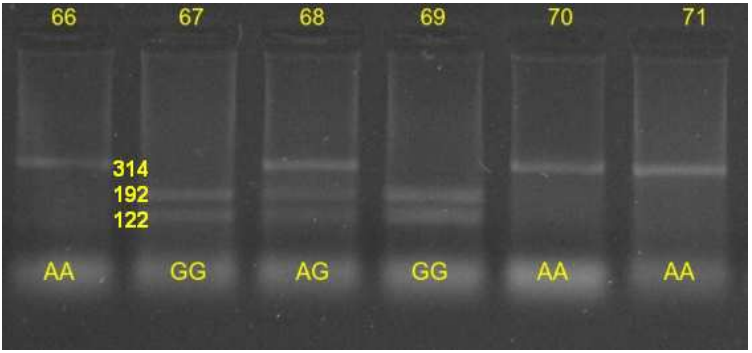
Obr. 1, Stanovení genotypů v genu HMGCR, vizualizace na 3% agarózovém gelu

Stanovení polymorfizmu v genu *TCFL*: c.646+154A>G:

PCR produkt tvoří po štěpení RE *Bse*NI podle genotypu fragmenty následujících velikostí:

Alela A - 314 bp (neobsahuje štěpné místo pro *Bse*NI)

Alela G - 192 a 122 bp



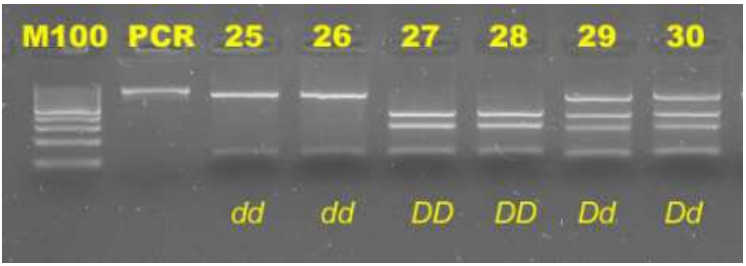
Obr. 2, Stanovení genotypů genu TCFL, vizualizace na 3% agarózovém gelu

Stanovení polymorfismu v genu H-FABP g.1811G>C

PCR produkt tvoří po štěpení RE *Hae*III dle genotypů následující fragmenty:

Alela *D* - 405, 278, 117 a 16 bp

Alela *d* - 683, 117 a 16 bp



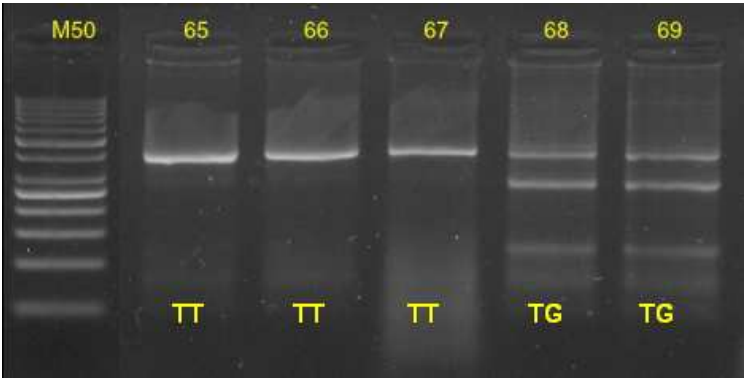
Obr.3, Stanovení genotypů genu H-FABP, vizualizace na 2% agarózovém gelu

Stanovení polymorfismu *FTO*:g.276T>G

PCR produkt tvoří po štěpení RE *Tai*I dle genotypu následující fragmenty:

Alela *T* - 397 bp (neobsahuje štěpné místo)

Alela G - 275 a 122 bp



Obr.4, Stanovení genotypů genu FTO, vizualizace na 3% agarózovém gelu

Po stanovení genotypů jednotlivých genů byly vypočítány frekvence genotypů a alel (Tab.3). Pro gen *HMGCR* byl stanoven genotyp u všech 104 vzorků, u genu *TCFL* to bylo 102 vzorků. Rovněž u genu *H-FABP* byly frekvence genotypů a alel počítány ze 100 vzorků a pro gen *FTO* tvořil soubor 99 jedinců. U genu *FTO* nebyl nalezen genotyp GG.

Tab.1 Porovnání genotypů genu HMGCR a TCFL metodou nejmenších čtverců (GLM)

Gen		*Genotypy*		
HMG	*Sledované*	*AA*	*AC*	*CC*
	L lightness	*166,33±1*	***166,70±***	***153,58±3***
	a redness	*62,93±2,*	*60,83±0*	*153,58±3*
	b yellowness	*1,58±0,9*	*2,13±0,*	*1,74±0,2*
	pH_{ull}.	*12,77±0,*	*12,42±0*	*12,36±0,*
	EV_{24}	*5,40±0,1*	*5,58±0,*	*5,52±0,0*
	%sušiny	*30,25±1,*	*29,24±0*	*29,83±0,*
	tuk v	*1,44±0,3*	*1,25±0,*	*1,31±0,6*
	tuk v %	*4,63±089*	*3,68±0,*	*3,87±0,2*
TCF		*AA*	*AG*	*GG*
	L lightness	*160,53 ±*	*154,41±*	*161,93±5*
	a redness	*61,68±0,*	*61,52±0*	*60,68±0,*
	b yellowness	*1,92±0,2*	*1,70±0,*	*2,09±0,3*
	pH_{ull}.	*12,46±0,*	*12,34±0*	*12,32±0,*
	EV_{24}	*5,50±0,3*	*5,56±0,*	*5,58±0,0*
	%sušiny	*29,43±0,*	*29,76±0*	*29,65±0,*
	tuk v	*1,28±0,0*	*1,28±0,*	*1,30±0,0*
	tuk v %	*3,77±0,2*	*3,78±0,*	*3,93±0,3*

** $P \leq 0,05$ statisticky průkazný rozdil*

L lightnes – světlost masa, a redness –barva masa (červená/zelená souřadnice), b yellowness – barva masa (žlutá/modrá souřadnice), pH_{ul} , EV_{24} (elektrická vodivost) meřené 24 hod. post mortem

Tab.2 Porovnání genotypů genu H-FABP a FTO metodou nejmenších čtverců (GLM)

H-		*DD*	*Dd*	*dd*
	L lightness	162,54 ±	158,96±4,	154,733±8
	a redness	61,53±0,	60,99±0,7	60,81±1,5
	b yellowness	**1,76±0,2**	**1,83±0,23**	**2,92±0,0,4**
	$pH_{ult.}$	12,43±0	12,38±0,2	12,33±0,5
	EV_{24}	5,51±0,3	5,54±0,03	5,67±0,0,0
	%sušiny	28,87±0,	30,02±0,4	30,75±0,1,
	tuk v gramech	1,29±0,0	1,29±0,07	1,68±0,01
	tuk v %	3,69±0,2	3,89±0,22	3,83±0,47
FT		*TT*	*TG*	*GG*
	L lightness	155,03±	169,08±5,	x
	a redness	61,26±0,	60,68±1,0	x
	b yellowness	1,98±0,1	1,81±0,32	x
	$pH_{ult.}$	12,45±0,	12,21±0,3	x
	EV_{24}	5,54±0,0	5,56±0,03	x
	%sušiny	29,81±0,	29,12±0,6	x
	tuk v gramech	1,29±0,0	1,25±0,10	x
	tuk v %	3,85±0,1	3,67±0,31	x

** $P \leq 0,05$ statisticky průkazný rozdil*

L lightnes – světlost masa, a redness –barva masa (červená/zelená souřadnice), b yellowness – barva masa (žlutá/modrá souřadnice), pH_{ul} *,* EV_{24} *(elektrická vodivost) meřené 24 hod. post mortem*

Tab. 3 Frekvence genotypů a alel

Gen	*absolutní frekvence genotypů*			*absolutní frekvence alel*	
HMGC	*AA*	*AC*	*CC*	*A*	50
	3	44	56	*C*	156
	relativní frekvence genotypů			*relativní frekvence alel*	
	AA	*CA*	*CC*	*a*	0,25
	0,0	0,4	0,5	*c*	0,75
TCFL	*absolutní frekvence genotypů*			*absolutní frekvence alel*	
	AA	*AG*	*GG*	*A*	111
	36	39	27	*G*	93
	relativní frekvence genotypů			*relativní frekvence alel*	
	AA	*AG*	*GG*	*a*	0,54
	0,3	0,3	0,2	*g*	0,46
H-	*absolutní frekvence genotypů*			*absolutní frekvence alel*	
	DD	*Dd*	*dd*	*D*	130
	41	48	11	*d*	70
	relativní frekvence genotypů			*relativní frekvence alel*	
	DD	*Dd*	*dd*	*D*	0,65
	0,4	0,4	0,1	*d*	0,35
FTO	*absolutní frekvence genotypů*			*absolutní frekvence alel*	
	TT	*TG*	*GG*	*T*	172
	72	28	0	*C*	28
	relativní frekvence genotypů			*relativní frekvence alel*	
	TT	*CT*	*CC*	*t*	0,86
	0,7	0,2	0	*c*	0,14

Canovas *et al.* (2010) studovali mutaci *HMGCR*:c.807A>C v exonu 9 a nalezli průkaznou asociaci alely A s vyšším obsahem intramuskulárního tuku, s vyšším obsahem olejové kyseliny a naopak s nižším obsahem linolové kyseliny v tuku u komerční populace prasat plemene duroc. V našem studovaném souboru byla nalezena asociace tohoto polymorfismu se světlostí masa (L lightnes). Byl prokázám statisticky průkazný rozdíl mezi genotypy *AC* a *CC* ($P \leq 0,05$), vyšší hodnotu vykazoval genotyp *AC* (Tab.1).

Dále byl nalezen statisticky průkazný rozdíl pro barvu masa (b yellowness) ($P \leq 0,05$) v genu *H-FABP*. Rozdíl byl mezi genotypem *dd*, který vykazoval nejvyšší naměřené hodnoty oproti genotypům *Dd* a *DD* (Tab.2). Nebyl nalezen žádný vliv polymorfismu 807A>C na obsah tuku ani další testované vlastnosti.

ZÁVĚR

Na základě provedených analýz byla potvrzena asociace genu *H-FABP* s barvou masa (b yellowness). Statisticky průkazný rozdíl byl mezi genotypy *DD* a *dd*, dále také mezi genotypy *Dd* a *dd*. Pro gen *HMGCR* byl nalezen statisticky významný rozdíl mezi genotypy *AC* a *CC*, vyšší hodnoty udával genotyp *AC*. Pang et al.,(2006), Li et al., (2010) popsali asociaci genu pro obsah intramuskulárního tuku (IMT). Chalupová et al., (2011) popsala vliv alely *DD* na obsah IMT, toto nebylo na námi testovaném souboru prokázáno.

Chalupová et al., (2011) též nalezla vliv genotypu *AC* genu *HMGCR* na vyšší obsah IMT, oproti alele *CC*. V našem studovaném souboru byla nalezena asociace tohoto polymorfismu se světlostí masa (L lightnes).

U ostatních testovaných genů a jejich polymorfismů nebyla stanovena žádná asociace s vybranými vlastnostmi masné užitkovosti. Tato studie je součástí rozsáhlejší práce, jež bude dokončena a publikována v roce 2012. Soubor zvířat čítající 104 jedinců je pro tuto práci dostačující, do testování bude zahrnuto větší množství genů, u nichž byl již v odborných publikacích prokázán vliv na dané vlastnosti vepřového masa.

LITERATURA

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-Lonergan E., Lonergan S.M., Rothschild M.F. Identification of genetic markers associaetd with residual feed intake and meat quality traits in the pig. Meat Science, 2010, vol.84, p.645-650.

Pang W-J., Bai L., Yang G-S. Relationship Among H-FABP Gene Polymorphism, Intramuscular Fat Content, and adipocyte Lipid Droplet Content in Main Pig Breeds with Different Genotypes in Western China. Acta Geneficu Sinicu, 2006, vol. 33, no.6, p. 515-524.

Fontanesi L., Scotti E., Buttazzoni L., Dall´Olio S., Bagnato A., Fiego D.P.L., Davoli R., Russo V. Confirmed association between a single nucleotide polymorphism in the FTO gene and obesity-related traits in heavy pigs. Molecular Biology Reports, 2010, vol.37, p.461-466.

Li, X., Kim, S.W., Choi, J.S., Lee, Y.M., Lee, Ch.K., Choi, B.H., Kim, T.H., Choi, Y.I., Kim,J.J., Kim, K.S. (2010) Investigation of porcine FABP3 and LEPR gene polymorphisms andmRNA expression for variation in intramuscular fat content. Molecular Biology Reports, 37,3931–3939.

Chalupová, P., Sedláčková, T., Kaplanová K., Weisz F., Bryndová, M., Vykoukalová Z., Jůzl M., Šulcerová H., Gregor T., Urban T., Sláma P.,Knoll A. Associations of 15 candidate genes with meat quality traits in Czech Large White pigs, 2011, nepublikováno

THE INFLUENCE OF REARING TECHNOLOGY AND PHYSICO-CHEMICAL PARAMETRES OF WATER TO PLASMATIC IONS IN BLOOD OF RAINBOW TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Lang Š., Kopp R., Mareš J.

Department of Zoology, Fisheries, Hydrobiology and Apiculture, Faculty of Agronomic, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: stepanlang@gmail.com, fcela@seznam.cz, mares@mendelu.cz

ABSTRACT

Plasma ions in rainbow trout (ONCORHYNCHUS MYKISS) from three various trout farms in the Czech Republic were assessed using automated blood plasma analyser. Non-haemolysed serum from the heart of 48 healthy, randomly selected fish (standard length, mean ± SD = 247.3 ± 24.2 mm; body mass, mean ± SD = 262.18 ± 87.28 g) was analysed for the following plasma ions: Ca, Mg, P, Fe, Na, K and Cl. All data were analysed statistically such as normality assessment by means of Kolmogorov–Smirnov test and adequate statistical testing using various parametric and non-parametric tests for each variable. With regard to data distribution, all 7 indices (Ca, Mg, P, Fe, Na, K and Cl) were normally distributed. The indices were affected by handling time and, accordingly to the physical and chemical properties of water. Estimates obtained were compared with previously reported ranges. The blood automated analyser proved to be a valuable and reliable instrument for the estimation of plasma i determining normal ranges in rainbow trout.

Key words: fish, biochemical variables, ions, aquaculture.

Acknowledgements: Financial support by the Internal Grant Agency of the Faculty of Agronomy, MENDELU (IP12/2010) and TP 5/2011 is greatly acknowledged.

ÚVOD

Stále se rozvíjející chov ryb v intenzívních akvakulturních zařízeních si vyžaduje věnovat zvýšenou pozornost kontrole zdraví ryb a jedním z možných způsobů vyšetření ryb jsou i klinická biochemická vyšetření rybí krve. Složení rybí krve může indikovat začínající kolaps některého z orgánů z důvodu použití špatného krmiva, nebo v kombinaci s fyzikálně-chemickými parametry odhalit problém způsobený nákazou či parazity. Pro zjištění tolika patologických ukazatelů, kolik je možné, je třeba doporučit využití více, než jednoho způsobu vyšetření (Řehulka a Minařík, 2008). Biochemické vyšetření krevní plasmy je jednou ze základních částí komplexních metod vyšetření ryb a zároveň hraje velkou roli při hodnocení krmných testů a testů využití specificky aktivních látek (Řehulka a Minařík, 2001). Biochemie krevní plasmy je slibnou součástí studia biologie ryb a klinické patologie, ale vyžaduje rozsáhlý budoucí výzkum obzvláště pro určení normálního rozpětí zkoumaných hodnot pro jednotlivé druhy ryb. Problémy se stanovením normálních hodnot u pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) byly zdůrazněny mnoha autory (Wedemeyer and Chatterton, 1970; McCarthy *et al.*, 1973; Wedemeyer and Nelson, 1975; Meade and Perrone, 1980; Hille, 1982; Roscoe Miller *et al.*, 1983). Navíc určení normálních hodnot pro pstruha ztěžují nevyhnutelné rozdíly například v metodice, velikostech a liniích ryb, ročním období a momentálním fyziologickém stavu ryb. Na základě tohoto je obvykle obtížné shromáždit dostatek vzorků krve během jediné studie (Manera a Britti, 2006). Zaměření provedeného pokusu bylo zjistit závislost obsahu iontů v krevní plazmě pstruha duhového (*Oncorhynchus mykis*) chovaného v různých typech intenzivních akvakulturních zařízení na fyzikálně chemických parametrech vody v odchovném zařízení.

MATERIÁL A METODIKA

Pokusné ryby

Klinicky zdraví, dospělí pstruzi duhoví (*Oncorhynchus mykiss*) byli odebráni ze tří rybích farem od 19. listopadu 2009 do 4. srpna 2010. Bylo odebráno celkem 5 vzorků a každý vzorek byl tvořen 10 rybami. Vzorky jsme odebírali na rybí farmě Pravíkov (recirkulační odchovný systém Dánského typu) v červenci (19.7.) a listopadu (19.11.), na rybí farmě Skalní mlýn (průtočný systém) v srpnu (4.8.) a březnu (11.3.) a na rybí farmě Litomyšl (průtočný systém) pouze v březnu (25.3.). Fyzikální a chemické parametry vody jsou zobrazeny v Tabulce 1. Nasycení vody kyslíkem pH a teplota vody byly měřeny přenosnou sondou Hach HQ40D (Hach Lange, USA). Vodivost vody byla měřena přenosnou sondou HI 98129 (Hanna Instruments, USA). Ostatní parametry byly stanovovány standardními metodami (APHA, 1998). Ryby byly krmeny komerčními krmnými směsmi s obsahem proteinu 40 – 43%, tuku 23 – 28 %, bezdusíkatých látek výtažkových 12 – 20 %, popela 6 – 8,3 %, vlákniny 1 – 3,8 %, Ca 1,3 % a P 0,9 % od firmy Biomar (Dánsko).

U každé ryby (n = 48) byla individuálně měřena tato biometrická data a počítány následující koeficienty (Průměr ± SD): TL (celková délka těla), SL (délka těla), W (hmotnost celková), WL (hmotnost vykuchané ryby), HSI (hepato-somatický index), F (Fultonův koeficient vyživenosti) (Fulton, 1904). Biometrická data jsou zobrazena v tabulce 2. Každá jednotlivá ryba byla před odběrem krve vyšetřena, abychom vyloučili ovlivnění výsledků patologickými změnami na rybách. K odběru krve byly použity pouze ryby bez patologických změn a parazitů.

Odběr vzorků a měření biochemických parametrů krve.

Vzorek krve byl odebírán okamžitě po odlovení ryby z odchovného zařízení. Nevhodné a hemolytické vzorky byly vyřazeny a nahrazeny novými. Krev byla odebírána kardiální punkcí do heparinizovaných injekčních stříkaček. Pro stabilizaci krve byl použit heparin o koncentraci 50 m.j. na ml. Krev byla odstředěna při přetížení 400 G po dobu 15 min. při teplotě 4 °C a plasmatický supernatant byl skladován při teplotě -80 °C až do provedení vlastní analýzy. Vlastní analýza krve byla provedena automatickým analyzátorem ADVIA 1650 (Siemens, USA) za použití komerčně dostupných reagentů. Analýza krevní plasmy ryb byla prováděna při teplotě 37 °C. Analýza vápníku (Ca) a hořčíku (Mg) byla provedena modifikovanou kolorimetrickou metodou s arzenazo III (Ichaylova and Ilkova, 1971; Skavrada, 1999). Fosfor (P) byl analyzován kolorimetrickyreakcí s amonno-molybdenatým regentem (Kratochvila and Garcic, 1977). Analýza železa (Fe) byla provedena fotometrickou metodou s ferenem (reagent feroninového typu) bez odstranění proteinů (Higgins, 1981). Hladina elektrolytů (Cl, K, Na) byla stanovena pomocí iontově selektivních elektrod (Eisenman, 1967).

Statistická analýza

Během statistického zpracování dat jsou obsahy vybraných iontů v krvi ryb vyjadřovány průměrnými hodnotami doplněnými o směrodatnou odchylku. Normální rozdělení parametrů krevní plasmy bylo analyzováno pomocí Kolmogorova-Smirnova testu na hladinu průkaznosti $p < 0,05$. Korelace obsahu iontů v krevní plasmě k fyzikálně chemickým parametrům vody jako teplota, nasycení kyslíkem, pH, atd. byla analyzována pomocí Spearmenova testu směru korelace. Hodnoty vycházející na hladině průkaznosti $p < 0,001$ byly pro tento případ považovány za statisticky průkazné. Veškeré analýzy byly vyhodnocovány statistickým programem Statistica 8.0 pro Windows (StatSoft).

Tabulka 1: Fyzikálně chemické parametry vody na rybích farmách při odběru ryb.

Datum měření	19.11.	11.3.	25.3.	19.7.	4.8.
Teplota [°C]	2,6	3,3	8,0	20,4	11,3
pH	7,26	6,55	7,87	7,34	7,79
Nasucení vody kyslíkem [%]	97	101	89	79	87
Vodivost [$mS.m^{-1}$]	18,6	18,6	60,6	16,3	42,6
Celkový dusík [$mg.l^{-1}$]	4,3	10,0	11,6	2,0	5,6
Celkový fosfor [$mg.l^{-1}$]	0,25	0,51	0,09	0,11	0,14
Cekový organický uhlík (TOC) [$mg.l^{-1}$]	16,9	12,4	13,6	12,4	13,5
Chemická spotřeba kyslíku (Cr) [$mg.l^{-1}$]	15,6	13,1	6,4	27,4	10,6
Chemická spotřeba kyslíku (Mn) [$mg.l^{-1}$]	10,3	5,8	3,2	11,2	4,7
Biologická spotřeba kyslíku (BSK_5) [$mg.l^{-1}$]	0,49	2,36	1,47	5,39	2,28
Kyselinová neutralizační kapacita (KNK) [$mmol.l^{-1}$]	0,46	0,21	3,97	0,67	2,91
Amonné ionty ($N–NH_4^+$) [$mg.l^{-1}$]	0,11	0,35	0,08	0,16	0,09
Dusitany ($N–NO_2^-$) [$mg.l^{-1}$]	0,01	0,04	0,01	0,36	0,00
Dusičnany ($N–NO_3^-$) [$mg.l^{-1}$]	4,0	8,8	5,9	1,0	5,4
Ortofosforečnany ($P–PO_4^{3-}$) [$mg.l^{-1}$]	0,19	0,38	0,05	0,00	0,10
Chloridy (Cl^-) [$mg.l^{-1}$]	15,4	8,2	17,6	18,4	20,9
Sírany (SO_4^{2-}) [$mg.l^{-1}$]	11	17	49	17	43
Vápník (Ca^{2+}) [$mg.l^{-1}$]	6,7	14,8	121,0	12,5	73,1
Hořčík (Mg^{2+}) [$mg.l^{-1}$]	4,1	5,2	6,9	6,6	7,3
Celkové železo [$mg.l^{-1}$]	0,20	0,06	0,03	0,24	0,06
Draslík (K^+) [$mg.l^{-1}$]	3,3	1,7	3,5	2,8	3,0
Sodík (Na^+) [$mg.l^{-1}$]	4	12	21	15	18

Tabulka 2: Biometrické údaje odebíraných ryb (N=50, průměr ± SD), Vysvětlení tabulky v textu.

Parametry	TL [mm]	SL [mm]	W [g]	WL [g]	F	HSI
19.11.	249,7 ± 13,1	227,1 ± 13,4	206,7 ± 32,0	2,64 ± 0,32	1,76 ± 0,15	1,52 ± 0,33
11.3.	278,3 ± 12,2	249,2 ± 10,4	225,6 ± 34,7	2,61 ± 1,02	1,45 ± 0,12	1,31 ± 0,09
25.3.	274,5 ± 12,9	244,8 ± 11,5	236,1 ± 24,3	2,75 ± 0,45	1,61 ± 0,15	1,35 ± 0,10
19.7.	261,8 ± 17,7	230,3 ± 15,5	241,4 ± 57,1	2,95 ± 0,77	1,95 ± 0,19	1,44 ± 0,13
4.8.	316,7 ± 20,4	285,5 ± 19,7	416,3 ± 80,4	4,27 ± 0,93	1,77 ± 0,12	1,45 ± 0,10

VÝSLEDKY

Obsahy iontů v krevní plasmě ryb jsou zobrazeny v tabublce 3. U většiny iontů, krom železa a fosforu, byla prokázána poměrně nízká variabilita mezi jednotlivými odběry i systémy. Kolmogorovův-Smirnovův test prokázal normální rozdělení u všech hodnot obsahu iontů v krevní plasmě. Hodnoty obsahu válníku prokazatelně rostly se zvyšující se hmotností ryb na rozdíl od obsahu chloridů, jejichž hodnoty s rostoucí hmotností ryb klesaly. Nebyl prokázán vliv fyzikálně chemických parametrů na obsah sodíku (Na) v krevní plasmě ryb. Minimální vliv měly fyzikálně chemické parametry vody i na obsah fosforu. Železo a vápník vykazovaly nejvyšší hodnoty v červenci a srpnu a nejnižší v březnu a listopadu. Vyšší pH způsobilo nárůst obsahu vápníku a pokles obsahu chloridů v krvi. Naopak vyšší nasycení vody kyslíkem způsobilo nárůst obsahu chloridů a pokles obsahu vápníku a železa.

Chemické parametry vody měly nejvyšší vliv na obsah hořčíku v krevní plasmě pstruha duhového. Zvýšený obsah organického zatížení a železa ve vodě způsobil prokazatelný nárůst obsahu hořčíku v krevní plasmě pstruhů. Naproti tomu vyšší kyselinová neutralizační kapacita (KNK), vodivost a vyšší hodnoty celkového dusíku, síranů, sodíku, hořčíku a vápníku ve vodě obsah hořčíku v krevní plasmě snížily. Vyšší obsah hořčíku, chloridů, síranů, sodíku a vyšší teplota vody snížily obsah vápníku v krevní plasmě pstruhů. Vyšší obsah fosforu a kyslíku ve vodě zvýšily obsah chloridů v krevní plasmě. Vyšší hodnota pH, obsah síranů, dusíku, chloridů a hořčíku chloridy snížily.

Tabulka 3: Hodnoty obsahu vybraných iontů v krevní plazmě pstruhů duhových (*Oncorhynchus mykiss*) z jednotlivých odběrů (průměr ± SD). Hodnoty jsou vysvětleny v textu.

Ukazatel	19.11.	11.3.	25.3.	19.7.	4.8.
P [mmol.l^{-1}]	4,07 ± 0,61	2,77 ± 0,34	3,33 ± 0,42	3,17 ± 0,39	3,27 ± 0,37
Ca [mmol.l^{-1}]	2,13 ± 0,39	2,50 ± 0,19	2,61 ± 0,15	3,06 ± 0,18	3,14 ± 0,36
Mg [mmol.l^{-1}]	1,41 ± 0,17	0,93 ± 0,05	0,75 ± 0,18	1,22 ± 0,09	0,97 ± 0,07
Fe [µmol.l^{-1}]	13,28 ± 5,59	10,09 ± 2,27	20,76 ± 7,52	25,15 ± 4,88	21,85 ± 4,03
Na [mmol.l^{-1}]	170,94 ± 4,28	172,97 ± 3,27	169,91 ± 3,87	172,24 ± 2,85	169,31 ± 3,28
K [mmol.l^{-1}]	2,07 ± 0,90	0,84 ± 0,19	1,74 ± 0,44	1,00 ± 0,20	1,90 ± 0,69
Cl [mmol.l^{-1}]	139,97 ± 4,88	140,94 ± 6,42	135,33 ± 3,03	134,88 ± 1,42	130,04 ± 3,30

DISKUSE

Pokud vezmeme v potaz starší metody hodnocení a nesoulad použitých jednotek v mnoha případech určování obsahu iontů v krevní plasmě ryb, můžeme naše výsledky jen částečně porovnat s výsledky ostatních autorů. Naše výsledky jsou porovnatelné pouze s pracemi, ve kterých byl pro analýzu krevní plasmy použit automatický analyzátor. Kompletní výzkum o normálních hodnotách biochemie krevní plasmy pstruha duhového předložili Manera a Britti (2006). Vyhodnotili, že 7 z 19 jimi zkoumaných hodnot včetně chloridů vykazuje nenormální rozdělení a zároveň nezkoumali všechny ionty, které jsme zkoumali my. V jejich práci jsme zároveň objevili mnoho dalších nesrovnalostí. V rozporu s naší analýzou určili mnoho parametrů, včetně chloridů, jako nenormálně rozdělené.

Naše analýzy určily hodnoty vápníku a hořčíku na stejné úrovni, jaká je zmíněna v literatuře (Manera a Britti 2006; Meka a McCormick 2005; Řehulka a Minařík 2008; Řehulka a Minařík 2001; Řehulka a Párová 2000a, 2000b; Velíšek *et al.* 2008; Velíšek *et al.* 2009). Námi naměřené hodnoty fosforu, železa, sodíku, draslíku a chloridů se pohybovaly na úrovni horních a dolních hranic intervalů zmíněných v literatuře (Manera a Britti 2006; Řehulka a Párová 2000a, 2000b; Velíšek *et al.* 2008; Velíšek *et al.* 2009). Vezmeme-li v potaz námi naměřené hodnoty, můžeme konstatovat, že hodnoty obsahu iontů v krevní plasmě pstruha duhového jsou ovlivněny mnoha metodickými i individuálními faktory. Na základě zjištěných hodnot v porovnání s literaturou ale můžeme vyloučit působení patologických vlivů působících na ryby během našeho výzkumu. V literatuře není zmínka o normálních hodnotách obsahu několika námi analyzovaných iontů (Cl, Fe). Naše práce přinesla nové informace o normálních hodnotách obsahu iontů v krevní plasmě zdravých pstruhů duhových chovaných v podmínkách intenzivní akvakultury.

Změny biochemického složení krevní plasmy ryb je rovněž ovlivněno dalšími faktory jako stress, chemikálie (Manera and Britti 2006; Řehulka a Párová 2000a, 2000b; Velišek *et al.* 2008; Velíšek *et al.* 2009) a pohlaví ryb (Řehulka a Minařík, 2008). Obsah vápníku a fosforu dosahoval nejvyšších hodnot v létě, kdy ryby přijímají nejvíce krmiva, což bylo potvrzeno i našimi výsledky. V literatuře není dostatek dat k porovnání vlivu fyzikálních a chemických vlivů na složení krevní plasmy pstruhů duhových. Obecně převažuje názor, že hlavním zdrojem elektrolytů pro udržení acido-bazické rovnováhy pstruha duhového je potrava.

Pstruzi žijící v hypoosmotickém prostředí kompenzují nedostatek elektrolytů jejich aktivním příjmem přes žaberní epitel a vylučováním velkého množství vody ledvinami. Důležitost příjmu iontů v potravě se zvyšuje s rostoucí hodnotou pH, kdy je příjem sodíku a chloridů žeberním epitelem omezen (D´Cruz and Wood, 1998).

ZÁVĚR

Naše výsledky potvrdily hypotézu, že fyzikálně chemické parametry vody mají značný vliv na obsah iontů v krevní plasmě ryb a zároveň naznačují, že tento vliv může být mnohem zřetelnější, než jsme si dříve mysleli. Hypotéza o vlivu použité technologie chovu (recirkulace vs. průtočný systém) nebyla potvrzena.

Vzhledem k dnešním znalostem zahrnujícím obsah iontů v krevní plasmě ryb a jejich kolísání ovlivněném řadou vnitřních a vnějších faktorů, musíme toto zohlednit při klinické interpretaci laboratorních výsledků. Aby bylo možné rozlišit fyziologické a patologické kolísání obsahu iontů v krevní plasmě ryb, budeme potřebovat ještě mnoho dalších informací, abychom určili individuální variabilitu těchto hodnot. Naše studie předpokládá, že složení krevní plasmy ryb bude patřit k cenným hodnotám laboratorního vyšetření, pokud budeme schopni určit a interpretovat vyčerpávající souhrn fyziologických odpovědí organismu. Poznání normálních hodnot obsahu iontů v krevní plasmě ryb a vlivu fyzikálně chemických parametrů vodního prostředí na tyto hodnoty by mohlo do budoucna napomoci k optimalizaci iontové rovnováhy rybího těla pomocí změny složení vody. To by mohlo pomoci zamezit nadměrným ztrátám ryb vlivem oslabení jejich organismu fyziologickou nevyrovnaností.

LITERATURA:

APHA, 1998: Standard methods for the examination of water and wastewater. *American Public Health Association* Inc., Washington D.C.

D'Cruz, L. M., Wood, C. M., 1998: The influence of dietary salt and energy on the response to low pH in juvenile rainbow trout. *Physiol Zool* 71: 642–657.

Eisenman, G., 1967: Glass Electrodes for Hydrogen and Other Cations, Principles and Practice. New York, Marcel Dekker Inc., 594 pp.

Higgins, T., 1981: Novel chromogen for serum iron determinations. *Clin Chem.* 9: 1619–1620.

Ichaylova, V., Ilkova, P., 1971: Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal. Chim. Acta* 53: 194–198.

Kratochvila, J., Garcic, A., 1977: Assignment of organic phosphorus in biological matter. *Biochem. Clin. Bohemoslov*. 6: 65–77 (Czech).

Manera m., Britti, D. 2006: Assessment of blood chemistry normal ranges in rainbow trout. *Journal of Fish Biology* 69: 1427–1434.

McCarthy, D. H., Stevenson, J. P., Roberts, M. S., 1973: Some blood parameters of the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) I. the kamloops variety. *Journal of Fish Biology* 5: 1–8.

Meade, T. L., Perrone, S. J., 1980: Selective haematological parameters in steelhead trout, Salmo gairdneri Richardson. *Journal of Fish Biology* 17: 9–12.

Meka, J. M., McCormick, D .S., 2005: Physiological response of wild rainbow trout to angling: Impact of angling duration, fish size, body condition, and temperature. *Fisheries Research* 72, 2–3: 311–322.

Roscoe, Miller W. R. III., Hendricks, A. C., Cairns, J. J. R., 1983: Normal ranges for diagnostically important haematological and blood chemistry characteristics of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *CanadianJournal of Fisheries and Aquatic Sciences* 40: 420–425.

Hille, S., 1982: A literature review of the blood chemistry of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Rich. *Journal of Fish Biology* 20, 535–569.

Řehulka J., Minařík B., 2008: Total calcium and inorganic phosphate in blood plasma in farmed rainbow trout, Oncorhynchus mykiss. *Aquaculture Research*, 39: 1161–1168.

Řehulka, J., Minařík, B., 2001: Effect of some physical and chemical characteristics of weter on the blood indices of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fed an astaxanthin-containing diet. *Czech. J. Anim. Sci.*, 46: 413-420.

Řehulka, J., Párová, J., 2000a: Influence of three types of oil in diet upon some blood and condition indices of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Czech J. Anim. Sci.*, 45: 127–132.

Řehulka, J., Párová, J., 2000b: Effect of diets with different lipid and protein contents on some blood and condition indices of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum*). Czech J. Anim. Sci.*, 45: 263–269.

Skavrada, J., 1999: Diagnostic agent for magnesium determination. Utility model CZ 8152 U1 (Czech).

Velisek, J., Svobodova, Z., Piackova, V., 2009: Effects of acute exposure to bifenthrin on some haematological, biochemical and histopathological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) *Veterinarni Medicina* 54: 131–137.

Velisek, J., Svobodova, Z., Piackova, V., Novotny, L., Blahova, J., Sudova, E., Maly, V., 2008: Effects of metribuzin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Veterinarni Medicina* 53: 324–332.

Wedemeyer, G., Chatterton, K., 1970: Some blood chemistry values for the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 27: 1162–1164.

Wedemeyer, G.A., Nelson, N. C., 1975: Statistical methods for estimating normal blood chemistry ranges and variance in rainbow trout (*Salmo gairdneri*), Shasta strain. *Journal of Fisheries Research Board of Canada* 32: 551–554.

GENETIC MARKERS *MYF4* AND *FSHB* IN RELATION TO PERFORMANCE OF BOARS

Milaković I.[1], Urban T.[2], Machal L.[1]

[1] Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

[2] Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: irena.milakovic@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this research was to study of variability of two genes *MYF4* and *FSHB* in the population of Czech Large White boars and analyze theirs associations with production traits (backfat thickness, average daily gain, average daily gain test and lean meat). We studied 170 boars of Czech Large White boars from one herd. The genomic DNA was isolated from blood samples. The genotypes were determined by PCR-RFLP. Genotype deviation from the Hardy–Weinberg equilibrium was evaluated by chi-square test. Association analysis of tested genotype was performed by general linear model with fixed effects of genes. In this studied the significant associations of *MYF4* gene with lean meat and *FSHB* gene with all traits were observed. The associations of interaction of genes with all studied traits were significant.

Key words: pig, *MYF4*, *FSHB*, production traits, Czech Large White

INTRODUCTION

Pig production profitability is strongly influenced by the achieved level of reproduction and production traits. The objective of this research was to determine the influence of myogenin gene *MYF4* and follicle-stimulating hormone gene *FSHB* gene on the productive trait in Czech Large White – CLW herd. In this study we evaluated the significant effects of two candidate genes on production traits with great economic impact on the pig industry.

Te Pas and Visscher (1994) concluded that the myogenin gene plays an important role during the terminal transformation of myoblasts into myofibres. The study of Te Pass et al. (1999) suggested that the myogenin gene has an impact on birth weight, growth rate and lean yield but no impact on backfat thickness. The follicle-stimulating hormone gene are considered to be candidate genes for reproduction. *FSHB* genes code the β subunit that is specific for all animals (Humpoliček et al., 2009).

In this study, the following traits were analysed: backfat thickness BFT (cm), average daily gain ADG (g), average daily gain test (g) and lean meat LM (%). The results of statistical evaluation are shown in Table 6 and represent the analysis of possible relations between the genotypes of *MYF4* and *FSHB* locus and studied traits in Czech Large White.

MATERIAL AND METHODS

We studied 170 boars of Czech Large White (CLW) boars from one herd. The genomic DNA was isolated from blood samples by using QIAamp®DNA Blood Mini Kit (QIAGEN GMBH).

Gen myogenin (PCR/RFLP *Msp*I)

Genotype of the myogenin gene was established by Te Pas et al. (1996). It is a polymorphism at the 3' side. Allele *A* is cleaved with restriction endonuclease *Msp*I, PCR-RFLP for the product is made up of fragments of alleles of a length of 219-bp and 134-bp. Allele *B* is not cleaved with the length fragment of 353 bp. The mixture of 50 µl containing 150 ng genomic DNA, 1x PCR buffer, 200 µM of each dNTP, 4 pmol of each primer, 1.5 mM Mg 2 +, 0.3 U Taq polymerase. PCR reaction carried out under conditions: an initial denaturation of 95°C / 4 min, 30 cycles at temperatures of 95°C/60 s, 60 °C/60 s, 72°C/60 s, final elongation of 72°C / 5 min.

Follicle-stimulating hormone gene (PCR / RFLP *Hae*III)

Genotype in the gene follicle-stimulating hormone (*FSHB*) was determined by Rohrer et al. (1994). Using the restriction endonucleases *Hae*III two alleles were detected. Allele fragment comprising a length of 332 bp and allele B split into two fragments with a length of 173 and 159 bp. The reaction mixture contained 150 mg of genomic DNA, 1x PCR buffer, 200 µM of each dNTP, 0.5 µM of each primer, 1.5 mM Mg 2 +, 1.3 U Taq polymerase. PCR reaction carried out in next

the conditions: initial denaturation of 95°C / 3 min; 30 cycles at temperatures of 95 °C/40 s, 58 °C/60 s, 72° C/90 s, final elongation of 72°C / 5 min.

Statistical analysis

Genotype deviation from the Hardy–Weinberg equilibrium (HWE) was evaluated by chi-square test (Hartl and Clark, 1997). Tested genotypes were used for association analysis performed by general linear model (PROC GLM) with fixed effects in SAS for Windows 9.1.4 (SAS Institute, Cary, NC, USA) using the equation:

$$y_{ijkl} = \mu + MYF4_i + FSHB_j + MYF4 \times FSHB_k + e_{ijkl}$$

Where: y_{ijkl} = the phenotypic value of the analysed trait, μ = the population mean, $MYF4_i$ = the fixed effect of the i^{th} genotype of *MYF4* gene (i = *AA*, *AB* and *BB*), $FSHB_j$ = the fixed effect of the j^{th} genotype of *FSHB* gene (j = *AA*, *AB* and *BB*), $MYF4 \times FSHB_k$ = effect of k^{th} interaction of *MYF4* and *FSHB* genes, e_{ijkl} = the random error effect of each observation.

RESULTS AND DISCUSSION

In the studied populations of pigs the frequencies of genotypes and alleles *MYF4* in chosen loci were evaluated. In the group of CLW pigs the frequency of $MYF4^A$ allele was 0.59 and of $MYF4^B$ allele 0.43. Čechová and Mikule (2004) reported similar frequencies of $MYF4^A$ and $MYF4^B$ allele in the Czech Large White (0.66 and 0.34, respectively). Three genotypes $MYF4^{AA}$ 0.4059, $MYF4^{AB}$ 0.3824 and MYF4^{BB} 0.2118 with frequencies were detected (Table 1).

Table 1. Relative frequencies (R) of genotypes and alleles at the myogenin gene MYF4 and follicle stimulating hormone gene FSHB loci. χ^2 – test of Hardy-Weinberg genetics equilibrium.

n	Genotype	R	Chi-square test	Allele	R
69	$MYF4^{AA}$	0.4059	7.17 *	$MYF4^A$	0.59
65	$MYF4^{AB}$	0.3824		$MYF4^B$	0.43
36	$MYF4^{BB}$	0.2118			
24	$FSHB^{AA}$	0.1412	20.15**	$FSHB^A$	0.27
44	$FSHB^{AB}$	0.2588		$FSHB^B$	0.72
102	$FSHB^{BB}$	0.6000			

Significant differences: * P < 0.05; ** P < 0.01

By evaluation of *FSHB* gene allele frequency we found out the frequency of allele $FSHB^A$ 0.27 and allele $FSHB^B$ 0.72. It corresponds to a very high frequency of $FSHB^B$ allele compared to $FSHB^A$ allele. The genotypes frequencies were $FSHB^{AA}$ 0.1412, $FSHB^{AB}$ 0.2588 and $FSHB^{BB}$ 0.6000.

The frequency of the allele $FSHB^B$ gene was found to be higher than the frequency of allele $FSHB^A$. There were more boars with $FSHB^{BB}$ genotypes than $FSHB^{AB}$ heterozygotes in the population of CLW. The frequency of genotypes $FSHB^{AA}$ was clearly the lowest.

The chi-square χ^2 tests show that the population was not in the Hardy-Weinberg Equilibrium for both studied loci.

The observed frequencies of genotypes of both studied genes are shown in Table 2. In the group of CLW pigs with higher frequencies of combinations of genotypes $MYF4^{AA}/FSHB^{BB}$ and $MYF4^{AB}/FSHB^{BB}$ and lower frequencies of combinations of genotypes $MYF4^{AA}/FSHB^{AA}$ and $MYF4^{AB}/FSHB^{AA}$ were observed.

Table 2. Frequency, row percent and column percent of combinations of genotypes of MYF4 by FSHB loci

	$FSHB^{AA}$	$FSHB^{AB}$	$FSHB^{BB}$	
$MYF4^{AA}$	7 10.14 29.17	23 33.33 52.57	39 56.52 38.24	69
$MYF4^{AB}$	4 6.15 16.67	12 18.46 27.27	49 75.38 48.4	65
$MYF4^{BB}$	13 36.11 54.17	19 25.00 20.45	14 38.89 13.73	46
	24	44	102	170 100.00

Table 3. Basic statistical characteristics of particular traits in population

Trait	n	Mean	Vx	Sx	Xmin	Xmax
BF (mm)	170	0.87	0.02	0.15	0.50	1.35
ADG (%)	170	633.52	2776.67	52.69	457.00	752.00
ADGT (%)	39	1019.69	18843.96	137.27	585.00	1206.00
LM (%)	170	61.01	2.55	1.59	57.10	65.50

BF – backfat thickness (cm), ADG – average daily gain (g), ADGT (g) – average daily gain on test, LM – lean meat content (%). V_x – Variance, S_x – Standard deviation, X_{min} – minimum, X_{max} – maximum

Table 4 shows the description statistics for genotypes of *MYF4* gene with the following observations: the mean of backfat thickness was calculated at 0.88 cm in $MYF4^{AA}$, that trait is lower in genotype $MYF4^{BB}$. The ADG was higher in homozygotes individuals. The mean lean meat is 60.90 % of $MYF4^{AA}$, and is approximately similar to the other genotypes.

Table 4. Basic statistical characteristics of particular traits according to determined genotypes of MYF4 in CLW pigs

Trait	Genotype	n	Mean	V_x	S_x	X_{min}	X_{max}
BF (mm)	AA	69	0.88	0.02	0.14	0.57	1.16
	AB	65	0.88	0.02	0.16	0.50	1.35
	BB	36	0.83	0.01	0.14	0.50	1.08
ADG (g)	AA	69	633.62	3656.47	60.46	457.00	752.00
	AB	65	630.76	2471.43	49.71	532.00	726.00
	BB	36	638.33	1746.69	41.79	569.00	747.00
ADGT(g)	AA	10	928.10	29130.99	170.67	585.00	1190.00
	AB	5	1052.20	31485.20	177.44	842.00	1196.00
	BB	24	1051.08	9353.30	96.71	814.00	1206.00
LM (%)	AA	69	60.90	2.35	1.53	58.30	64.20
	AB	65	60.87	2.74	1.65	57.10	65.10
	BB	36	61.46	2.45	1.56	58.70	65.50

BF – backfat thickness (cm), ADG – average daily gain (g), ADGT (g) – average daily gain on test, LM – lean meat content (%). V_x – Variance, S_x – Standard deviation, X_{min} – minimum, X_{max} – maximum

The evaluation of the studied carcass value traits in detected genotypes of *FSHB* gene in Czech Large White pigs indicated small differences in favour of homozygotes $FSHB^{AA}$ and $FSHB^{BB}$ in comparison with heterozygotes $FSHB^{AB}$.

Table 5. Basic statistical characteristics of particular traits according to determined genotypes of FSHB in CLW pigs

Trait	Genotype	n	Mean	V_x	S_x	X_{min}	X_{max}
BF (mm)	AA	24	0.81	0.02	0.14	0.57	1.14
	AB	44	0.85	0.02	0.16	0.50	1.27
	BB	102	0.89	0.02	0.14	0.50	1.35
ADG (g)	AA	24	652.62	1576.77	39.70	578.00	726.00
	AB	44	642.77	3805.53	61.68	457.00	752.00
	BB	102	625.04	2470.52	49.70	486.00	747.00
ADGT(g)	AA	15	1089.93	7341.78	85.68	956.00	1206.00
	AB	15	999.73	22391.35	149.63	585.00	1196.00
	BB	9	935.88	19577.11	139.91	714.00	1196.00
LM (%)	AA	24	61.60	2.40	1.55	58.80	64.50
	AB	44	61.21	2.65	1.62	57.50	65.50
	BB	102	60.79	2.44	1.56	57.10	65.10

BF – backfat thickness (cm), ADG – average daily gain (g), ADGT (g) – average daily gain on test, LM – lean meat content (%).

V_x – Variance, S_x – Standard deviation, X_{min} – minimum, X_{max} – maximum

R-square value of linear models, used for association analysis, ranged from 0.11 (lean meat), 0.07 (average daily gain), and 0.09 (backfat thickness) to 0.48 (average daily gain in test).

In table 6 are described the results of association analysis (least square means, standard errors and statistical significance among genotypes of studied loci).

Te Pas et al. (1999) noted that in the population of Large White pigs the $MYF4^{BB}$ genotype was associated with increased birth weight, higher growth rate and lean meat elevated content. According to Horák et al. (2004) the polymorphism at the ´3 side of the *MYF4* gene impacts on carcass traits and lean meat content in pigs. In our study the significant associations ($P \leq 0.05$) between $MYF4^{AB}$ and $MYF4^{BB}$ in lean meat were observed. The backfat thickness of animals with genotype $MYF4^{AB}$ was greater than that of the animals with genotype $MYF4^{BB}$ and $MYF4^{AA}$.

The significant effect of *FSHB*^{AB} and *FSHB* ^{BB} genotypes in backfat thickness and lean meat considered. The values of ADG were significantly different between genotypes *FSHB*^{AA} and *FSHB*^{BB}, wherein the homozygous genotype *FSHB*^{AA} showed highly significant greater value of ADG. Interesting is differences in values of ADG between the homozygous and heterozygous genotype of *MYF4* gene because even with the results of the large standard errors can not be defined as statistically significant. The homozygous and heterozygous genotypes of *FSHB* gene were shown high significant differences ($P \leq 0.01$) for average daily gain test. The ADGT of animals with genotype *FSHB*^{AA} was greater than that of animals with genotype *FSHB*^{AB} and *FSHB*^{BB}.

The high significant effect ($P \leq 0.01$) on backfat thickness, average daily gain test and lean meat between following genotypes *MYF4*^{AA}/*FSHB*^{AB}, *MYF4*^{AA}/*FSHB*^{BB} and *MYF4*^{BB}/*FSHB*^{AB} were observed. In our results high significant differences were identified in genotype *MYF4*^{BB}/*FSHB*^{AA} in ADGT and LM. The series of the significant differences ($P \leq 0.05$) in backfat thickness, average daily gain, average daily gain test and lean meat are identified in this research.

The interaction genotype *MYF4*^{AB}/*FSHB*^{AB}, not shown statistically significant differences on BF and ADG. The genotype combination *MYF4*^{AB}/*FSHB*^{BB} has no significant effect on ADGT. We identified the significant effects of genotypes *MYF4*^{AA}/*FSHB*^{AA}, *MYF4*^{AA}/*FSHB*^{BB}, *MYF4*^{AB}/*FSHB*^{AA} and *MYF4*^{AB}/FSHB^{BB} on ADG. The genotypes combination *MYF4*^{BB}/*FSHB*^{BB} affected only the LM ($P \leq 0.01$).

Table 6. Interaction of genes MYF4 and FSHB (Least-Squares Means and Standard Errors, LSM±SE)

Genotype	BF	ADG	ADGT	LM
MYF4^{AA}	0.85±0.02	643.48±7.98	983.85± 47.46	61.25±0.23
MYF4^{AB}	0.89±0.02	651.12±10.31	1022.66±52.36	60.70±0.30^{a}
MYF4^{BB}	0.81±0.02	638.67±8.83	1036.36±24.17	61.59±0.26^{a}
FSHB^{AA}	0.83±0.03	662.83±11.8^{A}	1143.86±46.59^{A,B}	61.36±0.35
FSHB^{AB}	0.83±0.02^{a}	642.28±8.45	964.09±41.98^{A}	61.44±0.25^{a}
FSHB^{BB}	0.89±0.01^{a}	628.17±5.94^{A}	934.93±40.56^{B}	60.74±0.17^{a}
MYF4^{AA}/*FSHB*^{AA}	0.76±0.05^{a,b,c,d}	664.42±19.66^{a}	1190.00±111.09^{a,b,c}	62.24±0.58^{a,b,c,d,e}
MYF4^{AA}/*FSHB*^{AB}	0.89±0.03^{a,A}	644.13± 10.84	913.57±41.98^{a,A,B,C}	60.78±0.32^{a,A}
MYF4^{AA}/*FSHB*^{BB}	0.90±0.02^{b,e,B}	621.89±8.33^{a,b}	848.00±78.55^{b,d,e,D}	60.73±0.24^{b,f,B}
MYF4^{AB}/*FSHB*^{AA}	0.92±0.07^{f}	689.00±26.01^{b,c}	1174.00±78.55^{A,d,f,g}	60.15±0.77^{c,g}
MYF4^{AB}/*FSHB*^{AB}	0.86±0.04	640.83±15.01	875.00±111.09^{f}	61.08±0.44^{h}
MYF4^{AB}/*FSHB*^{BB}	0.88±0.02^{c,g}	623.55±7.43^{c}	1019.00±78.55	60.88±0.22^{d,i}
MYF4^{BB}/*FSHB*^{AA}	0.81± 0.04^{e,f}	635.07±14.42	1067.58±32.06^{B,e,h}	61.70±0.42^{f,C}
MYF4^{BB}/*FSHB*^{AB}	0.74±0.04^{A,B,g}	641.88±17.34	1103.71±41.98^{b,C,D,i}	62.46±0.51^{A,B,g,h,i}
MYF4^{BB}/*FSHB*^{BB}	0.90±0.03^{d}	639.07±13.90	937.80±49.68^{c,g,h,i}	60.61±0.41^{e,C}

BF – backfat thickness (cm), ADG – average daily gain (g), ADGT – average daily gain on test, LM – lean meat (%).

Values with the same superscripts in columns show significant differences: $^{A, B, C, D}$ ($P \leq 0.01$), and $^{a, b, c, d, e, f, g, h, i}$ ($P \leq 0.05$)

An important indicator of the pig's body condition is measuring backfat thickness and has become since this has a direct relationship with its body fat content. A decrease in the backfat thickness is directly related to the inter and intramuscular fat content. It corresponds to the lowest backfat thickness in pigs with *MYF4*^{BB} genotype. Kahánková and Dvořák (1998) analysed backfat thickness and lean meat percentage in sows of Czech Large White and Landrace breeds according to genotypes of *MYF4* gene and she noted that pigs with *MYF4*^{AA} genotype had higher lean meat percentage and lower backfat thickness in comparison with animals with *MYF4*^{AB} genotype

In pig selection and breeding, the application of *FSHB* gene may be recommended only if significant effect is confirmed in a given specific population (Humpoličeк et al., 2009). The significant effect of *FSHB*^{AB} and *FSHB*^{BB} genotypes in backfat thickness and lean meat considered.

In their study Wyszyńska - Koko et al. (2006) presented serious statistical differences ($P \leq 0.01$) in the average daily weight gain among the genotypes *MYF4*^{AA} and *MYF4*^{BB}, and *MYF4*^{AB}. In this work the individuals with genotype *MYF4*^{AA} showed a higher average daily weight gain than those with genotype *MYF4*^{BB}. At the same time, the individuals with genotype *MYF4*^{AB} showed higher average daily weight gain than those with genotype *MYF4*^{BB}.

The lean meat content of the carcass, significantly affects the economic efficiency of pig production (Vališ et al. 2009). The animals with the highest lean meat deposition rates that accomplish their potential growth rates will produce much better food conversion efficiencies throughout their life. The lean meat growth is very efficient and requires much less energy than fat deposition.

CONCLUSION

The most important breeding goals in pigs production is genetic improvement of productive performance and discovering individual genes. Molecular biology methods provide excellent opportunities the identification of genes or genetic markers associated with production traits which influenced quantity of meat.

Therefore, many significant associations with productive traits were detected. We evaluated the significant associations of *MYF4* gene only with lean meat. The significant associations *FSHB* gene with backfat thickness and lean meat were observed. Also for the same gene we identified highly significant effects ($P \leq 0.01$) on average daily gain and average daily gain test. Only the interaction of genotype *MYF4*^{AB}/*FSHB*^{AB} has not shown statistically significant differences on backfat thickness and average daily gain. The genotype combination *MYF4*^{AB}/*FSHB*^{BB} has not shown effect on average daily gain in test. This research has shown high significant differences between analyzed genotypes for all traits.

REFERENCES

ČECHOVÁ M., MIKULE V. (2004): The analysis of carcass value in pigs of different genotypes. *Czech J. Anim. Sci*. 49 (9): 383–388

HARTL D., CLARK A.G. (1997): Principles of Population Genetics. 3rd ed., Sinauer Associates, Inc. Publisher, 542 p

HORÁK P., URBAN T., DVOŘÁK J. (2004): Genetic variability of the CRC and MYF4 genes in genetic resource. *Arch Tierz.* 3:231-238

HUMPOLIČEK P., TVRDON Z., URBAN T. (2009): Interaction of *ESR*1 gene with the *FSHB* and *MYOG* genes: effect on the reproduction and growth in pigs. *Animal Science Papers and Reports.* 27 (2):105-113

KAHÁNKOVÁ L., DVOŘÁK J. (1998): Association of *RYR1*, *GH* and *Myf4* genes with performance parameters in pigs of the Landrase breed in the Czech Republic. In: EAAP 49th Annual Meeting, Warsaw, p. 285

TE PAS M. F. W., SOUMILLION A., HARDERS F. L., VERBURG F. J., VAN DEN BOSCH T. J., GALESLOOT P., MEUWISSEN T. H. (1999): Influences of myogenin genotypes on birth, growth rate, carcass weight, backfat thickness, and lean weight of pigs. *J Anim Sci.* 77 (9):2352-2356.

TE PAS M. F. W., SOUMILLION A., VAN DER BOSCH T. J., VENINGA G., MEUWISSEN T. H. E. (1996): Association between polymorphism in the porcine myogenin gene locus and growth traits. In 4^{7th} Annual Meetingof EAAP, 26-29 august, Lillehammer, Norway

TE PAS M.F.W., VISSCHER A.H. (1994): Genetic regulation of meat production by embryonic muscle formation – a review. *J. Anim. Breed. Genet*. 111, 404–412.

ROHRER G.A., ALEXANDER L.J., BEATTIE C.W. (1994): Mapping the beta subunit of follicle stimulating hormone *(FSHB*) in the porcine genome. *Mammalian Genome.* **5**: 315-317.

VALIŠ L., PULKRÁBEK J., VÍTEK M., DAVID L. (2009): Conformation and lean meat content of the belly in gilts and barrows. Research in pig breeding. 3 (1)

WYSZYŃSKA-KOKO J., PIERZCHALA M., FLISIKOWSKI K., KAMYCZEK M., RÓZYCKI M., KURYŁ J. (2006): Polymorphisms in coding and regulatory regions of the porcine MYF6 and MYOG genes and expression of the MYF6 gene in m. longissimus dorsi versus productive traits in pigs. *J Appl Genet*. 47(2):131-138

FACTORS EFFECTING SPERMATOZOA MOTILITY IN TURKEY – TEMPERATURE AND DILUENT

Slanina T., Petrovičová L., Massányi P.

Department of Animal Physiology, Faculty of Biotechnology and Food Science, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 94976 Nitra, Slovak Republic

E-mail: slaninatomas@atlas.sk

ABSTRACT

Target of our study was to analyze the turkey spermatozoa motility parameters cultured *in vitro* at laboratory temperature (22 °C) and cool milieu – cooling (4 °C) and to analyze the spermatozoa motility in turkey semen diluted with physiological solution as well as commercial diluent and subsequently cultured *in vitro* in cool milieu (4 °C) in time periods 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180 minutes, whereby a motility of samples diluted with commercial diluent and physiological solution was analyzed after 24 hours. The motility was determined using the SpermVision CASA system. After the semen dilution with physiological solution and subsequent culture at laboratory temperature and at cool condition a significant decrease of spermatozoa motility at laboratory temperature was detected from Time 0 (94.15%) till the 180 minutes of culture (53.91%). At the cool milieu this difference was lower (95.41 and 78.86%, respectively) and the differences were significant from the 30 minutes of culture till 180 minutes. Similar tendency were found for progressive spermatozoa motility, velocity curved line, amplitude of lateral head displacement, beat cross frequency, where significantly higher rates were measured after 30 minutes of culture at lower temperature. The spermatozoa motility between samples cultured in physiological solution and commercial diluent was in both groups very balanced for 90 minutes of culture. Subsequently, significantly higher spermatozoa motility was detected at time periods 120, 150 and 180 minutes of culture in commercial diluent. Also after 24 hours the motility was higher in this group. Progressive spermatozoa motility replicates the tendency of total spermatozoa motility. Significant decrease in the parameters – velocity curved line and amplitude of lateral head displacement; were detected between samples after 90 minutes of cultivation in physiological solution. Any significantly differences were detected – in beat cross frequency, after 24 hours this parameter was significant higher in sample with commercial diluent.

Key words: turkey, spermatozoa, motility, CASA, temperature, diluents

Acknowledgement: This study was supported by VEGA project 1//0532/11

ÚVOD

Domáce morky sú intenzívne šľachtené a chované predovšetkým na váhu a telovú kompozíciu. Zlepšenie týchto vlastností je badateľné, ale zlepšiť reprodukčné charakteristiky je veľmi ťažké. Z tohto dôvodu je dôležité vykonávanie efektívneho výberu ejakulátov na základe kvality, pretože umelá inseminácia (AI) vyžaduje vysoko kvalitné spermie získané od individuálnych samcov. Ako uvádza Hocking (2009) uskladnenie ejakulátu moriakov je využívané v komerčných chovných prevádzkach, ale účinnosť týchto systémov v udržiavaní schopnosti fertilizácie spermií *in vitro* počas 24 hodín uskladnenia je mizivá, v porovnaní s vajcovodom živého organizmu, ktorý môže udržať schopnosť fertilizácie spermií počas mnohých týždňov. Aby hydinársky priemysel ťažil z moderných techník umelej inseminácie, je nutné správne uskladňovanie ejakulátu hydiny (Dumpala et al., 2006).

Viacero faktorov zohráva dôležitú úlohu v udržiavaní kvality ejakulátu počas uskladnenia. Hlavnú úlohu majú riedidlá používané pre využitie ejakulátu a podmienky uskladnenia ako napríklad čas, prevzdušňovanie a udržiavacia teplota. Je známe, že pohyblivosť spermií a fertilizačná schopnosť nezriedeného čistého vtáčieho ejakulátu uskladneného *in vitro* sa obyčajne znižuje v rámci 1 hodiny po odbere. Z toho dôvodu, pre uskladnenie ejakulátu vtákov, je veľmi dôležitý typ riedidla a teplota uskladnenia pre zabránenie znižovania kvality spermií (Dumpala et al., 2006).

Uskladnenie spermií v chladnejších podmienkach znižuje metabolizmus a udržiava ich životaschopnosť po dlhší čas. Metabolizmus spermií nie je úplne zastavený počas tekutého uskladnenia pri zníženej teplote. Hlavné zmeny, ktoré nastanú zahrňujú ireverzibilné zníženie pohyblivosti, morfologickej celistvosť a fertility spermií (Maxwell a Stojanov, 1996). V skutočnosti je uskladnenie ejakulátu vždy sprevádzané zhoršením kvality spermií a fertility. Negatívny účinok na kvalitu spermií u tekutého *in vitro* uskladnenia ejakulátu moriakov, ktorý súvisí so zlým vplyvom na fertilitu, potvrdili vo svojej štúdii i Donoghue a Wishart (2000).

Pre dlhšie uchovanie ejakulátov vtákov boli vyvinuté mnohé riedidlá (Akçay et al., 2006). Väčšina z nich sú soľné roztoky vhodné pre priame prežitie spermie, pretože poskytujú osmotický tlak (330 – 400 mOsm) a pH (7,0 – 7,4) identické so semennou plazmou (Thurston, 1995). Riedidlá by mali taktiež obsahovať rôzne energetické substráty. Z toho dôvodu sú riedidlá používané pre ejakulát hydiny obohatené o uhľohydráty (glukóza alebo fruktóza) a v iných komponentoch pravdepodobne poskytujú energiu (citrát, glutamát, octan) (Thurston, 1995). Väčšina riedidiel poskytuje energiu pre metabolizmus a tlmivú kapacitu. Bunky spermií majú tendenciu formovať sa do zhlukov zamotaných más v hustom, čistom semene. Semenné riedidlá zabraňujú tomuto zhlukovaniu riedením vonkajšej koncentrácie, ako aj zväčšujú metabolickú aktivitu spermií a zlepšujú ich

pohyblivosť. Z praktického hľadiska zmenšujú počet požadovaných samcov a celkové náklady (Semen Quality, 2007).

Dlhodobé uskladňovanie morčacieho ejakulátu má významný ekonomický dopad na reprodukčné a manažérske programy chovu moriek. Cieľom našej práce bolo určiť vplyv teploty kultivácie ako aj riedidla na pohyblivosť spermií moriakov v rôznych časových obdobiach.

MATERIÁL A METODIKA

Biologický materiál

V práci sme hodnotili ejakuláty získané masírovaním od moriakov línie Big 6 (BUT – British United Turkeys Ltd., Chester, UK). Vzorky ejakulátu sa ihneď po odbere riedili riedidlami – jedna vzorka fyziologickým roztokom (Sodium Chloride 0,9% w/v intravenous Infusion Bieffe, Birffe Midetal S.p.A., Grosotto, Taliansko) a druhá vzorka náhodne vybraným komerčným riedidlom, v pomere jedna ku dvom (1 diel ejakulátu a 2 diely riedidla).

Príprava vzoriek

Ejakuláty sa po prenose do laboratória pred analýzou museli opätovne riediť, pretože ejakulát moriakov obsahuje vysoké koncentrácie spermií. Ejakulát sa preto opätovne riedil fyziologickým roztokom a komerčným riedidlom, v pomere 50 µm ejakulátu a 1000 µm riedidla, takže finálne riedenie pri analýze bolo 1:40. Z každého zriedeného ejakulátu sme pripravili dve vzorky, ktoré boli označené ako c/c –riedené fyziologickým roztokom a c/z – riedené komerčným riedidlom, a boli umiestnené do chladničky s teplotou 4°C. Pohyblivosť sa hodnotila a porovnávala pri teplote 4°C v časových intervaloch 0, 30, 60, 90, 120, 150 a 180 minút a 24 hodín.

Z ejakulátu zriedeného pri odbere fyziologickým roztokom sme si pripravili ďalšie dve vzorky, z ktorých jedna bola kultivovaná pri laboratórnej teplote (22°C) a druhá vzorka bola vložená do chladničky, kde sa udržiavala teplota 4 °C. Pohyblivosť sa hodnotila a porovnávala pri laboratórnej a pri zníženej teplote v siedmych časových obdobiach a to: 0, 30, 60, 90, 120, 150 a 180 minút. V experimente sme vykonali 6 opakovaní.

Analytická metóda

Na hodnotenie pohyblivosti spermií sme použili CASA (Computer – Assisted Sperm Analysis – analýza pohyblivosti spermií počítačovou technikou) systém SpermVision (Minitüb, Tiefenbach, SRN) s mikroskopom Olympus BX 51 (Olympus, Japonsko). Každú vzorku sme umiestnili do počítacej komôrky Makler Counting Chamber s hĺbkou 10 µm (Sefi–Medical Instruments, SRN) a následne umiestnili do zorného poľa. V každej vzorke sme sledovali nasledovné parametre – percento pohyblivých spermií (%), percento progresívne pohyblivých spermií (%); VCL (velocity curved line) – krivočiara rýchlosť (µm.s^{-1}) [časovo–závislá pohyblivosť hlavičky spermie pozdĺž aktuálnej krivočiarej dráhy ako vnímané dva rozmery pod mikroskopom]; ALH (amplitude of lateral head displacement) – amplitúda laterálneho (bočného) premiestnenie hlavičky (µm.s^{-1})

[Stupeň laterálneho premiestnenia hlavičky spermie okolo priemernej dráhy. ALH môže byť vyjadrená ako maximálna alebo priemerná hodnota] a BCF (beat cross frequency) – frekvencia krížových úderov (Hz) [frekvencia pri ktorej VCL križuje VAP (velocity average path) priemerná dráhová rýchlosť ($\mu m.s^{-1}$)]. V rámci každého merania systém CASA vyhodnotil parametre pohyblivosti z minimálne 8 polí komôrky Makler Counting Chamber.

Na porovnanie výsledkov CASA analýzy v jednotlivých časových obdobiach pri sledovaní vplyvu teploty sme použili štatistický Scheffeho test. Pri porovnávaní výsledkov vplyvu veku na motilitu sme použili štandardný štatistický Studentov *t*–test. Preukaznosť rozdielov sme hodnotili na hladine preukaznosti $p<0,05$; 0,01 a 0,001. Pri jednotlivých meraniach sme zaznamenávali priemernú hodnotu (x), minimálnu (min) a maximálnu (max) hodnotu, smerodajnú odchýlku (SD) a variačný koeficient (cv).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Súčasné metódy uskladňovania spermií sú účinné len pre krátke periódy a je nutné ich vylepšovať. Jednou z podmienok nutných pre uskladnenie ejakulátu *in vitro* je nízka teplota, obyčajne 2 – 5°C. Použitie nízkej teploty v kombinácii s ochranným médiom, obsahujúcim glykolytické substráty a sprostredkujúcim cyklus kyseliny citrónovej, je nedostatočné na zaručenie dlhodobého *in vitro* prežitia morčacích spermií (Douard et al., 2000).

Vplyv rozdielnych teplôt na motilitu spermií

Giesen a Sexton (1983) sledovali účinok teploty skladovania na morčacie spermie po 18 hodinách kultivácie. Ejakulát bol uchovávaný pri teplotách 5, 15, 25 a 35°C. Pohyblivosť spermií medzi neskladovanou kontrolou a vzorkami držanými pri 5°C nebola odlišná (62 vs. 64%). Vzorky skladované pri 15 a 25°C mali pohyblivosť 40 – 8%. Vzorky držané pri 35°C po 18 hodinách boli nepohyblivé.

Z našich dosiahnutých výsledkov vyplýva, že spermie po riedení (fyziologickým roztokom) a kultivované v chlade pri teplote 4°C vykazujú lepšie hodnoty oproti hodnotám spermií kultivovaných pri laboratórnej teplote. Počiatočná pohyblivosť v čase 0 nebola preukazne rozdielna u vzorky kultivovanej v laboratórnej teplote (94,15%) a chladenej vzorky – 95,42% (Tabuľka 1). Preukazný rozdiel ($p<0,001$) je však už badateľný po 30 minútach kultivácie, kde spermie kultivované pri nízkej teplote mali pohyblivosť 90,25% a spermie kultivované pri teplote 22°C mali pohyblivosť 82,35%. Tento rozdiel sa neustále zvyšuje postupujúcim časom kultivácie. U vzorky uskladnenej v chlade bol pozorovaný len mierny pokles počas celej doby kultivácie. Značný pokles (12%) bol zistený u vzorky uchovávanej pri laboratórnej teplote už po 30 minútach.

Kotłowska et al. (2006) vo svojej práci uvádzajú, že percentuálny podiel pohyblivosti spermií počas 2,5 a 24 hodinového uskladnenia ejakulátu moriakov v chlade (4 – 7°C) je podobný (okolo 70%) a významný pokles nastáva po 48 hodinách. Doba uskladnenia spôsobuje stály pokles charakteristík pohyblivosti spermií spojený s oboma rýchlosťami pohybu (VCL a VAP) a trajektórie pohybu (VSL, LIN). V rovnakom čase neboli nájdené žiadne zmeny v BCF.

V našej práci bola pohyblivosť spermií po 2,5 hodine 54,61% u spermií kultivovaných pri teplote 22°C a 84,08% pri teplote 4°C. Rozdiel medzi našimi výsledkami po 2,5 hodinovej kultivácii spermií mohol byť spôsobený tým, že Kotłowska et al. používali pri riedení ejakulátu pred analýzou riedidlo Ovodyl (IMV, I´Aigle, France) a my sme ejakulát riedili fyziologickým roztokom (Sodium Chloride 0,9% w/v intravenous Infusion Bieffe, Grosotto, Taliansko).

Tabuľka 1: ***MOT [%]*** *– pohyblivosť spermií pri odlišných teplotách v jednotlivých časoch*

Čas [min.]	min	max	x	sd	cv
	Fyziologický roztok; laboratórna teplota				
0	83,72	99,28	**94,15**	3,81	4,04
30	57,97	97,44	**82,35**	10,46	12,70
60	25,52	96,36	**72,50**	16,28	22,46
90	47,55	83,96	**68,85**	9,50	13,80
120	35,56	90,59	**66,08**	15,37	23,25
150	18,68	86,57	**54,61**	16,42	30,07
180	29,79	80,61	**53,91**	12,49	23,17
	Fyziologický roztok; chladnička				
0	85,20	99,72	**95,42-**	3,28	3,44
30	76,57	98,41	**90,25*****	5,51	6,11
60	78,63	98,57	**90,86*****	5,95	6,55
90	66,48	97,57	**86,33*****	8,37	9,70
120	63,82	93,00	**80,70*****	7,74	9,59
150	67,76	95,03	**84,08*****	6,39	7,60
180	66,66	88,51	**78,86*****	5,90	7,48

*min – minimum; max – maximum; x – priemer; sd – smerodajná odchýlka; cv – variačný koeficient (%); preukazné rozdiely *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001; neupreukazný rozdiel – p>0,05 (platné pre všetky tabuľky).*

Analýzou percenta progresívne pohyblivých spermií (PRO) sme zistili identický pokles pohyblivosti od času 30 minút až po 180 minút s preukazným rozdielom (p<0,001) v prospech chladenej vzorky. V čase 0 nebola progresívna pohyblivosť vo vzorkách preukazne rozdielna (81,20 ku 82,22%), avšak po 30 minútach bol zaznamenaný vysoký pokles u nechladenej vzorky až 25,9% oproti chladenej vzorke, kde pokles predstavoval len 8,65% (Tabuľka 2).

Pri sledovaní krivočiarej rýchlosti (VCL) a taktiež amplitúde laterálneho posunu hlavičky (ALH), sme v čase 0 nezistili preukazné rozdiely. S postupným časom kultivácie od 30 až po 180 minút bolo postupné znižovanie týchto parametrov preukazne rozdielne (p<0,001), s vyššími hodnotami pre vzorku udržiavanú v chlade. Frekvencia úderov (BCF) bola preukazne vyššia (p<0,01) po 30 minútach kultivácie v nižšej teplote a v časových obdobiach 90 až 180 minút sme taktiež zaznamenali vyššie preukázané rozdiely (p<0,001) v hodnotách vzorky uchovávanej pri nižšej teplote.

Tabuľka 2: ***PRO [%]*** *– progresívna pohyblivosť spermií pri odlišných teplotách v jednotlivých časoch.*

Čas [min.]	min	max	x	sd	cv
	Fyziologický roztok; laboratórna teplota				
0	67,32	92,12	**81,20**	6,34	7,81
30	22,75	81,78	**55,33**	16,63	30,05
60	15,48	82,88	**47,14**	17,84	37,85
90	7,44	56,45	**37,24**	12,69	34,09
120	8,33	72,38	**37,58**	19,46	51,77
150	3,84	52,77	**23,56**	10,91	46,32
180	7,44	45,41	**24,71**	8,69	35,19
	Fyziologický roztok; chladnička				
0	66,27	93,17	**82,22-**	7,85	9,55
30	49,54	88,95	**73,57*****	10,15	13,80
60	52,06	91,03	**73,97*****	10,21	13,80
90	28,06	85,32	**65,19*****	13,71	21,03
120	43,20	75,99	**58,68*****	8,95	15,26
150	42,61	80,25	**62,40*****	9,00	14,42
180	35,73	72,24	**54,50*****	9,81	18,00

Vplyv rozdielnych riedidiel na motilitu spermií

Vplyvom troch rôznych riedidiel na fertilitu spermií moriakov sa zaoberali Akçay et al. (2006), pričom spermie boli uchovávané pri 4°C počas 24 až 48 hodinách. Používané riedidlá obsahovali sacharidy: 0,3 M glukózu, 0,6 M sacharózu a Ringerov roztok. Ejakulát uskladnený v 0,6 M sacharózovom roztoku nebol použitý pre inseminácia kvôli nízkej pohyblivosti (10% pohyblivosť po 24 hodinách uskladnenia, a 0% pohyblivosť po 48 hodinách uskladnenia). Pohyblivosť spermií v riedidle obsahujúceho 0,3 M glukózy a Ringerov roztok pri 4°C bola: 90,9% (24 h, 0,3 M glukóza); 79,1% (48 h, 0,3 M glukóza); 69,8% (24 h, Ringerov roztok); 30,9% (48 h, Ringerov roztok); 93,8% (kontrola, čerstvé spermie). Podľa Akçaya et al. (2006) neboli pozorované žiadne významné rozdiely medzi fertilizáciou spermií uložených v glukózových roztokoch počas 24 hod. a kontrolou spermií, ktoré boli čerstvé. Ale rozdiely medzi riedidlami boli významné ($p<0.05$). Tieto výsledky ukázali, že ejakulát moriakov môže byť uskladnený v glukózových roztokoch počas 24 alebo 48 h s minimálnou stratou fertility.

V našich experimentoch sme analýzou percenta pohyblivých spermií v čase 0 zistili preukazný rozdiel medzi účinkom fyziologického roztoku a komerčného riedidla ($p<0,01$), kde fyziologický roztok vykazoval vyššiu účinnosť v porovnaní s komerčným riedidlom (Tabuľka 3). Následne v časových intervaloch 30 – 90 minút sme nezaznamenali žiadne rozdiely medzi týmito riedidlami. Ale po 120 minútach až 24 hodinách kultivácie sme zistili preukazne vyššiu pohyblivosť ($p<0,05$ – $p<0,001$) spermií s komerčným riedidlom.

V našej práci pohyblivosť spermií zriedených vo fyziologickom roztoku počas 120 minút kultivácie dosahovala 80,70%. Pohyblivosť spermií zriedených v komerčnom riedidle, taktiež po 120 minútach kultivácie, dosahovala 90,04%, čo je takmer o 10% viac ako vo fyziologickom

roztoku. V porovnaní so štúdiou Morella et al. (2005), kde sa pohyblivosť spermií počas 2 hodín kultivácie pri laboratórnej teplote pohybovala na úrovni 72,5% v riedidle „Turkey Semen Extend“ a 62,5% pohyblivosťou v riedidlách Ovodyl a BPSE. Z týchto výsledkov vyplýva, že po 2 hodinách kultivácie lepšie výsledky dosiahli riedidlá, ktoré sme používali v našej práci. Dôvodov, prečo majú tieto riedidlá lepšie výsledky môže byť viacero: jedným z nich je, že v našej práci sme ejakulát uchovávali pri teplote 4°C.

*Tabuľka 3: **MOT [%]** – pohyblivosť spermií v jednotlivých riedidlách a časových obdobiach*

Čas [min./h]	min	max	x	sd	cv
	Fyziologický roztok				
0	85,20	99,72	**95,42**	3,28	3,44
30	76,57	98,41	**90,25**	5,51	6,11
60	78,63	98,57	**90,86**	5,95	6,55
90	66,48	97,57	**86,33**	8,37	9,70
120	63,82	93,00	**80,70**	7,74	9,59
150	67,76	95,03	**84,08**	6,39	7,60
180	66,66	88,51	**78,86**	5,90	7,48
24H	29,46	78,85	**52,86**	12,37	23,39
	Komerčné riedidlo				
0	72,68	99,02	**92,26****	5,74	6,23
30	79,20	96,56	**89,85-**	4,43	4,93
60	74,44	96,01	**88,94-**	5,59	6,29
90	72,14	97,88	**87,47-**	6,76	7,73
120	71,21	98,14	**90,04*****	7,49	8,32
150	80,09	99,38	**89,55***	4,71	5,26
180	68,11	98,80	**87,53*****	8,28	9,46
24H	41,03	87,37	**60,82****	14,76	24,27

Pri hodnotení percenta progresívne pohyblivých spermií sme zistili rozdiely medzi hodnotenými riedidlami len po 120 minútach kultivácie (Tabuľka 4), kde bola zistená štatisticky vyššia preukaznosť u komerčného riedidla ($p<0,001$), ktorá sa udržiavala do konca kultivácie. Z týchto výsledkov môžeme konštatovať, že komerčné riedidlo udržiava progresívnu pohyblivosť spermií moriakov po dlhšiu dobu.

Krivočiara rýchlosť (VCL) vykazovala výrazné rozdiely po 90 minútach kultivácie. V čase 90 a 150 minút boli preukazné rozdiely ($p<0,05$). Avšak v časoch 120, 180 minút a 24 hodín bola dokázaná preukaznosť ($p<0,001$). Amplitúda laterálneho posunu hlavičky (ALH) klesla pri riedení s fyziologickým roztokom z 5,39 μm (0 minút) na 4,22 μm (180 minút), zatiaľ čo riedených s komerčným riedidlom z 5,22 μm (0 minút) len na 4,84 μm (180 minút). Po 90 minútach kultivácie boli zistené preukazné rozdiely ($p<0,001$). Nepreukazné rozdiely sme zistili pri hodnotení frekvencií úderov (BCF), avšak po 24 hodinách sme zaznamenali vyššie preukazné hodnoty ($p<0,001$) u komerčného riedidla.

Tabuľka 4: ***PRO [%]*** *– Progresívna pohyblivosť spermií v jednotlivých riedidlách a časových obdobiach*

Čas [min./h.]	min	max	x	sd	cv
	Fyziologický roztok				
0	66,27	93,17	**82,22**	7,85	9,55
30	49,54	88,95	**73,57**	10,15	13,80
60	52,06	91,03	**73,97**	10,21	13,80
90	28,06	85,32	**65,19**	13,71	21,03
120	43,20	75,99	**58,68**	8,95	15,26
150	42,61	80,25	**62,40**	9,00	14,42
180	35,73	72,24	**54,50**	9,81	18,00
24H	6,35	40,17	**21,80**	8,82	40,45
	Komerčné riedidlo				
0	46,69	89,96	**78,04-**	9,98	12,79
30	56,19	86,25	**73,61-**	7,25	9,84
60	50,60	84,57	**70,62-**	8,76	12,41
90	48,96	88,67	**69,31-**	11,99	17,30
120	47,47	88,27	**73,81*** **	10,58	14,34
150	49,46	91,40	**70,19*** **	9,01	12,84
180	49,35	89,49	**70,99*** **	11,10	15,64
24H	13,18	72,54	**36,32*** **	17,25	47,51

ZÁVER

Pre dlhodobejšiu kultiváciu (skladovanie) spermií moriakov je potrebné spermie udržiavať pri nízkych teplotách (4 – 8 °C) čo potvrdili aj naše výsledky. Pohyblivosť a progresívna pohyblivosť vykazovala výrazné rozdiely už po 30 minútach kultivácie a s predlžovaním času kultivácie sa tieto rozdiely ešte zvýrazňovali. Podobné tendencie sme zistili aj pri ďalších parametroch pohyblivosti spermií, ktoré dosiahli preukazne lepšie výsledky pri kultivácii v chlade.

Zároveň z údajov vplyvu fyziologického roztoku a komerčného riedila možno konštatovať, že pohyblivosť spermií bola v oboch sledovaných skupinách veľmi vyrovnaná po dobu 90 minút kultivácie. Avšak pri dlhodobejšej kultivácii preukazne vyššiu pohyblivosť spermií vykazovali spermie kultivované v komerčnom riedidle. Z týchto údajov možno skonštatovať, že na dlhodobejšie uskladňovanie ejakulátu je vhodné používať komerčne dostupené riedidlá.

LITERATÚRA

Akçay E., Varisli Ö., Tekin N. (2006): Fertilizing ability of turkey semen diluted with simple sugar-based extenders after cooled storage. EPC 2006 - XII European Poultry Conference. Verona **:** World Poultry Science Association.

Donoghue A. M., Wishart G. J. (2000): Storage of poultry semen. Animal Reproduction Science, 62(4): 213-232.

Douard V., Hermier D., Blesbois E. (2000): Changes in turkey semen lipids during liquid *in vitro* storage. Biology of Reproduction, 63(5): 1450-1456.

Dumpala P. R., Parker H. M., McDaniel C. D. (2006): The effect of semen storage temperature and diluent type on the sperm quality index of broiler breeder semen. International Journal of Poultry Science, 5(9): 838-845.

Giesen A. F., Sexton T. J. (1983): Beltsville poultry semen extender. 9. Effect of storage temperature on turkey semen held eighteen hours. Poutry Science, 62(7): 1305-1311.

Hocking, P. M. 2009. Biology of Breeding Poultry. Edinburgh : CABI, 2009. 464 s. ISBN 978-1-84593-375-3.

Hybrid Turkeys: Semen Quality. www.hybridturkeys.com

Kotłowska M., Dietrich G., Wojtczak M., Karol H., Ciereszko A. (2006): Effect of liquid storage on amidase aktivity, DNA fragmentation and motility of turkey spermatozoa. Theriogenology 67(2): 276-286.

Maxwell W. M., Stojanov T. (1996): Liquid storage of ram semen in the absence or presence of some antioxidants. Reproduction, Fertility and Development, 8(6): 1013–1020.

Morrell J. M., Persson B., Tjellstrőm H., Laessker A., Nilsson H., Danilova M., Holmes P. V. (2005): Effect of semen extender and density gradient centrifugation on the motility and fertility of turkey spermatozoa. Reproduction in Domestic Animals, 40(9): 522-525.

Thurston R. J. (1995): Storage of poultry semen above freezing for twenty-four to forty-eight hours. In Bakst, M.R. and Wishart, G.J. (eds) *Proceedings of the First International Symposium on the Artificial Insemination of Poultry*. The Poultry Science Association, Savoy, Illinois, s. 107–122.

MAINTAINING BIOLOGICAL DIVERSITY OF MOTHS IN VINEYARDS

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

Research on biodiversity of moths was conducted in South Moravia in 2010. Four experimental sites were at two locations near the protected landscape area of Pálava, three of them included methodically different managements in vineyards (conventional, integrated and organic) and the comparative closest forest-steppe habitat. Biodiversity of moths was studied using portable light traps with an 8 W ultraviolet lamp. A spectrum of moths called Macrolepidoptera was studied. The results demonstrate that biodiversity in vineyards is increasing with vineyards ecologization even at relatively large distance from natural habitats (up to several kilometers). The broad diversity and equitability indicators (Simpson's and Shannon-Wiener diversity index) show that organic vineyards have more distributed equitability and species balance is lower. It is therefore clear that the conventional vineyards are the most similar to each other by poor species spectrum and a low number of specimens. The most interesting findings resulted from Spearman's correlation coefficient. The most demonstrable (probability of 99%) is the influence of vegetation succession in alleyways on the number of specimens in the vineyards. Highly demonstrable (95%) are also influences of vegetation succession (on the number of species, number of specimens, Simpson's equitability index and Shannon's diversity index), duration of pheromones application in order to confuse male pests (the Simpson's diversity index and Shannon's equitability index), vineyard age on abundance of specimens and the use of insecticides on the number of species and specimens.

Key words: Lepidoptera, moth, biodiversity

Acknowledgement: This project was financed from IGA MENDELU No. IP 3/2011, TP 7/2011

ÚVOD

V poslední době je v České republice velice aktuální výzkum biodiverzity v agrární krajině, která zde zaujímá cca 60 % území. Pro zpomalení ústupu biodiverzity z přírodě blízkých území malých rozloh je nutné pro řídké populace druhů hledat náhradní biotopy v agrární krajině, které umožní komunikaci mezi ostrovními populacemi, jež mohou být odsouzeny k vyhynutí. Tyto náhradní biotopy slouží jako nášlapné kameny pro migraci nočních motýlů v krajině (Beneš et al. 2002, Konvička et al. 2005). Smyslem práce bylo zjistit, zdali plochy vinohradů, jako víceletých trvalých kultur, mohou při různém způsobu hospodaření být diverzitně různě bohaté, a zdali má vlastnosti druhu hospodaření v těchto kulturách vliv na biodiverzitu nočních motýlů.

MATERIÁL A METODIKA

Noční motýli byli chytáni pomocí přenosných světelných lapačů s 8W tmavou (UV) zářivkou, která byla napájena 12V akumulátorem (Fry & Waring 2001). V lapačích byla umístěna smrtička s chloroformem. Studium bylo prováděno na dvou lokalitách, Mikulov a Popice na jižní Moravě. Lokality se vyskytují v oblasti chráněné krajinné oblasti Pálava (která diverzitou druhů panonských nížin přesahuje republikový význam). Na lokalitách byly vymezeny studijní plochy ve třech vinicích s různým managementem hospodaření: konvenční (zkráceně KONV), integrovaná (IP), ekologická (BIO) a jedna srovnávací přírodně zachovalá lesostepní plocha. V průběhu vegetačního období bylo provedeno 8 nočních odchytů zhruba ve 2 až 3 týdenních intervalech (v termínech 20. 5., 3. 6., 14. 6., 29. 6., 12. 7., 27. 7., 14. 8. a 5. 9.).

Lokality: lokalita č. 1 Mikulov - lesostep (PR Svatý kopeček 15 ha), integrované hospodaření (vzdálenost 400 m od stepi), konvenční (vzdálenost 1700 m od stepi), biologická (vzdálenost 1600 m). Lokalita č. 2 Popice - lesostep (Kolby 10 ha), integrované hospodaření (vzdálenost 3500 m od stepi), konvenční (vzdálenost 2200 m), biologická (vzdálenost 2500 m).

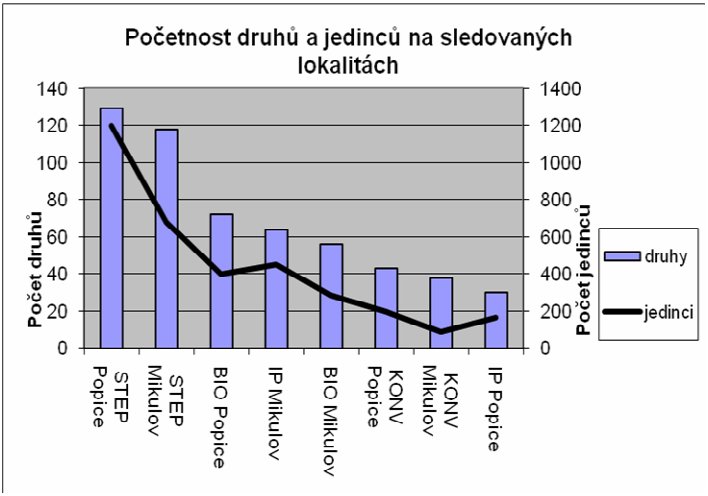
Byly hodnoceny vlastnosti jednotlivých druhů hospodaření ve vazbě na diverzitu nočních motýlů: Konvenční vinice nemají ozeleněno meziřadí a je zde možná aplikace neselektivních insekticidů, herbicidů a nejrůznějších průmyslových hnojiv. Integrované vinice mají ozeleněno minimálně 50 % meziřadí. Je zakázáno použití neselektivních insekticidů, celoplošnou aplikaci herbicidů (použití jen rychle rozložitelných) a průmyslová hnojiva jsou limitována. Ekologické vinice jsou ozeleněny min. z 50 % meziřadí. Tyto vinice mají zakázáno užití jakýchkoliv průmyslových pesticidů (užití feromonů k matení samců škůdců)

VÝSLEDKY A DISKUZE

Bylo sledováno 11 čeledí nočních motýlů tzv. macrolepidoptera (Arcticidae, Cossidae, Drepanidae, Geometridae, Lasiocampidae, Lymanitridae, Noctuidae, Notodontidae, Psychidae, Saturinidae a Sphingidae). Ve dvou trojicích vinic (na lokalitách Mikulov a okolí Popic) a na nejbližších

lesostepních biotopech bylo odchyceno 3468 jedinců a 211 druhů nočních motýlů (viz. Graf č. 1). Druhově nejbohatší lokality byly lesostepní biotopy. Ohrožené druhy byly reprezentovány druhy zejména z Červeného seznamu ohrožených a chráněných bezobratlých pro Českou republiku (10 druhů: *Acontia lucida, Dyscia conspersaria, Eremobia ochroleuca, Hyles euphrorbiae, Lygephila ludicra, Omphalophana antirrhinii, Parahypopta caestrum, Phragmataecia castaneae, Saturnia pyri, Watsonartia casta*).

Graf č. 1: Početnost druhů a jedinců na sledovaných lokalitách



Z hrubých ukazatelů diverzity a ekvitability (Simpsonův a Shannon-Wienerův index) dle Laštůvka & Krejčová 2000, Odum 1977 je patrné, že ekologické vinice mají rozloženější dominanci a vyrovnanost je nižší (viz. Tab č. 1). Vinice v ekologickém a integrovaném hospodaření měli bohatší diverzitu.

Tab. č. 1: Simpsonův a Shannonův index druhové diverzity a ekvitability

Druhy dohromady	jedinci	druhy	Simpsonův index diverzity	Simpsonův index ekvitability	Shannonův index diverzity	Shannonův index ekvitability
STEP Mikulov	679	118	0,0403	0,0085	3,9027	0,8181
IP Mikulov	453	64	0,0626	0,0150	3,3420	0,8036
BIO Mikulov	287	56	0,0451	0,0112	3,5045	0,8706
KONV Mikulov	90	38	0,0588	0,0162	3,2457	0,8923
STEP Popice	1197	129	0,0287	0,0059	4,0876	0,8411
IP Popice	164	30	0,1208	0,0355	2,6767	0,7870
BIO Popice	399	72	0,0378	0,0088	3,6763	0,8596
KONV Popice	199	43	0,0658	0,0175	3,1498	0,8375

Nejzajímavější zjištění vyplývají ze Spearmanových korelačních koeficientů (viz. Tab. č 2). Nejvíce průkazný (pravděpodobnost 99 %) je vliv stáří sukcese vegetace v meziřadí na množství jedinců ve vinicích. Dále jsou vysoce průkazné (95 %) vlivy sukcese vegetace (na množství druhů, množství jedinců, Simpsonův index ekvitability a Shannonův index diverzity), dobou používání feromonů (na Simpsonův index diverzity a Shannonův index ekvitability), stáří vinice na početnost jedinců a použití insekticidů na množství druhů a jedinců.

Tab. č. 2: Výsledky Spearmanova korelačního koeficientu

P > 0.05	jedinci	druhy	Simpsonův index div.	Simpsonův index ekv.	Shannonův index div.	Shannonův index ekv.
roky nepřerušené sukcese vegetace v meziřadí	0,90**	0,79*	-0,56	-0,76*	0,76*	-0,3
agrotech. meziřadí (ozeleněné plošně, ozeleněné každé druhé meziřadí, černý úhor celoplošně)	0,39	0,54	-0,59	-0,59	0,59	0,34
délka nepřerušeného používání feromonů	0,7	0,7	-0,69	-0,78*	0,78*	-0,05
stáří vinice	0,80*	0,7	-0,34	-0,55	0,55	-0,35
doba od posledního použití chem insekticidu (roky)	0,81*	0,73*	-0,52	-0,68	0,68	-0,41
vzdálenost k původní lesostepi (km)	0,45	0,43	-0,37	-0,42	0,42	-0,29

Komentář k Spearmanovým korelacím:

S pravděpodobnosti vyšší než 99 % byla prokázána korelace mezi:

Lety nepřerušené vegetace a jedinci nočních motýlů (0,90**)

S pravděpodobnosti vyšší než 95 % byla prokázána korelace mezi:

Lety nepřerušené vegetace a jedinci nočních motýlů (0,90*), druhy motýlů (0,79*), Simpsonovým indexem ekvitability (-0,76*) a Shannonovým indexem diverzity (0,76*).

Délkou nepřerušovaného používání feromonů a Simpsonovým indexem ekvitability (-0,78*), Shannonovým indexem diverzity (0,78*).

Stářím vinice a početností jedinců (0,80*).

Mezi dobou od posledního použití insekticidů a množstvím jedinců (0,81*), počtem druhů (0,73*).

ZÁVĚR

Z výsledků je patrné, že na diverzitu nočních motýlů ve vinicích má vliv hned několik faktorů. Neprokázala se korelace mezi vzdáleností přírodního biotopu, druhově velice bohatého, a vinicí. Je patrné, že ekologizace vinic má příznivý vliv na vyšší diverzitu nočních motýlů. Je ovšem nutno podotknout, že ekologizace musí mít dodrženu několik technologických vlastností, které ji dělají druhově bohatou. Diverzitu nočních motýlů příznivě zvyšuje ozelenění vinic s nepřerušenou sukcesí vegetace v meziřadí a stáři vinice. Dále byl prokázán vliv používání insekticidů na diverzitu nočních motýlů.

LITERATURA

Beneš J. & Konvička M., (eds.), 2002: *Motýli České republiky: Rozšíření a ochrana I, II.* Společnost pro ochranu motýlů**,** Praha, 857 s.

Fajčík J., (1998): *Motýle strednej Európy, II. zväzok. Určovanie, rozšírenie stanoviště, bionómia.* (*Die Schmetterlinge Mittreleuropas. II. Band. Bestimmung, Verbreitung, Flugstandort, Bionomie*) *Noctuidae*. J. Fajčík, Bratislava, 232 s.

Fajčík J., (2003): *Motýle strednej a severnej Európy, I. zväzok. určovanie, rozšírenie stanoviště, bionómia*. (*Die Schmetterlinge Mittel- und Nordeeuropas, Bestimmung, Verbreitung, Flugstandort, Bionomie.) I. Band. Drepanidae, Geometridae, Lasiocampidae, Endromidae, Lemoniidae, Saturniidae, Sphingidae, Notodontidae, Lymantriidae, Arctiidae*. J. Fajčík, Bratislava, 272 s.

Fry R. & Waring P., (2001). *A guide to moth traps and their use*, volume 24. The Amateur Entomologist, volume 24, The Amateur Entomologists' Society, Kent, 68 s.

Konvička M., Beneš J. & Čížek L., (2005): *Ohrožený hmyz nelesních stanovišť: ochrana a management*. Sagittaria, Olomouc, 127 s.

Laštůvka Z. & Krejčová P., (2000): *Ekologie*. Konvoj, Brno, 185 s.

Laštůvka Z. & Liška J., (2007): *Seznam motýlů České republiky (Insecta: Lepidoptera)*. www.lepidoptera.wz.cz [navštíveno 10. 7. 2011]

Macek J., Dvořák J., Traxler L., Červenka V., 2007: *Motýli a housenky střední Evropy*. Noční motýli I., Academia, 376 s.

Odum E. P., (1977): *Základy ekologie*. Academia, Praha, 733 s.

INFLUENCE OF FOREST CLEARINGS ON THE DIVERSITY OF MOTHS

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 deals with the influence of forest management on biodiversity of moths. It was observed spectrum of moths in the coppiced forest and standarts forest. Using light traps (with 8 W UV lamp) were monitored the diversity of moths of forest floor herbs and trees. The results showed that coppiced forest differs significantly from the diversity of their standarts forest environment. diversity of tree crowns (coppiced forest), according to Euclidean graph similar to diversity of the forest crowns standard.

Key words: Lepidoptera, moth, biodiversity

Acknowledgement: This project was financed from VaV-MZP-CR-SP/2D4/59/07, IGA MENDELU No. IP 3/2011, TP 7/2011

ÚVOD

Zejména v poslední době jsme svědky vymírání ohrožených a vzácných druhů. Bohužel to nejsou zdaleka jen druhy, které se u nás vyskytují na geografické hranici areálu svého rozšíření, ani druhy azonálních společenstev či druhy izolované extrémními vlastnostmi prostředí (tyrfobionti, druhy subalpínských stanovišť či např. vátých písků). Daleko zarážející skutečnost je, že přicházíme o druhy, které byly vázány na tradiční způsoby obhospodařování krajiny. Jeden z takovýchto způsobu hospodaření, který v krajině, zejména jižní Moravy vymizel, byl tzv. pařezinové hospodaření resp. hospodaření ve středních lesích, které jsou svým zápojem daleko světlejší než v hospodářské listnaté lesy, jaké známe dnes (Beneš et al. 2002, Konvička et al. 2005). Tato práce se proto zabývá vlivem hospodaření v lesích na biodiverzitu nočních motýlů v závislosti i na výškovou strukturu lesa.

MATERIÁL A METODIKA

Noční motýli byli chytáni pomocí malých přenosných světelných lapačů s 8W tmavou (UV) zářivkou, která byla napájena 12V akumulátorem (Fry & Waring 2001).. Lapače jsou složeny z kbelíku s trychtýřem pod svítilnou a smrtičky obsahující chloroform k usmrcení hmyzu. Zářivka má kolem svého obvodu tři průhledná křídla z plexiskla, která slouží k zastavení hmyzu a následného pádu do kbelíku. Studium bylo prováděno v okolí Soběšic a Hádů u Brna. Hmyz byl tedy odchytáván na dvou lokalitách tak, že bylo svíceno v koruně (zkráceně K.) stromů a bylinném patře (Bylin. /Byl.) v čerstvě založeném středním lese (Světlina, Sv.) a v lese, který měl vysoký zápoj korun a zakměnění, které je typické pro hospodářské lesy (Les, L.). V průběhu vegetačního období v roce 2010 a 2011 bylo provedeno 18 nočních odchytů zhruba ve 2-3 týdenních intervalech (v termínech 21. 5., 10. 6., 24. 6., 13. 7., 26. 7., 30. 8. v roce 2010 a v termínech 21. 5., 31. 5., 10. 6., 22. 6., 24. 6., 11. 7., 13. 7., 19. 7., 26. 7., 16. 8., 30. 8., 19. 9.). Odchycený materiál byl posléze třízen a determinován (Fajčík 1998, 2002). Dále byly vypočítány základní ukazatele diverzity a odchytaný materiál byl posléze statisticky hodnocen.

VÝSLEDKY A DISKUZE

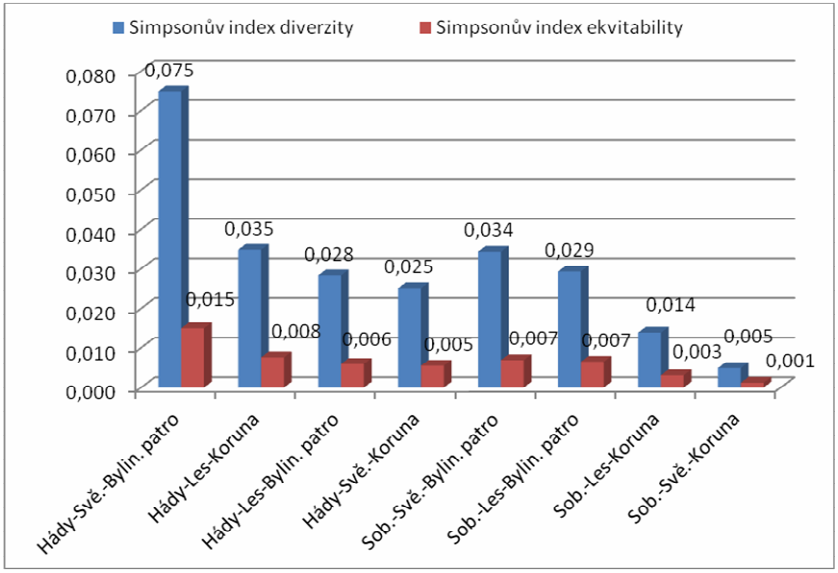
Bylo sledováno 11 čeledí velkých nočních motýlů (tzv. Macrolepidopter) Arctiidae, Drepaniidae, Geometridae, Hepialidae, Lasiocampidae, Limacodidae, Lymanitridae, Nolidae, Noctuidae, Notodontidae a Sphingidae. Dohromady bylo odchyceno 5070 jedinců (viz Tab. č. 1), kteří příslušeli k 239 druhům. Na lokalitě Hády bylo nejvíce druhů v bylinném patře světliny 148 druhů, dále v bylinném patře lesa 116 druhů, koruně světliny 97 druhů a nejméně v koruně lesa 95 druhů. Na lokalitě Soběšice bylo nejvíce druhů v bylinném patře světliny 141, dále v bylinném patře lesa 90 druhů, koruně lesa 87 druhů a koruně světliny 53 druhů. Z výsledků vyplývá, že dle Simpsonova indexu diverzity (viz Graf. č. 1, dle Laštůvka & Krejčová 2000, Odum 1977) je dominance daleko méně rozložena v světlých lesích, tudíž jsou zde několik málo druhů nočních motýlů s vysokou

dominancí, tak jako tomu je u narušených společenstev živočichů. Dle Shannonova-Wienerova indexu je zřejmé, že ve tzv. středním lese (Světlina) je na obou lokalitách tento index vyšší. Můžeme tak usuzovat, že je zde vyšší množství druhů s relativně nižší početností, tak jako tomu je u zachovalých společenstev. Nejzajímavější zjištění bylo při statistické analýze souboru pomocí programu Statistica 9. Shluková analýza (tzv. Euklidův graf, viz Graf č. 3) dokládá, že nejvíce odlišné jsou spektrem nočních motýlů lesní světliny v bylinném patru, které jak je výše uvedeno mají vyrovnanější dominanci s větším počtem druhů s relativně nižší početností. Velice zajímavý fakt je ten, že na lokalitě Soběšice i Hády bylo korunové patro světliny velice podobné korunovému patru lesa respektive lesnímu prostředí. Z výsledků tudíž vyplývá, že prosvětlený les zvyšuje významným způsobem diverzitu v bylinném patru.

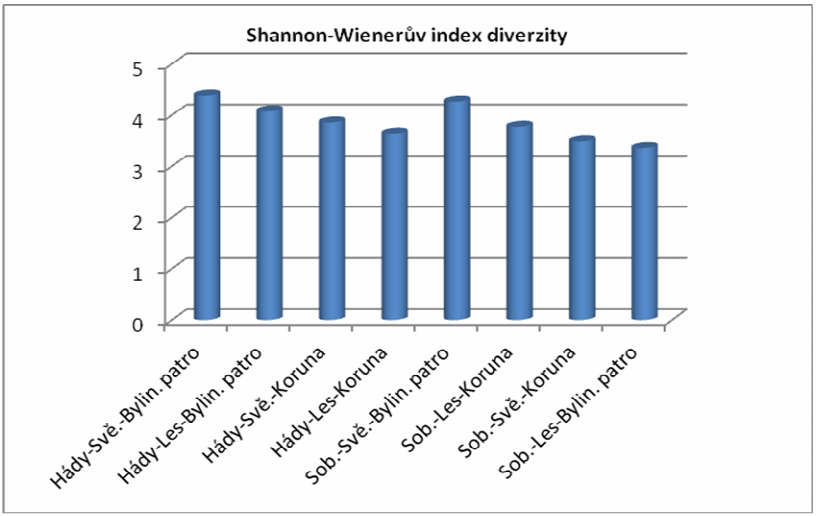
Tab. č. 1: Početnost jedinců a druhů na sledovaných lokalitách

	Hády Světlina Bylinné patro	Soběšice Světlina Bylinné patro	Hády Les Bylinné patro	Hády Světlina Koruna	Hády Les Koruna	Soběšice Les Bylinné patro	Soběšice Les Koruna	Soběšice Světlina Koruna
druhy	148	141	116	97	95	90	87	53
jedinci	1361	896	721	550	611	344	354	239

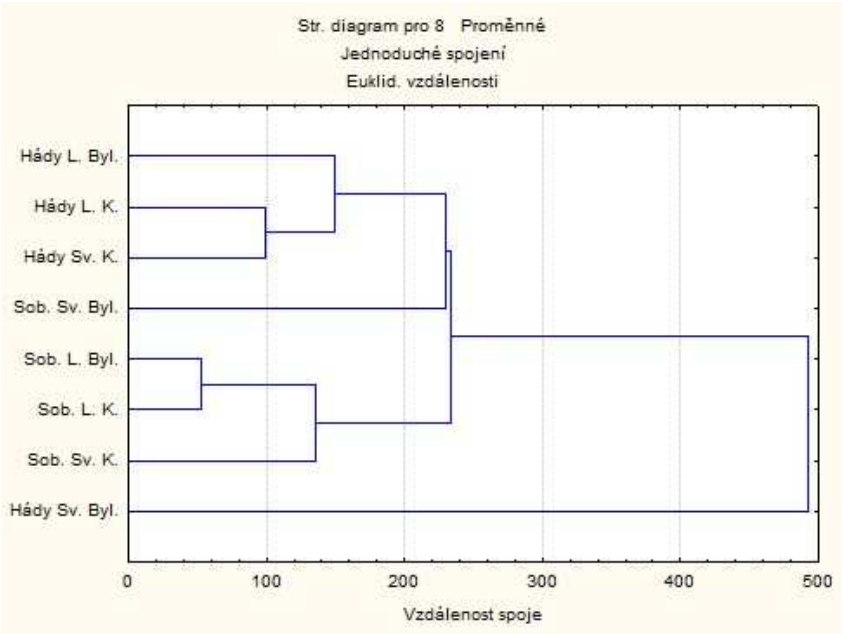
Graf. č. 1 Simpsonův index diverzity a ekvitability



Graf č. 2: Shannon-Wienerův index diverzity a ekviability



Graf. č. 3: Euklidův diagram (Statistikac9)



ZÁVĚR

Z výsledků vyplývá, že nejvíce druhů i jedinců nočních motýlů se vyskytuje na obou sledovaných lokalitách (Soběšice i Hády u Brna) v bylinném patře prosvětlených listnatých lesů. Z výsledků dále vyplývá dle Simpsonova indexu diverzity, že je dominance daleko méně rozložena v světlých lesích. Dle Shannonova-Wienerova indexu je ve světlém lese je daleko vyšší množství druhů s relativně nižší početností. Nejzajímavější zjištění je ze shlukové analýzy z tzv. Euklidova grafu, který dokládá, že světliny se výrazně liší v bohatosti druhů a jedinců v bylinném patře a zcela se vymykají ostatním sledovaným místům na lokalitách. Korunové pásmo světlého lesa je více podobno lesnímu prostřední než bylinné pásmo světlin. Z výsledku lze usuzovat, že bylinné pásmo světlého lesa se významným způsobem podílí na vyšší biodiverzitě nočních motýlů.

LITERATURA

Beneš J. & Konvička M., (eds.), 2002: *Motýli České republiky: Rozšíření a ochrana I, II*. Společnost pro ochranu motýlů**,** Praha, 857 s.

Fajčík J., (1998): *Motýle strednej Európy, II. zväzok. Určovanie, rozšírenie stanoviště, bionómia.* (*Die Schmetterlinge Mittreleuropas. II. Band. Bestimmung, Verbreitung, Flugstandort, Bionomie*) *Noctuidae*. J. Fajčík, Bratislava, 232 s.

Fajčík J., (2003): *Motýle strednej a severnej Európy, I. zväzok. určovanie, rozšírenie stanoviště, bionómia*. (*Die Schmetterlinge Mittel- und Nordeeuropas, Bestimmung, Verbreitung, Flugstandort, Bionomie.) I. Band. Drepanidae, Geometridae, Lasiocampidae, Endromidae, Lemoniidae, Saturniidae, Sphingidae, Notodontidae, Lymantriidae, Arctiidae*. J. Fajčík, Bratislava, 272 s.

Fry R. & Waring P., (2001). *A guide to moth traps and their use*, volume 24. The Amateur Entomologist, volume 24, The Amateur Entomologists' Society, Kent, 68 s.

Konvička M., Beneš J. & Čížek L., (2005): *Ohrožený hmyz nelesních stanovišť: ochrana a management*. Sagittaria, Olomouc, 127 s.

Laštůvka Z. & Krejčová P., (2000): *Ekologie*. Konvoj, Brno, 185 s.

Laštůvka Z. & Liška J., (2007): *Seznam motýlů České republiky (Insecta: Lepidoptera)*. www.lepidoptera.wz.cz [navštíveno 10. 7. 2011]

Macek J., Dvořák J., Traxler L., Červenka V., 2007: *Motýli a housenky střední Evropy*. Noční motýli I., Academia, 376 s.

Odum E. P., (1977): *Základy ekologie*. Academia, Praha, 733 s.

VARIOUS ELECTROCHEMICAL TECHNIQUES FOR PRION PROTEIN DETERMINATION

Šobrová P., 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: pavlina.sobrova@seznam.cz, kizek@sci.muni.cz

ABSTRACT

Prion diseases are fatal neurodegenerative and infectious disorders of humans and animals, characterized by structural transition of the host-encoded cellular prion protein (PrPC) into the aberrantly folded pathologic isoform PrPSc. Prion protein is a biomolecule naturally occurring in the animal cells. This protein is present in all mammal cells and occurs primarily in neural cells and immune system cells. The main aim of this study was to optimize electrochemical methods for the detection of natural (PrPC) and changed (PrPSC) prion protein. To carry out the main objective a complex study of the electrochemical behaviour of both proteins was required. For this purpose fundamental electrochemical techniques were used. Both of the prions were characterized using different techniques, their limits of detection were found at pM levels and possible ability to change the structure of α-helix of natural prion (PrPC) to β-sheet of the infectious prion (PrPSc) were monitored.

Key words: prion protein; electrochemistry, adsorptive stripping technique, diferential pulse voltametry, cyclic voltametry, chronopotentiometric stripping voltametry

Acknowledgement: The financial support from the following project NanoBioTECell GA ČR P102/11/1068, NANOSEMED GA AV KAN208130801 is highly acknowledged. The author (PS) is „Holder of Brno PhD Talent Financial Aid“.

ÚVOD

Prionový protein je přirozený protein ze zvířecích buněk. Tento protein je přítomen ve všech savčích buňkách a je exprimován zvláště v nervových buňkách a buňkách imunitního systému. Jeho fyziologická funkce je nejasná, zřejmě se podílí na synaptickém přenosu a diferenciaci buněk. Tento protein se může stát infekční. Přirozená a infekční forma proteinu se od sebe liší pouze prostorovým uspořádáním (Legname a kol., 2004). Konformační změna z alfa struktury u proteinu přirozeného (PrPc) na strukturu beta skládaného listu u proteinu pozměněného (PrPSc) významně ovlivňuje činnost proteinu. Tato mutovaná forma je vysoce odolná vůči degradačním procesům uvnitř buňky, může se vázat na další PrPc proteiny a vyvolávat i u nich konformační změnu na PrPSc. Nedostatek fyziologického PrPc a toxické působení špatně odbouratelného PrPSc se pak spolupodílejí na vzniku prionových onemocnění (transitivní spongiformní encefalopatie, TSE) s klinickým obrazem progresivní neurodegenerativní choroby (Ji a Zhang, 2010). Je známo 9 hlavních onemocnění způsobených priony, z toho 4 nalézáme u člověka a 5 u zvířat. Nejčastějším lidským prionovým onemocněním (85 %) je Creutzfeldt-Jakobova nemoc (CJN). Z nemocí zvířat je nejznámější Bovinní spongiformní encefalopatie (BSE) tzv. nemoc šílených krav. Po požření potravin kontaminovaných priony nemocné krávy se u člověka může vyvinout nová varianta lidské Creutzfeldt-Jakobovy nemoci (Ironside) (Coste, 2011). Existují i hypotézy, že priony mohou mít vztah k dalším neurodegenerativním onemocněním, jako je Alzheimerova nebo Huntingtonova choroba (Yokoyama a Mohri, 2008).

S vypuknutím epidemie a případu odhalení BSE téměř všude v Evropě vyvstává otázka, jak zdokonalit screeningové metody a možnosti detekce prionů. Nezbytnost koordinace vědeckých projektů podpořila už v roce 1996 Evropská komise, která stanovila akční plán zaměřený na podporu výzkumu prionů, ale i všech souvisejících oblastí, organizovaných na evropské úrovni. I přesto, že se v současné době výskyt prionových onemocnění u zvířat díky dostatečné kontrole a dodržování zásad správné hygienické praxe klesl, a tudíž nepředstavuje velké riziko přenosu na člověka, je toto téma stále aktuální. O stálé aktuálnosti tohoto tématu svědčí i fakt, že je od roku 2007 vydáván ISI indexovaný časopis zabývající se pouze problematikou prionů se stejnojmenným názvem „Prion.“Obtížnost sledování a detekce vyplývá v první řadě z dlouhé inkubační doby, tedy období, kdy nejsou patrné žádné příznaky. Nemoc je známá poměrně krátkou dobu a odborníci tedy ještě nejsou schopni minimální inkubační dobu stanovit. Proto nelze říct, že zvíře, které nevykazuje žádné příznaky, je skutečně zdravé. Dalším problémem je metoda detekce. Jedním ze směrů současného výzkumu je další zvyšování citlivosti těchto testů natolik, abychom byli schopni stanovovat i nepatrná množství prionu. Další cestou je nalézt způsob, jak vyhledat a identifikovat molekuly, které se zřejmě objeví v krvi ve chvíli, kdy dojde k infekci. Nejedná se tedy jenom

o detekci samotných prionů, ale i fyziologických známek jejich přítomnosti v organizmu (Foster, 2000).

MATERIÁL A METODIKA

Chemikálie

Prionový protein a další použité chemikálie byly zakoupeny od Sigma Aldrich (St. Louis, USA). K přípravě pufrů a standardních roztoků prionů 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).

Elektrochemické měření

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.

Adsorptivní přenosová technika (AdTS)

Adsorptivní přenosová technika je metoda, při níž je stanovovaná látka na pracovní visící rtuťovou kapkovou elektrodu danou dobu akumulována z kapky vzorku, poté je přebytek vzorku omyt a zahájeno měření pomocí vybrané elektrochemické techniky v klasickém tříelektrodovém zapojení (Adam a kol., 2005), viz Obr. 1A. Díky této technice je umožněna elektrochemická analýza z velmi malého objemu vzorku (3 až 10 µl).

Cyklická voltametrie (CV)

Prionový protein byl studován pomocí cyklické voltametrie. množství adsorbovaného vzorku byla 5 µl. Doba akumulace 100 s. Základní elektrolyt použitý pro měření byl fosfátový pufr o pH 7.38 o obsahu 5 ml v elektrochemické měřící nádobce. Parametry CV jsou následující: počáteční potenciál 0 V, konečný potenciál -1.9 V, krok potenciálu 2.44 mV, rychlost skenu 20 mV/s. Veškeré experimenty byly prováděny při laboratorní teplotě (22-24 °C).

Diferenční pulzní voltametrie (DPV)

Množství prionových proteinů jsme zjišťovali pomocí DPV. Základní elektrolyt byl: 0.5 M fosfátový pufr o pH škále od 5.59 do 8.04, borátový pufr v pH rozpětí od 7.09 do 9.11 a acetátový pufr o pH škále od 3.8 do 5.6. AdTS DPV parametry jsou následující: počáteční potenciál –0.2 V, konečný potenciál–0.8 V, modulovací čas 0.057 s, časový interval 0.2 s, krok potenciálu 1.05 mV/s, modulační amplituda 250 mV, Eads = 0 V. Veškeré experimenty byly prováděny při laboratorní teplotě (22–24 °C). Standardy prionů byly před vlastním měřením probublávány argonem (99.999%) po dobu 120 s.

Diferenční pulzní voltametrie ve spojení s Brdičkovou reakcí

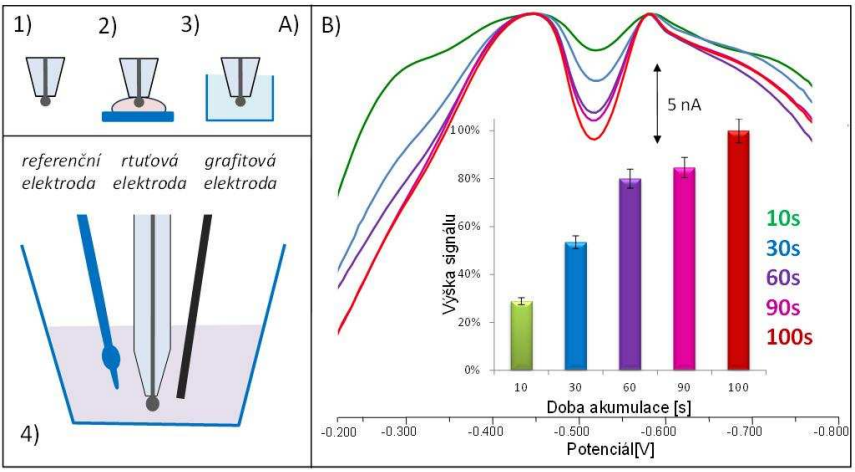
Základní elektrolyt (1 mmol.dm-3 Co(NH3)6Cl3 a 1 mol.dm-3 amonný pufr; NH3(aq) + NH4Cl (Sigma Aldrich, ACS), pH = 9.6) byl po každých 3 analýzách vyměněn. AdTS DPV parametry byly následující: čas akumulace 120 s, počáteční potenciál –0.6 V, konečný potenciál –1.6 V, modulační čas 0,057 s, časový interval 0.2 s, potenciálový krok 1.05 mV/s, modulační amplituda 250 mV, Eads = 0 V, teplota 20 °C.

Chronopotenciometrická rozpouštěcí analýza - H pík

Adsorptivní přenosová technika ve spojení s chronopotenciometrickou rozpouštěcí analýzou (CPSA) byla použita pro stanovení prionových proteinů pomocí detekce derivace potenciálu za jednotku času. (dE/dt)-1 jako funkce potenciálu E (Kizek a kol., 2001). CPSA parametry byly: Istr –1 µA, teplota 20 °C, základní elektrolyt 0.1 M H3BO3 + 0.05 M Na2B4O7 (pH 8.0).

VÝSLEDKY A DISKUZE

V naší práci jsme nejprve věnovali pozornost charakterizaci prionových proteinů PrPC and PrPSC (prion protein fragment 118 – 135; FW =1232.3 a β – sheet breaker peptide, FW = 1597.9) pomocí elektrochemických technik. Zaměřili jsme se na hledání optimálních podmínek jejich stanovení, jako je způsob dávkování jednotlivých vzorků, pH a druh elektrolytu, doba akumulace a teplota základního elektrolytu u jednotlivých testovaných elektrochemických metod. Zjistili jsme, že z hlediska dávkování vzorku je nejlepší způsob použití adsorptivní přenosové techniky (AdTS), která umožňuje analýzu velmi nízkých koncentrací z velmi malého množství vzorku (5 µl) ve srovnání s dávkováním vzorku přímo do elektrolytu v elektrochemické nádobce. AdTS nám umožní adsorbovat velmi malé množství vzorku přímo na rtuťovou kapku (Obr. 1A) a tak nedochází k naředění vzorku jako při nadávkování do elektrolytu. Dále jsme zkoumali vliv pH v závislosti na elektrochemické odezvě a zjistili jsme, že ze škály pH od 5.59 do 9.11 nám dává největší elektrochemickou odezvu právě pH 7.38 a to jednak při použití fosfátového, tak i brorátového pufru. Při porovnání doby akumulace vzorku na rtuťovou elektrodu byla nejvyšší odezva pozorována při době akumulace 100 s (Obr. 1B). Při delší době akumulace již nedocházelo k dalšímu nárůstu elektrochemické odpovědi. Námi zoptimalizované parametry jsme nadále aplikovali na metody cyklické voltametrie a diferenční pulsní voltametrie. Další metodou byla Brdičkova reakce ve spojení s diferenční pulzní voltametrií. Tato metoda byla s úspěchem použita pro detekci proteinů jako metalothionein (Petrlova a kol., 2006), kde za použití adsorptivní přenosové techniky je možno dosáhnout až atomolární koncentrace. V naší práci jsme aplikovali stejné podmínky a dosáhli jsme detekčního limitu 50 pmol v 5 µl. Pro stanovení proteinů pomocí metody CPSA byly využity podmínky autorů Kizek a kol. (Kizek a kol., 2001), kde se pomocí této metody podařilo detekovat až femtomolární množství proteinů. Za použití stejných podmínek se nám podařilo dosáhnout detekčního limitu 100 fmol v 5 µl.



Obr. 1. A. Schéma použití adsorptivní přenosové techniky použité pro studium prionů. (1) obnovitelná rtuťová elektroda, (2) vazba prionu na elektrodu, (3) omytí ostatních nízkomolekulárních látek. B. Závislost výšky signálu na době akumulace. Výška signálu se zvyšuje se zvyšující se dobou akumulace. Nejvyšší signál byl pozorován při době akumulace 100 s.

ZÁVĚR

V této práci se nám podařilo definovat prionový protein pomocí elektrochemických technik, jako je cyklická voltametrie, diferenční pulzní voltametrie, Brdičkova reakce ve spojení s diferenční pulzní voltametrií a chronopotenciometrická rozpouštěcí analýza. Díky použití adsorptivní přenosové techniky se nám podařilo dosáhnout velmi nízkých limitů detekce z minimálního množství vzorku, což může hrát klíčovou roli pro detekci prionů z biologických materiálů.

LITERATURA

Adam V., Petrlova J., Potesil D., Zehnalek J., Sures B., et al. (2005): Study of metallothionein modified electrode surface behaviour in the presence of heavy metal ions - biosensor. Electroanalysis 17(18):1649-1657.

Coste J. (2011): Biological diagnosis of the the prion agent in the variant of Creutzfeldt-Jakob disease: development of a screening test on blood. Virologie 15(2):133-135.

Foster P.R. (2000): Prions and blood products. Annals of Medicine 32(7):501-513.

Ironside J.W. (2010): Variant Creutzfeldt-Jakob disease. Haemophilia 16(175-180.

Ji H.F., Zhang H.Y. (2010): beta-sheet constitution of prion proteins. Trends in Biochemical Sciences 35(3):129-134.

Kizek R., Trnkova L., Palecek E. (2001): Determination of metallothionein at the femtomole level by constant current stripping chronopotentiometry. Analytical Chemistry 73(20):4801-4807.

Legname G., Baskakov I.V., Nguyen H.O.B., Riesner D., Cohen F.E., et al. (2004): Synthetic mammalian prions. Science 305(5684):673-676.

Petrlova J., Potesil D., Mikelova R., Blastik O., Adam V., et al. (2006): Attomole voltammetric determination of metallothionein. Electrochimica Acta 51(24):5112-5119.

Yokoyama T., Mohri S. (2008): Prion diseases and emerging prion diseases. Current Medicinal Chemistry 15(9):912-916.

THE SEMEN QUALITY EVALUATION FOR CONSERVATION IN HUNTING DOGS

Vágenknechtová M., Hošek M., Máchal L., Horský R.

Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: arnica.ferda@senam.cz

ABSTRACT

Hunting dogs works with man for thousands years. Game law proceses without well trained dogs are not possible. To take well hunting dog is long term proces, for it is need long term progeny, breeding and kennel rights, training and ability for succesfull reproduction.

The aim of this work was evaluation semen quality of ten hunting dogs of six different breeds dividend in FCI groups. We evaluate time of semen collection, semen quality and sperm morphology. Highest semen volume, motility and sperm concentration was found in group FCI 3 – Terriers, neverthles worst semen parameters had dogs from group FCI 7 – Setters. Best results in evaluation of pathomorphological changes on sperms was observed in FCI group 4 – Dachshund.

Key words: dog semen collection, ejaculate quality, sperm morphology, FCI groups

Acknowledgement: work was supported thanks IGA IP 15/2011.

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. Nezjistil 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 klesnou pod 70 % a pečet 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 získány od 10 psů 6 plemen (jezevčík standard drsnosrstý, jagterier, border terier, foxterier, německý krátkosrstý ohař, irský setr). Plemeno jezevčík bylo v pokusu zastoupeno 3x, německý krátkosrstý ohař a irský setr 2x, jagdterier, border terier a foxteriér po jenom jedinci. Hodnocení psů bylo provedeno podle příslušnosti k dané FCI skupině (FCI III. – teriéři, FCI IV. – jezevčíci, FCI VII – ohaři).

Ejakuláty byly získány v průběhu 3. měsíců s 30 denním intervalem metodou manuální stimulace za přítomnosti hárající feny a to vždy v terénu, tedy místě bydliště kde daný pes žil. Psům byl odebrán celý ejakulát (všechny tři frakce), který byl dále hodnocen. Provedlo se měření délky přípravy psa k odběru i následná délka odběru ejakulátu.

Bezprostředně po odběru bylo provedeno makroskopické a mikroskopické vyšetření ejakulátu, které zahrnovalo zjištění objemu ejakulátu, barvy, aktivity a koncentrace spermií. Objem byl zjištěn pomocí kalibrační nádoby, aktivita spermií subjektivní metodou podle procenta pohyblivých spermií v nativním preparátu a koncentrace spermií hemocytometrickou metodou v Bürkerově komůrce.

Následovalo morfologické vyšetření, které bylo provedeno z nátěrů ejakulátu barvených metodou dle Farellyho (VĚŽNÍK et. al. 2004). Při tomto vyšetření bylo hodnoceno procento patologických spermií, dále byl zjištěn počet nezralých spermií a procento morfologicky normálních spermií.

Hodnocení bylo provedeno statisticky, prostřednictvím metody analýzy variance. Hodnocen byl vliv příslušnosti k FCI skupině (teriéři, jezevčíci, ohaři). Sledované znaky byly vyjádřeny váženým průměrem a směrodatnou odchylkou.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Vyhodnocení nástupu a průběhu pohlavních reflexů u psů dle FCI skupiny

Tab 1. Nástup a průběh pohlavních reflexů u psů dle FCI skupiny.

Faktor		n	Délka přípravy k odběru (s)			Délka odběru (s)		
			$\overline{X}$	±	s_x	$\overline{X}$	±	s_x
celkem		30	157,0	±	316,3	282,0	±	192,2
Skupina FCI	FCI 3	9	$63,3^{A}$	±	22,5	$120,0^{AB}$	±	57,6
	FCI 4	9	$370,0^{AB}$	±	523,2	$313,3^{A}$	±	254,2
	FCI 7	12	$67,5^{B}$	±	25,2	$380,0^{B}$	±	112,0

A,B - mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly (P≤ 0,01)

skupina FCI 4 jezevčíci

skupina FCI 3 teriéři

skupina FCI 7 ohaři

Jak ukazuje tabulka 1, délka přípravy k odběru byla nejdelší u psů ze skupiny FCI 4, a to 370s. U psů z FCI 3 a 7 byla tato doba výrazně kratší a to 63,3s u FCI 3 a 67,5s u psů ze skupiny FCI 7. Vysoce průkazný rozdíl byl zjištěn mezi skupinou FCI 4 a FCI 3 dále pak mezi skupinou FCI 4 a FCI 7. Mezi skupinou FCI 3 a FCI 7 nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl. Jak uvádí VÁGENKNECHTOVÁ (2010), průměrná délka přípravy k odběru ejakulátu trvá 3,7 minuty,

přičemž rozmezí se pohybuje mezi 0,5 – 23,7 minutami. Námi zjištěné výsledky se rovněž pohybují v tomto rozmezí.

Jak je vidět z tabulky 1, délka odběru byla nejdelší u psů ze skupiny FCI 7, a to 380s. Podobnou délku odběru měli také psi ze skupiny FCI 4, kde jsme zjistili hodnotu 313,3s. Nejkratší délka odběru byla naměřena u psů ze skupiny FCI 3, a to 120s. Vysoce průkazný rozdíl byl zjištěn mezi skupinou FCI 3 a FCI 4, dále pak mezi skupinou FCI 3 a FCI 7. Mezi skupinou FCI 4 a FCI 7 nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl. VÁGENKNECHTOVÁ (2010) uvádí, že průměrná délka odběru ejakulátu trvá 6,4 minuty. Námi zjištěné výsledky se pohybují v rozmezí 2 – 6.3 minuty, s průměrnou hodnotou 4,7 minuty, jsou tedy nepatrně nižší. Je to zřejmě způsobeno tím, že odběr byl proveden v domácím, tedy známém prostředí psů.

Vyhodnocení objemu, aktivity a koncentrace spermií dle FCI skupiny

Tab 2. Objem, aktivita a koncentrace spermií dle FCI skupiny.

Faktor		n	Objem (ml)			Aktivita (%)			Koncentrace v tisících		
			$\overline{X}$	±	s_x	$\overline{X}$	±	s_x	$\overline{X}$	±	s_x
celkem		30	6,0	±	2,3	68,3	±	20,1	168,1	±	97,3
Skupina FCI	FCI 3	9	$7,0^{A}$	±	0,6	$76,7^{A}$	±	11,8	186,7	±	19,2
	FCI 4	9	$6,4^{a}$	±	3,0	$74,4^{B}$	±	8,5	177,4	±	75,1
	FCI 7	12	$4,9^{Aa}$	±	2,1	$57,5^{AB}$	±	25,8	147,1	±	137,3

A,B - mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly (P≤ 0,01)

a,b - mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky průkazné rozdíly (P≤ 0,05)

skupina FCI 4 jezevčíci

skupina FCI 3 teriéři

skupina FCI 7 ohaři

Tabulka 2 uvádí, že objem ejakulátu byl nejvyšší u psů ze skupiny FCI 3, kde byl naměřen objem 7 ml. Vyšší hodnota objemu ejakulátu byla zjištěna také u psů ze skupiny FCI 4 a to 6,4 ml. Nejnižší objem ejakulátu 4,9 ml byl naměřen u psů ze skupiny FCI 7. Vysoce průkazný rozdíl byl zjištěn mezi skupinou FCI 3 a FCI 7, dále byl zjištěn průkazný rozdíl mezi skupinou FCI 4 a FCI 7.

Mezi skupinou FCI 3 a FCI 4 nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl. GAMČÍK, et al. (1984) uvádí jako průměrný objem ejakulátu 7,0 ml, JELÍNEK et al. (2003) 6,0 ml a VĚŽNÍK et al. (2004)) hodnotu 2,0 ml. V našich výsledcích byla zjištěna průměrná hodnota objemu ejakulátu 6,0 ml v rozmezí od 4,9 do 7,0ml. Naše výsledky se shodují s údajem udávaným JELÍNKEM et al. (2003).

Z tabulky 2 je patrné, že u psů ze skupiny FCI 3 a FCI 4 byla vyšší aktivita spermií a to 76,7 % u FCI 3 a 74,4 % u FCI 4. Nejnižší aktivita spermií se zjistila u psů ze skupiny FCI 7 a to 57,5 %. Vysoce průkazný rozdíl byl zjištěn mezi skupinou FCI 3 a FCI 7 dále pak mezi skupinou FCI 4 a FCI 7. Mezi skupinou FCI 3 a FCI 4 nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl. SVOBODA, SENIOR et al. (2001) a VĚŽNÍK et al. (2004) uvádí jako minimální aktivitu pro normální sperma psa hodnotu 70,0 %. V našem sledování tuto hodnotu dosáhla skupina FCI 3 (teriéři) a FCI 4 (jezevčíci). Skupina FCI 7 (ohaři) dosáhla pouze 57,5% aktivity, což je velmi nízké číslo a je potřeba se dále zaměřit právě na tuto skupinu psů.

Jak ukazuje graf 4, tabulka 2, nejvyšší koncentrace spermií byla zjištěna u psů ze skupiny FCI 3 a to 186,7 x 10^3 x mm^{-3}. U psů ze skupiny FCI 4 se hodnota koncentrace výrazně nelišila od skupiny FCI 3 a dosahovala hodnoty 177,4 x 10^3 x mm^{-3}. Nejnižší koncentrace spermií v ejakulátu, 147,1 x 10^3 x mm^{-3} byla naměřena u psů ze skupiny FCI 7. Při hodnocení koncentrace spermií nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl. Průměrná koncentrace spermií u všech skupin FCI byla 168,1 x 10^3 mm^3. JELÍNEK et al. (2003) uvádí průměrnou hodnotu pro celou populaci psů 120,1 x 10^3 mm^3. VĚŽNÍK et. al. (2004) uvádí průměrnou koncentraci spermií 200,1 x 10^3 mm^3. Námi zjištěné koncentrace se u všech sledovaných skupin FCI nachází v rozmezí hodnot obou autorů. Nejnižší koncentraci spermií měla skupina FCI 7.

Vyhodnocení morfologicky normálních, nezralých a patologicky změněných spermií dle skupiny FCI.

Tab. 3 Morfologicky normální, nezralé a patologicky změněné spermie dle skupiny FCI.

Faktor		n	Morfologicky normální			Morfologicky nezralé			Patologicky změněné		
			$\overline{X}$	±	s_x	$\overline{X}$	±	s_x	$\overline{X}$	±	s_x
celkem		30	58,6	±	15,9	7,9	±	8,5	41,3	±	15,9
Skupina FCI	FCI 3	9	58,4	±	9,3	10,0	±	13,2	41,6	±	9,3
	FCI 4	9	64,4	±	5,9	8,0	±	6,4	35,5[a]	±	5,9
	FCI 7	12	54,4	±	22,5	6,4	±	4,3	45,6[a]	±	22,5

a,b - mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky průkazné rozdíly (P≤ 0,05)

skupina FCI 4 jezevčíci

skupina FCI 3 teriéři

skupina FCI 7 ohaři

Dle hodnot uvedených v tabulce 3 byla zjištěna nejvyšší hodnota 64,4 % morfologicky normálních spermií u psů ze skupiny FCI 4, následovala skupina FCI 3 s hodnotou 58,4 %. Nejnižší počet morfologicky normálních spermií byl zjištěn u psů ze skupiny FCI 7 54,4%. Při hodnocení morfologicky normálních spermií nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl. VĚŽNÍK et. al. (2004) uvádí jako standardní hodnotu pro psí ejakulát 70 % morfologicky normálních spermií. VÁGENKNECHTOVÁ (2011) zjistila že normální morfologii vykazuje průměrně 64,3 % spermií. My jsme zjistili průměrný počet morfologicky normálních spermií 58,6 %. Hodnotu 64,3 % kterou uvádí VÁGENKNECHTOVÁ (2011) v našem případě dosáhla skupina FCI 4, tedy jezevčíci. Nejnižší procento morfologicky normálních spermií vykazuje skupina FCI 7 z důvodu velmi nízkého počtu morfologicky normálních spermií u jednoho z německých ohařů. Hodnoty které uvádí VĚŽNÍK et. al. (2004) nedosáhla žádná z námi sledovaných skupin FCI.

Procento patologických a nezralích spermií je uvedeno v tabulce 3.

ZÁVĚR

Cílem práce bylo získat a vyhodnotit ejakuláty od různých loveckých plemen psů. Ejakuláty byly získány od 10 psů 6 plemen (jezevčík, jagdterier, border terier, foxterier, německý krátkosrstý ohař, irský setr). Hodnocení psů bylo provedeno dle příslušnosti k dané FCI skupině. Hodnotili jsme průběh odběru ejakulátu a jeho kvalitu, následně bylo provedeno morfologické vyšetření spermií.

Psi ze skupiny FCI 3 (terieři) měli nejkradší dobu přípravy 63,3s i nejkratší dobu ejakulace 120s, ale největší objem 7,0 ml, nejvyšší aktivitu 76,7 % a nejvyšší koncentraci spermií 186,7 x 10^3 x mm^{-3}. Při morfologickém vyšetření měli druhý nejlepší výsledek a to 58,4 % morfologicky normálních spermií, ale měli nejvyšší procento nezralých spermií, a to 10 %.

Psi ze skupiny FCI 4 (jezevčíci) potřebovali nejvíce času při nástupu pohlavích reflexů 370 s a samotná ejakulace u nich trvala v průměru 313,3 s. Objem ejakulátu byl 6,4 ml, měli velmi dobrou aktivitu a to 74,4 % i koncentraci 177,4 x 10^3 x mm^{-3} . Při morfologickém vyšetření tato skupina měla nejlepší výsledek, kdy bylo zjištěno 64,4% morfologicky normálních spermií.

Psi ze skupiny FCI 7 (ohaři) měli nejdelší ejakulaci 380 s, nejnižší oběm 4,9 ml, aktivitu 57,7 % a koncentraci 147,1 x 10^3 x mm^{-3}. Na zhoršenou kvalitu ejakulátu u této skupiny ukazuje i vysoké procento patologických spermií v ejakulátu.

Závěrem lze říct, že mezi chovateli dochází k nedostatečnému sledování reprodukčních ukazatelů psů samců. Lze doporučit všem chovatelům aby před využitím psa v chovu proběhlo vyšetření ejakulátu a pes s nekvalitním ejakulátem nebyl využíván ke konzervování bez úpravy kvalitativních parametrů ejakulátu.

LITERATURA

England G. C. W., 1999: Semen quality in dogs and the influence of short-interval second ejaculation. *Theriogenology*, 52, 6, 981-986.

Gamčík P., Kozumplík J., et al., 1992: Andrológia a umelá inseminícia hospodářských zvierat, Príroda, 290s, ISBN 80-07-00540-4

Gunay U., Polat U., Gunes N., Soylu M., K., Kil F., 2003:The effects of short-interval ejaculation on semen quality and some biochemical parameters in dogs.,Revue de Medicine Vetrinaire, 154, 7, 459-462p.

Jelínek P., Koudela K., et al., 2003: Fyziologie hospodářských zvířat, MZLU v Brně, 351s, ISBN-80-7157-644-1

Schafer S., Holzmann A., Arbiter K. 1997: The influence of frequent semen collection on the semen quality of beagle-dogs. Deutsche tierarztliche wochenschrift, 104, 1, 26-29.

Svoboda M., Senior D., 2001: Nemoci psa a kočky II. díl, Brno, Noviko.

Vágenknechtová M., et al., 2010: Vliv vybraných faktorů na odběr semene a kvalitu ejakulátu psů. In Animal Physiology 2010: Proceedings of International Conference. brno: Mendelova univerzita, 2010.

Vágenknechtová M., Hošek M., Máchal L., 2011: Vliv věku na kvalitu spermatu u psů. In Animal Bredeeding, Brno Mendelova univerzita, 2011, ISBN 978-80-7375-446-4.

Věžník Z., Švecová D., et al., 2004: Repetitorium spermatologie a andrologie a metodiky spermatoanalýzy, Brno, ISBN 80-86895-01-7

Section – Techniques and Technology

WEAR AND DEGRADATION OF CUTTING KNIVES IN HARVESTING CUTTERS

Bednář R., Votava J., Červinka J.

Department of Agriculture, Food and Environmental Engineering, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xbedna@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The cutting system of mobile harvesting cutters represents the priority mechanism of the whole unit. It consists of a stationary as well as moving part, which act as counterparts while performing a cut. The final quality of chopped straw is by far and large dependent on the appropriate setting of the mechanism. Vitals aspects comprise the right choice of basice material as well as heat processing of the very cutting knife and its counterpart, respectively.

We have analysed three different blades which are in regular use with harvesting cutters type Claas and Toron 50. Trials have been divided according to various work areas into the laboratory area, followed by the operational area. During laboratory tests we carried out the measurement of microhardness for the the respective blades. Further on, we tested our samples in abrasion tests using abrasive cloth, in compliance with the norm ČSN 01 5084, followed by a chemical analysis of the individual samples. Then we concentrated on metalographic cuts, which were made in order to analyze the individual structural phases, subsequently we also measured the microhardenss of the phases.

During operational tests the blades were used in the process of harversting maize for subsequent silage. We observed the catherogies of weight loss and blade geometry changes.

The major result of this study is a comparative analysis focusing on the quality of the individual blades and recommendations in terms of future research areas.

Key words: harvesting cutter, blade, chopped straw, quality

ÚVOD

Sklízecí řezačky traktorové i samojízdné jsou klíčovým článkem sklizně pícnin. Z hlediska současných pracovních postupů má sklízecí řezačka prioritní postavení v této oblasti.

Pícniny zaujímaly v České republice na orné půdě v roce 2009 plochu 406 161 ha, z toho kukuřice na zeleno a siláž byla sklizena z 179 777 ha. Vojtěška byla sklizena ze 72 509 ha, zbytek plochy tvořily travní porosty. [1]

Samojízdné sklízecí řezačky jsou naprosto nenahraditelné při sklizni kukuřice. [2,3] Jelikož jsou na řezanku kladeny vysoké nároky (na přesnost její délky), musí obsluha řezačky dbát zvýšené pozornosti především na seřízení a naostření řezacího ústrojí. Broušení řezných čepelí je již v drtivé většině případů prováděno automaticky. [2]

Řezná čepel je brána jako spotřební materiál a tudíž má svoji omezenou životnost. Po opotřebování se celá sada čepelí na řezném bubnu vymění za nové. Tato operace je však velmi finančně i časově náročná. V běžném zemědělském provozu již ovšem není možné sledovat kvalitu materiálu a tepelného zpracování čepelí před samotnou instalací do řezacího ústrojí. Zda-li čepele splňují veškeré požadavky, které jsou na ně kladeny (houževnatost, schopnost odolávat abrazivnímu opotřebení, odolnost uchování konstantní geometrie břitu, atd.) se ukáže až teprve při samotném provozu. V případě, že čepele nejsou schopny odolávat vysokému zatížení během řezného procesu (dochází k jejich nadměrnému otupení), nastává nejen snížení kvality řezanky, ale rovněž nárůst spotřeby pohonných hmot. Za předpokladu, že výkon motoru u těchto strojů se pohybuje okolo 400 kW je každé navýšení spotřeby pohonných hmot nežádoucí finanční zátěží. Tento aspekt by si měli uvědomit především výrobci a dodavatelé nejen řezných čepelí pro sklízecí řezačky.

MATERIÁL A METODY

Bubnové řezací ústrojí tvoří prioritní část celého sklízecího stroje. Po mechanické stránce jde o dokonale vyváženou soustavu, kde na rotujícím bubnu jsou umístěny řezné čepele. Jelikož se jedná o vysoce namáhané součásti, je kladen vysoký důraz především na základní materiál a jeho tepelné zpracování.

Cílem tohoto příspěvku je rozbor základního materiálu u 3 řezacích nožů:.

1. řezná čepel pro sklízecí řezačky Toron 50,
2. řezná čepel pro sklízecí řezačky Claas Jaguar 870 SPEEDSTAR,
3. řezná čepel pro sklízecí řezačky Claas Jaguar 870 SPEEDSTAR (na sklizeň vojtěšky).

U daných vzorků je provedena analýza mechanických vlastností a opotřebení jednotlivých čepelí. Příspěvek je tvořen částí laboratorní a praktickou. Během laboratorních zkoušek byly provedeny tyto testy:

- měření tvrdosti na povrchu čepele (metoda HRC – makrotvrdost),
- měření abrazivního opotřebení na brusném plátně dle ČSN 01 5084,
- stanovení chemického složení jednotlivých materiálů,
- proveden metalografický rozbor a měření mikrotvrdosti jednotlivých strukturních částí.

Praktická část:

- úbytek hmotnosti jednotlivých vzorků,
- měření změny geometrie řezné čepele při sklizni kukuřice.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Měření tvrdosti čepelí metodou HRC

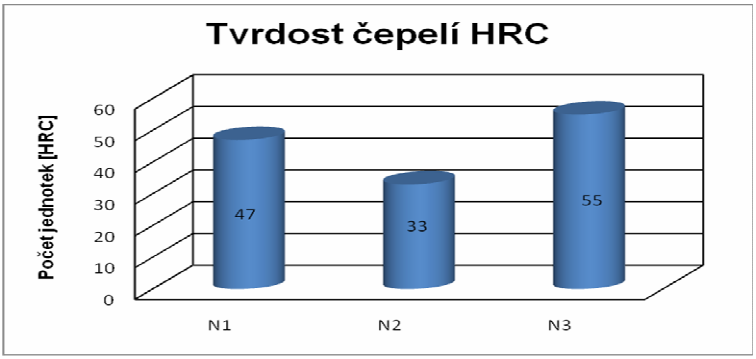
Jedná se o klasickou metodu měření, kdy je do základního materiálu vtlačován diamantový kužel o vrcholovém úhlu 136°. V závislosti na tepelném zpracování a tudíž tvrdosti daného vzorku je odečtena hodnota přímo na ukazateli. Měření bylo prováděno na celých čepelích z důvodu různorodosti tepelného zpracování. Výsledky tvrdosti jsou uvedeny na Obr.1.

Značení jednotlivých čepelí:

N1……. čepel pro sklízecí řezačky Toron 50

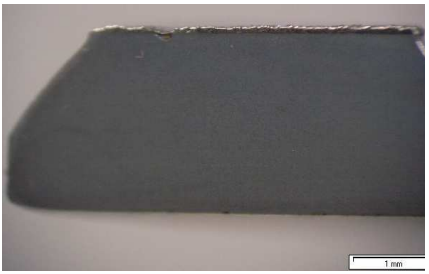
N2……. čepel pro sklízecí řezačky Claas Jaguar 870 SPEEDSTAR

N3……. čepel pro sklízecí řezačky Claas Jaguar 870 SPEEDSTAR (na sklizeň vojtěšky)



Obr. 1 Tvrdost jednotlivých čepelí

Tepelné zpracování u jednotlivých vzorků bylo provedeno vždy jinou technologií. U prvního vzorku N1 se jedná o zakalení a popuštění pouze břitové části čepele. Tuto skutečnost jednoznačně potvrdil fakt, kdy ve střední části čepele byla naměřena hodnota pouze 10 HRC. U vzorku N2 se jedná o konstantní tvrdost v celém průřezu čepele. Vzorky N3 jsou specifické svým nástřikem na zvýšení abraze a celkového opotřebení. Měření tvrdosti bylo prováděno pouze na tomto nástřiku. Na Obr. 2 je znázorněn profil čepele N1 a N2.



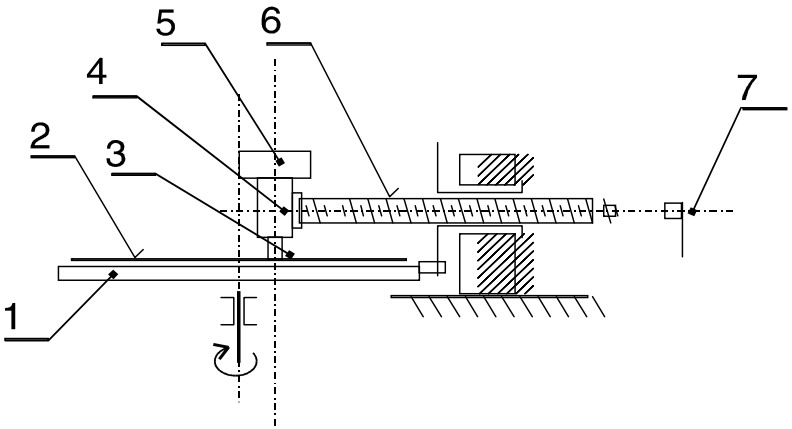
Obr.2 Čepel N1 *Povrchový nástřik čepele N3*

Zkušební zařízení s brusným plátnem

Pro test odolnosti vůči abrazivnímu opotřebení byla zvolena zkouška na brusném plátně.

Tato zkouška je normalizována dle ČSN 01 5084 (Obr. 3).

Zkušební přístroj s brusným plátnem se sestává z rovnoměrně se otáčející vodorovné desky (1), na kterou se upevňuje brusné plátno (2). Zkušební těleso (3) je drženo upínací hlavicí (4) a je přitlačováno k brusnému plátnu silou vyvozenou závažím (5). Dále se sestává ze zařízení (6) umožňující radiální posuv vzorku a koncového vypínače (7). Testované těleso je během zkoušky posunováno od středu ke kraji brusného plátna a částí svého povrchu neustále přichází do styku s brusným plátnem.



Obr. 3 Zkušební zařízení s brusným plátnem

***Technická data přístroje**:*

- délka třecí dráhy: 50 m,
- průměr otáčející se desky: 480 mm,
- max. kluzná rychlost zkušebního tělesa: 0,5 $m.s^{-1}$,
- rozsah měrných tlaků: 0,32 $N.mm^{-2}$,
- radiální posuv zkušebního tělesa: 3 $mm.ot^{-1}$.
- brusné plátno korundové zrnitost 200.

Pro tento test byly připraveny 3 zkušební vzorky, vždy od každé čepele. Tyto vzorky byly vyříznuty pokaždé z břitové části čepele, aby bylo zachováno měření v oblasti nevětšího namáhání. K této přípravě byla použita metalografická pila Mikron 110.

V každém intervalu měření abrazivního opotřebení je délka dráhy 50 metrů. Po tomto intervalu byly vzorky očištěny, s následným vážením na elektronických vahách, kde byl zjištěn jejich hmotnostní úbytek Tab.1. Jakmile velikost dráhy dosáhla 250 m, bylo brusné plátno nahrazeno plátnem novým.

Tab.1 Hmotnostní úbytky při zkoušce na brusném plátně

Číslo měření	Hmotnostní úbytky testovaných vzorků [mg]			
	Etalon 11 373	N1	N2	N3
1	235	123	159	151
2	258	130	155	155
3	242	127	163	149
Průměr	**245**	**127**	**159**	**152**
Poměrná odolnost proti opotřebení **Φ**	**1**	**1,9**	**1,5**	**1,6**

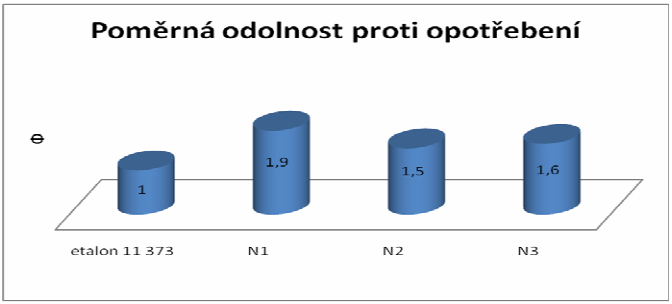
Poměrná odolnost proti opotřebení **Φ** byla stanovena podle vztahů:

hmotnostní – $\Phi_m = \frac{m_{et}}{m_{vzo}}$

kde: m_{et} – hmotnostní úbytek etalonu [mg]

m_{vzo} – hmotnostní úbytek vzorku [mg]

Na Obr.4 je znázorněna poměrná odolnost proti opotřebení jednotlivých vzorků. Hodnota etalonu je brána jako 1. To znamená, že vzorek N1 (zakalený a popuštěný břit) dosahuje 1,9x lepší odolnost než etalon.



Obr. 4 Poměrná odolnost proti opotřebení jednotlivých vzorků

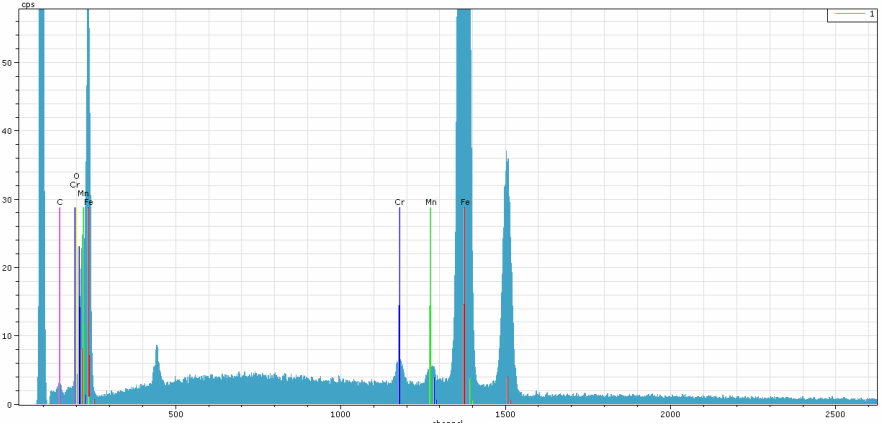
Analýza prvkového složení

K mikroanalýze prvkového složení byl použit elektronový rastrovací mikroskop VEGA II XMU (Tescan) ve spojení s energiově dispersním mikroanalyzátorem QUANTAX 800. Měření prvkového složení vzorku se provádělo ve třech ploškách při přístrojovém zvětšení 100x. Urychlovací napětí činilo 30 kV. Hodnoty měření jsou hmotové koncentrace na 100 %. Výsledky chemického složení jednotlivých kovových povlaků jsou uvedeny v Tab.2. Jedná se o průměrnou hodnotu ze třech měření.

Tab.2 Chemické složení testovaných vzorků

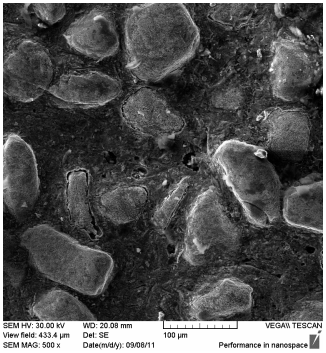
spectrum	Al [%hm]	Cr [%hm]	Mn [%hm]	Fe [%hm]	Co[%hm]	Ni [%hm]	W[%hm]
N1	0,01	0,85	1,05	97,01	0,03	0,01	0
N2	0	0,53	1,67	96,13	0,07	0	0,01
N3	3,15	12,17	0,38	7,07	3,19	41,23	35,36
N3-částice	0	1,18	0	0,98	0,63	7,01	92,47
N3- matrice	2,37	20,02	0,32	18,54	4,16	57,13	4,97

Ke kvantitativní analýze byly využity intenzity čar jednotlivých chemických prvků viz. Obr.5, které slouží pro vyhodnocovací software.



Obr. 5 EDS spektrum čepele N1 výsledky chem. složení viz Tab.2

Fotografická dokumentace z elektronového mikroskopu viz Obr. 6 ukazuje na rovnoměrné rozmístění karbidů v základní kovové matrici.



Obr. 6 Rozmístění karbidů wolframu v niklové matrici zvětšeno 3 000x

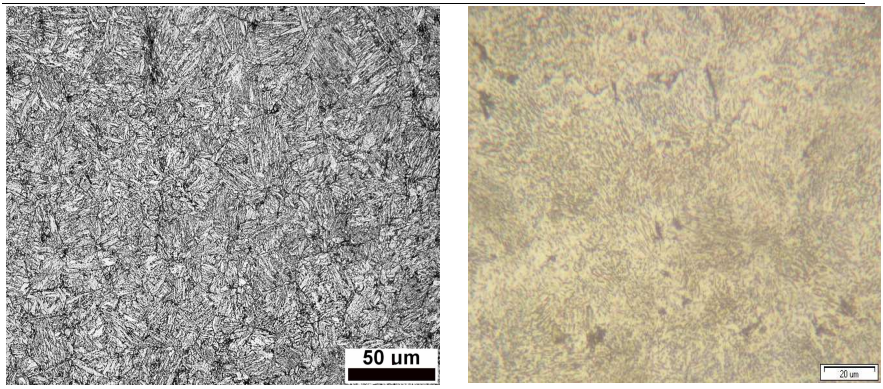
U kovových nástřiků často dochází k vytrhávání celého karbidového zrna z podkladového materiálu. Tento případ je dobře patrný na Obr. 6. Můžeme zde pozorovat trhlinu okolo karbidového zrna. Tento fakt razantně snižuje životnost nástřiku.

Měření mikrotvrdosti a metalografický rozbor strukturních fází

Měření mikrotvrdosti bylo provedeno pomocí Hannemannova mikrotvrdoměru, který je součástí metlografického mikroskopu Neophot 2. Jedná se o klasickou metodu dle Vickerse. Do materiálu je vtlačován diamantový kužel o vrcholovém úhlu 136° silou 0,1 kp. Podle délky úhlopříček je následně odečtena mikrotvrdost HV viz Tab.3.

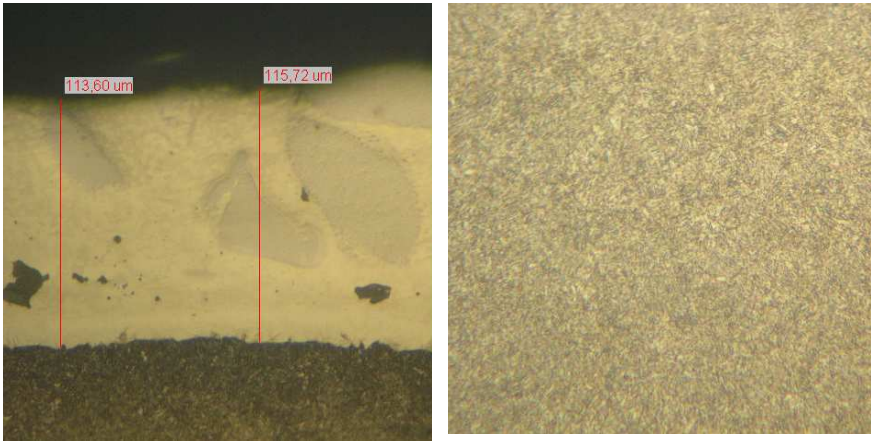
Tab.3. Mikrotvrdosti strukturních fází jednotlivých vzorků

Vzorky	Struktura					
	Martenzit [HV]	Ferit [HV]	Perlit [HV]	Sorbit [HV]	Karbidy [HV]	Matrice [HV]
N1	1122	201	481	-	-	-
N2	-	-	-	644	-	-
N3	-	-	-	-	1790	144



Obr. 7 struktura vzorku N1 – jehlice martenzitu (vlevo) ferit+perlit (vpravo)

Na Obr.7-8 jsou jednotlivé strukturní fáze, které se vyskytují na čepelích N1-N3. Pro sklízecí řezačky Toron 50 (vzorek N1) je patrná popuštěná martenzitická struktura. Čepele pro sklízecí řezačku Claas jsou tepelně zpracovány rovněž kalením, ale k dosažení sorbitické struktury musí být provedeno popouštění v delším časovém úseku.

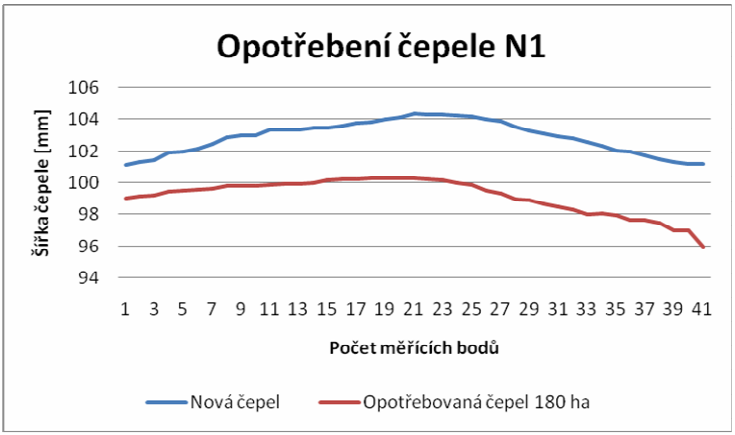


Obr. 8 struktura vzorku N3 – nástřik karbidů (vlevo) sorbit (vpravo)

Změna geometrie řezné čepele během řezného procesu

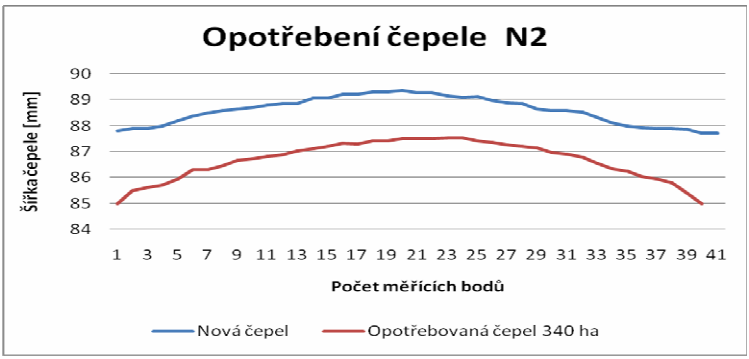
Tento test byl prováděn v reálných podmínkách zemědělského podniku. Měření bylo provedeno jen u sklizně kukuřice, tudíž byly analyzovány pouze čepele N1 a N2. Protože se jedná o značně časově i finančně náročnou operaci, bylo měření zvoleno pouze ve dvou bodech (nová čepel a opotřebení

na konci sklizně). Jelikož měření bylo prováděno u dvou různých zemědělských subjektů, množství sklizených hektarů činilo na čepel N1 180 ha a na čepel N2 340 ha.



Obr.9 Oprotřebení čepele N1 po sklizni 180 ha kukuřice

Postup měření: Nová čepel se umístila do speciálního přípravku na vodorovné ocelové desce. Bylo zvoleno 40 měřících bodů a pomocí hodinkového úchylkoměru byl vytvořen přesný reliéf čepele. Hodnoty jsou graficky zpracovány na Obr. 9-10. Tento postup byl opakován u téže čepele na konci sklizně. Výsledkem je přímé opotřebení a změna geometrie ostří u jednotlivých čepelí.



Obr.10 Oprotřebení čepele N1 po sklizni 340 ha kukuřice

Jak je patrné z Obr. 9 u vzorku N1 docházelo ke značnému opotřebení v pravé části čepele. Tato skutečnost může být zapříčiněna buď špatným upnutím celého nože anebo špatným seřízením brousícího mechanismu.

Pro informaci o hmotnostním úbytku byly čepele rovněž zváženy s přesností na 0,01 kg viz Tab.4. Po sklizni byly čepele očištěny a opětovně zváženy.

Tab.4 Hmotnosti čepelí před a po sklizni

Použité vzorky	Hmotnost nové čepele [kg]	Hmotnost opotřebované čepele [kg]	Hmotnostní úbytek [kg]
Čepel Toron 50 [N1]	2,15	1,81	0,34
Čepel Claas [N2]	1,85	1,72	0,13

Opotřebení břitu čepele během řezného procesu je nežádoucí jev, který má za následek změnu kvality řezanky. Jedná se především o změnu profilu řezanky a její délku. Rovněž stoupá i energetická náročnost na řez. Podobný mechanismus nastává i u abrazivního opotřebení plužních čepelí při orbě. [5]

Dle jednotlivých testů bylo prokázáno, že mezi tvrdostí břitu čepele a jejím opotřebením není přímá závislost. [4] Vzorky N1 vykazovaly tvrdost ostří v zakalené části 47 HRC a odolnost proti opotřebení 1,9x vyšší než etalon. Při reálném řezném procesu ovšem tyto čepele po sklizni 180 ha ztratily až 4 mm ze svého profilu. Hmotnostní úbytek činil 0,34 kg.

Vzorky N2 dosahovaly průměrné tvrdosti 33 HRC. Tomu odpovídala odolnost proti opotřebení 1,5x lepší než u oceli 11373 (etalon). Tyto čepele při nasazení do reálných podmínek řezného procesu ovšem změnily svůj profil (rovnoměrně) cca o 2 mm. Hmotnostní opotřebení činilo 0,13 kg. Tato skutečnost je jednoznačným signálem, že jemná sorbitická struktura dokáže mnohem lépe odolávat míjivému zatížení než struktura tvořená jehlicovitým martenzitem.

Vzorky N3 na kterých byl použit nástřik s karbidy wolframu, které byly umístěny v matrici tvořené niklem a hliníkem dosahovaly průměrné tvrdosti cca 55 HRC. Jejich relativní odolnost vůči abrazivnímu opotřebení ovšem dosahovala na brusném plátně pouze 1,6x lepších výsledků než etalon. Je to dáno nedostatečnou velikostí adhezních a kohezních sil mezi samotným zrnem karbidu a matrice. Jak je patrné z Obr.6, okolo karbidu se vytvoří trhlina a následuje vylomení celého zrna. Tento nedostatek razantně snižuje schopnost nástřiku odolávat zvýšenému abrazivnímu opotřebení. Dle chemického složení kovové matrice nástřiku je možné usuzovat na přebytek Fe. Pro další výzkum by bylo vhodné zaměřit se především na kombinaci prvků právě pro kovovou matrici.

ZÁVĚR

Samotný proces řezání je z energetického hlediska značně náročná operace. Jestliže řezná čepel nedokáže odolávat vysokému míjivému zatížení, abrazivnímu a erozivnímu opotřebení, dochází k následné nadměrné změně geometrie břitu (otupení), čímž se energetická náročnost na řez ještě zvýší. Tento aspekt je samozřejmě promítnut do ekonomiky provozu celého stroje.

Každá samojízdná řezačka je vybavena brusným zařízením, které je schopno obnovit geometrii ostří a zachovat tak řezné úhly, na které je řezný mechanismus seřízen. Pakliže materiál a tepelné zpracování samotné čepele ovšem není vhodně zvolen, nelze zachovat kvalitu řezanky v délce celé směny do dalšího broušení. Rapidní snížení kvality řezanky nastává do 1 hod od začátku provozu. Délka řezanky, která je limitujícím faktorem pro fermentační procesy konzervace pícnin se potom neúměrně zvětšuje. V článku jsou předloženy testy čepelí, které byly realizovány jak v laboratorním, tak v reálném prostředí během řezného procesu. Je zde jednoznačně patrná nutnost spolupráce technologů s konečným uživatelem celého stroje. Řezným čepelím by měla být věnována zvýšená pozornost především ze strany výrobců, kteří je dodávají jako náhradní díly.

LITERATURA

1. Hrabě F.: *Pícninářství Travní porosty*, 2009, 154 s. ISBN 978-80-7375-305-4
2. Neubauer a kol.: *Stroje pro rostlinnou výrobu*, Praha, SZN, 1989, 720 s. ISBN 80-209-0075-6
3. Břečka J.: *Stroje pro sklizeň pícnin a obilovin*, Praha, ČZU, 2001, 147 s. ISBN 80-213-0738-2
4. Blaškovič P.,Balla J., Dzimko M.: *Tribológia*. Bratislava: Alfa, 1990. 360 s.
5. Suchánek J. , Kuklík V., Zdravecká E.: *Abrazivní opotřebení materiálu*. Praha: ČVUT, 2007. s. 162. ISBN 978-80-01-03659-4.

DESIGN OF MODULAR DEVICE FOR RAPID-PROTOTYPING AND ITS APPLICATIONS

Durkáč M., 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: michal.durkac@mendelu.cz

ABSTRACT

This article is describing our FDM Rapid-prototyping machine, methods, which were used for its designing, and application of this technology. Related topic with this machine is using Bioplastic material, concretely PLA polymers based on biodegradable polymer-blend based on cellulose acetate (CA) in wire form.

Key words: rapid-prototyping, bioplastics, CAD, polymers, FDM

Acknowledgement: Project team RAPI 3D, Domino cubes s.r.o., Brno, Czech Republic, prof. Ing. Jan Mareček, DrSc.

ÚVOD

Projekt zařízení RAPI 3D započal na podzim v roce 2010, kdy jsme ve společnosti Domino cubes s.r.o. dokončili průzkum trhu pro naši potřebu a učinili rozhodnutí, že má význam se do zmiňovaného projektu pustit. Projekt byl odstartován s cílem vyvinout zařízení, které by z plastického materiálu bylo schopno vrstvením vytvořit 3dimensionální model, s běžnou přesností užívanou v konstrukční praxi (0,01 i s opakovatelností). Důležitým měřítkem, které nás vedlo k tomuto projektu bylo i finanční hledisko, protože stávající zařízení na trhu jsou pro mnoho konstrukčních kanceláří a další potenciální uživatele příliš nákladné a tím nedostupné (250 000,- až 1 500 000,-). Naším cílem je a od začátku bylo postavit zařízení, které bude cenově dostupné (cena základního modelu je 120 000,- s DPH) a bude možné jej rozšířit o různé další moduly a nadstavby tak, aby zařízení bylo možné použít i pro případnou malosériovou výrobu (10tky kusů) plastových dílců, případně na dílce z jiného materiálu dotisknout plastovou část.

Jak vyplývá z předchozích vět, zařízení pracuje s polymerním materiálem, který pomocí nanášecí hlavy klade ve vrstvách na sebe do požadovaného tvaru. Výsledný výtisk pak má tvar finální součásti, ale pevnostně je na úrovni materiálu, ze kterého je vyroben, takže výtisky jsou například vhodné k aerodynamickým a hydrodynamickým zkouškám. Co je však největším přínosem, že se díky takto vyhotoveným dílcům dá kontrolovat sestavitelnost a kinematická funkčnost různých mechanismů, strojních celků apod. za malé náklady oproti nákladným prototypům z finálního materiálu a za poměrně velmi krátký čas (řádově 10tky minut, vše závisí na složitosti).

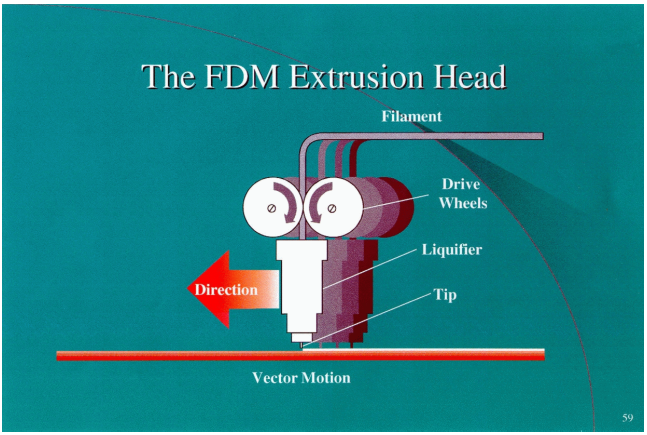
Konstrukce zařízení je modulová a je možné kdykoliv změnit koncepci zařízení a doplnit o další prvky, které napomohou k vyšší produktivitě (pásový dopravník, robotický manipulátor). Dále je počítáno již nyní s možnostmi třískového obrábění měkkých materiálů (plastů, neželezných kovů nižší tvrdosti – měď, mosaz, hliník). Pro možnosti obrábění, ale i snímání tvarů je také ve vývoji zařízení pro oměřování ve formě výměnné hlavy. Tato hlava by pak měla umět snímat body, ze kterých poté ve 3D softwaru nainstalovaném v počítači budeme moci vytvořit povrchy, nebo i přímo objemové objekty. Tímto rozšíříme možnosti zařízení o reverse-engineering.

Zařízení je využitelné pro konstrukční kanceláře (tisk prototypů…). Dále je možné tyto 3D tisky využít pro marketing – reklamní agentury (výroba reklamních předmětů). Výrobci součástí mohou využít možnosti vytisknutí částí z plastu ke kovovým a jiným součástem (Přímé dotisknutí distančních podložek apod.). Pro oblast slévání a hlavně formování by tato technologie mohla být velkým přínosem (vyhotovení modelu pro zaformování, bez nutnosti obrábění). Zařízení je vhodné i pro grafická studia a umělecké ateliéry (možnost vytisknutí zmenšených modelů při tvoření velkých uměleckých kusů) a filmová studia (výtisky součástí scény, figurek pro animované a loutkové filmy apod.).

Konstrukce jednotlivých částí stroje je popsán níže, včetně materiálových charakteristik polymerního materiálu pro vyhotovení výtisků.

MATERIÁL A METODIKA

Z důvodu jednoduchosti celé technologie a bezproblémové dostupnosti materiálu pro tisk, byla zvolena koncepce metody Fused Deposition Modeling v kombinaci s tiskovým materiálem v podobě biopolymeru Biograde® C 9550 v podobě lanka které je v tiskové hlavě po ohřevu dále přetvářeno protlačením přes uzavíratelnou trysku. Biopolymer je na bázy acetátu celulosy s příslušnými aditivy. Materiál je biodegradabilní, takže proces vytváření prototypů negeneruje ekologické zátěže a lze jej nechat kompostovat, nebo při dalším zpracování depolymerizovat.

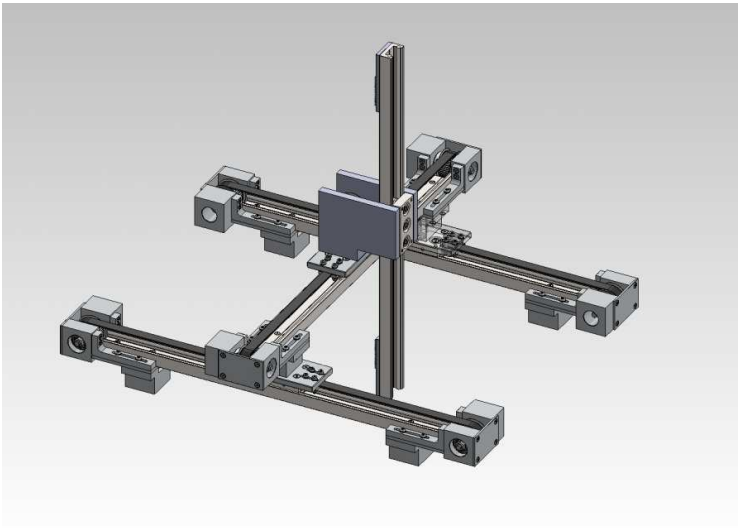


Obr. 1 Princip metody Fused Deposition Modeling[2)]

Mechanické vlastnosti			
Modul pružnosti	4200	[MPa]	ISO 527
Pevnost v tahu	41	[MPa]	ISO 527
Poměrné prodloužení	6	[%]	ISO 527
Mez pevnosti v tahu	41	[MPa]	ISO 527
Poměrné prodloužení při mezy pevnosti	6,5	[%]	ISO 527
Modul v ohybu	4050	[MPa]	ISO 178
Průhyb při mezy v ohybu	7	[%]	ISO 178
Napětí v ohybu při 3.5 % průhybu	63	[MPa]	ISO 178
Vrubová houževnatost (Charpy), RT	2	[kJ/m²]	ISO 179-1/1 eA
Rázová pevnost (Charpy), RT	37	[kJ/m²]	ISO 179-1/1 eU
Shore D tvrdost	83	[-]	DIN 53505
Hustota	1.67	[g/cm³]	ISO 1183
Objemová hmotnost	935	[kg/m³]	ISO 60
Termo-mechanické vlastnosti			
Teplota tavení	> 180	°C	ISO 3146-C
Vicat A teplota plasticity	118	°C [cm³/10 min] [g/10 min]	ISO 306

Tab. 1 Vlastnosti materiálu Biograde® C 9550

Zařízení je řešeno obdobnou koncepcí jako moderní CNC obráběcí centra. Jednotlivé pohybové osy řeší lineární moduly poháněné elektromotory s převodem ozubeným řemenem. Základní konstrukce je řešena hliníkovými profily, pospojovanými speciálními spojkami. Základní rám řeší jak nosnou, tak krycí funkci stroje. Koncepce je řešena z hlediska výsledného „výlisku“ jako statická, tj. veškeré pohyby vykonává tisková (obráběcí hlava). Mechanismus je řešený jako soustava lineárních pojezdů a to tak, že ve směru osy Y budou lineární pojezdy zdvojeny (z důvodu největšího zatížení), zbylé jsou už jednoduché. Lineární pohony jsou řemenové, točivý moment je přenášen ozubeným řemenem. K pohonu jsou použity stejnosměrné motory s N-kodérem. Řízení obstarává modulový řídící systém řešený mikrocontrolery, vlastním řídícím systémem pro stroj a výpočtovým softwarovým rozhraním pro PC, které vhodným způsobem zpracuje modul z CAD softwaru.



Obr. 2 Pohybový osový kříž Rapi 3D

Bezpečnost stroje řešíme pomocí kontaktních čidel, bezpečnostním zámkem a polykarbonátovými skly. Celkově je bezpečnost jedním z nejdůležitějších hledisek, aby zařízení splnilo ta nejpřísnější hlediska dané zákony, vyhláškami, normami, požadavky zákazníků a nás, vývojářů.

Celý návrh je, jak již bylo zmíněno, zpracováván v 3D CAD systému Solidworks. Při konstrukci jsou využívány v plném rozsahu funkce objemového modeláře. Celý návrh je řešen metodou „Shora dolů“, kdy je celý model řešen vlastně z vnějších partií dovnitř. Tímto způsobem jsme schopni se snáze řídit skicou rozvržení, kterou si na začátku vytvoříme, a právě tato se nám stává vodící mapou celého návrhu. Změnou ve skice rozvržení se nám poté mohou posouvat i již provázané celky a tak například změna rozteče kladek u lineárního pohonu je opravdu pouze otázku změny hodnoty jedné kóty a nemusíme přepracovávat celý model. V případě, že je již vyhotovena

výkresová dokumentace, provedená změna se automaticky promítne i v ní. Metodika „shora dolů“ je velmi efektivní i v řešení prostorových dispozic celého návrhu. Myšleno je tímto, že je hotový plášť, který celé zařízení obklopuje a je třeba do něj umístit součásti, případně celky, nutné pro funkci zařízení. Díky této funkcionalitě nemusí konstruktér řešit zdržujícím výpočtem rozměrový obvod uložení, ale celý ho domodeluje, dle vnějších vazeb na ostatní součásti celku. Návrh v tomto systému dále napomáhá názorně si představit montáž celku a předejít tak nepříjemným zjištěním, že návrh je vlastně nesmontovatelný z důvodu nevhodného umístění některých součástí.

V pozdější fázi návrhu budou v rámci modelování řešeny kompletní kabelové rozvody a jejich umístění do struktur zařízení. Systém po vymodelování umí sám generovat popisy vedení, jejich soupis, hlídá kolize apod.

Obr. 3 Nosná konstrukce Rapi 3D

Možnosti tohoto systému jsou takřka neomezené a je jen na invenci konstruktéra, co za pomocí tohoto nástroje vyvine a uvede v reálnou fungující věc, která ulehčí lidstvu nějakou činnost.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Náš projekt momentálně finalizuje výkresovou dokumentaci mechanických částí stroje, ab mohly být zadány do výroby. Aktuálním problémem je vyřešení ovládacího panelu zařízení, který by měl umožnit manuální najíždění hlavy do potřebné pozice, zobrazování pracovních údajů a umístění ovládacích a bezpečnostních prvků (Nouzové tlačítko pro vypnutí).

Prototyp stroje by měl být připraven a po funkčních testech do 1/2012. Vše je závislé od dostupnosti dílů u distributorů a dodržení termínů pro vyráběné součásti u našich dodavatelů.

Otázkou pro náš vývojový tým je poptávka po tomto zařízení. Dle informací, které se k nám dostávají po postupném představovaní našich záměrů a zatím pouze návrhu zařízení, velmi konzervativní český a slovenský trh (první potenciální zákazníci) nutně potřebují prezentaci funkcí a kvality výstupu, aby mohli zaujmout stanovisko a případně zařízení koupit. V zemích západně od našich hranic (Německo, Francie) již řešíme specifické požadavky, které upravují funkcionality našeho zařízení a dávají podněty k úpravám stávajícího návrhu již ve fázi konstrukce.

Další cílem je pro nás stavba extrudéru, pro tvorbu vlastního vlákna pro tisk, protože momentálně vlákno nakupujeme od našich dodavatelů. Extrudér by umožnil materiál nakupovat v podstatně větším množství ve formě granulátu a následně jej přetvářet extrudování – protlačením přes matrici

a následným namotáním na nosný výměnný buben. Materiál by bylo možné i pomocí dávkovače a pigmentů barvit a vytvořit tak i škálu barevných variant vláken pro tisk.

Jde nám o komplexnost a co rozšíření zařízení do co nejvíce odvětví. Jedním z cílů jsou i vzdělávací instituce, kterým by stroj mohl sloužit pro vytváření názorných modelů pro moderní a interaktivní výuku s hmatatelnými podněty pro studenty.

ZÁVĚR

Rapi 3D není nijak převratná technologie, ale jejím cílem nikdy nebylo přijít s něčím zásadně novým. Rapi chce dát k dispozici technologii Rapid-prototypingu i lidem, společnostem, které by si dříve obdobnou věc dovolit nemohli hlavně z finančního hlediska. Jedná se jak o cenu výtisku (10tky Kč), tak i pořizovací cenu stroje (Viz. úvod).

Náš vývojový tým doufá, že se jednou 3dimensionální tisky stanou stejně běžnou technologií při konstrukčních a designových návrzích, jako se staly běžnými velkoformátové plotry pro tisk výkresové dokumentace.

LITERATURA

1. PALM, William. Overview of Rapid Prototyping [online]. May 1998.Penn State Learning Factory, May 1998, revised 30 July 2002 [cit. 2011-05-02]. Rapid Prototyping Primer. Dostupné z WWW: <http://www.mne.psu.edu/lamancusa/rapidpro/primer/chapter2.htm#whatis>.

2. PALM, William. Overview of Rapid Prototyping [online]. May 1998.Penn State Learning Factory, May 1998, revised 30 July 2002 [cit. 2011-05-02]. Rapid Prototyping Primer. Dostupné z WWW: <http://www.mne.psu.edu/lamancusa/rapidpro/primer/chapter2.htm#techniques>.

3. Evektor, spol. s r.o. Evektor [online]. 1999-2011.EDOX, 1999, 2011 [cit. 2011-05-02]. Rapid Prototyping. Dostupné z WWW: <http://www.evektor.cz/3d-tisk-fdm.aspx>.

4. FREIBAUER, Martin. Základy práce v CAD systému SolidWorks : Naučte se modelovat na konkrétních projektech. 2. aktualizované vydání. [s.l.] : Computer Press, 2011. 326 stran s. ISBN 978-80-251-2504-5, EAN: 9788025125045

5. DURKÁČ, Michal; TRÁVNÍČEK, Petr; JUNGA, Petr; MAREČEK, Jan. Moderní postupy konstrukce při vývoji modulového zařízení pro rapid-prototyping. [CD-ROM]. In Nové trendy v konštruovaní a v tvorbe technickej dokumentácie 2011. s. 159--164. ISBN 978-80-552-0585-4.

ANALYSE OF BIOGAS PRODUCTION FROM ENERGY MAIZE VARIETIES

Haitl M., Vítěz T.

Department of Agriculture, Food and Environment Engineering, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: martin.haitl@mendelu.cz

ABSTRACT

Numbers of Biogas plants (BP) has rapidly increased in last few years. This is because a lot of factors. One of the most important was passing the law about renewable energy. For effective treatment of BP is necessary a good supply of quality input materials. The seeds companies focus their breeders programs to get new energy varieties. The aim of this work was to confirm the characteristics of new energy maize varieties for biogas production. There were tested three new energy maize varieties Cassilas, Fernandez and Atletico, bred by company KWS seeds in anaerobic, mesophillic conditions. Tests were making in batch lab scale reactors of working volume 0.12 m^3. The highest production of biogas gives variety Cassilas 0.356 $m^3 \cdot kg^{-1}$, followed by Atletico 0.342 $m^3 \cdot kg^{-1}$ and Fernandez 0.327 $m^3 \cdot kg^{-1}$ total solids. The greatest methane production per m^2 of varieties TS yield was aimed by variety Fernandez 0.659 $m^3 \cdot m^{-2}$, followed by Atletico 0.612 $m^3 \cdot m^{-2}$ and Cassilas 0.601 $m^3 \cdot m^{-2}$.

Key words: biogas, methane, maize,

Acknowledgement: This paper was supported by the project TP 9/2011 of Internal Grant Agency, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno

ÚVOD

V oblasti energetiky je zřejmý trend odklonu od tradičních fosilních paliv a jejich nahrazení novými, obnovitelnými zdroji energie. Je to zapříčiněno jednak z důvodů klesajících zásob fosilních paliv, jejich rostoucích cen, ale rovněž získání energetické soběstačnosti jednotlivých zemí na dodavatelích a také vytváření ostrovních energetických systémů v oblastech se špatnou infrastrukturou. Jednotlivé členské země Evropské unie se zavázaly, že v roce 2020 bude 20% jejich spotřeby zajištěno energií z obnovitelných zdrojů. K tomu aby bylo těchto ambiciózních cílů dosaženo, je potřeba hledat zdroje, které jsou snadno dostupné a stabilní. Energie biomasy splňuje tyto základní požadavky. Region Střední Evropy, Českou republiku nevyjímaje, je charakteristický intenzivním zemědělstvím, které se ovšem dlouhodobě potýká s nadprodukcí a problematickým odbytem produkovaných komodit surovin potravin. Výroba energie z bioplynu nabízí pro zemědělský sektor stabilizaci. K výrobě bioplynu lze totiž využívat zemědělské produkty a odpady. Použitelnými produkty jsou energetické plodiny, organický odpad a exkrementy hospodářských zvířat (Oslaj et al. 2010). Kukuřice, lipnicovité, jeteloviny, čirok, řepa obecná a další plodiny mohou být využity pro energetické účely (Rasi et al. 2007, Chynoweth DP et al., 1993, Gunaseelan VN 1997, Vindis et al. 2008). Jejich produkce je možná za využití stávající techniky a pěstebních zkušeností. Vzniklý bioplyn je možné vyčistit na kvalitu zemního plynu a dodávat do sítě nebo přeměnit kogenerací na elektrickou a tepelnou energii s následnými dodávkami elektřiny do veřejné sítě a využitím tepla k vytápění hospodářských, obytných objektů, k provozu sušáren, či jinému využití. Již dnes je v České republice v provozu více než 200 zemědělských bioplynových stanic (BPS) a počet nově do provozu uváděných zařízení každým rokem narůstá. Odhaduje se, že konečný počet BPS bude několikanásobně vyšší, celkem asi 750 BPS. Z tohoto je zřejmé, že je zde stále dostatečný prostor pro nové BPS.

Bioplyn vzniká během rozkladu organických látek jako produkt anaerobní fermentace. Jedná se o v přírodě běžně se vyskytující proces. Bioplyn je směsný plyn skládající se ze dvou majoritních složek CH_4 a CO_2, dále se v něm vyskytují O_2, H_2S, NH_4, jejichž zvýšený obsah je ovšem nežádoucí.

Člověku je bioplyn znám dlouhodobě a také jej využívá. V posledních desetiletích došlo ke značné intenzifikaci tohoto procesu s cílem jeho maximální efektivnosti za využití vědeckých poznatků a moderních technologií. Z těchto důvodů je věnována vysoká pozornost jednak vývoji nových technologií a rovněž šlechtění energetických odrůd kulturních plodin. Pouze intenzivní a řízený průběh anaerobní fermentace, kdy dochází k maximálnímu možnému využití vstupních surovin a produkci bioplynu o požadované kvalitě, je totiž pro provozovatele a životní prostředí přínosem.

Rozšířené technologie výroby bioplynu lze rozdělit v závislosti na obsahu sušiny fermentovaného materiálu (tekutá, netekutá fermentace), způsobu dávkování (kontinuální, semikontinuální a diskontinuální), teploty (psychrofilní, mezofilní, termofilní). Z výše uvedeného je zřejmé, že existuje řada technologií a jejich případné využití závisí na vlastnostech zpracovávaného materiálu a nárocích na finální produkty.

Rozšířená technologie semikontinuální tekuté anaerobní fermentace za mezofilních teplotních podmínek má pro provozovatele řadu výhod, zejména možnost využití snadno dostupných vstupních materiálů, např. kejdy a stabilitu procesu. Její nevýhodu je nižší míra intenzity produkce bioplynu v porovnání s termofilní technologií, která dokáže lépe využit vstupní materiály. S rostoucí úrovní technologického pokroku a vědeckých poznatků se stále více uplatňují technologie, které byly dříve náročné na provoz a řízení procesu. Moderní BPS je možné realizovat, tak aby esteticky nerušily okolí výstavbou uzavřených fermentačních, skladovacích a zásobních nádrží pod úrovní terénu. Další možností je integrace jednotlivých technologických celků BPS do jednoho objektu, čímž je zamezeno případným hlukovým a pachovým emisím. K realizaci takto důmyslně integrovaných BPS je zapotřebí menší stavební plocha a lze je velmi dobře začlenit do stávajících výrobních provozů. Na obr.1 je zobrazena termofilní BPS, jejíž kompaktní řešení spolu s řadou inovativních technologických prvků z ní činí jednu z vysoce sofistikovaných a efektivních realizací BPS.

Obr.1 Bioplynová stanice firmy Enserv

V současnosti se na BPS zemědělského typu nejčastěji jako vstupních surovin využívá směs kukuřičné siláže a kejdy hospodářských zvířat, pro jejich snadnou dostupnost a optimální vlastnosti pro proces anaerobní fermentace. Kejda hospodářských zvířat slouží jako inokulum, kdy zejména kejda skotu obsahuje značné množství metan produkujících mikroorganismů, a k dosažení

optimálního obsahu sušiny fermentovaného materiálu, pohybující se u tekuté anaerobní fermentace v rozmezí 5 – 15% (Schulz et al., 2004). Obsah sušiny pod 5% je z ekonomického hlediska neefektivní, dochází k čerpání a ohřevu velkého objemu vody a při sušině vyšší než 15% výrazně rostou energetické a technologické nároky na míchání fermentované směsi. U kukuřičné siláže je z pěstovaných zemědělských plodin dosahováno nejvyšší produkce bioplynu vztažené na kg sušiny, při její současné vysoké hektarové výnosnosti sušiny. Vzhledem k těmto jejím vlastnostem je kukuřice nejvyužívanější plodinou pro výrobu bioplynu (Amon et al. 2007). Tento autor rovněž uvádí optimální obsah sušiny fermentované siláže kukuřice v rozmezí 30 – 35 %, kdy je dosahováno nejvyšší produkce bioplynu. Nároky na kvalitu siláže kukuřice využívanou pro výrobu bioplynu jsou rozdílné od krmné siláže. Je to dáno odlišnými způsobem využití, kdy v bioplynových stanicích je požadována maximální produkce metanu, která je ovšem u hospodářských zvířat z pohledu ochrany životního prostředí nežádoucí (Siegfried Schittenhelm 2008)

Pro projektování takovýchto BPS dosud chybí podklady o produkci bioplynu novými energetickými odrůdami kukuřice. Proto cílem tohoto měření bylo ověření vhodnosti nových kukuřičných hybridů pro výrobu bioplynu. V laboratorních podmínkách byly testovány tři energetické hybridy kukuřice. Byla provedena kvanti-kvalitativní analýza a na jejím základě stanovena produkce bioplynu, resp. metanu na jednotku plochy, kdy se vycházelo z hektarových výnosů sušiny testovaných hybridů.

MATERIÁL A METODIKA

Popis laboratoře

Jednotlivé testy byly provedeny v Republikové referenční laboratoři bioplynových transformací na Mendelově univerzitě v Brně. Tato laboratoř disponuje šesti reaktory o objemu 0,12 m^3. Reaktory jsou vybaveny samostatným teplovodním okruhem pro ohřev substrátu přes mezistěnu, sondou pro aplikaci přídavných látek, měřením teploty substrátu, prostupy pro odběr vzorků substrátu a bioplynu. Dále jsou reaktory vybaveny automatickým míchacím zařízením a sondou na kontinuální měření pH. Všechny výše jmenované zařízení byly na reaktoru instalovány tak, aby bylo zamezeno vniknutí vzduchu do reaktoru. Vznikající bioplyn prochází průtokoměrem PREMGAS BK G4, který zaznamenává jeho množství. Poté je odváděn systémem sběrných potrubí do sběrného vaku o objemu 1m^3. Na tento vak je napojeno spalovací zařízení (fléra). Při mírném nárůstu tlaku bioplynu v zásobním vaku dojde ke spuštění vývěvy, která nasává bioplyn do spalovacího zařízení. Pomocí elektrické jiskry je bioplyn zapálen a spalován. Hoření probíhá v digestoři a vzniklé spaliny jsou z laboratoře odsávány.

Charakteristika testovaných energetických odrůd kukuřice

Byly testovány tři nové energetické odrůdy firmy KWS: Cassilas, Fernandez a Atletico vyprodukované na lokalitě Švábenice, bývalého okresu Vyškov na Moravě, spadající do kukuřičné výrobní oblasti. Kukuřice byla sklizena 20.9.2010, kdy ihned po sklizni byla silážována do číselně označených mikrosilážních nádob. Po době potřebné po průběh silážovacího procesu, bylo zahájeno testování. Obsah sušiny dávkovaných hybridů kolísal v rozmezí 35,3 – 38,2%. Jejich pH bylo vyrovnané a mělo hodnoty od 3,78 do 3,84.

Charakteristika inokula

Testy byly prováděny formou kofermentace. Jako inokulační substrát byl použit materiál z reaktoru prvního stupně zemědělské bioplynové stanice v Čejči. Jedná se o stanici zpracovávající směs kukuřičné siláže a prasečí kejdy. Substrát byl odebrán v množství dostatečném pro všechny reaktory, aby byly zajištěny stejné výchozí podmínky pro všechny testy. Do zkušebních reaktorů byl substrát umístěn bezprostředně po transportu, aby došlo k co nejmenším změnám jeho vlastností. Před naplněním byly reaktory vyhřáty na provozní teplotu 39 °C, aby nedošlo k ochlazení inokulačního substrátu a k ovlivnění populace mikroorganismů.

Postup testů

Do jednotlivých reaktorů bylo nadávkováno 0,1 m^3 inokulačního substrátu. Poté byly reaktory uzavřeny a jeden den ponechány bez přídavku siláže. Stejnou produkcí bioplynu ve všech reaktorech bylo ověřeno, že během transportu a dávkování nedošlo ke znehodnocení substrátu. Během prvního dne byla také stanovena sušina právě testovaných hybridů kukuřice a inokulačního substrátu, aby mohla být určena přesná dávka přídavku kukuřičné siláže. Během testů se sušiny hybridů pohybovaly v rozmezí a sušiny inokula. Dávka byla zvolena tak, aby výsledná sušina v reaktoru byla 6%. Tato hodnota byla určena jako konstantní, aby byly podmínky veškerých testů co nejvíce srovnatelné. Zároveň se odvíjela od možného zatížení reaktoru. Sušina inokulačního substrátu z bioplynové stanice se pohybovala v rozmezí 3,5 – 4,3%. Dávka kukuřičné siláže, potřebná k navýšení celkové sušiny v reaktoru na 6%, se pohybovala v rozmezí 6-7 kg.

Při každé sérii testů byl jeden reaktor ponechán bez přídavku kukuřičné siláže jako kontrolní. Do ostatních reaktorů byla přidána siláž jednotlivých hybridů kukuřice ve vypočtených dávkách. Testy probíhaly za mezofilních teplotních podmínek (39°C), po dobu 30dní.

Sledované parametry

Před zahájením testů bylo změřeno pH, sušina, obsah organických látek v sušině a pufrační kapacita Fos/Tac substrátu z bioplynové stanice a siláží jednotlivých energetických odrůd kukuřice.

Během testů byly každý den měřeny tyto parametry:

- množství vzniklého bioplynu pomocí průtokoměru PREMGAS BK G4

- objemové zastoupení vybraných plynů v bioplynu (CH_4, CO_2 a H_2S) pomocí přístroje KOMBIGASS

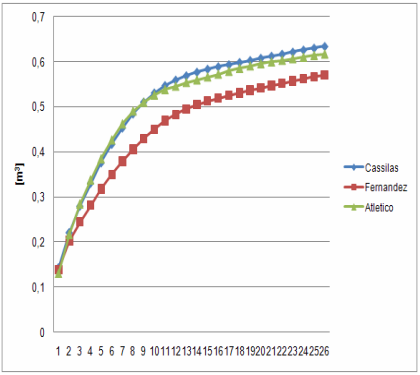
Vyhodnocení testů

Od celkových produkcí bioplynu jednotlivých reaktorů byla odečtena produkce bioplynu v kontrolním reaktoru. Tím bylo získáno množství bioplynu vyprodukovaného z jednotlivých siláží energetických odrůd kukuřice. Výsledky měření v testovacích reaktorech byly převedeny na množství dávkované sušiny. Pomocí tohoto parametru je možno přepočítat získaná data na odpovídající produkci bioplynu při různém hektarovém výnosu jednotlivých energetických odrůd kukuřice. Z porovnání těchto rozdílů je pak možné určit, které energetické odrůdy kukuřice se jeví jako nejvhodnější na cílené pěstování pro bioplynové stanice v různých výrobních oblastech.

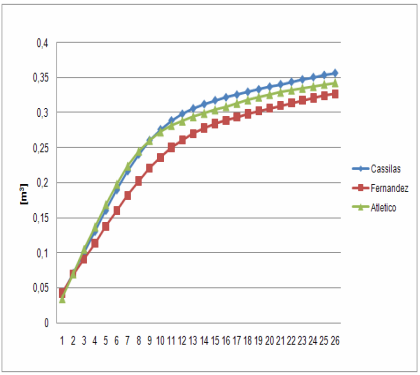
VÝSLEDKY A DISKUZE

Celkem byly opakovaně testovány tři nové energetické odrůdy kukuřice náležící do stejné třídy ranosti. Bylo dosaženo vyrovnané produkce bioplynu a metanu, u kterého byly produkce ještě vyrovnanější, jak zobrazují Obr.2 a Obr.3 na nichž je zobrazena kumulativní produkce bioplynu, resp. metanu vztažených na kg sušiny přidané kukuřičné siláže. Nejvyšší produkce bioplynu a metanu bylo dosaženo u odrůdy Cassilas následované odrůdami Atletico a Fernandez. Měření byla provedena v tolika opakováních, aby byla dosažena průkaznost testu produkce s hladinou spolehlivosti 0,05.

Obr.2 Kumulativní produkce bioplynu

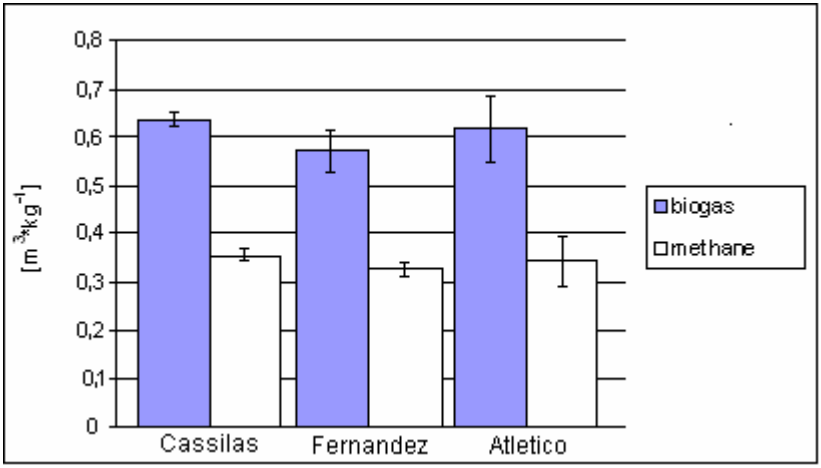


Obr.3 Kumulativní produkce metanu



Množství vzniklého bioplynu a metanu byla u jednotlivých energetických odrůd následující: Cassilas 0,634 $m^3 \cdot kg^{-1}$ bioplynu a 0,356 $m^3 \cdot kg^{-1}$ metanu, Atletico 0,617$m^3 \cdot kg^{-1}$ a 0,342 $m^3 \cdot kg^{-1}$, Fernandez 0,570 $m^3 \cdot kg^{-1}$ a 0,327 $m^3 \cdot kg^{-1}$. Na Obr. 4 jsou tato množství produkcí i s rozptyly.

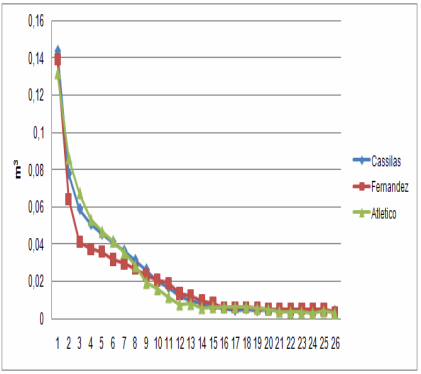
Obr.4 Produkce bioplynu a metanu energetických odrůd kukuřice



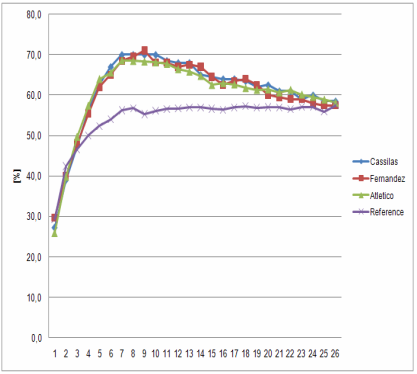
Amon et.al 2007 zjistil produkci metanu u odrůd kukuřice firmy Pioneer v podmínkách Dolního Rakouska, PR39G12 – 0,292 $m^3 \cdot kg^{-1}$, Sandrina – 0,375 $m^3 \cdot kg^{-1}$, Clarica – 0,329 $m^3 \cdot kg^{-1}$, Monalisa – 0,274 $m^3 \cdot kg^{-1}$ a Ribera – 0,311 $m^3 \cdot kg^{-1}$. Další autor Oslaj jet. al v podmínkách Slovinska během testování níže uvedených odrůd kukuřice různé třídy ranosti (FAO classification) zjistil rovněž obdobné produkce metanu: PR38F70 – 0,312 $m^3 \cdot kg^{-1}$, PR38H20 – 0,300 $m^3 \cdot kg^{-1}$, NKTHERMO – 0,251 $m^3 \cdot kg^{-1}$, NKCISKO – 0,290 $m^3 \cdot kg^{-1}$

Dynamika produkce bioplynu odpovídala použité vsázkové technologii, kdy po počátečních vysokých množstvích bioplynu došlo k jejímu ustálení Obr.5. Kvalita vzniklého bioplynu byla vysoká Obr.6, obsah metanu v bioplynu dosáhl hodnoty do 70% obj. . Dynamika produkce metanu měla obvyklý průběh pro proces anaerobní fermentace Obr.7, kdy po počátečním propadu produkce došlo ve fermentované směsi k nárůstu počtu metanogenních mikroorganismů a zvýšení produkce metanu.

Obr.5 Denní produkce bioplynu

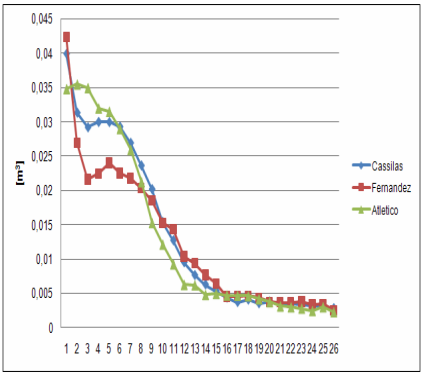


Obr.6 Obsah metanu v bioplynu

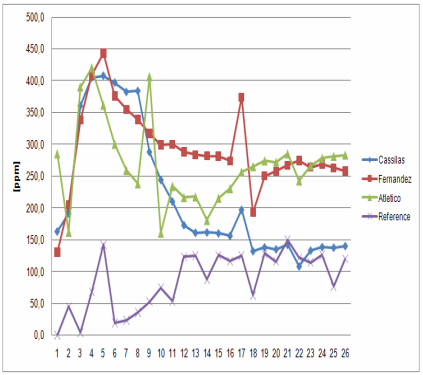


Obsah CO_2 se pohyboval v hodnotách obvyklých pro průběh anaerobní fermentace. Zaznamenán byl zvýšený obsah H_2S, který lze vysvětlit rozkladem bílkovin obsažených v kukuřičné siláži Obr.8. H_2S je vedlejším produktem bakteriálního anaerobního rozkladu bílkovin a jiných organických látek obsahujících síru (Straw et al. 2006)

Obr.7 Denní produkce metan

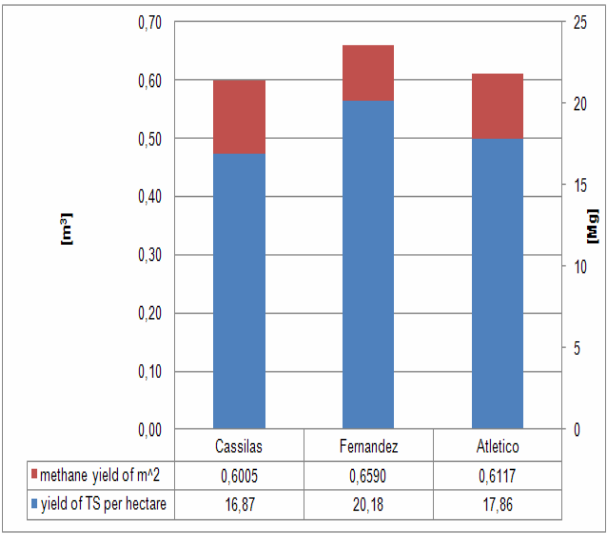


Obr.8 Obsah sirovodíku v bioplynu



U testovaných nových energetických odrůd kukuřice byly zjištěny rozdílné výnosy sušiny siláže vztažených na jednotku plochy. Zahrneme-li tyto jednotkové výnosu sušiny do vyhodnocení, zjistíme že odrůda Fernandez dosáhla nejvyšší produkce, následována odrůdou Atletico a Cassilas. Oslaj et al. Na Obr.9 jsou výnosy sušiny odrůd a produkce metanu vztažená k jednotce plochy. Při výběru odrůdy kukuřice pro vrobu bioplynu je tedy nutné zohlednit i takové faktory jako je ranost, produkce sušiny na jednotku plochy, agrotechnické nároky odrůdy, abychom plně využili potenciál pěstovaného materiálu a docílili vysoké produkce kvalitního bioplynu.

Obr.9 Výnosy sušiny odrůd a produkce metanu vztažená k jednotce plochy



ZÁVĚR

Cílem této práce bylo ověřit vlastnosti nových energetických odrůd kukuřice pro výrobu bioplynu technologií tekuté anaerobní fermentace v mezofilních teplotních podmínkách. Tento cíl byl splněň, neboť byla zjištěna vysoká produkce kvalitního bioplynu u všech testovaných hybridů. Tyto výsledky testování jsou hodnověrným podkladem pro projektování BPS, které tyto energetické odrůdy kukuřice budou používat ve své substrátové skladbě. Takové podklady dosud praxe postrádala.

LITERATURA

T.Amon, B. Amon, V. Kryvoruchko, W.Zollitsch, K. Mayer, L.Gruber, Biogas production from maize and dairy cattle manure-Influence of bimass composition on the methane yield, Agriculture, Ecosystems and Environment 118 (2007) 173-182

R. Braun and A. Wellinger, Potential of co-digestion, *IEA Bioenergy* (2003) [Task 37].

Chynoweth DP, Turick CE, Owens JM, Jerger DE, Peck MW, Biochemical methane potenciál of biomass and waste feedstocks. Biomass and bioenergy,5, 1993 95-111

Gunaseelan VN, Anaerobic digestion of biomass for methane production: a review, Biomass and Bioenergy, 13, 1997, 83-114

M. Oslaj, B. Mursec, P.Vindis, Biogas production from maize hybrids, Biomass and bioenergy 34 (2010) 1538-1545

Rasi S, Veijanen A, Rintala J., Trace compounds of biogas from different biogas production plants. Energy, 32, 2007, 1375-1380

H. Schulz, B. Eder, Bioplyn v praxi, Hel, Ostrava, 2004, ISBN 80-86167-21-6

S.Schittenhelm, Chemical composition and methane yield of maize hybrids with contrasting maturity, European Journal of Agronomy 29 (2008) 72-79

B. E. Straw, Jeffery J. Zimmerman, Sylvie D´Allaire, David J. Taylor, Diseases of swine, Blackwell Publishing USA, ISBN-13: 978-0-8138-1703-3

Vindis P, Mursec B., Rozman C., Janzekovic M., Cus F., Biogas production with the use of mini digester, Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering, 28, 2008, 99-102

POSSIBILITIES OF HERMETIA ILLUCENS OF TREATMENT BIOWASTE

Kalová M.[1], Borkovcová M.[2]

[1] Department of Agriculture, Food and Environmental Engineering, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Czech Republic

[2] Department 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

Thesis Possibilities of *Hermetia illucens* of treatment biowaste presents an overview of examples and experiences from abroad. This information is used in the implementation of two experiments, in field and laboratory conditions in which it is monitored ability of *Hermetia illucens* to degrade organic material. In both experiments larvae consumed kitchen scraps, potato peels, food waste, grass and excrement of horses, sheep and poultry. In outdoor conditions is consuming slower, depending on the fluctuating temperature, the ideal temperature is 21 °C and higher. In laboratory conditions breeding is possible, as evidenced by the presence of 3.5times greater number of pupae at the end of the experiment in the laboratory than imported larvae. This thesis confirms that the use *Hermetia illucens* for treatment of biodegradable waste in our environment will be possible in all seasons for setting appropriate terms and conditions of imports or artificial breeding *of Hermetia illucens* larvae. 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: municipal waste, insect, Black soldier fly, waste management

ÚVOD

Cílem práce „Možnosti využití bráněnky *Hermetia illucens* při zpracování biologického odpadu“ bylo navržení a základní prozkoumání možností využití dvoukřídlého hmyzu *Hermetia illucens* Linnaeus, *1758* v odpadovém hospodářství. Vlastností *Hermetia illucens*, která je z pohledu odpadového hospodářství výhodná, je nepreference konzumovaného materiálu z hlediska původu. Není tedy nutné odlišovat materiál rostlinného či živočišného původu, jak to vyžadují postupy kompostování i zpracování na bioplyn. První vekou oblastí odpadového hospodářství, kde je možné hmyz využívat, je komunální odpad, a to zejména kuchyňský a zahradní, případně odpady z údržby veřejné zeleně. Povinnost snižování biologického podílu v komunálním odpadu vyplývá ze závazku vůči legislativě Evropské unie. Další oblastí jsou odpady zařazené v Katalogu odpadů do skupiny 02, tj. odpady ze zemědělské a potravinářské produkce. Možnosti využití *Hermetia illucens* v odpadovém hospodářství jsou novým tématem jak na české, tak i na světové úrovni. Snahou této práce je přiblížit tuto možnost české odborné veřejnosti.

MATERIÁL A METODIKA

Experiment probíhal ve dvou plastových nádobách o objemu 15 dm^3, a to v laboratorních a polních podmínkách. Laboratorní podmínky byly vytvořeny nejprve na Ústavu zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství, který byl zvolen pro častou práci s hmyzem a snadnou dostupnost, následně na Ústavu molekulární biologie a radiobiologie, kde byla plastová nádoba s larvami přemístěna do voliéry 60x60x80 cm z mušího pletiva s cílem udržet dospělé jedince v blízkosti potravy a tak vytvořit podmínky pro kladení vajíček. Polní podmínky byly realizovány v areálu Mendelovy univerzity v Brně. Pro účely experimentu byl použit hmyz známý jako forenzní indikátor *Hermetia illucens* (běžnější výraz je Black soldier fly, dále jen BSF), jehož larvy byly objednány z Německa a dovezeny z Polska. Larvy jsou k dostání, jelikož po nich existuje poptávka jako po krmivu plazů, obojživelníků a pavouků. V experimentu bylo použito 800 ks larev malých (průměrná váha 0,1235g, průměrná délka larvy 7,2 mm) a 600 ks larev velkých (průměrná váha 0,1925g, průměrná délka larvy 11,3 mm). Mezi materiál předkládaný jako potrava pro larvy byly zařazeny koňské koblihy, tráva a zejména biologicky rozložitelný komunální odpad, dále jen BRKO (ohryzky, slupky od banánu, slupky z brambor, tvrdé rohlíky a chleba, sáčky od čaje).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Výsledky pokusů potvrzují informace čerpané z literatury i internetových zdrojů, navíc ale přinesly zkušenost s novým druhem hmyzu, který může být využíván pro zpracování biologicky rozložitelného odpadu. Využívání je možné za předpokladu dovozu larev BSF a nastavení přijatelných teplotních podmínek, které určují rychlost a intenzitu konzumace předkládaného materiálu, tedy zpracování biologicky rozložitelného odpadu, dále jen BRO. Pokud teplota neklesne pod 20 °C, tak 800 larev (cca 100 g) zkonzumuje za týden přes 1 kg BRO. Lze uvažovat

i o samostatném chovu *Hermetia illucens* v našich podmínkách, ovšem s uvážením nutnosti zajištění teplot pro rozmnožování a nakladení vajíček nad 26 °C. Laboratorní a jim podobné podmínky chovu jsou náročné jak energeticky, tak ekonomicky. Ulehčující možností může být sloučení chovu *Hermetia illucens* s chovem jiných zvířat, ideálně využívaných pro zpracování odpadů taktéž (nabízená kombinace jsou žížaly pro vermikompostování). Případně za předpokladu kvalitní izolace prostor začlenit chov do drůbeží farmy, která může díky využívání bráněnek *Hermetia illucens* zavést uzavřený cyklus bezodpadové produkce. Přesné nastavení podmínek v celkové organizaci nakládání s odpady by měly přinést další výzkumné práce na tomto tématu. Dalších výzkumné práce jsou vhodné zejména z toho důvodu, že velký potenciál možností BSF není zcela využit. Kromě BRO jako materiál ke konzumaci by jim mohly být předkládány např. kaly z čistíren odpadních vod, výpalky z lihovarnictví a jistě i další odpady, typické svým problematickým zpracováním.

Omezení nakládání s biologicky rozložitelným materiálem je rozebráno v konkrétních bariérách. Legislativní bariéry jsou značně proměnlivé dle aktuálnosti novel zákonů a vzhledem k neznalosti technologie v současnosti striktně nevymezené, přesto ovlivňující další bariéry, a to informační i organizační. 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. Psychologická bariéra může být spatřována v nedůvěře vůči dané technologii či případné štítění spojené s odporem. Environmentální bariéra spočívá v dopadech na jednotlivé složky životního prostředí a následně téměř v ekologické 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 stabilita místních ekosystémů s největší pravděpodobností nebude narušena.

Navrhovaná technologie nelze vnímat v podmínkách České republiky jako plošné či dokonce hromadné řešení. Právě naopak význam má v malém měřítku, konkrétně v domácnostech, zahrádkářských kolonií, na malých farmách a v menších kancelářích, obcích, případně firmách. Použití v domácnostech je reálné ve všech typech zástavby tedy jak venkovské, maloměstské, tak i městské, pokud bude splněna jedna z následujících podmínek: dostupnost balkónu, sklepu či jiného otevřeného prostoru. V případě zahrady ideálně v kombinaci s kompostováním či chovem drůbeže. Vlastnictví biokonverzační jednotky využívání *Hermetia illucens* pro konzumaci BRO usnadní, ale není podmínkou, jak ukázal experiment proběhnuvší na Mendlově univerzitě, kde stačila otevřená plastová nádoba. Dobu konzumace i její efektivnost výrazně navýší uložení larev ve skleníku, kde jsou teploty dlouhodobě vyšší než ve venkovním prostoru. V našich podmínkách lez uvažovat o kontinuálním procesu jen ve vytápěných prostorách, ale i tak za předpokladu nižší konzumace biologicky rozložitelného odpadu. Larvy se musí objednávat (nákup i doprava jsou snadné). Navíc je možné vývoj larev záměrně zpomalovat snížením teploty, např. v době dovolené, menší produkce BRO domácností. Bez dodatkové energie (na vytápění či osvětlení prostor) budou larvy *Hermetia illucens* konzumovat BRO v teplých obdobích, kdy je i zahradního odpadu více

(mimo jiné i trávy, která je do kompostů příliš uléhavá a také odpadů ze zpracování zeleniny a ovoce). Ačkoli se nedá předpokládat masový nárůst využívání navrhovaného postupu a tedy ani výrazný úbytek BRO ukládaného na skládky, nelze tuto cestu zcela zavrhnout, protože i nepatrná část BRO, která nebude ukládána na skládky, ale naopak opětovně využita, má smysl.

ZÁVĚR

Vypracováním této práce bylo potvrzeno, že využití bráněnky *Hermetia illucens* pro zpracování BRO je v našem prostředí možné ve všech ročních obdobích za nastavení vhodných podmínek. Dva námi provedené experimenty umožnily srovnání laboratorních a polních podmínek pro využívání *Hermetia illucens* ke konzumaci BRO. Byly potvrzeny a rozšířeny údaje zjištěné z literatury a internetových zdrojů. Ideální teplota prostředí pro efektivní konzumaci BRO je 21°C, vyjádřeno v číslech: za této teploty 800 larev, tj. cca 100 g hmyzu, zkonzumuje 1 kg BRO týdně. Při nižší teplotě larvy také konzumují předkládaný materiál, ale s menší rychlostí a intenzitou. Podmínky pro chov jsou náročnější, konkrétně vyžadují teploty neklesající pod 26 °C a vhodně nastavené osvětlení, v případě našeho experimentu v laboratorních podmínkách to bylo 80 W/m^2. Díky použití zmiňovaného klimaboxu a voliéry, která bránila odletu much, se dokonce povedlo rozmnožení hmyzu, o čemž svědčí přítomnost 3,5 krát většího počtu dospělých jedinců po ukončení experimentu než dovezených larev. Larvy v rámci pokusů konzumovaly kuchyňské zbytky, slupky brambor, zbytky jídel, trávu a exkrementy koní, ovcí a drůbeže. Možnosti nakládání s dalším vývojovým stádiem, kuklami, je jejich použití jako krmiva pro ryby, drůbež, ptáky, plazy a obojživelníky; anebo je nechat dokončit přirozený vývoj a očekávat nakladení dalších vajíček do odpadu. Tohoto principu využívají drůbeží farmy s uzavřeným koloběhem: larvy konzumují drůbeží trus, drůbež je krmena kuklami, dospělci kladou vajíčka opět do trusu.

Touto prací je tedy potvrzena existence možnosti dalšího způsobu snižování množství BRO ukládaného na skládky v podmínkách České republiky. Přesné nastavení podmínek v celkové organizaci nakládání s odpady by měly přinést další výzkumné práce na tomto tématu. Další zaměření výzkumů na tuto problematiku je vhodné zejména z důvodu velkého potenciálu možností použití BSF v odpadovém hospodářství. Jako materiál ke konzumaci by jim kromě BRO mohly být předkládány např. kaly z čistíren odpadních vod, výpalky z lihovarnictví a jistě i další odpady, typické svým problematickým zpracováním. Ulehčující možností z energetické náročnosti chovu může být sloučení využívání *Hermetia illucens* s chovem jiných zvířat, ideálně používaných pro zpracování odpadů taktéž (nabízená kombinace jsou žížaly pro vermikompostování). Další potenciální oblastí, kde by mohl být hmyz *Hermetia illucens* využit, je předcházení vzniku odpadů.

LITERATURA

BIOPOD, 2011. Databáze online [cit. 2011-03-24]. Dostupné na: http://www.thebiopod.com/

BLACK SOLDIER FLY, 2011. Databáze online [cit. 2011-03-24]. Dostupné na: http://blacksoldierflyblog.com/about/

BLACK SOLDIER FLY, 2011. Databáze online [cit. 2011-03-24]. Dostupné na: http://ipm.ncsu.edu/AG369/notes/black_soldier_fly.html

BORKOVCOVÁ M., 2007: Problematika zdravotních rizik při kompostování bioodpadu, s. 116–117. In: *Sborník z III. Mezinárodní konference biologicky rozložitelné odpady: jejich zpracování a využití v zemědělské a komunální praxi konané 9.–11. října 2007*. ZERA, Náměšť nad Oslavou, 121 s. ISBN 80-903548-3-1.

BYRD J. H., CASTNER J. L., 2010: *Forensic entomology*. The utility of arthropods in legal investigations. Second edition. Tayler and Francis group. 705 s. ISBN: 978-0-8493-92153

ESR INTERNATIONAL, 2011. Databáze online [cit. 2011-03-6]. Dostupné na: http://www.esrint.com/pages/bioconversion.html

GUTIERREZ A., VERGARA RUIZ G.P., MEJIA VELEZ R.A., 2004: Compositional, microbiological and protein digestibility analysis of larval meal of *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyiidae) at Angelopolis-Antioquia, Colombia. *Revista - Facultad Nacional de Agronomia Medellin*, 57(2): 2491-2499.

KALOVÁ M., 2011: Možnosti využití bráněnky *Hermetia illucens* při zpracování biologického odpadu. Diplomová práce (in MS, dep. knihovna MENDELU v Brně), MZLU v Brně, Brno, 65 s.

KALOVÁ M.; BORKOVCOVÁ M., 2011: Možnosti využití bráněnky Hermetia illucens v odpadovém hospodářství, s. 99 In: BRYJA J., ŘEHÁK Z., ZUKAL J. (eds): *Zoologické dny Brno 2011. Sborník abstraktů z konference17.-18. února 2011*. Ústav biologie obratlovců AV ČR, Brno, 282 s. Dostupné na: http://zoo.ivb.cz/doc/sborniky/sbornik_2011.pdf.

KALOVÁ M.; BORKOVCOVÁ M., 2010: Waste management and Hermetia illucens, s. 91. In: ŠKARPA P., CERKAL R., RYANT P. et al. (eds.): *Mendelnet 2010. Sborník abstraktů z konference 24.11.2010*. Agronomická fakulta Mendlovy univerzity v Brně, 168 s. ISBN: 978-80-7375-453-2

MANRIQUE S. P., ROGER I., RODRIQUEZ V. R. I., MANUEL QUIÑONES R. M., QUIRIT A. R., 1999: A case of bovine pseudomysiasis cause Hermetia illucens larva. *Revista Biomedica*, 10 (4), s. 173-176, ISSN 0188-493X.

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.

ROQUES A. (ed) 2010: *Alien terrestrial arthropods of Europe*. 4. Pensoft, 2010. 558 s. Databáze online [cit. 2011-02-31]. Dostupné na: http://pensoftonline.net/biorisk/index.php/journal.

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.

TERRAMUSCA. BIOREPS. Databáze online [cit. 2011-03-03]. Dostupné na: http://www.terramusca.de/cz/bioreps//

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., 2002a: 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., 2002b: Susceptibility of Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) Larvae to Four Insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 95(3): 598-602.

WORKING WORMS. Databáze online [cit. 2011-03-24]. Dostupné na:http://www.working-worms.com/

AUTOMOTIVE SENSORS AND MEASURING THEIR SIGNALS

Koláček S., Černý M.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: tornados@centrum.cz, michalc@mendelu.cz

ABSTRACT

This experiment concerns with the problem of the sensors and their use for electronic systems in the vehicles. The importance and the amount of various types of the sensing units increase as the result of the spreading of electronics. Nowadays, the sensors are irreplaceable sensing organ for modern vehicles and can content more than 70 various sub units. The sensors are generally the first elements of the information flow into the operating system. It is required to bring into the system the minimum deviation or error. Implementation of new materials and the technology of large-scale production leaded to the miniaturization, increasing of the mechanical resistance thereby to higher authenticity of the sensors. This process results to the very high quality and accuracy of the sensing units. In the connection with the control units, they provide the cost-effective operation, the comfort and especially the safety.

Key words: sensors, signal, ABS, ASR, ESP, airbag, engine control unit

ÚVOD

Na současná vozidla jsou kladeny vysoké požadavky. Aby tyto nároky mohly být po celou dobu užívání splněny, musí se do vozidel instalovat mnoho elektricky složitých komponent a součástek. K zajištění bezporuchového chodu se tyto systémy neustále řídí a monitorují ze signálů přijatých právě od senzorů. Snímače jsou tedy jakýmisi smyslovými orgány, které zachycují ze svého okolí mechanické a elektrické podněty a ty převádí signál. Tento signál je nejčastěji dále přiveden do řídicích jednotek a ty po vyhodnocení na něj reagují vhodným předdefinovaným způsobem. Dnešní konstruktéři se snaží, aby co nejvíce řízení vykonávaly za člověka právě snímače, touto cestou lze jednoduše zvýšit komfort a bezpečnost ve vozidle. Z hlediska komfortu nelze opomenout klimatizaci, elektrické nastavování a vyhřívání zrcátek, centrální zamykání. Bezpečnost je zvýšena systémy ASR, ESP, airbagy a také již běžně montovaným ABS. Toto je jen pouze okrajová část, která nás obklopuje. Mnoho důležitých snímačů se vyskytuje především kolem přípravy směsi, a příslušenstvím pohonného agregátu. Opakující se procesy spalování je potřeba neustále snímat a regulovat, aby byly dodrženy tzv. EURO limity a zmírnily se dopady na životní prostředí. Mechanickou cestou by toho nikdy nebylo dosaženo, a když, tak zcela ztěžka nebo s příliš dlouhou odezvou. Snímače moderních aut dovolují motorům pracovat s co nejlepší účinností, při co nejmenší možné spotřebě a vypouštění škodlivin, i přestože se zatížení agregátu prudce mění. Snímače jsou schopny vysílat signály do ŘJ s tak vysokou frekvencí, že řízený objekt se téměř okamžitě reguluje do daných optimálních podmínek. Kdyby dnes nebylo tak masově používáno těchto polovodičových elektrosoučástek, byl by to pro celý automobilový průmysl krok zpět. Nebylo by možno, tak jednoduchým a rychlým způsobem vyhodnocovat nebo diagnostikovat provozní závady jednotlivých systémů. Rovněž by nebylo možno uspokojit náročné požadavky zákazníka, které posunují vyspělost technologií a bezpečnost v automobilech na dnešní úroveň.

MATERIÁL A METODIKA

Experiment proběhl v laboratoři na MENDELU v Brně. Budova motorové zkušebny je nově vystavěna a disponuje špičkovým vybavením. Brzdové stanoviště s vířivým dynamometrem je dimenzováno na maximální brzdový výkon až 240 kW s 600 Nm. S tímto zařízením úzce souvisí další nezbytné systémy pro realizaci náročného měření:

a. Vodní hospodářství vč. systému rozvodů chladící vody.

b. Palivové hospodářství vč. systému rozvodů paliv a maziv.

c. Vzduchotechnika brzdového stanoviště vč. systému rozvodů vzduchotechnických kanálů.

d. Potrubní systém odvodu spalin vč. ventilátoru s příkonem 75 kW pro odvod kouřových plynů.

e. Rozvody tlakového vzduchu např. pro tlumení vibrací od motoru základní deskou.

f. Systém řízení brzdového stanoviště a navazujících obslužných systémů vč. silového a řídícího rozvaděče a rozvodu kabelů.

g. Systém řízení zkoušek motorů, tj. měření, sběr dat a vyhodnocování naměřených hodnot zkoušek spalovacích motorů vč. příslušného rozvaděče a kabelových rozvodů.

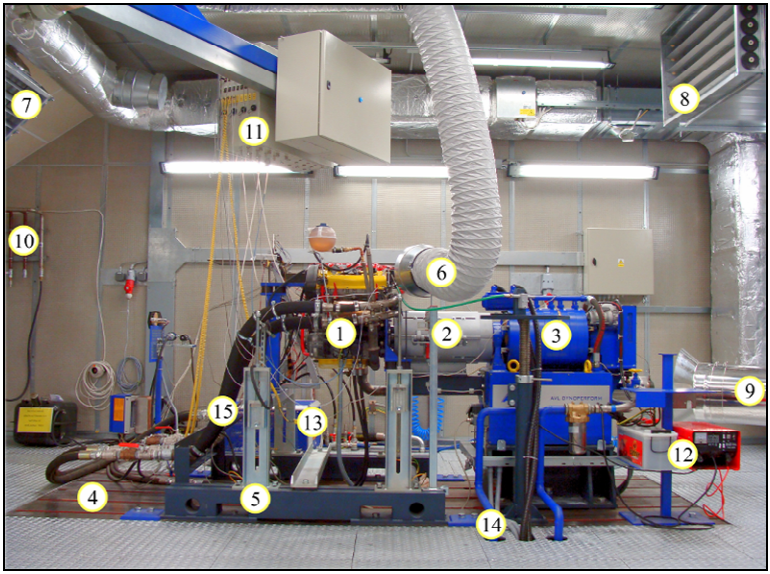
h. Systém havarijní signalizace a zhášecí protipožární systém.

i. Pracoviště techniků a příruční sklad k zajištění provozu brzdového stanoviště.

j. Vytápění/ ventilace prostor s instalovanou technologií.

Tab. 1. Parametry zkoušeného motoru

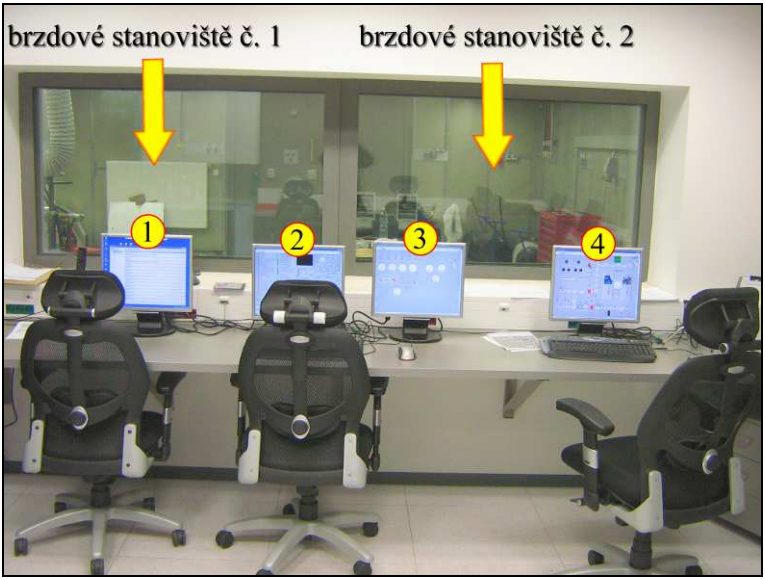
Typ	PRV6, zážehový
Výrobce	Peugeot
Počet válců	6
Počet ventilů	24
Uspořádání válců	do V
Úhel sevření válců	60 °
Vrtání	87 mm
Zdvih	82,6 mm
Zdvihový objem	Vz=3,0 dm^3
Plnění	atmosférické
Kompresní poměr	10,9
Pořadí zapalování	1,6,3,5,2,4
Palivo	benzín Natural 95
Maximální výkon	147 kW



Obr. 1. Pohled na vnitřní prostor motorové zkušebny (MENDELU v Brně)

1. zkoušený motor s příslušenstvím
2. spojovací hřídel mezi motorem a dynamometrem včetně krytu
3. vířivý dynamometr
4. odpružená základní deska (vzduchové měchy)
5. rám pro uchycení motoru
6. přívod spalovacího vzduchu
7. vyústění přiváděného vzduchu do kobky
8. odvod vzduchu
9. odvod spalin
10. přívodní potrubí paliva
11. box pro připojení snímačů
12. akumulátor a soustava pro nabíjení
13. zařízení pro kondici chladicí vody (modrý výměník, umístěný vzadu za motorem, vedle pak výměník pro kondici motorového oleje)
14. odvod chladicí vody z dynamometru
15. chladicí okruh motoru

Na průběh zkoušení a řízení je dohlíženo pracovníky z vedlejší místnosti zvané velín. Tato místnost zajišťuje veškerý komfort obsluhy pro dlouhodobé zkoušení překračující někdy i 800 hodin. Pomoci výpočetní techniky je softwarově řízeno ovládání, sledování chodu a ukládání měřených parametrů motoru. Každý ze čtyř instalovaných monitorů má svoji specifickou funkci. Prvním je ovládána přes sériový port RS 232 řídící jednotka motoru. Druhý řídí dynamometr včetně obslužného hospodářství. Na monitoru 3 se zobrazují měřená data např. teploty a tlaky. Poslední ovládá chlazení, vzduchotechniku apod. Následující obrázek zobrazuje prostor velínu.



Obr. 2. Pohled na velín

Vizualizace a parametrizace laboratorních úloh se provádí na průmyslovém počítači pracujícím pod operačním systémem W7 64 bit a také v programu LabVIEW 2010.

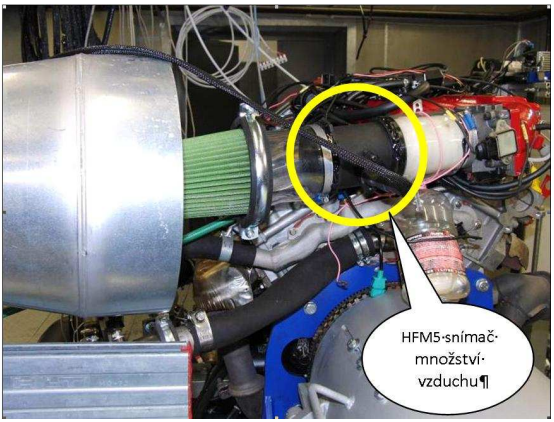
Pro splnění vysokých požadavků na měření bylo nutné zajistit také stálé napájení měřícího systémů včetně jeho jištění a zálohování. Tuto funkci zastává elektrický rozvaděč se třemi spínanými zdroji 2x 24 V a 1x 5 V. U snímačů s nutným přívodem referenčního napětí např. u hmotnosti průtoku vzduchu, je napětí stabilizováno vlastní konstrukcí lineárních stabilizátorů. Kabeláž mezi rozvaděčem a jednotlivými spotřebiči je propojena pomocí WAGO spojek.

Měřící a regulační systém běží na bázi systému od National Instruments s označením CompactRIO. Tento systém obsahuje nutný modul analogových vstupů s napětím v rozsahu 1-5 V, nezbytných právě pro měření objemové účinnosti. Celkem tak lze do něj zapojit osm napěťových a osm proudových vstupů pro měření dalších parametrů, např. spotřeby paliva.

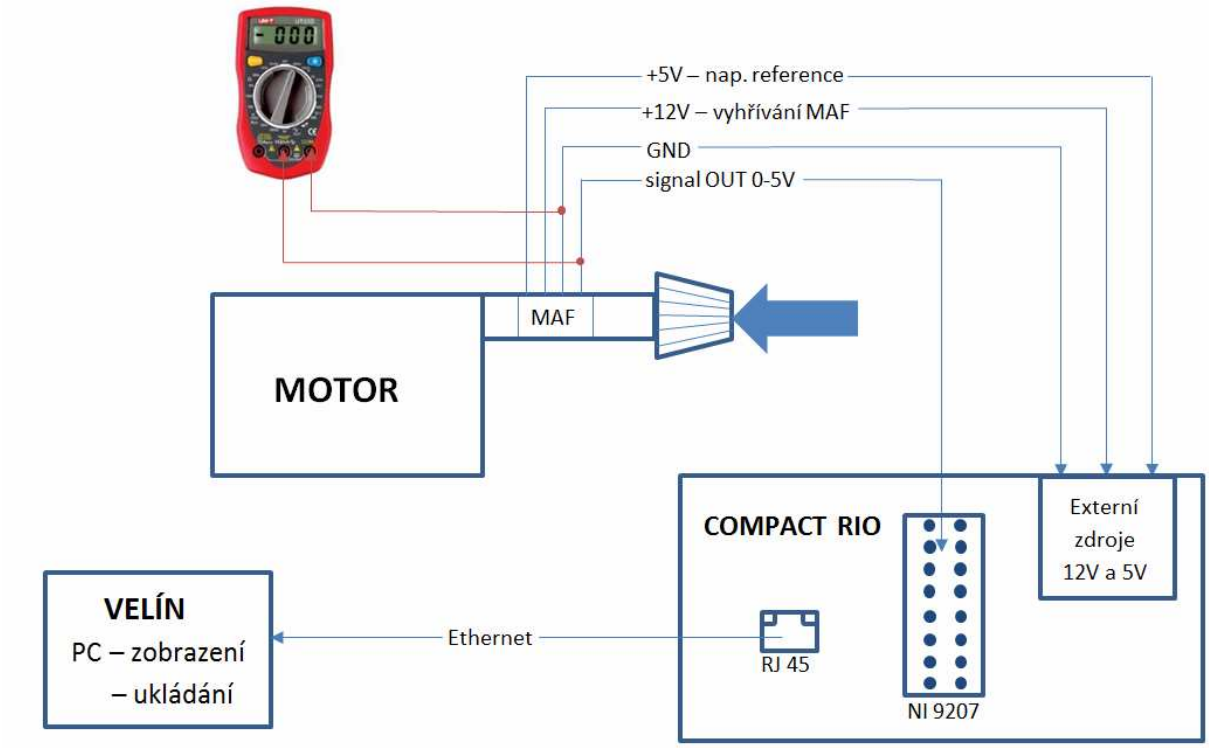
Postup měření

Měření objemové účinnosti je založeno na měření průtoku vzduchu hmotnostním průtokoměrem vzduchu, který je integrován do systému v podobě snímače. Původní řízení motoru nebylo snímačem vybaveno, proto je realizován externě. Vnitřně je modul řešen tak, že jsou možné dva módy. Čistý mód ukazuje skutečný průběh nasávání vzduchu, ovšem u motoru instalovaného v laboratoři se vyskytuje problém s pulzacemi v sacím traktu (jedná se o motor s přímým sáním), proto je standardně zapnuto filtrování. Filtrace je provedena pomocí klouzavého průměru.

Při měření byla dodržena všechna kritéria pro korektní průběh zkoušky. K měření bylo použito snímače hmotnosti vzduchu s vyhřívaným filmem (HFM5), který je umístěn v přímém potrubí sacího traktu. HFM5 senzor je pro laboratorní měření nejvhodnější, protože díky velmi tenké mikromechanické membráně reaguje na změny do 15 ms. Elektronika je navržena tak, aby ŘJ jednotka motoru rozpoznala vadný snímač nebo poruchu třeba v rozpojení konektoru. Po kontrole všech součástí kabeláže a snímače se motor spustil. Motor byl uveden na provozní teplotu. Dynamometr přibrzďoval motor na vybraných otáčkách po dobu 10s, během kterých se vždy naměřilo a vyhodnotilo 100 hodnot. Data byla čtena ze systému CompactRIO. Naměřené hodnoty byly zpracovány a použity pro grafické zobrazení závislosti napětí na průtoku vzduchu. V následujícím kroku byly porovnány s datasheetem výrobce snímače firmy Bosch. Z ostatních dat byla sestrojena otáčková charakteristika motoru a objemová účinnost motoru. Následující obrázky ukazují umístění snímače v sacím potrubí motoru a schéma zapojení MAFu při měření.

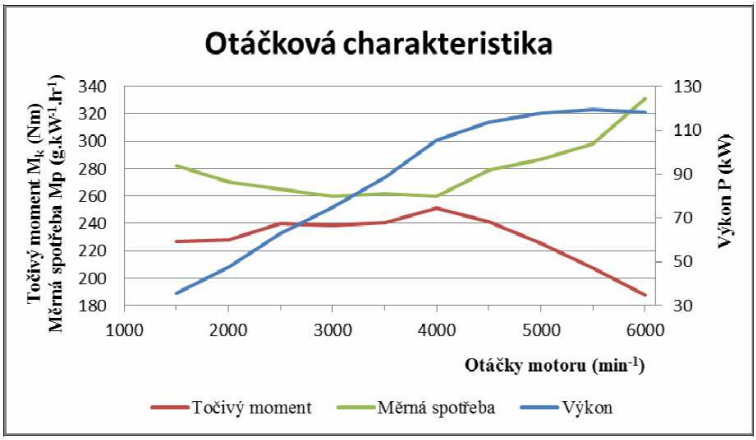


Obr. 3. Umístění snímače množství vzduchu na potrubí přímého sání



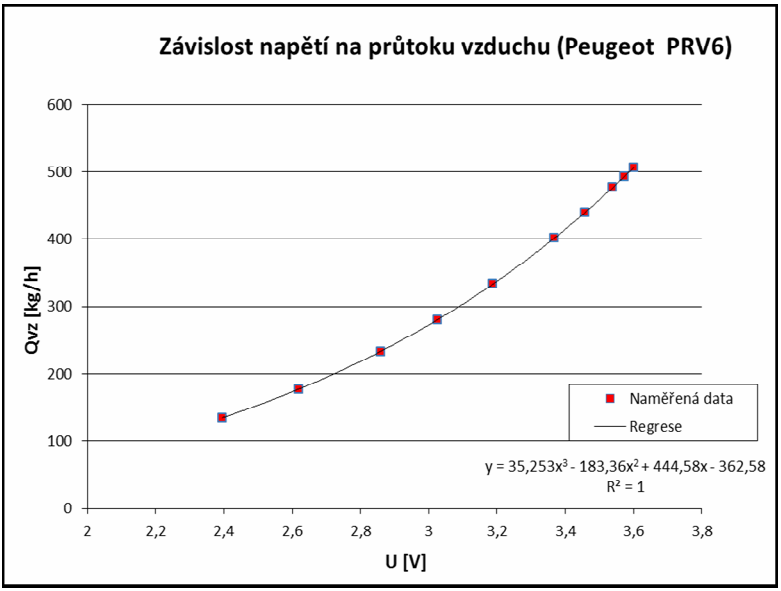
Obr. 4. Schéma měření MAFu na motorové zkušebně (Peugeot PRV6)

VÝSLEDKY A DISKUZE



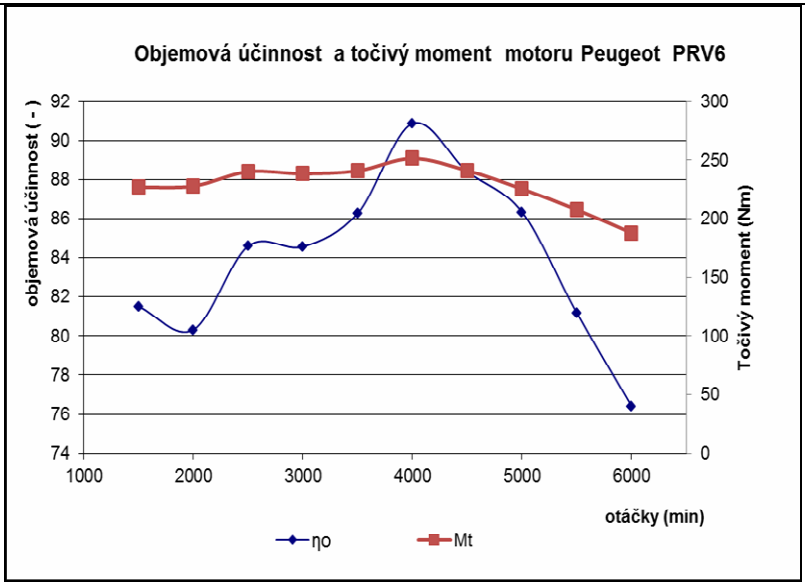
Graf 1. Otáčková charakteristika motoru Peugeot PRV6

Graf 1. zobrazuje otáčkovou charakteristiku motoru Peugeot PRV6. Měření motoru bylo skokově navyšováno vždy o 500 otáček a rozsah byl stanoven na otáčky od 1500 – 6000 za minutu. Z naměřených hodnot byl do grafu vynesen točivý moment Mk, měrná spotřeba Mp, výkon P a otáčky motoru. Z grafu lze vyčíst, že nejvyššího točivého momentu asi 251 Nm motor dosahuje při 4000 otáčkách. Naopak nejnižšího momentu 187 Nm je dosaženo při 6000 otáčkách. Měrná spotřeba 259 g.kW-1.h^{-1} je nejnižší při 3000 otáčkách, těsné druhé místo nejnižší spotřeby zaujímá 260 g.kW-1.h^{-1} při 4000 otáčkách. Nejvyšší spotřeba 331 g.kW-1.h^{-1} je dosažena v 6000 otáčkách. Výkon motoru do 4000 otáček téměř konstantně narůstal, na rozdíl od otáček přesahující 4000, kde průběh již nebyl tak strmý. Nejvyššího výkonu 120 kW je dosaženo při 5500 otáčkách. Nejnižší výkon 36 kW je při 1500 otáčkách.



Graf 2. Závislost napětí na průtoku vzduchu (Peugeot PRV6)

Graf 2 vyjadřuje závislost napětí na průtoku vzduchu u měřeného motoru Peugeot PRV6 v motorové zkušebně. Při brzdění byla škrticí klapka otevřena stále na 55 %. Napětí se při měření pohybovalo od 2,4 V do 3,6 V a množství nasávaného vzduchu od 135 do 506 kg/h. Nejvyšší hodnota průtoku byla naměřena 506 kg/h, které odpovídá napětí 3,6 V a nejnižšímu průtoku 135 kg/h odpovídá napětí 2,4 V.



Graf 3. Objemová účinnost a točivý moment motoru Peugeot PRV6

Graf 3 popisuje průběh objemové účinnosti a točivého momentu při měření motoru Peugeot PRV6. Nejnižšího plnění 76,4 % je dosahováno při 6000 otáčkách s točivým momentem 187 Nm, naopak nejvyšší plnící účinnosti 90,8 % je dosahováno při 4000 otáčkách, kde je zároveň nejvyšší točivý moment 251 Nm. Rovněž si lze povšimnout dvou citelných poklesů objemové účinnosti motoru a to při 2000 a 3000 otáčkách. Zde ve 2000 otáčkách bylo dosaženo objemové účinnosti 80,3 % a ve 3000 otáčkách byla objemová účinnost 84,5 %. Tento jev je zapříčiněn absencí rezonančního plnění, na rozdíl od sériově montovaného motoru do automobilu. Motor instalovaný ve zkušebně má z dřívější zástavby do jiné karosérie upravené sání na přímé. To dokazuje, že jakýkoliv svévolný zásah do konstrukce výrobce, byť i malý, nemusí vždy vést k lepším provozním parametrům.

ZÁVĚR

Význam elektroniky v motorových vozidlech neustále roste. Stále více se vozidla vybavují systémy pro zlepšování pohonu, komfortu a bezpečnosti. Žádný systém se dnes neobejde bez snímače, který pro něj získává důležité informace ze svého okolí. Jejich signály se staly nepostradatelné pro všechny řídicí jednotky, které vykonávají mnoho řídicích a regulačních funkcí. Elektronické zpracovávání signálů poskytuje okamžité vyhodnocení a regulaci sledovaného objektu.

Nezadržitelný pokrok v nových technologiích a materiálech umožnil zlevnit výrobu snímačů natolik, že montáž elektronických systémů se stala zcela běžnou i pro levné automobily. Lze tak ve

všech automobilech najít systém ABS nebo alespoň jeden airbag. Pro dražší vozy se montují systémy inteligentních navigací, ESP, ASR, několikatizónové digitální klimatizace, parkovací asistenti apod. Proto dnes každé vozidlo musí nutně obsahovat několik snímačů.

Smyslem experimentu bylo vytvoření systému měření a ověření na vybraném snímači. K pokusu byl vybrán snímač hmotnosti nasávaného vzduchu s vyhřívaným filmem. Jeho činnost byla ověřena na motoru z osobního automobilu Peugeot 605. V pokusu se vytvořil koncept měření a sestrojil se graf závislosti napětí na průtoku vzduchu. Dále byla vytvořena otáčková charakteristika a objemová účinnost. Nejvyšší objemové účinnosti 90,8 % motor dosahuje při 4000 ot/min^{-1} s nejvyšším točivým momentem 251 Nm. Z průběhu objemové účinnosti byly vypozorovány dva náhlé poklesy a to při 2000 a 3000 otáčkách. Tuto zhoršenou plnící účinnost má na svědomí chybějící variabilní sání motoru. Motor původně pocházející z Peugeotu byl zastavěn do vozu pro závody autokrosu. Tam již variabilní sání zástavbě překáželo a muselo být nahrazeno přímým sáním. Pouze z tohoto důvodu již plně nepracuje rezonanční plnění v celém rozsahu otáček, jak bylo naladěno výrobcem motoru, což měření potvrdilo.

LITERATURA

[1] JAN, Zdeněk, ŽDÁNSKÝ, Bronislav, Automobily 4 : Příslušenství. 2. aktualiz. vyd. Brno : Avid s.r.o., 2003. 223 s.

[2] VLK, František. Elektronické systémy motorových vozidel 1, 1. vyd. Brno : Prof. Ing. František Vlk, DrSc., 2002. 298 s. ISBN 80-238-7282-6

[3] ŠTĚRBA, Pavel. Elektrotechnika motorových vozidel. 1. vyd. Brno : Computer Press a.s., 2008. 174 s.

[4] VLK, František. Automobilová elektronika 1, Asistenční a informační systémy. 1. vyd. Brno : Prof. Ing. František Vlk, DrSc., 2006. 269 s. ISBN 80-239-6462-3

[5] MOTEJL, Vladimír, HOREJŠ, Karel. Učebnice pro řidiče a opraváře. 1. vyd. Brno : Littera, 1998. 504 s. ISBN 80-85763-00-1

[6] VLK, František. Automobilová elektronika 2, Systémy řízení podvozku a komfortní systémy. 1. vyd. Brno : Prof. Ing. František Vlk, DrSc., 2006. 308 s. ISBN 80-239-7062-3

[7] BOSCH: Snímače v motorových vozidlech. Přel. T. Kampán. 1. vyd. Robert Bosch Gmbh, 2001. 148 s. ISBN 80-903132-5-6

[8] KONRAD, Reif. BOSCH: Sensoren im Kraftfahrzeug. 1. vyd. Robert Bosch Gmbh, 2010. 176 s. ISBN 978-3-8348-1315-2

QUANTI-QUALITATIVE ANALYSIS OF ANAEROBIC FERMENTATION OF NEW ENERGY VARIETIES OF SORGHUM

Koutný T., Vítěz T., Haitl M.

Department of Agriculture, Food and Environmental Engineering, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xkoutny@node.mendelu.cz

ABSTRACT

This work deals with the anaerobic treatment of silages of three varieties of sorghum. These are varieties bred specifically for energy purposes by KWS Osiva s.r.o. Tests carried out under mesophilic anaerobic fermentation for 26 days and the dry matter content of 6%. Was compared to biogas production and the biogas quality of the varieties of sorghum.

Key words: Sorghum, anaerobic fermentation, biogas, methane

Acknowledgement: This project was made with support of Internal Grant Agency of The Faculty of Agronomy Mendel University, TP9/2011.

ÚVOD

V současné době došlo díky legislativní podpoře energie z obnovitelných zdrojů k prudkému rozvoji výroby bioplynu a jeho transformaci na elektrickou energii. Vyhláška 482/2005 Sb. stanovuje druhy, způsoby využití a parametry biomasy při podpoře výroby elektřiny. Klasifikuje bioplynové stanice do dvou skupin, podle kterých se určuje výkupní cena vyrobené energie. První skupinu AF1 tvoří bioplynové stanice, ve kterých je zpracovávána cíleně pěstovaná biomasa. Do druhé kategorie AF2 pak patří stanice s využitím odpadů jako vstupního substrátu *[2]*.

Pro zemědělské bioplynové stanice spadající do skupiny AF1 je zpravidla nejvhodnějším a často hlavním nosným substrátem silážovaná kukuřice. Je upřednostněna zejména díky svým vysokým hektarovým výnosům a velké produkci bioplynu. Tato rostlina však působí nepříznivě na kvalitu půdy kde je pěstována. Protože se jedná o širokořádkovou plodinu, nesmí se pěstovat na pozemcích s vysokou svahovitostí, kde by mohlo dojít v případě prudkého deště k erozi půdy. Zároveň z hlediska dobrých osevních postupů je nevhodné zařazovat jednu plodinu vícekrát po sobě. To vše vede k tomu, že se zmenšuje potenciální plocha, na které je možné kukuřici pěstovat.

Z těchto důvodů je vhodné využívat alternativní plodiny, které by byly pro pěstování méně náročné a zároveň by dosáhly dobrých výnosů. Jednou z takových plodin je čirok. Jedná se o teplomilnou rostlinu, která dobře snáší sucho *[4]*. Protože pěstování energetických plodin a výroba energie je již funkční odvětví zemědělství, různé šlechtitelské firmy se zabývají šlechtěním takových odrůd, které budou mít z hlediska produkce bioplynu maximální užitkovost. Jedná se zejména o hektarovou produkci biomasy a množství a kvalitu bioplynu z této biomasy vyrobenou.

MATERIÁL A METODIKA

Testy byly provedeny v Celorepublikové referenční laboratoři Mendelovy univerzity v Brně. Tato laboratoř disponuje šesti anaerobními fermentory o objemu 0,12 m^3. Jednotlivé reaktory jsou ovládány a monitorovány řídící jednotkou. Je zajišťováno jejich promíchávání, vyhřívání na konstantní teplotu a jsou zaznamenávána data o pH a teplotě substrátu uvnitř reaktoru.

Pro testování byl použit inokulační substrát z reaktoru zemědělské bioplynové stanice v Čejči. Jedná se o stanici zpracovávající směs kukuřičné siláže a kejdy. Substrát byl odebrán v množství dostatečném pro všechny reaktory, aby byly zajištěny stejné výchozí podmínky pro všechny reaktory. Do zkušebních reaktorů byl substrát umístěn bezprostředně po transportu, aby došlo k co nejmenším změnám jeho vlastností.

Do jednotlivých reaktorů bylo nadávkováno 0,1 m^3 inokulačního substrátu. První reaktor byl ponechám bez přídavku siláže čiroku jako srovnávací. Do ostatních reaktorů byla přidána siláž jednotlivých odrůd čiroku v takovém množství, aby výsledná sušina směsi byla 6%. Testy

probíhaly za podmínek tekuté mezofilní (40°C) anaerobní fermentace, jež je charakterizována obsahem sušiny do 10% *[3]* po dobu 26dní.

Před zahájením testů bylo změřeno pH, sušina, organická sušina a pufrační kapacita Fos/Tac substrátu z bioplynové stanice a siláží jednotlivých odrůd čiroku.

Během testů byly každý den měřeny tyto parametry:

- celkové množství vzniklého bioplynu pomocí plynoměru PREMGAS BK G4

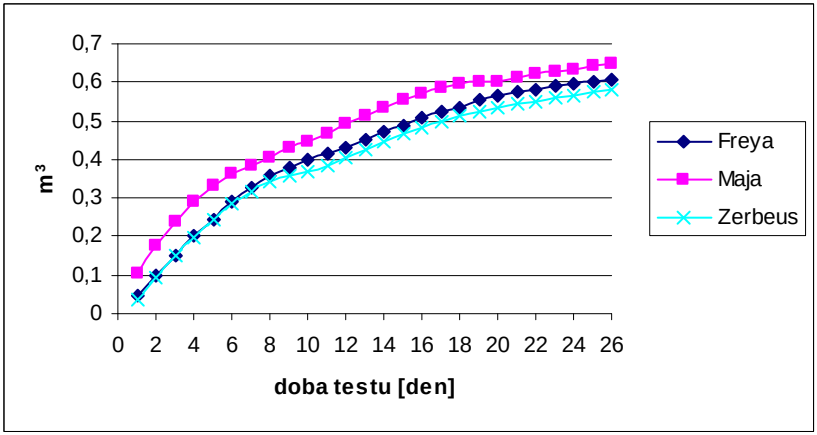
- objemové zastoupení vybraných plynů v bioplynu (CH_4, CO_2, O_2 a H_2S) pomocí přístroje KOMBIGASS

VÝSLEDKY A DISKUZE

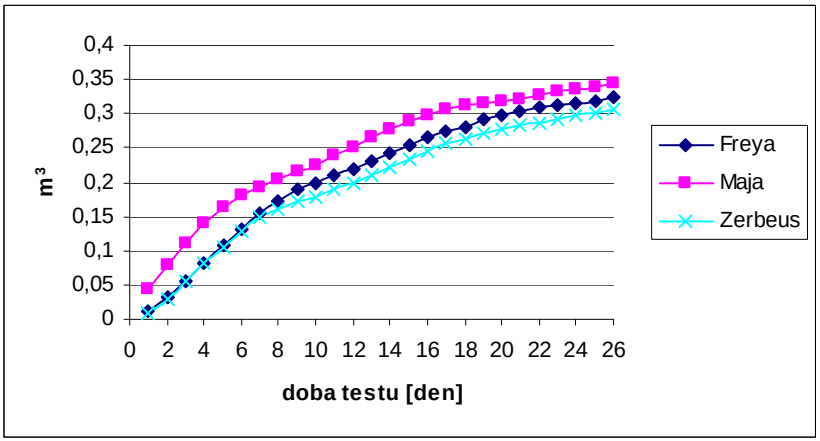
Od celkových produkcí bioplynu jednotlivých reaktorů byla odečtena produkce bioplynu v kontrolním reaktoru. Tím bylo zjištěno skutečné množství bioplynu a metanu vyprodukovaného ze siláží jednotlivých odrůd čiroku. Celkové množství vyprodukovaného bioplynu za dobu 26 dní bylo u odrůdy Maja 0,647 $m^3.kg^{-1}$, u odrůdy Freya 0,605 $m^3.kg^{-1}$ a u odrůdy Zerbeus 0,581 $m^3.kg^{-1}$ (*Obr.1*). Michal Dohányos *[1]* uvádí produkci bioplynu z kukuřičné siláže 0,50 - 0,55 $m^3.kg^{-1}$. Námi testované energetické odrůdy kukuřice dosahovaly produkce bioplynu 0,57-0,63 $m^3.kg^{-1}$.

Z těchto údajů by bylo možné považovat siláž čiroku dokonce za lepší než kukuřičnou siláž. Je nutné ovšem zohlednit, že pro energetické účely není rozhodující množství bioplynu ale množství metanu, jako majoritního nositele energetického potenciálu. Bioplyn produkovaný kukuřičnou silážíí má totiž výrazně vyšší obsah metanu. Pro objektivní posouzení je tedy vhodnější provést přepočet produkce bioplynu na produkci metanu (*Obr.2*). Nejvyšší produkce metanu byla naměřena u odrůdy Maja a to 0,344 $m^3.kg^{-1}$ u odrůdy Freya 0,323 $m^3.kg^{-1}$ a u odrůdy Zerbeus 0,306 $m^3.kg^{-1}$. Produkce metanu u námi testovaných energetických odrůd kukuřice se pohybovala v rozsahu 0,327-0,356 $m^3.kg^{-1}$. Energetický potenciál vztažený na kilogram sušiny je u siláže čiroku tedy mírně nižší než u kukuřičné siláže.

Obr. 1 Graf kumulativní produkce bioplynu na kilogram sušiny

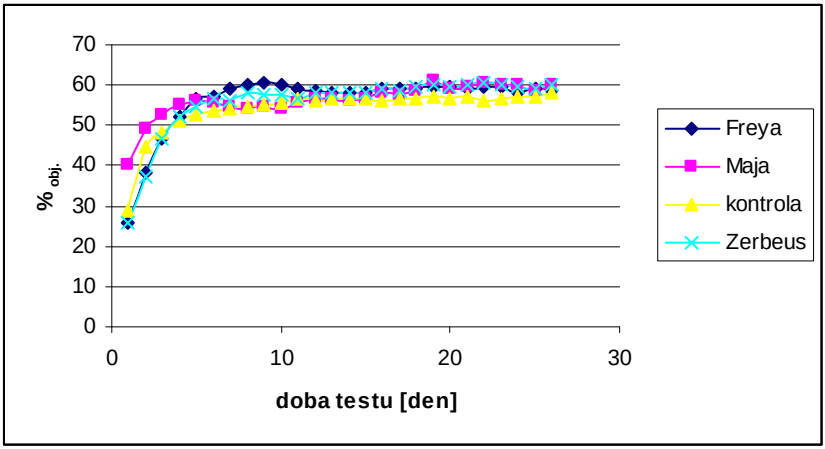


Obr. 2 Graf kumulativní produkce metanu na kilogram sušiny

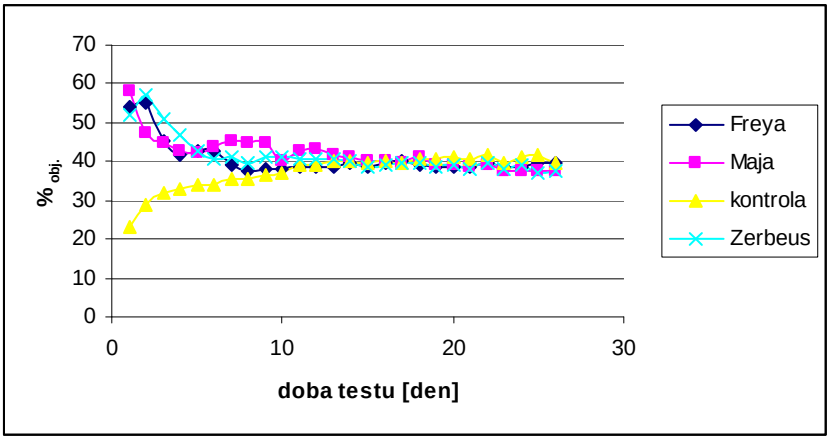


Obsah metanu v bioplynu se u jednotlivých odrůd příliš nelišil a v průběhu testu se pohyboval v rozmezí od 50% do 60%. Pouze na začátku testu byl jeho obsah nižší a postupně narůstal. (*Obr.3*) To je způsobeno obsahem kyslíku bezprostředně po uzavření reaktoru. Nejprve tedy dochází k aerobnímu rozkladu což se projevuje nižším obsahem metanu a naopak zvýšeným obsahem oxidu uhličitého (*Obr.4*). Po úvodních dnech se však hodnoty obsahu těchto plynů ustálily.

Obr. 3 Graf obsahu metanu v bioplynu



Obr. 4 Graf obsahu oxidu uhličitého v bioplynu



ZÁVĚR

Cílem této práce bylo zjistit produkci bioplynu a metanu u nových energetických odrůd čiroku. Siláže odrůd Maya, Freya a Zerbeus dodané firmou KWS osiva s.r.o byly testovány v procesu mezofilní anaerobní fermentace po dobu 26 dní. Z výsledku měření vyplývá, že nelepších parametrů produkce bioplynu a metanu dosáhla odrůda Maja a to 0,647 $m^3.kg^{-1}$ bioplynu a 0,344 $m^3.kg^{-1}$ metanu. Dále pak odrůda Freya 0,605 $m^3.kg^{-1}$ bioplynu a 0,323 $m^3.kg^{-1}$ metanu. Jako třetí v pořadí byla odrůda Zerbeus s produkcí 0,541 $m^3.kg^{-1}$ bioplynu 0,305 $m^3.kg^{-1}$ metanu.

Z porovnání těchto produkcí s ohledem na pěstitelské požadavky a hektarové výnosy je pak možné určit, které odrůdy čiroku se jeví jako nejvhodnější pro pěstování na jednotlivých stanovištích.

LITERATURA

[1] Dohányos M., Procházka J., Kajan M., Diviš J. (2010): Produkce bioplynu z kukuřice, dostupné na: http://www.czba.cz/index.php?art=page&parent=veda-a-vyzkum&nid=produkce-bioplynu-z-kukurice

[2] Koutný T. (2010): Anaerobní zpracování biologicky rozložitelných materiálů, diplomová práce

[3] Schulz H., Eder B. (2004): Bioplyn v praxi : teorie, projektování, stavba zařízení, příklady. ISBN: 80-86167-21-6.

[4] Strašil Z. : Energetické rostliny -2- Čirok, dostupné na: http://stary.biom.cz/biom/6/strasil.html

A STUDY OF BUS TRAJECTORY DURING THE DECELERATE PASSAGE THROUGH A CURVE

Krumpholc T., Bartoň S.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xkrumpho@mendelu.cz

ABSTRACT

In this article the basic concepts of mathematical modeling of active factors impacting the driving kinematics and dynamics of a bus are formulated.

Impacts of velocity, driving course and rate of course changes are analyzed. These are the leading momentum factors which the driver can influence using a steering wheel, accelerator and brake pedal, which are the key operating elements of the vehicle.

On the basis of the preset operating elements it is possible to determine all kinematics and dynamics variables using a derived model defining the trajectory of each point of the vehicle movement.

It is possible to specify the exact range of safe values of key elements that ensure safe and a smooth ride of the bus.

Key words: mathematical modeling, position vector, velocity, acceleration, osculation curve, curvature, trajectory

ÚVOD

Hromadná doprava ve městě se stala neoddělitelnou a nutnou součástí člověka, jako projev života a jeho potřeb. Denně zajišťuje přepravu velkého množství cestujících směřující za prací, povinnostmi, školou, nákupy, sportem, zábavou, koníčky, kulturou, apod.

Dle konkrétních požadavků a potřeb základní obslužnosti města existují druhy hromadných doprav jakožto závislá trakce (tramvaje, trolejbusy) a nezávislá trakce (autobusy).

Autobus-pojem vznikl z dřívějšího označení pro nekolejové vozidlo veřejné hromadné dopravy osob tažené koňmi *Omnibus* a to složením slov AUTO*mobilní omni*BUS. Konstrukční prvky autobusů se v mnohém neliší od nákladních automobilů, kdy se dá říci, že autobus je vlastně přepracovaný nákladní vůz pro přepravu osob.

Autobus městské hromadné dopravy je speciální dopravní prostředek, který je uzpůsoben tak, aby nabízel co nejlepší manévrovatelnost, což s sebou ale přináší také specifická chování v určitých situacích. Rozvor náprav zde hraje velmi významnou roli, protože autobus o délce dvanácti metrů, který má být obratný, musí mít značné převisy karoserie a to jak ve předu, kde řídící kola se nachází až daleko za řidičem, tak vzadu.

Při dnešní produkci autobusů je kladen důraz především na efektivitu provozu, jízdní pohodlí, ale hlavně na bezpečnost přepravovaných osob. Základy mechaniky a fyziky jízdy jsou zde proto velice důležité. Pro řešení dynamiky vozidla ale nestačí vyšetřit pouze dynamiku vozidla, nýbrž je nutné vyjádřit matematicky reakce a jednání řidiče.

Řidič je tak důležitým aktivním prvkem pro bezpečnost v silničním provozu. Určuje rychlost a směr pohybu vozidla a koriguje možnosti stroje s možnostmi prostředí. Ovládá vozidlo řízením, brzděním, popř. zrychlováním. Na toto ovládání reaguje vozidlo tak, že řidič porovnává tyto informace se zadanými požadovanými veličinami a pro dosažení požadovaného kurzu své vozidlo neustále usměrňuje.

Řidič autobusu je určitou formou společenské práce, jako poslední článek dopravního cyklu v osobní přepravě osob. Jeho prací je přeprava cestujících při dodržení jízdního řádu, které však nesmí být na úkor bezpečnosti či komfortu jízdy. Jeho práce je psychology charakterizovaná jako velmi stresová se zodpovědností jak materiální (za vozidlo) tak morální (za cestující). Přispívá k bezpečnosti v silničním provozu a to jak aktivně (odvracením možných střetů), tak pasivně (jeho chování nepřímo ovlivňuje velké množství převážených osob). To, co je pro řidiče důležité je znát základy fyziky a mechaniky jízdy při průjezdu zatáčkou. Velmi důležitou roli zde hraje odstředivá síla, jejíž velikost závisí na poloměru zatáčky a rychlosti průjezdu. Protože se zatím

nepodařilo jednoznačně stanovit souvislost mezi různými jízdními manévry a tzv. subjektivní ovladatelností, tj.vlastnostmi vozidla z hlediska lidských schopností, budeme se zabývat matematickým modelováním pohybu autobusu s ohledem na zásahy řidiče do ovládání tohoto vozu.

MATERIÁL A METODIKA

Práce navazuje na detailní matematický model kinematiky vozidla vypracovaný Krumpholcem a Bartoněm (2011). Využívá stejné vstupní hodnoty konstrukčních parametrů a je opět využito programu Maple. Výše uvedený model proto zde již nebude dále diskutován.

Vzhledem k rozsáhlým tvarům analytických výrazů odvozených v průběhu výpočtu použijeme následující konstrukční substituce, které korespondují s reálnými konstrukčními parametry.

Základní odvozené vztahy

> restart; Počáteční příkaz pro oddělení od předchozích příkazů.

> with(plots): Otevření knihovny příkazů pro grafiku.

> read "Kinem_I.sav"; Použijeme vztahy odvozené Krumpholcem a Bartoňem (2011).

V_x,V_y - vektor rychlosti - rychlost vozidla ve směru osy *x* a *y* jsou derivace souřadnic podle času; A_x, A_y - vektor zrychleni - zrychlení vyjadřuje změnu rychlosti vozidla za jednotku času.

$$V_x := \frac{d}{dt}X(t),\ V_y := \frac{d}{dt}Y(t),\ A_x := \frac{d^2}{dt^2}X(t),\ A_y := \frac{d^2}{dt^2}Y(t) \qquad (1)$$

A_t - tečné zrychlení - udává zrychlení vozidla ve směru tečny k trajektorii, vyjadřuje tedy změnu velikosti rychlosti - brzda / plyn.

$$A_t := \frac{\left(\frac{d}{dt}X(t)\right)\left(\frac{d^2}{dt^2}X(t)\right)+\left(\frac{d}{dt}Y(t)\right)\left(\frac{d^2}{dt^2}Y(t)\right)}{\sqrt{\left(\frac{d}{dt}X(t)\right)^2+\left(\frac{d}{dt}Y(t)\right)}} \qquad (2)$$

A_n - normálové zrychlení - udává zrychlení ve směru kolmém na trajektorii, tedy je úměrné zakřivení trajektorie. Je vždy kolmé na tečné. Vyjadřuje změnu směru rychlosti.

$$A_n := \frac{-\left(\frac{d}{dt}X(t)\right)\left(\frac{d^2}{dt^2}Y(t)\right)+\left(\frac{d^2}{dt^2}X(t)\right)\left(\frac{d}{dt}Y(t)\right)}{\sqrt{\left(\frac{d}{dt}X(t)\right)^2+\left(\frac{d}{dt}Y(t)\right)^2}} \tag{3}$$

AA - absolutní velikost zrychlení, *AV* - absolutní velikost rychlosti - ukazuje tachometr.

$$AV := \sqrt{\left(\frac{d}{dt}X(t)\right)^2+\left(\frac{d}{dt}Y(t)\right)^2}\ ,\ AA := \sqrt{\left(\frac{d^2}{dt^2}X(t)\right)^2+\left(\frac{d^2}{dt^2}Y(t)\right)^2} \tag{4}$$

CO_x CO_y - střed oskulační kružnice - kružnice nejlépe vystihující průběh křivky daného bodu.

$$CO_X := \frac{1}{4}\left(4\left(\frac{d^2}{dt^2}X(t)\right)X(t)\left(\frac{d}{dt}Y(t)\right)+4\left(\frac{d}{dt}X(t)\right)^2\left(\frac{d}{dt}Y(t)\right)\right.$$
$$\left.+4\left(\frac{d}{dt}Y(t)\right)^3-4X(t)\left(\frac{d}{dt}X(t)\right)\left(\frac{d^2}{dt^2}Y(t)\right)\right)\Bigg/ \tag{5}$$
$$\left(-\left(\frac{d}{dt}X(t)\right)\left(\frac{d^2}{dt^2}Y(t)\right)+\left(\frac{d^2}{dt^2}X(t)\right)\left(\frac{d}{dt}Y(t)\right)\right)$$

$$CO_Y := \frac{1}{4}\left(-4\left(\frac{d}{dt}X(t)\right)Y(t)\left(\frac{d^2}{dt^2}Y(t)\right)+4\left(\frac{d^2}{dt^2}X(t)\right)\left(\frac{d}{dt}Y(t)\right)\right.$$
$$\left.-4\left(\frac{d}{dt}X(t)\right)\left(\frac{d}{dt}Y(t)\right)^2-4\left(\frac{d}{dt}X(t)\right)^3\right)\Bigg/ \tag{6}$$
$$\left(-\left(\frac{d}{dt}X(t)\right)\left(\frac{d^2}{dt^2}Y(t)\right)+\left(\frac{d^2}{dt^2}X(t)\right)\left(\frac{d}{dt}Y(t)\right)\right)$$

kappa (κ) - křivost trajektorie, Častěji než poloměr se používá křivost = 1/poloměr oskulační kružnice. Udává velikost zakřivení křivky v daném bodě.

$$\kappa := \frac{-\left(\frac{d}{dt}X(t)\right)\left(\frac{d^2}{dt^2}Y(t)\right)+\left(\frac{d^2}{dt^2}X(t)\right)\left(\frac{d}{dt}Y(t)\right)}{\left(\left(\frac{d}{dt}X(t)\right)^2+\left(\frac{d}{dt}Y(t)\right)^2\right)^{3/2}} \tag{7}$$

XII, YII - souřadnice polohového vektoru - později budou dosazovány za *X(t)* a *Y(t).*

$$XII := \int_0^t \cos\left(\int_0^\tau v(\tau)k(\tau)d\tau\right)v(\tau)d\tau\ ,\ YII := \int_0^t \sin\left(\int_0^\tau v(\tau)k(\tau)d\tau\right)v(\tau)d\tau \tag{8}$$

Trajektorie středu zadní nápravy autobusu při průjezdu zatáčkou

Jízda po kruhové dráze konstantní rychlostí je jednou z nejstarších metod zkoušení ovladatelnosti vozidla. Faktory, ovlivňující trajektorii pohybu při jízdě zatáčkou můžeme rozdělit do dvou skupin**, faktory pasivní** - stavy, které řidič ovlivnit nemůže (sem patří například počasí, konstrukce vozidla, povrch vozovky, opotřebení pneumatik,...) a dále **faktory aktivní** - věci ovlivnitelné řidičem (zejména nájezdová rychlost do zatáčky, poloha pedálu plynu, brzdy a spojky, natočení volantu, volba jízdní stopy,..).

Mezi základní kinematické veličiny, které jsou přímo ovlivnitelné řidičem patří zejména rychlost jízdy a její změna v čase způsobená sešlápnutím plynového nebo brzdového pedálu - tedy tečné zrychlení a dále úhel natočení přední nápravy což nám udává poloměr oskulační kružnice. Obě dvě veličiny může řidič ovládat nezávisle na sobě a spolu s vektorem počáteční rychlosti tak určit budoucí trajektorii vozidla. Naším cílem proto bude stanovit jak změna těchto veličin ovlivňuje budoucí trajektorii autobusu a jeho stabilitu.

Nejprve stanovíme polohový vektor středu zadní nápravy autobusu. Polohový vektor nám poslouží k popisu polohy tělesa a určí nám pohyb hmotného bodu tj.trajektorii pohybu, kterou lze popsat změnou polohového vektoru v čase.

> P:=[XII,YII];

$$P := \left[\int_0^t \cos\left(\int_0^\tau v(\tau) k(\tau) d\tau \right) v(\tau) d\tau, \int_0^t \sin\left(\int_0^\tau v(\tau) k(\tau) d\tau \right) v(\tau) d\tau \right] \tag{9}$$

Dosadíme do vektoru rychlosti, po zjednodušení získáme výsledný tvar.

> V:=subs(X(t)=XII,Y(t)=YII,[Vx,Vy]): > V:=simplify(V);

$$V := \left[\cos\left(\int_0^t v(\tau) k(\tau) d\tau \right) v(t), \sin\left(\int_0^t v(\tau) k(\tau) d\tau \right) v(t) \right] \tag{10}$$

Dále dosadíme do vztahu pro absolutní velikost zrychleni.

> Aa:=subs(X(t)=XII,Y(t)=YII,AA);

$$Aa := \left(\left(\frac{d^2}{dt^2} \left(\int \cos\left(\int v(\tau) k(\tau) d\tau \right) v(\tau) d\tau \right) \right)^2 + \left(\frac{d^2}{dt^2} \left(\int \sin\left(\int v(\tau) k(\tau) d\tau \right) v(\tau) d\tau \right) \right)^2 \right)^{(1/2)} \tag{11}$$

Po zjednodušení dostáváme výsledný tvar.

> Aa:=simplify(Aa,symbolic);

$$Aa := \sqrt{v(t)^4 k(t)^2 + \left(\frac{d}{dt} v(t) \right)^2} \tag{12}$$

Provedeme dosazení numerických hodnot do základních odvozených vztahů analytického řešení k získání trajektorie pohybu autobusu. Jedná se o modelový přiklad autobusu o rozměrech s konstrukčními parametry, kde rozvor náprav $d = 6\ m$, převodový poměr mezi volantem a přední nápravou $n = 2$, počáteční rychlost autobusu $V0 = 7\ m.s^{-1}$, která byla volena, tak aby maximální hodnota normálového zrychlení nepřesáhla $A_n = 2.5\ m.s^{-2}$, což považujeme za bezpečnou hranici při průjezdu zatáčkou.

Numerické hodnoty použité v průběhu výpočtu.

> Su:=[V0=7,n=2,d=6];

$$Su := [V0 = 7, n = 2, d = 6] \tag{13}$$

Trajektorie pro mezní brzdění - rychlost po projetí zatáčky bude nulová

Brzdění v zatáčce je pro aktivní bezpečnost vozidla jedním z nejdůležitějších jízdních testů. Na ovladatelnost vozidla při brzdění v zatáčce mají výrazný vliv zejména tyto parametry: okamžité rozdělení brzdných sil (např.změna zatížení), sklon k nedotáčivosti (přetáčivosti), boční pohyby těžiště (např.změna boční tuhosti pneumatik, výšky těžiště), moment setrvačnosti k svislé ose (např.rozložení nákladu). Mezní brzdění je způsobeno takovým zpomalením a, při kterém autobus zastaví právě v okamžiku výjezdu ze zatáčky.Výsledky budou zobrazeny v grafickém znázornění silnou modrou křivkou.

Postup vychází ze vztahu pro výpočet křivosti k, při průjezdu zatáčkou s nejmenším poloměrem $r_{min} = d\ .n$, kde v = rychlost pohybu vozidla, k = křivost trajektorie, tf je čas výjezdu ze zatáčky.

> v:=unapply(V0-a*t,t); k:=unapply(t*(tf-t)*4/tf^2/d/n,t);

$$v := t \to V0 - a\,t\ ,\quad k := t \to \frac{4\,t\,(tf - t)}{tf^2\,d\,n} \tag{14}$$

Po dosazení za *v* a *k* lze zjednodušit polohový vektor ***P*** na tvar ***PV***.

> PV:=value(P);

$$PV := \left[\int_0^t \cos\left(-\frac{a\tau^4}{tf^2 dn} - \frac{4(-V0 - atf)\tau^3}{3tf^2 dn} - \frac{2V0\tau^2}{tf\, dn} \right)(V0 - a\tau) d\tau, \right.$$
$$\left. \int_0^t -\sin\left(-\frac{a\tau^4}{tf^2 dn} - \frac{4(-V0 - atf)\tau^3}{3tf^2 dn} - \frac{2V0\tau^2}{tf\, dn} \right)(V0 - a\tau) d\tau \right] \tag{15}$$

Podobně lze zjednodušit i vektor rychlosti ***V*** na ***VV***.

> VV:=value(V);

$$VV := \left[\cos\left(-\frac{at^4}{tf^2 dn} - \frac{4(-V0 - atf)t^3}{3tf^2 dn} - \frac{2V0t^2}{tf\, dn} \right)(V0 - at), \right.$$
$$\left. -\sin\left(-\frac{at^4}{tf^2 dn} - \frac{4(-V0 - atf)t^3}{3tf^2 dn} - \frac{2V0t^2}{tf\, dn} \right)(V0 - at) \right] \tag{16}$$

Nejprve je nutné stanovit kritéria pro dokončení průjezdu zatáčkou. Pokud jde o zatáčku o 90° a počáteční rychlost je rovnoběžná s osou x, pak po ukončení zatáčky musí být výsledná rychlost rovnoběžná s osou y a složka rychlosti v ose x musí být rovna 0. Proto musí platit rovnice e1, kde *tf* je čas ukončení průjezdu. Nestačí řešit $V0 - a\,t = 0$, protože by mohlo nastat, že autobus zastaví i někde uvnitř zatáčky.

> e1:=op(1,op(1,VV[1]))=-Pi/2;

$$e1 := -\frac{at^4}{tf^2 dn} - \frac{4(-V0 - atf)t^3}{3tf^2 dn} - \frac{2V0t^2}{tf\, dn} = -\frac{\pi}{2} \tag{17}$$

Vztah *e1* po zjednodušení.

```
> e1:=simplify(subs(t=tf,e1));
```

$$e1 := -\frac{tf\left(-a\,tf + 2V0\right)}{3\,d\,n} = -\frac{\pi}{2} \tag{18}$$

Z rovnice *e1* je možné vypočítat *tf* – dobu průjezdu zatáčkou. Řešení uložíme do proměnné *TF*, která obsahuje dvě řešení, pouze druhé má pro nás fyzikální význam.

```
> TF:=[solve(e1,tf)];
```

$$TF := \left[\frac{2V0 + \sqrt{4V0^2 - 6\,a\,\pi\,d\,n}}{2\,a}, -\frac{-2V0 + \sqrt{4V0^2 - 6\,a\,\pi\,d\,n}}{2\,a}\right] \tag{19}$$

Pokračujeme s nalezeným řešením *TF [2]*.

```
> TF:=TF[2];
```

$$TF := -\frac{-2V0 + \sqrt{4V0^2 - 6\,a\,\pi\,d\,n}}{2\,a} \tag{20}$$

Z hodnoty *tf* lze získat hodnotu mezního zpomalení *A0* – položením výrazu pod odmocninou rovným nule. Z matematického hlediska hledáme dvojnásobný kořen rovnice *e1*.

```
> e2:=op(2,op(2,TF))=0;
```

$$e2 := \sqrt{4V0^2 - 6\,a\,\pi\,d\,n} = 0 \tag{21}$$

Výsledkem je mezní zrychlení, při kterém zastaví autobus na konci zatáčky.

> A0:=solve(e2,a);

$$A0 := \frac{2V0^2}{3\pi d n} \tag{22}$$

Numerická hodnota mezního zrychlení pro zvolené numerické hodnoty.

> a0:=evalf(subs(Su,A0));

$$a0 := 0.8665102454 \tag{23}$$

Vypočtená numerická hodnota pro finální čas průjezdu.

> Tfs:=evalf(subs(a=A0,Su,TF));

$$Tfs := 8.078381109 \tag{24}$$

Protože i ve zjednodušeném tvaru lze integrály ve výsledných vztazích řešit pouze numericky provedeme všechny následující výpočty potřebné pro tvorbu grafů pro 200 časových okamžiků.

> T:=Tfs/200*[$0..200]:

Polohový vektor pro zadané numerické hodnoty.

> PVs:=subs(Su,a=a0,tf=Tfs,PV):

200 polohových vektorů.

> TR:=[seq(evalf(PVs),t=T)]:

Trajektorie pro *a=A0.*

> GTA0:=plot(TR,thickness=2,color=blue):

Vektor rychlosti pro zadané numerické hodnoty.

> VVs:=subs(Su,a=a0,tf=Tfs,VV):

Podmínky k vektoru rychlosti.

> TV:=[seq(evalf(VVs),t=T)]:

Graf vektoru rychlosti pro *a=A0*.

```
> GVA0:=plot(TV,color=blue,thickness=2):
```

Absolutní velikost vektoru zrychleni pro zadané numerické hodnoty.

```
> AAs:=subs(Su,a=a0,tf=Tfs,Aa):
```

Graf absolutní velikosti zrychleni pro *a=A0*.

```
> GAA0:=plot(AAs,t=0..Tfs,numpoints=1000,color=blue,thickness=2):
```

Zobrazení trajektorie autobusu pro hodnoty zpomalení z intervalu (0, mezní zpomalení A0)

Výpočet je velmi podobný předešlému, jen se mění hodnota zpomalení *a* ve funkci rychlosti *v*, viz rovnice (14), tím se mění i odpovídající časy průjezdu zatáčkou *tf*, viz rovnice (20) . Odpovídající trajektorie jsou zakresleny černou barvou.

```
> nu:=25:
> for j from 1 to nu-1 do;
> Su:=[V0=7,a=a0/nu*j,n=2,d=6];
> Tfs:=evalf(subs(Su,TF));
> PVs:=subs(Su,tf=Tfs,PV);
> T:=Tfs/100*[$0..100];
> TR:=[seq(evalf(PVs),t=T)];
> Q1[j]:=plot(TR,color=black):
> VVs:=subs(Su,tf=Tfs,VV);
> TV:=[seq(evalf(VVs),t=T)];
> Q2[j]:=plot(TV,color=black):
> AAs:=subs(Su,tf=Tfs,Aa);
> Q3[j]:=plot(AAs,t=0..Tfs,numpoints=1000,color=black):
> print(j);
> end do:
```

Výpočet pro průjezd zatáčky konstantní rychlostí

Funkce *v* udávající závislost rychlosti autobusu na čase bude velmi jednoduchá . Postup výpočtu je velmi podobný předchozímu. Proto nebude příliš podrobně komentován. Je ve výsledcích zobrazen silnou červenou křivkou.

> v:=unapply(V0,t);

$$v := t \to V0 \tag{25}$$

Tvar polohového vektoru po dosazení.

> PV:=value(P);

$$PV := \left[\int_0^t \cos\left(\frac{4V0\tau^3}{3tf^2 d n} - \frac{2V0\tau^2}{tf\, d n} \right) V0\, d\tau, \int_0^t -\sin\left(\frac{4V0\tau^3}{3tf^2 d n} - \frac{2V0\tau^2}{tf\, d n} \right) V0\, d\tau \right] \tag{26}$$

Tvar vektoru rychlosti po dosazení.

> VV:=value(V);

$$VV := \left[\cos\left(\frac{4V0t^3}{3tf^2 d n} - \frac{2V0t^2}{tf\, d n} \right) V0, -\sin\left(\frac{4V0t^3}{3tf^2 d n} - \frac{2V0t^2}{tf\, d n} \right) V0 \right] \tag{27}$$

Zatáčka je ukončena, když je rychlost v ose *x* nulová, což znamená, že cos*(-π/2)=0*.

> e1:=simplify(subs(t=tf,op(op(1,VV[1]))))=-Pi/2;

$$e1 := -\frac{2tf\, V0}{3d n} = -\frac{\pi}{2} \tag{28}$$

Získáme obecný čas ukončení průjezdu autobusu zatáčkou.

> TF:=solve(e1,tf);

$$TF := \frac{3\pi d\, n}{4V0} \tag{29}$$

Čas ukončeni zatáčky pro zvolené numerické hodnoty *Su*.

> Tfs:=evalf(subs(Su,TF));

$$Tfs := 4.039190556 \tag{30}$$

Výpočet se provede pro 200 časových okamžiků.

> T:=Tfs/200*[$0..200]:

Dosadíme numerické hodnoty do vztahu pro polohový vektor.

> PV:=value(subs(tf=Tfs,Su,P)):

Vypočteme polohy pro jednotlivé časy *T*.

> TR:=[seq(evalf(PV),t=T)]:

Získáme trajektorii pro *a=0* zobrazena v grafickém znázornění – Graf č. 1 – silná červená křivka.

> GTV0:=plot(TR,thickness=2,color=red):

Dosadíme numerické hodnoty do vztahu pro vektor rychlosti.

> VVs:=subs(Su,tf=Tfs,VV):

Vypočteme vektor rychlosti pro časy *T*.

> TV:=[seq(evalf(VVs),t=T)]:

Získáme vektor rychlosti pro *a=0* viz. grafické znázornění – Graf č.2 – silná červená křivka.

> GVV0:=plot(TV,color=red,thickness=2):

Dosadíme numerické hodnoty do vztahu pro absolutní velikost vektoru zrychleni.

> AAs:=subs(Su,tf=Tfs,Aa):

Dostáváme grafické znázornění absolutní velikosti zrychlení pro *a=0*, viz. Graf č.3 – silná červená křivka.

> GA0:=plot(AAs,t=0..Tfs,numpoints=1000,color=red,thickness=2):

Trajektorie autobusu při ustáleném zatáčení (červená-nebrzděná, modrá-brzděná do zastavení, *černá-zpomalení v intervalu (0, a0)*), viz.Graf č.1.

> display({GTV0,GTA0,seq(Q1[j],j=1..nu-1)},labels=["x [m]","y [m]"]);

Vektory rychlosti *[Vx, Vy]* (červená-nebrzděná, modrá-brzděná do zastavení, *černá-zpomalení v intervalu (0, a0)*), viz. Graf č.2.

> display({GVV0,GVA0,seq(Q2[j],j=1..nu-1)},labels=["Vx [m/s]","Vy [m/s]"]);

Absolutní velikost zrychlení v závislosti na čase (červená-nebrzděná, modrá-brzděná do zastavení, *černá-zpomalení v intervalu (0, a0)*), viz. Graf č.3.

> display({GA0,GAA0,seq(Q3[j],j=1..nu-1)},labels=["t [s]","|A| [m/s2]"]);

V závěru této části výpočtu docházíme ke zjištění, že pro mírné brzdění se tvary trajektorií příliš neliší od nebrzděné trajektorie. Proto následuje sledování trajektorie jednotlivých kol, které bude prováděno pouze pro rovnoměrný pohyb.

Sledování trajektorie jednotlivých kol autobusu

Nejprve musíme vytvořit správný matematický model autobusu, kde využijeme obecný jednotkový vektor ve směru rychlosti autobusu ***eV*** a dále obecný jednotkový vektor kolmý na směr rychlosti autobusu ***eN***. Pomocí těchto vektorů lze získat polohu jednotlivých kol autobusu, *Kzp* – kolo zadní pravé, *Kzl* – kolo zadní levé, *Kpp* – kolo přední pravé, *Kpl* – kolo přední levé. Aby se všechny výpočty provedly pouze jednou je použita nová proměnná $Kolo=P+\delta\,\boldsymbol{eV}+p\,\boldsymbol{eN}$ ze které se dají souřadnice jednotlivých kol autobusu odvodit podle vztahu:

$Kzp:\ \delta=0,\ p=-r/2,\ Kzl:\ \delta=0,\ p=+r/2,\ Kpp:\ \delta=d,\ p=-r/2,\ Kpl:\ \delta=d,\ p=+r/2,$

kde d = rozvor náprav a r = rozchod náprav autobusu. Tento postup umožní výpočty pro všechna kola provést pouze jednou pro proměnnou Kolo a do té pak dosadit podle výše uvedeného schématu.

```
> Kolo:='P'+delta*'eV'+p*'eN';
```

$$Kolo := P + \delta\, eV + p\, eN \tag{31}$$

eV - jednotkový vektor směru rychlosti.

```
> eV:=map(u->u/V0,V);
```

$$eV := \left[\cos\left(\int_0^t \frac{4V0\,\tau\,(tf-\tau)}{tf^2\,d\,n}\,d\tau\right), \sin\left(\int_0^t \frac{4V0\,\tau\,(tf-\tau)}{tf^2\,d\,n}\,d\tau\right)\right] \tag{32}$$

eN - jednotkový vektor, kolmý na směr rychlosti.

```
> eN:=[eV[2],-eV[1]];
```

$$eN := \left[\sin\left(\int_0^t \frac{4V0\,\tau\,(tf-\tau)}{tf^2\,d\,n}\,d\tau\right), -\cos\left(\int_0^t \frac{4V0\,\tau\,(tf-\tau)}{tf^2\,d\,n}\,d\tau\right)\right] \tag{33}$$

Souřadnice kol po zjednodušení.

> Kolo:=simplify(Kolo): > Kolo:=simplify(combine(subs(tf=TF,value(expand(Kolo)))));

$$Kolo := \left[V0 \int_0^t \cos\left(\frac{8V0^2\,\tau^2(9\pi d\,n - 8\tau V0)}{27\pi^2 d^3 n^3} \right) d\tau + \delta \cos\left(\frac{8V0^2\,t^2(9\pi d\,n - 8tV0)}{27\pi^2 d^3 n^3} \right) + p \sin\left(\frac{8V0^2\,t^2(9\pi d\,n - 8tV0)}{27\pi^2 d^3 n^3} \right), \right.$$
$$\left. V0 \int_0^t \sin\left(\frac{8V0^2\,\tau^2(9\pi d\,n - 8tV0)}{27\pi^2 d^3 n^3} \right) d\tau + \delta \sin\left(\frac{8V0^2\,t^2(9\pi d\,n - 8tV0)}{27\pi^2 d^3 n^3} \right) - p \cos\left(\frac{8V0^2\,t^2(9\pi d\,n - 8tV0)}{27\pi^2 d^3 n^3} \right) \right] \tag{34}$$

Souřadnice kol po dosazení zvolených numerických hodnot.

> kolo:=subs(Su,Kolo);

$$kolo := \left[7 \int_0^t \cos\left(\frac{49\tau^2(108\pi - 56\tau)}{5832\pi^2} \right) d\tau + \delta \cos\left(\frac{49\tau^2(108\pi - 56\tau)}{5832\pi^2} \right) + p \sin\left(\frac{49\tau^2(108\pi - 56\tau)}{5832\pi^2} \right), 7 \int_0^t \sin\left(\frac{49\tau^2(108\pi - 56\tau)}{5832\pi^2} \right) d\tau \right.$$
$$\left. + \delta \sin\left(\frac{49\tau^2(108\pi - 56\tau)}{5832\pi^2} \right) - p \cos\left(\frac{49\tau^2(108\pi - 56\tau)}{5832\pi^2} \right) \right] \tag{35}$$

Souřadnice kol ve 200 časových okamžicích.

> KTR:=[seq(evalf(kolo),t=T)]:

Souřadnice kol ve tvaru vhodném pro dosazeni do předem připravených vzorců.

> X(t):=kolo[1]; Y(t):=kolo[2];

$$X(t) := 7\int_0^t \cos\left(\frac{49\tau^2(108\pi-56\tau)}{5832\pi^2}\right)d\tau + \delta\cos\left(\frac{49\tau^2(108\pi-56\tau)}{5832\pi^2}\right) + p\sin\left(\frac{49\tau^2(108\pi-56\tau)}{5832\pi^2}\right)$$

$$Y(t) := 7\int_0^t \sin\left(\frac{49\tau^2(108\pi-56\tau)}{5832\pi^2}\right)d\tau + \delta\sin\left(\frac{49\tau^2(108\pi-56\tau)}{5832\pi^2}\right) - p\cos\left(\frac{49\tau^2(108\pi-56\tau)}{5832\pi^2}\right) \quad (36)$$

Trajektorie jednotlivých kol (*Kzp*-červená, *Kzl*-zelená, *Kpp*-zlatá, *Kpl*-modrá), viz. Graf č.4.

>G1:=plot([subs(p=0.8,delta=0,KTR),subs(p=-0.8,delta=0,KTR),subs(p=0.8,delta=6,KTR),subs(p=-0.8,delta=6,KTR)],scaling=constrained,thickness=2,labels=["x [m]","y [m]"]): G1;

Trajektorie kol a poloha autobusu v 11 časových okamžicích, viz. Graf č.5.

>display({G1,polygonplot([seq([subs(p=0.8,delta=0,KTR[j+1]),subs(p=-0.8,delta=0,KTR[j+1]),subs(p=-0.8,delta=6,KTR[j+1]),subs(p=0.8,delta=6,KTR[j+1])],j=20*[$0..10])],scaling=constrained)});

Vektory rychlosti jednotlivých kol (*Kzp*-červená, *Kzl*-zelená, *Kpp*-zlatá, *Kpl*-modrá), viz. Graf č.6.

>plot([subs(p=0.8,delta=0,[Vx,Vy,t=0..Tfs]),subs(p=-0.8,delta=0,[Vx,Vy,t=0..Tfs]),subs(p=0.8,delta=6,[Vx,Vy,t=0..Tfs]),subs(p=-0.8,delta=6,[Vx,Vy,t=0..Tfs])],thickness=2,labels=["Vx [m/s]","Vy [m/s]"]);

Absolutní velikost rychlosti jednotlivých kol (*Kzp*-červená, *Kzl*-zelená, *Kpp*-zlatá, *Kpl*-modrá), viz. Graf č.7.

>plot([subs(p=0.8,delta=0,AV),subs(p=-0.8,delta=0,AV),subs(p=0.8,delta=6,AV),subs(p=-0.8,delta=-6,AV)],t=0..Tfs,thickness=2,labels=["t [s]","|V| [m/s]"]);

Vektory zrychlení *[Ax, Ay]* (*Kzp*-červená, *Kzl*-zelená, *Kpp*-zlatá, *Kpl*-modrá), viz. Graf č.8.

>plot([subs(p=0.8,delta=0,[Ax,Ay,t=0..Tfs]),subs(p=-0.8,delta=0,[Ax,Ay,t=0..Tfs]),subs(p=0.8,delta=6,[Ax,Ay,t=0..Tfs]),subs(p=-0.8,delta=6,[Ax,Ay,t=0..Tfs])],thickness=2,labels=["Ax [m/s2]","Ay [m/s2]"]);

Vektory zrychlení *[At, An]* (*Kzp*-červená, *Kzl*-zelená, *Kpp*-zlatá, *Kpl*-modrá), viz. Graf č.9.

>plot([subs(p=0.8,delta=0,[At,An,t=0..Tfs]),subs(p=-0.8,delta=0,[At,An,t=0..Tfs]),subs(p=0.8,delta=6,[At,An,t=0..Tfs]),subs(p=-0.8,delta=6,[At,An,t=0..Tfs])],thickness=2,labels=["At [m/s2]","An [m/s2]"]);

Absolutní velikost zrychlení jednotlivých kol (*Kzp*-červená, *Kzl*-zelená, *Kpp*-zlatá, *Kpl*-modrá), viz. Graf č.10.

>plot([subs(p=0.8,delta=0,AA),subs(p=-0.8,delta=0,AA),subs(p=0.8,delta=6,AA),subs(p=-0.8,delta=6,AA)],t=0..Tfs,thickness=2,labels=["t [s]","|A| [m/s2]"]);

Středy křivosti jednotlivých kol (*Kzp*-červená, *Kzl*-zelená, *Kpp*-zlatá, *Kpl*-modrá), ,viz. Graf č.11.

>plot([subs(p=0.8,delta=0,[COx,COy,t=0..Tfs]),subs(p=-0.8,delta=0,[COx,COy,t=0..Tfs]),subs(p=0.8,delta=6,[COx,COy,t=0..Tfs]),subs(p=-0.8,delta=6,[COx,COy,t=0..Tfs])],view=[-20..10,10..20],thickness=2,labels=["COx [m]","COy [m]"]);

Středy křivosti – detail předních kol (*Kpp*-zlatá, *Kpl*-modrá), viz. Graf č.12.

> plot([subs(p=0.8,delta=6,[COx,COy,t=0..Tfs]),subs(p=-0.8,delta=6,[COx,COy,t=0..Tfs])],view=[0..7,11..15],thickness=2,labels=["COx [m]","COy [m]"],color=[blue,gold]);

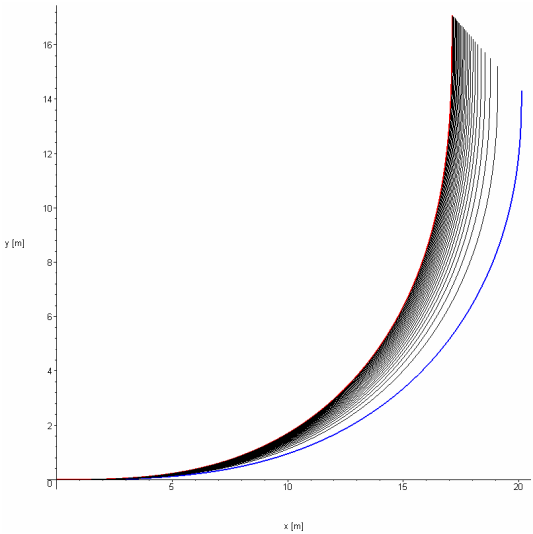
Křivosti dráhy jednotlivých kol (*Kzp*-červená, *Kzl*-zelená, *Kpp*-zlatá, *Kpl*-modrá), viz. Graf č.13.

>plot([subs(p=0.8,delta=0,Kappa),subs(p=-0.8,delta=0,Kappa),subs(p=0.8,delta=6,Kappa),subs(p=-0.8,delta=6,Kappa)],t=0..Tfs,thickness=2,labels=["t [s]","k [1/m]"]);

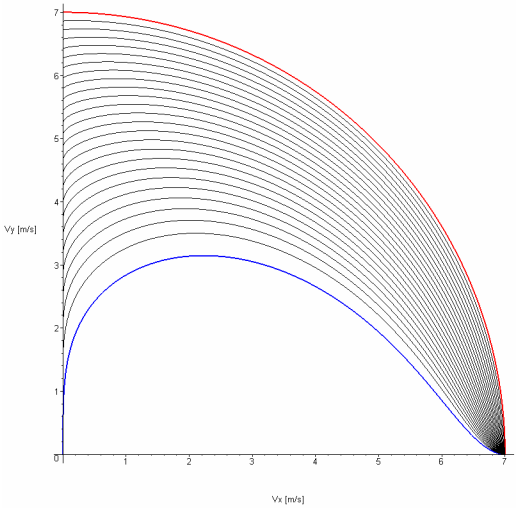
VÝSLEDKY A DISKUZE

Při konstantním a také při mezním brzdění se tvar trajektorie mění jen nepatrně, a z hlediska geometrie zůstává trajektorie autobusu téměř nezměněna, viz. Graf č. 1. Z Pohledu průběhu vektoru rychlosti se maximum rychlosti ve směru osy y přesouvá z hodnoty *tf* (doba výjezdu ze zatáčky) do kratších časových okamžiků a to v závislosti na velikosti zpomalení, viz. Graf č.2. Absolutní velikost zrychlení autobusu (odstředivé zrychlení + zpomalení) se při maximum velikosti zrychlení snižuje v závislosti na velikosti zpomalení autobusu, přičemž okamžik dosažení maxima se příliš nemění, viz. Graf č.3.

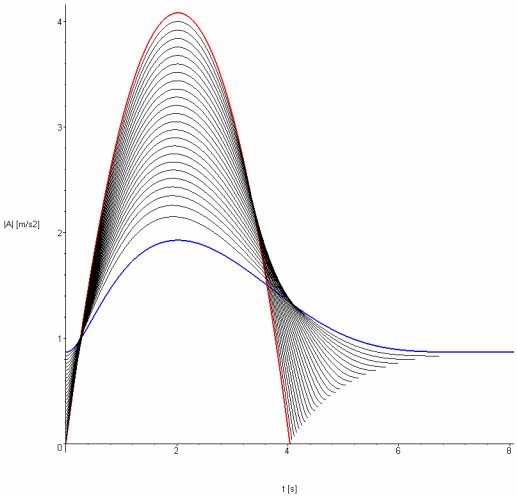
Je zřejmé, že trajektorie každého kola autobusu je jiná a tím pádem i všechny kinematické veličiny, odpovídající jednotlivým kolům jsou navzájem různé, viz. Grafy č. 4-10. Je vhodné zdůraznit skutečnost, že středy křivosti trajektorie zadních kol jsou totožné, ale odlišné od středu křivosti trajektorie kol předních, které jsou navíc navzájem různé, viz Graf č. 11 a Graf č. 12. Křivosti dráhy jednotlivých kol jsou zobrazeny viz. Graf č.13.



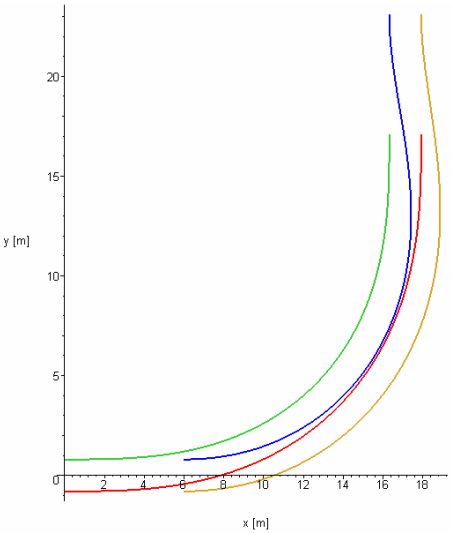
Graf 1. Trajektorie autobusu při ustáleném zatáčení (červená-nebrzděná, modrá-brzděná do zastavení, černá-zpomalení v intervalu (0, a0))



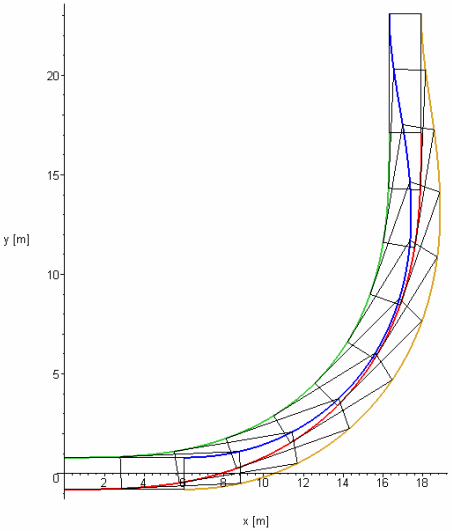
Graf 2. Vektory rychlosti [Vx, Vy] (červená-nebrzděná, modrá-brzděná do zastavení, černá-zpomalení v intervalu (0, a0))



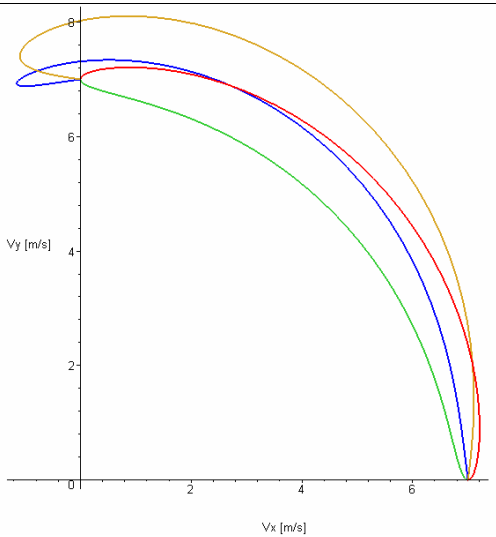
Graf 3. Absolutní velikost zrychlení v závislosti na čase (červená-nebrzděná, modrá-brzděná do zastavení, černá-zpomalení v intervalu (0, a0)), a0 – mezní brzdění



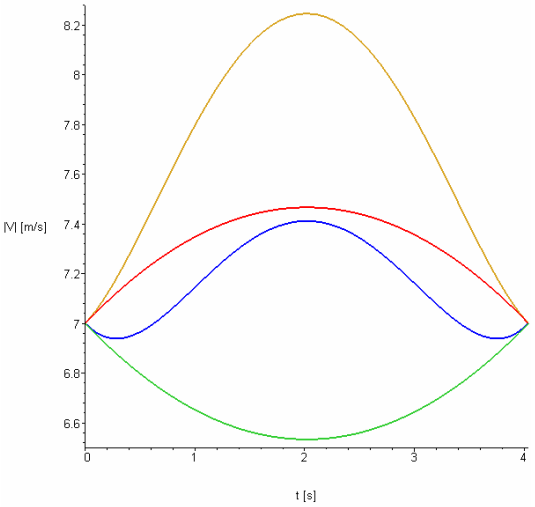
Graf 4. Trajektorie jednotlivých kol (Kzp-červená, Kzl-zelená, Kpp-zlatá, Kpl-modrá)



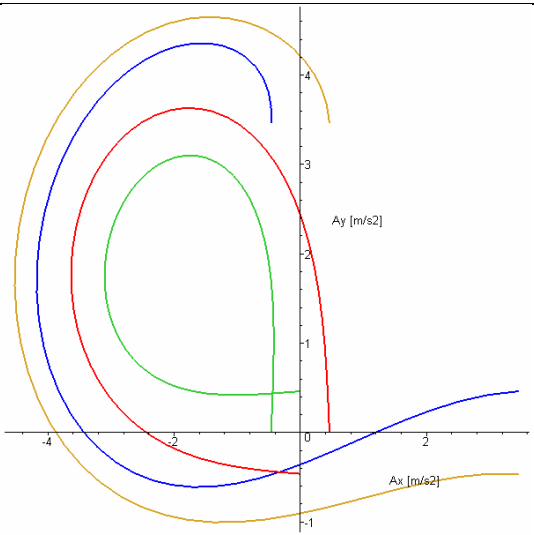
Graf 5. Trajektorie kol a poloha autobusu v jedenácti časových okamžicích



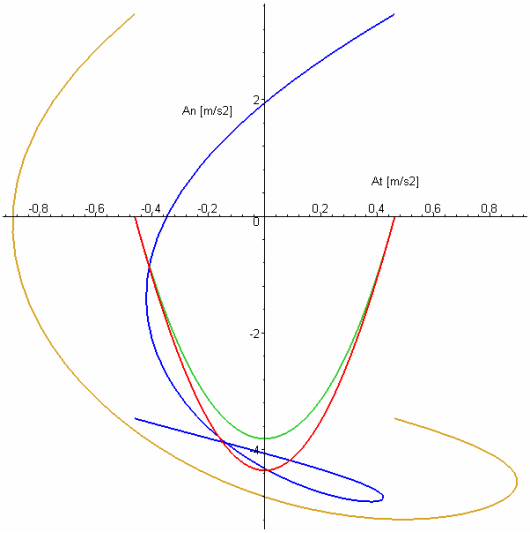
Graf 6. Vektory rychlosti [Vx, Vy] jednotlivých kol (Kzp-červená, Kzl-zelená, Kpp-zlatá, Kpl-modrá)



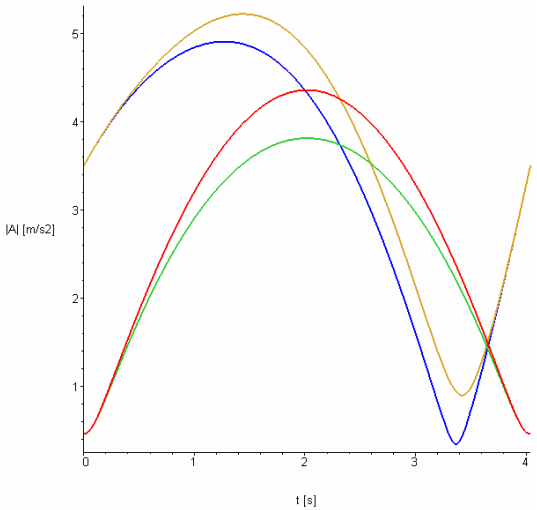
Graf 7. Absolutní velikost rychlosti jednotlivých kol (Kzp-červená, Kzl-zelená, Kpp-zlatá, Kpl-modrá)



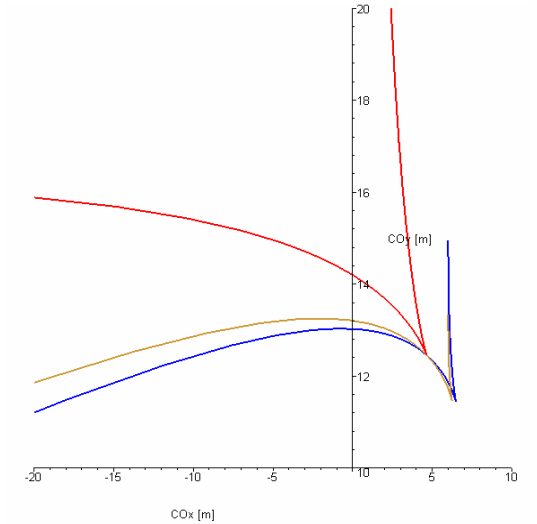
Graf 8. Vektory zrychlení [Ax, Ay] (Kzp-červená, Kzl-zelená, Kpp-zlatá, Kpl-modrá)



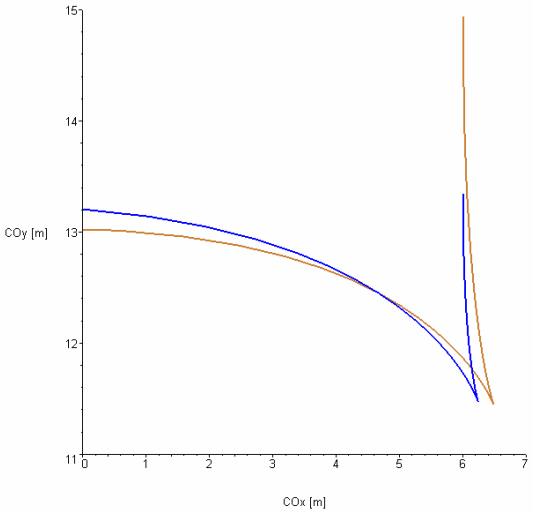
Graf 9. Vektory zrychlení [At, An] (Kzp-červená, Kzl-zelená, Kpp-zlatá, Kpl-modrá)



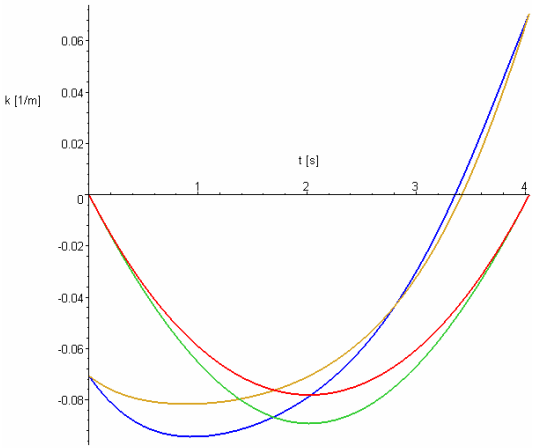
Graf 10. Absolutní velikost zrychlení jednotlivých kol (Kzp-červená, Kzl-zelená, Kpp-zlatá, Kpl-modrá)



Graf 11. Středy křivosti jednotlivých kol (Kzp-červená, Kzl-zelená, Kpp-zlatá, Kpl-modrá)



Graf 12. Středy křivosti – detail předních kol pro okolí maxima křivosti trajektorie (Kpp-zlatá, Kpl-modrá)



Graf 13. Křivosti dráhy jednotlivých kol (Kzp-červená, Kzl-zelená, Kpp-zlatá, Kpl-modrá)

ZÁVĚR

Na základě předložených výsledků je možné analyticky určit časovou závislost polohy libovolného bodu uvnitř autobusu, tzn. je možné odvodit vztahy pro působící zrychlení a to jak na řidiče, cestující, tak i celý autobus a použít tyto výsledky pro objektivní stanovení optimální rychlosti při průjezdu zatáčkou a to především z hlediska bezpečnosti cestujících s ohledem na technické parametry vozidla. Plynulou jízdou dosáhneme zvýšení efektivnosti, provozní spolehlivosti a hlavně jízdní bezpečnosti, což by nebylo možné bez vědeckého zdůvodnění a analýzy základních fyzikálních a technických veličin, které určují kinematiku autobusu.

LITERATURA

Bartoň S., Krumpholc T., *Stanovení trajektorie vozidla - inverzní problém kinematiky*, [CD-ROM]. In SCO Workshop Maple 2011, 25.6. 2011, FSS MU, Brno, s. 1-8.

Czudková L., *Fyzika (automobilové) dopravní nehody*, Československý časopis pro fyziku, Fyzikální ústav Akademie věd České republiky, Praha 2010, 3.vydání, svazek 60, s. 140-141. ISSN 0009-0700

Dalecký P., *Budoucnost městské přepravy osob - autobusy základem*, AutoProfi, 2011, XIX., s. 56-57.

Krumpholc T., Bartoň S., *Stanovení trajektorie vozidla po zásahu řidiče do řízení*, In Kvalita a spoľahlivosť technických systémov - Zborník vedeckých prác., 24.-25.5. 2011, TF SPU Nitra, s. 186-191., ISBN 978-80-552-0595-3

MAPLESOFT, *Maple 12- User Manual*.,Waterloo Maple 2008, ISBN 978-1-897310-48-9

VLK, F. *Dynamika motorových vozidel.* 1.vyd., Nakladatelství Vlk, Brno 2000, 434 s.,

ISBN 80-238-5273-6

LIFETIME EXTENSION OF ENGINE OIL USING ADDITIVES

Kumbár V.[1], Severa L.[1], Glos J.[2], Čorňák Š.[2]

[1] Department of Technology and Automobile Transport, Faculty of Agriculture, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

[2] Department of Combat and Special Vehicles, Faculty of Military Technology, University of Defence, Kounicova 156/65, 662 10 Brno, Czech Republic

E-mail: vojtech.kumbar@mendelu.cz

ABSTRACT

Three experimental approaches, selected for analysis of the engine oils and described above, are surely sufficient for the needs of presented research. The spectrometry was used for determination of presence of selected chemical elements and especially metals in oil. Particles monitoring was employed in order to describe the amount, type, and size of friction particles. The temperature dependence of dynamic viscosity was evaluated by use of rotary viscometer. In case of all three approaches it is advantageous to compare the measured values with the results received for unused engine oil of the same marking and viscosity index. If the degradation of oil is classified as low or medium, it is possible to increase its service life for several thousands of kilometers.

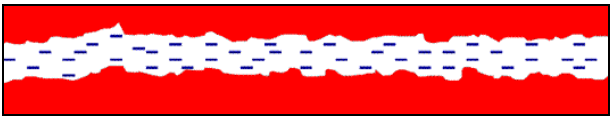
Key words: engine oil, spectrometry, particle monitoring, dynamic viscosity, additives.

Acknowledgement: The research has been supported by the project IP 14/2011 financed by IGA FA MENDELU.

ÚVOD

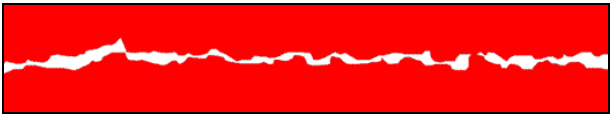
Úvodem je nutné konstatovat, že motorový olej je třeba chápat jako jeden z konstrukčních prvků motoru. Jak uvádí [1] vyžaduje vývoj nových motorů současně změny složení a vlastností motorových olejů. Tato změna je nutná nejen z důvodů zvyšování výkonů motorů, ale souvisí také se snahou o prodloužení intervalů výměny oleje při servisních prohlídkách. Prodloužení servisních intervalů je pro uživatele vozů velmi atraktivní zákaznickou výhodou, která přispívá ke snížení provozních nákladů. Jen při výměně motorového oleje a olejového filtru mohou být výlohy v porovnání s dosavadní lhůtou bezmála poloviční. Nezanedbatelná je také úspora času, neboť se s vozem nemusí zajíždět do servisu tak často než dosud a současně se tak omezí doba jeho odstavení kvůli servisním pracím. V neposlední řadě přispívá také k větší hospodárnosti, prodloužení životnosti vozidla a celkové mobilitě uživatele. Pro systém prodloužených servisních služeb je rozhodující současná kvalita oleje. Hodnocení je podloženo řadou provozních a laboratorních experimentů, které dávají dostatečnou záruku jakosti oleje v provozu různě namáhaného motoru.

U velkých dopravců se lze často setkat s praxí, že olejové náplně v motorech jsou pravidelně analyzovány a pozornost je zaměřena především na obsah kovů v oleji a na jeho viskozitní stabilitu. U mnoha dalších provozovatelů automobilů jsou podobné analýzy prováděny pouze v případě podezření na nenormální provoz a počátky možné závady motoru. Motor a tedy i všechny třecí povrchy jsou vyrobeny z určitých kovových materiálů. Většinou jde o železo zušlechtěné přídavkem jiných kovů, o hliníkové či měděné součástky, nebo je určitý díl motoru potažen povrchovou vrstvičkou jiného kovu s cílem zvýšit tvrdost povrchu, zlepšit kluzné vlastnosti, zlepšit protikorozní ochranu apod. Díky těmto případům se kromě železa samotného musíme zajímat i o další kovy, například hliník, měď, chrom, olovo, cín, nikl, stříbro apod. Třecí povrchy kovů, ani ty pečlivě vysoustružené, nejsou nikdy naprosto hladké. Každý povrch má určitou morfologii, strukturu, kterou je možné znázornit jako zubatou čáru podobně jako na Obrázku 1. V normálním stavu jsou v motoru dva třecí povrchy odděleny vrstvičkou oleje. Viskóznější oleje vytvářejí při stejné teplotě silnější vrstvičku mazacího filmu než méně viskózní oleje. Povrchy tak nepřicházejí navzájem do kontaktu, nebo jen do minimálního díky některým větším nerovnostem na povrchu. [2]



Obrázek 1 *Kovové plochy odděleny vrstvou oleje (převzato z [2])*

Jak dále [2] uvádí, může nastat situace, kdy na třecí plochy působí nějaká přítlačná síla. Potom může být vrstvička oleje vytlačena a dva povrchy se do kontaktu dostanou. Dochází k tzv. meznímu tření, kdy oba povrchy nejsou mazány vrstvou oleje, ale pouze jeho mazivostními aditivy, která na povrchu kovu ulpěla. Tato situace je znázorněna na Obrázku 2. Jestliže se takové dva povrchy navzájem pohybují, dochází k vzájemnému odírání jejich nerovností a oddělování mikroskopických částeček konstrukčního kovu. Tyto částečky pak přecházejí do oleje. Následně je potom možné stanovit množství určitého kovu v oleji a na základě jeho množství také odhadnout významnost tření v motoru. Tak lze předpovídat počátek zvýšeného opotřebení nebo dokonce zadírání. Touto diagnostikou lze předcházet velkým závadám a haváriím motorů mnohem dříve, než by se na závadu přišlo díky jejím dalším projevům (hluk nebo vibrace motoru či zvýšená teplota oleje).



Obrázek 2 *Kovové plochy s těsném kontaktu (převzato z [2])*

Nejen obsah kovů v motorovém oleji je velmi významným ukazatelem jeho stavu. Další z důležitých vlastností je také stabilita teplotní závislosti dynamické viskozity oleje. [3] uvádí, že viskozita je měřítkem tekutosti kapalin. Oleje s nižší viskozitou jsou tekutější (řidší) a mají menší vnitřní odpor proti proudění, proti toku. Vyšší viskozita olejů (hustější oleje) naopak znamená vyšší odpor a tím také pomalejší tok, přeneseně pak i vyšší odpor proti vzájemnému pohybu dvou mazaných součástí.

V praxi se většinou povoluje provoz motorového oleje v rozmezí viskozity max. ±20 %. Tato hodnota však byla stanovena pro velkoobjemové vznětové motory. Pro zážehové motory lze připustit větší odchylku směrem k nižším hodnotám, i vzhledem ke střihové nestabilitě moderních olejů. Pokles viskozity je proto možné připustit odhadem až o 30 %. Příliš nízká viskozita, většinou díky závadě na vstřikování a nadbytku paliva v oleji, může vést k příliš tenkému mazacímu filmu. Důsledkem potom při vyšším zatížení může být i porušení mazacího filmu a zvýšené opotřebení nebo i zadírání třecích dílů. [3]

MATERIÁL A METODIKA

Materiál

K jednotlivým analýzám a měřením byl použit motorový olej MOGUL FELICIA, výrobcem charakterizován jako univerzální celoroční olej pro moderní benzinové a naftové motory, speciálně formulovaný pro automobily Škoda. Další vlastnosti jsou uvedeny v Tabulce 1.

Tabulka 1 *Vlastnosti motorového oleje MOGUL FELICIA*

Označení	Viskozitní index	Norma ACEA	Norma API	Norma VW
MOGUL FELICIA	15W40	A3/B3	SH/CF	501.01/505.00

Mobilní energetický prostředek, ve kterém byl motorový olej sledován, byl osobní automobil Škoda Felicia, 1.3MPI (50 *kW*), rok výroby 1999. Sledován byl nový nepoužitý motorový olej, použitý motorový olej s nájezdem 15000 *km*, olejové aditivum OIL TREATMENT a jejich směsy. Olejové aditivum od amerického výrobce charakterizují tyto vlastnosti: chrání proti přehřátí oleje, pomáhá udržovat tlak oleje, brání proti ztrátě výkonu, snižuje hlučnost ventilů a pístů, snižuje spotřebu oleje a tvorbu emisí. Doporučený poměr aditiva v motorovém oleji je 1:10.

Metody

Měření byla prováděna pomocí tří přístrojů a metod:

- spektrometrie – přístroj Spectroil Q100,
- monitoring částic – přístroj LaserNet Fines^{TM}-C,
- měření teplotní závislosti dynamické viskozity – přístroj Anton Paar DV-3P.

Zjištění přítomnosti vody v motorovém oleji bylo provedeno na objednávku společností ALS Laboratory, s.r.o.

Spektrometrie

Spectroil Q100 je kompletně polovodičový spektrometr, specificky navržen pro analýzu olejových vzorků. Měří stopové obsahy prvků rozpuštěných nebo nanesených jako jemné částice v minerálních nebo syntetických výrobcích na bázi ropy za použití dlouhodobě ověřené a spolehlivé techniky s rotační diskovou elektrodou. Dále přístroj splňuje požadavky standardní metody ASTM D6595 pro stanovení otěrových kovů a kontaminantů použitých v mazacích olejích nebo hydraulických směsích. [4]

Monitoring částic

Analyzátor částic LaserNet Fines^{TM}-C se používá k vyhledání a charakteristice otěrových částic. Ve většině případů kovových. Protože existuje několik typů namáhání třecích dílů, existuje i několik mechanismů opotřebení, které se většinou pojmenovávají anglickými názvy a v češtině nemají svoje pojmenování (únavové opotřebení, pitting, scuffing, abrazivní opotřebení apod.). Částice vzniklé odlišným mechanismem opotřebení mají různé tvary a velikost. Velikost částic z normálního opotřebení se pohybuje v řádu několika mikrometrů, obvykle do 5 mikrometrů. Čím jsou otěrové částice větší (většinou desítky, někdy až více než sto mikrometrů) a čím je jejich četnost vyšší, tím je opotřebení motoru větší. [2]

Teplotní závislost dynamické viskozity

Měření teplotní závislosti dynamické viskozity motorového oleje bylo provedeno na rotačním 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 hřídelí motoru, která 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 v *mPa.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. [5]

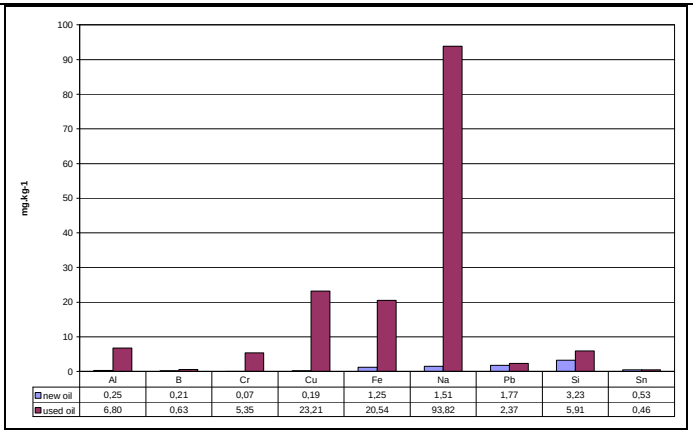
Pro měření motorového oleje bylo zvoleno standardizované vřeteno s označením R3, které je nejvhodnější pro měření kapalin podobných viskozit. Rychlost otáčení vřetene byla nastavena na 30 otáček za minutu. Teplotní závislost motorových olejů byla dále modelována pomocí polynomu 6. stupně v programu Microsoft® Excel 2002 (10.6871.6870) SP3.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Cílem tohoto článku je vyhodnotit, zda je možné pomocí olejového aditiva prodloužit životnost motorového oleje. K tomuto vyhodnocení byly použity tři metody (viz podkapitola 2.2 Metody). Nejprve byl porovnáván nový (nepoužitý) motorový olej s olejem použitým, abychom zjistili, zda je ještě možné použitý motorový olej aditivovat. Dále byla měřena teplotní závislost dynamické viskozity nového (nepoužitého) motorového oleje, použitého motorového oleje a směs použitého motorového oleje a nového (nepoužitého) aditiva.

Spektrometrie

Při porovnání množství otěrových kovů v novém a použitém motorovém oleji byly zjištěny hodnoty, které jsou uvedeny a graficky znázorněny na Obrázku 3. Společností ALS Laboratory, s.r.o. byla potvrzena přítomnost nepatrného množství vody v motorovém oleji.



	Al	B	Cr	Cu	Fe	Na	Pb	Si	Sn
new oil	0,25	0,21	0,07	0,19	1,25	1,51	1,77	3,23	0,53
used oil	6,80	0,63	5,35	23,21	20,54	93,82	2,37	5,91	0,46

Obrázek 3 *Množství otěrových kovů v motorovém oleji*

Z výsledků spektrometrie lze konstatovat, že použitý motorový olej vykazuje nízký až střední stupeň degradace. Zvýšený obsah hliníku, chrómu, mědi a železa je přípustný pro použitý typ motoru. Zvýšený obsah sodíku a pozitivní výsledek obsahu vody v motorovém oleji mohou detekovat únik chladicí kapaliny do olejové náplně.

K prodloužení životnosti aditivací je dle výsledků spektrometrie použitý motorový olej vhodný, jelikož množství otěrových kovů v použitém oleji nepřesahuje orientační hranice pro daný typ motoru, viz literatura [2].

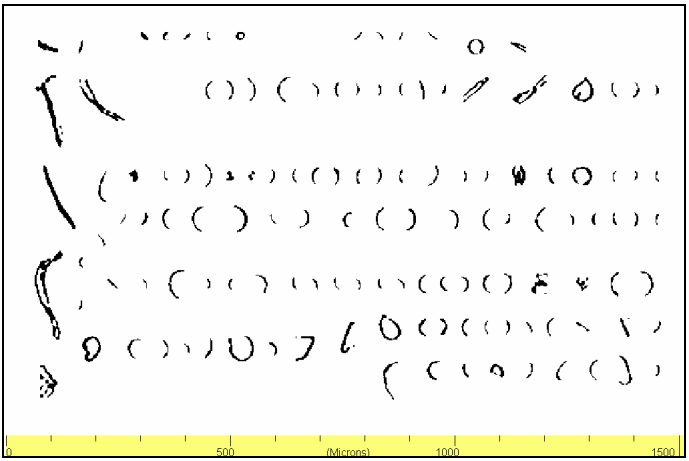
Monitoring částic

Jelikož existuje několik typů namáhání třecích dílů, existuje i několik mechanismů opotřebení. Částice vzniklé odlišným mechanismem opotřebení mají různé tvary a velikost. Jak uvádí [2] je velikost částic z normálního opotřebení v řádu několika mikrometrů, obvykle do 5 mikrometrů. Čím jsou otěrové částice větší (většinou desítky, někdy až více než sto mikrometrů) a čím je jejich četnost vyšší, tím je opotřebení motoru větší.

V novém nepoužitém motorovém oleji bylo analyzováno cca 39,500 částic v jednom *ml* vzorku. U nových olejů se jedná spíše o mazací částečky než o otěrové kovy. V použitém motorovém oleji bylo analyzováno cca 98,600 částic v jednom *ml* vzorku. Nejvíce zastoupené částice a jejich průměrné a maximální velikosti jsou uvedeny v Tabulce 2. Na Obrázku 4 jsou vyobrazeny některé částice detekované v použitém oleji.

Tabulka 2 *Nejvíce zastoupené částice ve vzorku použitého motorového oleje*

částice	počet v ml	střední velikost (µm)	maximální velikost (µm)
řezné	87,4	30,6	65,0
otěrové	10,8	52,0	158,2
únavové	1,9	26,7	26,7
nekovové	39,3	44,5	68,8
nespecifikované	21,2	25,6	29,6
vlákna	80,0		

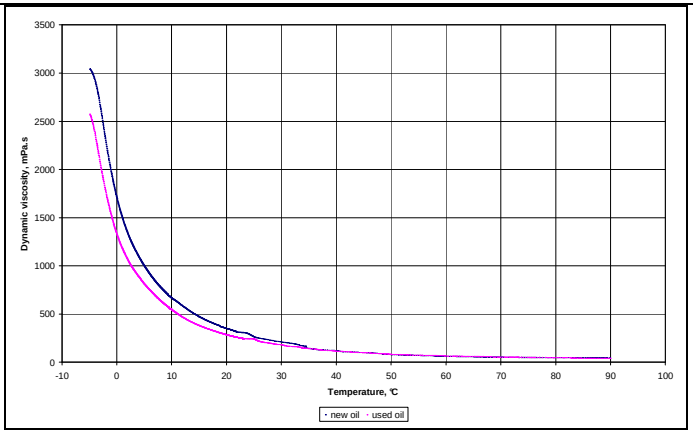


Obrázek 4 *Detekované částice v použitém motorovém oleji*

K prodloužení životnosti aditivací je dle výsledků monitoringu částic použitý motorový olej vhodný, jelikož neobsahuje vysoké množství velkých kovových částic.

Teplotní závislost dynamické viskozity

Teplotní závislost dynamické viskozity motorových olejů byla sledována v rozmezí teplot od -5 °*C* do +90°*C*. Nejprve byla porovnána teplotní závislost dynamické viskozity nového a použitého motorového oleje. Na Obrázku 5 lze sledovat pouze mírný pokles teplotní závislosti dynamické viskozity u použitého motorového oleje oproti novému oleji, a to především při teplotách pod +30 °*C*.



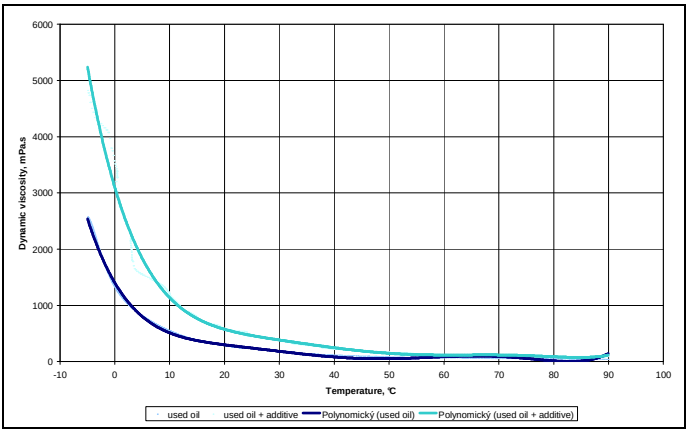
Obrázek 5 *Dynamická viskozita nového a použitého motorového oleje*

K prodloužení životnosti aditivací je dle výsledků měření teplotní závislosti dynamické viskozity použitý motorový olej vhodný, jelikož použitý olej viskozitně téměř nedegradoval.

Aditivace použitého motorového oleje

Žádná z použitých metod nevyloučila možnost ani vhodnost použitý motorový olej aditivovat, proto bylo do olejové náplně motoru přidáno olejové aditivum v poměru 1:10. Poté byl sledován vliv aditiva na teplotní závislost dynamické viskozity vzniklé směsi.

Na Obrázku 6 je patrné, že po přidání aditiva do použitého motorového oleje stoupne dynamická viskozita směsi z cca 2,500 *mPa.s* na cca 5,200 *mPa.s* při -5 °*C*. Při teplotách nad +50 °*C* jsou rozdíly dynamické viskozity u použitého oleje bez aditiva a s aditivem minimální.



Obrázek 6 *Dynamická viskozita směsi použitého motorového oleje a aditiva*

Pro teplotní závislost dynamické viskozity použitého oleje a směsi použitého oleje a aditiva byly (v souladu s literaturou [6] a [7]) vytvořeny matematické modely pomocí polynomu 6. stupně, dle obecného vztahu:

$$y = a_6.x^6 + a_5.x^5 + a_4.x^4.a_3.x^3 + a_2.x^2 + a_1.x + a_0 \qquad (1)$$

Korelační koeficienty R^2 obou závislostí dosahovaly velmi vysokých hodnot 0,98.

ZÁVĚR

Motorový olej musí v motoru splňovat mnoho funkcí. Žádná vlastnost oleje nesmí být preferována nebo zvýrazněna na úkor jiné vlastnosti. Do toho všeho navíc zasahují požadavky na splnění emisních limitů. Zabezpečení požadovaných vlastností motorového oleje je vždy výsledkem kompromisu, který musí brát ohled na všechny požadavky kladené na olej. Cílem při výrobě každého motorového oleje je proto především snaha, aby olej zaručil co nejdelší životnost a zachoval všechny vlastnosti motoru co nejdéle. [8]

Tři zvolené metody k ověření stavu motorového oleje, které byly v tomto článku publikovány, jsou pro automobilový motorový olej zcela dostačující. S obdobnými závěry je možné se setkat i v literatuře [9] a [10]. Spektrometrie určí množství vybraných chemických prvků v oleji, především pak kovů. Monitoring částic detekuje množství, typ a velikost otěrových částic v oleji. Pomocí rotačního viskozimetru doplníme analýzu o určení teplotní závislosti dynamické viskozity oleje. Pro všechny tři metody je vždy vhodné srovnání s novým (nepoužitým) motorovým olejem stejného označení a viskozitního indexu. Je-li vyhodnocen stupeň degradace motorového oleje jako nízký či střední, dá se jeho životnost prodloužit o několik tisíc kilometrů. Je ovšem nutné tento olej nadále sledovat ve vhodně zvoleném intervalu, například každých 3000 *km*. Je-li vyhodnocen některou z popsaných metod stupeň degradace oleje jako vyšší či vysoký, je nutné motorový olej ihned vyměnit. Samozřejmě spolu s olejovým filtrem.

5 LITERATURA

[1] MAREK V., HRABEC L. *Prodloužené intervaly výměny olejů v provozu osobních automobilů* [on-line], [cit. 13. července 2011]. Dostupné na WWW: <http://www.oleje.cz/index.php?left=main&page=clanky_5>.

[2] ČERNÝ J., Díl desátý – Otěrové kovy, *Vlastnosti motorových olejů.* [on-line], [cit. 21. červen 2011]. Dostupné na WWW: <http://www.oleje.cz/index.php?left=main&page=clanky_vlastnosti_oleju10>.

[3] ČERNÝ J., Viskozita, *Vlastnosti motorových olejů.* [on-line], [cit. 12. červenec 2011]. Dostupné na WWW: <http://www.oleje.cz/index.php?left=main&page=clanky_vlastnosti_oleju2>.

[4] *SPECTROIL Q100 – SPEKTOMETR PRO ANALÝZU OLEJŮ*. [on-line], [cit. 22. červen 2011]. Dostupné na WWW: <http://www.spectro.cz/download/spectroil_q100_cz.pdf>.

[5] SEVERA L. *Tixotropní chování vybraných druhů potravin*. [habilitační práce], Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2008, 113 p.

[6] MAGGI C. Advantages of Kinematic Viscosity Measurement in Used Oil Analysis. *Practicing Oil Analysis Magazine*, 2006, No. 5, pp. 38–52.

[7] SEVERA L., HAVLÍČEK M., KUMBÁR V. Temperature dependent kinematic viscosity of different types of engine oils, *Acta Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně*, 2010, svazek LVII, No. 4, pp. 95-102. ISSN 1211-8516.

[8] ČERNÝ J., Základní funkce olejů, *Vlastnosti motorových olejů*. [on-line], [cit. 17. července 2011]. Dostupné na WWW: <http://www.oleje.cz/index.php?left=main&page=clanky_vlastnosti_oleju1>.

[9] LUCAS M., ANDERSON D. Metody laboratorních rozborů olejů. *Příručka mazání a tření*. SPECTRO Inc., 1997, Littleton, Massachusetts, U.S.A.

[10] GUO B., LYONS W., GHALAMBOR A. Petroleim production engineering. *Elesevier Science and Technology Books*, 2007, ISBN 0750682701.

USING CAD MODELS AND POLYGONAL SCAN FOR EVALUATION OF ABRASIVE FRICTION PARTS

Liška J., Filípek J.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, Brno 613 00, Czech Republic

E-mail: jaromir.liska@lanik.eu

ABSTRACT

The article discusses the possibilities of using 3D models, which are products of CAD modelers to evaluate the abrasive wear of shape complicated parts of pressing molds. For the test was prepared a highly accurate scan of a worn part on the 3D scanner, which consists of spatial polygonal networks. For comparison, the scan was created by an accurate CAD part model, which included as well as manufacturing deviations, given by the measurement report of the component before the contact with abrasive material. Using the control software there was 3D model set up of the new part on the reference points and the polygonal scan of the worn part and from their difference was obtained three dimensional-difference map. From the difference between the model and scan were obtained transverse and horizontal sections by the worn component, which were to determine the exact size of abrasive wear. These measurements results were evaluated after that.

Key words: part, CAD model, polygonal net, pressing mold, abrasive wear, scan

ÚVOD

K vyhodnocení míry abrazivního opotřebení tvarově jednoduché součásti lisovací formy je možné bez problému použít konvenční měřidla, jako jsou posuvná měřidla, mikrometry, souřadnicové dotekové přístroje. Složitější součásti forem, které vytvářejí tvar lisované součásti, jsou většinou kuželového nebo úkosového tvaru pro snadné vyjímání výrobku z formy. Plochy a hrany, které přichází do styku s abrazivní keramickou směsí, jsou používáním formy zmenšeny či úplně odstraněny (Obr. 1). Změřit a vyhodnotit velikost opotřebení takové součásti, je potom velmi složité a na některých plochách až nemožné. Díky dynamickému rozmachu výpočetní techniky byla do metod měření výrobku zavedena kontrola tvarově složitých součástí pomocí 3D skenerů. Skenováním ploch součásti vznikne přesná polygonální síť, kterou je možné porovnat z CAD daty vytvořenými při konstrukčním návrhu součásti nebo jinými polygonálními sítěmi. Pomocí barevné prostorové mapy odchylek a řezů je možné objektivně vyhodnotit opotřebení součásti.

Obr. 1 Nová součást před testem *Opotřebená součást po testu*

MATERIÁL A METODIKA

Cílem experimentu bylo posoudit možnost využití 3D skeneru pro vyhodnocení velikosti úbytku materiálu na opotřebené součásti. Předmětem měření byl horní razník lisovací formy po odpracování 14027 zátěžových cyklů. Pomocí 3D skeneru, který pořídila firma LÁNÍK pro kontrolu rozměrů tvarově složitých keramických jader, bude vytvořen 3D sken opotřebené součásti, ze kterého bude vygenerována polygonální prostorová síť součásti. Pro vyhodnocení úbytku

materiálu je nutné provést porovnání polygonální sítě, buď s polygonální sítí součásti před opotřebením, nebo s 3D CAD modelem. CAD model většinou vzniká v předvýrobní fázi a má jmenovitý rozměr výrobku, který je uveden na výkrese.

Princip a vytvoření 3D skenu součásti

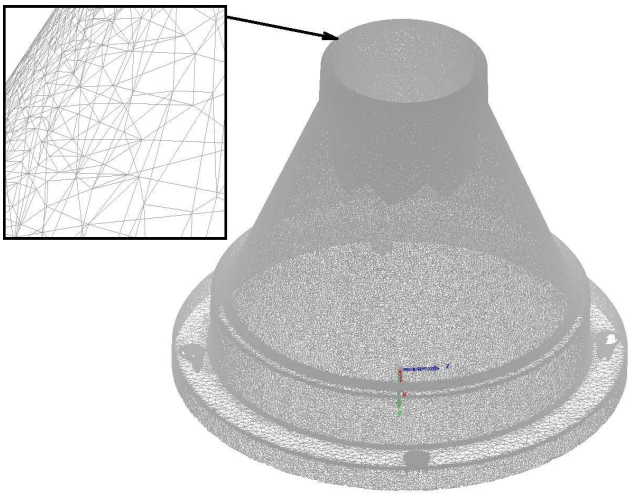
3D digitální skener pracuje na principu triangulace, která využívá stereoefektu dvou snímacích kamer (Obr. 2). Měřené tvarové plochy jsou osvěcovány proužkovým rastrem, jenž je snímán dvěma od sebe vzdálenými kamerami. Počítačem jsou potom ze záběru kamer (množiny dat) přesně vypočítány konkrétní souřadnice bodů na povrchu součásti. Z těchto bodů je vytvořena polygonální síť, kterou je možné porovnat z CAD daty vytvořenými při konstrukčním návrhu. Srovnání je také možno provést s polygonálními sítěmi skenovanými na referenčních součástech (etalonech). Tato metoda je schopna provádět měření (skenovat) s přesností na 0,01mm pro měřící prostorové pole tvaru krychle o rozměrech 200x200x200mm.

Obr. 2 projektor s kamerami

Měření pomocí 3D skeneru

Měřící aparatura 3D skeneru sestává ze stativu s měřícím projektorem a kamerami, digitálního převodníku, PC s programem pro obsluhu a vyhodnocení a měřící desky, na kterou je umístěna měřená součást (Obr. 3). Vzhledem k rozměru a tvaru součásti bylo nutné provést více snímků a pomocí referenčních bodů tyto snímky spojit v jeden sken. Ze skenu byl vytvořen polygonální prostorový model opotřebené součásti (Obr. 4).

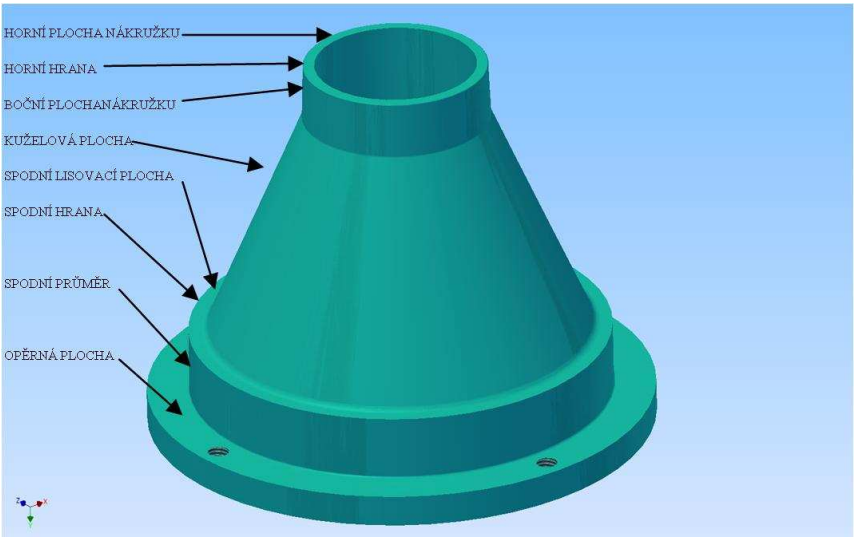
Obr. 3 Měření součásti 3D skenerem



Obr. 4 Polygonální model 3D součásti

Příprava CAD modelu

Vzhledem k tomu, že 3D skener zakoupila firma LÁNÍK teprve před pár měsíci, nebyla možnost součást skenovat před jejím nasazením do výroby a není tedy k dispozici referenční sken. Proto bylo nutné provést porovnání s CAD modelem. CAD model součásti se jmenovitými rozměry vytvořený při vývoji lisovací formy ovšem není použitelný, protože nezohledňuje výrobní odchylky. Pro tuto aplikaci byl vymodelován v programu Autodesk Inventor CAD model reálné součásti (Obr. 5), který má jmenovité rozměry upraveny dle měřícího protokolu součásti. Tento protokol je výrobcem součástí forem přikládán ke každé formě či náhradnímu dílu formy. Měřit tvarově složitější díly formy klasickými metodami je možné, protože nová neopotřebená součást má rovné plochy a ostré hrany, které je možno měřit dotykově. Z CAD modelu součásti vytvořené v Inventoru je vygenerován model ve formátu IGES, který je kompatibilní se softwarem 3D skeneru.



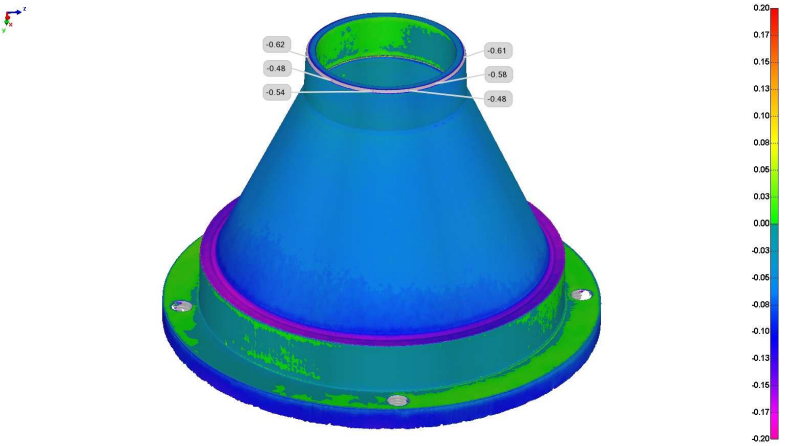
Obr. 5 CAD model reálné součásti

VÝSLEDKY A DISKUZE

Porovnání 3D skenu s CAD modelem

Pomocí referenčních ploch součásti (osa rotace a opěrná plocha razníku, která nepodléhá opotřebení) byl polygonální model ztotožněn s CAD modelem a byla vygenerována barevná prostorová mapa odchylek (Obr. 6), která velmi názorně zobrazuje velikosti odchylky rozměrů

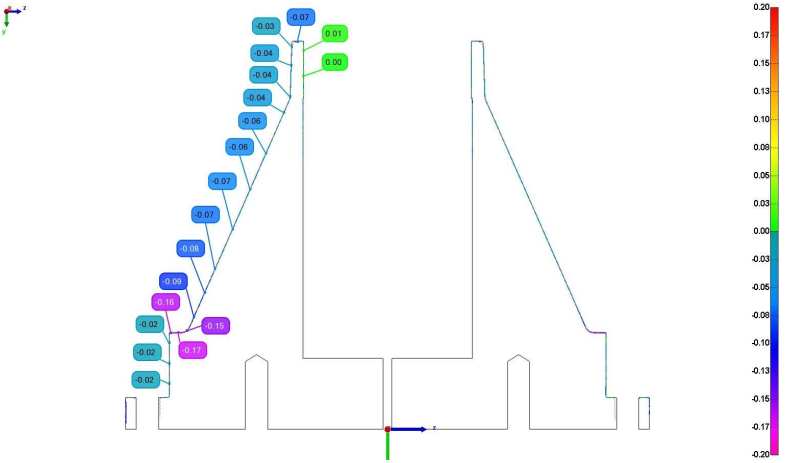
mezi opotřebenou součástí a CAD modelem součásti před opotřebením. Pro hrubý odečet velikosti opotřebení lze použít barevnou škálu umístěnou v pravé části obrázku.



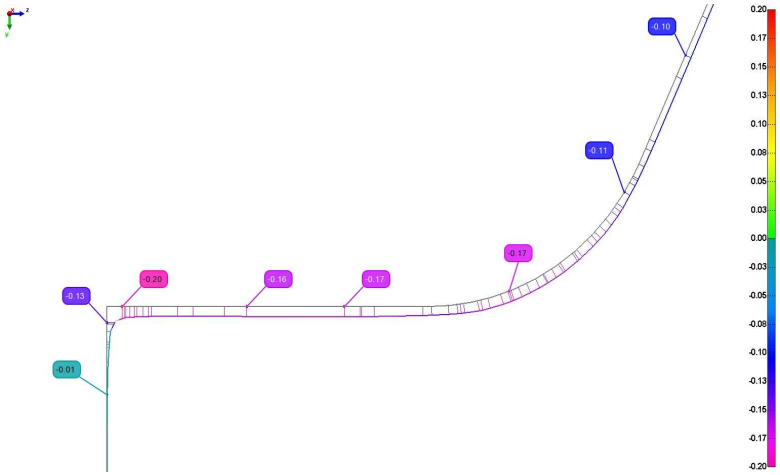
Obr. 6 Prostorová mapa odchylek - porovnání opotřebené součásti s CAD modelem

Řez součástí a modelem

Software 3D skeneru umožňuje vytvářet řezy ve zvolených rovinách součásti a v těchto řezech je možné odečítat (kótovat) vzdálenosti povrchových křivek skenu součásti a povrchových křivek CAD modelu (Obr. 7). Tímto způsobem byly získány přesné hodnoty opotřebení funkčních ploch součásti formy (Tab. 1).



Obr. 7 Řez skenem a CAD modelem – odečtení hodnot opotřebení



Obr. 8 Detail řezu spodní hranou – odečtení hodnot opotřebení

MÍSTO OPOTŘEBENÍ	HORNÍ PLOCHA NÁKRUŽKU	HORNÍ HRANA	BOČNÍ PLOCHA NÁKRUŽKU	KUŽELOVÁ PLOCHA	SPODNÍ LISOVACÍ PLOCHA	SPODNÍ HRANA	SPODNÍ PRŮMĚR	OPĚRNÁ PLOCHA
VELIKOST OPOTŘEBENÍ (mm)	0,08 - 0,016	0,48 - 0,62	0,04	0,06 - 0,08	0,17 - 0,20	0,23	0,01	0

Tab. 1 CAD velikost opotřebení na sledovaných plochách součásti

Z naměřených hodnot vyplývá, že velikost opotřebení horního razníku po odpracování 14027 zátěžových cyklů je větší než požadovaná velikost tolerančního pole lisovaného výrobku, proto již horní razník nemůže být znovu nasazen do výroby. Z prostorové mapy odchylek a řezů je zřejmé, že opotřebení nejvíce podléhá horní a spodní hrana a čelní plochy na hrany navazující. Pro zvýšení životnosti nástroje bude nutné hledat technologické úpravy těchto exponovaných míst.

ZÁVĚR

Experimentem bylo potvrzeno, že je možné využít 3D skener k vyhodnocení opotřebení součásti, i za předpokladu, že před započetím zátěžového testu nebyla součást skenována. Pro získání reference byl použit CAD model, který byl vytvořen podle tabulky naměřených hodnot předávacího protokolu nové součásti před jejím nasazením do výroby. Výsledkem porovnání skenované součásti

s CAD modelem je barevná prostorová mapa odchylek, která názorně ukazuje velikost opotřebení součásti. V jednotlivých řezech je možno kdykoli odečíst přesnou hodnotu opotřebení, kdykoli s odstupem času můžeme vytvořit další řez a odečet z uloženého skenu i v případě, že už reálná součást není k dispozici. Těchto vlastností skenů se dá využít pro výzkumnou činnost i pro praxi.

LITERATURA

1. FOŘT, P., KLETEČKA, J.: *Autodesk Inventor*. Brno: Computer Press, a.s. 2007, 318 s. ISBN 978-80-251-1773-6.

USE OF RUBBER MOLDS FOR DUPLICATION AND MAKING METAL CASTINGS IN RENOVATIONS

Lukůvka R., Filípek J., Votava 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 article describes using of the rubber molds for experimental, low-series of metal castings as well as duplication of damaged mechanical parts. The model can be made or obtained by several methods. The experimental wax pattern was made of the original machine part by application of rubber on the original surface. For experiment was tested powdered aluminium into the rubber. Of rubber was made two-piece mold. On the wax pattern was monitored the accuracy of most important surface (combustion chamber). Dimensional accuracy by measurements was evaluated as very well. The castings were poured of AlSi7Mg0.3 alloy. Dimensional inspection of cast tested machine part showed that silicone rubber molding was a suitable approach for production of this part.

Key word: rubber mold, silumine, metal casting, renovation, lost wax

ÚVOD

Kaučukové formy jsou využívány především v experimentálních oblastech, renovacích, či výrobě voskových modelů pro méně náročné odlitky. V praxi jde především o to, že u těchto forem nelze zaručit velkou životnost a mají převažující nevýhody, pokud je vztáhneme na průmyslovou slévárenskou výrobu.

Technologie lití kovů na vytavitelný voskový model je založená na co nejvyšší jakosti voskových modelů. Kvalita modelu přímo ovlivňuje charakteristiku výsledného odlitku. U početných sérií odlitků, kde jsou velké nároky na rychlost chládnutí vosku ve vstřikovacích formách a zejména jejich odolnost kaučuk nenašel uplatnění. Přesto je snaha o zavedení těchto materiálů do praxe, jelikož s jejich aplikací by se proces výroby forem zjednodušil a urychlil, zejména ve spolupráci s technologií Rapid prototyping **[2]**, **[6]**. Tato negativní skutečnost se dá přisoudit zejména jeho elasticitě a nízké tepelné vodivosti. Vliv na rozšíření materiálu má také i jeho nízká mechanická odolnost. Elasticita kaučuku velmi zvyšuje pravděpodobnost rozměrové odchylky modelu **[1]**. Naopak v mnoha ohledech napomáhá, například při vyjímání modelu z formy. Formy z kaučuku můžou být o menším počtu svých dílů a při použití vysoce kvalitních kaučuků s vysokou tažností (až 300 %) mohou být vyráběny jako tzv. „svlékací“.

V experimentu je prakticky odzkoušena výroba odlitku, za pomocí kopírování původní součásti. Cílem je zjistit, do jaké míry dojde ke změně rozměrů, jaká je celková tvarová stálost, reprodukovatelnost, pokud možno s nejmenší odchylkou rozměrů jednotlivých voskových modelů. Za pokusnou součást byla vybrána hlava válce dvoutaktního spalovacího motoru. Tato součást může představovat poškozenou součást, i v rámci renovačního procesu, kterou je nutno z určitých důvodů vyrobit odléváním. Samozřejmě je potřeba stanovit si, které rozměry a povrchy součásti jsou klíčové a těm věnovat maximální pozornost při celém výrobním procesu **[7].**

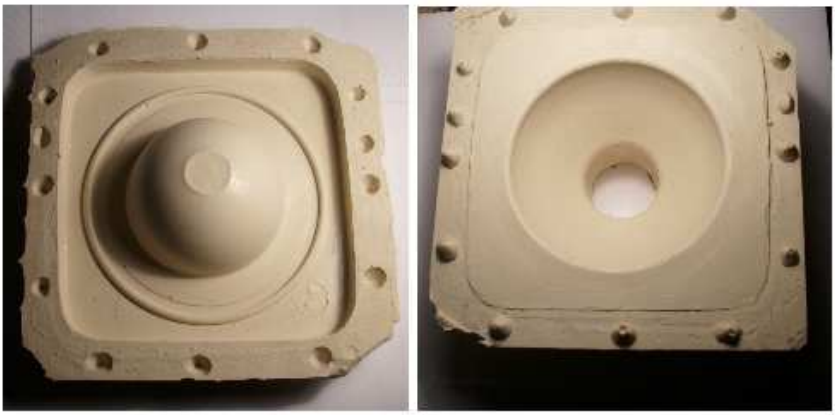
Dodatečně bylo odzkoušeno sycení kaučuku v nevulkanizovaném stavu práškovým hliníkem, který by mohl zvýšit tepelnou vodivost kaučuku a předpokladem je i zvýšení pevnosti a tuhosti formy.

MATERIÁL A METODIKA

Jako ověřovací součást byla vybrána hlava válce dvoutaktního spalovacího motoru. Původní odlitek byl mírně upraven v rámci předlohy, jelikož získané zkušební odlitky z experimentu budou využity na reálném spalovacím motoru, který je prototypem. Z tohoto důvodu výsledné experimentální odlitky postrádají chladící žebra, jelikož prototyp motoru je projektován jako kapalinou chlazený. Jako výchozí materiál pro výrobu forem byl vybrán zcela běžně dostupný licí kaučuk Lukopren N1522. Tento základní typ kaučuku nemá nejvyšší mechanické vlastnosti, zejména tažnost

a pevnost, ale vyhovuje nízkou cenou a kdykoliv v případě inovace metody je možno použít kvalitnější kaučuk.

Za povrch s nejvyšší prioritou na přesnost byl vybrán vnitřní spalovací prostor hlavy válce. Jelikož se jedná o dvouválcový motor, je potřeba dosáhnout co největší přesnosti spalovacího prostoru, aby bylo sníženo riziko vysokého opotřebení klikového mechanismu rozdílnými kompresními poměry **[4]**. Tvar původní součásti umožňuje vyrobit dělící rovinu po obvodu budoucího modelu. Byl stanoven postup výroby dvoudílné formy, **obr. 1**.



Obrázek 1: *Spodní a horní polovina formy*

Zde se nacházíme v zodpovědném procesu, kdy je nutno postupovat s velkou pečlivostí, tím se sníží riziko budoucího nekvalitního voskového modelu.

Je potřeba věnovat pozornost nerovnostem povrchu předlohy, rýhám a jiným defektům. Protože kaučuk velmi věrně duplikuje veškeré vady, ty se posléze přenáší na voskový model a ve výsledku i na hotový kovový odlitek.

Pokud srovnáme ostatní metody lití kovů, lití na vytavitelný voskový model umožňuje získat velmi kvalitní povrch, který není potřeba až na funkční plochy téměř vůbec opracovávat **[7].**

Jakost povrchu je závislá na složení keramických forem, zejména pojivovém systému a druhu ostřiva v primární břečce. Spodní polovinu formy tvoří původní povrch hlavy válce, viz **obr. 3**,

Obrázek 2: *Originální hlava válce, předloha*

Obrázek 3: V*ulkanizovaný kaučuk, vlevo s hliníkovým práškem, vpravo v čistém stavu*

která prošla kompletní předpřípravou povrchu, jako je např. leštění.

Kaučuk je vhodnější před vlastní aplikací odvakuovat. U velkých ploch bez členitého povrchu lze tento krok vynechat, ale u malých a členitých součástí (hlubších reliéfů) může nevakuovaný kaučuk způsobovat shlukování vzduchových bublin, které jsou rozptýleny díky míchání v jeho obsahu **[3].**

V rámci rozšíření experimentu bylo odzkoušeno plnění kaučuku práškovým hliníkem. Kaučuk je smíchán dle předepsaného poměru s vulkanizátorem, následně přidán hliník a znovu dobře promíchán. Zrnitost prášku se pohybuje v rozmezí od 0,045 do 0,1 mm, čistota 99,7 %. Cílem je získat lepší mechanické vlastnosti v kombinaci se zlepšením tepelné vodivosti formy. Ideálním aditivem by mohl být měděný nebo bronzový prášek, měď má lepší tepelnou vodivost oproti hliníku. Při duplikaci povrch nezpůsobuje hliník v kaučuku žádné problémy, povrch materiálu je vysoce lesklý a hladký. Pevnost a tuhost se zvýšila. Při zkušebním tuhnutí vosku na vzorku kaučuku byl zaznamenán kratší interval.

Aditivace kaučuku by mohla být předmětem dalšího zkoumání, včetně kvalitního měření fyzikálních vlastností s porovnáním výsledků oproti původnímu materiálu. Poměr prášku vůči kaučuku byl stanoven na 1:1. Při vyšším poměru je již viskozita hmoty příliš vysoká. Bylo by nutné použít typy kaučuku s velmi nízkou viskozitou.

Při natržení formy je patrný mírný výdrol částic. Směs na řezu vykazuje menší četnost vzduchových bublin, vzorek viz **obr. 2**.

Vosk je do forem odléván gravitačně, bez speciálního plnícího zařízení. Výsledná podoba získaného modelu po vyjmutí z formy viz **obr. 4**.

Modely jsou určeny pro odlití metodou vytavitelného voskového modelu. Skořepina samonosného typu. Pojivový systém primární a sekundární keramické břečky na vodní bázi (Ranson and Randolph), **[7]**. Pro odlitky byla použita slitina ČSN 424334 (AlSi7Mg0,3). Odlitky byly tepelně zpracovány a precipitačně vytvrzeny dle normy, stav T6, viz **obr. 5**. Tepelné zpracování bylo

provedeno zejména kvůli záměru praktického použití na spalovacím motoru a také bylo přihlédnuto k lepší obrobitelnosti.

Obrázek 4: *Vnitřní spalovací prostor na voskovém modelu po vyjmutí z formy*

V rámci ověření rozměrové stability a snížení chyby měření bylo odlito 10 voskových polotovarů – modelů, viz **obr. 4**. Jak bylo předesláno, za prioritní rozměr, resp. povrch byl stanoven spalovací prostor. Přesnost spalovacího prostoru na modelech byla sledována skrze jejich objem. Očíslované vzorky byly měřeny po tepelné temperaci, aby byla snížena chyba vnesená tepelnou dilatací modelů. Jelikož vosk reaguje velmi citlivě na změnu teploty změnou objemu. Čehož je mimo jiné využito v řadě technických aplikací. Jako měřící kapalina objemu byl použitý čistý etanol.

Kapalina i voskové vzorky byly v místě o stejné okolní teplotě minimálně 1-2 hodiny. Objem byl měřen jen v půlkulovité části, tedy bez antidetonační štěrbiny. Každý kus byl měřen celkem třikrát, čili v součtu celkem 30 hodnot objemu vzorků. Výsledky byly zpracovány a statisticky vyhodnoceny.

Obrázek 5: *Finální odlitek po třískovém obrobení dosedací plochy*

Výsledky a diskuze

Z experimentu vyplynulo několik praktických poznatků. Při lití voskových modelů se ukazuje, jak bylo postupováno při výrobě formy a do jaké míry je forma přesně vyrobená. Vosk má velkou náchylnost ke staženinám, jeho změna objemu z tekutého stavu do pevného je poměrně velká. Proto dochází ve vzdálených místech k nepatrnému zůžení profilu a model má tendenci k průhybu na stranu rychlejšího odvodu tepla. Což platí zejména pro rohy formy. Tento defekt se dá částečně eliminovat plněním formy alespoň mírným přetlakem, který zajístí doplňování vosku do kritických míst formy. Značnou roli hraje teplota vstřikování, či odlévání vosku do formy. Zbytečně přehřátý vosk vykazuje větší smrštění. Model vykázal stabilní rozměry s velmi přijatelnou přesností. Největší problém vzniká v rozích modelu, které mají tendenci ke kroucení, odchylka zde dosahuje hodnot do 1,5 mm na nejvzdálenějším konci. Po aplikaci plnění za mírného tlaku byla tato odchylka rapidně zmenšena. Na rozměrovou stabilitu spalovacího prostoru neměla problematika lití vosku vliv. Bylo zjištěno, že vnitřní objem spalovacího prostoru u modelu pro výrobu formy má objem 39,7 cm^3, u voskových modelů dosahuje průměrná hodnota objemu spalovacího prostoru hodnoty 39,55 cm^3. Nejmenší směrodatná odchylka dosahuje hodnot 0,0236, nejvyšší hodnota byla zjištěna 0,0408. Variační koeficient dosahuje u 9 vzorků hodnoty 0,0596. Údaje viz **tabulka1**. V případě kaučukové formy se dá hovořit o přijatelné kvalitě získaných modelů. Zjištěný rozptyl parametrů je přijatelný pro stálost spalovacích parametrů zážehového motoru. Vnější rozměry všech vzorků se pohybují s tolerancí do 0,8 %. Hotové odlitky ze slitiny AlSi7Mg0,3 vykázaly průměrný objem spalovacího prostoru 38,7 cm^3

Vzorek	Měření 1	Měření 2	Měření 3	Průměr	Směrodatná odchylka	Variační koeficient
-	cm³	cm³	cm³	cm³		
1	39,5	39,55	39,5	39,52	0,0236	0,0596
2	39,6	39,55	39,6	39,58	0,0236	0,0595
3	39,5	39,5	39,55	39,52	0,0236	0,0596
4	39,55	39,6	39,6	39,58	0,0236	0,0595
5	39,55	39,5	39,5	39,52	0,0236	0,0596
6	39,6	39,55	39,55	39,57	0,0236	0,0596
7	39,5	39,5	39,55	39,52	0,0236	0,0596
8	39,5	39,5	39,5	39,50	0,0000	0,0000
9	39,6	39,55	39,5	39,55	0,0408	0,1032
10	39,55	39,5	39,55	39,53	0,0236	0,0596

Tab.1 Naměřené hodnoty objemu spalovacího prostoru voskových modelů

Bylo by vhodné zaměřit pozornost na zlepšení tepelné vodivosti kaučuku, což by mohlo v cílené a lokální aplikaci kaučuku při výrobě formy vyvolat efekt tzv. chladítek. Pokud by bylo dosáhnuto rychlejšího odvodu tepla v kritických místech a průřezech, riziko staženin by se odstranilo. Forma nesmí disponovat možností pružení vůči sobě, aby byla zajištěna její rozměrová stálost. Podpůrné obaly měkké formy jsou nezbytnou nutností. Zejména u rozměrných součástí, kde již nejde zaručit stabilitu formy a musela by být vyrobena s velmi tlustými stěnami, což snižuje rychlost chládnutí vosku a zvyšuje cenu formy. Z pokusů je patrné, že stěna formy postačuje od 5-10 mm. Hydrostatický tlak na větší plochy zachytí vnější pevné pouzdro formy.

Poměrně velkou nevýhodou může být fakt, že pro výrobu kaučukové formy je potřeba předloha vyrobená již s výrobními přesahy a přídavky na smrštění odlitku. Pokud se jedná o jednoduché odlitky, duplikované z již existující součásti, je možno vyrábět formu přímo s jejich využitím.

ZÁVĚR

Z experimentu vyplynulo, že kaučukové formy mají své opodstatnění, zejména v renovačních procesech a nebo kusové výrobě. Kdy je kladen důraz na co nejnižší náklady pro výrobu formy a rychlost její výroby. V kombinaci s technologiií Rapid Prototyping můžeme dosáhnout velmi flexibilní výroby formy a velmi nízké výrobní ceny, s velmi přiměřenou kvalitou voskových modelů.

Získané voskové modely a i finální odlitky byly vyhodnoceny jako přijatelné. Kritérium rozměrové stálosti nejdůležitějšího povrchu vyhovělo prvotním požadavkům. Důkazem praktického významu experimentu jsou plně funkční odlitky, které již v aktivním provozu bezproblémově fungují přes 30 hodin.

Další budoucnost praktického využití kaučukových forem spočívá ve zkoušení pevnějšího kaučuku, pravděpodobně s využitím tepelně vodivých plniv, jak bylo nastíněno výše.

LITERATURA

[1] CVUT FSID [online]. [cit. 2011-04-10]. Dostupné z:

< http://u12133.fsid.cvut.cz/podklady/MPL/presne%20liti%20na%20vytavitelny%20model.pdf >

[2] DURKÁČ, M.; TRÁVNÍČEK, P.; JUNGA, P.; MAREČEK, J. *Moderní postupy konstrukce při vývoji modulového zařízení pro rapid-prototyping.* In Nové trendy v konštruovaní a v tvorbe technickej dokumentácie 2011. s. 159--164. ISBN 978-80-552-0585-4.

[3] LUKŮVKA, R. -- FILÍPEK, J. -- VOTAVA, J. *Kaučukové formy při malosériové výrobě voskových modelů*. In Kvalita a spoľahlivosť technických systémov - Zborník vedeckých prác. ISBN 978-80-552-0595-3.

[4] MACEK, J.: *Spalovací motory I.* Nakladatelství ČVUT. Praha 2007. ISBN 978-80-01-03618-1

[5] HORÁČEK, M.; CHARVÁT, O.; SMRČKA, V. R*apid wax patterns obtained by RP and silicone mould technologies*. Slévárenství, 2008, roč. LVI, č. 9- 10, s. 398-404. ISSN: 0037- 6825.

[6] VAEZI, M.; SAFAEIAN, D.; CHUA,C.K. *Gas turbine blade manufacturing by use of epoxy resin tooling and silicone rubber molding techniques*, Rapid Prototyping Journal, č. 17, str.107-115

[7] SIAS, F. R.. *Lost-Wax Casting: Old, New, and Inexpensive Methods*. Woodsmere Press, 2006. 214 s. ISBN-13: 978-0967960005

MONITORING OF ENGINE LOAD IN OPERATION

Polcar A., Kumbár V.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: adam@cmail.cz

ABSTRACT

The article deals with monitoring of the tractor engine load in operation. Engine load with engine revolutions is an important indicator for evaluating of the fuel consumption or emissions production during operation away from the laboratory. The methodology of measuring and evaluating the operating parameters of engine is described in the article. For the evaluation was used data, that were obtained during a 14 days of operation. The whole measurement was carried out on the tractor Case IH Puma 195 at a private farm in Rakvice. The results suggest that the actual tractor engine loading during operation is very different. These results lead to the conclusion, that e.g. methodology of measuring of emission production for agricultural tractors is not accuracy. The methodology does not reflect the variable load.

Key words: tractor, engine load, exhaust emissions

Acknowledgement: The article was created with the support of the project of Internal Grant Agency (IGA) of Mendel University in Brno, TP1/2011 - Monitoring of performance parameters of tractor engine.

ÚVOD

S příchodem moderních konstrukčních a elektronických prvků je dopravním prostředkům umožněno dosahovat lepších provozních parametrů. Výjimkou nejsou ani zemědělské a lesnické traktory. Díky lepším provozním parametrům – výkonu, spotřebě paliva, rychlosti apod. jsou nasazovány do nejrůznějších pracovních operací od orby až po mezipodnikovou přepravu materiálu. Roste tak jejich využití pro nejrůznější aplikace. Provozní zatížení spalovacího motoru traktoru je vzhledem k této proměnlivosti pracovního nasazení velmi rozdílné, což výrazně ovlivňuje např. produkci výfukových emisí.

V důsledku negativních vlivů provozu spalovacího motoru na životní prostředí a na zdraví člověka začaly být uplatňovány tzv. emisní limity, které musí každý vyrobený spalovací motor splňovat. Tyto limity jsou pro Českou Republiku, resp. pro celou Evropskou unii stanovovány Evropskou hospodářskou komorou (EHK). Pro zemědělské traktory se používá směrnice 2000/25/EC s novelou 2005/13/EC o opatřeních proti emisím plynných znečišťujících látek a znečišťujících částic z motorů používaných k pohonu zemědělských a lesnických traktorů. Emisní limity se vyhlašují pro stanovený rozsah výkonu motoru a období platnosti a uvádí se v $g.kW^{-1}.h^{-1}$. Limitovanými emisemi jsou oxid uhelnatý CO, uhlovodíky, resp. těkavé organické sloučeniny HC, suspendované částice PM a oxidy dusíku NO_x. Mimo těchto limitů maximálního množství emisí ve výfukových plynech jsou vydány i směrnice, určující metodiku měření těchto emisí. Tato metodika je popsána ve směrnici 97/68/EC při použití vznětového motoru, jehož netto výkon (80/1269/EEC) je nejméně 19 kW, avšak není větší než 560 kW, a který je provozován s měnícími se otáčkami spíše než s otáčkami stálými.

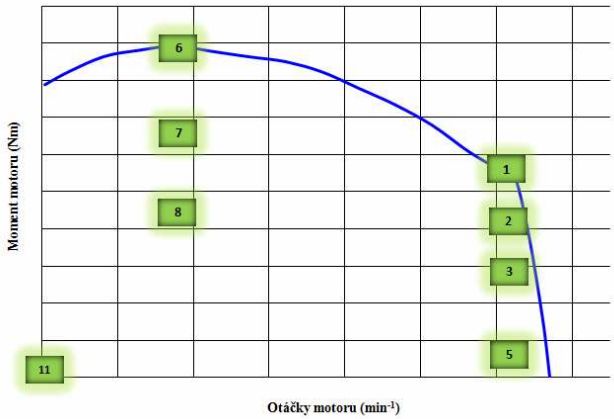
Metodika měření zahrnuje dva testovací cykly: **cyklus NRSC** (Non-road steady cycle) - stacionární zkouška nesilničních pojízdných strojů a **cyklus NRTC** (Non-road transient cycle) - dynamická zkouška nesilničních pojízdných strojů.

V případě zkoušek NRSC se používá metodika tzv. bodového testu, při kterém se zatěžuje samostatný motor na zkušební stolici na různé otáčky a točivý moment. Každý z bodů má svoji váhu vyjádřenou konstantou (váhový faktor), kterou se násobí naměřené hodnoty emisí. Váhové faktory udávají podíl, jakým příslušný režim přispívá do celkového výsledku testu a tím i důležitost daného režimu v testu. Přehled o velikosti momentů, otáček, váhových konstantách je uveden v tabulce 1 a na obrázku 1. V případě zkoušení traktorů se používá metodika tzv. 8 bodového testu. Tento cyklus plně odpovídá normě ISO 8178-4 C1 (pro motory „Off road vehicles“ s proměnlivým zatížením a otáčkami).

Tabulka 1 – Váhové faktory dle standardu ISO 8178-4

Bod testu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Točivý moment [%]	100	75	50	25	10	100	75	50	25	10	0
Otáčky motoru	Jmenovité otáčky motoru					Mezilehlé otáčky motoru					Volnoběh
	Váhový faktor										
Nesilniční vozidlo, typ C1	0,15	0,15	0,15	-	0,1	0,1	0,1	0,1	-	-	0,15
Nesilniční vozidlo, typ C2	-	-	-	0,06	-	0,02	0,05	0,32	0,3	0,1	0,15

Mezilehlé otáčky se stanovují na základě otáček při nejvyšším točivém momentu ve vztahu k otáčkám jmenovitým. Jedna z možností je, že to mohou být otáčky při maximálním točivém momentu, pokud leží mezi 60 – 75 % jmenovitých otáček motoru. Další možnosti jsou blíže specifikovány v normě 97/68/EC. Pro každý bod je zapotřebí nejméně deset minut měření při ustáleném stavu. Hodnoty koncentrace plynných emisí z výfuku se změří a zaznamenají v průběhu posledních tří minut režimu. Hodnoty emisí se pak vypočítají podle příslušných vztahů.



Obrázek 1 – Příklad rozložení měřících bodů podle normy ISO 8178-4, C1, používané pro traktorové motory

Jak je z tabulky 1 patrné, tak váhové koeficienty přikládají velký význam oblasti jmenovitých otáček, jelikož se zde očekává častější provozování traktorového motoru. Cílem měření bylo zjistit skutečné časové rozložení zatížení traktorového motoru pracující v provozu.

MATERIÁL A METODIKA

Sledování provozních parametrů motoru bylo provedeno na traktoru CASE IH PUMA 195 na soukromé farmě v Rakvicích.

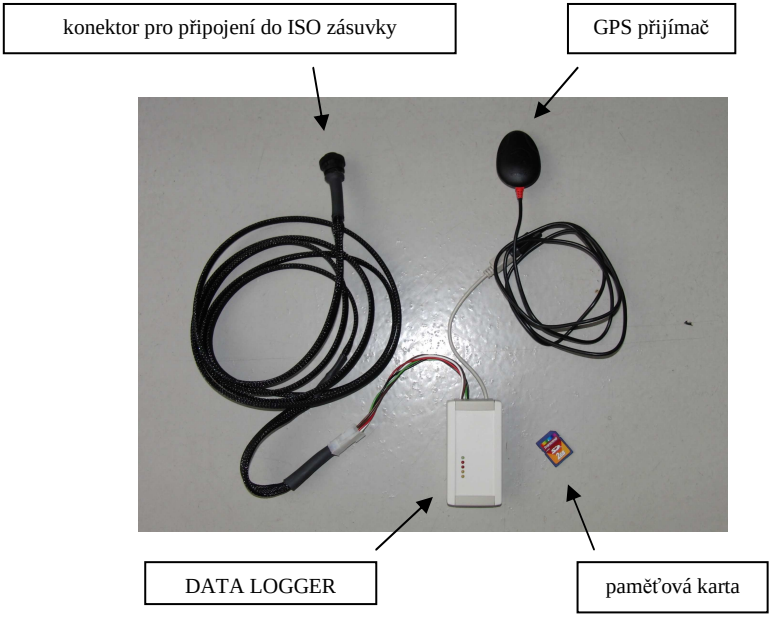
Technické parametry traktoru CASE IH PUMA 195

Výrobce traktoru: CASE IH, model: PUMA 195, rok výroby: 2007. Motor: řadový šestiválcový kapalinou chlazený vznětový, přeplňovaný turbodmychadlem s mezistupňovým chladičem. Zdvihový objem: 6700 cm^3. Maximální výkon (bez navýšení) (dle ECE R120): 164 kW, maximální výkon (s navýšení) (dle ECE R129): 179 kW, motor traktoru je opatřen elektronickým řízením s navýšením výkonu při dopravě a při agregaci se stroji poháněnými přes vývodový hřídel. Převodovka: Powershift s Power Shuttle, počet převodových stupňů 19 x 6, pohon pojezdu 4K4. Pneumatiky: přední náprava: Continental Contract AC 65 velikost 540/65 R30, zadní náprava: Continental Contract AC 65 velikost 650/65 R42.

Obr. 2 - Traktor CASE IH PUMA 195

Popis měřícího zařízení pro snímání provozních parametrů:

Pro zjišťování provozních parametrů traktoru bylo využito interní sběrnice traktoru CAN-Bus. Do této sběrnice byl pomocí ISO zásuvky připojen DATA LOGGER (viz. Obrázek 3). K DATA LOGGERU byl dále ještě připojen GPS přijímač pro zjišťování aktuální polohy traktoru. Záznamník ukládal data s frekvencí 1 Hz.

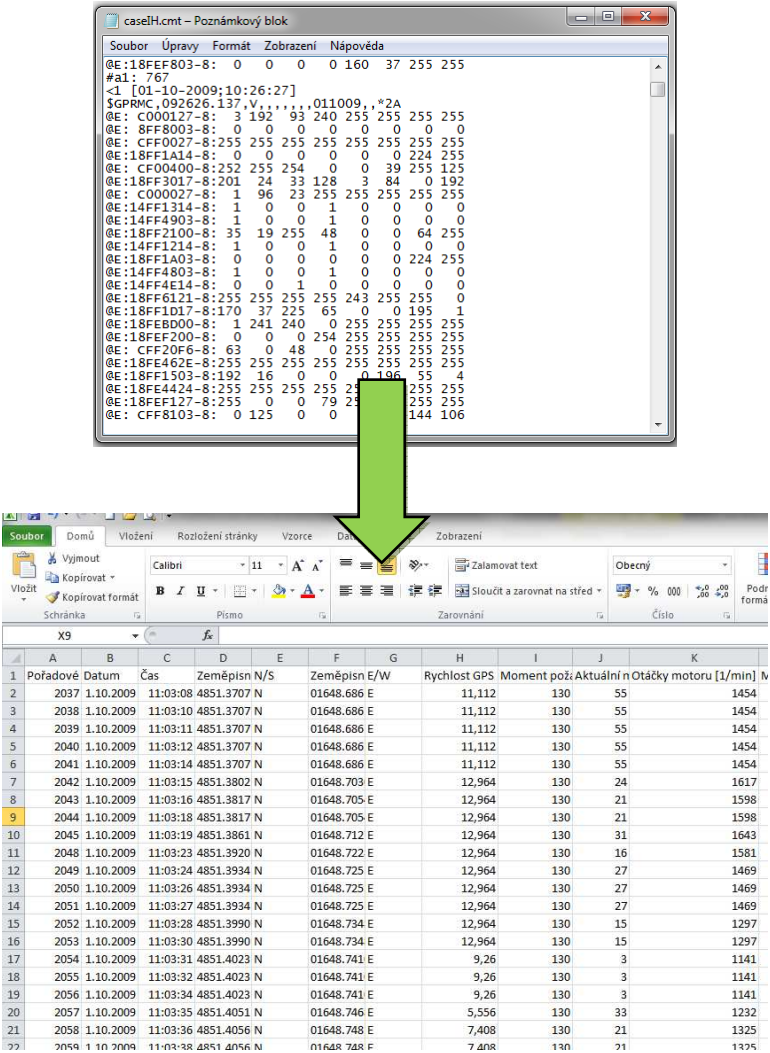


Obrázek 3 – Zařízení pro snímání a ukládání dat ze sítě CAN-Bus

K ukládaným provozním datům patřilo zejména aktuální zatížení motoru [%], otáčky motoru [min^{-1}], aktuální točivý moment motoru [%], spotřeba paliva [l/h], rychlost, poloha traktoru atd. K těmto datům byl zapisován čas záznamu.

VÝSLEDKY A DISKUZE

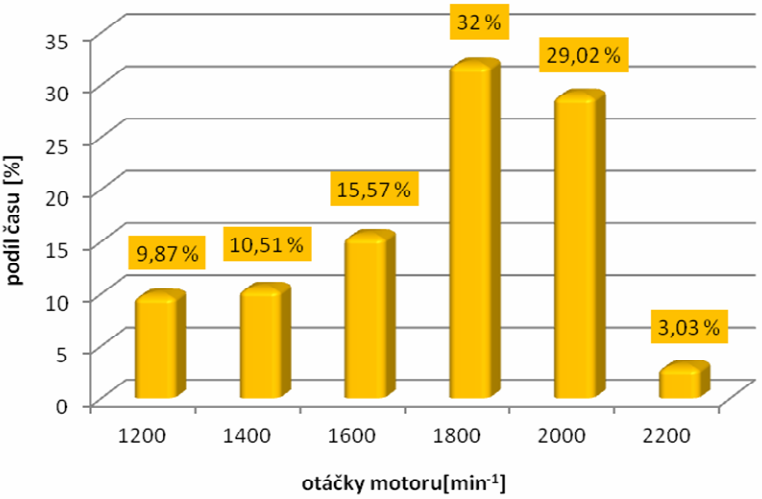
Pro analýzu zaznamenaných dat byla nejprve nutná značná manipulace s daty. Vzhledem k objemu nashromážděných dat není totiž možné zpracovávat data standardními analytickými prostředky, jako jsou MS Excel, Statistica apod. Proto musela být pro vyhodnocování naměřených dat vytvořena vlastní aplikace. K vývoji aplikace bylo využito vývojového prostředí National Instruments – LabVIEW ve verzi 2010. Aplikace měla za účel volbou velikosti segmentu načítat data ze souboru CAN záznamníku (DATA LOGGERu), následně data záznamníku dle protokolu sběrnice CAN konvertovat do hodnoty fyzikální veličiny, výsledné hodnoty ukládat do podoby ASCII souboru pro následný import do jiných sw a umožnit spojování souborů podle zvoleného kritéria.



	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1	Pořadové	Datum	Čas	Zeměpisn	N/S	Zeměpisn	E/W	Rychlost GPS	Moment poža	Aktuální n	Otáčky motoru [1/min]
2	2037	1.10.2009	11:03:08	4851.3707	N	01648.686	E	11,112	130	55	1454
3	2038	1.10.2009	11:03:10	4851.3707	N	01648.686	E	11,112	130	55	1454
4	2039	1.10.2009	11:03:11	4851.3707	N	01648.686	E	11,112	130	55	1454
5	2040	1.10.2009	11:03:12	4851.3707	N	01648.686	E	11,112	130	55	1454
6	2041	1.10.2009	11:03:14	4851.3707	N	01648.686	E	11,112	130	55	1454
7	2042	1.10.2009	11:03:15	4851.3802	N	01648.703	E	12,964	130	24	1617
8	2043	1.10.2009	11:03:16	4851.3817	N	01648.705	E	12,964	130	21	1598
9	2044	1.10.2009	11:03:18	4851.3817	N	01648.705	E	12,964	130	21	1598
10	2045	1.10.2009	11:03:19	4851.3861	N	01648.712	E	12,964	130	31	1643
11	2048	1.10.2009	11:03:23	4851.3920	N	01648.722	E	12,964	130	16	1581
12	2049	1.10.2009	11:03:24	4851.3934	N	01648.725	E	12,964	130	27	1469
13	2050	1.10.2009	11:03:26	4851.3934	N	01648.725	E	12,964	130	27	1469
14	2051	1.10.2009	11:03:27	4851.3934	N	01648.725	E	12,964	130	27	1469
15	2052	1.10.2009	11:03:28	4851.3990	N	01648.734	E	12,964	130	15	1297
16	2053	1.10.2009	11:03:30	4851.3990	N	01648.734	E	12,964	130	15	1297
17	2054	1.10.2009	11:03:31	4851.4023	N	01648.741	E	9,26	130	3	1141
18	2055	1.10.2009	11:03:32	4851.4023	N	01648.741	E	9,26	130	3	1141
19	2056	1.10.2009	11:03:34	4851.4023	N	01648.741	E	9,26	130	3	1141
20	2057	1.10.2009	11:03:35	4851.4051	N	01648.746	E	5,556	130	33	1232
21	2058	1.10.2009	11:03:36	4851.4056	N	01648.748	E	7,408	130	21	1325
22	2059	1.10.2009	11:03:38	4851.4056	N	01648.748	E	7,408	130	21	1325

Obrázek 4 – Struktura dat záznamníku CAN před a po zpracování aplikací (upravená data importovaná do MS Excel)

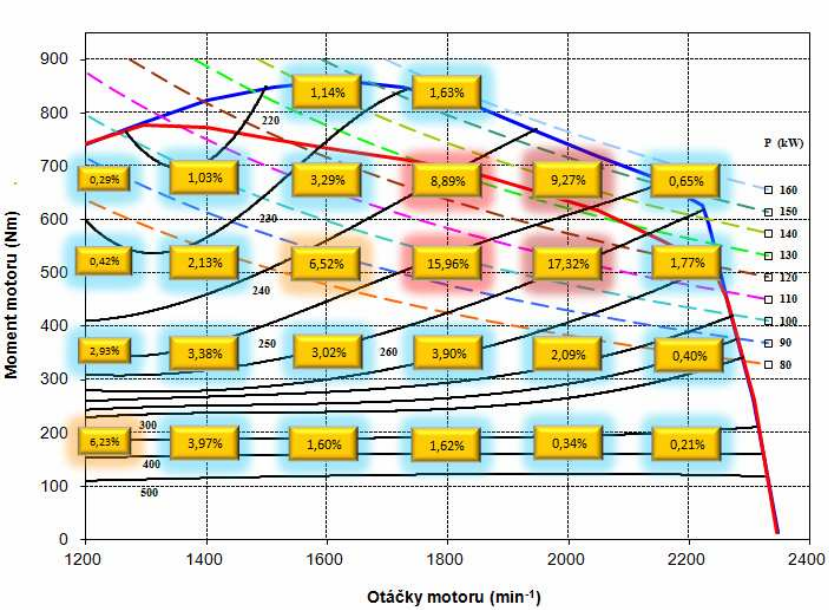
K vyhodnocení naměřených údajů byla vybrána data uložena za dobu 14ti dnů denní práce traktoru. Vybrané období bylo od 25.10 2010 do 7.11 2010. Z naměřených dat byl vypočten pro vybrané otáčky (1200, 1400, 1600, 1800, 1900, 2000 a 2200 min^{-1}) procentuální podíl času, který představuje celkový čas práce traktoru při daných otáčkách, ale při různých zatíženích motoru. Vypočtené hodnoty jsou uvedeny na obrázku 5.



Obrázek 5 – Sloupcový graf procentuálního podílu času pro různé otáčky

Z grafu vyplývá, že traktor byl nejčastěji provozován při otáčkách 1800 až 2000 min^{-1}. Nejméně času pracoval motor v oblasti jmenovitých otáček motoru. K detailnějšímu rozboru časového rozložení zatížení traktoru byla použita úplná charakteristika stejného typu traktoru, který byl již v minulosti v laboratořích Ústavu techniky a automobilové dopravy Mendelovy univerzity v Brně měřen.

Do úplné charakteristiky byly vyneseny pro různé otáčky a pro různé točivé momenty, resp. pro různá zatížení procentuální hodnoty času. Tyto hodnoty představují podíl doby práce traktorového motoru v dané oblasti charakteristiky za sledované období (viz. Obrázek 6).



Obrázek 6 – Úplná charakteristika traktoru CASE IH PUMA 195 s vynesením procentuálního podílu času představující dobu práce traktoru v dané oblasti během sledovaného období

Z úplné charakteristiky je patrné, že skutečné zatížení traktorového motoru během provozu je velmi rozdílné. Nejčastěji byl traktor provozován v otáčkách 1800 až 2000 min^{-1} mezi 60 – 70% zatížení traktorového motoru. Z grafu můžeme dále vyčíst, jaká byla při daném zatížení a otáčkách motoru např. jeho měrná spotřeba paliva.

ZÁVĚR

Na základě výsledků sledování provozních parametrů traktorového motoru v provozu, bylo zjištěno, že sledovaný traktor CASE IH PUMA 195 byl většinu času provozován v oblasti otáček 1800 až 2000 min^{-1}. V těchto otáčkách zejména při otáčkách 1800 dosahuje traktorový motor téměř 100 % točivého momentu a nízké měrné spotřeby paliva.

Při zpětném ohlednutí na metodiku měření emisí traktorového motoru vidíme, že normy neodrážejí reálné zatížení spalovacího motoru zemědělského traktoru, což jak již bylo zmíněno je vzhledem k jeho proměnlivosti pracovního nasazení velmi rozdílné. Z výsledků vynesených zatížení vyplývá, že hodnoty váhových faktorů nekorespondují s naměřeným hodnotami, resp. s oblastmi času práce motoru. Váhové koeficienty používané pro výpočet konečného množství emisí ve výfukových plynech přikládají velký význam oblasti jmenovitých otáček, jejichž využívání v praxi, jak můžeme na obrázku 6 vidět, se s nástupem moderních technických prvků (např. elektronického řízení

motoru, hydromechanickým převodovkám apod.) přesouvá do oblasti s nižšími otáčkami, do oblastí s nižší měrnou spotřebou paliva. Proto je třeba do budoucna uvažovat s revizí velikosti váhových koeficientů, neboť se předpokládá zpoplatnění produkce emisí, případně jejich vazba na vyprodukované množství. Z těchto důvodů bude mít přesné stanovení velikosti produkce emisí velký význam.

LITERATURA

BAUER, F., a kol. (2006): Traktory, Profi Prees, Praha, 1.vydání, 192 s.

VLK F., (2006): Diagnostika motorových vozidel. Vlk, Brno, 442 s.

DIRECTIVE 97/68/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 1997

EFFECT MACHINES WITH VARYING INTENSITY PROCESSING OF LAND ON SPRING BARLEY YIELDS

Svoboda M.[1], Procházková B.[2], Hledík P.[3]

[1] Department of Agricultural, Food and Environmental Engineering, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

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

[3] Crop Research Institute, Drnovská 507, 161 06 Praha 6 – Ruzyně, Czech Republic

E-mail: xsvobo66@node.mendelu.cz

ABSTRACT

Monitoring the effect of machines with varying tillage intensity on the yields of spring barley was carried out in a long-term stationary field trial conducted in the years 1990–2010 on black soil, loamy soil in sugar-beet-producing regions. Spring barley was grown after sugar beet. Four options were evaluated tillage (1. Plough at 0.22 m, 2. Plough at 0.15 m, 3. Seed drill for direct seeding, 4. Compactor at 0.10 m depth).

In an attempt was reported statistically significant increase in the yield on Option 2 with a plow to 0.15 m compared to all other variants.

Results of long-term monitoring of the effect machines with varying tillage intensity on the yields of spring barley indicate that soil in these climatic conditions is suitable to use machines with reduced tillage intensity.

Key words: spring barley, soil tillage, yield of grand

Acknowledgement: 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

Zpracování půdy je považováno za jedno z energeticky nejnáročnějších agrotechnických prací v zemědělství, a proto je zde snaha hledat úspory nákladů. Snižování energetické náročnosti na zpracování půdy je jednou z výrazných cest k dosažení příznivých nákladů na jednotku produkce.

Pro zpracování půdy a setí jarního ječmene existuje v současné době široký výběr strojů s různou intenzitou a hloubkou zpracování půdy. Volbu pracovních strojů je potřeba přizpůsobit stanovištním podmínkám, zařazení ječmene do osevního sledu včetně managementu posklizňových zbytků předplodiny, stavu půdy po sklizni předplodiny, vybavení podniku ostatní technikou i dalším faktorům. (Zimolka a kol., 2006).

V práci je hodnocen vliv použití strojů s různou intenzitou zpracování půdy na výnosy jarního ječmene.

Správná volba strojů pro zpracování půdy a založení porostu jarního ječmene je velmi důležitá, neboť kompenzace špatně založeného porostu dalšími agrotechnickými zásahy je velmi malá, proto je výběr technologie a stroje základem jeho dobrého pěstování.

MATERIÁL A METODIKA

Pro hodnocení vlivu použití strojů s různou intenzitou zpracování půdy na výnosy jarního ječmene byly v roce 1989 založeny v řepařské výrobní oblasti polní pokusy. Polní pokusy jsou vedeny na výzkumné stanici Výzkumného ústavu rostlinné výroby v Ivanovicích na Hané do dnešní doby.

Charakteristika stanoviště

Poloha stanoviště je v řepařské výrobní oblasti, kde půdní typ je černozem a půdní druh hlinitá půda. Nadmořská výška je zde 225 m. Hloubka humusového horizontu se pohybuje v rozmezí 0,40 – 0,50 m. Zásobenost půdy živinami (Ca, P, K, Mg) je dobrá, obsah humusu je 2,6%, půdní reakce je neutrální, stanoviště se nachází v klimatickém regionu T2 (teplý mírně suchý).

Varianty zpracování půdy

1- ORBA h= 0,22 m (Traktor 110 kW + 6- radličný oboustranný pluh)

2- ORBA h= 0,15 m (Traktor 110 kW + 6- radličný oboustranný pluh)

3- PŘÍMÉ SETÍ (Traktor 110 kW + kompaktor (h= hloubka setí))

4- MĚLKÉ ZPRACOVÁNÍ h= 0,10 m (Traktor 110 kW + kompaktor)

Všechny varianty pokusu byly sety secí kombinací.

Technika založení pokusu

Pokus je založen metodou dělených dílců se čtyřmi opakováními.

Pokusná parcela má velikost 300 m^2 (6 x 50 m), sklizňová parcela 22 m^2.

Pěstované odrůdy

1990 – 1996 odrůda Rubín, 1997 – Akcent, 1998 – 2007 – Kompakt, 2008 – 2010 – Jersey

Hnojení a ochrana proti plevelům, chorobám a škůdcům

V jednotlivých letech bylo postupováno podle stanovené metodiky.

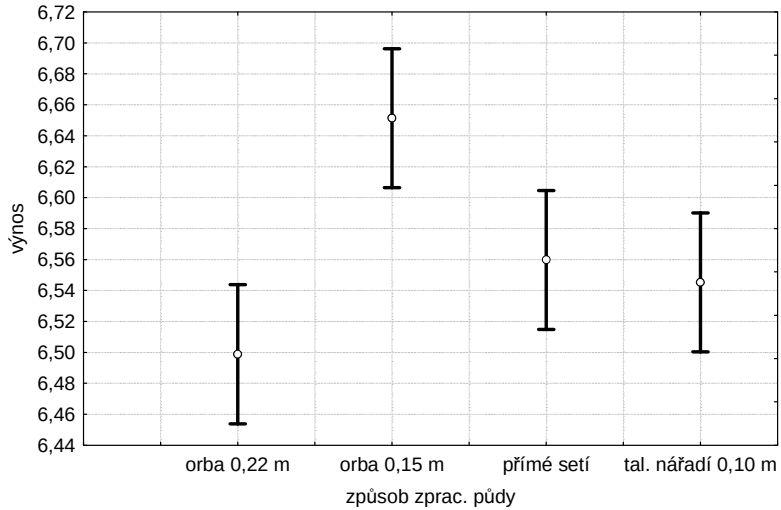
Statistické vyhodnocení výsledků

Výsledky sledování byly statisticky zpracovány analýzou rozptylu v programu STATISTICA CZ.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Tab. 1 Výnosy jarního ječmene v (t.ha^{-1}) v letech 1990 - 2010

Roky/varianty	1	2	3	4
1990	6,73	7,53	7,52	7,79
1991	7,05	7,28	6,91	7,36
1992	5,94	6,19	6,32	6,42
1993	3,20	3,28	3,67	3,62
1994	6,64	6,97	6,94	6,74
1995	6,35	6,57	6,12	6,15
1996	6,26	5,92	6,17	6,15
1997	7,12	7,07	7,20	7,22
1998	6,17	5,85	6,53	6,41
1999	6,75	7,12	6,99	7,37
2000	4,54	4,76	3,83	3,77
2001	8,18	8,22	8,47	8,21
2002	6,53	6,56	6,37	6,48
2003	4,55	5,34	4,39	3,42
2004	8,68	8,38	8,08	7,81
2005	7,25	7,47	7,26	7,06
2007	5,33	5,94	6,08	6,08
2008	6,20	6,63	6,79	6,82
2009	9,21	8,54	8,70	8,91
2010	7,32	7,41	6,86	7,12
Průměr	6,50	6,65	6,56	6,55



Obr. 1 Vliv zpracování půdy na výnosy jarního ječmene v letech 1990 – 2010

V tab1. jsou uvedeny výsledky průměrných výnosů v jednotlivých letech a na obr1. je provedeno statistické vyhodnocení. Vliv použití strojů s různou intenzitou zpracování půdy na výnosy jarního ječmene v letech 1990 – 2010 byl statisticky průkazný. V průměru celého souboru pokusu byl dosažen nejvyšší výnos (6,65 $t.ha^{-1}$) na variantě č. 2 s mělkou orbou na 0,15 m a nejnižší výnos (6,50 $t.ha^{-1}$) na variantě č. 1. s orbou na 0,22 m mezi těmito variantami zpracování půdy byl statistický průkazný rozdíl. Varianta č. 3 s přímým setím (6,56 $t.ha^{-1}$) a varianta č. 4 s mělkým zpracováním půdy na 0,10 m (6,55 $t.ha^{-1}$) zaujímaly střední postavení. Mezi variantou s nejvyšším výnosem (varianta č. 2) a ostatními variantami zpracování půdy (varianta č. 1, 3 a 4) byl ve výnosu jarního ječmene zaznamenán statisticky průkazný rozdíl, ale mezi variantou č. 1 (orba na 0,22 m) a variantami č. 3 a 4 (přímý výsev secím strojem a kompaktorem s hloubkou zpracování půdy 0,10 m) nebyl zaznamenán statisticky průkazný rozdíl.

Výnosová reakce jednotlivých plodin na hloubku a intenzitu zpracování půdy do značné míry závisí na půdních a povětrnostních podmínkách. Z důvodu značné variability povětrnostních podmínek mezi roky a možných kumulativních efektů půdních procesů je hodnocení vlivu různých způsobů zpracování půdy na výnosy plodin více spolehlivé jen v dlouhodobějších polních pokusech (Procházková et.al., 2004).

Vliv na zpracování půdy se stroji pro minimalizační technologie je na půdní prostředí většinou příznivý, ale současně není možné přebírat tyto technologie z jiných podmínek, naopak je potřeba výzkumu a praktického ověření vhodných postupů pro konkrétní podmínky hospodaření (Hůla Procházková a kol., 2002).

Dnes je sice větší podíl orné půdy stále zpracováván orbou radličnými pluhy, ale současně také stoupá podíl orné půdy, na které se uplatňují moderní způsoby zpracování bez uplatnění klasických radličných pluhů (Mašek, 2009).

ZÁVĚR

Vliv zpracování půdy stroji s různou intenzitou a hloubkou zpracování půdy na výnosy jarního ječmene byl hodnocen v dlouhodobém stacionárním polním pokusu vedeném na úrodné černozemní půdě v řepařské výrobní oblasti v letech 1990 – 2010.

Nejvyšších výnosů bylo dosaženo při orbě klasickým radličným pluhem na h= 0,15 m- var. 2, použití secího stroje s přímým výsevem var. 3 a použitím kompaktoru s hloubkou zpracování půdy 0,10 m var. 4 zaujímaly střední postavení. Nejnižších výnosů bylo dosaženo s použitím klasického radličného pluhu s h= 0,22 m- var. 1.

Výsledky z daného pokusu ukazují, že v této oblasti je používání strojů s nižší hloubkou zpracování půdy vhodné pro dosažení vyšších výnosů, než používání strojů s větší pracovní hloubkou pro zpracování půdy.

LITERATURA

HŮLA J., PROCHÁZKOVÁ, B., a kol., (2002): Vliv minimalizačních a půdoochranných technologií na plodiny, půdní prostředí a ekonomiku. Zemědělské inform. č. 3, ÚZPI Praha, 104 s.

MAŠEK, J., (2009): Systémy zpracování půdy a zakládání porostů. Farmář, č. 9, Speciální příloha, 3 – 9 s.

PROCHÁZKOVÁ, B., DOVRTĚL, J., HŮLA J., (2004): Minimalizační technologie zpracování půdy k obilninám. Úroda 52, č. 2, 46 – 49 s.

ZIMOLKA, J. a kol., (2006): Ječmen – formy a užitkové směry v ČR, Praha, Profi Press, s. r. o., 200 s. ISBN 80-86726-18-5

ANALYSIS USING OF STARCH WASTE BY ANAEROBIC FERMENTATION

Szabó T., Groda B.

Department of Agricultural, Food and Environmental Engineering, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: teress@centrum.cz, tereza.szabo@mendelu.cz

ABSTRACT

An increase in demand for renewable energy sources resulting from a number of legislative orders gives rise to dynamic development of biogas production technologies. Properties of substrates suitable for anaerobic fermentation are tested by Mendel University in Brno which has built the "Biomass Transformation Reference Laboratory of the Republic" and that is where the university performs the tests. This laboratory is provided with reactors of various volumes controlling all the variables on which the course of the process, measurement of the quantity of the biogas being generated, temperature measurement, and openings for sampling the substrate and biogas depend.

One group of tests was focused on waste produced by starch industry that can be used within the mesophyll anaerobic fermentation. Composition of the dosed substrate was as follows: pentoses 22.57%, bran 22.57%, B-starch 4.07%, draff 5.64% and floater 45.15%. Tests were performed by means of co-fermentation with an inoculation substrate from an agricultural biomass power plant in 10 reactors of which 2 were kept without substrate additions. Biogas production out of these checked reactors was then subtracted from the total production of biogas out of the reactors with substrate.

On the basis of the test results the average production of biogas or methane per one kilogram of dry matter respectively was calculated.

On the basis of the results it is possible to say that the starch waste of the specified quantity and composition may be used as a substrate for a biomass power plant.

On the basis of the tests an average production of biogas per a kilogram of the dry matter was calculated after fifteen days 0.9053 $m^3.kg^{-1}$ and 0,9708 $m^3.kg^{-1}$ after twenty-two days and 0.4779 $m^3.kg^{-1}$ methane after 15 days and 0.5176 $m^3.kg^{-1}$ after 22 days.

The planned production at the residence time of 15 days would be 6938.13 m^3 of biogas, 3662.58 m^3 of methane and at 22 days the values would be 7440.11 m^3 of biogas and 3966.83 m^3 methane.

Subsequently, on the basis of the production the biomass power plant was designed which is to become a part of the starch factory premises.

Key word: biomass, starch waste

Acknowledgement: This project has done with the support of Internal Grant Agency of Agronomy faculty and BGS Biogas a.s.

ÚVOD

V posledních letech jsme svědky stoupajícího zájmu o bioplynové transformace, což se projevuje rostoucím počtem projektovaných a stavěných bioplynových stanic. Nemalou roli na tomto rozvoji hraje přijetí zákona o obnovitelných zdrojích energie. V současnosti nelze předpokládat, že by nahradily fosilní paliva, avšak lze konstatovat, že technologie využívající bioplyn jako zdroj energie, výrazně tuto substituci podporují. Jednak jde o systémy s perspektivním potenciálem do budoucna, které sebou nesou pozitivní vliv na životní prostředí, vedou k udržitelnosti zemědělství a venkova (zajištění zemědělcům nových a stabilních příjmů, tvorba a stabilizace pracovních míst), ale především přispívají k energetické nezávislosti země.

Pro potravinářský průmysl a jiné subjekty se vznikem gastronomických, zemědělských aj. odpadů využitelných k anaerobní fermentaci nabízí bioplynová technologie možnost využít organické zbytky a odpady, jichž stále přibývá. Nejvyšší význam mají bioplynové stanice prozatím v zemědělství, kde dochází k využívání energie z bioplynu často ve vlastním provozu, za současné úspory nákladů za nakupovanou energii, ale i vedlejších příjmů za odprodej vyráběné energie.

Každá výstavba bioplynové stanice sebou nese několik zásad, které musí být dodržovány. Již samotná příprava a realizace výstavby musí být v souladu s řadou zákonů, které se na tento proces váží (ovzduší, hnojiva, energetika...), a proto je potřeba důkladně promyslet a zvážit již přípravné kroky, které tvoří základní stavební kámen pro následný projekt tj. jeho ekonomickou efektivnost, životnost a funkčnost. V této přípravné fázi je důležitá jak včasná a správná komunikace s úřady, tak i otevřenost a komunikace s obyvateli, jichž se záměr jakkoliv dotýká.

V dalším kroku je potřeba prozkoumat a ověřit dostatek vstupních substrátů a zajištění jejich pravidelných a včasných dodávek. Předem je tedy potřeba určit jaké materiály budou zpracovávány, zda bude zajištěn jejich dostatečný „přísun," ale také zamezení výrazných změn používaného substrátu, což by mohlo vést k inhibici procesu ve fermentorech a následnému přerušení výroby bioplynu.

Třetím a velice důležitým faktorem funkční bioplynové stanice je stanovení výtěžnosti bioplynu z jednotlivých materiálů. Produkce bioplynu se velkou mírou odvíjí od sušiny daných substrátů. Je potřeba také dobře určit směs ke kofermentaci s ohledem na složení (množství dusíku aj.), dávkované množství a jeho působení na aktivitu anaerobních společenstev i s ohledem na následné složení vznikajícího bioplynu. Toto vše lze získat laboratorním testováním, kterým se níže zabývá i tato práce.

Vzhledem k tomu, že fermentace je soubor na sebe navazujících procesů, v nichž dochází k přeměnám biologicky rozložitelných materiálů za pomoci mikroorganismů, je nutné nastavit a udržovat podmínky (kyslík, teplota, živiny, pH, inhibiční látky, aj.), za kterých nedochází k inhibici či přerušení činnosti těchto mikroorganismů.

S bioplynovou stanicí je spojeno využívání energetického potenciálu bioplynu. Nejčastějším způsobem využití bioplynu je kombinovaná výroba elektřiny a tepla v tzv. kogeneračních jednotkách. Zůstává na zvážení počet pořízených kogeneračních jednotek a to tak, aby byla zaručena jejich provozní spolehlivost, optimální využití bioplynu a s tím spojený také jejich servis a kontrola. Spalováním bioplynu v kogenerační jednotce dochází souběžně s výrobou elektřiny i ke vzniku (poměrově větší) tepla, které by již ve fázi studie proveditelnosti mělo mít stanoveno perspektivní využití.

Po zvážení všech těchto kritérií nesmí být opomenut ani další výstup z bioplynové stanice, kterým je fermentační zbytek. Způsob s jeho nakládáním závisí na konkrétních podmínkách, avšak často je využíván jako hnojivo, ať již po registraci k prodeji, či pro vlastní potřebu.

Mezi poslední zásady patří spíše otázky ekonomické, týkající se optimalizace investičních a provozních nákladů.

U mnoha projektů bioplynových stanic nedošlo vůbec k jejich schválení, realizaci, popř. správnému chodu, což bylo zapříčiněno především nedodržením některé z těchto zásad. Právě předejití těchto chyb je úkolem následně popsané studie, která předchází výstavbě nové bioplynové stanice zpracovávající škrobárenské odpady, jež jsou jako substrát pro toto využití jen velmi málo prozkoumány.

MATERIÁL A METODIKA

Testování probíhalo v Republikové referenční laboratoři bioplynových transformací na Mendelově univerzitě v Brně. Součástí laboratoře je i 10 reaktorů o objemu $3 \cdot 10^{-3}$ m^3. Reaktory jsou vyhřívány vodní lázní a denně je u nich prováděno kvanti-kvalitativní měření vznikajícího bioplynu. Pro aplikaci přídavných látek jsou reaktory vybaveny sondou, teploměrem pro měření teplot substrátu, prostupy pro odběr vzorků substrátu a zajištění odvodu bioplynu. Všechny výše jmenované zařízení byly na reaktoru instalovány tak, aby nedošlo k vniknutí okolního vzduchu do reaktoru.

Charakteristika substrátu

Do reaktorů byl dávkován substrát z reaktoru zemědělské bioplynové stanice v Čejči, kde je zpracovávána směs kukuřičné siláže a kejdy. Substrát byl odebrán v množství dostačujícím pro potřebné naplnění všech reaktoru, aby byly zajištěny stejné výchozí podmínky pro všechny testy. Do reaktorů byl substrát umístěn bezprostředně po transportu, aby došlo k co nejmenším změnám

jeho vlastností. Následující tabulka udává procentuální zastoupení jednotlivých látek v připravené směsi. Procentuální výsledky vychází z předpokládané denní dávky 88 600 kg škrobárenských odpadů.

Tab.1 Složení testovaného substrátu

Substrát	Procento zastoupení (%)
Pentosany	22.57
Otruby	22.57
B-škrob	4.07
Mláto	5.64
Flotát	45.15

Postup testu

Do jednotlivých reaktorů bylo nadávkováno inokulum se směsí odpadů, pouze dva reaktory byly ponechány bez přídavku dodané směsi jako srovnávací. Testy probíhaly po dobu 22 dní za podmínek anaerobní mezofilní fermentace (38°C).

Sledované parametry

Před zahájením testů byla změřena hodnota pH, dále pak sušina, spalitelné organické látky substrátu z bioplynové stanice a testované směsi. Teplota v reaktorech byla udržována za pomoci vyhřívané vodní lázně regulované termostatem.

Během testů byly každý den měřeny tyto parametry:

- celkové množství vzniklého bioplynu pomocí vodního plynojemu
- objemové zastoupení vybraných plynů v bioplynu (CH_4, CO_2, O_2, H_2 a H_2S) pomocí

  přístroje BINDER

Po ukončení testu byla stanovena sušina, spalitelné organické látky a pH.

Reaktory ponechané pouze s inokulem sloužily jako kontrolní a průměrná hodnota jejich produkce bioplynu byla odečtena od celkových produkcí každého reaktoru. Tímto byla získána skutečná hodnota bioplynu vyprodukovaného z testované směsi. Výsledky měření v testovacích reaktorech byly převedeny na množství dávkované sušiny. Následně pak bylo možno přepočítat získaná data na odpovídající produkci bioplynu pro různé velikosti reaktorů.

Další testy, které byly zadavatelem vyžadovány, se týkaly stanovení CHSK, dusíkatých a jiných látek ve fermentačním zbytku. Stanovení si provedla čistírna odpadních vod, kam bude odváděn fugát.

Popis použitého přístrojového vybavení laboratoře se specifikací analyzovaných parametrů:

Analyzátor plynů BINDER : měření kvality bioplynu CH_4, CO_2, H_2, H_2S, O_2

Plynoměr BK G4: měření kvantity vznikajícího bioplynu

Muflová pec LMH 07/12: stanovení sušiny a spalitelných organických látek

Laboratorní váhy RADWAG AS 220/C/2: vážení vzorku při stanovení sušiny

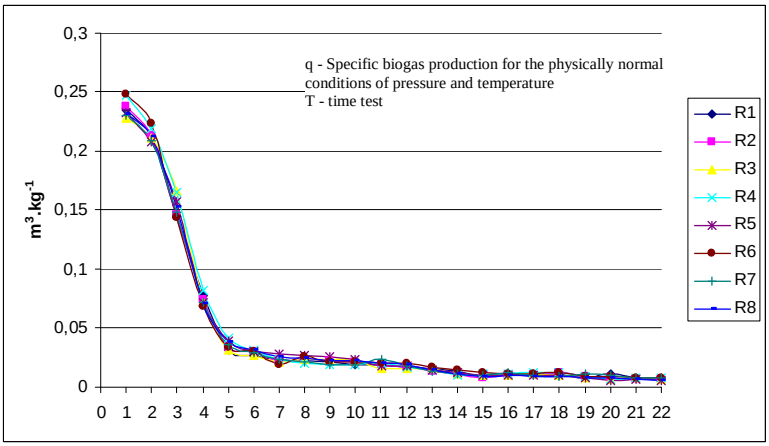
Spektrofotometr HACH-LANGE DR 2000: stanovení CHSK, N, P, K, Na, S

Magic gryf - měření pH XB-4-KS

VÝSLEDKY A DISKUZE

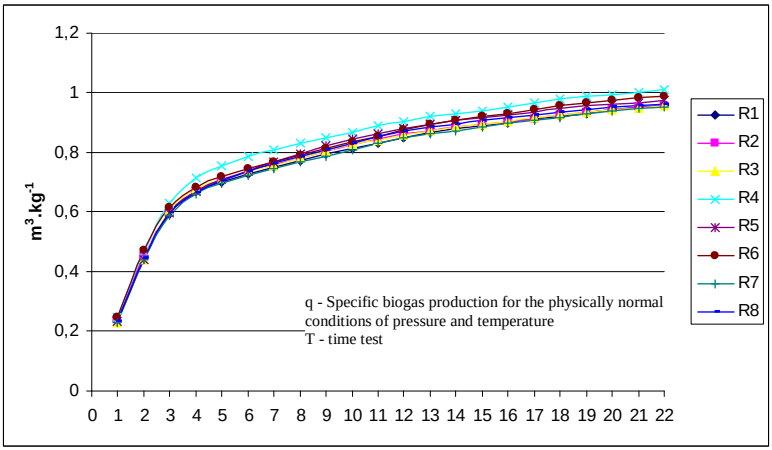
Testování probíhalo opakovaně v 10-ti reaktorech o objemu $3 \cdot 10^{-3}$ m^3, přičemž složení substrátu bylo vždy stejné. Na grafickém zobrazení výsledků lze vidět, že produkce jednotlivých reaktorů nezobrazují výraznější odchylky, proto lze konstatovat, že vypovídající hodnota testu je na vysoké úrovni a testovaný proces fermentace byl po celou dobu stabilní. Měření bylo prováděno v tolika opakováních, aby byla dosažena průkaznost testu produkce s hladinou spolehlivosti 0.05. Na grafech jsou zobrazeny denní a kumulativní produkce bioplynu a metanu vztažených na kg sušiny. Z výsledků lze následným přepočtem stanovit potřebnou velikost plánované bioplynové stanice.

Obr. 1 Denní produkce bioplynu

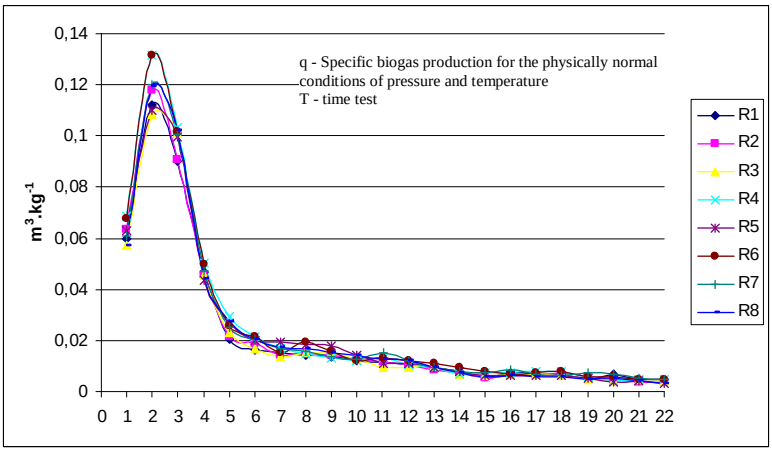


Z denní i kumulativní produkce bioplynu je patrné, že nejvyšších hodnot dosahoval test prvních patnáct dní. Stabilizace po patnáctém dnu je způsobena diskontinuální technologií, která je charakteristická spotřebou organických látek, tedy poklesem využitelné sušiny.

Obr.2 Kumulativní produkce bioplynu

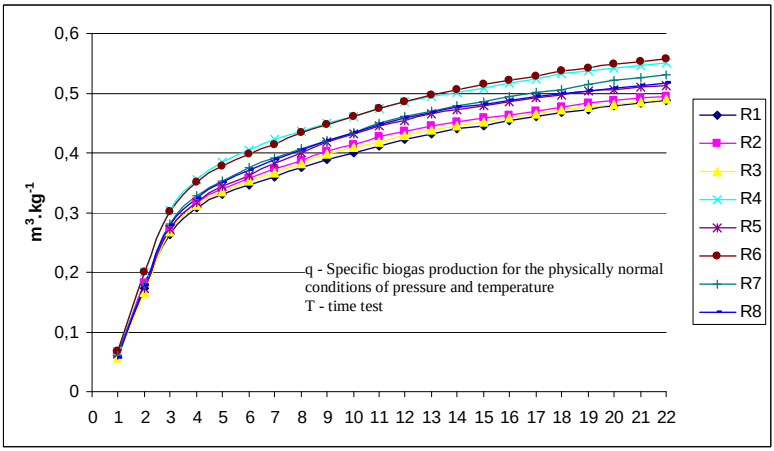


Obr.3 Denní produkce metanu

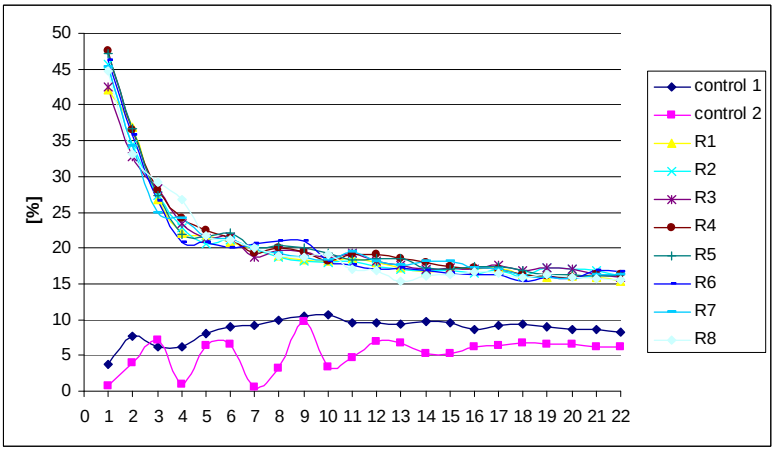


Metan je hlavní složkou bioplynu, která se podílí na jeho výhřevnosti a tím tedy i kvalitě. Proto je produkce bioplynu přepočítaná i na čistý metan, aby byl patrný energetický potenciál vzniklého bioplynu. Stejně jako u produkce bioplynu zaznamenáváme nejvyšší hodnoty do 15tého dne.

Obr.4 Kumulativní produkce metanu

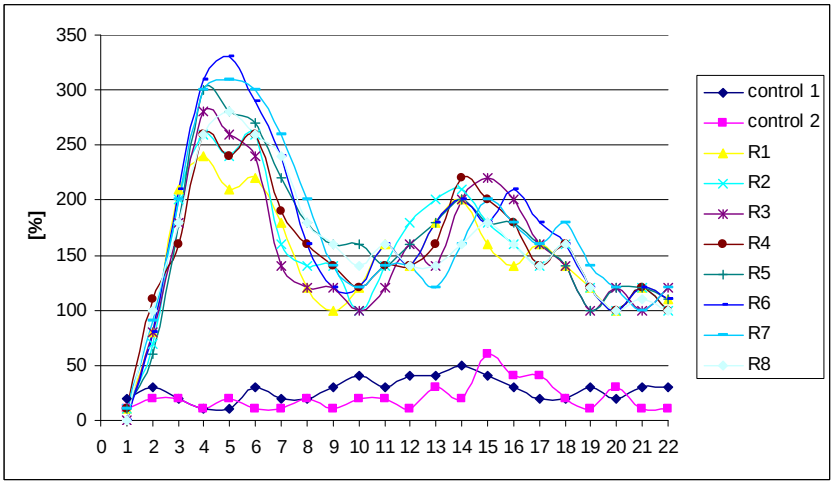


Obr.5 Obsah CO_2 v bioplynu



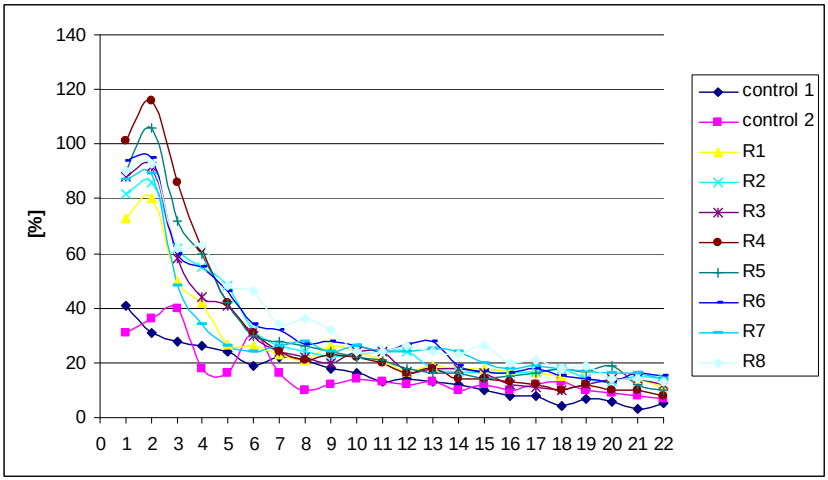
Na počátku testu byl obsah oxidu uhličitého v bioplynu velmi vysoký. To je způsobeno tím, že v reaktorech bezprostředně po uzavření zůstává kyslík. Nejprve tedy dojde k aerobnímu rozkladu, kde je hlavním produktem reakcí právě oxid uhličitý. Po vyčerpání kyslíku již probíhaly procesy anaerobně a obsah oxidu uhličitého se ustálil na průměrné hodnotě mezi 15-20 % obj.

Obr.6 Obsah H_2S v bioplynu



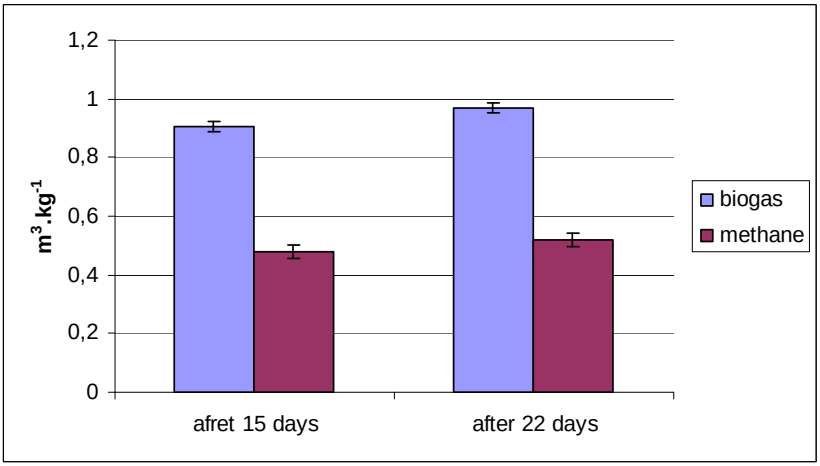
Sirovodík je toxický a silně reaktivní plyn, proto je jeho přítomnost v bioplynu nežádoucí z hlediska bezpečnosti provozu a ochrany zařízení. V případě velmi vysokého obsahu sirovodíku je nutné jej z bioplynu odstranit. Optimální koncentrace sirovodíku v bioplynu je pro efektivní provoz bioplynové stanice do 300 ppm. V úvodu testu jsme naměřili hodnoty výrazně vyšší. Tento problém však může být odstraněn použitím kontinuální technologie, kdy se plyn vznikající z různých fází rozkladu promíchává a koncentrace sirovodíku se tím sníží.

Obr.7 Obsah H_2 v bioplynu



Vodík patří mezi nejcitlivější indikátory stability procesu. V bioplynu vždy signalizuje nestabilitu. V počátečních dnech byla jeho koncentrace zvýšená v důsledku přidání substrátu a zatížení systému. Následně se již proces stabilizoval a koncentrace vodíku se snížila.

Obr.8 Produkce bioplynu a metanu škrobárenských odpadů



Tab. 2 Produkce metanu a bioplynu při dávce 88 600 kg

Odhad produkce bioplynu po 15-ti dnech

Dávka substrátu	Množství sušiny	Dávka sušiny	Jednotková produkce	Plánované množství
[kg]	[%]	[kg]	[$m^3.kg^{-1}$]	[m^3]
88600	8.65	7663.9	0.9053	6938.13

Odhad produkce bioplynu po 22 dnech

Dávka substrátu	Množství sušiny	Dávka sušiny	Jednotková produkce	Plánované množství
[kg]	[%]	[kg]	[$m^3.kg^{-1}$]	[m^3]
88600	8.65	7663.9	0.9708	7440.11

Odhad produkce metanu po 15-ti dnech

Dávka substrátu	Množství sušiny	Dávka sušiny	Jednotková produkce	Plánované množství
[kg]	[%]	[kg]	[$m^3.kg^{-1}$]	[m^3]
88600	8.65	7663.9	0.4779	3662.58

Odhad produkce metanu po 22 dnech

Dávka substrátu	Množství sušiny	Dávka sušiny	Jednotková produkce	Plánované množství
[kg]	[%]	[kg]	[$m^3.kg^{-1}$]	[m^3]
88600	8.65	7663.9	0.5176	3966.83

Sušina směsi škrobárenských odpadů na začátku testu byla 8,65% a obsah spalitelných látek 95,78% sušiny.

ZÁVĚR

Na základě výsledků lze konstatovat, že škrobárenské odpady ve stanoveném množství a složení je možno využít jako substrát pro bioplynovou stanici.

Dle testů byla vypočtena průměrná produkce bioplynu na kilogram sušiny po patnácti dnech 0.9053 $m^3.kg^{-1}$ a 0,9708 $m^3.kg^{-1}$ po dvaceti dvou dnech a 0.4779 $m^3.kg^{-1}$ metanu po 15ti dnech a 0,5176 $m^3.kg^{-1}$ po 22 dnech.

Plánovaná produkce při době zdržení 15 dní by byla 6938.13 m^3 bioplynu, 3662.58 m^3 metanu a při 22 dnech by hodnoty činily 7440.11 m^3 bioplynu a 3966.83 m^3 metanu.

Dle naměřených hodnot byla naprojektována bioplynová stanice ve dvojím provedení, obě však předpokládají roční zpracované množství vstupní suroviny 153 614 t/rok, roční množství bioplynu zpracovávané v kogenerační jednotce 2 208 968 m^3/rok, roční počet provozních hodin BPS: 8 160 h/rok.

I. varianta

Bioplynovou stanici bude tvořit ekoFermentor s integrovaným plynojemem a IC reaktorem nebo EGSB reaktorem. Kapacita zařízení je optimalizována na množství surovin. Jedná se o projekt zahrnující vybudování jednoho železobetonového fermentoru o celkovém objemu 2 713 m^3, který bude zastřešen fólií. V podstatě jde o kruhovou vertiální jímku částečně zakopanou pod zem. Součástí bioplynové stanice bude předjímka a skladovací jímka na fermentační zbytek. Suroviny budou do fermentoru dávkovány z přípravné jímky, která bude využita k prvotnímu promíchání surovin a za účelem jejich čerpatelnosti zde bude sušina substrátu vyrovnána na hodnotu kolem 10-ti %. Jímka bude zhotovena z betonu a zapuštěná do země. Bude opatřena vrtulovým lopatkovým míchadlem. Strop jímky je také betonový s uzavíratelným otvorem pro její plnění. Odtud pokračuje surovina do hlavního kruhového, betonového, vertikálního fermentoru, kde dojde k mezofilní femrentaci při teplotě cca 40°C. Fermentor bude vytápěn na jeho vnitřní stěně a bude vybaven několika rychloběžnými vrtulovými míchadly, které jsou výškově a směrově nastavitelné a navíc snadno přístupné v případě poruchy. Další částí fermentoru budou montážní otvory, prostupy na čerpání a dávkování suroviny.

Surovina po fermentaci pokračuje z fermentoru pro přechodné skladování do skladovací jímky, což je kruhová železobetonová, monolitická stavba. Hlavním účelem je vyrovnat objemové rozdíly

produkce fermentačního zbytku a zároveň zajišťovat plynulé zásobování čistírny odpadních vod. Součástí této jímky je kontrolní systém pro průběžnou kontrolu těsnosti nádrže a monitorovací optické signalizační zařízení. V návaznosti na skladovací jímku se zde bude nacházet stáčecí zpevněná plocha sloužící jako čerpací místo pro případné nouzové čerpání výstupu do cisterny (např. při odstávce ČOV). Čerpací plocha bude vyspádovaná do sběrné šachty, která bude odkanalizovaná přímo do homogenizační jímky.

Co se týče vzniklého bioplynu - z plynojemu bude odváděn plynovým potrubím k technologii na energetické využití a to za současného odstranění jeho vlhkosti a odsíření. Následně pak plyn pokračuje k motoru kogenerační jednotky.

Kogenerační jednotka a celé soustrojí motor-generátor včetně výše zmíněných součástí budou umístěny v budově z monolitického betonu. Celá jednotka bude opatřena protihlukovým krytem, řídícím a ovládacím rozvaděčem. Přebytky bioplynu budou v případě zastavení kogenerace či náhlého přebytku, páleny na bezpečnostním hořáku (fléře).

Výsledek celého procesu, tj. tepelná a elektrická energie, se využije v této i druhé variantě přímo v areálu. Pouze 5% elektrické energie se bude distribuovat do sítě.

Tepelná energie v BPS najde své uplatnění při fermentaci, resp. ohřevu substrátu a při chlazení kogeneračních jednotek. K dispozici je v sekundárním okruhu voda o teplotě 90 °C, která musí být bezpodmínečně v rámci cirkulace chlazena na cca. 70 °C. Teplo sekundárního okruhu je možné dále využívat pro otopné soustavy.

Kogenerační jednotku tvoří generátor na výrobu elektřiny, poháněný spalovacím motorem. V tomto případě zde budou instalované dvě kogenerační jednotky o celkovém elektrickém výkonu: 650 kW.

Využíván v této variantě bude IC reaktor či EGSB, které pracují na základě anaerobního procesu čištění odpadní vody. Fermentační zbytek s organickými látkami bude z vyrovnávací a acidifikační nádrže přes mix-tank veden do spodní části anaerobního IC či EGSB reaktoru. Anaerobní reaktor zde zbylé organické látky převede na bioplyn. Tento bioplyn se následně zpracuje v bioplynové stanici.

II. varianta

Na základě předložených podkladů o surovinách je druhá varianta navržena za využití dvou železobetonových fermentorů, jež budou pokryty plynotěsným krytem a z kopule plynojemu bude odváděn bioplyn plynovým potrubím. Součástí odvodu bioplynu do kogenerační jednotky je také proces jeho sušení a odsíření. Vnější strany fermentoru budou izolované kontaktním zateplovacím systémem a opláštěny pohledovým plechem (ve vertikálním směru). Fermentory mohou být zapuštěny celé, nebo částečně do země. Proces je jako v předchozí variantě mezofilní.

Surovina z dávkovacího zařízení postupuje do fermentoru I, kde dojde k tvorbě bioplynu a následně se bude přečerpávat do fermentoru II, ve kterém dochází ke stabilizaci fermentačního zbytku s tvorbou dalšího metanu. Fermentační zbytek pak bude putovat do skladovací jímky jako

stabilizovaný produkt bez další tvorby bioplynu a následně odváděn na místní čistírnu odpadních vod.

Kogenerační jednotka bude mít stejné opatření jako ve variantě I. Také bude opatřena řídícím a ovládacím rozvaděčem. Přebytky budou ukládány do kopulí integrovaného plynojemu a v případě naplnění těchto kopulí bude spalován na fléře, která se nachází bezpečně daleko od objektu bioplynové stanice. Ostatní podmínky jsou stejné či podobné jako ve variantě I.

MONITORING OF CORROSION ATTACK BY MEANS OF NDT METHOD - ACOUSTIC EMISSION

Tlačbaba J., Černý M.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xtlacbab@node.mendelu.cz, michalc@mendelu.cz

ABSTRACT

Acoustic emission (AE) is a non-destructive testing of materials and is one of the most advanced in this area. Non-destructive testing is one of the technical inspection of surface and internal defects of the material without breaking the structure. NDT methods can be localized damage to the structure of different mechanisms. The term acoustic emission we find the position, which is currently in the material, where the voltage generated waves, which spread the material. Scanning acoustic emission signals can be localized corrosion degradation of materials exposed to building materials or components. AE method allows spot checks and continuous monitoring. Appropriate deployment of sensors on the material, appropriate software and equipment used for process control in real time, and for rapid localization of damage.

Key words: AE, monitoring, NDT, corrosion

ÚVOD

Akustická emise (AE) patří mezi metody nedestruktivního testování materiálu je jedním z nejmodernějších odvětví v tomto oboru. Nedestruktivní defektoskopie patří mezi technickou kontrolu povrchů a vnitřních vad v materiálu bez porušení jejich struktury. Metodami NDT je možné lokalizovat poškození konstrukcí různými mechanismy. Pojem akustická emise detekuje děj, který probíhá aktuálně uvnitř materiálu, kdy vznikají napěťové vlny, které se šíří materiálem.

Snímáním signálů akustické emise je možné lokalizovat korozní degradaci materiálu zatěžované konstrukce či součásti. Metoda AE umožňuje jak náhodné kontroly, tak i souvislý monitoring. Vhodné rozmístění snímačů na materiálu, příslušný software a vybavení slouží pro efektivní kontrolu v reálném čase a i rychlou lokalizaci poškození materiálu.

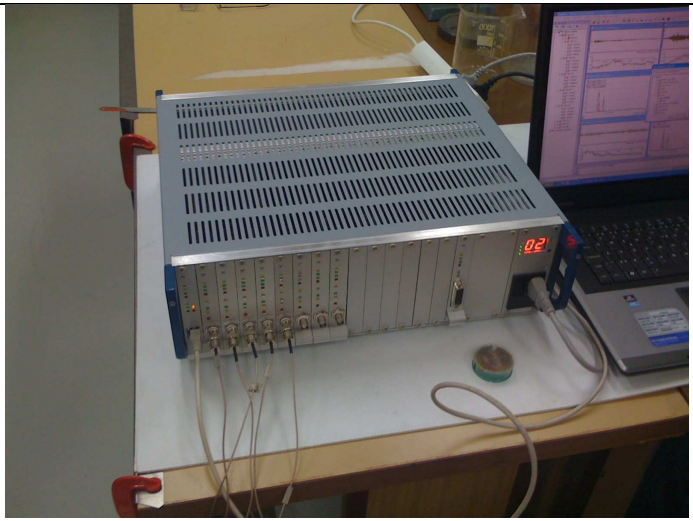
Výsledky snímání signálu AE mohou informovat o existenci poruchy, její intenzitě a lokalizaci místa porušení materiálu.

Předkládaná práce se zaměřuje právě na lokalizaci zdroje koroze a rozvoje korozní degradace ocelového materiálu využitím metody AE. Jejím cílem je potvrzení možností monitoringu korozní aktivity zmíněnou NDT metodou.

MATERIÁL A METODIKA

Zkušební zařízení

K získání potřebných dat pro lokalizaci akustické emise na experimentální ocelové desce byl užit analyzátor akustické emise Dakel Xedo (viz. Obr. 1) v konfiguraci s čtyřmi měřícími kanály. Sytém Daemon (hardwarová část „Xedo" + softwarová část "Daemon"), je moderní a výkonné zařízení pro měření a vyhodnocení parametrů akustické emise, které umožňuje i měření jiných fyzikálních veličin. Vhodnou kombinací měřících kanálových jednotek AE a jednotek pro měření napětí je možné sestavit konfiguraci vyhovujícím požadavkům celé řady aplikací. Zařízení Dakel Xedo nachází uplatnění jako monitorovací systém AE a jeho externích parametrů (tlak, teplota, frekvence, apod.) a rovněž jako měřící systém napěťových veličin [1].



Obr. 1 Analyzátor akustické emise Dakel Xedo

Materiál

Vybraný materiál je konstrukční ocel 11 375 obvyklé jakosti vhodná ke svařování. Tento materiál byl vybrán jak z ekonomického hlediska, tak i z pohledu korozívní degradace vzorku. 11 375 je klasický materiál, který se vyskytuje nejčastěji v technické praxi (mosty, konstrukce nosné, podpůrné apod.)

Před vlastním měření byly odebrány měřené vzorky ze zkoumaného materiálu o rozměrech 200 x 2 000 mm. Bylo vytvořeno pět vzorků podle, kterých se bude určovat agresivita korozního prostředí.

1 vzorek 10% roztoku průmyslové soli

2 vzorek 20% roztok kyseliny šťavelové,

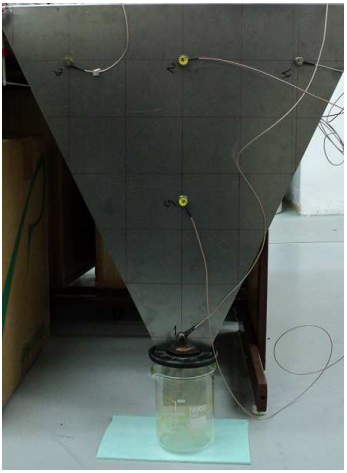
3 vzorek 20% hydroxidu sodného

4 vzorek pouze voda

Vzorky byly umístěny v kádinkách s určenými koncentracemi jednotlivých látek uvedenými výše. Vzorky byly vystaveny sedmi dennímu působení prostředí, kde došlo k viditelnému korozi materiálu.

Rozmístění snímačů na zkoumaném materiálu je stanoveno tak, aby bylo zohledněno šíření šumu materiálem. Celý zkoumaný materiál byl rozdělen sítí po 100 mm, tak, aby byla znázorněna vzdálenost mezi snímači. U zdroje koroze byl umístěn referenční snímač (bod 1), který ukazuje intenzitu a velikost akustické signálu v materiálu u zdroje korozní aktivity. Další snímač (bod 5)

identifikuje částečný úbytek signálu, kdy tento signál se ztrácí v materiálu. Snímač (bod 4) je umístěn v nejvzdálenější pozici od zdroje koroze a tak tento snímač bude ukazovat v systému Dakel Xedo nejmenší intenzitu akustického signálu.



Obr.2 Zkušební vzorek

Metodika

Měření se uskutečnilo v laboratoři Fakulty strojního inženýrství Vysokého učení technického v Brně. Laboratoř je vybavena laboratorním systémem Deamon. Tento sytém slouží pro vyhodnocování parametrů akustické emise, ale i k měření dalších fyzikálních veličin. Kombinací měřících kanálových jednotek AE a dalších jednotek pro měření napětí, lze sestavit celé řady aplikací.

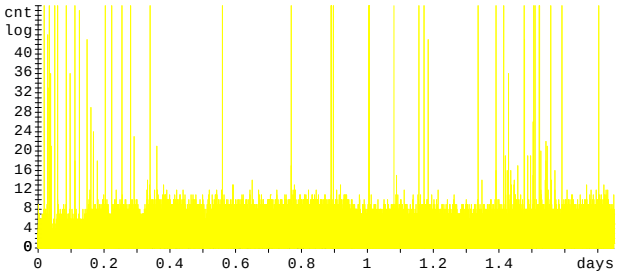
Zařízení Daemon nachází uplatnění jako monitorovací systém AE a jeho externích parametrů (tlak, teplota, apod.) a rovněž jako měřící systém napěťových veličin. Měřící jednotky systému jsou řazeny do měřících rámů - boxů, kde jsou spolu s komunikačními jednotkami připojeny na společnou sběrnici. Standardní komunikační rozhraní ethernet 10Base2 umožňuje propojení libovolného počtu boxů s libovolným počtem počítačů. Z komponentů zařízení tak lze sestavit jak malé laboratorní přístroje, tak rozsáhlé průmyslové diagnostické systémy. Snímače systému jsou schopny plnit také funkci vysílačů/budičů a systém Daemon může být vybaven i elektronickým generátorem vhodných pulsů pro simulaci emisních událostí. Je umožněná jednoduchá kontrola funkce snímačů a autokalibrace zařízení. Největší předností systému Daemon je to, že kromě hodnocení klasických parametrů AE umožňuje rovněž vzorkování signálů na každém kanálu. [2]

Snímače mají stejnou charakteristiku to znamená, že snímače jsou nastaveny na stejnou úroveň měření. Snímače jsou na zkoumaný materiál připevněny integrovaný magnetem, který neovlivňuje

měření. Na dotykovou plochu snímače je nanesena AE pasta, která slouží pro lepší přenos signálu z materiálu na zabudovaný snímač.

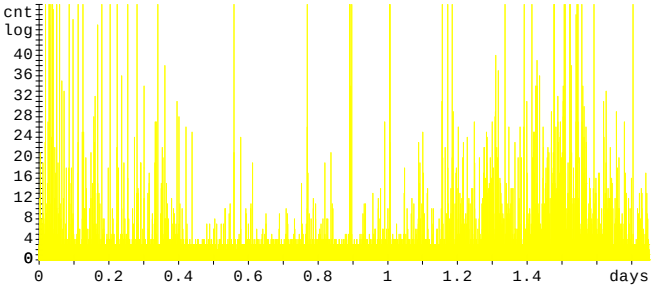
Experimentální část 1. probíhala dva dny a jsou pořízené následující data. Měřený vzorek byl vložen do 10% roztoku soli, který podléhal korozní degradaci.

VÝSLEDKY A DISKUZE



Obr. 3 4 hladina pozice 4

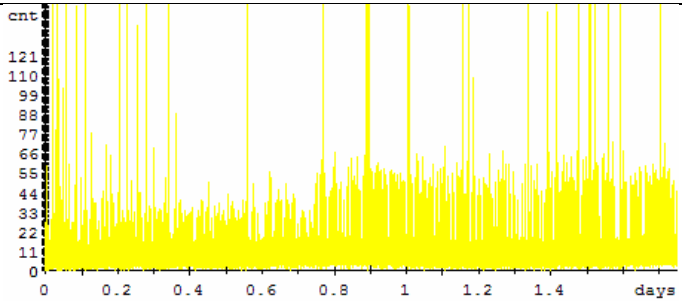
Experimentální část 1. na obr. 3 je vybrána jedna hladina ze šestnácti, která znázorňuje množství překmitů. Vysoké špičky jsou rázy, které vznikaly v měřící budově. Pro korozi platí hodnoty mezi 0 - 10 000 překmitech přes nastavenou mez. Zde je znázorněno, že koroze neprobíhá náhle, ale pozvolně jak je názorně vidět na obrázku.



Obr. 4 4 hladina pozice 2

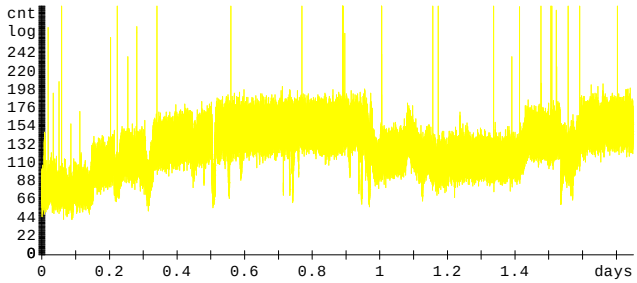
Obr. 4 Je možné sledovat nárůst překmitů z důsledku přiblížení se ke zdroji koroze

V důsledku posunu snímačů ke korozně exponované části desky se zvyšovala aktivita na jednotlivých hladinách i jejich aktivace z tři hladin, až po pět v blízkosti degradovaného materiálu.



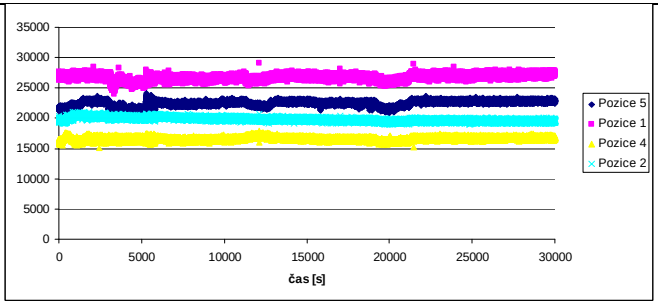
Obr. 5 4 hladina pozice 5

Obr. 5 Při přiblížení ke zdroji koroze dochází jak ke zvýšení počtu událostí z 0 – 55 000 tak i zvýšení intenzity šumu



Obr. 6 4 hladina pozice 1

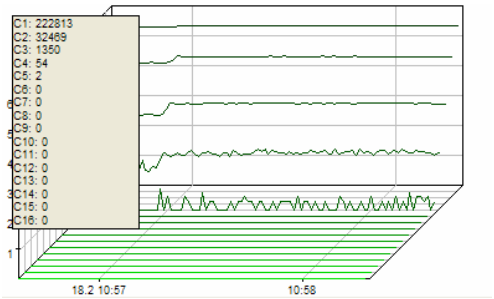
Obr. 6 snímač se nachází v bezprostřední blízkosti zdroje koroze jak podle intenzity tak i ve velikosti překmitu přes mez. Velikost a tvar událostí (events) nelze pro jejich četnost specificky vyjádřit. Jen identifikuje zvýšení emisní aktivity, která pomáhá při lokalizaci korozního napadení.



Obr. 7 Soubor snímačů

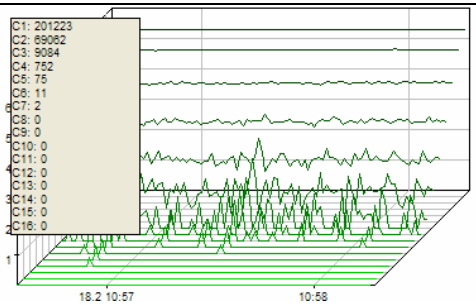
Podle všech obrázků se může sledovat průběh koroze na zkoumaném materiálu. Čím blíže se přibližují snímače ke zdroji koroze tím dochází ke zvýšení intenzity zdroje tak i velikost a množství překmitů přes nastavenou mez. Při porovnání všech snímačů se může lokalizovat zdroj koroze.

Další měření probíhalo na stejném principu jak předchozí měření č.1, ale byl změněn degradační roztok. V první části bylo použito 10% NaCl a v druhé části bylo zvoleno agresivnější prostředí v podobě ředěné kyseliny sírové 38%. Kyselina sírová oproti solnému roztoku vykazuje mnohém vyšší agresivitu u zkoumanému materiálu.



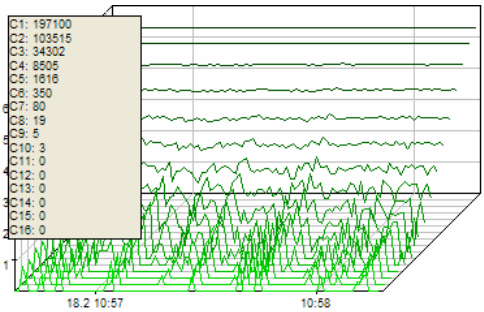
Obr. 8 pozice 4

Obr. 8 snímač je umístěn na nejvzdálenější pozici. Dle obrázku je aktivních pět hladin, které tento snímač sleduje. Aktivita na tom to snímači je velmi nízká. (C1, C2, C3. C4)



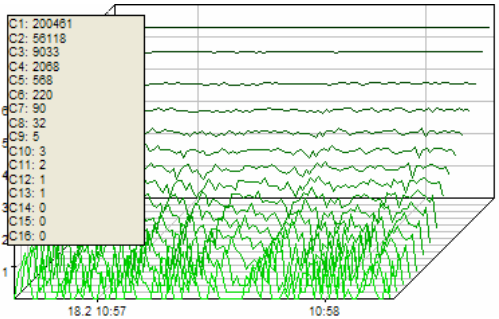
Obr. 9 pozice 2

Obr. 9 tento snímač je přiblížen ke zdroji koroze a je zde vidět nárůst intenzity a množství hladin, které se zvýšilo na sedm. (viz. hodnoty countů na C1-C7)



Obr. 10 pozice 5

Obr. 10 snímač byl umístěn blíže ke zdroji koroze na zkoumaném materiálu. Je zde patrné nárůst hladin na deset, ale zvýšilo se i množství překmitů přes nastavenou mez.



Obr. 11 pozice 1

Obr. 11 snímač je umístěn u zdroje koroze. Je pozorováno větší intenzita, ale i množství aktivních třináct hladin.

Podle všech obrázků, na kterých je pozorována intenzita a množství překmitů přes nastavenou mez. Lze sledovat postupné přiblížení ke zdroji koroze na zkoumaném materiálu.

ZÁVĚR

Popsaná problematika detekce a lokalizace korozního napadení na konstrukčních materiálech je experimentálně o nutnosti monitorování je řešení lokalizace pomocí AE. Většina systémů v praxi je zaměřena jen na revizní zkoušky nebo na povýrobní zařízení. Aktuálně jsou ale systémy on-line monitorování, které měří během provozu součásti (over day monitoring).

Experimentální část obsahuje údaje o vlnové aktivitě v degradovaném materiálu, které byly změřeny při korozním napadení. Je zde patrné, že snímače, které byly umístěny na daném materiálu dle uvedeného schématu sbírali informace o probíhajícím korozním ději. Korozní napadení je charakterizováno spojitým spektrem událostí a tak nejsou registrovány konkrétní události, ale aktivita na jednotlivých hladinách. Se zkracující se vzdáleností k místu zdroje korozního napadení aktivita countů i počet aktivních hladin roste. Toto bylo zjištěno jak v korozním prostředí NaCl, tak i v ředěné H_2SO_4, která vyniká svojí agresivitou. Obě nejen časově velmi náročné měření dokázala možnost monitorování zdroje korozního napadení konstrukce. NDT metoda, metoda akustické emise se osvědčila jako průkazné měření při určení zdrojového uzlu emise vln, které jsou emitovány při přeměně krystalické stavby kovu na strukturu oxidu, hydroxidu či síranu.

LITERATURA

[1] Sytém akustické emise DAKEL XEDO-Daemon, manuál, Dakel Praha

[2] ZVOLSKÝ M.: Snímání akustického signálu, Diplomová práce, MZLU Brno, 2005

COMPARISON OF ALTERNATIVE METHODS OF OPERATION AND MONITORING FUNCTIONS DEODORISING FILTERS

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

Dezodorising filters are devices designed for cleaning odorous emissions. The device is used for filtration of air contaminated by the disposal of animal by-product of rendering companies. For these devices leads to degradation of filter media due to uneven flow of air of high temperature. As a result of degradation of bed composed of wood chips, shredded tree stumps and peat leads to release of odorous emissions into the ambient air. This phenomenon can also be described as the occurrence of sites with lower pressure loss. In the past, the scent particles escaping into the atmosphere measured using sampling methods using dynamic olfaktometrie defined by European standard EN 13725th Another alternative method is to scan the surface temperature with thermal imaging equipment. Thermovision clearly correlates with the method of dynamic olfaktometrie. The paper will present the results of the analysis of alternative methods komperativní monitoring functions and activities deodorising filter. The results obtained on the basis of periodic monitoring thermovision facilities at rendering the company ASAP Ltd. will be compared with the method olfaktometrie dynamic, analytical and mathematical modeling, and touch sensors. Based on the summation of positives and negatives of the above methods will be evaluated the most suitable method for monitoring of biofilters. For this purpose, the university was used thermal imaging equipment ThermaCAM E 320th.

Key words: biofilter, thermovision, temperature, environmental

Acknowledgement: 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 consult, then I want to thank all the Institute of Agricultural Food and Environmental Engineering.

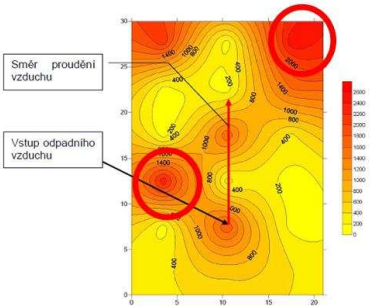
ÚVOD

V roce 2006 byl Ing. Petrou Auterskou, CSc. vypracován návrh metodiky měření zápachu na biofiltrech pomocí dynamické olfaktometrie. Princip olfaktometrie spočívá v naředění vzorku s pachem takovým množstvím čistého vzduchu, aby byla nalezena nejmenší koncentrace pachu, kterou jsou definovaní posuzovatelé (splňující kritéria normy ČSN EN 13725) ještě schopni vnímat, tzv. čichový práh. Čichový práh je roven jedné pachové jednotce. Koncentrace pachových jednotek vyjadřuje kolikrát je nutné naředit 1 m^3 vzorku pachu čistým bezpachovým vzduchem tak, aby bylo dosaženo čichového prahu. [5] Odběr vzorků pachových látek prostřednictvím dynamické olfaktometrie spočívá v aplikaci tzv. příklopů, či plachet na ploše tělesa biofiltru. Do těchto prostor se po té jímá filtrovaná vzdušnina, která je podrobena čichové analýze. Kvalitu a přesnost měření zde ovlivňuje koncentrace a rozmístění příklopů na ploše biofilrtu. Po zpracování výsledků je možné objektivně určit místa s nižší tlakovou ztrátou, kde dochází k nejvýznamnějšímu úniku pachových emisí do ovzduší. Jak předchozí výzkum prokázal, kritická místa by se dala charakterizovat jako tzv. vzduchové komíny, což. znamená místa s nižší tlakovou ztrátou, tedy místa kde dochází ke snižování koncentrace mikrobiologických kultur. Tyto bakteriální kultury v procesu biofiltrace přestavují klíčovou roli. Jejich význam spočívá ve schopnosti rozkládat přiváděné biodegradabilní znečištění. Teplota má velký vliv na účinnost biofiltrace. Pro biofiltraci kontaminované vzdušniny *dosahujeme žádaného procesu při teplotách 10-25°C.*

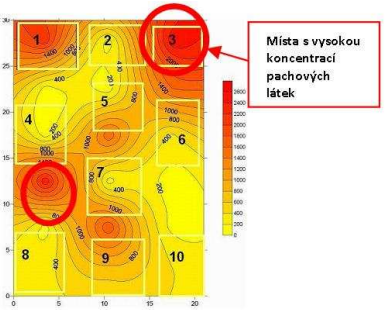
Protože do biofiltru vstupuje teplý vzduch, dochází ke kolísání tohoto optimálního teplotního rozsahu. V případě, že by mikroorganismy, pro které představují odpadní polutanty zdroj živin a potravy, byly vystaveny krátkodobě teplotě přesahujících 40 °C, bude docházet k nedostatečné výměně kyslíku, tedy k rapidnímu poklesu koncentrace tolik potřebných mikroorganismů. [5] V roce 2010 byl zahájen monitoring povrchové plochy biofiltu tzv. *Termovizní metodou*, díky které je možné analyzovat plochu biofiltu a stanovit kritická místa s nižší tlakovou ztrátou. 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 μm – 400 μm. Výstupem z takového měření jsou fotografie v barevně oddělených teplotních úrovní. 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 pachově znečištěného vzduchu do okolního ovzduší. [2]

MATERIÁL A METODIKA

Pro testování metodou dynamické olfaktometrie byl zvolen a několikrát proměřen velkoplošný biofiltr asanační společností ASAP. Technika odběru vzorků byla pomocí stacionárního odběru plachou o velikosti 4x5m, tedy o ploše 20 m^2 a kruhovou příklopu o průměru 0,6 m, tedy ploše odběru 0,3m^2. Biofiltry byly rozděleny do čtverců o ploše 30 m^3. [5] Výsledky tohoto měření prokázaly, že zde dochází k úniku pachových emisí do ovzduší. Dále byla definována místa s nižší tlakovou ztrátou s nejvýznamnějším únikem. Pomocí grafického programu SURFER byla vytvořena mapa povrchové plochy biofiltru s důrazem na místa úniku pachových částic.[7]



1 Biofiltr s nerovnoměrným prouděním pod ložem biofiltru[5]



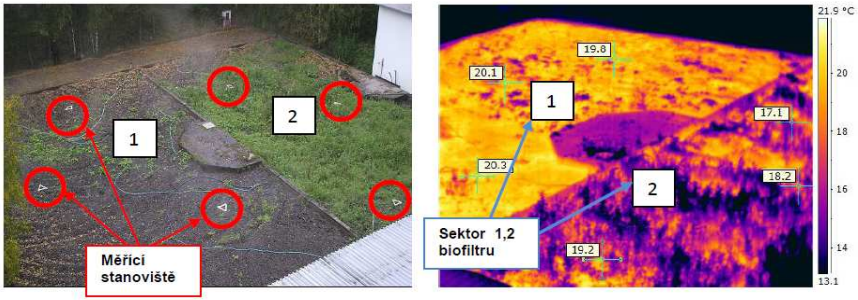
2 Rozmístění měřících bodů pro velké a komplikované biofitry[5]

V případě monitoringu pomocí termovizních metod bylo v roce 2010 zahájeno první z řady měření povrchových teplot plochy půdního biofiltru. Za pomoci termovizního zařízení Therma CAM E 320 bylo uskutečněno periodické měření. Výsledkem jsou fotografie zachycující povrchovou teplotu náplní biofiltru, resp. prostup vzdušniny. Tyto plochy vznikají na místech s nižší tlakovou ztrátou, následkem nerovnoměrně proudícího teplého vzduchu v prostoru lože. Vzniklá místa s nižší tlakovou ztrátou nejen ovlivňují teplotu substrátu, ale také snižují požadovanou vlhkost substrátu potřebnou pro činnost a život mikrobiologických kultur. Ve společnosti ASAP s.r.o., bylo ověřeno a 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. Na základě zpracování výsledků byl sestaven periodický plán měření. Opatření vedla k optimalizaci činnosti dezodoračního filtru a k eliminaci negativního dopadu na životní prostředí, únikem pachových emisí do ovzduší. [6]

VÝSLEDKY A DISKUZE

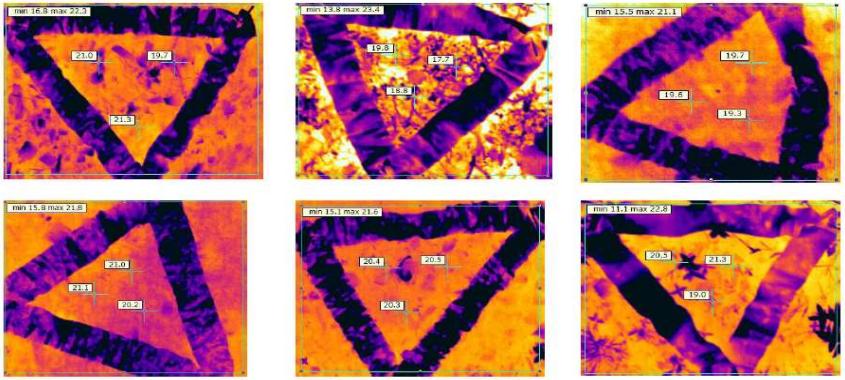
V roce 2010 nebylo zjištěno překročení hraničních teplot jak v kladném, tak ani v záporném směru. Byla však lokalizována kritická místa s potenciálním rizikem úniku pachových emisí. Po archivaci výsledků měření, bylo navrženo jako další krok opětovné měření v alternativním intervalu. Měření v roce 2011 se uskutečnilo již po obnově, resp. překopání vsázky náplně biofiltru v kritických

oblastech. Na snímcích z tohoto měření viz. Urban a kol. [2] 2010, lze pozorovat stávající kvalitu biofiltračního zařízení a po rozboru eventuálních kritických míst stanovit a navrhnout další opatření. Z výsledků práce vyplívá, že je činnost biofiltru v aktuálním období stabilizována a nehrozí zde nebezpečí poklesu efektivity činnosti. Dne 12.10.2011 se uskutečnilo další z řady měření povrchové teploty biofiltru, pomocí termovizních metod. Při tomto měření šlo především o ověření relevantnosti termovizního snímku a porovnání s metodou odběru teplotních vzorků pomocí dotykového teploměru. Teplota byla snímána na ploše rovnostranného trojúhelníku o délce jedné strany 700 mm a obsahu 0,21 m^2. Viz. obrázek 12,13. Před zahájením vlastního měření bylo na plochu půdního biofiltru rozmístěno celkem šest stanovišť. V každém sektrou byly tři stanoviště o ploše rovnostranného trojúhelníku. V první fázi došlo k zjištění a zaznamenání vstupních parametrů tj. relativní vlhkost a teplota atmosféry ve vyznačené lokalitě. V druhé fázi měření byl použit dotykový teploměr, kterým byly naměřeny tři hodnoty,(viz. tabulka 1.). V třetí fázi byl za použití termovizní kamery pořízen na každém stanovišti termografický snímek. V rámci experimentu byla získaná data zpracována v programu ThermaCAM QuickReport 0.1. Po dokončení analýzy, byla data zpracována do vizuální podoby v programu Excel 2010. Záznam je zobrazen na grafech 1,2. Ze kterých je patrná lehká relativní odchylka v obou způsobech měření. V následujících tabulkách jsou uvedeny naměřené hodnoty. V jednotlivých sektorech biofiltru. Sektor 1 je ½ celkové plochy lože biofiltru viz. obr 3. 1-3, dále v sektoru 2 pak 4-6 jak z měření dotykovým teploměrem, tak i měřením termovizní kamerou.



Obr.1 Ploch lože biofiltru, digitální foto. (měřící stanoviště), TERMOVIZE (SEKTOR 1,2)

Obr. 2 Stanoviště odběru vzorků (Digitální fotografie), z leva 1,2,3



Obr. 3 Stanoviště odběru vzorků (Termovizní fotografie), z leva 1,2,3,4,5,6

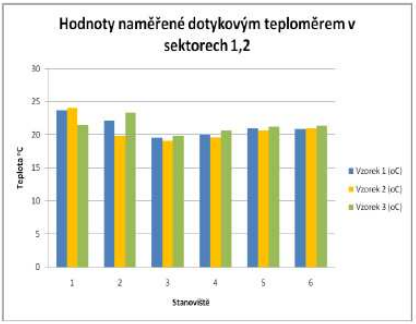
Tab. 1 Měření dotykovým teploměrem

Sektor 1						
Pozice	Vzorek 1 (°C)	Vzorek 2 (°C)	Vzorek 3 (°C)	Průměr	Teplota atmosféry (°C)	Relativní vlhkost vzduchu (%)
Stanoviště 1	23,7	24	21,5	22,6	16,3	49,2
Stanoviště 2	22,1	19,8	23,3	22,7	11,3	52,6
Stanoviště 3	19,5	19,1	19,8	19,65	11,9	57
Průměr sektoru	21,6	23,05	20,65	21,125	14,1	53,1
Sektor 2						
Pozice	Vzorek 1 (°C)	Vzorek 2 (°C)	Vzorek 3 (°C)	Průměr	Teplota atmosféry (°C)	Relativní vlhkost vzduchu (%)
Stanoviště 4	20	19,6	20,6	20,3	10,7	60
Stanoviště 5	21	20,6	21,2	21,1	11,2	61
Stanoviště 6	20,8	21	21,3	21,05	11,3	64
Průměr sektoru	20,4	20,3	20,95	20,675	11	62

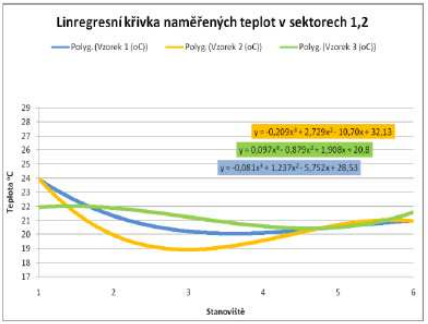
Tab. 2 Měření termovizní kamerou

Sektor 1						
Pozice	Vzorek 1 (°C)	Vzorek 2 (°C)	Vzorek 3 (°C)	Průměr	Teplota atmosféry (°C)	Relativní vlhkost vzduchu (%)
Stanoviště 1	21	19,7	21,3	21,15	16,3	49,2
Stanoviště 2	19,8	17,7	18,8	19,3	11,3	52,6
Stanoviště 3	19,6	19,7	19,3	19,45	11,9	57
Průměr sektoru	20,3	19,7	20,3	20,3	14,1	53,1
Sektor 2						
Pozice	Vzorek 1 (°C)	Vzorek 2 (°C)	Vzorek 3 (°C)	Průměr	Teplota atmosféry (°C)	Relativní vlhkost vzduchu (%)
Stanoviště 4	21	21,1	20,2	20,6	10,7	60
Stanoviště 5	20,4	20,5	20,3	20,35	11,2	61
Stanoviště 6	20,5	21,3	19	19,75	11,3	64
Průměr sektoru	20,75	21,2	19,6	20,175	11	62

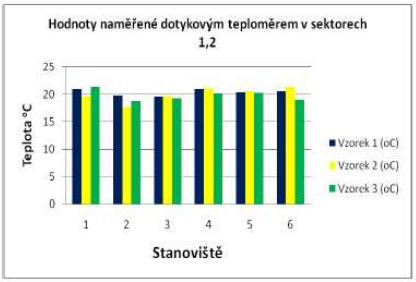
Získaná data ve výše uvedených tabulkách byla v programu Excel 2010, proložena lineárně regresní křivkou, díky čemuž je možné přehledně určit rozdíly naměřených teplot obou metod. Na grafech můžeme vidět křivky polynomu 3. St. Rovnice Vzorku TK (termokamery) jsou: $y = -0{,}209x^3 + 2{,}729x^2 - 10{,}70x + 32{,}13$; $y = -0{,}159x^3 + 1{,}736x^2 - 4{,}989x + 22{,}83$; $y = -0{,}237x^3 + 2{,}567x^2 - 8{,}238x + 27{,}13$. Rovnice Vzorku DT (Dotykového teploměru) jsou: $y = -0{,}348x^3 + 4{,}455x^2 - 17{,}41x + 40{,}13$; $y = 0{,}097x^3 - 0{,}879x^2 + 1{,}908x + 20{,}8$; $y = -0{,}081x^3 + 1{,}237x^2 - 5{,}752x + 28{,}53$. Viz. graf 1-5.



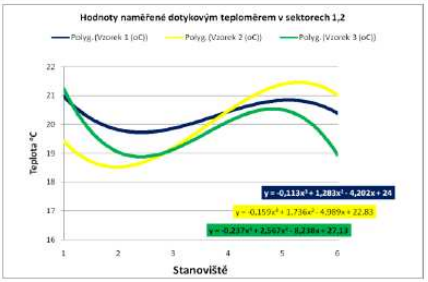
Graf. 1 Hodnoty naměřené na ploše biofiltru (dotykový teploměr)



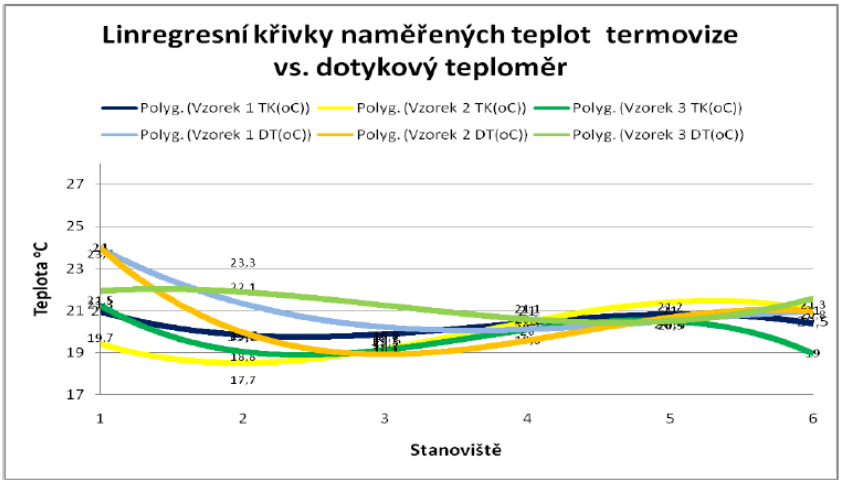
Graf. 2 Polynom 3. st. s naměřených hodnot (dotykový teploměr)



Graf. 3 Hodnoty naměřené na ploše biofiltru (Termovizní kamera)



Graf. 4 Polynom 3. st. s naměřených hodnot (Termovizní kamera)



Graf. 5 Shrnutí polynomyckých křivek naměřených teplot

ZÁVĚR

Při srovnání alternativních metod jako jsou dynamická olfaktometrie, termovizní metoda a dotykový teploměr, byly stanoveny tyto závěry. Dynamická olfaktometrie koreluje z termovizními metodami. Termovizní metody byly shledány jako spolehlivou alternativou měření povrchové teploty materiálu což dokazuje relativní odchylka teplot mezi naměřenými vzorky, která činí maximálně 4,3 °C a minimálně 0,9 °C což při zprůměrování všech teplot činí 2,55 °C rozdílu. Vzhledem k malé časové náročnosti a vysoké efektivitě měření shledáváme termovizní metody pro monitoring půdních biofiltrů jako vhodný způsob posuzování funkčnosti a správné činnosti dezodoračního zařízení. V porovnání s metodou vzorkování pomocí dynamické olfaktometrie bylo prokázáno, že tepelně výraznější lokality na ploše půdního biofiltru tzv. místa s nižší tlakovou ztrátou představují kritické prostředí pro existenci mikrobiologických organismů potřebných pro zachování funkce dezodorace. Ve srovnání s dynamickou olfaktometrií nelze termovizní metodou stanovit kritickou hodnotu úniku pachových částic. Nicméně na základě dostupných informací o kultivačních podmínkách resp. teplotách vhodných pro život a množení mikroorganismů, lze identifikovat kritická místa úniku pachových emisí do ovzduší. Výhody termovizních metod spočívají v bezdotykovém způsobu měření, rychlém získávání výsledků a pořizování efektivních závěrů. Snadná a časově nenáročná analýza pořízených záznamů vede k možnosti bezprostřednímu stanovení opatření. Vzhledem k faktu, že pachové limity definované platnou legislativou, zejména pak se zákonem o ovzduší č. 472/2005 Sb., vyhláškou č. 362/2006 Sb., a nařízením vlády o sledování a vyhodnocování kvality ovzduší č. 597/2006 Sb. lze ověřit dynamickou olfaktometrií, je shledána kombinace monitoringu půdních biofiltrů pomocí termovizních metod s dynamickou olfaktometrií jakožto žádoucí propojení diagnostických možností moderní doby. 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 zavlažovaní 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.[7]

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.

[5]Auterská P. Provozování půdních biofiltrů v podmínkách zařízení na odstraňování nebo využití konfiskátů živočišného původu a živočišného odpadu. Dokument o řešení funkčního úkolu pro MZe. MZLU v Brně. Brno 2007. 45 s.

[6] Urban, L. Marada, P. Mareček, J. Metodika a monitoring pudního biofiltru pomocí termovizních metod. In MendelNet 2010 Proceedings of International Ph.D. Students Conference. s. 105. ISBN 978-80-7375-453-2.

[7] Urban, L. Marada, P. Mareček, J. Metodika a monitoring půdních biofiltrů pomocí termovizních metod. [DVD ROM]. In Pollution and Environment - Treatment of Air. 2011, ISBN 978-80-02-02293-0.

MONITORING OF ACOUSTIC EMISSION DURING STATIC BENDING TEST OF WOOD SPECIMENS

Varner D., Černý M.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: info@davar.cz

ABSTRACT

The paper presents research project focused on acoustic emission signals captured during commonly used static bending test of wood specimens. For five different wood types, typical AE patterns were identified in the acoustic emission records to further describe the under-the-stress behavior and failure development. Orthotropic properties of wood were found to be rather complicated to conform within known AE techniques. Evaluated properties of the material included MOE (modulus of elasticity), MOR (modulus of rapture), TTF (time to failure), and density. Results of the study will be included in a dissertation thesis focused on non-destructive diagnostics of wood using acoustic emission method.

Key words: wood, static bending test, acoustic emission

Acknowledgement: Dakel ZD Rpety Company for AE equipment support, Václav Sebera and Luděk Praus, Ph.D. for expert consulting and support.

INTRODUCTION

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. [2]

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. [2]

Major advantages of AE include continuous monitoring of the object, time savings, and failure forecast abilities. 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]

Two important issues in AE monitoring technique during bending tests are source identification and damage quantification. A standard bending test samples were used in the experiments. For damage quantification, two methods were used to analyze experimental data: b-value analysis and intensity analysis. [1]

Loading conditions during the static bending might be crucial for the stress distribution and response of the specimen. MOE (modulus of elasticity) and MOR (modulus of rupture) may differ based on the loading configuration. Two types of loading were established: LR beams (annual rings horizontal, load applied to LT face) and LT beams (annual rings vertical, load applied to LR face). The size of the specimens was 10 x 10 x 150 mm. It was found that the variation of MOE and MOR was lower with loads applied to the longitudinal-radial face than the longitudinal-tangential face. Additional information was received about the influence of earlywood and latewood on the tension/compression surfaces. [3]

Methodology based on count and properties of annual rings was used in series of experiments including static bending test of cypress wood samples. Relationship between number of annual rings in the specimen cross-section, wood density, and strength properties of the wood specimens was calculated together with modulus o elasticity (MOE) and modulus of rupture (MOR). [4]

It is apparent that the span/depth ratio for bending test specimens can influence the test as well. This behavior was examined with specimens made from Japanese fir. Several material properties were evaluated during modified three-point and four-point bending tests. These included Young's modulus, proportional limit stress, and bending strength Deflection was measured using three different methods Authors found that the span/depth ratio should be larger than 20 to produce bending properties conforming well to the elementary bending theory. The changes of the ratio seemed to have significant influence on measurements of Young's modulus. [5]

MATERIALS AND METHODS

According to the standard [7], static bending test procedure is performed to find ultimate static bend load causing permanent damage of the tested specimen. Testing specimens must be in form of regular-shaped boxes with base dimensions of 20 x 20 mm and length of 300 mm. The fiber direction has to correspond with length dimension. The bending strength is calculated in N/m2 or kp/cm2. Calculated values are usually adjusted to 12% moisture content.

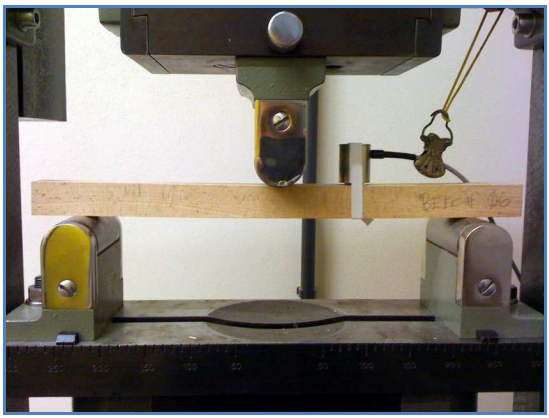


Figure 1: Position of a wood specimen on the bending test machine. Note the AE 767 acoustic emission sensor attached to the specimen via a rubber band and secured against fall-down using a security clamp.

For the actual static bending test, 50 specimens were used. The wood types used were 3 hardwoods (beech, oak, poplar) and 2 softwoods (spruce, pine). For each wood type, 10 specimens were prepared. The specimens were carefully selected with maximum possible uniformity requirements in mind. However, not every specimen had exactly the same structure as the others. Sometimes the annual rings were slightly angled; some specimens had different surface roughness etc.

As far as the specimen moisture content is concerned, the specimens had been stored in a storage facility with stabile ambient conditions. For moisture content values, see table below.

In static bending test procedure, the specimen was placed on two supports at the ends while the third point provided downward pressure in the midpoint. The forces from above acted in radial direction, i.e. the rings were close to horizontal. This test is called three-point bending test in some publications. It has been used for testing of wide range of materials including steel and plastics. There are some variations of the test, e.g. the rings can be vertical in the loading position.

Prior to actual testing, several issues had to be addressed including synchronous recording of the bending test machine and AE signal. The actual static bending test procedure was as follows:

1. Specimen was selected from the storage facility and designated by wood type and number. Specimen dimensions and weight were measured. A slight film of silicone grease was applied to the contact surface and a single sensor was fixed to the specimen using a rubber band, with the distance from the midpoint being 10 cm. The specimen was placed onto the bending test machine. The appropriate position was adjusted visually.

2. The test run was performed until final breakage of the specimen. After starting the test, the AE monitoring was simultaneously triggered. The bending test progress was viewed on-screen of the PC. During the test, several photos were taken to follow the change of shape and fracture development. Average test run time was 90 seconds.

3. Then, specimen was removed from the bending test machine and photographed. Pressure traces on the specimen contact surfaces were measured. Data from the bending test were logged and merged into the Dakel Daeshow software. AE RMS vs. time plots were created for individual testing runs. Supplementary properties of the testing specimens were calculated including MOE (modulus of elasticity), MOR (modulus of rupture), and density.

The acoustic emission was monitored using Dakel XEDO AE analyzer, a single Dakel AE469 sensor and Dakel Daemon software. A 35 dB pre-amplifier was connected to a special low frequency slot in the Dakel XEDO analyzer. The slot was adjusted to cover the frequency range of 10 - 200 kHz. A cylinder-shaped Dakel AE 469 sensor was used for all the bending test runs.

For the static bending test, the ZDM 5/51 machine was used. This machine uses electric power unit and spiral gear drive to lift the bridge with lower support assembly. The device has been installed in the Department of Wood Science laboratory. The ZDM 5/51 bending test machine was equipped with a PC terminal with the M-Test 1.77 software for test control purposes.

During the static bending test, the wood specimen is exposed to compression stress on one surface and tensile stress on the other. This complicated distribution of stress results in a various shear displacements within the cross-section of the beam. Due to anisotropic structure, acoustic emission

generated during clear wood damage process shows parameters dependent on loading type and its orientation with respect to grain direction.

In general, acoustic emission may come from several sources in context of the static bending test: bending machine noise, contact-surface friction noise, gradual collapsing of wood cell walls, and final fracture of the specimen body.

RESULTS

The experiment proved quite a different behavior of individual wood type specimens subject to static bending test. In this very first phase of the research, acoustic emission RMS vs. loading force plots were created for each of the 50 regular specimens and 5 Teflon-tape specimens. The aim was to overview the plots and find typical patterns for future observations.

Property parameters of the specimens and static bending test included actual moisture content, density, TTF (time to failure), Fmax (maximum loading force at ultimate strength level), MOE (modulus of elasticity in bending) and MOR (modulus of rupture in bending). Below you can find table with overview of average property values.

Wood Type	MC (%)	Density (kg/m3)	TTF (sec)	Fmax (N)	MOE (MPa)	MOR (MPa)
Oak	7,6	662,5	59,4	2178,5	11076,5	106,8
Beech	6,2	670,9	73,1	2998,3	11866,7	129,4
Poplar	7,6	383,8	74,7	1394,7	6880,0	66,7
Pine	6,8	499,0	100,4	2085,3	10662,1	94,3
Spruce	8,7	525,0	73,3	1875,7	9233,0	84,7

Table 1: Average property values for individual wood type groups.

OAK Specimens can be divided into 2 behavior-specific groups. 3 specimens showed no AE activity was recorded during the entire bending run; they remained silent until the major fracture. The rest of the testing group showed strong pulses in 80% of ultimate load. OAK wood breakage resembled to simple-tension type failure with short horizontal portions parallel to grain and vertical bridging perpendicular to grain.

BEECH Specimens showed Live AE activity during transition from elastic to plastic phase and very high values of loading force. BEECH09 specimen withstood the highest loading force of the entire testing set of 50 specimens, reaching value over 3700 N. Fracture types included simple tension (6 specimens) and cross-grain failure (4 specimens).

POPLAR was the final hardwood type to be subject to the static bending test. As indicated by table 1 data, the specimens reached the lowest MOE/MOR values from all the wood types. Fracture types included splintering tension (6 specimens), simple tension (3 specimens), and massive cross-grain failure (1 specimen). Typical POPLAR specimen plot can be seen in figure below.

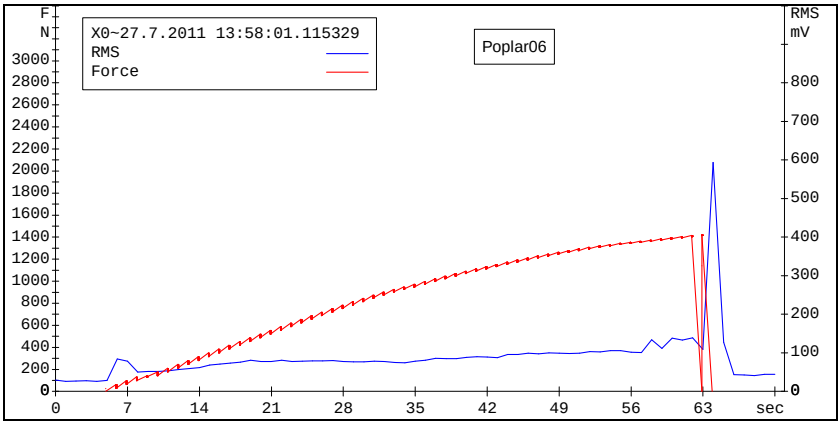


Figure 2: Typical plot of loading force vs. AE RMS for POPLAR specimen group.

PINE specimens showed very distinctive behavior under severe static bending load. 7 out of 10 specimens registered strong AE activity starting from 20% of ultimate load. As far as the fracture of specimens is concerned, the PINE group showed strong affinity to parallel-to-grain delamination along annual rings (7 specimens out of 10). The rest of the specimen failed in non-specific manner.

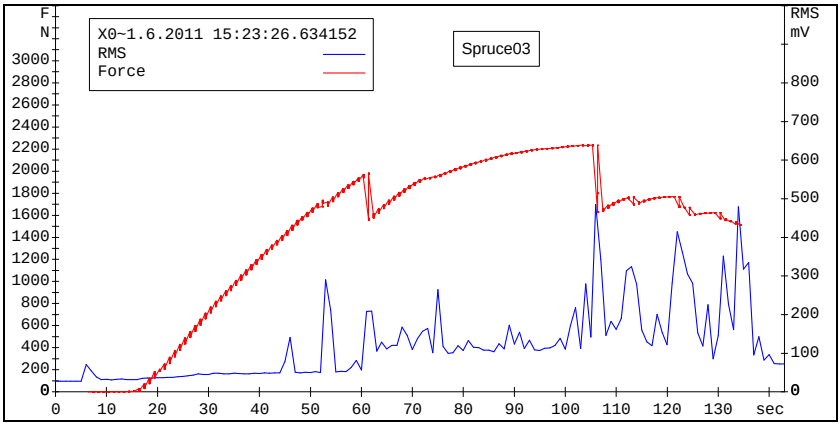


Figure 3: Typical plot of loading force vs. AE RMS for SPRUCE specimen group.

SPRUCE specimen group represented the most diversified set of under-the-load behavior. 3 specimens showed interesting trend of multiple minor failures and hardening prior to final master

failure. The minor failures marked the ultimate strength of the specimen. However, there was a strong residual rigidity in comparison with other wood type groups. As far as the fracture type of PINE group is concerned, it was rather difficult to find a pattern there as well. Most of the specimens failed in a combination of plain tension and massive cross-grain destruction.

CONCLUSIONS

Acoustic emission method has been used to describe under-stress behavior of 5 wood type specimens during a static bending test. Essential methodology guidelines were elaborated with respect to complicated material properties and structure of wood. However, not all issues were successfully resolved.

Next phase of research will include analysis of frequency variations for individual AE events recorded from different wood types. Results of this study will form an integral part of dissertation thesis focused on assessment of wood properties using acoustic emission method.

REFERENCES

[1] KAPHLE, S. R.; TAN, A. C. C.; Thambiratnam, D. P; Chan, T. H.T.: Study of Acoustic Emission Data Analysis Tools for Structural Health Monitoring Applications. In: Progress in Acoustic Emission XV : Proceedings of the 20th International Acoustic Emission Symposium [online]. Kumamoto, Japan. 2010

[2] KREIDL, Marcel, ŠMÍD, Radislav. Technická diagnostika. 1. vyd. Praha : Nakladatelství BEN, 2006

[3] GROTTA, T. A.; LEICHTI, R. J.; GARTNER, B. L.; JOHNSON, G. R.: Effect of growth ring orientation and placement of earlywood and latewood on MOE and MOR of very-small clear Douglas-fir beams. Wood and Fiber Science, 37(2). 2005

[4] KIAEI, M.; VEYLAKI, M.: Relationship Between Number of of Annual Rings In Sample Cross-Section And Static Bending Strength of Cypress Wood by Linear and Power Models. World Applied Sciences Journal 13 (2). 2011.

[5] YASHIHARA, H.; KUBOJIMA, Y.; ISHIMOTO, T.: Several examinations on the static bending test methods of wood using todomatsu (Japanese fir). Forest Products Journal. 2003

[6] POŽGAJ, A.: Štruktúra a vlastnosti dreva. 1.vyd. /. Bratislava : Príroda, 1993. 485 pages. ISBN 80-070-0600-1.

[7] ČSN 49 0115. Wood. Determination of ultimate strength in flexure tests. Praha : Vydavatelství Úřadu pro normalizaci a měření, 1979. 6 pages.

Special Dedication

This paper is dedicated to our late colleague Libor Severa, Ph.D. who used to show a great interest in this research project.

THE INFLUENCE OF MECHANICAL DISINTEGRATION ON THE PROCESS OF STABILIZATION OF BIODEGRADABLE MATERIAL

Vocilková P., 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: xvocilko@mendelu.cz

ABSTRACT

Our objective was to research the issue of the influence of mechanical disintegration on the process of stabilization of biodegradable material. The focus was laid on theoretical analyzation of the process of mechanical disintegration and characteristics of available disintegration machinery, biodegradable materials and waste suitable for stabilization on the experimental machinery Biomass stabilizator Olšovec (SBM). The practical part of the research was found on carrying out the necessary measurements to be able to assess the influence of different levels of disintegration on the process of stabilization of biodegradable material.

Available biodegradable materials were disintegrated in the initial part of the machinery Biomass stabilizator Olšovec (grinder-stirrer) and on the same machinery underwent the process of stabilization which is guaranteed by the hydrothermic reaction. To assess the rate of stabilization we considered input and output temperature, dry matter, relative humidity, individual size fractions and the parameter $ChSK_{Cr}$ of studied biodegradable materials. The parameter $ChSK_{Cr}$ was measured photometrically by COD (Chemical Oxygen Demand) Cell test.

The experimental machinery SBM Olšovec is still being in the stage of technical development. During the process of stabilization occurred recondenzation of vapours released from the processed materials. Also the used method COD Cell Test appropriate for assesing the quality of waste water had an impact on the accuracy of results. The level of mechanical disintegration influences the process of stabilization and affects the quality of output products. Too high level of desintegration is not suitable for processing on the SBM Olšovec and neither an insufficient one because the machinery is not technologically constructed for that. The technical optimalization considering the experimental machinery should consist in mechanical pre-treatment of feedstock.

Key words: biodegradable materials, biodegradable waste, hydrothermic reaction, mechanical desintegration, stabilization, biomass stabilizator

ÚVOD

Mechanická dezintegrace je důležitou součástí mnoha zpracovatelských procesů zneškodňování či využívání biologicky rozložitelných odpadů. Zpracovatelské procesy jsou, co se jejich průběhu týká, v podstatě vyřešeny. Je však vhodné je dále zdokonalovat a právě jedním z možných způsobů optimalizace procesů stabilizace BRM je volba předúpravy (dezintegrace) vstupních surovin.

Cílem této práce bylo zpracovat problematiku vlivu mechanické dezintegrace na průběh stabilizace biologicky rozložitelných materiálů. Konkrétně se zaměřit na teoretický rozbor procesu mechanické dezintegrace, charakteristiku dostupných dezintegračních prostředků a biologicky rozložitelných materiálů a odpadů vhodných ke stabilizaci na experimentálním zařízení SBM Olšovec. V praktické části práce bylo cílem provést potřebná měření a zkoušky, aby bylo možno posoudit a zhodnotit vliv různého stupně mechanické dezintegrace na průběh stabilizace biologicky rozložitelných materiálů v SBM Olšovec.

MATERIÁL A METODIKA

V experimentu byly použity vzorky vybraných směsí biologicky rozložitelných materiálů (lihovarnické výpalky v kombinaci se slámou, pokrutiny z olejnin v kombinaci s hnojem skotu, švestkové výpalky odstáté 1 rok, výpalky z jímky staré 14 dní, slamnatý hnůj skotu z volného ustájení). Ty byly mechanicky dezintegrovány v drtiči-míchači experimentálního zařízení SBM Olšovec a na témže zařízení podrobeny procesu stabilizace. Byly popsány jejich vstupní a výstupní charakteristiky, a to teplota (použit dotykový teploměr Tastotherm D 700), obsah sušiny (použita laboratorní sušárna QHAUS MB 45), relativní vlhkost (laboratorní váhy QHAUS MB 45) a délka jednotlivých velikostních frakcí částic směsi. Dále byly sledovány a zaznamenávány čas trvání celého procesu a míra stabilizace hydrotermicky upravených vzorků BRM. Míra stabilizace jednotlivých vzorků BRM byla hodnocena na základě parametru $ChSK_{Cr}$, který byl měřen fotometricky (kyvetovou metodou – COD Cell Test dle ISO 15705). Z uvedených materiálů byly připraveny vodné výluhy dle postupu pro přípravu vzorků z odpadních vod. Zvolená metoda COD Cell Test (fotometrické měření parametru $ChSK_{Cr}$) je vhodná pro posuzování kvality odpadních vod, ale z finančních a technických důvodů a možnosti využití zapůjčených přístrojů byla použita i pro posouzení charakteristik zpracovávaných biologicky rozložitelných materiálů, tedy pevných materiálů. Předpokladem je, že čím vyššího stupně mechanické dezintegrace bude dosaženo, tím rychleji a účinněji bude stabilizace na strojním zařízení SBM probíhat.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Pojem stabilizace je dosud českými legislativními předpisy definován vágně. Metodu ke stanovení míry stabilizace nabízí vyhláška č. 341/2008, o ukládání BRO na skládky, v platném znění. Tato metoda je převzata z rakouské normy ÖNORM S 2027 – 1 ze dne 1.9.2004. Jedná se o test

respirační aktivity (AT_4). Pokud je AT_4 testovaného materiálu nižší než 10 mg O_2/g sušiny, není již tento materiál považován za biologicky rozložitelný. Test respirační aktivity se měří kyslíkovou sondou, která je pro experimentální měření zcela finančně nedostupná, totéž platí pro rozbory prováděné v akreditovaných zkušebních laboratořích. Metoda COD Cell Test určená pro posuzování kvality odpadních vod byla zvolena z důvodů finančních a z důvodu možnosti využití zapůjčených přístrojů.

SBM Olšovec je experimentálním zařízení, které je stále ve fázi technického vývoje, a proto jsou na něm prováděná měření a prováděné zkoušky ovlivňovány jeho technickými nedostatky. Z provedených měření vyplynulo, že v expanzní komoře dochází ke zpětné kondenzaci uvolněných těkavých látek, vodní páry a plynů, které systém cirkulace tekutin vzniklých hydrotermickou úpravou nestačí odvádět z expanzní komory do výměníku kapalina – plyn, a to z důvodu nedostatečného průměru potrubí, které tyto dvě části zařízení spojuje. Část zkondenzované kapaliny se vrací zpět do zpracovávaného materiálu, což ovlivňuje hodnoty sledovaných veličin (vlhkost a parametr $ChSK_{Cr}$) zpracovaného materiálu. Zpětná kondenzace uvolněných těkavých látek, vodní páry a plynů může být jedním z důvodů zvyšení hodnoty $ChSK_{Cr}$ zpracovaného materiálu.

Tab. 1 Poměr hodnot parametru $ChSK_{Cr}$ na vstupu a výstupu zařízení SBM Olšovec u zkoumaných materiálů

Zkoumaný materiál	Poměr [-]	
	Vstupní $ChSK_{Cr}$	Výstupní $ChSK_{Cr}$
Lihovarnické výpalky v kombinaci se slámou	1	2,3
Pokrutiny z olejnin v kombinaci s hnojem skotu	1	4,1
Lihovarnické výpalky z jímky staré 14 dní		
o Při separaci na sítě o charakteristice 0,28/0,18/1.4301	1	2,7
o Při separaci na sítě o charakteristice 0,25/0,16/1.4404	1	2,4
Lihovarnické výpalky odstáté na hromadě 1 rok	1	1,6

ZÁVĚR

Při nedostatečném stupni dezintegrace vstupního materiálu dochází k technickým problémům, a to k ucpávání a poruchám zařízení při průchodu materiálu zařízením. Na druhé straně ani příliš vysoký stupeň dezintegrace není vhodný, protože na něj nejsou konstruovány šnekové lisy SBM Olšovec. Stupeň dezintegrace vstupních materiálů ovlivňuje vlastnosti výstupního produktu. Stébelnaté materiály, které nejsou v drtiči-míchači dostatečně dezintegrovány, způsobují nehomogenní strukturu výstupního produktu. K měření byly vždy zvoleny kombinace různých BRM, a to tak, aby jejich konzistence a relativní vlhkost směsi BRM byla vhodná pro zařízení

SBM. Vhodná relativní vlhkost pro zařízení SBM se pohybuje v rozmezí cca 65 – 75 %. Možnost další optimalizace experimentálního zařízení SBM by mohla spočívat v mechanické předúpravě vstupních substrátů s nevhodnou konzistencí a/nebo relativní vlhkostí.

Ve strojním zařízení SBM Olšovec jsou splněna kritéria pro tlakovou sterilizaci, metodu zpracování vedlejších živočišných produktů dle Nařízení EP a Rady ES č. 1069/2009, o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu a získané produkty, které nejsou určeny k lidské spotřebě. Jedná se o dobu zdržení 20 minut, maximální velikost částic 50 mm, tlak 3 bar a teplotu 133 °C.

Předmětná problematika bude dále řešena v navazující disertační práci „Výzkum a optimalizace technologických procesů hydrotermického zpracování vybraných biodpadů."

LITERATURA

Souček, J. *Drtiče, štěpkovače a řezačky vhodné pro úpravu rostlinné biomasy* [online]. VÚZT v Praze, 2008: [cit. 2010-18-06]. Dostupné na World Wide Web:

<http://212.71.135.254/vuzt/poraden/prirucky/2008-2.pdf?menuid=609>

Jakubes, J., Bellingová H., Šváb M.. *Moderní využití biomasy, technologické a logistické možnosti* [online]. ČEA – Česká energetická agentura, 2006: [cit. 2010-17-07]. Dostupné na World Wide Web: <http://www.mpo-efekt.cz/dokument/02.pdf >

Židek, M. *Energie z biomasy IV – odborný seminář na téma "Dezintegrace jako součást moderní kofermantace"* [online]. Brno, 2005: [cit. 2010-02-08]. Dostupné na World Wide Web: <http://oei.fme.vutbr.cz/konfer/biomasa_iv/papers/zidek.pdf>

Dohányos, M.: Zvyšování efektivity fermentace - nejnovější poznatky ve výzkumu a praxi. Biom.cz [online]. 2009-02-25 [cit. 2011-04-11]. Dostupné z WWW: <http://biom.cz/cz/odborne-clanky/zvysovani-efektivity-fermentace-nejnovejsi-poznatky-ve-vyzkumu-a-praxi>. ISSN: 1801-2655.

Krátký, L. *Zařízení pro předúpravu surovin při výrobě biopaliv.* [online]. Praha: [cit. 2011-03-02]. Dostupné na World Wide Web: http://chps.fsid.cvut.cz/pt2010/pdf/KratkyLukas.pdf

Mužík, O., Souček, J.: *Možnosti využití odpadního dřeva po řezu vinic formou výroby topných briket.* Biom.cz [online]. 2010-02-24 [cit. 2011-02-16]. Dostupné na World Wide Web: <http://biom.cz/cz/odborne-clanky/moznosti-vyuziti-odpadniho-dreva-po-rezu-vinic-formou-vyroby-topnych-briket>. ISSN: 1801-2655.

Ucekaj, V. *Analýza možností nakládání s komunálními odpady v rámci mikroregionu.* Disertační práce: VUT v Brně [online]. 2010: [cit. 2011-02-21]. Dostupné na World Wide Web: <http://www.vutbr.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=33298>

Zeman, l., Vavrečka, J., Sikora, M., Mareš, P. *Termická a hydrotermická úprava sójových bobů.* Sborník z konference „Perspektivy sóji v ČR." MZLU v Brně, 2005 [cit. 2010-2-3]

VYHLÁŠKA č. 341/2008 Sb. ze dne 26. srpna 2008 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] [cit. 2011-03-09]. Dostupné na World Wide Web: <http://www.inisoft.cz/strana/vyhlaska-341-2008-sb>

INFLUENCE OF CONSTRUCTION OF TRANSMISSION ON ECONOMIC PARAMETERS OF TRACTOR SET TRANSPORT

Vykydal P., Žák M.

Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: petr.vykydal@centrum.cz

ABSTRACT

The aim of this paper is compared on economic parameters of tractor set for transport, depending on the selected gear. For measure were selected two tractors with the same engine, but with a different transmission. It was a NH T7050 tractor AutoCommand with variable hydromechanical transmission and NH T7050 tractor PowerCommand with full powershift transmission. Measured circuit measuring 21.8 km. For tractor AutoCommand was chosen 10 measurement modes with different speeds and with two degrees of aggressiveness changes the gear ratio. The tractor was selected PowerCommad automatic mode. The final evaluation was performed sets of traffic from all over the track. From the measured values it was found that tractor AutoCommand reached a lower average of consumption, in the rev range 1700 min^{-1} to 1770 min^{-1} to 1.5 $l.h^{-1}$, which represents fuel savings of 6.5% for the combination with the T7050 tractor geared AutoCommand. Similar results were also observed at 1814 min^{-1} to 1830 min^{-1}, where fuel economy was 2.8 $l.h^{-1}$, i.e. 11.5% for the combination with a tractor with the transmission T 7050 AutoCommand.

Key words: tractor, transmission, traffic, consumption

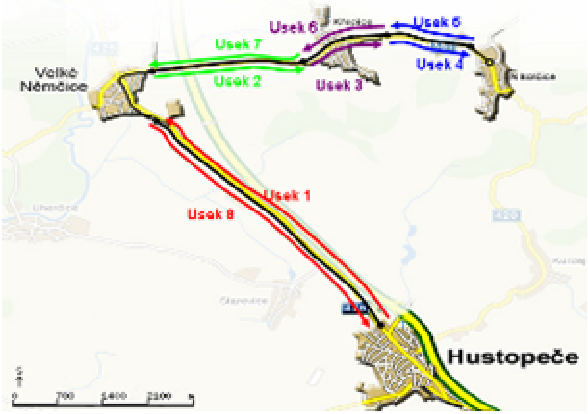
Acknowledgement: The article was prepared with the support of the project's internal grant agency IGA Mendel University in Brno, TP1/2011 - Monitoring of performance parameters of tractor engine.

ÚVOD

Moderní zemědělství přináší řadu nových technologií a konstrukčních inovací v oblasti strojů, které by měly svým příchodem na trh umožnit zvýšení produktivity a snížení energetické náročnosti zejména snížení spotřeby pohonných hmot a s tím spojené snížení množství nežádoucích emisí. A právě náklady spojené s nákupem pohonných hmot představují jednu z největších položek, vezmeme-li v úvahu, že traktor, který je základní energetický prostředek v zemědělství, běžně odpracuje 1500 – 1800 hodin. Výrobci jsou tak nuceni hledat nová řešení, která by zajistila energetickou úsporu. Jedna z možností snížení spotřeby traktorů je také volba převodovky. U dnešních traktorů vyšších výkonových tříd lze volit již standardně mezi převodovkou s plynulou změnou převodového poměru nebo převodovkou plně řazenou při zatížení. Cílem tohoto příspěvku bylo na základě terénního měření porovnat ekonomické parametry traktorových souprav v dopravě. Jednalo se o traktory se stejným motorem, ale s odlišnou konstrukcí převodovky. U traktoru NH T7050 AutoCommand umožňovala řídící elektronika motoru a převodovky nastavovat různé režimy práce. Traktor NH T7050 PowerCommand pracoval s převodovkou řazenou pod zatížením v automatickém režimu.

MATERIÁL A METODIKA

Samotnému terénnímu měření v dopravě, předcházelo měření motorů zkoušených traktorů v laboratořích Ústavu techniky a automobilové dopravy na Mendelu v Brně. Zkoušky na Mendelu probíhaly v traktorové zkušebně, kde byly měřeny parametry motoru přes vývodový hřídel. Hlavní část traktorové zkušebny tvoří vířivý dynamometr VD 500, který je možno připojit na zadní vývodový hřídel traktoru. Při všech zkouškách byly dodržovány všeobecné požadavky dané normou ČSN ISO 789-1. Měření traktorových souprav v dopravě bylo realizováno mezi obcemi Hustopeče a Nikolčice. Trasa mezi těmito obcemi měřila 21,8 km. Soupravy vyjížděly z Hustopečí a směřovaly přes obce Velké Němčice a Křepice do Nikolčic, kde se otočily a vrátily se stejnou cestou zpět do Hustopečí. Měřící trasa byla rozdělena na 8 dílčích úseků, mezi obcemi. Trasa traktorové soupravy je znázorněna na obr. 1 a charakteristiky jednotlivých úseků jsou znázorněny v tab. 1.



Obr. 1 Trasa traktorové soupravy

Tab. 1 Charakteristika jednotlivých úseků

Úsek	Dráha [m]	Nadmořská výška [m]	
		Min.	Max.
1	5720	206	246
2	2628	206	271
3	1020	245	266
4	1562	258	279
5	1562	258	279
6	1020	245	266
7	2628	206	271
8	5720	206	246
Celkem	21866		

Protože traktory byly vybaveny rozdílnými převodovkami, byly také nastavení režimů rozdílné. Řídící elektronika motoru a převodovky umožňovala nastavit různé režimy práce. Traktor NH T7050 AutoCommand, byl vybaven plynulou hydromechanickou převodovkou s možností nastavení agresivity změny převodového poměru 1-3. Stupeň agresivity 1 znamená pomalejší změnu převodového poměru v závislosti na změně zatížení traktoru, naopak nastavení agresivity na třetí stupeň znamená změnu převodového poměru v kratším čase. Díky elektronice řízení motoru bylo dále možné nastavení v širokém rozmezí omezení otáček motoru. Proto bylo pro testováni traktoru AutoCommand zvoleno 10 režimů omezení otáček motoru a agresivity řazení:

1.	Otáčky 1450 min^{-1}	agresivita 1, (v grafu je označena jako Agg.)
2.	Otáčky 1450 min^{-1}	agresivita 3
3.	Otáčky 1580 min^{-1}	agresivita 1
4.	Otáčky 1580 min^{-1}	agresivita 3
5.	Otáčky 1800 min^{-1}	agresivita 1
6.	Otáčky 1800 min^{-1}	agresivita 3
7.	Otáčky 1900 min^{-1}	agresivita 1
8.	Otáčky 1900 min^{-1}	agresivita 3
9.	Otáčky 2200 min^{-1}	agresivita 1
10.	Otáčky 2200 min^{-1}	agresivita 3.

Uvedené režimy byly nastaveny vždy před započetím každé dílčí zkoušky a během jízdy po trase nebyly měněny. U traktoru NH 7050 PowerCommand, který disponoval stupňovitou převodovkou řazenou při zatížení, byl zvolen automatický režim řazení, kde elektronika řízení převodovky neumožňovala nastavit omezení otáček motoru. Automatika řazení udržovala otáčky v oblasti maximálního výkonu.

Technické parametry traktoru New Holland T7050 PowerCommand

Motor: číslo motoru: 000757052*, číslo traktoru: *ZAB641763*, rok výroby 2010, počet motohodin: 4,4, jmenovitý výkon: 145 kW, max. výkon bez navýšení: 156 kW, jmenovitý výkon s navýšením: 172 kW, max. výkon s navýšením: 177 kW, jmenovité otáčky 2200 min^{-1}, maximální točivý moment: 860 Nm/1400 min^{-1}, maximální točivý moment s navýšením: 965 Nm/1600 min^{-1}, převýšení točivého momentu bez/s navýšením: 37/30 %, počet válců: 6, celkový objem motoru: 6728 cm^3, počet ventilů: 24, pohon ventilátoru chlazení: visko spojka, přeplňování: turbodmychadlo, vstřikovací systém: vysokotlaký Common Rail s plně elektronickým řízením. Převodovka: typ: Powershift, počet převodových stupňů 19F/6R. Rozměry pneumatik: výrobce: Continental Contract AC 65, přední – 540/65 R30, zadní: 650/65 R42. Hmotnost: 8 610 kg.

Technické parametry traktoru New Holland T7050 AutoCommand

Motor: číslo motoru: 000750214*, číslo traktoru: *ZAB607941*, rok výroby 2010, počet motohodin: 6,7, jmenovitý výkon: 145 kW, max. výkon bez navýšení: 156 kW, jmenovitý výkon s navýšením: 172 kW, max. výkon s navýšením: 177 kW, jmenovité otáčky 2200 min^{-1}, maximální točivý moment: 860 Nm/1400 min^{-1}, maximální točivý moment s navýšením: 965 Nm/1600 min^{-1}, převýšení točivého momentu bez/s navýšením: 37/30 %, počet válců: 6, celkový objem motoru: 6728 cm^3, počet ventilů: 24, pohon ventilátoru chlazení: visko spojka, přeplňování: turbodmychadlo, vstřikovací systém: vysokotlaký Common Rail s plně elektronickým řízením.

Převodovka: typ: plynulá hydromechanická. Rozměry pneumatik: výrobce: Michelin Multibib, přední – 540/65 R30, zadní: 650/65 R42. Hmotnost: 8 874 kg.

Technické parametry použitého návěsu WTC Písečná BIG 18/3

Typ: BIG 18/3, výrobní číslo: 6794-06, číslo rámu: 18T20100001, rok výroby: 2010, nejvyšší povolená hmotnost: 25 000 kg, provozní hmotnost: 7 000 kg, užitečná hmotnost: 18 000 kg, objem/bočnice 980/1600 mm: 15,5 m^3, 25,5 m^3. Rozměry – celková šířka: 2 480 mm, celková délka: 9 020 mm, celková výška: 2 655 mm, max. povolená rychlost: 40 km/h.

Použitá měřící zařízení: GPS modul – Přesná poloha soupravy a také skutečná rychlost byla zjišťována GPS příjmačem s datarate 5 S/s. Přijímač byl do měřícího notebooku připojen přes sběrnici RS232.

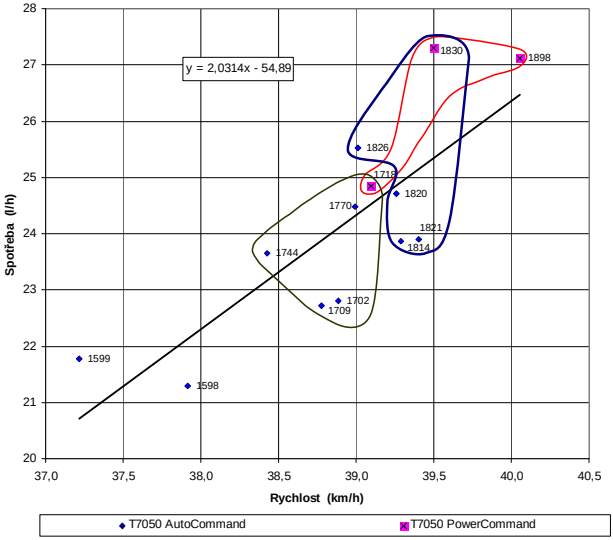
Obr. 2 Měřené traktory a návěs

VÝSLEDKY A DISKUZE

Naměřené hodnoty byly vyneseny do grafů podle jednotlivých úseků. V grafu na obr. 3 je vynesena hodinová spotřeba traktorových souprav měřená na úseku 2, kde je patrný vliv nastavení omezení otáček. Jednalo se kopcovitý terén, tedy nejvyšší zatížení z celého okruhu. Nejnižší hodinové spotřeby zde dosahoval traktor AutoCommand s nastavením otáček 1450 min^{-1}. Podobné výsledky byly naměřeny i na ostatních úsecích zkušební dráhy. Rozdíly hodinové spotřeby v závislosti na nastavení agresivity změny převodového poměru jsou velice malé. Při nastavení stupně agresivity 3 docházelo jen k malému zvýšení otáček a to maximálně o 30 min^{-1}, což mohlo být způsobeno rychlejší změnou převodového poměru. Dále bylo monitorováno zatížení motoru a aktuální moment motoru. Jedná se o údaje snímané ze sítě CAN Bus měřených traktorů. Vzhledem k tomu, že průběh aktuálního momentu kopíruje průběh skutečného momentu motoru je tento údaj významnější než zatížení motoru. Při práci s plnou dodávkou paliva na nižší otáčky se motor pohybuje v oblasti s vyšším aktuálním momentem, tedy v oblasti s nižší měrnou spotřebou paliva.

Závěrečné hodnocení dopravních souprav bylo provedeno z celé zkušební dráhy tj. z délky 21,8 km, s celým profilem tratě (klesání, stoupání) a při různých otáčkách motoru. Základním kritériem pro závěrečné hodnocení byly rozhodující výstupní parametry a to dosažená přepravní rychlost a spotřeba paliva. Pro objektivní hodnocení byly vybrány poměrně úzké rozsahy rychlostí a úzké rozsahy otáček motoru. Naměřené hodnoty byly vyneseny do grafu na obr.4 .

Obr. 3 Hodinová spotřeba traktorových souprav na úseku 2 (Agg – agresivita řazení)



Obr. 4 Závislost hodinové spotřeby traktorů na rychlosti při jízdě souprav na celém okruhu.

Z grafického znázornění vyplívá, že při rozsahu otáček motoru 1700 min^{-1} až 1770 min^{-1} - soupravy dosahovaly přepravní rychlost 38,4 až 39,1 $km.h^{-1}$. V uvedených parametrech dosáhla nejmenší spotřeby souprava s traktorem T7050 s převodovkou AutoCommand a to 23,4 $l.h^{-1}$, zatímco souprava s traktorem T7050 s převodovkou PowerCommand dosáhla průměrné spotřeby 24,9 $l.h^{1}$. Rozdíl je 1,5 $l.h^{-1}$, což činí téměř 6,5 % úspory paliva pro soupravu s traktorem T7050 s převodovkou AutoCommand.

Další volený rozsah byl při otáčkách motoru 1814 min^{-1} až 1830 min^{-1}- soupravy dosahovaly přepravní rychlost 39,1 až 39,5 $km.h^{-1}$. V uvedených parametrech měla souprava s traktorem T7050 s převodovkou PowerCommand spotřebu 27,3 $l.h^{-1}$, zatímco souprava s traktorem T7050 s převodovkou AutoCommand dosáhla průměrné spotřeby 24,5 $l.h^{1}$. Rozdíl je 2,8 $l.h^{-1}$, což činí 11,5 % úspory paliva pro soupravu s traktorem T7050 s převodovkou AutoCommand.

ZÁVĚR

Ze závěrečného hodnocení traktorové soupravy v dopravě je patrné, že traktor disponující plynulou hydromechanickou převodovkou vykazoval na celé zkušební dráze (tj. 21,8 km) nižší hodinovou spotřebu při stejném rozsahu otáček a stejné pojezdové rychlosti než traktor s převodovkou řazenou při zatížení s automatickým režimem řazení. Pro porovnání byly zvoleny dva rozsahy otáček, a to 1700 -1770 mi^{-1}, kde traktor AutoCommand dosáhl nižší spotřeby paliva o 6,5% než traktor PowerCommand. Druhý volený rozsah otáček byl v rozmezí 1814 – 1830 min^{-1}, v tomto režimu vykazoval nižší hodinovou spotřebu opět traktor AutoCommand a to o 11,5% než traktor PowerCommand. Z toho plyne, že při vyšších průměrných otáčkách je úspora paliva výraznější. Z naměřených výsledků je patrné, že modernější konstrukce převodovky může mít také vliv na spotřebě paliva.

LITERATURA

1. Bauer, F., a kol.: *Traktory*, Profi Prees, Praha, 2006, 1.vydání, 192 s.,

2. *Nepublikované materiály Mendelu Brno*

Section – Applied Chemistry and Biochemistry

SARCOSINE AS POSSIBLE TUMOUR MARKER OF PROSTATE TUMOURS - ANALYTICAL STUDY

Cernei N.[1], Zitka O.[1], Sochor J.[1], Adam V.[1], Kizek R.[1]

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

E-mail: natalia.cernei3@gmail.com

ABSTRACT

Prostate cancer is in many developed countries the most common type of cancer and the second leading cause of cancer-related death in the male population. The marker of prostate cancer is called prostate specific antigen, PSA, whose small amount is normally secreted by prostatic epithelial cells into the bloodstream. However, increased level of PSA in the blood does not indicate only the presence of prostate cancer, but any abnormality of this gland; it is also very individual and variable. Therefore, many patients are needlessly indicated on other tests that are reliable, but unpleasant. On the other hand, 20% of men with prostate cancer nave PSA level in normal. In addition, the PSA level does not identify the degree of tumor aggressiveness. Therefore, particularly in recent years, when the incidence is increasing more and more, science needs to find a reliable marker of prostate cancer and thereby increase the chances for successful treatment. In 2009, scientists examined 1126 substances, which could serve in the future as reliable markers of this disease. The most excelled substance was sarcosine. Its amount increased in many samples proportionally with the disease stage. Another reason, why this substance could be a marker of prostate cancer, is the fact that in urine samples taken from men without prostate cancer did not occur. The main objective of this study was to optimize the method for rapid and reliable determination of sarcosine in various samples, such as lysates of cultivated prostate cells or urine samples and interaction effect on sarcosine. Furthermore, using this method to confirm or refute the possibility of using sarcosine in the diagnostics of prostate cancer.

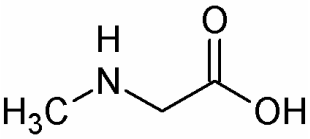
Key words: sarcosine, tumor marker, prostate cancer, interaction effect, high performance liquid chromatography (HPLC)

Acknowledgement: Financial support from the IGA FA MENDELU 1/2011 is highly acknowledged.

ÚVOD

Karcinom prostaty jako maligní nádorové onemocnění prostaty bývá klinicky nejčastěji označován adenokarcinom prostaty, charakterizován abnormálním nekoordinovaným růstem epiteliálních prostatických buněk se ztrátou jejich původní funkce. Jednotný mechanismus vzniku a rozšiřování karcinomu prostaty není dosud znám, pravděpodobně se jedná o soubor různých vlivů. Asi nejhlavnějším faktorem ovlivňujícím vznik karcinomu prostaty je věk, s každou dekádou života roste pravděpodobnost výskytu na dvojnásobek. Nezbytnou podmínkou pro vznik karcinomu prostaty je přítomnost androgenů, mužských pohlavních hormonů vznikajících ve varlatech. Dalšími faktory, které pravděpodobně přispívají ke vzniku nádorových onemocnění prostaty, jsou genetické dispozice, riziko výskytu pro syna otce majícího karcinom prostaty je asi trojnásobné, a etnický původ, nejvyšší incidence karcinomu prostaty je u amerických černochů, vyšší je také u indoevropské populace. V současné době neexistuje jeden konkrétní test, který by nám potvrdil či vyvrátil přítomnost karcinomu prostaty a zároveň nás informoval o pokročilosti a umístění karcinomu. Jedná se tedy spíše o soubor vyšetření, která lze rozdělit na ta, která vedou k podezření na karcinom prostaty (vyšetření per rektum a hladiny PSA), vyšetření, která jej histologicky potvrdí (transrektální sonografie s biopsií prostaty) a ostatní, která slouží k určení pokročilosti onemocnění (CT, scintigrafie apod.). [1],[2].

Prostatický specifický antigen (PSA) je současný marker nádorových onemocnění prostaty. Slouží jak ke stanovení diagnózy, tak k určení pokročilosti choroby i monitoringu úspěšnosti léčby, avšak jeho senzivita (49-91 %) a specifita (68-80 %) nejsou dostatečně vysoké, aby mohl být považován za ideální marker. Z chemického hlediska se jedná o glykoprotein, kódovaný na 19. chromozomu, podílející se na likvefakci spermií, jenž je vylučován epiteliálními buňkami prostaty, jak normálními, tak nádorovými. PSA se vyskytuje v krvi, z větší části (85%) ve vazbě na bílkoviny krevní plazmy a zčásti jako volný, tzv. fPSA. Zvýšená hladina PSA v krvi tedy signalizuje jakoukoliv abnormalitu prostaty, nejen karcinom. Jako normální množství PSA v krvi je obvykle považována koncentrace 0-4 ng/ml, přesto některé druhy testu mají horní limit normálu již 2,5 ng/ml. Většina mužů s karcinomem prostaty má hladinu PSA v rozmezí 10 až 20 ng/ml, avšak nejsou neobvyklé ani hodnoty v řádu stovek nebo dokonce tisíců. Jednou z látek, jejichž potenciál pro využití v diagnostice karcinomu prostaty je sarkosin.[9]. Sarkosin v současnosti v centru zájmu.



Obrázek č.1.: Strukturní vzorec sarkosinu

Sarkosin-CH_3NHCH_2COOH, byl poprvé izolován a pojmenován německým chemikem Justusem von Liebigem v roce 1847. Je to přírodní, netoxická, bezbarvá pevná látka patřící do skupiny aminokyselin, jenž má sladkou chuť a je rozpustná ve vodě. V lidském těle vzniká jako meziprodukt metabolismu cholinu na glycin, je to tedy methylderivát glycinu, někdy nazývaný N-methylglycin.V malém množství se vyskytuje ve svalech i jiných tělních tkáních. I v případě raných stadií vývoje nádoru je sarkosin cenným vodítkem. Nejméně cenné je i to, že ve vzorcích odebraných zdravým pacientům nebyl vůbec přítomen. Tím se minimalizuje pravděpodobnost „falešného poplachu.“ Podle zveřejněných výsledků je sarcosin podstatně lepší indikátor postupující rakoviny než tzv. prostatický antigen (protilátka), jehož přítomnost v krvi se testuje dnes. Z medicínského hlediska by bylo ideální, kdyby byli muži po padesátce vyšetřování každoročně. Představa, že v případě podezření na nádor lékař vzorek prostaty odebere jehlou přes konečník, nahání většině mužů husí kůži, která nemizí ani po ujištění, že biopsie je téměř bezbolestná. Příčinu zvratu vývoje normální buňky v nádorovou zatím přesně neznáme. Není jasné, proč někdy nádor roste jen zvolna a jindy je agresivní. Nezhoubný typ nádoru pacienta omezuje minimálně a po léta se příliš nemění. Stává se, že pacienti s mírnějším typem podstupují chirurgické zákroky a ozařování zbytečně. Rozlišení obou variant je totiž velmi obtížné. Sarcosin upozorňuje právě na agresivní nádory, ukončí se nadměrná léčba pacientů, je to velký krok na cestě k vývoji jednoduchého testu na rakovinu prostaty. Přítomnost v moči látky (sarkosinu), která s vysokou pravděpodobností signalizuje přítomnost nádoru, ulehčí včasnou diagnózu. Ve studii zveřejněné v časopisu Nature v roce 2009, bylo publikováno, že sarkosin vyskytoval pouze u pacientů s karcinomem prostaty, jeho obsah výrazně vyrostl a poukazoval na agresivní nádory, při měření v moči. [4],[6].

Hlavním cílem této práce bylo optimalizovat metodu pro rychlé a spolehlivé stanovení sarkosinu v různých biologických vzorcích. Analyzovat hladinu sarkosinu a další biologické parametry ve vzorcích moči pacientů i kontrolní skupiny. Zkoumat vliv přídavků různých látek a teploty na hladinu sarkosinu a také vliv přídavků sarkosinu na životnost rakovinných prostatických buněk.[7],[8].

MATERIÁL A METODIKA

Všechny použité chemikálie byly zakoupeny od firmy Sigma-Aldrich Spojené Státy Americké, spol. s.r.o. ve standardní p.a. čistotě. Pro přípravu všech roztoků byla použita destil. voda Milli-Q. Pro HPLC bylo použito 6 pracovních roztoků (tab. č. 1).

$C_6H_8O_7$	11.11g	10g	10.53g	-
$C_6H_5Na_3O_7$	4.04g	5.6g	9.6g	19.6g
NaCl	9.25g	8.36g	18g	52.6g
H_3BO_3	-	-	-	2.05g
N_3Na	0.1g	0.1g	0.1g	0.1g
Thiodiglikol	2.5ml	2.5ml	2.5ml	-

Tabulka č. 1 – Sodno – citrátové pufry pro Analyzátor aminokyselin AAA 400 (na 1000ml)

Biologické vzorky

Buněčné lyzáty - Pro analýzu sarkosinu byly použity buněčné lyzáty rakovinných prostatických

buněk linie 22Rv1 (odvozená z xenograftu pasážovaného na kastrovaných myších) připravených v laboratořích lékařské fakulty Masarykovy univerzity. Buňky byly pěstovány v živném médiu RPMI-1640 obohaceném o 10% FBS a antibiotika (penicilin, streptomycin). Uchovávány byly v Termoboxu při teplotě 37 °C s 5% přísunem CO_2. Po prvním dosažení 50 až 60% konfluence došlo k výměně média. Po zhruba 24 hodinách od této výměny bylo médium opět vyměněno, tentokrát však bylo nové médium obohaceno o 10, 150 a 500 µM sarkosin, díky tomu tedy vznikly 3 odlišné vzorky buněk. Zhruba za 72 hodin od tohoto rozdělení došlo k 80 – 90% konfluenci a buňky již byly připraveny k závěrečnému sklizení. U buněk s přídavkem sarkosinu následně byli změřeny pomoci imunochemického analyzátoru AIA-600- metoda EIMA, testosteron, PSA a pomoci aminoanalyzátoru AAA-400 koncentrace sarkosinu.

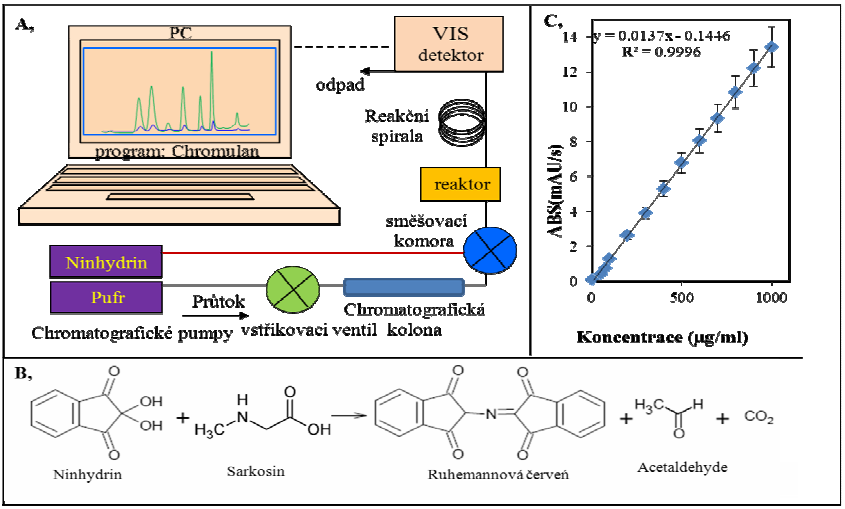
Vzorky moči

Pro analýzu sarkosinu i jiných biologických hodnot bylo použito celkem 37 vzorků mužské moči; 23 kontrol (zdraví dobrovolníci ve věku 17 – 31 let), 3 vyléčení (muži u nichž byl karcinom prostaty v minulosti potvrzen, ale po podstoupení léčby se v jejich těle, podle v současnosti používaných testů, již nevyskytuje), 11 pacientů (z Urologické kliniky FN u sv. Anny). Všechny biologické vzorky byly použity se souhlasem etické komise FN u sv. Anny.

Chemikálie použité pro interakce sarkosinu

Všechny chemikálie použité pro interakce sarkosinu byly zakoupeny od firmy Sigma-Aldrich Spojené Státy Americké, spol. s.r.o. ve standardní p.a. čistotě.Pro přípravu roztoků byla použita voda Mili-Q. Pro interakce bylo použito 9 pracovních roztoků: glukóza, kreatinin, uracil, chlorid sodný, kyselina močová, glycin, prolin, albumin, uracil. K množství 100µM sarkosinu bylo následně přidáno 9 pracovních roztoků o koncentracích 1-10mM. Byli provedené měření pomoci

aminoanalyzátoru - AAA-400, (obr. č. 2). Cílem daného experimentu bylo zjistit vliv různých látek na posun retenčního času a na plochu sarkosinu.



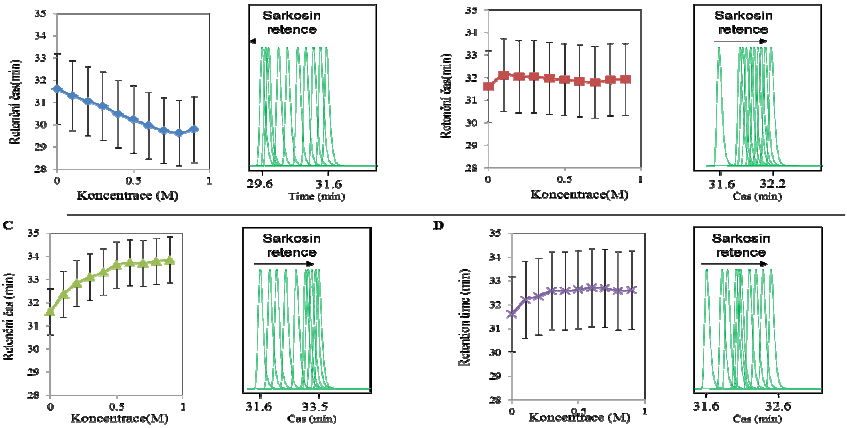
Obrázek č. 2.: A) Schéma HPLC- AAA 400; B) Post-kolonová derivatizace sarkosinu; C) Kalibrační křivka sarkosinu.

K detekci sarkosinu byla použita ionexová kapalinová chromatografie s fotometrickým detektorem (VIS). Mobilní fázi tvořily sodno-citrátové pufry (viz Chemikálie). Stacinární fází je ionex s kyselou funkční skupinou $HSO3^-$. K separaci vzorku dochází na koloně naplněné ionexem. Kladně nabitá aminoskupina aminokyselin se reverzibilně adsorbuje na záporně nabitou sulfoskupinu. Změnou podmínek, většinou pH, iontové síly a teploty, dochází k postupnému oddělování složek směsí. Jako první se z kolony vymývají aminokyseliny s nejnižším isoelektrickým bodem, tedy ty nejzásaditější. Postupným zapojováním méně kyselých a více koncentrovaných pufrů dochází k postupnému oddělení všech složek vzorku. Rovnoměrnému vymývání z kolony dopomáhá zvýšení teploty tam, kde by byla mezera mezi jednotlivými aminokyselinami opouštějícími kolonu příliš velká. Po eluci aminokyselin příslušného vzorku následuje regenerace kolony pomocí promývání roztokem 0,2 M NaOH. Po výstupu z kolony jsou již oddělené aminokyseliny míseny s ninhydrinovým činidlem, se kterým následně při zvýšené teplotě reagují v průtočném reaktoru. Tento proces se nazývá post-kolonová derivatizace (obr. č. 2). Po výstupu z reaktoru je vzniklý barevný produkt reakce, v případě sarkosinu purpurově zbarvený komplex, tzv. Ruhemannova červeň, detekován pomocí absorpčního fotometrického detektoru. Detektor registruje změnu absorbance při dvou vlnových délkách, v případě sarkosinu při vlnové délce 570 nm. Počítačovým programem CHROMULAN vytvořený záznam, chromatogram, představuje závislost absorbance na čase. Tento záznam je tvořen elučními křivkami, píky, jejichž

poloha (retenční čas) určuje konkrétní aminokyselinu a jejich plocha je přímo úměrná koncentraci aminokyseliny.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Při sledování interakci sarkosinu různými látkami došlo k víc či méně k změnám retenci a plochy po přídaní NaCl, glycinu, prolinu a kyselině močové. (obr. č. 3)



Obrázek č.3.: Změna retenčního času sarkosinu po přidání různých koncentrací: A) NaCl, B) Kyselina močová, C) Prolin, D) Glycin

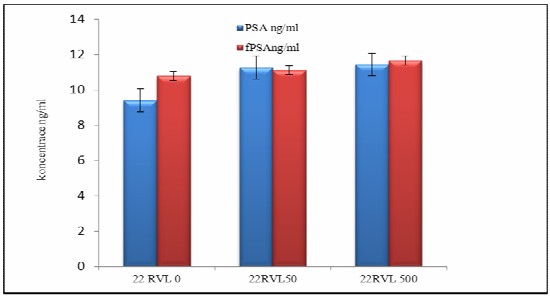
Přístroj AAA 400 je primárně optimalizován pro analýzu esenciálních aminokyselin v biologických vzorcích. Metoda poskytuje vysokou separační účinnost a reprodukovatelnost stanovení (RSD = 2 %). Jedním z prvních úkolů práce bylo ověřit, zda je tento přístroj vhodný pro stanovení sarkosinu, pro které není specificky určen.

věk pacientů	sarkosin (µM)	věk kontrolní skupiny	sarkosin (µM)
62	1480	17	ND
64	770	19	ND
65	830	21	ND
67	640	22	ND
70	337	20	ND
71	321	19	ND
72	121	19	ND
73	530	22	ND
74	186	23	ND
75	150	24	ND
76	190	22	ND

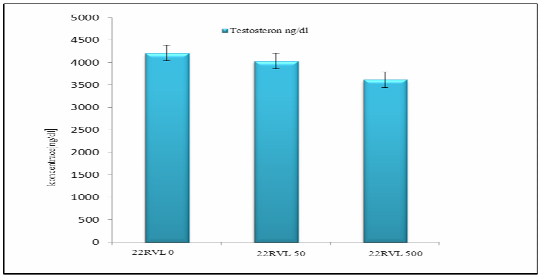
Tabulka č. 2.: Koncentrace sarkosinu u pacientů s karcinomem prostaty a kontrolní skupiny.

Před analýzu sarkosinu pomocí Analyzátoru aminokyselin AAA 400 byl každý vzorek 10x naředěn v pufru (Thidioglikol-5ml,N_3Na0,10g,NaCl-11,50g,$C_6H_8O_7$, -14g na 1000 ml) a následně byla takto vzniklá směs promíchána na Vortexu. V tabulce. č. 2 jsou sumarizovány výsledky množství sarkosinu u skupiny kontrolní a u skupiny pacientů s karcinomem prostaty. Z uvedených dat lze soudit, že hladina sarkosinu u mužů s pozitivní diagnózou karcinomu prostaty je signifikantně zvýšená ve srovnání s hladinou u kontrolních vzorků.

Připravené buňky byly naředěny v poměru 1:4 ve fosfatovém pufru pH7(NaH_2PO_4-9,078g,Na_2HPO_4-11,876g na 1000ml H_2O) a podrobené analýze na imunochemickem analyzatorovi AIA-600, byly změřeny koncentrace testosteronu(obr.č 5), PSA a fPSA (obr. č 4). Z uvedených dat lze soudit, že sarkosin neměl výrazný vliv na koncentrace PSA a fPSA, na rozdíl od koncentrace testosteronu, kde můžeme vidět klesající trend.



Obrázek č.4.: Koncentrace PSA a fPSA u linií 22RVL s přídavkem sarkosinu 0-500 µM



Obrázek č.5.: Koncentrace testosteronu u linií 22RVL s přídavkem sarkosinu 0-500 µM

ZÁVĚR

Bylo potvrzeno, že sarkosin je jedním z potenciálních markerů, detekovatelných v moči, u pacientů s nádorovým onemocněním prostaty. V současnosti však existuje mnoho diametrálně odlišných vědeckých názorů, zda ho lze anebo nelze takto využít. V této práci byla studována možnost stanovení sarkosinu pomocí separační metody - vysokoúčinné kapalinové chromatografie s ionexovou separací. Bylo zjištěno, že pro detekci sarkosinu, v tak složité matrici jako je moč, se jako vhodnější jeví chromatografie. Dále bylo zjištěno, že s přibývající koncentrací sarkosinu přidaného do živného média rakovinných prostatických buněk klesá hladina testoteronu ale na hladinu PSA a fPSA nemá tak výrazný vliv. Nejvýraznější vliv na retenci a plochu sarkosinu měli NaCl, glycin, prolin a kyselina močová. Výsledky experimentální práce vykazují slibný trend využití sarkosinu pro diagnostiku nádorových onemocnění prostaty, ale je potřeba ještě mnoho dalších studií, než bude možno sarkosin využívat pro běžnou klinickou diagnostiku.

LITERATURA

[1] Jamaspishvili T, Kral M, Khomeriki I, J.: PROSTATE CANCER AND PROSTATIC DISEASES, 13 (2010),, 12-19,1.

[2] Gonzalez DE, Covitz KMY, Sadee W, J.: CANCER RESEARCH, 58(1998), 519-525,3.

[3] WoganGN, Paglialunga S, Archer MC.J: CANCER RESEARCH, 35 (1975), 1981-1984 , 8.

[4] Sreekumar A, Poisson LM, Rajendiran TM, et al.: Nature (2009), 457, 910-914

[5] Lucarelli G, Larocca A, Fanelli M, et al. EUROPEAN UROLOGY SUPPLEMENTS (MAR 2011) 10, 2, 205-205

[6] Cao DL, Ye DW, Zhang HL, et al. PROSTATE (MAY 15 2011) 71, 7, 700-710

[7] Issaq HJ, Waybright TJ, Veenstra ELECTROPHORESIS **(**APR) 32 Issue: 9, SI, 967-975

[8] Jentzmik F, Stephan C, Lein M, et al. JOURNAL OF UROLOGY (FEB 2011), 185, 2, 706-711

[9] THANIGASALAM, R. et al., Prostate-specific antigen velocity (PSAV): a practical role for PSA? Anz Journal of Surgery, 2009, 79 (10), s. 703-706

OPTIMIZATION CHROMATOGRAPHIC ISOLATION OF ANTHOCYANINS

Chabinová J., Zítka O., Húska D., Klejdus B., Kizek R.

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

E-mail: xspilko1@node.mendelu.cz

ABSTRACT

Anthocyanins are natural colorants. They have been shown to have some beneficial health effect. Red and amber durum wheats contain as major xanthophylls pigments, carotenoids and flavones. Blue and purple wheats are different from those that contain another group of pigments, anthocyanins. Grain from six wheat lines differing in pigmentation was used in this study: "UC 660 49" (blue aleurone), *A. Arraseita* (purple perikarp), "TBS" (blue aleurone), "ANK 28B" (purple perikarp), "N 67" (red pericarp), Heroldo (white pericarp). Wheat grains were harvested every five days begining 15th day post anthesis, ending once the grains reached physiological maturity (40th day post anthesis), for a total six sampling dates. Anthocyanins were extracted with 10 mL acidifield methanol (methanol and 1.0 N HCl, 85:15 v/v) and shaking on Ika Ultra-Turrax® Tube Drive, for 2x29 min. The filtred extract were evaporated at 50 °C to dryness and redissolved in acidifield methanol. Individual anthocyanins were separated and and quantifield by high-performance liquid chomatography (HPLC). Anthocyanin concentration increased rapidly during grain development and then decreased before maturity. Cyanidin 3-glucoside was the predominant anthocyanin in purple wheat. Delphinidin 3-glucoside is the principal one in blue wheat. Anthocyanins are considered to be physiologically active substances, whose importance in promoting health and reducing the risk of chronic disease has been scientifically documented. This means that the presence of wheat anthocyanins in pigmented wheat, can be a source of bioactive compounds for use in the food industry.

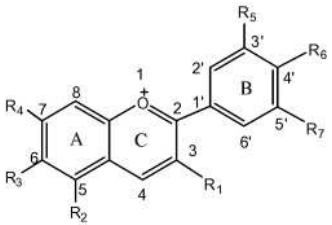
Key words: anthocyanins, blue wheat, purple wheat, extraction, HPLC, mass spectrometry

Acknowledgement: The work has been supported by the grant of the IGA FA MENDELU No. TP 7/2011.

ÚVOD

Anthokyany jsou ve vodě rozpustné přírodní pigmenty, zodpovědné za červené, fialové až modré zabarvení květů, plodů a jiných částí rostlin. Aglykonová (necukerná) část anthokyanů se označuje jako anthokyanidin (Obr. 1). Nejčastěji zastoupené sacharidy, které se vyskytují v anthokyanech jsou xylóza, arabinóza, rhamnóza, glukóza, galaktóza. Cukry mohou být acylovány organickými kyselinami. Nejběžnější acylační činidla jsou kyselina octová, malonová, p-kumarová, kávová, hydroxybenzoová. Mezi nejběžnější anthokyanidiny v rostlinných částech patří: pelergonidin, kyanidin, peonidin, delphinidin, petulidin a malvidin (Escribano-Bailón et al., 2004). Delphinidin je zodpovědný za namodralou barvu, kyanidin a pelargonidin dodávají rostlinám fialové a červené zabarvení (Hosseinian et al., 2008; Abdel-Aal,Hucl, 2003; Lee J. et al., 2005; Mazza et al., 2004).

Obrázek 1. Struktura anthokyanidinu (Castaneda-Ovando et al., 2008)



Isolace anthokyanů z rostlinných matric je poměrně složitá díky jejich nestabilitě a zvýšené náchylnosti k degradaci (Giusti, Wrostad, 2003). Stabilita anthokyanů se zvyšuje s počtem methoxy- skupin v kruhu B a klesá s počtem hydroxy- skupin. Nejstabilnější je malvidin, následují peonidin, petunidin, kyanidin a dephinidin. Obecně platí, že anthokyany jsou stabilní při kyselém pH. Glykosilace a acylace sacharidů také zvyšuje stabilitu, proto jsou diglykosidy stabilnější než jejich odpovídající monoglykosidy. Při analýze je důležité kontrolovat teplotu, jelikož rychlost rozkladu anthokyanů stoupá se zvyšující se teplotou. Kromě toho také světelné záření urychluje odbourávání anthokyanů (Escribano-Bailón et al., 2004).

Funkce anthokyanů v rostlinách jsou shodné s obecnými vlastnostmi flavonoidů. Mezi jejich významné vlastnosti patří antioxidační aktivita, která hraje důležitou roli v prevenci kardiovaskulárních a nádorových onemocnění. (Konczak , Zhang, 2004; Castaneda-Ovando et al., 2008). Byla prokázána jejich schopnost vázat těžké kovy, jako je železo, zinek a měď. Působí také jako induktory enzymů glutathion-*S*-transferásy (GST) a superoxid dismutásy (SOD) (Hosseinian et al., 2008).

Hlavními pigmenty v červené a oranžové tvrdé pšenici jsou xantophyly, karotenoidy a flavony. Anthokyany jsou obsaženy v odrůdách modré a fialové pšenice. Modré pigmenty se nachází v aleuronové vrstvě zrna, zatímco fialové pigmenty se soustředí ve vrstvách oplodí. Cyanidin-3-glukosid byl nalezen jako hlavní anthokyan ve fialové pšenici a jako druhý nejčastější v modré pšenici. Delphinidin-3-glukosid je dominantní v modré pšenici, kde zaujímá zhruba 41% z celkového obsahu anthokyanů. (Abdel-Aal, Hucl, 2003; Abdel-Aal et al., 2006; Hosseinian et al., 2008). Koncentrace anthokyanů prudce vzrůstá v průběhu zrání zrna, zatímco v době zralosti zrna poklesne (Knievel et al., 2009).

Anthokyany jsou polární molekuly, proto se pro extrakci obvykle používají vodné směsi ethanolu, methanolu a acetonu. Pro zvýšení stability anthokyanů se do rozpouštědla přidává malé množství kyseliny (kys. trifluoroctvá, kys. chlorovodíková, kys. mravenčí, kys. octová) (Castaneda-Ovando et al., 2008; Barnes et al., 2009; Downeya , Rochfortb , 2008; Tian et al., 2005; Huang et al., 2009; Pati et al., 2009; Lee et al., 2008; McCalluma et al., 2007, Hosseinian et al., 2008; Chun Hu et al., 2007; Barnes et al., 2009). V poslední době byly pro extrakci fenolických sloučenin zavedeny nové techniky, jako jsou extrakce urychleným tokem rozpouštědla (PLE), superkritická fluidní extrakce (SFE) (Escribano-Bailón et al., 2004) nebo mikrovlnná extrakce (MAE) (Yang, Zhai 2010; Liazid et al., 2010). Tyto metody mohou být použity i pro extrakci anthokyanů. Pro izolaci a identifikaci se v současné době nejčastěji používají metody vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC). Před provedením této metody se pro přečištění surového extraktu může použít extrakce na pevné fázi (SPE) (Escribano-Bailón et al., 2004). V kombinaci s HPLC lze zvolit celou řadu detektorů. Giusti, Wrostad (2001) a Giusti, Wrostad (2003 se ve svých publikacích zabývali UV-Vis metodami používanými pro charakterizaci a kvantifikaci anthokyanů. V současné době jsou však nejpoužívanějšími technikami pro jejich identifikaci tandemy HPLC-MS, HPLC-NMR (Castaneda-Ovando et al., 2008).

MATERIÁL A METODIKA

Chemikálie, standardy

Jako standard byly použity standardní roztoky antokyanů (cyanidin-3-glukosid, delphinidin-3-glukosid) od firmyExtrasynthese (Francie). Methanol a ostatní chemikálie byly zakoupeny od firmy Sigma-Aldrich (St. Louis, MI, USA). Standardy byly připraveny navážením 1 mg sloučeniny do 100 ml methanolu a 1,0 M HCl, 85:15 v/v.

Reálné vzorky

Pro analýzy byly použity obilky barevných pšenic: “UC 660 49 ” (modrý aleuron), *A. Arraseita* (purpurový perikarp), “TBS” (modrý aleuron), “ANK 28B” (purpurový perikarp), “N 67 ” (červená

obilka), Heroldo (bílá obilka). Všechny odrůdy byly vysety a sklizeny v areálu Mendelovy univerzity v Brně. Odebrány byly vzorky zrajících obilek vždy 10., 15., 20., 25., 30., 35. a 40. den *post anthesis*. Pro analýzu anthokyanů byly použity odběry 15. – 40. den *post anthesis* (tedy celkem 6 odběrů na genotyp). Obilky byly rozdrceny v třecí misce.

Extrakce

Pro extrakci byly vybrány dvě metody: extrakce v ultrazvukové lázni (60 min) a extrakce pomocí homogenizátoru Ika Ultra-Turrax® Tube Drive (2x29 min). Pro obě extrakce byly použity vodné směsi methanolu (50: 50 v/v, 70:30 v/v, 90:10 v/v , methanol a 1 M HCl, 85:15 v/v). Objem solventu byl 10 ml. Pro optimalizaci metody byly použity vzorky zralých obilek i nezralých obilek. U všech vzorků se zkoušely navážky 20 mg a 50 mg.

Pro vlastní analýzu byla vybrána extrakce pomocí homogenizátoru Ika Ultra-Turrax® Tube Drive (2x29 min.). Jako rozpouštědlo byl použit roztok methanolu a 1 M HCl, 85:15 v/v. Objem solventu 10 ml. Použité navážky obilek jsou uvedeny v *Tab. 1*. Po extrakci byly vzorky přefiltrovány a odpařeny v proudu předehřátého (50 °C) dusíku za pomocí bezkontaktního systému. Odpařené vzorky byly až do provedení chromatografické analýzy skladovány ve tmě při teplotě 4 °C.

HPLC a MS/MS

Pro isolaci a identifikaci anthokyanů bylo využito přístroje Agilent 1200 Series Rapid Resolution LC system (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany). Přístroj je vybaven on-line odplynovačem, binární pumpou, autosamplerem a kolonovým termostatem. Detekce separovaných látek probíhala pomocí UV-Vis detektoru s fotodiodovým polem a MS detektoru Agilent Technologies MSD 1100 Single quad LC/MS. Pro separaci byla použita kolona Zorbax SB-C18 (30 x 2,0; 1,8 µm velikost částic, Algient Technologies, USA). Rychlost průtoku byla 0,7 $l \cdot min^{-1}$. Separace probíhala při teplotě 40 °C. Gradientová eluce byla v čase 0 min 98 % vodné fáze, 0,5 min 95 % vodné fáze, 0,8 min. 50 % vodné fáze, 1,8 min. 98 % vodné fáze. Složení mobilní fáze bylo acetonitril/0,3 % kyselina mravenčí. Objem nástřiku byl 1-5 µl (ředění 1:100), 1 a 2µl (ředění 1:10) pro standardní roztok. Nástřik reálného vzorku byl v rozsahu 0,5-5µl. Pro identifikaci a kvantifikaci látek je MS detektor vybaven elektosprejovou ionizací a specifické fragmenty jsou následně analyzovány pomocí kvadrupólového analyzátoru, přístroj pracoval v negativním modu. Parametry hmotnostního spektrometru byly: teplota plynu 350 °C, průtok plynu 13 $l \cdot min^{-1}$, tlak nebulizéru 50 psi, napětí na kapiláře 4000 V. Signál byl snímán v SIM modu při m/z → 463 pro delphinidin-3-glukosid a m/z → 447 pro cyanidin-3-glukosid.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Optimalizace metody zpracování vzorku

Byla provedena optimalizace různých parametrů ovlivňujících extrakční proceduru, jako je složení rozpouštědla, extrakční čas, množství vzorku a metoda extrakce. Výsledné parametry optimalizace této metody jsou podrobně popsány v části M&M. Pro optimalizaci byly použity vzorky zralých

obilek odrůd Heroldo, „ANK 28B“, UC 660 49 a nezralých obilek odrůdy *A. Arraseita*. Byly testovány dva homogenizační postupy – extrakce v laboratorní ultrazvukové lázni K-5LM (doba extrakce 60 min.) a extrakce pomocí homogenizátoru Ika Ultra-Turrax® Tube Drive (2x29 min). U všech vzorků se pracovalo s navážkami 20 mg a 50 mg. Pro obě extrakce u všech vzorků byly, jako rozpouštědla, použity vodné směsi methanolu (50: 50 v/v, 70:30 v/v, 90:10 v/v , methanol a 1,0 N HCl, 85:15 v/v). Objem solventu byl 10 ml.

Pro analýzu reálných vzorků byla vybrána extrakce pomocí homogenizátoru Ika Ultra-Turrax® Tube Drive, čas 2 x 29 min., rozpouštědlo methanol a 1 M HCl, 85:15 v/v. Navážky reálných vzorků použitých pro analýzu jsou uvedeny v *Tab. 1*.

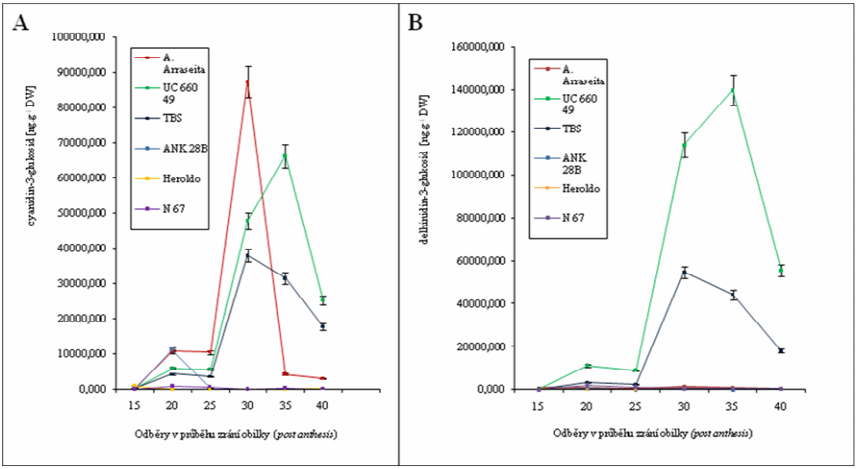
Tabulka 1. Navážky vzorků použitých pro analýzu

Odrůda	1.	2.	3.	4.	5.	6.
Heroldo	0,08 g	0,14 g	0,09 g	0,09 g	0,09 g	0,07 g
UC 660 49	0,06 g	0,09 g	0,08 g	0,09 g	0,07 g	0,07 g
A.Arraseita	0,08 g	0,07 g	0,08 g	0,05 g	0,06 g	0,08 g
TBS	0,08 g	0,08 g	0,07 g	0,07 g	0,05 g	0,05 g
ANK 28B	0,08 g	0,08 g	0,07 g	0,08 g	0,09 g	0,08 g
N 67	0,09 g	0,08 g	0,09 g	0,07 g	0,05 g	0,05 g

Změny obsahu anthokyanů v průběhu zrání obilky

U všech vzorků byl sledován obsah dvou anthokyanů (cyanidin-3-glukosid, delphinidin-3-glukosid). Při prvním odběru (15. den *post anthesis*) byly zjištěny nízké koncentrace anthokyanů u všech šesti odrůd pšenic. Ke změnám koncentrací docházelo v průběhu zrání. Odrůdy Heroldo (bílá obilka) a N 67 (červená obilka) obsahují nízké koncentrace obou sledovaných látek v průběhu celého zrání. Cyanidin-3-glukosid byl identifikován jako dominantní anthokyanin u pšenic s purpurovým perikarpem (A. Arraseita, ANK 28) a jako druhý nejčastěji se vyskytující anthokyanin u modré pšenice (UC 660 49, TBS), což odpovídá publikovaným výsledkům (Abdel-Aal, Hucl, 2003; Abdel-Aal et al., 2006; Hosseinian et al., 2008). Nejvíce zastoupeným antokyanem ve vzorcích modré pšenice je delphinidn-3-glukosid. UC 660 49 (modrý aleuron) dosahuje nejvyšších koncentrací obou sledovaných látek během 35. dne *post anthesis*, v době zralosti (40. den) však obsah anthokyanů prudce klesá. Trend poklesu je podobný u odrůdy TBS (modrý aleuron) s rozdílem, že zde je nejvyšší obsah anthokyanů zaznamenán během 30. dne *post anthesis*. Odrůdy A. Arraseita a ANK 28B (purpurový perikarp) obsahují nízké koncentrace delphinidin-3-glukosidu během celého zrání. Koncentrace cyanidin-3-glukosidu je u A. Arraseita nejvyšší během 30. dne *post anthesis*, u ANK 28 během 25. dne. U vzorků pšenic s purpurovým perikarpem je rovněž patrný trend poklesu koncentrace cyanidin-3-glukosidu v době zralosti zrna.

Graf 1. ***(A)*** *Cyanidinin-3-glukosid [ng.g^{-1} D],* ***(B)*** *Delphinidin-3-glukosid [ng.g^{-1} DW]*



ZÁVĚR

Analýze přírodních biologicky aktivních látek v rostlinném materiálu by vždy měla předcházet komplexní optimalizace použitých extrakčních technik a separačních metod. Složitost přírodních matric a stopová množství analytů v nich obsažených vyžaduje aplikaci přesných a citlivých instrumentací. V neposlední řadě je nutná znalost maximálního množství informací o struktuře matrice a lokalizaci analyzovaných látek uvnitř matrice.

Anthokyany jsou považovány za fyziologicky aktivní látky, jejichž význam v podpoře zdraví a snížení rizika chronických onemocnění je vědecky doložen. Přítomnost těchto látek v potravinových surovinách, jako jsou barevné odrůdy pšenice, může významně ovlivnit nutriční hodnotu u výsledných potravinářských produktů.

LITERATURA

Abdel-Aal el S. M et al., (2006). Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple, and red cereal grains, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54, 4696–4704.

Abdel-Aal el S. M., Hucl P., (2003). Composition and stability of anthocyanins in blue-grained wheat, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51, 2174–2180.

Barnes J. S. et al., (2009). General method for extraction of blueberry anthocyanins and identification using high performance liquid chromatography-electrospray ionization-ion trap-time of flight-mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 1216, 4728-4735

Castaneda-Ovando A. et al., (2008). Chemical studies of anthocyanins: A review. Food Chemistry, 113, 859-871

Downeya M. O., Rochfortb S., (2008). Simultaneous separation by reversed-phase high-performance liquid chromatography and mass spectral identification of anthocyanins and flavonols in Shiraz grape skin. Journal of Chromatography A, 1201, 43-47

Escribano-Bailón M. T. et al., (2004). Anthocyanins in cereals. Journal of Chromatography A, 1054, 129-141

Giusti M. M., Wrostad R. E., (2001). Anthocyanins. Characterization and measurement of anthocyanins by UV – Visible spectroscopy. Current protocols in food analytical chemistry, F1.2., 1-13

Giusti M. M., Wrostad R. E., (2003). Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems, Biochemical Engineering Journal, 14, 217–225

Hosseinian F. S et al., (2008). Measurement of anthocyanins and other phytochemicals in purple wheat. Food Chemistry, 109,916-924

Huang Z. et al., (2009). Identification of anthocyanins in muscadine grapes with HPLC-ESI-MS. Food Science and Technology, 42, 819–824

Chun Hu et al., (2007). Anthocyanin characterization and bioactivity assessment of a dark blue grained wheat (Triticum aestivum L. cv. Hedong Wumai) extract. Food Chemistry. 104, 955-961

Knievel D. C. et al., (2009). Grain color development and the inheritance of high anthocyanin blue aleurone and purple pericarp in spring wheat (Triticum aestivum L.), Journal of Cereal Science, 50, 113-120

Konczak I., Zhang W., (2004). Anthocyanins-more than nature´s colours, Journal of Biomedicine and Biotechnology, 2004**,** 239–240.

Lee J. H. et al., (2008). Characterisation of anthocyanins in the black soybean (Glycine max L.) by HPLC-DAD-ESI/MS analysis. Food Chemistry, 112, 226–231

Lee J. et al., (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study, Journal Association of Official Analytical Chemists International, 88, 1269–1278.

Liazid A. et al., (2011). Microwave assisted extraction of anthocyanins from grape skins. Food Chemistry 124, 1238–1243

Mazza G. Et al., (2004). Methods of analysis for anthocyanins in plants and biological fluids, Journal Association of Official Analytical Chemists International, 87, 129–145.

McCalluma J. L. et al., (2007). Improved high performance liquid chromatographic separation of anthocyanin compounds from grapes using a novel mixed-mode ion-exchange reversed-phase column. Journal of Chromatography A, 1148, 38–45

Pati S. et al., (2009). Rapid screening for anthocyanins and anthocyanin dimers in crude grape

extracts by high performance liquid chromatography coupled with diode array detection and tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 1216, 3864–3868

Tian Q. et al., (2005). Screening for anthocyanins using high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry with precursor-ion analysis, product-ion analysis, common-neutral-loss analysis, and selected reaction monitoring. Journal of Chromatography A, 1091, 72–82

Yang, Z, Zhai, W., (2010). Optimization of microwave-assisted extraction of anthocyanins from purple porn (Zea mays L.) cob and identification with HPLC–MS. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 11, 470–476

PREPARATION OF BIOTIN-GLUTATHIONE COATED QUANTUM DOTS

Janů L.[1], Ryvolová M.[1], Chomoucká J.[2], Drbohlavová J.[2], Hubálek J.[2], Adam V.[1], Kizek R.[1]

[1] Department of Chemistry and Biochemistry, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

[2] Department of Microelectronics, Faculty of Electrical Engineering and Communication, Brno University of Technology, Údolní 53, 602 00 Brno, Czech Republic

E-mail: libor.janu@seznam.cz

ABSTRACT

One of the fastest moving branches of nanotechnology is the use of quantum dots (QDs). QD´s unique optical properties make them an excellent in vivo and in vitro fluorescent labeles in a variety of biological investigations. Traditional molecular dyes are generally large, have broad absorption and emission profiles, low photobleaching thresholds and short lifetime. Therefore, use of traditional labeles in long term experiments can be limited. In contrast to this, QDs with the dimensions in the range of 2–10 nm have a broad absorption with narrow photoluminescence spectra, high resistance to photobleaching and high resistance to photo- and chemical degradation. Originally, QDs were synthesized by organometallic way and coated with trioctylphosphine oxide TOPO to make them biocompatible. But due to hydrophobic properties of TOPO, these QDs can not be directly applied in bioaplications. The most common method for synthesizing water-soluble QDs is by aquaeous synthesis route. QDs can be then coated with thiol containing molecules, such as mercaptopropionic acid, dihydrolipoic acid or glutathione.

In this study, we synthesized water soluble CdTe QDs coated with N-terminal biotin-glutathione. This type of coating represents a unique combination of water soluble, biocompatible QDs with biotin, which serves as specific linker able to react with avidin or streptavidin. Biotin-glutathione-QDs were prepared by one pot synthesis using sodium tellurite and cadmium chloride.

Key words: quantum dots, glutathione, biotin**.**

Acknowledgement: The work has been supported by IGA FA MENDELU 13/2011.

ÚVOD

V posledních letech nachází nanotechnologie široké uplatnění nejen v technických oborech, ale také oborech přírodních. V bioanalýze se při značení sledovaných látek s úspěchem využívají malé polovodičové částice nazvané kvantové tečky. Kvantové tečky (quantum dots, QD) jsou částice velmi malých rozměrů (2-10 nm), vyrobené nejčastěji z CdSe nebo CdTe. Vykazují vynikající fluorescenční vlastnosti. V porovnání s klasickými organickými fluorescenčními značkami jsou kvantové tečky neporovnatelně menší velikosti, mají silnější fluorescenci a delší životnost (1,5).

Vzhledem ke svému složení jsou kvantové tečky sami o sobě pro živý organismus toxické (3). Takto neupravené jsou také velmi náchylné k interakcím mezi povrchem kvantové tečky a rozpouštědlem, čímž značně klesá jejich luminiscenční schopnost, a to až na 10 – 15 % původní hodnoty (9). Další nevýhodou je jejich relativně nízká rozpustnost ve vodných roztocích. Z tohoto důvodu bylo v počátcích vývoje nejdůležitějším úkolem modifikovat povrch kvantových teček tak, aby byly netoxické, zachovaly si luminiscenční schopnosti a byly dobře rozpustné ve vodných roztocích (1, 3, 9). Výše uvedené vlastnosti jsou nutným předpokladem k jejich využití ve výzkumu živých organismů. Proto byla vyvinuta celá řada postupů, které by měly vést k odstranění toxických vlastností a lepší rozpustnosti kvantových teček. Tyto postupy zahrnovaly především povrchové úpravy. K pokrytí kvantových teček byly použity takové sloučeniny jako TOPO, mercaptoacetic acid (MAA), dihydrolipoic acid DHLA a další (1, 5, 6, 8). Účelem tohoto kroku je nejen zlepšení výše uvedených vlastností, ale také opatřit kvantové tečky funkční skupinou, na kterou by bylo možné specificky navázat další biomolekuly. Nejčastější funkční skupinou je v tomto směru aminoskupina nebo karboxylová skupina. Na takto upravené tečky lze vhodně navázat např. peptidy, proteiny nebo protilátky (2,4). Zajímavou aplikací je konstrukce biosensorů, kde se využívá komplexu kvantová tečka – peptid a interakce akceptoru a donoru fluorescence (9). Nejmodernější výzkumy se zabývají konjugací kvantové tečky na různé deriváty DNA jako např. psDNA či PNA (7,10).

Využití kvantových teček může být poměrně široké a rozmanité. Každá metoda má své výhody i nevýhody. Pro všechny aplikace však souhrnně platí, že základním předpokladem pro jejich úspěšné použití je syntéza vysoce fluorescenčních a stabilních kvantových teček.

MATERIÁL A METODIKA

Resiny pro přípravu syntetických peptidů byly zakoupeny od firmy Applied Biosystems (Česká republika), aminokyseliny pro syntézu na pevné fázi byly zakoupeny od firmy Merck (Česká republika). Rozpouštědla pro syntézu peptidů byla zakoupena od fimy Biossolve (Holandsko)

a Sigma Aldrich (Česká republika). Chemikálie potřebné na přípravu kvantových teček byly zakoupeny od firmy Sigma-Aldrich (Česká republika).

K syntéze peptidů na pevné fázi byl použit automatický syntetizátor peptidů Pioneer Peptide Synthesizer od firmy PerSeptive Biosystems (USA). Analýza čistoty peptidů byla provedena na HPLC od firmy Shimadzu (Česká republika). K analýze byly použity následující mobilní fáze: A = 0,1% TFA, B = 80% acetonitril, 20% voda a 0,08% TFA. Gradient byl od 2%B do 100% B, 15 minut. Analýzy MS byly provedeny na přístroji Ultraflex III instrument (Bruker Daltonik, Germany). 0,6 µl vzorku bylo smícháno s 2,4 µl roztoku matrix (nasycený roztok alfa-kyano-4-hydroxyskořicové kyseliny směsi voda/acetonitril 1:1, v/v). Elektroforéza byla provedena na přístroji CE (Beckman Coulter, PACE 5500).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Syntéza biotinylovaného glutathionu

Pro povrchovou úpravu kvantových teček byl zvolen biotinylovaný tripeptid glutathion (GSH). Peptid byl připraven pomocí syntézy na pevné fázi, klasickým postupným napojování aminokyselin od C-konce peptidu po jeho N-konec.

Úvodní krok syntézy byl proveden s resinem Fmoc-Gly-PEG-PS. Tento resin celkově zjednodušuje syntézu a značně redukuje riziko vedlejších reakcí, které by se jinak vyskytovaly při esterifikaci aminokyseliny při jejím navazování na resin. Resin PEG-PS je navíc svoji strukturou vhodný pro syntézu na průtočném systému jakým je Pioneer peptide synthesizer. Další tvorba peptidových vazeb cystein-glycin a gama glutamová kyselina–cystein probíhala následovně: Fmoc skupina byla odstraněna 20% roztokem piperidinu v dimethylformamide (DMF) po dobu 10 minut. Aktivace příchozí aminokyseliny probíhala pomocí 0,05 M roztoku N,N-diisopropylethylamin (DIPEA) v DMF; 0,15 g O-Benzotriazol-N,N,N',N'-tetramethyl-uronium-hexafluoro-fosfát (HBTU) a 0,03 g Hydroxybenzotriazol (HOBt). Molární poměr aminokyseliny (AK) a aktivátorů byl:

AK : HBTU : HOBt : DIPEA = 1 : 1 : 0,5 : 2.

Reakční doba byla 30 minut. Byl použit čtyřnásobný molární přebytek aminokyselin vzhledem k navážce resinu. Měřítko reakce bylo 0,2 mmol. Na N-konci glutathionu je kyselina glutamová připojena na předchozí cystein přes karboxylovou skupinu postranního řetězce. Z tohoto důvodu byl použit speciální monomer Fmoc-Glu-OtBu, který umožňuje tvorbu peptidové vazby na gama karboxylové skupině výše uvedené aminokyseliny.

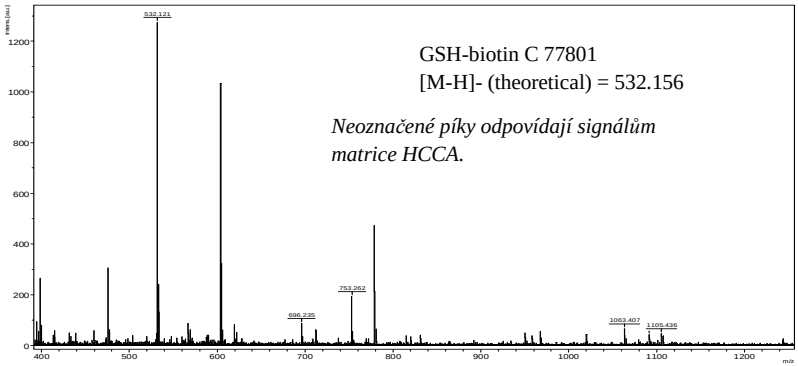
Biotinylace peptidu byla provedena manuálně na N-konci sekvence. Navážka byla 0,19 mg. Biotin byl rozpuštěn v dimetylsulfoxidu za současného mírného zahřívání roztoku pod tekoucí vodou až do úplného rozpuštění biotinu. Aktivátory a roztoky byly nadávkovány obvyklým způsobem. Roztok biotinu byl do reakce přidán manuálně. Rekce probíhala za standardních podmínek (biotin: HBTU : HOBt : DIPEA = 1 : 1 : 0,5 : 2) a času (30 minut).

Závěrečná úprava peptidu zahrnovala štěpení sekvence od resinu, štěpení chránících skupin OtBu a Trt z gama glutamové kyseliny a cysteinu, precipitaci peptidu z roztoku a jeho lyofilizaci. Především štěpení a precipitace byly v případě GSH velmi riskantní, neboť peptid obsahuje cystein, který je velmi náchylný k oxidaci. Sekvence je navíc poměrně krátká. Při předchozím pokusu syntézy samotného glutathionu se nepodařilo peptid vysrážet, takže výtěžek byl prakticky nulový. Obecně platí riziko, že právě velmi krátké peptidy bývá obtížné vysrážet z roztoku TFA a lyofilizovat.

Štěpení biotin–glutathionu probíhalo v koncentrované TFA. K potlačení vedlejších reakcí během štěpení byly zvoleny následující přídavky: voda (HPLC grade), fenol, triisopropil silan a 3,6-dioxa-1,8-oktandithiol (89:2:5:2:2). Tyto chemikálie mají za úkol eliminovat uvolněné reaktivní zbytky chránících skupin, které mohou být velmi reaktivní a modifikovat vedlejší řetězce aminokyselin a tím způsobovat tvorbu nežádoucích vedlejších produktů. Doba štěpení byla vzhledem k přítomnosti cysteinu 2 hodiny. Poté byl roztok TFA dekantován petroleterem a vysrážen dietyléterem. Ve srovnání se syntézou samotného glutathionu, vysrážení botin-glutathionu z roztoku TFA proběhlo poměrně dobře, pravděpodobně díky přítomnosti biotinu, který zvýšil molekulovou hmotnost celého peptidu.

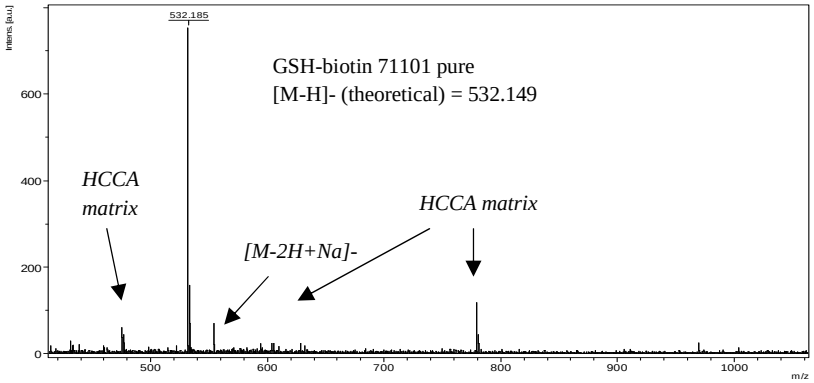
Identifikace peptidu a vedlejších produktů byla provedena na MALDI-TOF MS. Kvantifikace byla provedena na HPLC. Obě analýzy byly vzhledem k délce peptidu poměrně obtížné. Výsledek MALDI-TOF MS je na obrázku 1.

Obr.1: MALDI TOF-MS surového biotinylovaného peptidu glutathionu. Neoznačené píky odpovídají signálům matrice HCCA. Pík s relativní molekulovou hmotností 1063,407 g/mol odpovídá S-S dimeru.



Při většině MS analýz byl signál hlavního produktu potlačen v porovnání se signálem matrice a objevil se také minoritní pík disulfidického můstku. Byla proto odebrána čistá frakce biotin-GSH a podrobena analýze. Viz obrázek 2.

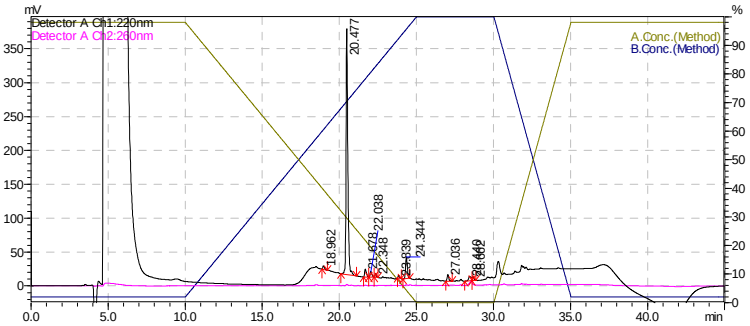
Obr.2: MALDI TOF-MS čisté frakce biotin-glutathionu.



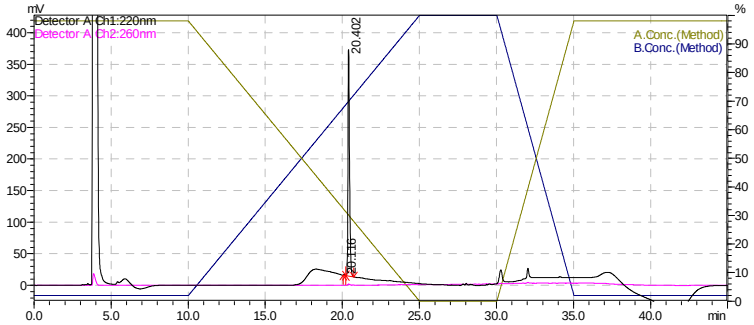
K rozpouštění vzorků pro analýzu a purifikaci byl použit DMF nebo kyselina mravenčí a následné naředění 0,1% roztokem TFA.

Z HPLC chromatogramu byla zjištěna výsledná čistota surového produktu více jak 80 %. Přečištěním se dosáhlo čistoty více jak 98 %. Viz obrázky 3 a 4.

Obr.3: HPLC chromatogram surového peptidu. V retenčním čase 4-8 minut je pík DMF.



Obr.4: HPLC chromatogram čistého peptidu. V retenčním čase 4 minuty je pík DMF, v čase 30 a 32 minut je nečistota z mobilní fáze, která není přítomna v původním peptidu.

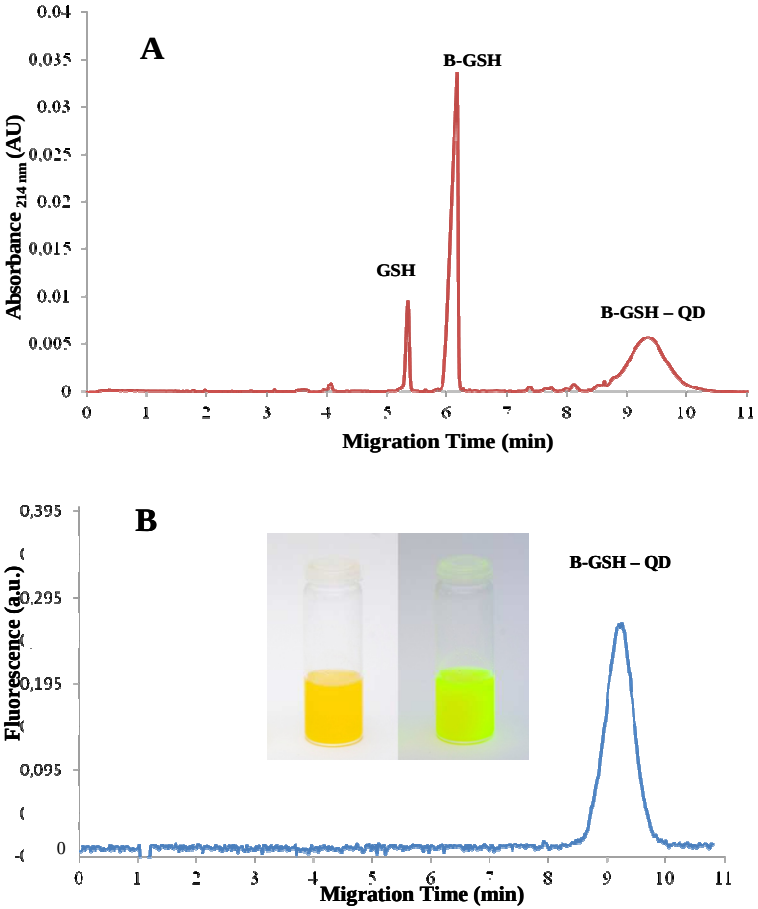


Příprava kvantových teček v prostředí vody a modifikace peptidem

Kvantové tečky byly připraveny reakcí ve vodném prostředí. Výhodou této metody je, že se provádí současně s modifikací povrchu kvantových teček. Struktura glutathionu umožňuje nekovalentní specifickou vazbu peptidu na povrch kvantových teček přes SH skupinu cysteinu. Kvantové tečky jsou tímto způsobem vybavené funkčními skupinami COOH a NH2. Takto upravená kvantová tečka je dobře rozpustná ve vodě a netoxická.

Syntézy probíhaly za následujících podmínek: 330 ul roztoku CdCl2 (0.04 mol/L) bylo zředěno 2,5 ml vody. Za stálého míchání bylo následně přidáno: 8 mg citrátu sodného, 330 mL Na_2TeO_3 (0,01 mol/L), 15 mg biotin-GSH a 3,3 mg $NaBH_4$. Reakce probíhala při teplotě 95 ºC po dobu 2,5 hodiny. Výsledkem byl žlutý koloidní roztok kvantových teček pokrytých modifikovaným peptidem. Komplex biotin-GSH-kvantová tečka byl analyzován na CE (Beckman Coulter, PACE 5500) při vlnové délce 214 nm, LIF (Ar+, λex-488 nm/λem-530 nm). Výsledný elektroferogram je na obrázku 5. Roztok modifikovaných QD pod běžným světlem (vlevo) a pod UV lampou (vpravo).

Obr.5: A) Elektroferogram biotin-GSH-QD. B) LIV detekce biotin-GSH-QD pod běžným světlem (vlevo) a UV zářením (vpravo).



ZÁVĚR

Byla provedena syntéza modifikovaného peptidu biotin-glutathion a jeho navázání na povrch kvantových teček. Současně byla provedena podrobná analýza samotného peptidu a komplexu peptid-kvantová tečka. Bylo zjištěno, že výsledná reakční směs obsahuje jak komplex kvantová tečka-peptid, tak také samotný peptid a samotné kvantové tečky. Do určité míry dochází také k agregaci kvantových teček, což může být způsobeno povrchovými defekty v důsledku syntézy. Vzhledem k těmto skutečnostem by při dalších pokusech bylo vhodné optimalizovat podmínky

syntézy a modifikace kvantových teček z důvodu eliminace agregace. K získání čisté frakce bude zapotřebí zavést metodiku purifikace komplexu peptid-kvantová tečka.

LITERATURA

1. Junling, D, et al.: One-Pot Synthesis of Highly Luminescent CdTe Quantum Dots by Microwave Irradiation Reduction and Their Hg2+-Sensitive Properties, Nano Res (2009) 2: 61-68.

2. Jing Z. et al.: Fluorescent quantum dot-labeled aptamer bioprobes specifically targeting mouse liver cancer cells. Talanta 81 (2010) 505–509.

3. Weibin, Z., et al.: Single-Pot biofabrication of Zinc Sulfide Immuno-Quantum Dots. J.AM. CHEM.SOC. 2010, 132, 4731 – 4738.

4. Aaron, R., C., et al.: Capping of CdSe–ZnS quantum dots with DHLA and subsequent conjugation with proteins. NATURE PROTOCOLS, VOL.1, NO.3, 2006, p. 1258-1256.

5. Monika B., et al.: Highly Fluorescent Streptavidin-Coated CdSe Nanoparticles: Preparation in Water, Characterization, and Micropatterning. Langmuir 2004, 20, 3828-3831.

6. Chuang, Ch., et al.:Quantum-dot-based immunofluorescent imaging of HER2 and ER provides new insights into breast cancer heterogenity. Nanotechnology 21 (2010) 095101 (6pp).

7. Ravindra, P., S., et al.:Application of peptide nucleic acid towards development of nanobiosensor arrays. Bioelectrochemistry 79 (2010) 153–161.

8. Wei, J., J., et al.: Photoactivated luminescent CdSe quantum dots as sensitive cyanide probes in aqueous solutions. Chem. Commun., 2005, 883–885 | 883.

9. Min Z., et al.:Current trends in Peptide Science - Quantum Dots and Peptides: A Bright Future Together. PeptideScience Volume 8 / Number 3, 2006, p. 325 – 338.

10. Kersten, S., R., et al.:Selective Covalent Conjugation of Phosphorothioate DNA Oligonucleotides with Streptavidin. Molecules 2011, 16, 6916-6926.

STUDY OF CADMIUM AND ZINC INTERACTION IN MAIZE

Kleckerova A.[1], Sobrova P.[1], Krystofova O.[1], Sochor J.[1], Zitka O.[1], Adam V.[1,2], Babula P.[1], Dočekalová H.[1], Kizek R.[1,2]

[1] Department of Chemistry and Biochemistry, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

[2] Central European Institute of Technology, Brno University of Technology, Technická 3058/10, 616 00 Brno, Czech Republic

E-mail: Andrea.klr@seznam.cz

ABSTRACT

Heavy metals are classified as priority pollutants monitored in environments. Heavy metals are not biodegradable, having ability to accumulate in organisms. Cadmium is one of the most toxic heavy metal ions in the environment due to its high mobility and severe toxicity to the organisms. Zinc is an essential micronutrient for plants but can be highly toxic when present at excessive concentration. We aimed at investigation of detoxification mechanisms of maize plants (*Zea mays L.)* treated with the following combinations of zinc(II) and cadmium(II) ions 0 μM Zn^{2+} + 0 μM Cd^{2+}; 100 μM Zn^{2+} + 0 μM Cd^{2+}; 0 μM Zn^{2+} + 100 μM Cd^{2+}; 10 μM Zn^{2+} + 100 μM Cd^{2+}; 50 μM Zn^{2+} + 100 μM Cd^{2+}; 75 μM Zn^{2+} + 100 μM Cd^{2+} and 100 μM Zn^{2+} + 100 μM Cd^{2+} for 10 days. In addition to growth parameters, we electrochemically determined the metal content in plants. To determine the antioxidant activity, we chose three methods FRAP, DPPH and ABTS, which differ in the spectrum of molecules with possible antioxidant activity. Pearson´s correlation coefficient was found by comparison of FRAP and ABTS methods - $r_P = 0.7967$ (Bradford) and 0.7957 (Pyrogallol Red). Pearson´s correlation coefficients indicates mutual correlation of both DPPH and ABTS methods - $r_P = 0.8292$ (Bradford) and 0.8737 (Pyrogallol Red). The highest correlation of Pearson´s coefficients was found in comparison between DPPH and FRAP methods (0.9407 – Bradford and 0.9211 Pyrogallol Red), suggesting a very high dependence of the two methods. Thus, our attention was focused on the determination of activities of alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST) and alkaline phosphatase (ALP). We were also focused on the monitoring of the GST activity. In addition, we monitored its correlation with total content of thiol compounds (-SH) measured spectrometrically using Ellman´s method. Content of thiol compounds, such as reduced (GSH) and oxidized (GSSG) glutathione, and phytochelatins (PC2, PC5) was determined by HPLC–ED. The highest values were detected at all used method treated 100 μM Zn^{2+} + 100 μM Cd^{2+} on the 10th day of cultivation.

Key words: cadmium, zinc, maize, antioxidant activity, thiol compounds

Acknowledgement: The financial support from the following project IGA FA MENDELU TP 7/2011 is highly acknowledged.

ÚVOD

Kadmium je důležitým znečišťujícím prvkem v životním prostředí, vyskytuje se jako součást zinkových rud [1,2]. Vzhledem k mnoha průmyslovým aplikacím, zejména v elektrotechnologiích, představuje kadmium jeden z nejvíce rizikových prvků. Toxicita kadmia byla popsána v mnoha publikacích, zahrnuje zejména vznik reaktivních forem kyslíku (ROS), které jsou zodpovědné za poškození biomolekul a ztrátu jejich biologických funkcí [3-5]. Kadmiem vyvolaný stres u rostlin může být charakterizován různými stresovými markery - oxidovaným/redukovaným glutathionem, fytochelatiny, nebo enzymy podílejícími se na odstraňování ROS [6,7]. Oproti kadmiu je zinek pro organismy základním biogenním prvkem. V rostlinách se zinek vyskytuje jako volný ion, nebo v komplexu s různými nízkomolekulárními sloučeninami, metalloproteiny, zabudovaný v reakčním centru enzymů a slouží jako stavební ion v transkripčních faktorech [8]. Zinek je jednou ze základních mikroživin nezbytných pro optimální růst rostlin (biosyntézu sacharidů, tvorbu chlorofylu, metabolismus auxinu, vývoj kořenů) [9,13]. Kadmium má podobné chemické vlastnosti jako zinek, ale kadmium je s kyselinami méně reaktivní a nemá žádnou biologickou roli v živých organismech. Bylo také prokázáno, že kademnaté ionty mohou být v rostlinách transportovány stejnými mechanismy, které se podílejí na absorpci zinku. V enzymech tak může dojít k výměně zinečnatých iontů za ionty kadmia, což vede ke ztrátě jejich funkce. Tento proces je považován za jeden z možných mechanismů toxicity kadmia. Nicméně, další funkce a účinky jsou stále zkoumány [14,15]. Vzhledem k této skutečnosti jsme se zaměřili na společný vliv iontů kadmia (II) a zinku (II) na rostliny kukuřice (*Zea mays L.*) CE 220. V průběhu kultivace byly sledovány nejen růstové parametry (délka nadzemní a kořenové části, jejich svěží hmotnost a sušina), ale i řada stresových markerů (oxidovaný/redukovaný glutathion, fytochelatiny, celkové thioly, antioxidační aktivita pomocí metod FRAP, ABTS, DPPH a aktivita enzymů GST, ALT, AST a ALP). Kromě toho byl také elektrochemicky stanoven celkový obsah zinku a kadmia jak v nadzemních částech rostlin, tak v kořenech, a to u všech použitých kombinací koncentrací.

MATERIÁL A METODIKA

Kultivace rostlin

Pro náš experiment jsme použili osivo kukuřice (*Zea mays L.*) CE 220 (hybrid). Pětidenní naklíčené rostliny byly umístěny do hydroponických kultivačních nádob, které byly po dobu sedmi dnů naplněny Richterovým živným roztokem. Po sedmi dnech byl obsah nádob vyměněn za roztok zinku a kadmia o těchto koncentracích: 0 μM Zn^{2+} + 0 μM Cd^{2+}, 100 μM Zn^{2+} + 0 μM Cd^{2+}, 0 μM Zn^{2+} + 100 μM Cd^{2+}, 10 μM Zn^{2+} + 100 μM Cd^{2+}, 50 μM Zn^{2+} + 100 μM Cd^{2+}, 75 μM Zn^{2+} + 100 μM Cd^{2+} a 100 μM Zn^{2+} + 100 μM Cd^{2+}. Pro přípravu roztoků iontů kovů byl použit $Zn(NO_3)_2$ a $Cd(NO_3)_2$ (Sigma-Aldrich, USA). Experiment probíhal po dobu 10 dní za konstantních podmínek

(teplota 20°C, vlhkost 65%, 12 hodin světlo). Z každé pokusné varianty bylo každý druhý den odebráno 6 rostlin, které byly opláchnuty v destilované vodě a rozděleny na část nadzemní a kořenovou. U každé části byla zjištěna svěží hmotnost (Sartorius GmbH, Goettingen, Německo), délka a sušina.

Elektrochemické stanovení celkového obsahu zinku a kadmia

Elektrochemické měření bylo provedeno na přístroji AUTOLAB (EcoChemie, Holandsko) s VA-Stand 663 (Metrohm, Švýcarsko) v tříelektrodovém zapojení, které se skládalo z visící rtuťové kapkové elektrody (HMDE) s pracovním povrchem elektrody 0,4 mm^2, argentchloridovou elektrodou (Ag/AgCl/3 $mol.l^{-1}$ KCl) jako referentní a platinovou jako pomocnou elektrodou. Koncentrace kadmia a zinku byla měřena pomocí diferenční pulzní anodické rozpouštěcí voltametrie (DPASV).

Spektrofotometrické měření

Spektrometrické měření bylo provedeno na automatickém chemickém analyzátoru BS-200 (Mindray, Čína). Stanovení celkových proteinů metodou Bradford je podrobně popsáno v publikaci [16] s použitím reagencie Coomassie Brillant Blue G-250 (0,01% Coomassie Brillant Blue G-250, 4,7% CH_3CH_2OH, 8,5% H_3PO_4, aq), které bylo pipetováno 190 µl ke vzorku o objemu 10 µl. Absorbance byla měřena při 595 nm. Ke stanovení proteinů metodou Pyrogallol Red bylo použito činidlo R1 (100 mM kyselina jantarová, 6,94 mM benzonan sodný, 0,12mM molybdenan sodný, 2,09 mm roztok šťavelanu) v objemu 200 µl a bylo přidáno 20 µl vzorku. Absorbance byla měřena při vlnové délce 605 nm.

$DPPH^{\bullet}$ test spočívá v reakci testované látky se stabilním radikálem difenylpikryhydrazylem – DPPH (1,1-difenyl-2-(2,4,6,-trinitrofenyl)hydrazyl), kdy při reakci dochází k redukci radikálu za vzniku DPPH-H. Do plastových kyvet bylo pipetováno 200 µl $9{,}5.10^{-5}$ M roztoku DPPH, následně bylo přidáno 20 µl vzorku a vše bylo pečlivě promícháno. Po dobu 25 minut byla v 15 sekundových intervalech zaznamenávána absorbance při vlnové délce 515 nm.

Metoda pomocí $ABTS^{\bullet}$ radikálu (v literatuře označovaná Trolox Equivalent Antioxidant Capacity – TEAC) je založena na neutralizaci radikalkationtu vzniklého jedno elektronovou oxidací syntetického chromoforu $ABTS^{\bullet}$ (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonátu) na radikál $ABTS^{\bullet}$ - e- $ABTS^{\bullet+}$. Do kyvety bylo pipetováno 245 µl roztoku 7 mM $ABTS^{\bullet}$ s 4,95 mM roztokem peroxosíranu draselného, poté bylo přidáno 5 µl vzorku či standardu (kyselina gallová, trolox). Absorbance byla měřena při 670 nm vlnové délky.

FRAP metoda (Ferric Reducing Antioxidant Power) je založena na redukci železitých komplexů TPTZ (2,4,6-tripyridyl-S-triazinu) a hexahydrátu chloridu železitého ($FeCl_3.6H_2O$). Do plastové kyvety bylo pipetováno 245 µl činidla a následně bylo přidáno 5 µl vzorku či standardu (kyselina gallová, trolox). Absorbance byla měřena při 578 nm a 630 nm.

Pro stanovení enzymů ALT (AST) byl použit substrát složený z 0,2 M DL-α-alaninu (L-aspartatu) a 2 mM 2-oxoglutaratu v 0,1 M fosfátovém pufru (pH 7.4), který byl přidán k 50 µl vzorku. Dále

bylo ke směsi přidáno 250 µl 2,4-dinitrophenylhydrazinu v 1 M kyselině chlorovodíkové. Měření absorbance probíhalo při vlnové délce 510 nm.

Stanovení aktivity ALP (alkalické fosfatázy) bylo provedeno smícháním 100 µl činidla R1 (0,9 M 2-amino-2-methyl-1-propanol, pH 10,4; 1,6 mM síran hořečnatý, síran zinečnatý 0,4 mM, 2 mM HEDTA) se 2 µl vzorku. Následně bylo přidáno 20 µl činidla R2 (16 mM p-nitrofenylfosfát). Absorbance byla měřena při 405 nm.

Stanovení GST (glutathion-S-transferázy) je založeno na katalyzované reakci mezi GSH a GST substrátem (1-chlor-2,4dinitrobenzen – CDNB). Ke vzorku bylo přidáno 180 µl reaktantů (2mM CDNB a PSB (1:19, v/v, 37°C)) a 30 µl 12,5 mM GSH v 0,1 M fosfátovém pufru (pH 7,4). Měření absorbance bylo provedeno při 340 nm.

Pro stanovení SH skupin byla použita Ellmanova spektrofotometrická metoda. Do kyvety bylo napipetováno 277 µl Ellmanovo činidlo (reagencie R1) (2mM 5.5'- dithiobis(2-nitrobenzoová) kyselina-DTNB v 50mM Na2(CH3COO)2), následně bylo přidáno 45 µl vzorku a následně do této směsy bylo přidáno 33 µl reagenci R2 (1 M tris CH_3COOH). Podstatou stanovení je reakce Ellmanova činidla s SH skupinami stanovované látky za vzniku ekvivalentního množství 5-thio-2-nitrobenzoové kyseliny (TNB2–). Směs byla inkubována 10 minut při 37 °C, absorbance byla měřena při λ = 405 nm. Pro výpočet bylo použito hodnoty absorbance samotné reagencie R1 a hodnoty absorbance po 10 minutové inkubaci se vzorkem.

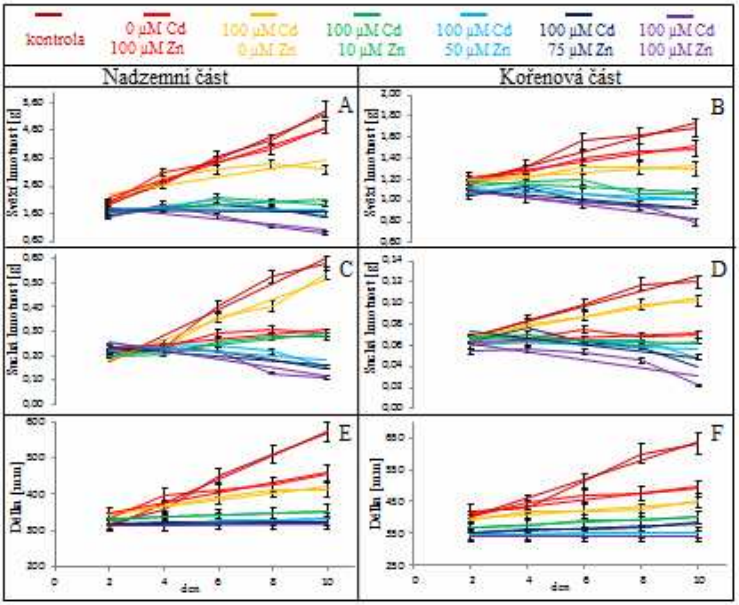
Stanovení obsahu thiolových sloučenin

Stanovení oxidovaného (GSH) a redukovaného (GSSG) glutathionu a fytochelatinů (PC2-5) probíhalo pomocí vysoko-účinné kapalinové chromatografie s elektrochmeickou detekcí (HPLC-ED). HPLC-ED systém byl složen ze dvou chromatografických pump Model 582 ESA (ESA Inc., Chelmsford, MA) (pracovní rozsah 0.001-9.999 ml min-1) a chromatografické kolony s reverzní fází Zorbax eclipse AAA C18 (150 × 4.6; 3.5 µm velikost částic, Agilent Technologies, USA) a dvanácti-kanálového CoulArray elektrochemického detektoru (Model 5600A, ESA, USA). Detektor je složen ze tří průtočných analytických komůrek (Model 6210, ESA, USA). Každá komůrka obsahuje čtyři analytické cely. Jedna analytická cela obsahuje dvě referentní (hydrogen paladiové), dvě pomocné a jednu porézní grafitovou pracovní elektrodu. Elektrochemický detektor je uložen v řídícím modulu, jehož celý prostor je termostatován. Vzorek (20 µl) byl injektován automaticky pomocí autosampleru (Model 542, ESA, USA), který má v sobě zabudován i termostatovaný prostor pro kolonu. Vzorky byly během analýzy uchovány v karuselu při teplotě 8°C. Kolona byla termostatována na 32°C. Průtok mobilní fáze byl 1 ml min-1. Mobilní fáze se skládala z A: kyseliny trifluorooctové (80 mM) a B: 100% Met-OH. Látky byly eluovány následujícím lineárně vzestupným gradientem: 0-1 min (3%B), 1->2 min (10%B), 2->5 min (30%B), 5-6 min (98 %B). Detekce separovaných látek probíhala při aplikovaném potenciálu 900mV. Doba jedné analýzy byla 20 minut.

VÝSLEDKY A DISKUZE

V naší studii jsme se zaměřili na společné účinky kadmia (II) a zinku (II) na rostliny kukuřice v následujících koncentracích: 0 μM Zn^{2+} + 0 μM Cd^{2+}; 100 μM Zn^{2+} + 0 μM Cd^{2+}; 0 μM Zn^{2+} + 100 μM Cd^{2+}; 10 μM Zn^{2+} + 100 μM Cd^{2+}; 50 μM Zn^{2+} + 100 μM Cd^{2+}; 75 μM Zn^{2+} + 100 μM Cd^{2+} a 100 μM Zn^{2+} + 100 μM Cd^{2+}. V první řadě jsme studovali vliv iontů kovů na růstové parametry – svěží/suchá hmotnost a délka nadzemních částí a kořenů. Nejvýznamnější inhibice růstu byla pozorována u rostlin vystavených kombinaci nejvyšší koncentrace Zn^{2+} a Cd^{2+} iontů (100 μM Zn^{2+} + 100 μM Cd^{2+}). Nejvyšší sklon regresní přímky byl pozorován u kontrolní skupiny jak u nadzemních částí, tak i u kořene (Obr. 1A,B). Podobná tendence byla zaznamenána i u stanovení suché hmotnosti a délky nadzemních částí a kořenů (Obr. 1C-F).

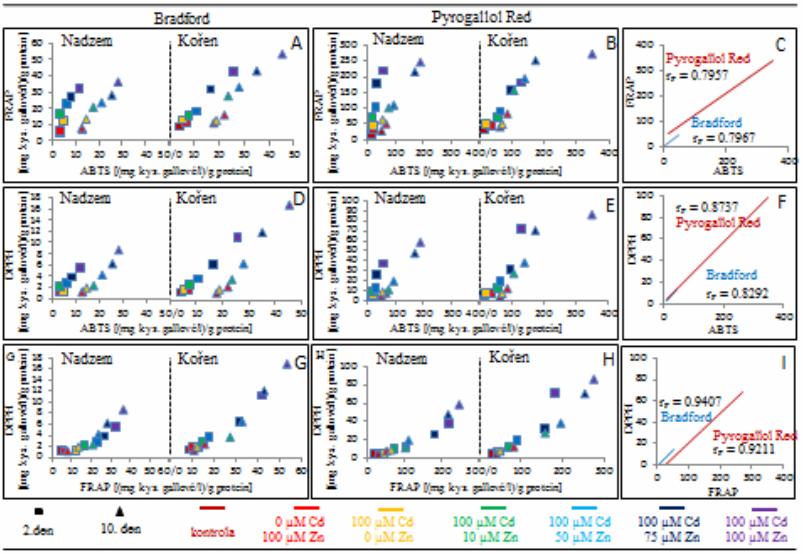
Kromě růstových parametrů, jsme elektrochemicky stanovili obsah kovů v rostlinách. Analýzou bylo zjištěno, že v průběhu experimentu docházelo u rostlin k akumulaci kovů jak do nadzemních částí, tak do kořenů. Dále bylo zjištěno, že rostliny kumulovaly více Zn^{2+} než Cd^{2+}, které jsou pro ně přijatelnější, díky svým biogenním vlastnostem. Dále byly stanoveny vyšší koncentrace iontů kovů v kořenových částech rostlin, na což má do jisté míry vliv i způsob jakým byly kovy přijímány. V našem experimentu se jednalo o hydroponický příjem kořeny. Srovnáním výsledků získaných z druhého a desátého dne experimentu můžeme říci, i přes růstovou inhibici, kterou kovy způsobují, dochází v nadzemních částech i v kořenech až k dvojnásobnému nárůstu akumulace Zn a Cd.



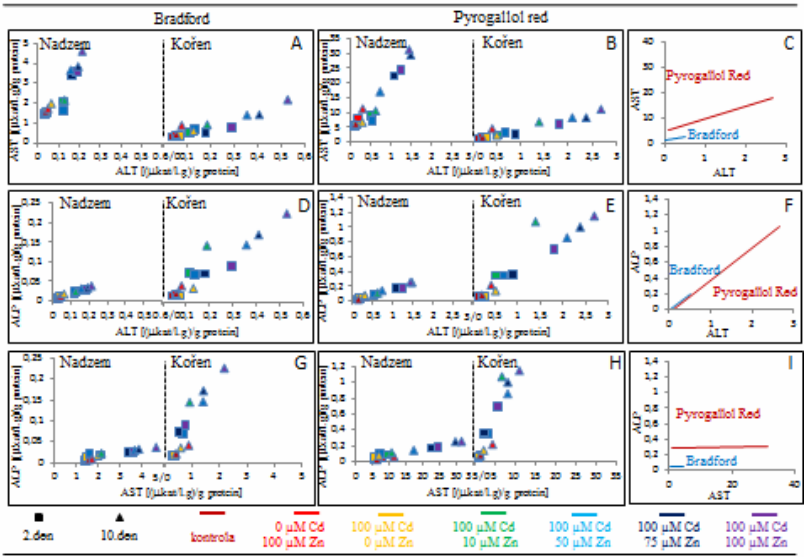
Obr. 1. Stanovení svěží hmotnosti nadzemní části (A) a kořenové části (B), suché hmotnosti nadzemní části (C) a kořenové části (D) a stanovení délky nadzemní části (E) a kořene (F).

Pro stanovení antioxidační aktivity jsme vybrali metody FRAP, DPPH a ABTS. Získané výsledky byly přepočteny na ekvivalentní množství kyseliny gallové a na 1g proteinu, které byly zjištěny metodou Bradford a Pyrogallol Red. V první řadě byly porovnány hodnoty získané pomocí FRAP a ABTS. Vyšší koncentrace kadmia a zinku vedly ke zvýšení antioxidační aktivity. Nejvyšší hodnota aktivity byla zjištěna u rostlin vystavených koncentrací 100 µM Zn^{2+} + 100 µM Cd^{2+} v 10. dni experimentu u nadzemních částí i kořenů, a to jak při přepočtu na metodu Bradford, tak Pyrogallol Red. Pearsonův korelační koeficient při srovnání metod FRAP a ABTS je r_P=0,7967 (Bradford) a 0,7957 (Pyrogallol Red) (Obr. 2A-C). Podobné výsledky byly zjištěny i při srovnání metod DPPH a ABTS, kde Pearsonův korelační koeficient byl r_P=0,8292 (Bradford) a 0,7957 (Pyrogallol Red) (Obr. 2D-F). Nejvyšší korelační koeficient byl zjištěn při porovnání metod DPPH a FRAP – r_P=0,9407 (Bradford) a 0,8737 (Pyrogallol Red) (Obr. 2G-I).

Náš experiment byl také zaměřen na stanovení aktivity alanin transaminázy (ALT), aspartát transaminázy (AST) a alkalické fosfatázy (ALP). Při srovnání aktivit AST a ALT jsme zjistili nejvyšší hodnoty ALT/AST při srovnání s kontrolními rostlinami u rostlin vystavených účinku 100 µM Zn^{2+} + 100 µM Cd^{2+} v 10. dni experimentu u nadzemních částí i kořenů, a to i při přepočtu na Bradford i na Pyrogallol Red. Tento růst koresponduje s vyšší metabolickou aktivitou. Podobné výsledky byly zjištěny i při srovnání aktivit ALP s ALT a ALP s AST (Obr. 3).

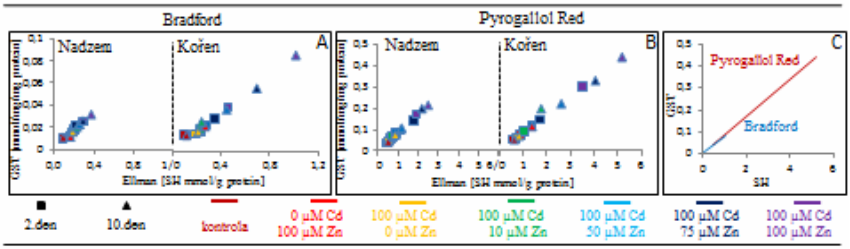


Obr. 2. A-C srovnání metod FRAP a ABTS, D-F srovnání metod DPPH a ABTS, G-I srovnání metod DPPH a FRAP.



Obr. 3. A-C srovnání aktivit AST/ALT, D-F srovnání aktivit ALP/ALT, G-I srovnání aktivit ALP/AST.

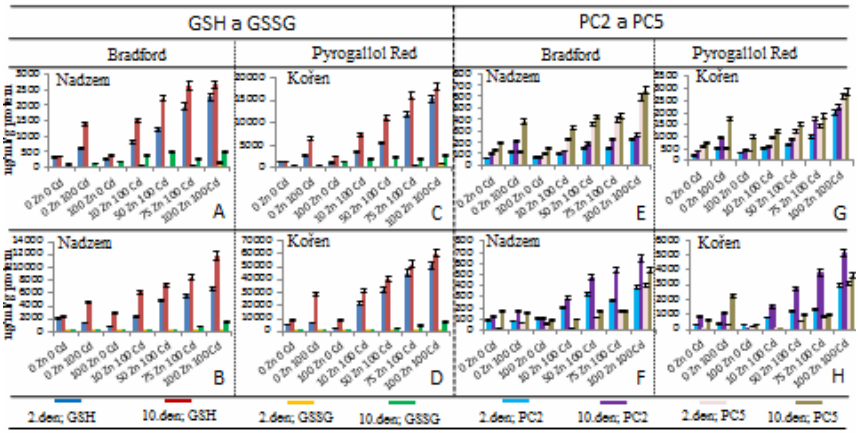
Také jsme se zaměřili na sledování aktivity enzymu GST (glutathion-S-transferáza), který hraje důležitou roli při detoxikaci xenobiotik a těžkých kovů katalyzující jejich vazbu na tripeptid glutathion [17]. Kromě toho jsme také sledovali jeho korelaci s celkovým obsahem thiolových sloučenin (-SH), zjištěných metodou dle Ellmana. Byl zde pozorován mírný nárůst hodnot aktivity GST v 10. dni experimentu. Nejvyšší hodnoty GST/SH byly pozorovány u rostlin vystavených koncentraci 100 μM Zn^{2+} + 100 μM Cd^{2+} u nadzemních částí i kořenů, a to i při přepočtu na Bradford i na Pyrogallol Red (Obr. 4A-C).



Obr. 4. A-C srovnání aktivity enzymu GST s celkovým obsahem thiolů dle Ellmana

Obsah thiolových sloučenin – redukovaného glutathionu (GSH), oxidovaného glutathionu (GSSG) a fytochelatinů (PC2,PC5) byl stanoven pomocí HPLC-ED. Významný nárůst obsahu GSH i GSSG byl pozorován mezi 2. a 10. dnem experimentu. Nejvýznamnější změny byly zjištěny u rostlin vystavených 100 μM Zn^{2+} + 100 μM Cd^{2+} (Obr. 5A-D).

Fytochelatiny PC2 a PC5 jsou zapojeny především v transportu těžkých kovů [18]. Jejich biosyntézou dochází k akumulaci těžkých kovů v cytoplazmě. Působení iontů kadmia (II) a zinku (II) vedlo ke zvýšení produkce PC2 i PC5, které bylo nejvíce patrné v 10. dni experimentu (Obr. 5E-H).



Obr. 5 A-D stanovení obsahu GSH a GSSG, E-H stanovení obsahu PC2 a PC5.

ZÁVĚR

Zvyšující se množství znečišťujících látek různého druhu a původu v životním prostředí vede organismy k aktivaci detoxikačních mechanismů. Celková inhibice růstu rostlin kukuřice, vystavených účinkům zinečnatých a kademnatých iontů, byla pravděpodobně důsledkem aktivace obranných reakcí, především díky syntéze látek na ochranu rostlin místo biosyntézy látek nezbytných pro růst. Dále je možné konstatovat, že inhibice kořenové části je pravděpodobně spojena s transportem kadmia do kořenového systému. Obsah iontů kovů v rostlině se zvyšoval s přibývající dobou kultivace. Zajímavým zjištěním v experimentu bylo, že v přítomnosti zinečnatých iontů docházelo ke zvýšenému příjmu kadmia do rostlin kukuřice.

LITERATURA

1. Fassett, D.W., *CADMIUM - BIOLOGICAL EFFECTS AND OCCURRENCE IN ENVIRONMENT.* Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 1975. 15: p. 425-435.
2. Yost, K.J., *CADMIUM, THE ENVIRONMENT AND HUMAN HEALTH - AN OVERVIEW.* Experientia, 1984. 40(2): p. 157-164.
3. Klaassen, C.D., J. Liu, and B.A. Diwan, *Metallothionein protection of cadmium toxicity.* Toxicology and Applied Pharmacology, 2009. 238(3): p. 215-220.
4. Liu, J., W. Qu, and M.B. Kadiiska, *Role of oxidative stress in cadmium toxicity and carcinogenesis.* Toxicology and Applied Pharmacology, 2009. 238(3): p. 209-214.
5. Huska, D., et al., *Effects of Cadmium(II) Ions on Early Somatic Embryos of Norway spruce Studied by Using Electrochemical Techniques and Nuclear Magnetic Resonance.* International Journal of Electrochemical Science, 2010. 5(11): p. 1535-1549.
6. Hasan, S.A., et al., *Cadmium: Toxicity and tolerance in plants.* Journal of Environmental Biology, 2009. 30(2): p. 165-174.
7. Won, E.J., et al., *Response of glutathione S-transferase (GST) genes to cadmium exposure in the marine pollution indicator worm, Perinereis nuntia.* Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology, 2011. 154(2): p. 82-92.
8. Babula, P., et al., *Pharmaceutical importance of zinc and metallothionein in cell signalling.* Chimica Oggi-Chemistry Today, 2010. 28(6): p. 18-21.
9. Takatsuji, H., *Zinc-finger transcription factors in plants.* Cellular and Molecular Life Sciences, 1998. 54(6): p. 582-596.
10. Ghandilyan, A., D. Vreugdenhil, and M.G.M. Aarts, *Progress in the genetic understanding of plant iron and zinc nutrition.* Physiologia Plantarum, 2006. 126(3): p. 407-417.
11. Broadley, M.R., et al., *Zinc in plants.* New Phytologist, 2007. 173(4): p. 677-702.
12. Ciftci-Yilmaz, S. and R. Mittler, *The zinc finger network of plants.* Cellular and Molecular Life Sciences, 2008. 65(7-8): p. 1150-1160.

13. Blindauer, C.A. and R. Schmid, *Cytosolic metal handling in plants: determinants for zinc specificity in metal transporters and metallothioneins.* Metallomics, 2010. 2(8): p. 510-529.

14. Xu, Y., et al., *Zinc, cadmium, and cobalt interreplacement and relative use efficiencies in the coccolithophore Emiliania huxleyi.* Limnology and Oceanography, 2007. 52(5): p. 2294-2305.

15. Strmecki, S., et al., *Characterization of phytoplankton exudates and carbohydrates in relation to their complexation of copper, cadmium and iron.* Marine Ecology-Progress Series, 2010. 408: p. 33-46.

16. Bradford, M.M., *A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.* Analytical Biochemistry, 1976. 72(1-2): p. 248-254.

17. Hu, T.Z., et al., *Enhanced tolerance to herbicide of rice plants by over-expression of a glutathione S-transferase.* Molecular Breeding, 2009. 24(4): p. 409-418.

18. Seregin, I., et al., *Effects of cadmium and lead on phytochelatin accumulation in maize shoots and different root parts.* Doklady Biological Sciences, 2007. 415(1): p. 304-306.

NOVEL PROSTATE CANCER TUMOUR MARKERS IN A CELL LINE MODEL

Sztalmachová M. [1], Gumulec J. [1], Cernei N.[2], Zítka O.[2], Masařík M.[1], Babula P.[3], Adam V.[1], Kizek R.[1]

[1] Department of Pathological Physiology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Komenského náměstí 2, 662 43 Brno, Czech Republic

[2] Department of Chemistry and Biochemistry Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

[3] Department of Natural Drugs, Faculty of Pharmacy, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Palackého 1–3, 612 42 Brno, Czech Republic

E-mail: j.gumulec@mail.muni.cz

ABSTRACT

To date, it is not possible to differentiate between high-risk and latent forms of prostate cancer. The aim of this study is to determine RNA and protein level of potential tumour markers in the cell lines PNT1A and 22Rv1, which represent healthy prostate tissue and high-grade prostate cancer. We determined significantly decreased level of caveolin-1 on both RNA and protein level, which is in contradiction with our previous findings regarding to its serum level in prostate cancer patients (found increased in high-grade tumours). We also determined increased level of metallothionein on RNA and protein level in tumorous tissue, which is in agreement with previous studies focused on determination of metallothionein in serum (where increased levels were observed). Moreover, we determined significantly up-regulated RNA level of zinc(II) transporters ZIP-1 and ZnT-1. Regarding ZnT-1, such changes of expression have not been described yet. These data suggest that combination of caveolin-1, metallothionein and ZIP-1 or ZnT-1 may be utilized as a tool to distinguish aggressive forms of prostate cancer from clinically latent forms. It is expected, that such diagnostic tool is to be used for the evaluation of bioptical samples, however, verification in a large follow-up set of samples is needed.

Key words: metallothionein, prostate cancer, tumour marker, bioanalysis,

Acknowledgement: Support from IGA MZ NS 10200-3 is highly acknowledged.

ÚVOD

Karcinom prostaty je nejčastěji se vyskytující nádorové onemocnění. Je alarmující skutečností, že nádorově změněné buňky se vyskytují v prostatické tkáni u téměř sta procent osmdesátníků. Prvním krokem lékaře, které vede k podezření na nádorové onemocnění, je snadno proveditelné vyšetření per rectum. Výrazný podíl nádorů není ale ozřejměn tímto vyšetřením, ale až díky stanovení prostatického specifického antigenu (PSA) v séru pacientů. Zavedení tohoto nádorového markeru do klinické praxe v průběhu devadesátých let přineslo výrazné zvýšení počtu pacientů s nově objevenými nádory prostaty, které byly vyšetřením per rectum nezaznamenatelné. Screening PSA přispěl ke snížení úmrtnosti o 20 %, jak uvádí studie zaměřená na evropská léčebná zařízení otištěná v prestižním periodiku New England Journal of Medicine [1].

Proti vysoké frekvenci tohoto onemocnění stojí ale fakt, že naprostá většina nádorů je bezpříznaková, bez vlivu na kvalitu života, nikterak neohrožující pacienta [2, 3]. Žádná ze současně používaných diagnostických metod (včetně PSA) není schopna odlišit tyto klinicky němé formy od agresivních forem. Až 80 % pacientů s tumorem prostaty je proto léčeno zbytečně, jako by mělo agresivní, život ohrožující formu nádoru [4, 5]. To vede jednak ke snížení kvality života pacienta, projevující se inkontinencí, či sexuální dysfunkcí, jednak k nezanedbatelným ekonomickým důsledkům pro zdravotnictví. Je proto velice žádoucí nalézt diagnostický postup, vedoucí k odlišení agresivních život ohrožujících forem od klinicky němých nádorů.

Cílem práce je popsat rozdíly mezi „zdravou“ prostatickou tkání a pokročilým nádorem prostaty na úrovni exprese RNA a proteinu u genů, u nichž literatura zmiňuje změnu jejich hladiny, nebo je změna hladin předpokládána. Pro práci byly vybrány geny metalothionein, caveolin-1, Ki-67, p53, NF-kB, alfa-metyl CoA-racemáza, c-FOS, c-JUN, matrixová metaloproteináza 9, a zinkové transportéry ZIP1, ZnT-1. Metalothioneiny jsou skupinou proteinů o molekulární hmotnosti 6–10 kDa s vysokým obsahem cysteinu. Metalothioneiny hrají, mimo jiné, významnou roli v ochraně buněk před oxidativním stresem, jejich funkce je proto asociována s řadou nádorových onemocnění, karcinomu prostaty nevyjímaje [6]. Alfa-metyl CoA-racemáza (AMACR) je peroxizomální a mitochondriální enzym účastnící β-oxidace větvených mastných kyselin. Zvýšení hladin tohoto proteinu je popsáno u většiny adenokarcinomů prostaty, naopak, nízké hladiny tohoto genu jsou popsány u benigní hyperplazie prostaty [7-9]. Caveolin-1 (Cav-1) je membránový protein. Hraje důležitou roli v odbourávání cholesterolu, účastní se transmembránové signalizace. Práce z posledních let zmiňují caveolin-1 v souvislosti s progresí řady nádorových onemocnění. c-Fos a c-Jun jsou protoonkogeny, účastnící se patogeneze karcinomu prostaty svým vztahem k receptoru pro mužské pohlavní hormony [10]. Tumor-supresorový protein p53 ovlivňuje

proliferaci a opravu DNA, apoptózu a odezvu buněk na růstové faktory.[11]. Zinkové transportéry jsou zkoumány pro svůj odlišný metabolismus zinku v buňkách zdravé a nádorové prostatické tkáně [6, 12-14]. Hladina zinečnatých iontů je u karcinomu snížena zejména v důsledku snížení hladiny zinkového transportéru ZIP-1. Jednou z příčin odchylného metabolismu zinkových transportérů je změna exprese jejich transkripci regulujících proteinů, vyskytující se typicky u agresivních nádorů [15, 16].

MATERIÁL A METODIKA

Analýza možných nádorových markerů byla provedena na buněčných liniích, modelech (nádorově změněné) tkáně prostaty. Nejdříve byla stanovena exprese širší řady genů na úrovní mRNA a z ní byly následně vybrány geny, u nichž bylo optimalizováno stanovení na úrovni proteinů.

Jako kontrolní buněčná linie byla zvolena PN1A, lidská linie odvozená imortalizací prostatických buněk zdravého 35letého jedince post mortem. Buněčná linie 22Rv1 reprezentuje pokročilý primární nádor prostaty. Dá se očekávat, že tato linie lépe odpovídá skutečnému tumoru než dosud používané buněčné linie karcinomu prostaty (PC-3, LNCaP, DU-145). Ty jsou totiž odvozeny z metastáz, nikoli z primárního nádoru v prostatické tkáně a mají vyšší stupeň genové variability [17]. Tyto buněčné linie byly zakoupeny u HPA Culture Collections (Salisbury, UK). Proteiny z těchto linií a z testovaných vzorků krevních sér pacientů byly izolovány pomocí RIPA pufru, mechanickou homogenizací nebo tepelnou denaturací (99 °C) získaného materiálu.

K izolaci RNA z buněčných linií byl použit High pure total RNA isolation kit (Roche, CH). Izolovaná RNA byla přepsána do cDNA pomocí Transcriptor first strand cDNA synthesis kit (Roche) dle pokynů výrobce. Real-time PCR byla provedena pomocí systému TaqMan na přístroji 7500 real-time PCR system (Applied Biosystems, USA). Výsledky byly vyhodnoceny v triplikátech komparativní Ct metodou a standardizovány vůči β-aktinu.

K detekci hladiny metalothioneinu bylo použito elektrochemické detekce [18]. Elektrochemická detekce MT se provádí na přístroji AUTOLAB Analyser v klasickém tříelektrodovém uspořádání pomocí tzv. Brdičkovy reakce. Analyzovaný vzorek je akumulován na povrch pracovní elektrody, kterou je visící rtuťová elektroda. Po akumulaci stanovení probíhá v základním elektrolytu, obsahujícím kobaltitou sůl v amonném pufru s pH 9,6 [19, 20]. K detekci caveolinu-1 bylo použito ELISA kitu (USCN Life Science Inc.) Postup ELISA byl proveden dle pokynů výrobce. Výsledek vyjádřený změnou barvy substrátu byla detekována fotometricky při 495 nm. Vzorky byly elektroforeticky separovány na 10% SDS-PAGE gelech, barvený dusičnanem stříbrným (kit BioRad, postup dle výrobce) a souběžně blotovány na nitrocelulózovou membránu a imunodetekovány pomocí specifických protilátek. Pro rychlou orientaci byly používány dot-bloty. Proti metalothioneinu (isoformě 1 a 2) byla použita polyklonální králičí protilátka (Santa Cruz biotechnology, USA), proti AMACR polyklonální králičí protilátka (Clonestar, CZ), proti PSA monoklonální myší protilátka (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, USA).

Výsledky byly vyhodnocovány v softwaru Statistica 9. K porovnání hladiny mezi kontrolní a nádorovou skupinou bylo použito t-testů. Korelační matice byly použity k nalezení souvislostí mezi testovanými veličinami. K orientaci v souboru pacientů byla provedena clusterová analýza (K-means). Hladina významnosti p = 0,05 byla stanovena pro určení signifikantně odlišné hodnoty.

VÝSLEDKY A DISKUZE

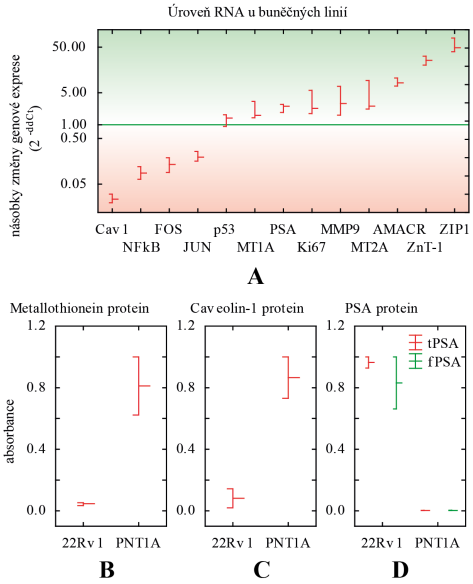
Model tkáně karcinomu reprezentuje buněčná linie 22Rv1. V této linii byla stanovena hladina potenciálních markerů tohoto onemocnění na úrovni mRNA a proteinu. Hladina mRNA je vyjádřena jako relativní násobek oproti expresi ve zdravé tkáni. Modelem zdravé tkáně je buněčná linie PNT1A.

Nejdříve byl u buněčných linií stanoven prostatický specifický antigen (jeho volná i vázaná frakce) s cílem ověřit, reprezentují-li buněčné linie nádorovou a kontrolní tkáň. Hladina tohoto genu byla u nádorové linie zvýšena jak na úrovni RNA (přibližně 2,5krát), tak na úrovni proteinu (téměř 10krát), **(obr. 1A, 1D)**. Je tedy možné předpokládat vhodnost použití buněčných linií jakožto modelů skutečného nádoru.

Ze sledovaných genů se u buněčných linií neměnila hladina mRNA p53. Literatura zmiňuje určitý podíl nádorů prostaty s mutací tohoto genu, linie 22Rv1 tedy zřejmě tuto formu nereprezentuje [3]. Na úrovni mRNA bylo detekováno statisticky významné snížení exprese genů Caveolinu-1, NF-kB, c-FOS a c-JUN. Hladina caveolinu-1 byla snížena ze sledovaných genů nejvýrazněji, jeho hladina v nádorové linii byla oproti linii zdravé snížena přibližně 50krát **(obr. 1A)**. Obdobný trend byl zjištěn také na úrovni proteinu, kde jeho hladina byla snížena téměř desetkrát **(obr. 1C)** Při analýze hladiny caveolinu-1 v séru pacientů (nepublikovaná data) jsme naopak zjistili, že jeho hladina se zvyšuje u nádorů vysokého stupně. To nasvědčuje tomu, že exprese caveolinu-1 je účastna patogeneze onemocnění a objasnění jeho vlivu je žádoucí dále zkoumat.

Výrazný pokles byl popsán také u NF-kB, proliferačně působícího faktoru. Cílem stanovení mRNA NF-kB nebylo jeho možné využití jako nádorového markeru, ale snaha o základní pochopení proliferace nádorových buněk. U těch se předpokládá spíše jeho zvýšená hladina vzhledem k jeho vlivu na podporu genové exprese. Hladina RNA genů c-FOS a c-JUN se oproti kontrole pohybovala v rozmezí 15 % a 20 %.

Významné zvýšení hladiny bylo popsáno u metalothioneinu třídy 1A a 2A (MT1A, 190 % a MT2A, 240 %). Hladina tohoto genu je zvýšena taktéž na úrovni proteinu (přibližně 0,8krát) **(Obr. 1A, 1B)**. Toto zjištění je v souladu s dříve prokázanou změnou hladiny metalothioneinu v séru pacientů [13]. Zvýšení hladin bylo dále popsáno u genů Ki-67 (200 %), MMP-9 (370 %), AMACR (840 %) a u zinkových transportérů ZIP1 a ZnT-1 (4500 % a 2500 %).



Obr. 1 Hladina sledovaných genů u buněčných linií na úrovni RNA (A) a proteinu (B-D). Popis viz text.

ZÁVĚR

Práce popisuje zvýšení hladiny metalothioneinu u buněčné linie karcinomu prostaty na úrovni RNA i proteinu. Spolu s dříve zjištěným zvýšením hladiny tohoto proteinu v séru pacientů je tak možné zdůvodnit, že původem zvýšení sérové hladiny je nádorově změněná prostatická tkáň a nikoli jiné procesy v organismu. Naopak, hladina caveolinu-1 je v nádorové prostatě snížena a v séru zvýšena pouze u pokročilého tumoru. Tato dysbalance nasvědčuje, že taktéž caveolin-1 se zřejmě podílí na patogenezi onemocnění, vliv obou genů je žádoucí dále zkoumat. Výsledky nasvědčují spíše faktu, že agresivní forma tumoru (resp. buněčná linie 22Rv1 odvozená od agresivní formy tumoru) je charakterizovatelná spíše než změnou exprese jednoho genu souborem genů, jejichž exprese se liší (ať již je zvýšena, či snížena) oproti zdravé tkáni, či oproti tumoru o nízkém stupni agresivity. Právě kombinace caveolin-1 a metalothionein (případně v kombinaci se zinkovými transportéry) se jeví jako možná kombinace hodnocení bioptických vzorků, odlišující právě agresivní formu onemocnění. Pro definitivní určení je však žádoucí provést „follow-up“ studie na reálných bioptických vzorcích.

LITERATURA

1. Schroeder, F.H., et al., *Screening and Prostate-Cancer Mortality in a Randomized European Study.* New England Journal of Medicine, 2009. **360**(13): p. 1320-1328.

2. Jamaspishvili, T., et al., *Urine markers in monitoring for prostate cancer.* Prostate Cancer and Prostatic Diseases. **13**(1): p. 12-19.

3. Wit, R.d. and C.N. Sternberg, *Cancers of the Genitourinary Tract*, in *Textbook of medical oncology*, F. Cavalli, H.H. Hansen, and S.B. Kaye, Editors. 2009, Informa Healthcare: London.

4. Študent, V., et al., *Má vyšetření PSA stále význam při vyhledávání karcinomu prostaty?* Urologie pro Praxi, 2006. **5**(5): p. 214-218.

5. Humbert, L. and M. Chevrette, *Somatic Molecular Genetics of Prostate Cancer*, in *Male Reproductive Cancers Epidemiology, Pathology and Genetics*, W.D. Foulkes and K.A. Cooney, Editors. 2009, Springer Verlag: New York, Dordrecht, Heidelberg, London.

6. Eckschlager, T., et al., *Metallothioneins and Cancer.* Current Protein & Peptide Science, 2009. **10**(4): p. 360-375.

7. Xu, J., et al., *Identification of Differentially Expressed Genes in Human Prostate Cancer Using Subtraction and Microarray.* Cancer Res, 2000. **60**(6): p. 1677-1682.

8. Evans, A., *alpha-Methylacyl CoA racemase (P504S): overview and potential uses in diagnostic pathology as applied to prostate needle biopsies.* Journal of clinical pathology, 2003. **56**(12): p. 892.

9. Rubin, M.A., et al., *alpha-methylacyl coenzyme A racemase as a tissue biomarker for prostate cancer.* Jama-Journal of the American Medical Association, 2002. **287**(13): p. 1662-1670.

10. Edwards, J., et al., *The role of c-Jun and c-Fos expression in androgen-independent prostate cancer.* Journal of Pathology, 2004. **204**(2): p. 153-158.

11. Chi, S.G., et al., *P53 IN PROSTATE-CANCER - FREQUENT EXPRESSED TRANSITION MUTATIONS.* Journal of the National Cancer Institute, 1994. **86**(12): p. 926-933.

12. Formigare, A., P. Irato, and A. Santon, *Zinc, antioxidant systems and metallothionein in metal mediated-apoptosis: Biochemical and cytochemical aspects.* Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology, 2007. **146**(4): p. 443-459.

13. Krizkova, S., et al., *Metallothionein - a promising tool for cancer diagnostics.* Bratislavske Lekarske Listy, 2009. **110**(2): p. 93-97.

14. Gumulec, J., et al., *Zinc, Metallothionein and Prostate Tumour Cells - Is There Any Relation?*, in *10th International Nutrition & Diagnostics Conference*2010: Prague, CZ. p. 46.

15. Webber, M.M., D. Bello, and S. Quader, *Immortalized and tumorigenic adult human prostatic epithelial cell lines: Characteristics and applications .2. Tumorigenic cell lines.* Prostate, 1997. **30**(1): p. 58-64.

16. Gioeli, D., *Signal transduction in prostate cancer progression.* Clinical Science, 2005. **108**(4): p. 293-308.

17. Sramkoski, R.M., et al., *A new human prostate carcinoma cell line, 22Rv1.* In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal, 1999. **35**(7): p. 403-409.

18. Adam, V., et al., *Vertebrate metallothioneins as target molecules for analytical techniques.* Trac-Trends in Analytical Chemistry, 2010. **29**(5): p. 409-418.

19. Adam, V., et al., *Application of the Brdicka reaction in determination of metallothionein in patients with tumours.* Chemicke Listy, 2008. **102**(1): p. 51-58.

20. Kizek, R., et al., *Využití katalytických reakcí na rtuťové elektrodě pro elektrochemické stanovení metalothioneinů.* Chem. listy, 2004. **98**(4).

COMPARISON OF TWO DIFFERENT PROCEDURES FOR FLUORESCENT LABELING OF DNA USED TO IDENTIFY THE ALLERGEN OF CELERY

Škultéty O., Židek R.

Department of Food Hygiene and Safety, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76, Nitra, Slovak Republic

E-mail: Orey7th@gmail.com

ABSTRACT

Two separate methods EvaGreen® and SYBRGreen® Real-Time PCR was used to detection celery (*Apium graveolens*), as an allergenic food ingredients. On the specific identification of the presence of celery in the sample was used species-specific primer designed in the gene for mannitol dehyrogenase. Different variability and specificity was observed in parallel multiple calibration samples. The result is two different assessment procedures for fluorescent labeling of DNA used to identify the allergen of celery.

Key words: *Apium graveolens*, celery, Real-Time PCR

ÚVOD

Potravinové alergény sa stávajú čoraz viac a viac sledované medzinárodným potravinovým obchodom a orgánmi pre potravinovú bezpečnosť. To poskytuje spotrebiteľovi informácie ako sa vyhnúť zdravotnému riziku spôsobenému potenciálnym alergénom v potravine **(Hupfer et al., 2007)**. Potravinová alergia je definovaná ako "hypersenzitivita zapríčinená imunologickými mechanizmami" **(Johansson et al., 2001)**. Alergia na potraviny ovplivňuje asi 3 % až 4 % dospelej populácie **(Sampson, 2004)**. Výsledok celého procesu je okamžitá alergická reakcia sprevádzaná procesom, ktorý môže mať za následok lokálne príznaky v mieste kontaktu, napr. v ústnej dutine. Môže byť spôsobená aj žalúdočno-črevná precitlivelosť s nevoľnosťou, zvracaním alebo hnačka, povrchové príznaky ako žihľavka a ekzém, dýchacie príznaky, systémové anafylaxie s kardiovaskulárnym a žalúdočno-črevnými príznakmi ktoré niekedy vedú k šoku **(Isacsson et al., 2000)**. Aj keď väčšina potravinových alergénov spôsobuje mierne reakcie, v niektorých prípadoch môžu spôsobiť ohrozenie života. Vylúčenie potraviny je momentálne jediná dostupná liečba **(Sampson, 2003)**. Aktuálne metódy používané k detekovaniu alergénov v potravinách sú hlavne ELISA, PCR a Real-time PCR **(Van Hengel, 2007; Bošiak, Židek a Golian, 2009; Bajzík et al., 2010; Revák, Židek a Golian, 2010; Zeleňáková et al., 2010)**.

MATERIÁL A METODIKA

Príprava vzoriek

Príprava vzorky zo zakúpenej hľuzy zeleru spočívala v umytí hľuzy, ošúpaní, nastrúhaní jadra hľuzy a následným sušením pri teplote 60 ° C 12 hodín. Po vysušení sme jednotlivé kúsky rozomleli mixérom na jemný prášok a zhomogenizovali 10 minút pri 10 000 otáčkach za minútu v homogenizátore (Ovidomix). Na prípravu rôznych koncentácií sme použili hladkú múku. Podobným spôsobom pripravovali vzorky aj autori **Hupfer et al. (2007)**.

Pafundo et al. (2009) pri príprave vzoriek riedili samotnú DNA, čo je v porovnaní s našou metódou síce jednoduchšie, ale pri zostavovaní kalibračnej krivky sú v tomto prípade skreslené výsledky. Zelerový prášok s múkou sme miešali desiatkovým systémom riedenia nasledovne: 0,5 g vzorky zeleru na 4,5 g hladkej múky. Vzorky sme vážili na analytických váhach s presnosťou na 3 desatinné miesta. Po navážení sa vzorky dokonale premiešali za pomoci Vortexu (Biosan) približne 1 minútu. Takýmto spôsobom sme pripravili 9 riedení od 100% kontrolnej vzorky (vzorka čistého zelerového prášku) až po vzorku s obsahom zeleru 0,000001%. Všetky hodnoty sú uvedené v tabuľke č.1.

Názov vzorky	Obsah zeleru vo vzorke [%]
vzorka 1	100
vzorka 2	10
vzorka 3	1
vzorka 4	0,1
vzorka 5	0,01
vzorka 6	0,001
vzorka 7	0,0001
vzorka 8	0,00001
vzorka 9	0,000001
Neg. kontrola	0

Tabuľka č. 1 Navážka vzoriek

Extrakcia DNA

Extrakciu DNA zo vzoriek sme robili za pomoci komerčného kitu určeného na gonomickú purifikáciu DNA z potravín NucleoSpin®Food (Macherey-Nagel, Suise) podľa priloženého protokolu.

Primery

Na detekciu prítomnosti zeleru vo vzorke sme použili primery na detekciu manitol dehydrogenázy (GenBank, Accession No. AF067082). Primery sme použili od autorov **(Dovičovičová et al., 2004)**. Autori navrhli primery celF 5´-CAGCCTGTTTCCCGTACGAGAT-3´ a celR 5´-TGCCAAATAAAGATTCGAGATTGT-3´. Primery boli navrhnuté a otestované programom Primer Express software (Applied Biosystem) s teoretickou teplotou topenia okolo 60 ° C. Primery boli otestované s nehomologickými DNA sekvenciami iných rastlín použitím softvéru Blast 2.1 (National Center for Biotechnology Information, Bethesda,Md., USA),**(Jurčáková et al., 2011)**.

PCR reakcia

EvaGreen® Real-Time PCR

Reakčná zmes na jednu vzorku pre PCR v celkovom objeme 20 µl bola pripravená z 10µl Fast EvaGreen® qPCR Master Mix (Biotium), 6 µl bidestilovanej H_2O, 2 µl templátovej DNA a primermi celF a celR po 1 µl, tak ako to stanovuje výrobca v užívateľskom manuáli.

Komponenty PCR reakcie	Koncentrácia zásobného roztoku	Koncentrácia použitého roztoku
Fast EvaGreen® qPCR Master Mix	2x	1x
celF	10 pmol/µl	0,50 pmol/µl
celR	10 pmol/µl	0,50 pmol/µl

Tabuľka č. 2 Zloženie Fast EvaGreen® mastermixu pre vzorku

SYBRGreen® Real-Time PCR

Reakčná zmes na jednu vzorku pre PCR v celkovom objeme 20 µl bola pripravená z 2 µl SYBRGreen I, 0,8 µl SYBR $MgCl_2$, 13,2 µl SYBR H_2O, 2 µl templátovej DNA a primermi celF a celR po 1 µl, tak ako to stanovuje výrobca v užívateľskom manuáli.

Komponenty PCR reakcie	Koncentrácia zásobného roztoku	Koncentrácia použitého roztoku
SYBRGreen I	10x	1x
SYBR $MgCl_2$	25 mM	1 mM
celF	10 pmol/µl	0,50 pmol/µl
celR	10 pmol/µl	0,50 pmol/µl

Tabuľka č. 3 Zloženie SYBRGreen® mastermixu pre vzorku

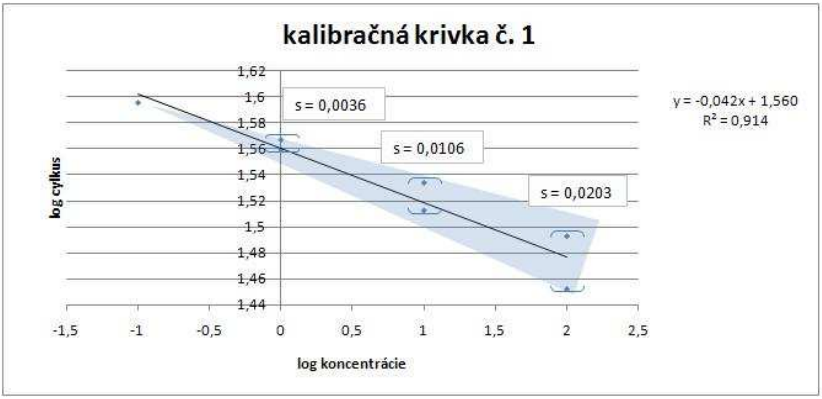
PCR reakcia bola zahájená počiatočnou denaturáciou prebiehajúcou pri teplote 95 ° C po dobu 5 minút a následne v 40 cykloch (EvaGreen® Real-Time PCR) a v 50 cykloch (SYBRGreen® Real-Time PCR) tieto 3 kroky: denaturácia pri 94 ° C po dobu 30 sekúnd, annealing pri 59 ° C po dobu 30 sekúnd, polymerizácia pri 72 ° C po dobu 1 minúty po ktorej nasledovalo meranie fluorescencie. V ďalšom kroku nasledovala konečná polymerizácia pri 72 ° C po dobu 8 minút po ktorej prebiehal melting pri teplote 95 ° C s následným ochladeným na 65 ° C s výdržou 15 sekúnd. Real-Time PCR prebiehala v prístroji LightCycler 1,5 (Roche). Analýza vzoriek bola vykonaná v programe LightCycler Software 4.05 pomocou procedúry „Absolute Quantification“ a „Tm Calling“. Získané dáta boli spracované do tabuliek v programe EXCEL 2007.

VÝSLEDKY A DISKUZE

V tabuľke číslo 4 môžeme vidieť porovnanie detekčného limitu rovnakých vzoriek dvomi rozdielnymi metódami. Pri EvaGreen bol detekčný limit 0,1 % a pri SYBRGreen 1 %.

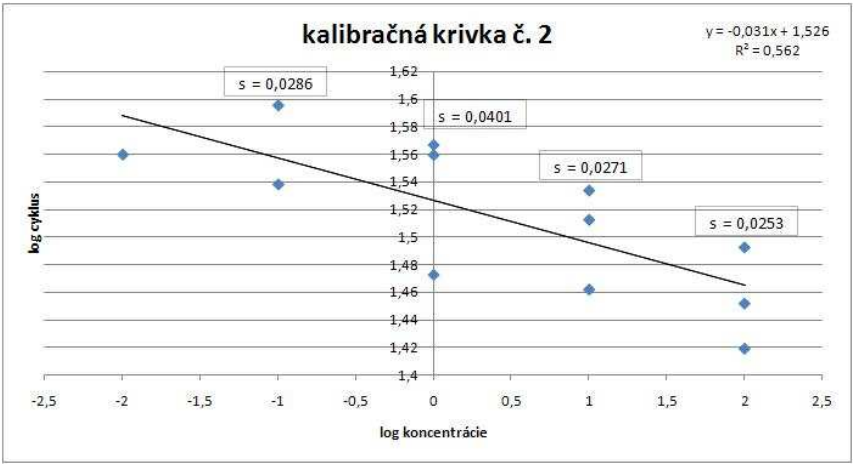
Obsah zeleru vo vzorke [%]	**EvaGreen® Real-Time PCR**	**SYBRGreen® Real-Time PCR**
100	+	+
10	+	+
1	+	+
0,1	+	-
0,01	-	-
0,001	-	-
0,0001	-	-
0,00001	-	-
0,000001	-	-
0	-	-

Tabuľka č. 4 Identifikácia detekčného limitu



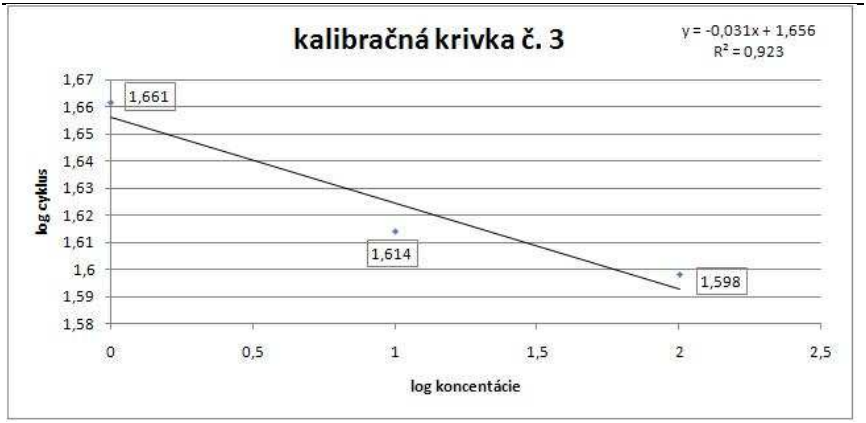
Obrázok č.1 Kalibračná krivka detekcie zeleru - EvaGreen® Real-Time PCR

Na osi x sú logaritmované hodnoty koncentrácie zeleru vo vzorke a na osi y je logaritmus cyklu v ktorom vzorka prekročila nešpecifické pozadie. Na základe koncentrácie PCR produktu v jednotlivých cykloch sme zostavili kalibračnú krivku, ktorej smerodajné odchýlky sa znižujú od 100% čistej kontrolnej vzorky smerom k riedenej 0,1% vzorke zeleru. Z toho vyplýva, že keď stanovujeme v detekčnom limite (Do 0,1%) vzorku, najmenšia odchýlka bude pri najviac riedenej vzorke a naopak najväčšia je pri 100% čistej kontrolnej vzorke zeleru. Dochádza však ku kalibračnej chybe pri paralelných vzorkách. Determinačný koeficient je vysoký z čoho vyplýva že regresná rovnica je vhodná na predpovedanie hodnoty y s percentom pravdepodobnosti 0,956.



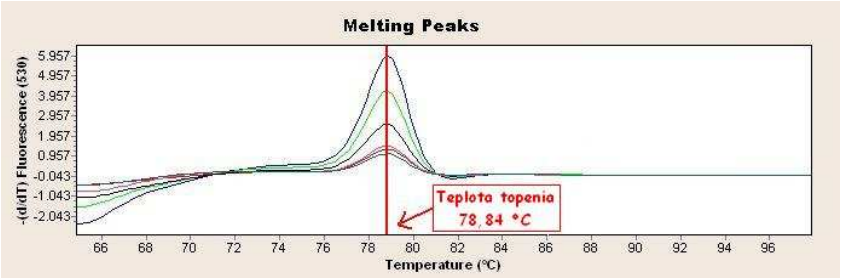
Obrázok č. 2 Kalibračná krivka detekcie zeleru - EvaGreen® Real-Time PCR

Veľká variabilita, ktorú môžeme sledovať na obrázku č. 2 spôsobuje, že pri opakovaných vzorkách sa síce dá vytvoriť kalibračná krivka, avšak má malú spoľahlivosť. Smerodajné odchýlky sú rozdielne, najvyššia je však pri hodnote 0, čiže pri 1% koncentrácií zeleru vo vzorke. Pri hodnote 2, čiže vzorke s koncentráciou zeleru 100% je smerodajná odchýlka najnižšia. Determinačný koeficient dosahuje hodnotu 0,5627, čiže percento pravdepodobnosti je 0,749 a daná regresná rovnica sa nedá používať paušálne, teda vždy musíme pri detekcii použiť aspoň jednu kalibračnú vzorku, aby sme mohli určiť tvar kalibračnej krivky z ktorej si potom môžeme zostaviť regresnú rovnicu na základe ktorej budeme predpovedať hodnoty y.

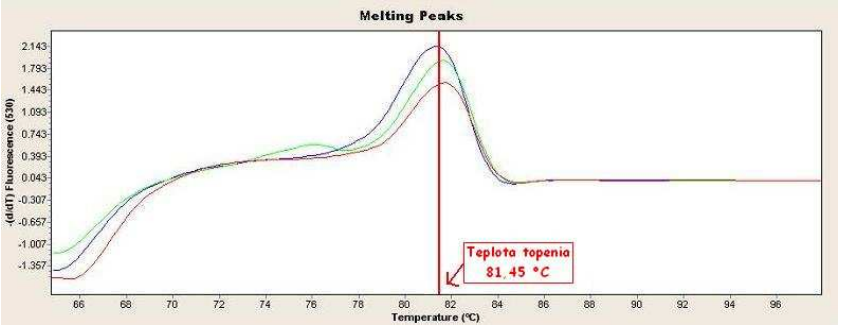


Obrázok č. 3 Kalibračná krivka detekcie zeleru - SYBRGreen® Real-Time PCR

Determinačný koeficient má hodnotu 0,923 z čoho vyplýva že regresná rovnica je vhodná na predpovedanie hodnoty y s percentom pravdepodobnosti 0,960.

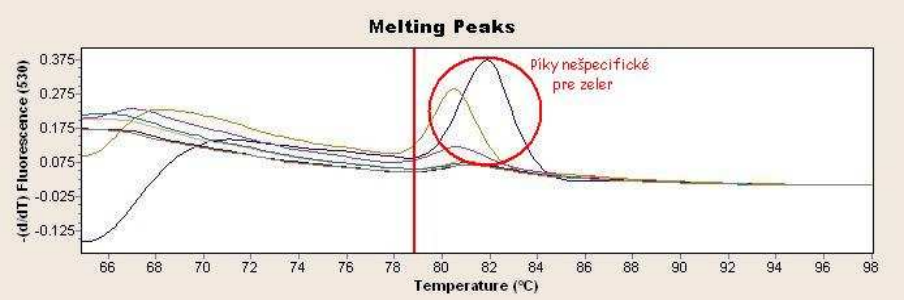


Obrázok č. 4 Krivky topenia EvaGreen® Real-Time PCR



Obrázok č. 5 Krivky topenia SYBRGreen® Real-Time PCR

Na týchto obrázkoch jasne vidíme krivky topenia fragmentu špecifického pre zeler. Na osi x je teplota a na osi y derivácia fluorescencie. Pri EvaGreen® Real-Time PCR je teplota topenia fragmentu 78,84 ° C a pri SYBRGreen® Real-Time PCR je teplota topenia fragmentu 81,45 ° C. Pri porovnaní týchto dvoch priemerných hodnôt teploty zisťujeme u každej metódy iné hodnoty topenia zelerového fragmentu pri použití rovnakých primerov. **Wu et al. (2010)** uvádzajú teplotu topenia špecifického zelerového fragmentu 67,8 ° C pri využití SYBRGreen® Real-Time PCR s použitím iných primerov. Intenzita fluorescencie je najvyššia pri vzorke so 100% obsahom zeleru a postupne klesá pri vzorkách s nižším obsahom zeleru vo vzorke. Na základe intenzity fluorescencie by sa mohol zeler vo vzorke kvantifikovať, tak ako to vo svojich prácach uvádzajú autori **Pafundo et al. (2009)** a **(Wu et al., 2010)**, avšak táto metóda je len orientačná a na základe nej nemôžeme stanoviť presný obsah zeleru vo vzorke.



Obrázok č. 6 Krivky topenia 2 EvaGreen® Real-Time PCR

Na obrázku č. 6 pozorujeme nešpecifické pozadie u vzoriek s nízkou koncentráciou DNA zeleru (0,01 % a nižšej), ktorých teplota topenia sa výrazne líši od teploty špecifickej pre zeler a tým pádom nevieme touto metódou identifikovať vzorky s koncentráciou zeleru nižšou ako 0,1 %. **Dovičovičová et al. (2004)** vo svojej práci, zameranej na dôkaz zeleru za pomoci PCR s vizualizáciou na gély uvádzajú rovnaký detekčný limit s použitým rovnakých primerov. **Wu et al. (2010)** sa zameriavali na SYBR®Green Real-Time PCR s použitým iných primerov ako my a ich detekčný limit pri surovom zeleri bol 0,001 % a pri tepelne ošetrených vzorkách 0,01 %.

Hupfer et al. (2007) použili na stanovenie detekčného limitu Taqman™ sondu a dokázali identifikovať zeler vo vzorke s koncentráciou 0,001 %.

ZÁVĚR

Alergické reakcie na potraviny vyplývajú z nárastu imunitných odpovedí na glykoproteínové zložky prítomné v potravinách a predstavujú častý zdravotný problém. Zeler je uznaný ako jeden z hlavných potravinových alergénov, ktoré môžu byť prítomné v potravine a z uvedeného dôvodu musí byť jeho prítomnosť označená. Na to aby mohla byť zložka potravín kvantifikovaná je

potrebné zostrojiť kalibračnú krivku. Pre získanie kalibračnej krivky boli použité vzorky s rôznym podielom zelerového prášku vo vzorke. Môžeme konštatovať, že primerový pár špecifický pre prítomnosť zeleru navrhnutý autormi **Dovičovičová et al. (2004)** je schopný korektne detegovať prítomnosť prímesi zeleru len do koncentrácie 0,01 %. Pri nižšom zastúpení zeleru vo vzorke primerový pár nešpecificky reaguje a vytvára iné produkty.

LITERATURA

BAJZÍK, P., GOLIAN, J., ŽIDEK, R., ČAPLA, J., BELEJ, Ľ., ONDREJKA, M., MRÁZOVÁ, Ľ., MARŠÁLKOVÁ, L. 2010. Methods for fish species identification in food products, In Potravinarstvo, vol. 4, 2010, no. 2, p. 1-5.

BOŠIAK, M., ŽIDEK, R., GOLIAN, J. 2009. Soy quantification on food products by real-time polymerase chain reaction. In Potravinarstvo, vol. 3, 2009, no. 1, p. 3-5.

DOVIČOVIČOVÁ, L. et al. 2004. Polymerase chain reaction (PCR) for detection of celery (Apium graveolens) in food. In *Eur Food Res Technol*, vol. 218, 2004, p. 493-495

HUPFER, CH., WAIBLINGER, H.U., BUSCH, U. 2007. Development and validation of a real-time PCR detection method for celery in food. In *Eur Food Res Technol*, vol. 225, 2007, p. 329-335

ISACSSON, J. et al. 2000. Rapid and specific detection of PCR products using light-up probes. In *Molecular and Cellular Probes*, vol. 14, 2000, p. 321-328

JOHANSSON, S. et al. 2001. A revised nomenclature for allergy. In *Allergy*, vol. 56, 2001, p. 813-824

JURČÁKOVÁ, A., REVÁK, O., ŠKULTÉTY, O. 2011. Molecular – genetics methods for the determination of celery (Apium Graveolens) as an allergen in food. In *Potravinárstvo*, vol. 5, 2011, no. 2, p. 134-136

PAFUNDO, S., GULLI, M., NELSON, M. 2009. SYBR®GreenER™ Real-Time PCR to detect almond in traces in processed food, In *Food Chemistry*, vol. 116, 2009, p. 811-815

REVÁK, O., ŽIDEK, R., GOLIAN, J. 2010. Lupina biela ako nová hrozba pre alergikov a jej stanovanie pomocou optimalizovanej PCR reakcie. In Food Hygiene and Technology 40th Lenfeld s and Hokls Days, Brno, s. 155-158 ISBN 978-80-7305-121-1

SAMPSON, H. A. 2003. Anaphylaxis and emergency treatment. In *Pediatrics*, vol. 11, 2003, p.1601-1608

SAMPSON, H. A. 2004. Update on food allergy. In *J Allergy Clin Immunol*, vol. 113, 2004, p.805-819

VAN HENGEL, A. J. 2007. Food allergen detection methods and the challenge to protect food-allergic consumers. In *Anal Bioanal Chem*, vol. 389, 2007, p.111-118

WU, Y. et al. 2010. SYBR Green Real-Time PCR used to detect celery in food. In *Journal of AOAC international*, vol. 93, 2010, no. 5, p. 1530-1536

ZELEŇÁKOVÁ, L., ŽIDEK R., ČANIGOVÁ, M., POULOV, J., GALLICOVÁ, T. 2010. Evaluation of Elisa method to detection of cow-lactoglobulin in sheep milk and sheep milk products. In Potravinárstvo, vol. 4, 2010, no. 4, p. 80-84

CREATING MUTANT LIBRARY OF THE MAIZE β-D-GLUCOSIDASE Zm-p60.1

Turek D.[1], Filipi T.[1, 2], 1Mazura P.[1], Brzobohatý B.[1]

[1] Laboratory of Plant Molecular Biology, Institute of Biophysics AS CR, v.v.i. and Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

[2] CEITEC – Central European Institute of Technology, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: dusanturek@seznam.cz

ABSTRACT

At the molecular level, plants use hormone systems to achieve an optimal inner environment for their development and growth. The concentration of plant hormones (like cytokinins) is maintained by enzymes. In our laboratory, we use the maize (*Zea mays*) β-D-glucosidase Zm-p60.1 that is involved in regulation of many important processes in plant growth and development. These processes can be changed slightly with mutated forms of Zm-p60.1. Protein engineering offers a means to create variants of this enzyme. These variants have changed substrate specificity towards either natural (*trans*-zeatin-*O*-β-D-glucopyranoside, *cis*-zeatin-*O*-β-D-glucopyranoside) or artificial substrates (*p*-nitrophenyl-*O*-β-D-glucopyranoside, 4-methylumbelliferyl *O*-β-D-glucopyranoside). This work deals with generating a mutant library of Zm-p60.1. Based on the previous description of the mutant W373K and bioinformatics analysis of seven plant enzymes similar in sequence to Zm-p60.1 the position 373 was chosen as suitable for combinatorial amino acid mutations.

Key words: β-D-glucosidase, *E.coli* transformations, mutant library

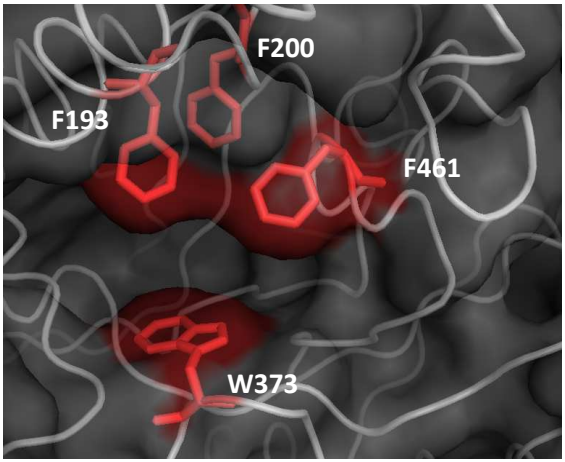
Acknowledgement: This project was supported by grant nos. LC06034 (Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic), P305/11/P768 (to PM) from the Czech Science Foundation, AV050040507 and AV0Z50040702 from the Academy of Sciences of the Czech Republic. This work was supported by the project CEITEC – Central European Institute of Technology (CZ.1.05/1.1.00/02.0068) from the ERDF.

Access to the MetaCentrum computing facilities provided under the program "Projects of Large Infrastructure for Research, Development, and Innovations" LM2010005, funded by the Ministry of Education, Youth, and Sports of the Czech Republic, is highly appreciated.

ÚVOD

Hladiny aktivních hormonů (cytokininy) ovlivňují vývoj rosltin. Jedním z enzymů, který dokáže uvolňovat aktivní cytokininy z neaktivních forem, je β-D-glukosidasa Zm-p60.1. Různé mutantní varianty enzymu Zm-p60.1 mají odlišnou substrátovou specificitu vůči přírodním (*trans*-zeatin-*O*-β-D-glucopyranoside, *cis*-zeatin-*O*-β-D-glucopyranoside) či umělým (*p*-nitrophenol-*O*-β-D-glukopyranosid) substrátům. A právě tyto mutantní varianty mohou na molekulární úrovni fungovat jako nástroje sloužící k jemným změnám rostlinného metabolismu.

Okolí aktivního centra β-D-glukosidasy obsahuje určité uspořádání aminokyselin (klastr), jež interaguje s aglykonem substrátu. Klastr se skládá z aminokyselin F193, F200, W373 a F461 (Dopitová et al, 2008) (*Obr. 1)*. Prostorové uspořádání klastru bylo porovnáno s dalšími podobnými rostlinnými β-D-glukosidasami, přístupnými v databázi Carbohydrate-Active enZYmes Database (CAZy, www.cazy.org/) (Henrisat et al., 1997). Na základě již dříve charakterizovaného mutanta W373K a provedené strukturní analýzy byla vytvořena kombinatorická mutageneze enzymu Zm-p60.1 v pozici W373. Naším cílem je vytvořit mutantní knihovnu a následně charakterizovat mutanty vykazující aktivitu na umělýcha přirozených substrátech.



Obr. 1 – Pohled do okolí aktivního centra enzymu Zm-p60.1. Červeně je vyznačen klastr aminokyselin zprostředkující klíčové interakce se substrátem.

MATERIÁL A METODIKA

Bioinformatická analýza vycházela ze vzájemného porovnání struktur sedmi rostlinných β-D-glukosidas (Glycoside Hydrolase family 1 – GH1) a Zm-p60.1 pomocí programu PyMOL (The PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.3, Schrödinger, LLC.). Vlastní mutageneze byla provedena za použití kitu QuikChange Lightning Multi Site-Directed Mutagenesis Kit. V původní DNA sekvenci pro Zm-p60.1 byl posunut čtecí rámec v pozici 373 (primer: 3'-ggaggataccctttaggtcctagatgtacatgggactcccg-5'). Takto vytvořený templát byl ověřen sekvenováním. Templát byl zmutován na pozici 373. Knihovna mutantů byla vytvořena jedním primerem o sekvenci 3'-gggaggataccctttaggtNNMtagatgtacatgggactcccg-5'. Po PCR reakci byla ve směsi specificky rozštěpena methylovaná templátová DNA. Mutované templáty byly do chemokompetentních *E.coli* XJb. Kolonie byly selektovány na agarových miskách obohacených o ampicilin a chromogenní substrát 5-bromo-4-chloro-idolyl-*O*-β-D-glukopyranosidem (XGlc*p*).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Ze strukturního srovnání sedmi rostlinných β-D-glukosidas GH1 rodiny se Zm-p60.1 vyplývá, že aminokyseliny na pozicích 193, 200 a 461 v klastru jsou variabilní. Trytofan odpovídající pozici 373 v Zm-p60.1 je u všech enzymů jak strukturně tak sekvenčně zachován (*Tab. 1*).

Organismus	PDB ID:	Pozice aminokyseliny			
Zea mays	1hxj	**F 193**	**F 200**	**W 373**	**F 461**
Sorghum bicolor	1v02	V 196	L 203	W 376	S 462
Triticum aestivum	2dga	F 198	H 205	W 379	S 464
Secale cereale	3aiu	F 198	H 205	W 379	G 464
Sinapis alba	1e4m	R 194	D 201	-	N 466
Oryza sativa subsp. *Japonica*	3gno	Q 185	Q 192	W 366	A 453
Trifolium repens	1cbg	N 190	F 197	W 369	D 455
Rauvolfia serpentina	2jf7	N 214	F 221	W 388	N 474

Tab. 1 Soupis rostlinných β-D-glukosidas z GH1 rodiny. Aminokyseliny a odpovídající pozice v řetězci jsou vztáhnuty vzhledem ke klastru v Zm-p60.1 (červeně).

Na pozici 373 lze vytvořit 18 z 20 možných aminokyselin pomocí jednoho speciálně navrženého primeru. V sekvenci primeru je kodon s degenerací NNM, jež ale nepokrývá aminokyseliny methionin a tryptofan. Tryptofan se nachází v této pozici přirozeně. Odstraněním tryptofanu z knihovny mutantů je zabráněno vzniku původní formě enzymu. Na základě počtu genetických variant, jichž je 32, a Poissonova rozdělení lze odhadnout minimální velikost knihovny (počet kolonií určených k sekvenování) tak, aby výběr kolonií statisticky pokryl z 95% všech 32 genetických variant. Velikost knihovny byla určena dle vztahu (Patrick et al., 2003):

$$L = -V \ln\left(\frac{\ln p}{V}\right)$$

kde p – pravděpodobnost s jakou chceme pokrýt všechny varianty (0,95),

V – velikost knihovny (32), L – výsledná velikost knihovny.

Ze zvolených parametrů činí vypočítaná velikost knihovny 206 kolonií. Jedním z klíčových kroků tvorby knihovny je přenos mutantní DNA směsi (po provedení PCR) do chemokompetentních *E.coli*. Tento krok se ukázal v našem případě kritickým. Z teoretického rozboru je známo, že požadovaná minimální velikost knihovny je 206 kolonií. Doposud se povedlo získat celkem 19 kolonií. Je předpokládáno, že nízká výtěžnost je způsobena především špatným nasedáním primeru na DNA templát. Samotná degenerace zavedená kodonem NNM v primeru pravděpodobně způsobuje nepříliš dobrou hybridizaci s templátem, a tím se tedy snižuje možnost vzniku mutované DNA. Celý proces tvorby knihovny lze usnadnit navržením i druhého komplementárního primeru, což je předmětem současného řešení problému. Dalším limitujícím bodem je samotný DNA templát a schopnost bakterií přijímat tuto DNA. Kombinatorická knihovna byla vytvořena z DNA templátu, který má posunutý čtecí rámec β-D-glukosidasy v pozici 373. Templát nese označení W373_DEL. Porovnáním transformační účinnosti (počet kolonií na µg použité DNA) použité mezi DNA (WT = Zm-p60.1) a W373_DEL byl nalezen výrazný rozdíl (*Tab. 2*). Templát W373_DEL, použitý při PCR reakci, přijímá kmen *E.coli* XJb daleko hůře než WT. Jednou z nejpravděpodobnějších příčin je, že delece (pouze jedné báze) pozměnila nativní konformaci DNA W373_DEL natolik, že do *E.coli* hůře proniká. Aby DNA lépe pronikala do *E.coli*, nabízí se možnost změnit faktory, které ovlivňují schopnost kompetence *E.coli*. Jedním z faktorů je teplota růstu či složení média. Doposud byl vyzkoušen vliv teploty, kdy kultivace probíhala při nižší teplotě (30°C a 25°C) vůči standardu (37°C). Snížení teploty růstu bakterií vedlo ke zvýšení kompetence, která však byla nestejnoměrná pro WT (47x vyšší kompetence) a W373_DEL (3,8x vyšší kompetence). Efektivita transformační účinnosti expresního kmene *E.coli* XJb byla porovnána s DH5α, což je kmen upraven speciálně pro klonovací účely. DH5α mají řádově vyšší transformační účinnost, nicméně nejsou ideální pro vyhledávání aminokyselinových variant v knihovně. V DH5α totiž neprobíhá příliš velká exprese proteinu.

Následujícím krokem bude vyzkoušení dalšího faktoru (složení média) vedoucí ke zvýšení přijímání mutované DNA z PCR reakcí. Popřípadě přejít z transformace na elektrotransformaci, kde je obecně vyšší výtěžnost, ale i náročnější přístrojové vybavení.

	Počet kolonií / µg DNA		
Kmen *E.coli* - druh DNA	37°C	30°C	25°C
XJb - WT	2 500	3 600	170 000
XJb - W373_DEL	1 500	1 500	5 800
DH5α - WT	-	-	9 000 000

Tab. 2 Porovnání transforomační účinnosti E.coli kmenů XJb a DH5α kultivovaných za různých podmínek (teplota 37°C, 30°C a 25°C). Pro transformaci byla použita různá DNA (WT, W373_DEL).

ZÁVĚR

Cílem této práce je vytvořit a charakterizovat kombinatorickou knihovnu Zm-p60.1 mutovaného ve vybrané pozici 373. Aby byly pokryty s 95% pravděpodobností všechny genetické varianty (celkem 32), musí knihovna obsahovat po transformaci mutované DNA minimálně 206 kolonií. V současné době bylo získáno 19 kolonií. Malá výtěžnost se vysvětluje špatnou hybridizací jednoho mutantního primeru na templát DNA při PCR reakci. Snaha vyřešit tento problém je zaměřena na navržení druhého komplementárního primeru, což by mělo vést ke zvýšení počtu mutantních DNA po PCR reakci. Další krokem je optimalizace přípravy chemokompetentního kmene *E.coli* XJb použitého při transformaci mutantní DNA knihovny. V současné době se podařilo snížením kultivační teploty zvýšit transformační účinnost 48x v případě WT DNA a 3,8x v případě templátové DNA (W373_DEL). Dalším krokem může být přechod na elektrotransformaci ze současné teplotní transformace teplotním šokem.

LITERATURA

Dopitová R., et al (2008): Functional analysis of the aglycone-binding site of the maize β-glucosidase Zm-p60.1. FEBS J., 275:6123-6135

Henrissat B., Davies G. J, (1997): Structural and sequence-based classification of glycoside hydrolases. CURR. OP. STRUCT. BIOL., 7:637-644

Patrick M. W., et al (2003): User-friendly algorithms for estimating completeness and diversity in randomized protein-encoding libraries. PROTEIN ENGINEERING, 16: 451-457

ANALYSIS OF POLYPHENOLICS IN VITICULTURAL MATERIAL

Roblová V., Bittová M., Kubáň V.

Department of Chemistry, Faculty of Science, Masaryk University, Kotlářská 5, 611 37 Brno, Czech Republic

E-mail: roblovavendula@gmail.com

ABSTRACT

Presented study is focused on the comparison of inherency and content of selected polyphenolic compounds in real samples of grape vine (Vitis vinifera) using capillary zone electrophoresis (CZE). The analyzed materials were milled grape seeds, stalks and leaves of two vine cultivars - Veltlínské zelené and Zweigeltrebe. In sample pretreatment, solid-phase extraction (SPE), supercritical fluid extraction (SFE) and/or liquid-liquid extraction (L-L) in dependence on the sample nature were used. The goal of this work was to compare the inherency and content of selected polyphenolic compounds in different plant samples of white and red vine cultivars.

Comparison of individual analysis indicated that the highest content of the polyphenolic compounds was in grape seeds and the lowest in leaves. In case of milled grape seeds, coarser milling resulted in higher amount of identified analytes while in analysis of fine grinding seeds we observed lower analyte representation. These observations could relate with SPE column efficiency and unsuffient matrix removing. Also, higher amount of polyphenols was found in Zweigeltrebe samples, it means in the red vine cultivar than in white Veltlínské zelené cultivar. This fact was observed in both stalks and leaves samples. Finally, it was found that the amount of studied polyphenols in stalks and leaves also increased in relation with grape maturing.

Key words: polyphenolic compounds, capillary electrophoresis, viticultural materials

ÚVOD

Polyfenolické látky jsou přírodní látky obsažené v téměř každé vyšší rostlině, kde plní především funkci sekundárních metabolitů. Pro jednotlivé druhy rostlin se struktura a vlastnosti těchto látek liší. V posledních letech se tyto látky stávají středem pozornosti jak vědců z oborů medicíny, biologie, biochemie, ekologie, lesnictví nebo agronomie, tak odborníků na výživu. Již delší dobu je znám jejich pozitivní vliv na zdraví člověka, především v oblasti kardiovaskulárních onemocnění.

Vysoké množství polyfenolů je obsaženo ve slupkách vinných hroznů, z kterých se tyto látky dostávají do vína. Jedním z úkolů této práce byla analýza výskytu vybraných polyfenolických látek také v jiných částech rostliny vinné révy, například ve stoncích a listech. Pro měření byla použita kapilární zónová elektroforéza, která je spolu s vysoce účinnou kapalinou chromatografií (HPLC) jednou s nejvyužívanějších metod v analýze polyfenolických látek.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Z polyfenolických látek byly pro optimalizaci separačních podmínek, extrakčních postupů a následnou analýzu reálných vzorků byly vybrány tyto analyty: resveratrol, epikatechin, rutin, kyselinu ferulová, myricetin, kvercetin a kyselinu galová. Koncentrace připravených standardů v 50 % methanolu byla 0,5 $mg.ml^{-1}$.

Tab. 1. Označení vzorků z Vinařské oblasti Velké Bílovice, vinařství Skoupil.

stonky	charakteristika	listy	charakteristika	semínka	charakteristika
S1	Veltlínské zelené [a)]	L1	Veltlínské zelené [a)]	M1	Lehce drcená semínka
S2	Veltlínské zelené [b)]	L2	Veltlínské zelené [b)]	M2	Hrubě mletá semínka
S3	Veltlínské zelené [c)]	L3	Veltlínské zelené [c)]	M3	Jemněji mletá semínka
S4	Zweigeltrebe [a)]	L4	Zweigeltrebe [a)]	M4	Jemně mletá semínka
S5	Zweigeltrebe [b)]	L5	Zweigeltrebe [b)]	M5	Komerční moučka VITIS
S6	Zweigeltrebe [c)]	L6	Zweigeltrebe [c)]	-	

a) Sběr I. Délka letorostů (stonků) 25 cm. b) Sběr II. po odkvětu, délka letorostů (stonků) 50 cm. c) Sběr III. před zaměkáním hroznů, délka letorostů (stonků) 50 až 70 cm.

Vzorky stonků a listů ze sběru I. až III. byly rozstříhány na kousky o délce 2-3 cm, vysušeny do konstantní hmotnosti a rozemlety nejprve nožovým a poté kladívkovým mlýnkem. Dále byl navážen 1 g pevného mletého vzorku a ten byl extrahován po dobu 2 hodin ve 20 ml 50% methanolu v ultrazvukové lázni při teplotě 30°C.

Dále byla provedena centrifugace po dobu 15 min při 5000 otáčkách/min, aby byla z roztoku oddělena pevná část vzorku. Získaný supernatan byl filtrován přes filtry s velikostí pórů 0,45 µm. Takto připravené vzorky byly zmrazeny a uchovávány při teplotě -10°C.

Pro odstranění matrice byla pro vzorky hroznových semínek vybrána extrakce kapalina – kapalina, 10 ml vzorku bylo 10 minut vytřepáváno s 10 ml diethyletheru. Poté byl oddělený extrakt odpařen do sucha a rozpuštěn v 1,5ml 50% methanolu. Stonky byly zpracovány stejným postupem, ale objem vzorku a rozpouštědla použitý pro extrakci byl 5 ml. Na úpravu vzorků listů vinné révy byla použita SPE extrakce. Pro SPE extrakci byly použity kolonky Strata-X s 200 mg sorbentu C-18. Prvním krokem extrakce byla promytí kolonky 2 ml 100% MeOH a 2 ml destilované vody, poté byl nanesen 1,5 ml vzorku, který byl promyt 2 ml 5% MeOH. V posledním kroku byl vzorek eluován 100% MeOH. Po celou dobu extrakce byla průtoková rychlost 0,8 ml za minutu.

Jednotlivá měření byla prováděna na přístroji CE 3D Agilent Technologies. Byla použita nepokrytá křemenná kapilára efektivní délky 40 cm s průměrem 75 µm. Jako základní elektrolyt byl použit 17 $mmol.l^{-1}$ tetraboritan sodný s 10 % přídavkem methanolu. Kapilára byla termostatována na teplotu 25°C, separace probíhala při napětí 15 kV a vzorek byl dávkován tlakem 20 mbar po dobu 5 sekund.

VÝSLEDKY A DISKUZE

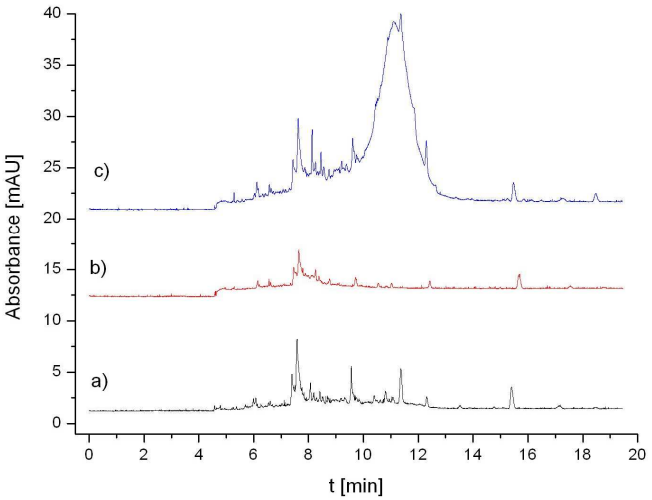
Jako první byly měřeny vzorky hroznových semínek. V této sadě vzorků se i přes nízký obsah, podařilo identifikovat největší množství hledaných analytů. Také bylo zjištěno, že jemnost mletí zpracování vzorků má vliv na zjištěné množství polyfenolických látek. V porovnání s jemně namletými vzorky bylo u vzorků drcených hroznových semínek možné identifikovat největší počet analytů. Důležitým krokem při analýze těchto vzorků byla kapalinová extrakce, díky níž byl odstraněn nežádoucí vliv matrice na separaci a usnadněno určení analytů viz *Graf 1*.

Identifikace analytů byla provedena přídavkem roztoků jednotlivých standardů ke vzorku. Dalšími kroky při identifikaci bylo porovnávání migračních časů separovaných analytů se standardy a porovnání absorpčních spekter separovaných analytů se spektry standardů. Největší množství analytů bylo identifikováno ve vzorku hroznových semínek M1 viz *Graf 2*. Identifikované analyty ve vzorcích hroznových semínek byly kvantifikovány metodou přídavku standardu. Koncentrace jednotlivých analytů v prvním přídavku byla 0,01 $mg.ml^{-1}$ a ve druhém 0,02 $mg.ml^{-1}$. Jejich obsah ve vzorcích hroznových semínek je uveden v *Tabulce 2*

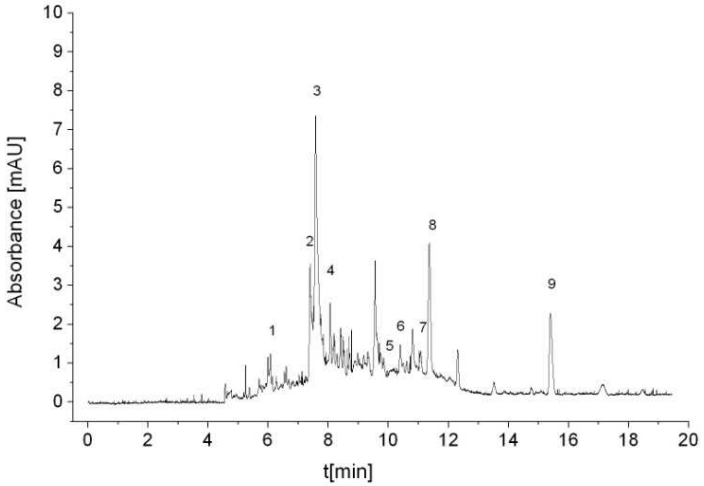
Tab. 2. Obsah jednotlivých analytů ve vzorcích hroznových semínek

analyt	**M1**	**M2**	**M3**	**M4**	**M5**
	µg/ml	µg/ml	µgm/l	µg/ml	µg/ml
tras-resveratrol	**6,9**	**5,0**	---	---	**12,0**
katechin epikatechin	**78,6**	**114,5**	**60,5**	**43,4**	**27,6**
rutin	N/A	**12,5**	**46,7**	**15,1**	N/A
kyselina ferulová	N/A	N/A	N/A	---	N/A
kyselina p-kumarová	N/A	---	---	---	---
myricetin	N/A	---	---	N/A	---
kvercetin	N/A	---	---	N/A	---
kaempferol	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
kyselina galová	**14,9**	**90,1**	**16,5**	**15,2**	**12,7**

N/A = analyt pod limitem kvantifikace, --- = neidentifikovaný analyt.

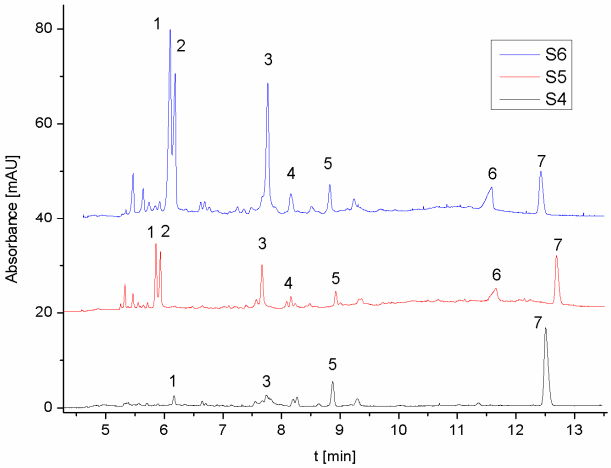


Graf 1. Porovnání metod na úpravu vzorků hroznových semínek: a) vzorek M1 po L-L extrakci, b) vzorek M1 po SPE extrakci, c) vzorek M1 bez úprav.



Graf 2. Identifikace analytů ve vzorku hroznových semínek M1, 1 resveratrol, 2 katechin, 3 epikatechin, 4 rutin, 5 kys. ferulová, 6 kys. p-kumarová, 7 myricetin, 8 kvercetin, 9 kys. galová.

Dalším bodem práce byla analýza stonků vinné révy. Stonky se rozdělují podle stáří na jednoleté, dvouleté nebo staré dřevo. Jednoleté dřevo patří k nedřevnatým zeleným částem rostliny, ale asi v polovině léta začíná i tato část dřevnatět. Na jednoletém dřevě vyrůstají v uzlech květy, z kterých se po odkvetení tvoří hrozny. Vzorky tvořily stonky bílé odrůdy Veltlínské zelené a stonky červené odrůdy Zweigeltrebe, které byly odebírány ve 3 fázích během růstu a zrání hroznů.

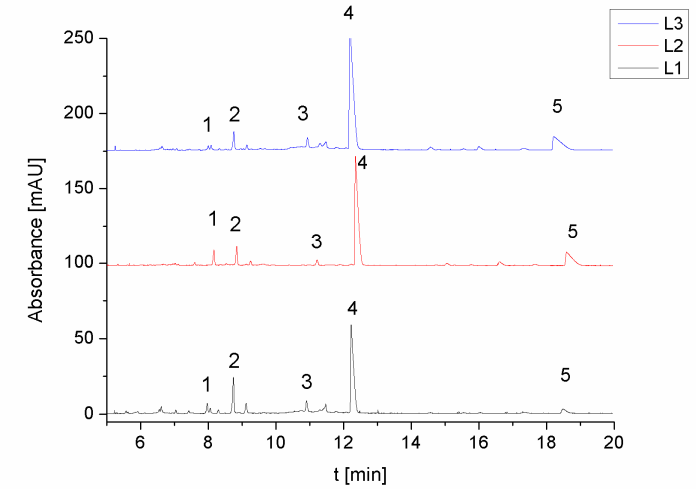


Graf 3. Porovnání elektroforeogramů vzorků stonků odrůdy Zweigeltrebe, 1 cis-resveratrol, 2 trans-resveratrol, 3 katechin/epikatechin, 4 rutin, 5 kys. ferulová, 6 kvercetin, 7 kvercetin glukuronid.

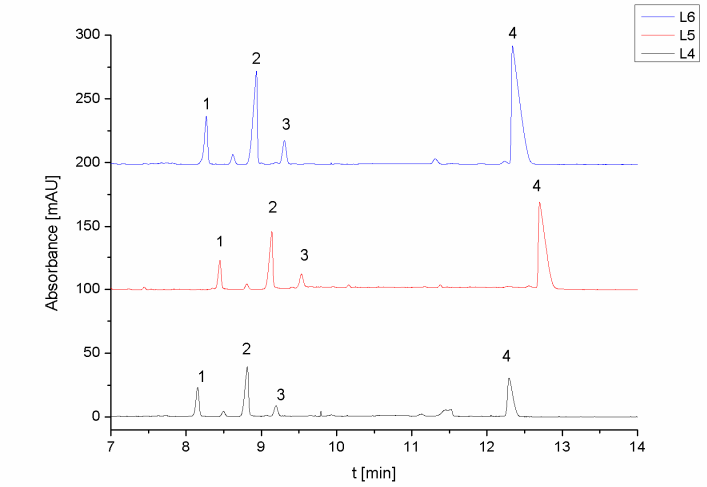
Za výše uvedených separačních podmínek se nepodařilo separovat katechin a epikatechin, proto jsou v uvedených elektroforeogramech uváděny jako jeden pík s migračním časem 7,76 minut. Ve vzorcích se podařilo identifikovat dalších šest zástupců polyfenolických látek. Majoritně zastoupenými analyty zde byly resveratrol, v obou svých formách, katechin/ epikatechin a analyt, který byl později pomocí LC-MS identifikován pravděpodobně jako kvercetin glukuronid.

Při porovnání vzorků ze sběrů během zrání hroznů, můžeme pozorovat nárůst počtu i obsahu hledaných analytů viz *Graf 3*. S prodlužující se délkou stonků a se zráním hroznů se zvyšoval i obsah polyfenolických látek ve vzorcích stonků vinné révy. U všech vzorků ze sady červené odrůdy Zweigeltrebe byl celkový obsah polyfenolů až dvakrát vyšší než u vzorků odrůdy Veltlínské zelené, kde byl majoritním analytem katechin/epikatechin a opět kvercetin glukuronid.

Poslední sadu vzorků tvořily listy vinné révy, u kterých bylo opět porovnáváno zastoupení a obsah polyfenolických látek mezi červenou a bílou odrůdou vinné révy, a také během zrání hroznů. Při porovnání elektroforeogramů byl zjištěn téměř stejný počet píků polyfenolických látek u obou odrůd viz *Graf 4, 5*. Při analýze vzorků listů vinné révy se opět nepodařilo separovat epikatechin a katechin, proto jsou tyto analyty uváděny, jako jeden pík s migračním časem 7,89 minut viz *Graf 4*. Dominantní složkou ve vzorcích listů byl analyt identifikovaný jako kvercetin glukuronid, který byl identifikovaný ve všech vzorcích listů u obou odrůd vinné révy.



Graf 4. Porovnání elektroforeogramů vzorků listů odrůdy Vetlínské zelené, 1 katechin/epikatechin, 2 rutin, 3 kvercetin, 4 kvercetin glukuronid, 6 kyselina kávová.



Graf 5. Porovnání elektroforeogramů vzorkůh listů odrůdy Zweigeltrebe, 1 katechin/epikatechin, 2 rutin, 3 kyselina ferulová, 4 kvercetin glukuronid.

ZÁVĚR

První část práce byla věnována úpravě rostlinných vzorků. Bylo třeba najít postup zpracování pro jednotlivé sady vzorků tak, aby bylo možné identifikovat co největší množství hledaných analytů ve vzorcích. Vzorky byly připraveny extrakcí v ultrazvukové lázni a na jejich další úpravu byly použity tři rozdílné extrakční techniky, extrakce pevnou fází, extrakce kapalina- kapalina a nadkritická fluidní extrakce. U SFE extrakce, byly použity známé postupy extrakce používané při analýze polyfenolických látek v slupkách hroznových bobulí. Tyto postupy však nebyly pro vzorky vhodné, použitím SFE nebylo dosaženo očekávaných výsledků. Byla by nutná optimalizace parametrů SFE a proto metoda nebyla dále používána. Pro vzorky listů vinné révy byla nejlepší metodou pro úpravu SPE extrakce. U vzorků hroznových jader a stonků docházelo při SPE ke ztrátám analytů, pravděpodobně v důsledku zanášení extrakční kolonky matricí vzorku. Pro vzorky hroznových jader a stonků byla jako metoda pro úpravu vzorků vybrána extrakce kapalina-kapalina.

V druhé části práce bylo úkolem identifikovat co největší počet polyfenolických látek a porovnat jejich výskyt a obsah v jednotlivých sadách vzorků. Nejvíce analytů bylo identifikováno v sadě vzorků hroznových jader, byly zde zastoupeny jak jednoduché polyfenolické kyseliny tak zástupci skupiny flavonoidů. Ve vzorcích stonků a listů byl detekován pík s migračním časem 12,24 minut, který nebylo možné identifikovat přídavkem roztoku standardu. Tato látka byla identifikována metodou LC-MS pravděpodobně jako kvercetin glukuronid. Tato látka byla ve všech vzorcích listů v majoritním zastoupení. Dalšími analyty identifikovanými v listech byly rutin, kvercetin, katechin a epikatechin.

U vzorků stonků se výrazně lišilo zastoupení resveratrolu. Obsah resveratrolu ve vzorcích narůstal od S1 po S6, kde bylo jeho množství největší. Dále byl ve všech vzorcích stonků identifikován rutin, kyselina ferulová, kvercetin a kvercetin glukuronid. Kvantifikace vybraných polyfenolických látek ve vzorcích stonků a listů metodou přídavku standardu nebyla dosud provedena.

Při porovnání kvantitativních charakteristik píků stanovovaných analytů, ve vzorcích stonků a listů lze říct, že obsah polyfenolů je celkově vyšší ve vzorcích odrůdy červeného vína Zwiegeltrebe než u vína bílého (Veltlínské zelené). Srovnáním výsledků lze také konstatovat, že se obsah polyfenolických látek během dozrávání hroznů zvyšuje nejen v hroznech, ale také v dalších částech vinné révy jakými jsou stonky a listy.

LITERATURA

PERES, R. G., et al. Multivariant optimization, validation, and aplication of capillary electrophoresis for simultaneous determination of polyphenols and phenolic acids in Brazilian wines. *J. Sep. Sci*. 2009, 32, s. 3822-3828.

DOBIÁŠOVÁ, Z.; PAZOUREK, J.; HAVEL, J. Simultaneous determination of trans-resveratrol and sorbic acid in wine by capillary zone electrophoresis. *Electrophoresis* . 2002, 23, s. 263-267.

KUBÁŇ, P.; ŠTĚRBOVÁ, D.; KUBÁŇ, V. Separation of phenolic acids by capillary electrophoresis with indirect contactless condutometric detection. *Electrophoresis* . 2006, 27, s. 1368-1375.

MATĚJÍČEK, D., et al. Application of solid-phase extraction for determination of phenolic compounds in barrique wines. *Anal Bioanal Chem*. 2003, 377, s. 340-345.

CHAFER, A., et al. Supercritical fluid extraction and HPLC determination of relevant polyphenolic compounds in grape skin. *J. Sep. Sci*. 2005, 28, s. 2050-2056.

DE RIJKE, E., et al. Analytical separation and detection methods for flavonoids. *J. Chromatogr A*. 2006, 1112, s. 31-63.

NICOLAOU, I. N.; KAPNISSI-CHRISTODOULOU, C. P. Analysis of polyphenols using capillary zone electrophoresis : Determination of the most effective wine sample pre-treatment method. *Electrophoresis*. 2010, 31, s. 3895-3902.

A NOVEL METHOD FOR ANALYSIS OF PLANTS' RESISTANCE TO HEAVY METALS

Zitka O.[1], Krystofova O.[1], Sobrova P.[1], Zehnalek J.[1], Beklova M.[1], Adam V.[1], Kizek R.[1]

Department of Chemistry and Biochemistry, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: zitkao@seznam.cz

ABSTRACT

Nowadays many less developed countries has many problems concerning about pollution in environment caused by heavy metals as cadmium, lead or mercury. The main aim of this work was to optimize method for determination of activity of main plant protective mechanism against the heavy metals. Sulphur rich peptides phytochlatins (PC´s) are physiologically active compounds because they are able of immobilization of the toxic heavy metal directly in the plant. Most occurring of PC´s is phytochelatin$_2$ (PC-2) which is synthesized by phytochelatin synthase (PCS). We focused on developing of the method based on high performance liquid chromatography coupled with electrochemical detector (HPLC-ED) for determination of PC-2 because it might serve as suitable tool for determination of phytochelatin synthase activity. PCS is the best activated by cadmium ions. We used a model with BY-2 tobacco cells. We conducted the *in vivo* 3 day cultivation experiment where BY-2 cells were treated by various concentrations of cadmium. We then homogenized the cells and immediately analyzed the extracts by optimized HPLC-ED method. Moreover we observed that with higher concentrations of applied cadmium there was increasing of amount of PC-2.

Key words: phytochelatin synthese, coulometric detection, phytochelatin 2, heavy metals

Acknowledgement: The work has been supported by IGA FA MENDELU 2/2011.

INTRODUCTION

There is no doubt that heavy metals are occurring in the environment partially due to increasing anthropogenic activities as coal mining or heavy industry is. Especially in less developed countries the landscape is suffering from contamination of growing soil and ground water. Once the heavy metal pollution is demanding of specific area it is wery complicated to dispose it. One of most elegant approach is to employ bioremediation approaches. When the plants with high biomass increment are grown on the demanded place the metal pollution could be very ecologically liquidated. Heavy metals are toxic for both plants and animals [1-3], but plants could avoid the reactive oxygen species generation much effectively than animals. That's because plants owns special biochemical mechanism of creation of phytochelatins. Plant stress peptides as phytochelatins has polymer structure (PC; a basic formula $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-Gly}$ (n = 2 to 11)) [4-7]. Phytochelatins can bind heavy metal ions via –SH groups of cysteine units very effectively and consequently transport them to vacuole [5-9], thereby toxicity of the metal is decreased. Biosynthesis of Phytochelatins is catalyzed by γ-Glu-Cys dipeptidyl transpeptidase (EC 2.3.2.15), which has been named as phytochelatin synthase (PCS) [10-11]. The mechanism of the creation of polymer structure of higher PC´s than PC_2 applied in case of biosynthesis of PC-3,4 or 5 but every time a GSH is donor and PC is an acceptor of γ-Glu-Cys dipeptide (details see in Fig. 1).

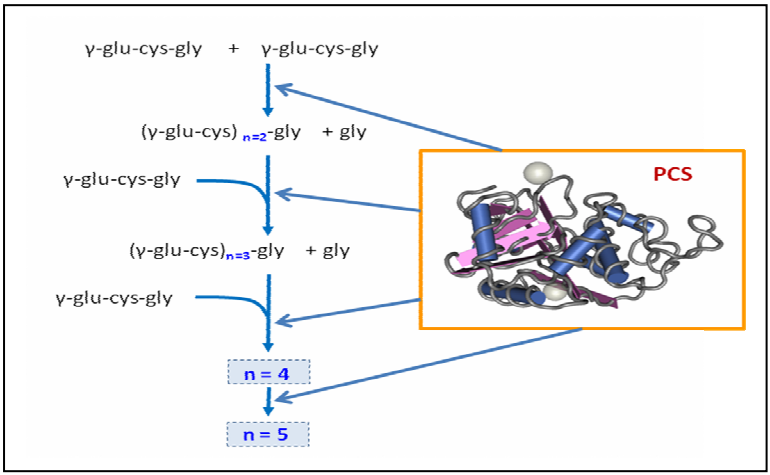


Fig. 1 Scheme of Fytochelatin synthase functions.

We attempted to employ an HPLC method with coulometric detection for analysis of GSH and PC_2 simultaneously in Cell BY-2 Tobacco extract. In connection with HPLC the coulometric detector is one of the most suitable because of its sensitivity, low noise background and possibility in baseline correction application which is needed if gradient elution is applied. Moreover the higher area of the working electrode which is made from porous graphite is capable to oxidise or reduce more than 90% of the analyzed substance. And this is more than classic graphite planar electrodes in flow arrangement [18]. Moreover electrochemical techniques generally as differential pulse and cyclic voltammetry are suitable and sensitive methods for detection of thiols [12-17].

EXPERIMENTAL

Working standard solutions were prepared daily by dilution of the stock solutions. All solutions were filtered through 0.45 µm Nylon filter discs (Millipore, Billerica, Mass., USA) prior to HPLC analysis. Stock standard solutions of the thiols (1 $mg.ml^{-1}$) were prepared with ACS water (Sigma-Aldrich, USA) and stored in dark at -20 °C. Reduced (GSH) and oxidized (GSSG) glutathione, and trifluoroacetic acid (TFA) were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, USA). Phytochelatin$_2$ (PC_2) $(\gamma\text{-Glu-Cys})_2$-Gly was synthesized in Clonestar Biotech (Brno, Czech Republic) with a purity above 90 %. HPLC-grade methanol (>99.9%; *v/v*) was from Merck (Dortmund, Germany) were used. Other chemicals were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, USA) unless noted otherwise. The pH value was measured using WTW inoLab Level 3 with terminal Level 3 (Weilheim, Germany), controlled by software MultiLab Pilot; Weilheim, Germany. The pH-electrode (SenTix H, pH 0..14/0..100°C/3$mol.l^{-1}$ KCl) was regularly calibrated by set of WTW buffers (Weilheim, Germany). HPLC-ED system consisted of two solvent delivery pumps operating in the range of 0.001-9.999 $ml.min^{-1}$ (Model 582 ESA Inc., Chelmsford, MA), Zorbax eclipse AAA C18 (150 × 4.6; 3,5 µm particles, Agilent Technologies, USA) and a CoulArray electrochemical detector (Model 5600A, ESA, USA). The sample (20 µl) was injected using autosampler (Model 542, ESA, USA).

METHOD DEVELOPMENT

Firstly we tested the electrochemical detector response for PC-2 and influence of different concentration of methanol in mobile phase (MF). Wefound that the oxidation maximum provided from constructed hydrodynamic voltammogram is changing due to change of methanol amount in (MF). Obtained data were considered during the optimisation of the separation method. We optimized the chromatographic method for separation of glutathiones reduced (GSH), as substrate of reaction, oxidized glutathione (GSSG) as control of stability of GSH in the substrate and PC-2. We reached very good resolution in separation of all compound of interest. The PC-2 as key compound has a retention time about 10.7 minutes and its peak wasn't coeluted with other compounds neither in the real sample of cell extract. During the main *In vivo* experiment the BY-2 Tobacco cells in liquid medium were treated by $Cd(NO_3)_2$ in various increasing concentrations 0, 5,

10, 25, 50 and 100 µM. After 3 days of cultivation Cells were harvested and in same time centrifuged 5 minutes (360g) to remove the liquid medium and the cells were immediately homogenized in mortar by liquid nitrogen. After 2 minutes of homogenisation the phosphate buffer with 1mM TCEP was added and whole mixture was homogenized another 2 minutes. After 20 minutes of centrifugation (10,000g) we obtained supernatant which was initial solution for further tests of activity of PCS. The supernatant was divided to seven aliquots of 100 µl of the cell extract. Immediately we added a various concentrations of reduced glutathione (GSH) (0, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.5 and 5.0 mM) as a substrate for the PCS reaction. All liquid handling operations were conducted on the ice. Than cadmium(II) ions (50 µM $Cd(NO_3)_2$) were added for initializing of PCS activity. We optimized that mixtures should be incubated at 35 °C for 30 min for obtaining the highest yield of PC-2. Using the optimized separation method on HPLC-ED, PC_2 was determined. The signal of PC-2 was increasing with increase of applied concentration of GSH. The highest activity of PCS as 278 fkat was determined in cells treated with 100 Cd(II) ions. The simplified scheme of the sample preparation is shown (Fig. 2).

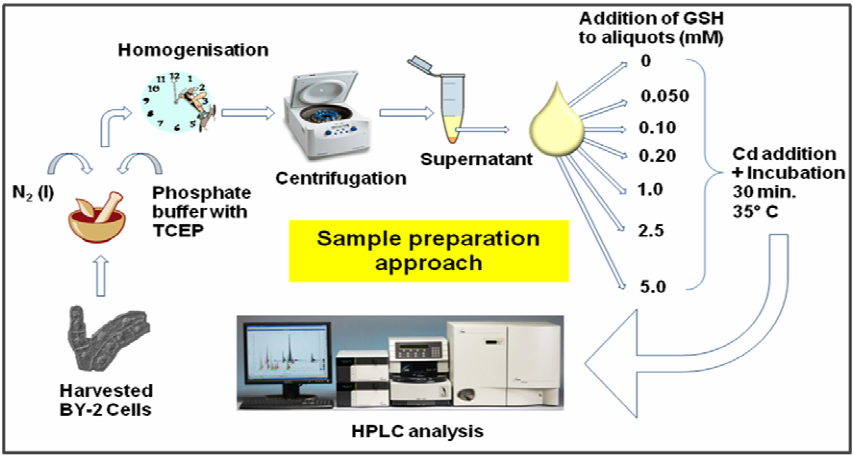


Fig. 2 Scheme of preparation of the sample.

CONCLUSIONS

The HPLC-ED method for detection of PC-2 has been optimized. We used the multichannel coulometric detection which enabled us to ease the sensitivity of detection to 340 femtomoles per injection of PC-2. Than we designed and partially adopted the sample preparation approach for analysis of the series of cells extracts treated by different concentrations of cadmium. From different found concentrations of PC-2 regards to GSH scale concentration added we were able to precisily determine the PCS activity for differen samples. The cells treated with 100 µM Cd(II) ions had more than seven times active PCS compared to control ones. These results are in well agreement with those published by Nakazawa et al. [19] and Ogawa et al. [20]. We proved that our

method can be useful for determination of PCS activity when the plant is treated by various concentration of the metal. Thus this approach can serve as standard method for determination of plant durability against heavy metals in polluted environment.

REFERENCES

[1] C.S. Cobbett, Plant Physiol. 123 (2000) 825.

[2] J.L. Hall, J. Exp. Bot. 53 (2002) 1.

[3] M.H. Zenk, Gene 179 (1996) 21.

[4] W. Bae, W. Chen, A. Mulchandani, R.K. Mehra, Biotechnology and Bioengineering 70 (2000) 518.

[5] C.S. Cobbett, Curr. Opin. Plant Biol. 3 (2000) 211.

[6] M.H. Zenk, Gene 179 (1996) 21.

[7] L.S. di Toppi, R. Gabbrielli, Environmental and Experimental Botany 41 (1999) 105.

[8] C.S. Cobbett, P.B. Goldsbrough, Annu. Rev. Plant. Biol. 53 (2002) 159.

[9] E. Grill, E.-L. Winnacker, M.H. Zenk, Science 320 (1985) 674.

[10] C.S. Cobbett, Trends Plant Sci. 4 (1999) 335.

[11] O.K. Vatamaniuk, E.A. Bucher, J.T. Ward, P.A. Rea, J. Biol. Chem. 276 (2001) 20817.

[12] R. Kizek, J. Vacek, L. Trnkova, F. Jelen, Bioelectrochemistry 63 (2004) 19.

[13] J. Vacek, J. Petrek, R. Kizek, L. Havel, B. Klejdus, L. Trnková, F. Jelen, Bioelectrochemistry 63 (2004) 347.

[14] B. Yosypchuk, I. Sestakova, L. Novotny, Talanta 59 (2003) 1253.

[15] N.S. Lawrence, J. Davis, L. Jiang, T.G.J. Jones, Analyst 125 (2000) 661.

[16] I. Sestakova, P. Mader, Cell. Mol. Biol. 46 (2000) 257.

[17] J. Vitecek, J. Petrlova, J. Petrek, V. Adam, D. Potesil, L. Havel, R. Mikelova, L. Trnkova, R. Kizek, Electrochim. Acta 51 (2006) 5087.

[18] C.N. Svendsen, Analyst 118 (1993) 123.

[19] R. Nakazawa, H. Kato, Y. Kemeda, H. Takenaga, Biol. Plantarum 45 (2002) 311.

[20] S. Ogawa, T. Yoshidomi, T. Shirabe, E. Yoshimura, Journal of Inorganic Biochemistry 104 (2010) 442.

Name of publication:	MendelNet 2011 – Proceedings of International Ph.D. Students Conference
Editors:	Ing. Petr Škarpa, Ph.D.; Assoc. Prof. Ing. Radim Cerkal, Ph.D.; Assoc. Prof. Ing. Pavel Ryant, Ph.D.; Mgr. Marie Konečná, Ph.D.; Ing. Gabriela Růžičková, Ph.D.; Ing. Petr Sláma, Ph.D.; Ing. Ivo Vyskočil; Ing. Jaromír Kovárník; Ing. Vít Mareček.
Number of pages:	1064
Publisher:	Mendel University in Brno, Faculty of Agronomy Zemědělská 1, 613 00 Brno Czech Republic
ISBN:	978-80-7375-563-8

Contributions are published in original version, without any language correction.

www.af.mendelu.cz/mendelnet