

Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r.o. Troubsko  
Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko  
Odbor rostlinolékařství ČAZV  
Pícninářská komise ORV ČAZV  
Agrární komora ČR

# AKTUÁLNÍ POZNATKY V PĚSTOVÁNÍ, ŠLECHTĚNÍ, OCHRANĚ ROSTLIN A ZPRACOVÁNÍ PRODUKTŮ

Úroda 12/2025, vědecká příloha časopisu

 **CAZV** | ČESKÁ AKADEMIE  
ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD



Hlavní mediální partneři konference

The logo for the journal 'Úroda' consists of the word in a bold, green, sans-serif font with a horizontal line above the letters.

The logo for 'PP' (Profimedia) features the letters 'PP' in a bold, black, italicized font, with 'PROFI' and 'RESS...' in smaller text below.

**Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r.o. Troubsko  
Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko  
Odbor rostlinolékařství ČAZV  
Pícninářská komise Odboru rostlinné výroby ČAZV  
Agrární komora ČR**

**Aktuální poznatky v pěstování, šlechtění,  
ochraně rostlin a zpracování produktů**

**Úroda 12/2025, vědecká příloha časopisu**

**Editor:**

**Ing. Jakub Prudil**

**Mgr. Helena Hutyrová**

**Organizační výbor:**

Bc. Antonín Drda

Mgr. Helena Hutyrová

Ing. Pavel Kolařík

Ing. Jaroslav Lang, Ph.D.

Ing. Jakub Prudil

Ing. Lucie Šedová

Ing. Karel Vejražka, Ph.D.

Mgr. Tomáš Vymyslický, Ph.D.

**Vědecký výbor:**

RNDr. Jan Nedělník, Ph.D. – předseda

Ing. Barbora Badalíková

doc. Ing. Bohumír Cagaš, CSc.

Ing. Jaroslav Čepl, CSc.

Ing. Prokop Šmirous ml., Ph.D.

Ing. Pavel Kolařík

Ing. Petr Míša, Ph.D.

Ing. Jan Pelikán, CSc.

Ing. Karel Vejražka, Ph.D.

Mgr. Tomáš Vymyslický, Ph.D.

Příspěvky byly recenzovány členy vědeckého výboru. Příspěvky neprošly jazykovou kontrolou, za gramatickou správnost příspěvků odpovídají jednotliví autoři.

**Doporučená citace příspěvků:**

Autoři příspěvků: Název příspěvku. Úroda 12, roč. LXXIII, 2025, vědecká příloha, s. od – do

## OBSAH

Úvodní slovo ..... 7

### 1. Šlechtění rostlin

Bilavčík A., Bobrova O., Tunklová B., Zámečník J., Golosna L., Faltus M.: Postupy převodu in vitro kultur z bioreaktoru do ex vitro podmínek ..... 9

Golosna L., Tunklová B., Bilavčík A., Bobrova O., Zámečník J., Svoboda P., Faltus M.: Osmotické přizpůsobení vybraných odrůd chmele v podmínkách in vitro ..... 15

Hauptvogel P., Panzarová, K., Matušíková, I., Abdelhakim L., Hauptvogel, R.: Fenotypová diverzita vybraných odrůd pšenice v kontrolovaných a polních podmínkách ..... 23

Jozová E., Misginna S.G., Kamulegeya P., Gaoua O., Röslerová P., Rost M., Čurn V.: Molekulární charakteristika kolekce genetických zdrojů zelenin ..... 31

Klíma M., Bartošová P., Rosokha H., Vrbovský V., Baránek M.: Možnosti zlepšování regenerace v in vitro kulturách řepky olejky ..... 37

Lhotská M., Raimanová I., Haberle J.: Screening citlivosti odrůd čiroku k nízké teplotě ..... 43

Martinek P., Maršálková A.: Výskyt tří pestíků v kvítku u pšenice a možnost jeho využití ve šlechtění ..... 49

Misginna S.G., Röslerová P., Jozová E., Gaoua O., Kamulegeya P., Čurn V.: Hodnocení genetické diverzity genetických zdrojů kmínu obecného (*Carum carvi* L.) s využitím ISSR markerů ..... 57

Nešporová T., Kosová K., Vítámvás P., Planchon S., Renaut J.: Hodnocení odolnosti k suchu u dvou odrůd pšenice s odlišnou strategií odezvy na suchu na základě kombinace fyziologie, proteomiky a metabolomiky ..... 65

Röslerová P., Misginna S.G., Jozová E., Čurn V.: Molekulární charakterizace odrůd kmínu kořeného (*Carum carvi* L.) pomocí SSR markerů: od přípravy materiálu po výběr vhodných markerů ..... 71

Staveníková J., Drda A., Dybová M., Trněný O.: Hodnocení genetických zdrojů jetele lučního (*Trifolium pratense* L.) na odolnost k *Fusarium avenaceum*, *Fusarium oxysporum* a *Fusarium poae* v in vitro podmínkách ..... 79

Vítámvás P., Kosová K., Cit Z., Holková L., Smutná P.: Fyziologická odezva pšenice na kombinaci stresových faktorů (chlad, sucho, WDV) ..... 89

Votavová A.: Nové možnosti záchrany reprodukčního úspěchu čmeláčích královen při nedostatku vhodných samců ..... 97

Žďárská I., Čmejlová J.: Vývoj sady SSR markerů pro genotypování hrušně obecné (*Pyrus communis* L.) v jedné reakci ..... 103

### 2. Rostlinolékařství

Alba-Mejía J.E., Holková L., Kmoč M., Jílková B., Neoralová M.: Vliv biofumigace na diverzitu mikroorganismů v porostu brambor ..... 113

Bleša D., Matušinský P., Tvarůžek L.: Monitoring rezistence houbových patogenů obilnin k fungicidům – NAP k bezpečnému používání pesticidů .....	119
Čmejla R., Valentová L., Rejlová M.: Vývoj real-time PCR systému pro diagnostiku fytoplazem napadajících rostliny rodu Vaccinium.....	127
Dybová M., Trněný O., Neoralová M., Michutová M., Drda A., Prudil J., Staveníková J., Holková L.: Korelace mykotoxinů (zearalenon, fumonisin, T-2/HT-2) v prýtu jetele lučního s úrovní napadení Fusarium culmorum a Fusarium poae.....	135
Jílková B., Víchová J., Rodopská S., Kmoch M., Loubová V., Maršálková E.: Hodnocení účinku plazmatem aktivované vody proti bakterii Pectobacterium atrosepticum .....	145
Kamulegeya P., Stehlíková D., Beran P., Misginna S.G., Gaoua O., Čurn V.: Molekulárních markery pro identifikaci houbového patogenu Mycocentrospora acerina u zelenin .....	153
Kmoch M., Loubová V., Demnerová K., Sýkorová H., Jílková B.: Vliv vybraných kmenů prospěšných bakterií na Dickeya solani, způsobující měkkou hnilobu hlíz bramboru, v podmínkách in vivo .....	161
Kořínek J., Seidenglanz M., Kolařík P., Hrudová E., Blažek L.: Vliv synergistů na snížení rezistence řepkových škůdců k pyretroidům.....	169
Kubíková Z., Drda A.: Fytotoxicita herbicidně účinných látek k lesknici kanárské a ovsu hluchému.....	177
Kubíková Z., Drda A.: Fytotoxicita herbicidně účinných látek k olejniče iberské .....	185
Ludvíková M., Seidenglanz M.: Určení mechanismu rezistence u jedinců Brassicogethes aeneus F. prostřednictvím molekulárních analýz .....	191
Macháč R.: Nové poznatky v ochraně trav na semeno proti škodlivým činitelům.....	199
Pichová M., Hejna O., Píchová A., Čurn V.: Využití NGS sekvenování a biotestů pro molekulární detekci a rozlišení patotypů Plasmodiophora brassicae .....	209
Plachká E., Rychlá A.: Využití inokulací řepky olejky patogenem Sclerotinia sclerotiorum v polním pokusnictví.....	217
Psota V., Špetík M., Frejlichová L., Čechová J., Chybiorzová T., Eichmeier A.: Zajímavé výsledky diagnostiky patogenů a prospěšných mikroorganismů: když laboratorní testy odhalí víc, než čekáte .....	225
Stehlíková D., Misginna S., Kamulegeya P., Beran P., Čurn V.: Vývoj druhově specifické PCR pro detekci Stemphylium vesicarium s využitím genomových dat....	233
Šafář J., Kvapilová B., Seidenglanz M., Plachká E., Šmirous P.: Herbicidní zásahy v kmínu kořeněném v odrůdách se zkrácenou vegetační dobou.....	241
Tvarůžek, L., Bleša, D., Matušinsky, P.: Předpověď epidemií klasových fuzárií obilnin na základě hodnocení vývoje a dozrávání plodnic patogena .....	249
Žabka M, Militká T.: Inhibiční efekt vybraných rostlinných extraktů proti Monilinia laxa .....	257

### 3. Technologie pěstování plodin a ekologie

Baránek M., Pečenka J., Tekielska D., Čechová J., Pekárková J., Richtera L.: Vliv nanopríminingu na dynamiku klíčení na příkladu osiv celeru .....	263
Bárta J., Kasal P., Stupková A., Jarošová M., Kuljová M., Bártová V., Doubek M.,	

Švajner J., Kopecký J., Kusá H., Henžel V.: Reakce vybraných odrůd brambor pro výrobu škrobu na hnojení organicko-minerálním hnojivem Lyckeby koncentrát .....	271
Bjelková M.: Kopřiva dvoudomá, cenný zdroj vláken pro budoucnost.....	279
Frei I., Sedláková V., Kopecký P., Huňady I., Vymyslický T.: Tajemství planých druhů rodu <i>Vicia</i> : jak půdní podmínky ovlivňují jejich růst a složení biomasy.....	287
Frei I.: Dynamika produktivity vybraných druhů rostlin v časovém průběhu po založení matečných porostů.....	295
Frydrych J., Bradáčová L., Raab S.: Inovace pěstitelské technologie pohanky seté ....	303
Frydrych J., Jezerská L., Raab S., Bradáčová L.: Využití trav jako obnovitelných zdrojů energie se zaměřením na peletování a spalování.....	311
Gubišová M., Kaňuková Š., Gubiš J., Zetochová E., Hudcovicová M., Ondreičková K. .... : Spektrálne indexy ako indikátory reakcie slovenských genotypov fazule na stres zo sucha .....	319
Hlavatá A., Matušiková I., Hauptvogel P.: Vplyv pôdnych aditív s relevanciou pre biofortifikáciu na rast pšenice tvrdej ( <i>Triticum durum</i> ).....	327
Koprna R., Špíšek Z., Nožková V., Karády M., Teplá K., Mík V., Pospíšil T., Zatloukal M., Šolcová O., Fous K.: Vliv aplikace hydrolyzátů na výnos ozimé pšenice a obsahu chlorofylu v jarním ječmeni .....	333
Lukas V., Elbl J., Širůček P., Slezák V., Kaplánek T., Schilhabová K., Czírja K., Smutný V.: Ověřování plošně diferencovaných aplikací postřikových látek v precizním zemědělství.....	341
L. Menšík ml., P. Nerušil, V. Smutný, E. Mrkvicová, D. Kincl, L. Menšík st.: Výnosy a kvalita píce kukuřice seté v systému úzkých řádků (37,5 cm) v oblasti Boskovické brázdy .....	349
Mrázková M., Bjelková M.: Obsah živin v travinobylinných společenstvech při obnovené pastvě hospodářských zvířat .....	357
Mühlbachová G., Kusá H., Růžek P., Vavera R. a Káš M.: Potenciál zemědělské půdy pro ukládání uhlíku.....	365
Mühlbachová G., Růžek P., Kusá H., Vavera R., Káš M.: Distribuce živin v půdním profilu po různých způsobech zpracování půdy .....	373
Plisková, J., Pospíšilová, L., Dryšlová, T., Sedlák, L., Menšík, L., Rábek, M.: Změny v obsahu půdní organické hmoty u aluviální půdy při různém způsobu hospodaření ....	381
Raab S., Macháč R., Ježková V.: Hodnocení růstové dynamiky intenzivně ošetřovaného trávníku v kolekci genetických zdrojů kostravy červené ( <i>Festuca rubra</i> agg.) .....	387
Svoboda P., Haberle J., Raimanová I., Moulík. M., Lhotská M., Káš M.: Růst kořenů meziplodin při různém zpracování půdy .....	395
Špíšek Z., Grimová V., Chalupková T.: Výsadba stromů do volné krajiny Moravského krasu: Obnova struktur a adaptační přínos .....	403
Špíšek Z., Rybářová D., Koprna R., Weger J., Vávrová K., Nožková V., Humplík J.F., Teplá K., Šolcová O.: Stimulace růstu rychle rostoucích dřevin s využitím hydrolyzátů z odpadů ryb a peří s fytohormonálními přísadami.....	411
Vašíňka M., Badalíková B., Prudil J.: Využití bentonitu v zemědělství a jeho vliv na fyzikální a biologické vlastnosti půdy .....	419

Žáková H., Stehlíková D., Beran P., Čurn V.: Role kvasinek rodu *Zygosaccharomyces* v ekologii včelího úlu: nové možnosti detekce pomocí real-time LAMP..... 429

#### 4. Technologie pěstování plodin a ekologie

Derbenev A., Jezerská L., Prokeš R., Sýkorová V., Dospiva P., Frydrych J.: Mechanické a energetické vlastnosti pelet z energetických travin ..... 437

Dvořák P., Benešová M., Hradecká B., Pírová H., Satranský M., Král M., Kouřimský T., Stará L., Hajšlová J., Capouchová I.: Možnosti snížení obsahu volného asparaginu v znu obilovin agrotechnickými postupy ..... 447

Gavurníková S., Hozlár, P., Havrlentová M., Hendrichová J., Šliková, S., Jágr M.: Technologická kvalita netradičně zafarbených pšeníc ..... 453

Havrlentová M., Gavurníková S., Hendrichová J., Jágr M.: Kvalita pšenice tvrdéj (*Triticum durum* Desf.) v Slovenskej republike v priebehu rokov 2022 až 2025 ..... 461

Homolka P., Jančík F., Kubelková P., Loučka R.: Vliv biologických přípravků při různých teplotách fermentace vojtěšky ..... 469

Jelínek M., Jágr M., Dvořáček V.: Aktuální poznatky z hodnocení kvality zrna pšenice tvrdé pěstované v ČR a testování jejího využití pro produkci celozrnných těstovin ..... 473

Loučka R., Jambor V., Synková H., Homolka P., Koukolová V., Kubelková P., Jančík F.: Porovnání výživných hodnot a kvality fermentace siláží luskovin ve Velkých Opatovicích v roce 2024..... 481

Loučka R., Jambor V., Synková H., Homolka P., Koukolová V., Kubelková P., Jančík F.: Studie porovnávající kvalitu siláže vyrobené z listnatého a úponkového hrachu... 485

Menšík L., Nerušil P., Pospíšilová L., Plisková J., Kunzová E., Madaras M.: Stanovení obsahu a kvality půdní organické hmoty pomocí blízké infračervené spektroskopie na příkladu provozních pokusů v oblasti Boskovické brázdy..... 489

Psota, V., Garčárová, M., Martinek, P., Zavřelová, M., Benešová, K., Mikyška, A.: Zajímavé faktory ovlivňující kvalitu sladu ..... 497

Sýkorová V., Jezerská L., Prokeš R., Gelnar D., Žídek M., Derbenev A.: Charakterizace zahradního odpadu pro účely následné peletizace ..... 503

#### Ostatní sdělení

Prudil J., Krejčí Š., Drda A., Šedová L., Vašinka M.: Od prvních testů po výsledky – tři roky projektu Carbon Farming CE ..... 511

## Úvodní slovo

Vážení čtenáři časopisu Úroda, pokud čtete tento úvod, tak jste otevřeli pomocí QR kódu soubor prací, které byly prezentovány na dalším ročníku mezinárodní konference pořádané troubským výzkumným pracovištěm již tradičně v závěru roku v Brně. Tradiční je také umístění této přílohy do dvanáctého čísla časopisu Úroda v daném ročníku. Děkuji majiteli nakladatelství Profi Press a kolegům z redakce Úrody za tuto možnost. Konference a z ní vydávané sborníky, v nichž jsou vždy všechny práce recenzovány členy vědeckého výboru, za což jim patří velké poděkování, začaly svoji historii hned po privatizaci. Již v té době jsme si uvědomovali nutnost spolupráce, nutnost výměny informací a transferu výzkumných výsledků do praxe. Většina privátních výzkumných organizací oslavila v roce 2024 třicet let od privatizace, a to ve velmi dobré kondici. Důkazem je i celá řada příspěvků v tomto sborníku se zajímavými výsledky směřujícími do šlechtitelské i provozní praxe. Jsem rád, že konference si našla pevné místo v kalendáři odborných akcí a účastní se jí každoročně kolegové nejen z privátních výzkumných organizací, ale i z výzkumných organizací typu v. v. i., z univerzit a praxe. Odborné příspěvky jsou opět členěny do čtyř sekcí zaměřených na šlechtění rostlin, rostlinolékařství, technologie pěstování a v neposlední řadě technologie výroby potravin a jejich kvality. Multioborovost je důležitou přidanou hodnotou sborníku. Objevují se témata tradiční, ale také zcela nová. Využívání genomických technik ve šlechtění či snaha o zefektivnění výběru šlechtitelského materiálu pomocí markerů, genotypování jako cesta k cílenějšímu výběru je jeden okruh. Rostlinolékařská problematika je také velmi široká. Jsou zde příspěvky popisující možnosti přímé ochrany včetně ochrany biologické, zaměření na integraci různých přístupů v ochraně, ale také popis varovných signálů např. v oblasti stále se zvyšujícího se počtu škodlivých činitelů s narůstající sníženou citlivostí vůči účinným látkám přípravků na ochranu rostlin. Technologie pěstování jsou stále více ovlivňovány aplikacemi principů SMART zemědělství. Určitě jako konzumenty nás také zajímá kvalita potravin, inovace v technologiích jejich zpracování a uchování a hledání potravin nového typu. V závěru se ještě vrátím k problematice transferu výsledků do praxe. V letošním roce byl Poslaneckou sněmovnou přijat nový zákon o výzkumu, a v názvu zákona se objevuje i slovo transfer. O transferu se často hovoří jako o jednom ze slabých míst českého výzkumného ekosystému. Prostřednictvím časopisu Úroda se ke čtenářům dostala za ta dlouhá léta velmi početná řada informací a výsledků, o nichž u mnohých jsem přesvědčen i o jejich úspěšné praktické realizaci. Rád bych poděkoval všem autorům, kteří přispěli do letošního sborníku. Pestrá paleta témat svědčí nejen o diverzitě zemědělství, ale i o nutnosti přinášet inovace v mnoha oborech, na kterých je zemědělství a potravinářství postaveno. A úplně závěrem mi dovoluji poděkovat dlouholetým partnerům konference, kterými jsou Ministerstvo zemědělství, Agrární komora ČR, Česká akademie zemědělských věd a hlavní mediální partner nakladatelství Profi Press. Velmi si této spolupráce vážím. Vážení čtenáři, přeji Vám inspirativní čtení a všichni autoři doufají, že Vás jejich výzkumné výsledky zaujmou a hlavně že budou uplatněny v praktickém životě.

Jan Nedělník



## 1. Šlechtění rostlin

### Postupy převodu *in vitro* kultur z bioreaktoru do *ex vitro* podmínek

Transferring *in vitro* cultures from a bioreactor to *ex vitro* conditions

**Bilavčík A.<sup>1</sup>, Bobrova O.<sup>1,2</sup>, Tunklová B.<sup>1</sup>, Zámečník J.<sup>1</sup>, Golosna L.<sup>1</sup>, Faltus M.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i.

<sup>2</sup>Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine NAS of Ukraine

#### Abstrakt

Převod dřevin z mikropropagačních zařízení do *ex vitro* podmínek představuje vzhledem k obtížné aklimatizaci *in vitro* množených rostlin výzvu. Cílem této studie bylo posoudit metodické možnosti využití bioreaktorů, konkrétně systému dočasného zaplavení (TIS), pro přípravu převodu rostlin z *in vitro* kultivace do *ex vitro* podmínek. Pro pokusy byly použity *in vitro* kultury borůvky. Pokusy se zaměřily na tvorbu a využití specifických doplňků a je diskutováno jejich použití u komerčně dostupného TIS bioreaktoru.

**Klíčová slova:** TIS, mikropropagace, *ex vitro* převod

#### Abstract

Transferring woody crops from micropropagation facilities into *ex vitro* conditions poses challenges due to the recalcitrance of *in vitro*-propagated plants. The aim of this study was to assess methodological options for using bioreactors, specifically a Temporary Immersion System (TIS), to prepare plants for transfer from *in vitro* culture to *ex vitro* conditions. Blueberry *in vitro* cultures were used for the experiments. The experiments focused on the development and use of specific adaptor systems, and their application to the commercially available TIS bioreactor is discussed.

**Key words:** TIS, micropropagation, *ex vitro* transfer

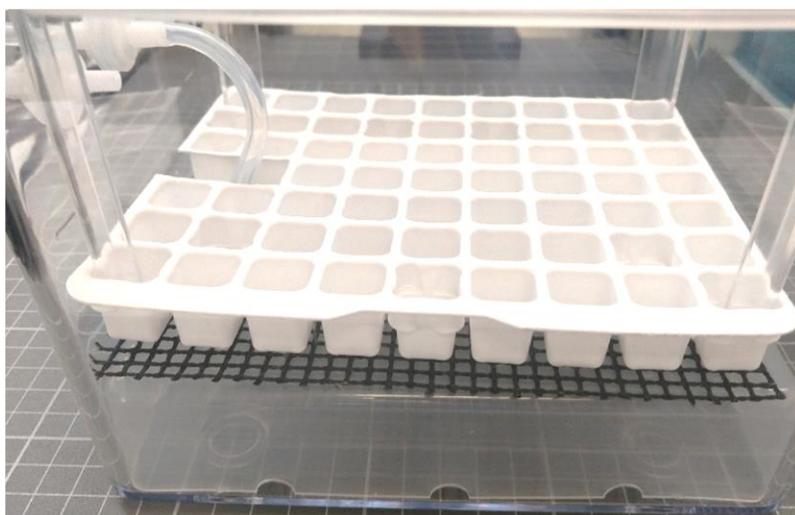
#### Úvod

Konvenční mikropropagace je účinná a efektivní, avšak stále relativně nákladná a pracná. Metody používané ve většině laboratoří se za posledních 25 podstatně nezměnily. S rozvojem biotechnologických postupů využívajících kapalná média v bioreaktorech je však možné účinnost metod mikropropagace dále zvýšit. Bioreaktory s kapalnými médii pro mikropropagaci a zakořeňování získaly oblibu díky nižším provozním nákladům (Paek a kol., 2001) a snadné rozšiřitelnosti (Preil, 1991). Bylo popsáno několik typů bioreaktorů; membránový „raftový“ systém, bioreaktor se živnou mlhou a dočasný imerzní bioreaktor (Akita a Takayama, 1994). Mezi těmito systémy se stal populárnějším dočasný imerzní bioreaktor (TIS), který se snadno obsluhuje a umožňuje hromadnou produkci při minimálních poruchách (Afreem, 2008). V praxi se systém TIS (Temporary Immersion System) definuje jako systém dočasné imerze (zaplavení), kdy se celá kultura nebo rostlinné pletivo použité jako explantát smáčí/zaplavuje živným médiem a přebytečné médium je následně odvedeno (gravitačně, či řízeně), takže se rostlinný materiál dostává do kontaktu se vzduchem. TIS typicky střídá dva cykly: zaplavení a osušení/odvodnění („přiliv-a-odliv“), které probíhají v plánovaných intervalech (Afreem, 2008). Pro dočasné zaplavení bylo vyvinuty více systémů, např. RITA, RALM, PLANTIMA, SETIS a Plantform. Bylo zjištěno, že např. systém RITA zvyšoval tvorbu kořenů u *Hevea brasiliensis* (Etienne a kol., 1997). Bioreaktor RALM (Biorreatores RALM, Ralm Industria e Comercio Ltda., Brazílie) je TIS, pracující na principu dvojité baňky. Systém SETIS (Vervit, Belgie, distribuován firmou Duchefa, NL) funguje obdobně jako „přiliv-a-odliv“ TIS. PLANTIMA (A-Tech Bioscientific Co., Ltd., Tchaj-wan) je maloobjemový TIS, pracující na principu RITA, používaný k množení rostlin (Yan a kol., 2010, 2011). Box-in-Bag

je jednorázový TIS, pracující na principu „přiliv-a-odliv“ TIS. Bioreaktor WAVE představuje mechanickou kývací platformu využívající sterilizované jednorázové kultivační sáčky (Eibl a Eibl, 2006, 2008; Eibl a kol., 2009; Georgiev a kol., 2014). Záplavový cyklus je dán frekvencí a délkou trvání jednotlivých zaplavovacích cyklů. Tyto parametry zásadně ovlivňují příjem vody a živin i riziko hyperhydratace pletiv (Albarran a kol., 2005). Systémy na bázi kapalných médií jsou zároveň vhodné pro automatizaci a tím i pro snižování nákladů a pracnosti – výměna média je jednoduchá a čištění kultivačních jednotek je snazší než u agarových systémů (Preil, 1991). V našich experimentech jsme zvolili TIS bioreaktory firmy Plantform (Plant Form, Sweden) (Welander a kol., 2014). Cílem práce bylo posoudit využití TIS bioreaktorů pro přípravu rostlin na převod z *in vitro* kultivace do *ex vitro* podmínek.

### Materiál a metody

Rostlinný materiál, *in vitro* kultury *Vaccinium corymbosum* L. odrůda ‘Reka’, byl dodán firmou Jan Holub s.r.o. na multiplikačním agarovém médiu Woody Plant Medium (WPM) (McCown a Lloyd, 1981). Pro experimenty byla *in vitro* kultura z multiplikačního agarového WPM média převedena do TIS bioreaktoru na kapalném WPM multiplikačním médiu a kultivována ve standardních kultivačních podmínkách (26 °C, 16/8 fotoperioda, zářivky se studeným bílým světlem, hustota fotosynteticky aktivního záření 40–50  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Multiplikační médium obsahovalo kompletní WPM médium s vitamíny (Duchefa, NL), 30 g l<sup>-1</sup> sacharózy, 100 mg l<sup>-1</sup> Fe-EDDHA, 0,2 mg l<sup>-1</sup> 2iP a 0,2 mg l<sup>-1</sup> zeatinu; v případě agarového média bylo přidáno 7 g l<sup>-1</sup> agaru. pH médií bylo upraveno na 5,3. Pro experimenty byly zvoleny TIS bioreaktory Plantform, pro jejich vhodnou velikost a možnost snadné instalace adaptačních zařízení (sadbovací misky apod.). Z TIS bioreaktoru byla odstraněna kultivační miska a místo ní byla vložena polovina sadbovací misky ViTray 126 (Viscon Plant Technology, NL), ze které byly odstraněny dvě buňky tak, aby se upravená miska do TIS bioreaktoru vešla. Pod upravenou sadbovací misku byla umístěna síťka ze skelných vláken s teflonovou úpravou (grilovací podložka, Orion, CZ). Detailní pohled na upravenou spodní část TIS bioreaktoru je na obr. 1.



Obrázek 1. TIS bioreaktor Plantform upravený pro zakořeňovací experimenty. Místo původní kultivační misky vložena polovina sadbovací misky ViTray 126 s odstraněnými dvěma buňkami a síťka ze skelných vláken s teflonovou úpravou.

Do sadbovací misky v TIS bioreaktoru byly vloženy a) sadbovací zátky Preforma 126 (Viscon Plant Technology, NL) a b) kostičky z minerální vlny GRODAN GRO kostičky o objemu přibližně 1 cm<sup>3</sup> (ROCKWOOL B.V., NL). Do připravených TIS bioreaktorů bylo nalito 500 ml kořenícího WPM média s 10 g l<sup>-1</sup> sacharózy a 0,5 mg l<sup>-1</sup> IBA. Po sterilizaci 20 min v parním autoklávu při 121 °C a tlaku 0,2 MPa byly do sadbovacích misek v TIS bioreaktorech nasazeny

3–5 cm dlouhé multinodální řízky borůvky ‘Reka’, viz obr. 2. TIS bioreaktory byly umístěny do standardních kultivačních podmínek a byla u nich sledována případná kontaminace a kvalita kultivovaných rostlin.



Obrázek 2. Multinodální řízky borůvky ‘Reka’ nasazené v TIS bioreaktorech v kostkách z minerální vlny (vlevo) a v sadbovacích zátkách (vpravo). Úsečka je 1 cm.

### Výsledky a diskuse

Na obr. 3. jsou TIS bioreaktory s rostlinami přibližně po 1 měsíci od nasazení na kořenícím médiu. U rostlin nasazených do kostek z minerální vlny, či sadbovacích zátek nedocházelo k výrazné transplantační stresové reakci (např. vadnutí a opad listů) ani u nich nebyla vizuálně pozorovaná kontaminace houbovými, či bakteriálními patogeny. Po měsíci kultivace na kořenícím médiu bylo u obou variant zaznamenáno červenání listů rostlin, což je u přenosu *in vitro* kultur borůvky na kořenícím médiu obvyklý jev. U některých rostlin byl pozorován nárůst nových výhonů, převážně u jedinců, kteří byli při nasazení menší nebo měly méně listů. U části rostlin byly patrné tvořící se kořeny (viz obr. 4), morfologicky shodné s kořeny vznikajícími po iniciaci na kořenícím agarovém médiu a následném převodu do *ex vitro* podmínek.



Obrázek 3. *In vitro* kultury borůvky 'Reka' nasazené v TIS bioreaktorech v kostkách z minerální vlny (vlevo) a v sadbovacích zátkách (vpravo), přibližně po 1 měsíci od nasazení na kořenící médium. Úsečka je 1 cm.

Vizuální posouzení potvrdilo, že rostliny z TIS bioreaktorů (v obou testovaných substrátech) splňují kritéria pro převod do *ex vitro*; velikostí, větvením i počtem listů se neliší od rostlin z agarových médií převáděných *ex vitro*. To zároveň zvýrazňuje klíčovou výhodu použití TIS bioreaktoru při převodu *ex vitro*: vyšší efektivitu procesu díky rychlejšímu otužování rostlin přímo v bioreaktoru (vlivem zvýšené/řízené ventilace), což umožňuje zkrátit, případně zcela vynechat mezikrok otužování v sadbovacích v nesterilních podmínkách. Mezi další benefity TIS při multiplikaci a následném převodu do *ex vitro* patří úspora agaru díky použití tekutých živných roztoků, možnost pěstovat více rostlin na jednotku objemu (nižší náklady na manipulaci/přesazování), regulace přísunu živin dle růstové fáze (vyšší kvalita rostlin), výměna média bez nutnosti přesazování, řízení plynného prostředí (např. CO<sub>2</sub>) a odstraňování ethylenu vznikajícího při zakořeňování. Zakořeňování v tekutém médiu usnadňuje převod do *ex vitro* a funkční průduchy podporují aklimatizaci, čímž snižují ztráty při přesazování. Nevýhodami jsou vyšší pořizovací náklady oproti standardním nádobám/baňkám, vyšší riziko ztráty většího objemu materiálu při kontaminaci a nutnost předtestování správného zaplavování. Souhrnně příspěvek ukazuje možnosti využití dvou typů materiálů pro převod do *ex vitro* – kostek z minerální vlny a sadbovacích zátek – a jejich dobrou kompatibilitu s TIS bioreaktory.



Obrázek 4. Kořenící (šipka) *in vitro* rostlina borůvky 'Reka' po vyjmutí z kostky z minerální vlny přibližně po 1 měsíci od nasazení na kořenící médium. Úsečka je 1 cm.

### **Závěr**

Navrhovaná metoda, založená na bioreaktorovém systému TIS, prokazuje potenciál pro přípravu rostlin na převod z *in vitro* podmínek do *ex vitro*, a to jak při použití kostek z minerální vlny, tak sadbovacích zátek. Uváděný metodický postup bude využit při řešení problematiky převodu rostlin u různých druhů vegetativně množených plodin v rámci Národního centra zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i., a především ve firmě Jan Holub s.r.o. pro převod hůře reagujících mikropropagovaných rostlin do *ex vitro* podmínek.

## Literatura

- Afreen, F. (2008): Temporary Immersion Bioreactor. – In: Gupta, S. D., Ibaraki, Y. (eds.) Plant Tissue Culture Engineering. Springer. Netherlands, pp. 187-201.
- Akita, M., Takayama, S. (1994): Stimulation of potato (*Solanum tuberosum* L.) tuberization by semi continuous liquid medium surface level control. – Plant Cell Report 13: 184-187.
- Albarran, J., Bertrand, B., Lartaud, M., Etienne, H. (2005): Cycle characteristics in a temporary immersion bioreactor affect regeneration, morphology, water and mineral status of coffee (*Coffea arabica*) somatic embryos. – Plant Cell, Tissue and Organ Culture 81(1): 27-36.
- Eibl, R., Eibl, D. (2006): Design and Use of the Wave Bioreactor for Plant Cell Culture. – In: Gupta, S. D., Ibaraki, Y. (eds.) Plant Tissue Culture Engineering. Springer, The Netherlands, pp. 203-227.
- Eibl, R., Eibl, D. (2008): Design of bioreactors suitable for plant cell and tissue cultures. – Phytochemistry Reviews 7(3): 593-598.
- Eibl, R., Werner, S., Eibl, D. (2009): Disposable bioreactors for plant liquid cultures at Litre-scale. – Engineering in Life Sciences 9(3): 156-164.
- Etienne, H., Lartaud, M., Michaux-Ferrière, N., Carron, M. P., Berthouly, M., Teisson, C. (1997): Improvement of somatic embryogenesis in *Hevea brasiliensis* (Müll. Arg) using the temporary immersion techniques. – *In vitro* Cellular & Developmental Biology-Plant 33(2): 81-87.
- Georgiev, V., Schumann, A., Pavlov, A., Bley, T. (2014): Temporary immersion systems in plant biotechnology. – Engineering in Life Sciences 14(6): 607-621.
- McCown, B.H. and Lloyd, G. (1981) Woody Plant Medium (WPM)—A Mineral Nutrient Formulation for Microculture of Woody Plant Species. HortScience, 16, 453-453.
- Paek, K. Y., Hahn, E. J., Son, S. H. (2001): Application of bioreactors for large-scale micropropagation system of plants. – *In vitro* Cellular & Developmental Biology - Plant 37: 149-157.
- Preil, W. (1991): Application of Bioreactors in Plant Propagation. – In: Debergh, P. C., Zimmerman, R. H. (eds.) Micropropagation. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 425-445.
- Welander, M., Persson, J., Asp, H., Zhu, L. H. (2014): Evaluation of a new vessel system based on temporary immersion system for micropropagation. – Scientia Horticulturae 179: 227-232.
- Yan, H., Liang, C., Li, Y. (2010): Improved growth and quality of *Siraitia grosvenorii* plantlets using a temporary immersion system. – Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC) 103(1): 131-135.
- Yan, H., Yang, L., Li, Y. (2011): Improved growth and quality of *Dioscorea fordii* Prain et Burk and *Dioscorea alata* plantlets using a temporary immersion system. – African Journal of Biotechnology 10(83): 19444-19448.

## Poděkování

Tato práce byla financována se státní podporou Technologické agentury ČR a Ministerstva průmyslu a obchodu ČR v rámci Programu TREND FW10010417.

## Kontaktní adresa:

RNDr. Alois Bilavčík, Ph.D.

Tým fyziologie a kryobiologie rostlin

Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i.

Drnovská 507, 161 00 Praha 6 – Ruzyně

Tel.: +420 233022433, e-mail: [alois.bilavcik@carc.cz](mailto:alois.bilavcik@carc.cz)

## Osmotické přizpůsobení vybraných odrůd chmele v podmínkách *in vitro*

Osmotic adjustment of selected hop cultivars under *in vitro* conditions

**Golosna L.<sup>1,2</sup>, Tunklová B.<sup>1</sup>, Bilavčík A.<sup>1</sup>, Bobrova O.<sup>1</sup>, Zámečník J.<sup>1</sup>,  
Svoboda P.<sup>3</sup>, Faltus M.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu v.v.i., Drnovská 507/73,  
161 00, Praha Ruzyně, <sup>2</sup>Institut ochrany rostlin, Vasilkivska, 33, 03022, Kyjev, Ukrajina,  
<sup>3</sup>Chmelařský institut s.r.o., Kadaňská 2525, 438 01, Žatec

### Abstrakt

V této práci byl sledován vliv osmotického stresu na osmotické přizpůsobení a růst u vybraných klonů chmele (*Humulus lupulus* L.) pěstovaných v podmínkách *in vitro*. Rostliny byly kultivovány na médiu se základní koncentrací glukózy, do kterého byla za účelem navození vodního stresu přidána sacharóza v následujících koncentracích 0; 0,01; 0,05; 0,1 a 0,15 M. Hodnocen byl růst výhonů, obsah vody a osmotický potenciál. Se zvyšující se koncentrací sacharózy docházelo ke snížení růstu a obsahu vody, zatímco hodnota osmotického potenciálu se snižovala. Mezi klony byly zjištěny rozdíly v citlivosti i efektivitě osmotického přizpůsobení. Ty klony, které dokázaly udržet růst při nízkém osmotickém potenciálu, vykazovaly vyšší úroveň tolerance k osmotickému stresu.

**Klíčová slova:** chmel, *in vitro*, osmotické přizpůsobení, osmotický potenciál, stres

### Abstract

The study investigates osmotic adjustment in selected hop (*Humulus lupulus* L.) genotypes cultivated *in vitro*. Plants were grown on a medium containing basic glucose concentration supplemented with sucrose at 0, 0.01, 0.05, 0.1, and 0.15 M. Shoot growth, water content, and osmotic potential were evaluated. Increasing sucrose concentration reduced growth and water content, while osmotic potential decreased. Genotypic differences indicated variability in osmotic adjustment efficiency. Genotypes maintaining growth under lower osmotic potential exhibited higher tolerance to osmotic stress.

**Keywords:** hop, *in vitro*, osmotic adjustment, osmotic potential, stress

### Úvod

Voda je klíčovým faktorem pro správný růst, vývoj a produktivitu rostlin a její nedostatek představuje jeden z nejvýznamnějších stresových faktorů limitujících zemědělskou produkci (Blum, 2017; Mahajan & Tuteja, 2005). Rostliny reagují na vodní deficit komplexními fyziologickými a biochemickými mechanismy, které zajišťují udržení vodního potenciálu, turgoru a funkčního metabolismu i v prostředí s omezenou dostupností vody. Mezi nejdůležitější adaptační procesy patří osmotické přizpůsobení (osmotic adjustment, OA), spočívající v akumulaci osmoticky aktivních látek, které snižují osmotický potenciál buněk a umožňují tak pokračující příjem vody (Morgan, 1984; Blum, 2017; Verslues et al., 2006). OA představuje klíčový mechanismus tolerance vůči suchu, osmotickému stresu a také salinitě (Munns & Tester, 2008). Tento proces může probíhat prostřednictvím anorganických osmotytů (ionty K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>) akumulovaných převážně ve vakuole, nebo organických kompatibilních solutů, jako jsou prolin, glycin-betain, sacharóza, polyoly či trehalóza, které se hromadí zejména v cytoplazmě (Morgan, 1984; Szabados & Savouré, 2010). Organické osmolyty nejen přispívají ke snížení osmotického potenciálu, ale současně stabilizují proteiny, membrány a enzymové komplexy, a tím zvyšují odolnost buněk vůči dehydrataci (Slama et al., 2015). Schopnost OA je druhově i genotypově specifická a její efektivita úzce souvisí s udržením růstu a výnosu během sucha (Blum, 2017; Mahmood et al., 2020). Studium OA v podmínkách *in vitro* umožňuje oddělit vliv vodního potenciálu od dalších faktorů prostředí a sledovat přímé reakce rostlin na definovaný osmotický stres. Nejčastěji se používají neiontová osmotika (např. sacharóza, mannitol nebo PEG), která snižují vodní potenciál média bez toxických účinků (Bajji et al., 2002). Takto řízené podmínky jsou vhodné pro *in vitro* selekci tolerantních genotypů,

protože umožňují rychlé a reprodukovatelné vyhodnocení odezvy různých odrůd na osmotický stres (Mandour et al., 2015; Farooq et al., 2009). Chmel (*Humulus lupulus* L.) je druh s vysokými nároky na vodu a teplotní stabilitu, proto může být vodní stres jedním z limitujících faktorů při jeho pěstování v podmínkách měnícího se klimatu (Kolenc et al., 2016). Využití kultur *in vitro* poskytuje vhodný model pro studium fyziologických aspektů OA u chmele, neboť umožňuje kontrolovat osmotický potenciál prostředí a sledovat růst, vodní stav a osmotické vlastnosti rostlin v dlouhodobé kultivaci. Cílem této studie bylo zhodnotit míru osmotického přizpůsobení vybraných odrůd chmele (*Humulus lupulus* L.) v podmínkách *in vitro* při dlouhodobé kultivaci na médiu s různými koncentracemi sacharózy jako neiontového osmotika. Byly sledovány změny růstu výhonů, obsahu vody a osmotického potenciálu a určena genotypová variabilita v reakci na osmotický stres.

### **Materiál a metody**

Pro experimenty byly použity rostliny chmele (*Humulus lupulus* L.), které pocházely z Chmelařského institutu v Žatci a byly předem pěstovány v *in vitro* podmínkách. Rostliny pocházely z kolekce klonů udržovaných na médiu Murashige & Skoog (MS). Pro hodnocení OA byly využity dvě úrovně experimentů: (1) screeningová fáze, která zahrnovala 14 klonů chmele, a (2) detailní analýza tří reprezentativních genotypů (8765 – Osvaldův klon, ‘Saaz Shine’ a 12925 – ‘Tusham’). Rostliny byly pěstovány 6 týdnů v kultivační místnosti při  $26 \pm 1$  °C, relativní vlhkosti 100 % a fotoperiodě 16/8 h (světlo/tma), s intenzitou osvětlení cca  $40 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (PAR). Každá varianta byla provedena v deseti opakováních. Základní živné médium vycházelo z modifikace podle Faltus (2007, 2012) podle MS, se sníženým obsahem dusíku a bez fytohormonů pH média bylo upraveno na  $5,7 \pm 0,1$  a sterilizace probíhala při 121 °C po dobu 20 min. Po ukončení kultivace byla měřena délka výhonu, obsah vody (gravimetricky po sušení 105 °C/72 h) a osmotický potenciál (automatickým osmometrem Roebling).

Relativní růst rostlin vzhledem ke kontrolní variantě byl vyjádřen podle následujícího vztahu:

$$R\% = \left( \frac{Rk - Rx}{Rk} * 100 \right) - 100$$

Kde R% - růst rostliny vyjádřený v procentech vzhledem ke kontrole,  
 Rk – průměrná výška rostlin v kontrolní variantě,  
 Rx – průměrná výška rostlin ve sledované variantě.

Obsah vody byl vyjádřen v procentech čerstvé hmoty nebo v g vody na gram sušiny.

Obsah vody (%) = (čerstvá hmotnost – hmotnost sušiny) / (čerstvá hmotnost) × 100 (%)

Obsah vody (g · g<sup>-1</sup>) = (čerstvá hmotnost – hmotnost sušiny) / (hmotnost sušiny)

Růst sušiny byl vyjádřen na jednotku délky výhonu, tj. bez vlivu změn obsahu vody.

Specifická hmotnost sušiny výhonu (g · mm<sup>-1</sup>) = (hmotnost sušiny) / (délka výhonu)

## Osmotický potenciál

Osmotický potenciál (MPa) byl poté vypočítán podle následujícího vzorce:

$$MPa = [\text{miliosmol} * 0,831 * 10^{-5} * T(K)] * (-1)$$

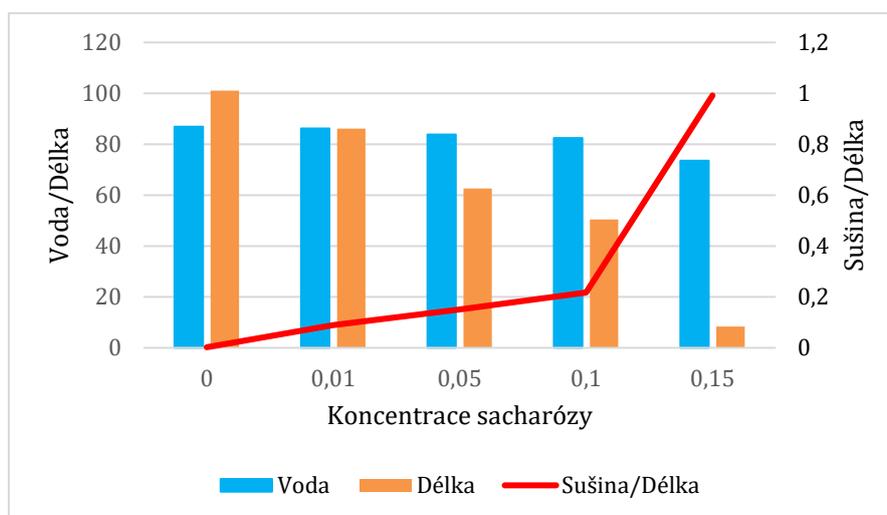
Měření pro každou variantu bylo provedeno ve třech opakováních

Statistické vyhodnocení bylo provedeno pomocí ANOVA a Tukey HSD testu ( $p < 0,05$ ) v programu Statistica 14.0.0.15.

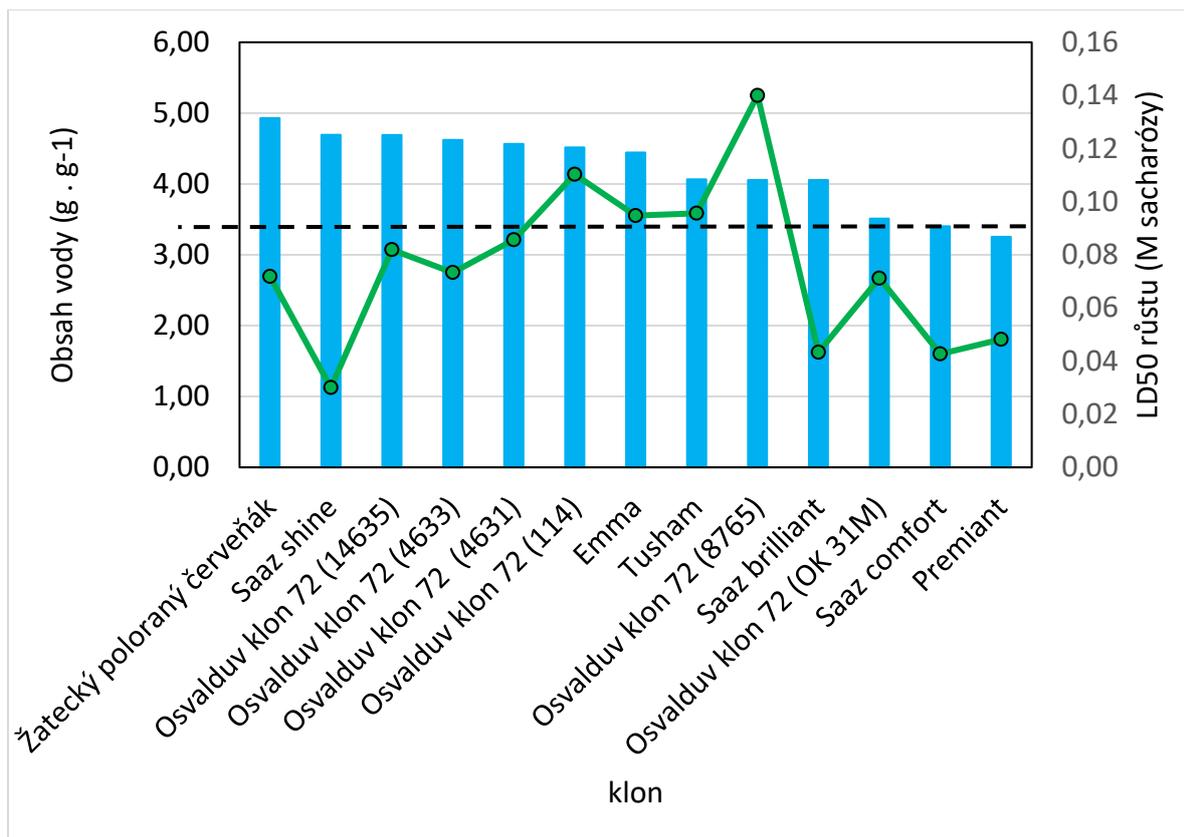
## Výsledky a diskuze

Dlouhodobé působení osmotického stresu vyvolaného zvýšenou koncentrací sacharózy v živném médiu mělo významný vliv na růst výhonů, obsah vody a akumulaci sušiny u testovaných odrůd chmele (*Humulus lupulus* L.) (Graf. 1). Se zvyšující se koncentrací sacharózy (0,01–0,15 M) docházelo k postupnému poklesu délky výhonů u všech hodnocených genotypů, přičemž nejvyšší koncentrace 0,15 M vedla k výraznému omezení růstu. U některých odrůd byl pokles zaznamenán již při nejnižší přidané koncentraci sacharózy, zatímco jiné vykazovaly postupnou redukci růstu až při vyšších koncentracích, což naznačuje rozdílnou citlivost genotypů vůči osmotickému stresu. Tento trend odrážel variabilitu v osmotické regulaci, kdy jednotlivé genotypy uplatňují odlišné fyziologické strategie přizpůsobení.

S poklesem růstu výhonů byla spojena i změna v obsahu vody. Obsah vody v čerstvé hmotě se s rostoucí koncentrací sacharózy snižoval. Současně došlo k nárůstu obsahu sušiny vztažené na jednotku délky výhonu – specifická hmotnost sušiny výhonu, což může být důsledkem zvýšené hustoty pletiv nebo zpomalení prodlužovacího růstu (Obr. 2). Tento vztah mezi růstem a obsahem vody může být odezvou rostliny na dlouhodobý osmotický stres, kdy dochází k omezení expanze buněk a současně k aktivaci mechanismů, které umožňují udržet alespoň částečný turgor (Morgan, 1984; Blum, 2017).

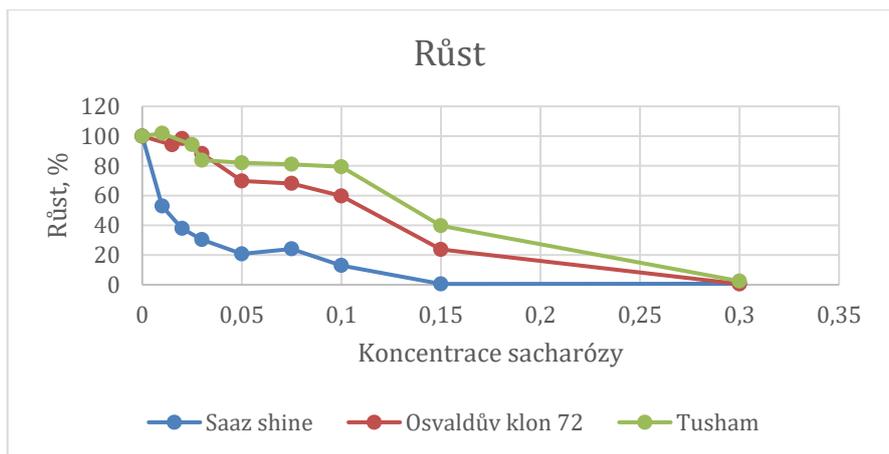


Obr. 1: Vliv dlouhodobého působení osmotického stresu vyvolaného zvýšenou koncentrací sacharózy na růst výhonů, obsah vody a akumulaci sušiny u odrůd chmele

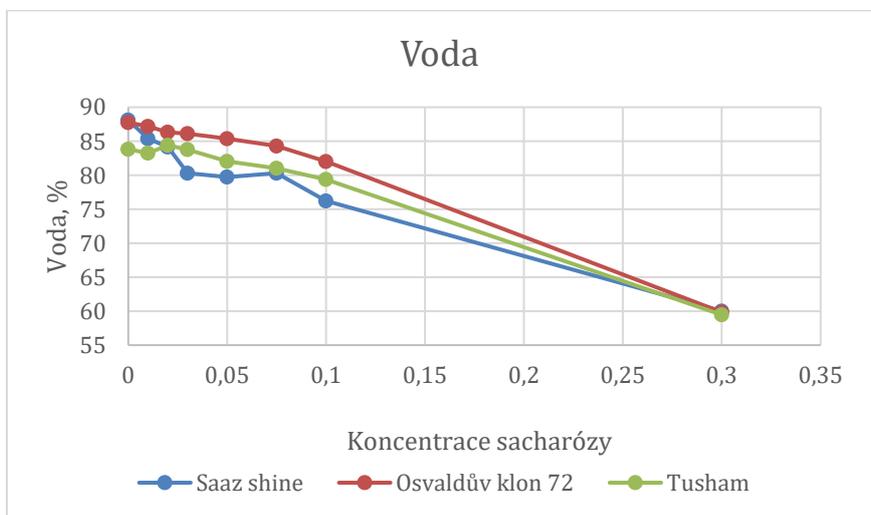


Obr. 2: Genotypové rozdíly v citlivosti růstu a obsahu vody chmele vyjádřené parametrem LD<sub>50</sub> při osmotickém stresu

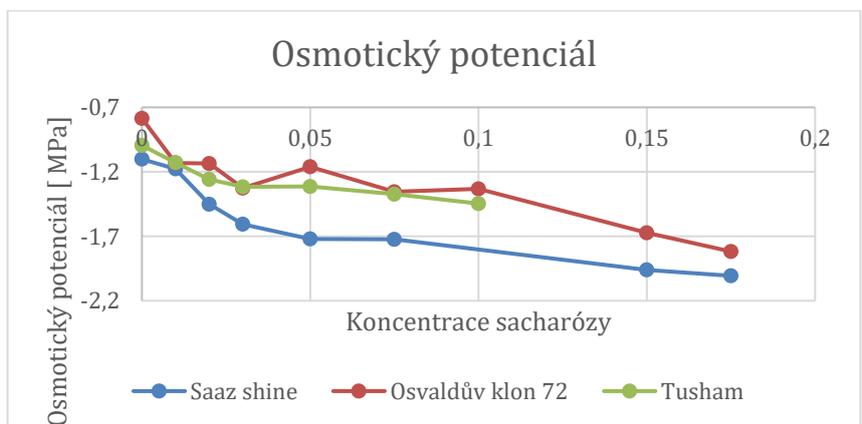
Na základě předchozích výsledků byla podrobnější analýza tří klonů chmele se specifickými vlastnostmi (8765, ‘Saaz Shine’ a 12925). Podrobná analýza potvrdila výrazné rozdíly v reakci na zvyšující se koncentraci sacharózy (0–0,3 M) (Obr. 3–5). U všech klonů docházelo ke snižování růstu výhonů i obsahu vody, přičemž nejvýraznější pokles byl zaznamenán při 0,3 M. Změny osmotického potenciálu ukázaly, že všechny genotypy reagovaly jeho poklesem (Obr. 5). Při srovnání hodnot osmotického potenciálu u rostlin vystavených 0,1 M sacharóze byly patrné statisticky významné rozdíly (Obr. 6). Genotyp 8765 vykazoval nejvyšší hodnoty osmotického potenciálu, zatímco genotyp ‘Saaz Shine’ dosahoval hodnot nejnižších, což naznačuje odlišné strategie osmotické regulace. Po výpočtu osmotického přizpůsobení (rozdíl osmotického potenciálu mezi kontrolní a stresovou variantou) nebyly rozdíly mezi genotypy statisticky významné (Obr. 7), přesto všechny vykazovaly tendenci k poklesu osmotického potenciálu v podmínkách stresu.



Obr. 3: Růst tří klonů chmele (Saaz Shine, Oswaldův klon 72 a Tusham) při různých koncentracích sacharózy



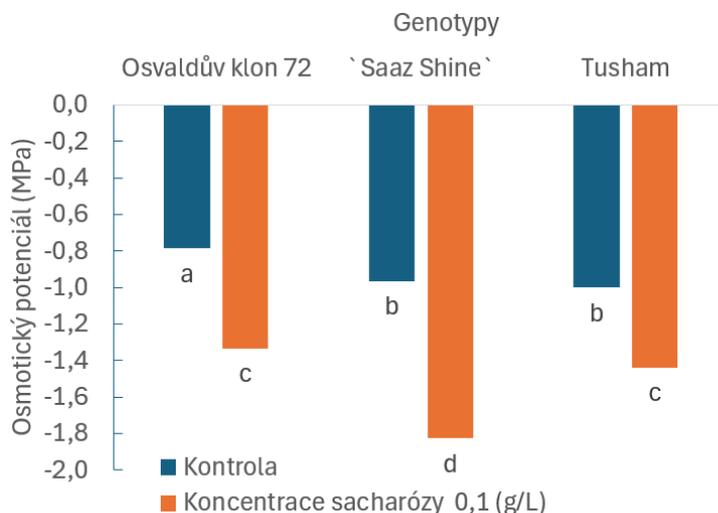
Obr. 4: Obsah vody u tří klonů chmele (Saaz Shine, Oswaldův klon 72 a Tusham) při různých koncentracích sacharózy



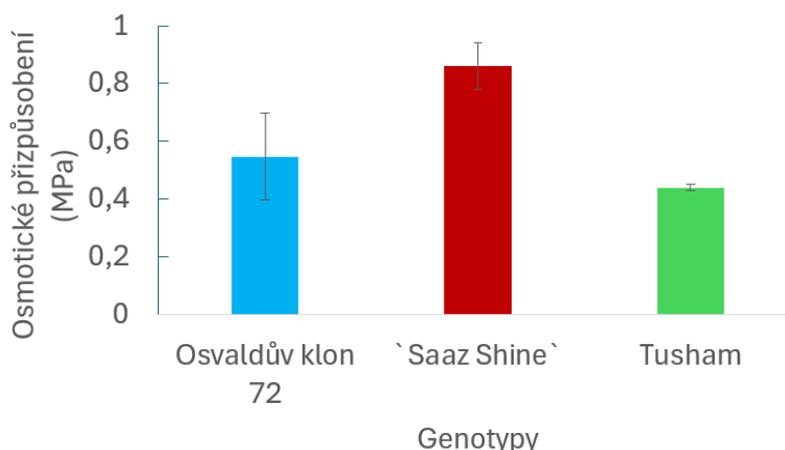
Obr. 5: Osmotický potenciál klonů chmele (Saaz Shine, Oswaldův klon 72 a Tusham) při různých koncentracích sacharózy

Výsledky naznačují, že všechny testované genotypy aktivovaly mechanismy osmotického přizpůsobení, ale jejich efektivita byla různá. Zjištěný pokles osmotického potenciálu spojený

s udržení růstu a vyšším obsahem vody ukazuje na aktivní OA, zatímco pokles doprovázený výraznou dehydratací pletiv signalizuje spíše pasivní osmotickou dehydrataci (Blum, 2017; Mahmood et al., 2020). V praxi tedy může být udržení růstu při stresu sekundárním projevem OA, protože adjustace osmotického potenciálu umožňuje obnovu turgoru potřebného pro buněčnou expanzi.



Obr. 6: Osmotický potenciál (MPa) tří genotypů chmele – Osvaldův klon 72, Saaz Shine a Tusham – v kontrolních podmínkách a po aplikaci roztoku sacharózy o koncentraci 0,1 g L<sup>-1</sup>



Obr. 7: Osmotické přizpůsobení (MPa) u tří genotypů chmele (Osvaldův klon 72, Saaz Shine a Tusham) vyjádřené jako rozdíl v osmotickém potenciálu mezi rostlinami pěstovanými za kontrolních podmínek a rostlinami po expozici roztoku sacharózy (0,1 g L<sup>-1</sup>).

Rozdíly mezi genotypy chmele naznačují, že rostliny využívají různé strategie přizpůsobení (Munns & Tester, 2008). U genotypů, které si dokázaly udržet růst při méně záporném osmotickém potenciálu, lze předpokládat převahu strategie „avoidance“ (vyhýbání se stresu). Naopak genotypy vykazující výraznější snížení osmotického potenciálu pravděpodobně uplatňují mechanismus „true osmotic adjustment“ (skutečné osmotické přizpůsobení) (Blum, 2017). Z fyziologického hlediska představuje osmotická adjustace univerzální mechanismus odpovědi rostlin na osmotický stres, sucho i zasolení. V podmínkách zasolení se navíc kombinuje s mechanismy udržení iontové homeostázy a kompartmentace (Munns & Tester,

2008). V našem experimentu, kde nedocházelo k nadbytku iontů, lze předpokládat, že OA byla zajištěna především akumulací organických kompatibilních osmolytů, které jsou s metabolismem rostlin slučitelné, i když jejich syntéza představuje energeticky náročný proces (Blum, 2017; Verslues et al., 2006). Genotypy, které při stejné osmotické zátěži (např. 0,1 M sacharózy) udržely vyšší růst a relativně vyšší obsah vody při zápornějším osmotickém potenciálu, představují vhodné kandidáty pro šlechtění na odolnost vůči suchu či osmotickému stresu. Osmotické přizpůsobení tak může sloužit jako jeden z fyziologických markerů k toleranci k vodnímu deficitu.

### Závěr

Rostliny chmele pěstované *in vitro* reagovaly na dlouhodobé působení osmotického stresu omezením růstu, snížením obsahu vody a poklesem osmotického potenciálu. Rozdíly mezi genotypy ukazují na variabilitu mechanismů osmotické adjustace. Genotypy, které udržely vyšší růst při nižším osmotickém potenciálu, lze považovat za odolnější k vodnímu stresu. U citlivých genotypů, které reagují silným poklesem osmotického potenciálu a zároveň i omezením růstu, lze předpokládat pokles nárůstu hmoty a výnosu v podmínkách sucha. Osmotické přizpůsobení v prostředí *in vitro* představuje vhodný fyziologický ukazatel pro selekci genotypů tolerantních k suchu.

### Dedikace

Práce byla podpořena projektem NAZV QL24010353.

### Literatura

- Bajji, M., Kinet, J. M., & Lutts, S. (2002). The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. *Plant Growth Regulation*, 36(1), 61–70.
- Blum, A. (2017). Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production. *Plant, Cell & Environment*, 40(1), 4–10.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. M. A. (2009). Plant drought stress: Effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, 29, 185–212.
- Mahajan, S., & Tuteja, N. (2005). Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444(2), 139–158.
- Morgan, J. M. (1984). Osmoregulation and water deficit in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 35, 299–319.
- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651–681.
- Verslues, P. E., Agarwal, M., Katiyar-Agarwal, S., Zhu, J., & Zhu, J.-K. (2006). Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing. *The Plant Journal*, 45(4), 523–539.
- Szabados, L., & Saviouré, A. (2010). Proline: A multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*, 15(2), 89–97.
- Kolenc, Z., Vodnik, D., Mandelc, S., Javornik, B., Kastelec, D., & Čerenak, A. (2016). Hop (*Humulus lupulus* L.) response mechanisms in drought stress: proteomic analysis with physiology. *Plant physiology and biochemistry*, 105, 67-78.
- Mahmood, T., Ashraf, M., & Shahbaz, M. (2020). Incredible role of osmotic adjustment in grain yield sustainability under water scarcity conditions in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plants*, 9(9), 1208. <https://doi.org/10.3390/plants9091208>
- Mandour, H. M., Soliman, S. S. A., Abd El-Hady, M. S., Mahmoud, A. A., & El-Naggar, H. M. (2015). In vitro selection for drought tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *International Journal of ChemTech Research*, 8(9), 318-333.

Murashige T., Skoog F.A., 1962, A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant* 15, s. 473–497.

Faltus, M., Bilavcik, A., Zamecnik, J. and Svoboda, P. 2007. Effect of phytohormone composition of nutrient medium on in vitro plant regeneration in hop clones with different sensitivity to indole-3-butyric acid. *Advances in Horticultural Science* 21:219-224.

### **Kontaktní adresa**

Lesia Golosna, Ph.D

Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu v.v.i.

Drnovská 507/73, 161 00 Praha 6 - Ruzyně

+420 233 022 425

## Fenotypová diverzita vybraných odrôd pšenice v kontrolovaných a poľných podmienkach

Phenotypic diversity among selected wheat varieties  
grown under controlled and field conditions

Hauptvogel P.<sup>1</sup>, Panzarová, K.<sup>2</sup>, Matušíková, P.<sup>3</sup>, Abdelhakim L.<sup>2</sup>, Hauptvogel, R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum - Výskumný ústav rastlinnej výroby, Bratislavská cesta 122, Piešťany; <sup>2</sup>PSI (Photon Systems Instruments), spol. s r.o., Drásov 470, Drásov; <sup>3</sup>Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave, Námestie J. Herdu 577/2, Trnava

### Abstrakt

Štúdia hodnotí fenotypovú diverzitu vybraných genotypov tvrdej pšenice (*Triticum durum*, *T. turgidum*) pochádzajúcich zo Slovenska, Grécka a Maroka v kontrolovaných a poľných podmienkach v rokoch 2024–2025. Multisenzorové Fenotypovanie v systéme PSI umožnilo sledovať rastové, fyziologické a spektrálne ukazovatele vrátane digitálnej biomasy (RGB), teploty listov ( $\Delta T$ ), efektivity fotosystému II (Fv/Fm) a vegetačných indexov (NDVI). Tieto znaky sa potvrdili ako prenositeľné a prediktívne pre hodnotenie odolnosti voči suchu a stability produkcie v poľných pokusoch. Najvýraznejšie rozdiely medzi testovanými genotypmi sa prejavili v parametri  $\Delta T$  a fotosyntetickej aktivite Fv/Fm, ktoré odrážajú rozdielnu úroveň vodného stresu. Zistenia potvrdzujú, že kombinácia kontrolovaných a poľných meraní poskytuje robustný rámec pre výber tolerantných línií a zefektívňuje šľachtiteľské programy zamerané na adaptáciu pšenice na klimatické zmeny.

**Kľúčové slová:** tvrdá pšenica, fenotypová diverzita, multisenzorové fenotypovanie, stres zo sucha, fotosyntetická stabilita, adaptácia

### Abstract

The study evaluated the phenotypic diversity of selected durum wheat genotypes (*Triticum durum*, *T. turgidum*) originating from Slovakia, Greece and Morocco under controlled and field conditions during 2024–2025. Multisensor phenotyping using the PSI system enabled the assessment of growth, physiological and spectral traits, including digital biomass (RGB), leaf temperature ( $\Delta T$ ), photosystem II efficiency (Fv/Fm) and vegetation indices (NDVI). The most pronounced differences among genotypes were observed in  $\Delta T$  and Fv/Fm parameters, reflecting distinct levels of water stress and photosynthetic performance. The findings demonstrate that combining controlled and field measurements provides a robust framework for identifying stress-tolerant wheat lines and supports breeding strategies aimed at improving adaptation to climate variability.

**Keywords:** durum wheat, phenotypic diversity, multisensor phenotyping, drought stress, photosynthetic stability, adaptation

### Úvod

Pšenica (*Triticum* spp.) patrí medzi najvýznamnejšie obilniny sveta a je základom potravinovej bezpečnosti vo väčšine regiónov s miernym a suchším podnebím. Jej produkčný potenciál a stabilita sú však čoraz viac ovplyvňované pôsobením abiotických stresov, najmä sucha a vysokých teplôt, ktoré negatívne ovplyvňujú procesy fotosyntézy, plnenie zrna a efektivitu využitia vody (Fischer et al., 2018). V meniacich sa klimatických podmienkach preto nadobúda zásadný význam rozmanitosť genetických zdrojov pšenice, ktorá umožňuje výber a šľachtenie odrôd s vyššou toleranciou voči stresu a lepšou adaptačnou plasticitou (Royo et al., 2020).

Fenotypová diverzita pšenice predstavuje základ pre identifikáciu adaptívnych morfofyziologických znakov, ktoré prispievajú k stabilnej produkcii v podmienkach environmentálneho stresu. Tradičné hodnotenia založené na agronomických ukazovateľoch však často nedokážu zachytiť dynamické zmeny v priebehu vegetácie a neumožňujú dostatočne presné rozlíšenie genotypov podľa ich fyziologickej odozvy. V posledných rokoch preto

zaznamenal výrazný rozvoj prístup presného a multisenzorového fenotypovania, ktorý využíva neinvazívne optické a termálne technológie na hodnotenie fyziologického stavu rastlín v reálnom čase. Tento prístup umožňuje prepojiť rastové a metabolické procesy s výslednou úrodou, a tým zvyšuje efektivitu selekcie v šľachtiteľských programoch (Deery & Jones, 2021). Najspoľahlivejšie výsledky pri hodnotení odolnosti genotypov poskytuje kombinácia kontrolovaných a poľných pokusov, ktorá umožňuje overiť prenos fenotypových reakcií z experimentálneho prostredia do reálnych podmienok pestovania (Reynolds et al., 2021, Xu, Y., & Reynolds, M. P., 2021). Laboratórne systémy, ako PSI (Photon Systems Instruments), ponúkajú presné sledovanie rastovej dynamiky, transpirácie a fotosyntetickej stability, zatiaľ čo poľné experimenty reflektujú prirodzenú variabilitu prostredia a umožňujú komplexné posúdenie produkčného potenciálu. Integrácia týchto prístupov predstavuje kľúčový krok smerom k vytvoreniu prediktívnych modelov adaptability, ktoré spájajú fyziologické, spektrálne a výnosové parametre.

Cieľom tejto práce bolo zhodnotiť fenotypovú diverzitu vybraných genotypov tvrdej pšenice (*Triticum durum*, *T. turgidum*) pochádzajúcich zo Slovenska, Grécka a Maroka v dvoch experimentálnych prostrediach – v kontrolovaných podmienkach automatizovaného fenotypizačného systému PSI a v poľných podmienkach v rokoch 2024–2025. Práca sa zamerala na identifikáciu kľúčových fyziologických a morfológických znakov prenositeľných medzi prostrediami a na posúdenie ich významu pre odolnosť voči suchu, stabilitu fotosyntetickej aktivity a úrodový potenciál genotypov.

### **Materiál a metódy**

V experimente bolo hodnotených päť jarných tvrdých pšeníc (*Triticum durum* a *Triticum turgidum*) pochádzajúcich zo Slovenska, Grécka a Maroka. Testované boli genotypy IS Durablank (Slovensko), PI 264933, PI 264936 a PI 264934 (Grécko) a 1296/PI 525406 (Maroko), všetky s jarným vegetačným typom.

Poľný pokus bol realizovaný v lokalite Piešťany (NPPC – VÚRV), ktorá sa nachádza v mierne teplej klimatickej oblasti s priemernou ročnou teplotou 9,5–10,0 °C a ročnými zrážkami 540–600 mm. Pokus bol založený v randomizovanom blokovom dizajne s dvoma opakovaniami, veľkosťou parcelky 2 m<sup>2</sup> a celkovou výmerou 148,8 m<sup>2</sup>. Hnojenie sa uskutočnilo minerálnymi hnojivami MAP a močovinou v dávke približne 200 kg/ha podľa podmienok ročníka. Aplikácia zinku bola vykonaná postrekom Herbavital (99 ml/ha; obsah Zn = 10 mg/l, chelátová forma). Klimatické podmienky počas vegetačných období rokov 2024 a 2025 sa líšili predovšetkým v rozložení zrážok a teplotnom priebehu. Medziročné rozdiely boli zohľadnené pri interpretácii fenotypovej variability a interakcie genotypu s prostredím. Fenotypovanie zahŕňalo hodnotenie fenologických znakov, zdravotného stavu porastu a úrodovných parametrov. Počet dní od sejby po vyhodenie klasu, kvitnutie a zrelosť bol zaznamenávaný ako ukazovateľ rýchlosti vývinu. Pri zbere sa stanovila hmotnosť tisíc zŕn (HTZ) a úroda zrna prepočítaná na t·ha<sup>-1</sup> (Klasifikátor – Descriptor list genus *Triticum* L., 2004).

Súbežne s poľným experimentom prebiehalo laboratórno-skleníkové fenotypovanie tých istých genotypov v technologickom systéme PSI (*Photon Systems Instruments*), spol. s r.o., Drásov. V kontrolovanom prostredí boli použité senzory pre RGB imaging (výška, habitus porastu, listová plocha, digitálna biomasa), IR imaging (teplota listov, ΔT), chlorofylovú fluorescenciu (efektivita PSII – Fv/Fm\_Lss) a hyperspektrálne snímanie (NDVI a spektrálne indexy). Merania prebiehali počas troch fáz: D1 – počiatočný suchý stres, R – obnova hydratácie, D2 – opakovaný stres („pamäť stresu“). Rastové, fyziologické a vodohospodárske boli následne porovnávané s poľnými ukazovateľmi, ako sú rastová výška, vitalita porastu (LAI, NDVI), vodný status a úrodovné vlastnosti v podmienkach sucha a stresu.

Štatistická analýza bola vykonaná v programovom prostredí *Python* s využitím knižníc *statsmodels*, *scikit-learn* a *matplotlib*. Účinky roku a faktora (kontrola vs. zinok) boli testované

dvojfaktorovou analýzou rozptylu (Two-way ANOVA) s interakciou. Multivariačné vzťahy medzi znakmi a genotypmi boli zhodnotené pomocou analýzy hlavných zložiek (PCA), ktorá umožnila zachytiť komplexné vzťahy a identifikovať kľúčové determinanty produkčného potenciálu a odolnosti pšenice v rôznych prostrediach.

### Výsledky

Hodnotenie fenotypovej diverzity vybraných odrôd tvrdej pšenice bolo realizované v dvoch komplementárnych prostrediach – v kontrolovaných podmienkach automatizovaného fenotypizačného systému a v poľných podmienkach reprezentujúcich reálne produkčné situácie. V kontrolovaných podmienkach boli monitorované parametre rastu, pigmentácie a stresovej odozvy rastlín. V poľných podmienkach sa hodnotili najmä fenologické fázy, výška rastlín, zdravotný stav porastu a výnosové komponenty. Výsledky ukázali mierne pozitívny, hoci štatisticky nevýznamný vplyv aplikácie zinku na hmotnosť tisíc zŕn (HTZ) v oboch sledovaných rokoch (Tabuľka 1). Pokles HTZ a zvýšená variabilita v roku 2025 poukazujú na negatívny vplyv suchších podmienok počas vegetácie.

Tabuľka 1. Priemery skupín v hmotnosti tisíc zŕn (HTZ)

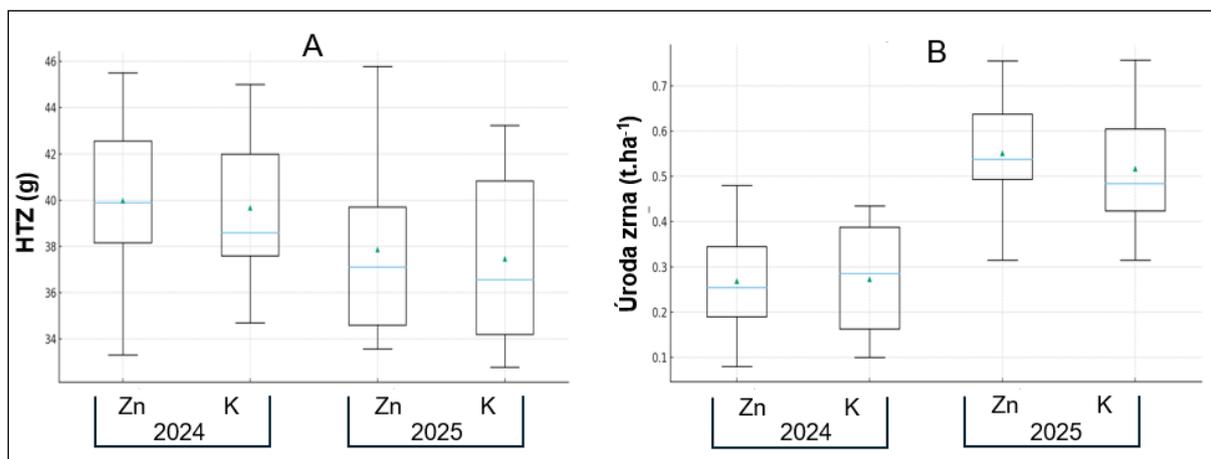
Rok	Variant	Priemer	SD ( $\pm$ )	95 % IS – dolná hranica	95 % IS – horná hranica	CV (%)
2024	Zinok	39,98	3,616	37,977	41,983	9,0
2024	kontrola	39,68	3,355	37,822	41,538	8,5
2025	Zinok	37,871	4,192	35,549	40,192	11,1
2025	kontrola	37,457	3,655	35,433	39,481	9,8

Pri úrode zrna sa rozdiely medzi variantmi prejavili výraznejšie až v roku 2025 (Tabuľka 2). Kým v roku 2024 boli úrody rôznych variantov takmer identické, v nasledujúcom roku zinok podporil vyššiu produkciu a zároveň znížil variabilitu hodnotení. Účinok biofortifikácie sa prejavuje výraznejšie v závislosti od environmentálneho stresu, pričom priaznivejšie podmienky umožnili lepšie využitie zinku v metabolizme rastlín.

Tabuľka 2. Priemery skupín v úrode zrna

Rok	Variant	Priemer	SD ( $\pm$ )	95 % IS – dolná hranica	95 % IS – horná hranica	CV (%)
2024	Zinok	0,269	0,121	0,202	0,335	44,9
2024	kontrola	0,273	0,118	0,208	0,338	43,3
2025	Zinok	0,551	0,133	0,477	0,625	24,1
2025	kontrola	0,517	0,137	0,441	0,593	26,5

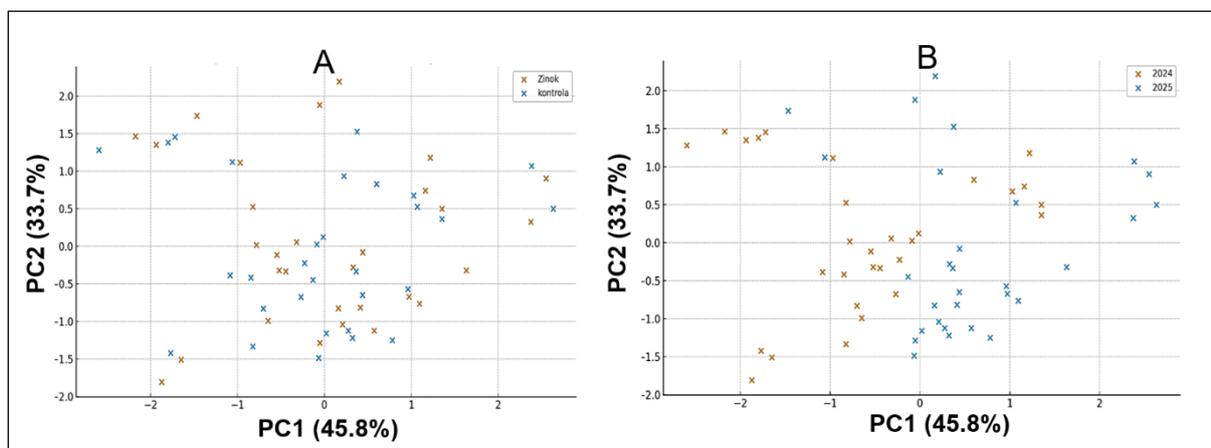
Analýza rozptylu (Two-way ANOVA) potvrdila štatisticky významný vplyv ročníka na HTZ ( $p = 0,028$ ) aj na úrodu zrna ( $p < 0,001$ ), zatiaľ čo faktor aplikácie zinku ani interakcia neboli významné. To potvrdzuje, že rozhodujúcim determinantom produkčných parametrov bola sezónna variabilita prostredia, najmä rozdelenie zrážok a teplotný priebeh. Vizualizácia rozdelenia hodnôt (Obr. 1) naznačuje, že HTZ bola v roku 2025 nižšia a rozptyl hodnôt väčší, čo poukazuje na vyšší stres. Pri úrode zrna bol rok 2025 naopak produktívnejší, pričom variant so zinkom vykazoval mierne vyššie mediány a menšiu variabilitu ako kontrola. Hoci štatistická významnosť nebola preukázaná, trend poukazuje na mierne pozitívny efekt zinku na stabilitu úrody.



Obr. 1 Boxplot hmotnosti tisícich zrn (A) a úrody zrna (B) podľa ročníka a variantu (kontrola K, zinok Zn).

Zhrnutie grafických aj štatistických analýz jednoznačne ukazuje, že dominantným faktorom ovplyvňujúcim produktívne znaky bol ročník. Biofortifikácia zinkom sa prejavila len ako sekundárny, avšak konzistentný faktor s potenciálom zlepšiť stabilitu produkcie v priaznivejších podmienkach. Vyššia variabilita v menej priaznivom roku 2025 súčasne potvrdzuje väčší význam genetických rozdielov medzi hodnotenými genotypmi.

Analýza hlavných komponentov (PCA) (Obr. 2) vysvetlila 79,5 % variability (PC1 = 45,8 %, PC2 = 33,7 %). Prvý komponent (PC1) oddeľovala genotypy podľa produkčného výkonu (úroda zrna, pozitívne zaťaženie) a neproduktívneho rastu (VR, negatívne zaťaženie).



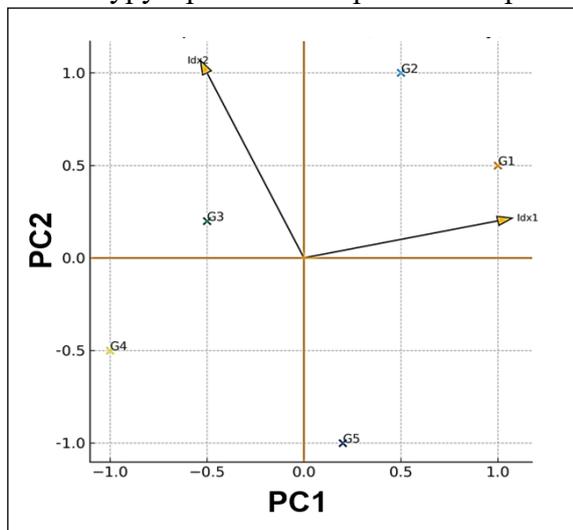
Obr. 2 Analýzy hlavných komponentov (PCA) produktívnych znakov zrna (výška rastlín, HTZ, úroda zrna) podľa faktora (kontrola vs. Zinok) (A) a podľa ročníka (2024 – oranžové značky vs. 2025 – modré značky) (B).

Druhý komponent (PC2) odrážala hmotnosť tisíc zrn (HTZ) ako ukazovateľ kvalitatívnej stability. Rozloženie genotypov podľa variantov (Obr. 2A) neodhalilo výraznú separáciu medzi zinkom a kontrolou, no varianty so zinkom vykazovali stabilnejšie pozície v smere vyšších úrod (Obr. 2B). Rozdelenie podľa ročníkov ukázalo jasnú separáciu medzi rokmi 2024 a 2025, čo potvrdzuje dominantný vplyv prostredia. Genotypy z roku 2025 sa sústreďovali v oblasti spájanej s vyššou úrodou a HTZ, zatiaľ čo tie z roku 2024 boli charakteristické vyššou vegetatívnou aktivitou. Analýzy ukázali, že vitalita rastu (VR) mala silnú pozitívnu koreláciu s produkčnými znakmi, zatiaľ čo pri nadmernom vegetatívnom raste sa objavila negatívna väzba

na tvorbu zrna. To naznačuje, že nadmerný vegetatívny rast môže byť na úkor tvorby zrna, najmä v suchších rokoch.

Genotypovanie genotypov tvrdej pšenice v automatizovanom systéme PSI – Photon Systems Instruments presne zachytilo rastové a fyziologické odpovede rastlín na kontrolované suchu. Pokus mal tri fázy: D1 – počiatočný suchý stres, R – obnova hydratácie a D2 – opakovaný stres (pamäť stresu), čím simuloval bežné opakované suchu v stredomorských aj kontinentálnych oblastiach. Multisenzorové merania prepojili štruktúru, fyziológiu a biochemické prejavy s produkčným potenciálom. Najviac rozlišovali rastové ukazovatele z RGB (výška, objem, habitus) počas vegetácie; potvrdili významnú pozitívnu koreláciu medzi úrodou zrna ( $r = 0,68$ ) a hmotnosťou tisíc zŕn ( $r = 0,61$ ). Genotypy G1 (IS Durablank) a G3 (PI 264936) dosiahli už v ranom štádiu najvyšší objem porastu, čo svedčí o rýchlej akumulácii biomasy, a tento trend potvrdili aj poľné pokusy. Lineárny vzťah medzi objemom z RGB a úrodou ukázal, že rýchlejší skorý rast a rýchle zapojenie porastu zvyšujú využitie svetla, vody a živín a vedú k vyššiemu výnosovému potenciálu.

Termálne snímanie (IR imaging) poskytlo informácie o vodnom režime rastlín prostredníctvom rozdielu medzi teplotou listov a okolia ( $\Delta T$ ). Genotypy G1 a G3 dosahovali trvalo nižšie  $\Delta T$  (36–45 DAS), čím preukázali schopnosť udržiavať aktívny vodný tok aj počas stresu. Fluorescenčné merania (chlorofylová fluorescencia) doplnili termálne údaje o fyziologickú odozvu fotosystému II (PSII). Parameter  $F_v/F_m$  (56–65 DAS) odrážal integritu fotosyntetického aparátu, pričom vyššie hodnoty poukazovali na stabilnú fotosyntetickú účinnosť. Negatívna korelácia medzi  $F_v/F_m$  a  $\Delta T$  dokumentovala, že rastliny s lepšou reguláciou transpirácie udržiavali zároveň vyššiu fotosyntetickú stabilitu. Analýza týchto parametrov preukázala, že genotypy G1 a G3 kombinovali efektívnu vodnú reguláciu (nízke  $\Delta T$ ) s vysokou fotosyntetickou stabilitou ( $F_v/F_m > 0,79$ ), čo ich predurčuje ako fyziologicky odolné typy s potenciálom pre suchšie prostredia.



Obr. 3 PCA biplot – rozlíšenie genotypov podľa spektrálnej odozvy (40–60 DAS).

Získali sme údaje, ktoré umožnili nielen vyčíslit' efektívnosť využitia vody (WUE) odrôd ale aj porovnať ju s produkčnými ukazovateľmi. Genotyp G3 dosiahol vyšší výnos pri rovnakej alebo nižšej spotrebe vody, takže je vodne efektívnejší; genotyp G5 mal pri podobnej spotrebe vody nižší výnos. Vzťah medzi ukazovateľom dostupnosti vody a hmotnosťou tisíc semien potvrdil, že rastliny s lepšou vodnou efektívnosťou držia výnos aj pri suchu. Hyperspektrálne merania vo viditeľnom, blízkom a krátkovlnnom infračervenom pásme a následná analýza hlavných komponentov ukázali, že prvá komponenta súvisí najmä s obsahom vody a druhá s pigmentmi. V tomto priestore sa slovenský G1 viazal s vyšším obsahom vody, marocký G5 s nižším obsahom vody a silnejšou pigmentovou odozvou, kým grécke G2–G4 boli stredové. Integrácia VNIR a

SWIR údajov potvrdila, že kombinované spektrálne informácie spoľahlivo diferencujú genotypy podľa ich fyziologickej odozvy a potenciálu na udržanie produkcie v stresových podmienkach (Obr. 3).

Multisenzorová analýza poskytla robustný súbor údajov, ktoré preukázali vysokú prediktívnu hodnotu pre poľnú výkonnosť. Korelačné väzby medzi RGB objemom,  $F_v/F_m$ ,  $\Delta T$  a WUE na jednej strane a úrodou zrna či HTZ na druhej strane potvrdzujú, že fyziologická stabilita rastlín

počas raných fáz vegetácie úzko súvisí s ich neskoršou produkčnou výkonnosťou. Najvyššiu konzistenciu medzi laboratórnym a poľným prostredím vykazovali parametre Fv/Fm a RGB\_Volume, ktoré sa ukázali ako spoľahlivé indikátory pre výber tolerantných genotypov. Tieto premenné významne prispievajú k separácii genotypov podľa produktívnych vlastností a sú vhodné pre modelovanie adaptability v rôznych klimatických scenároch. Výsledky tak demonštrujú, že multisenzorové fenotypovanie poskytuje komplexný a kvantitatívne konzistentný obraz o fyziologickej výkonnosti genotypov, pričom znižuje závislosť od environmentálnych fluktuácií v poľných podmienkach. V kombinácii so štatistickými metódami (PCA, korelačné modely, ANOVA) predstavuje táto metodika moderný prístup pre výber genotypov tvrdej pšenice s vyššou toleranciou k suchu, stabilnejším fotosyntetickým aparátom a efektívnejším vodným režimom.

## Diskusia

Hodnotenie genotypov tvrdej pšenice v dvoch umožnilo porovnať rastové a fyziologické reakcie na suchu a zachytiť skoré stresové signály pomocou multisenzorového prístupu (RGB, termálne, fluorescenčné a hyperspektrálne merania). Identifikované znaky sú prenositeľné do poľa aj bezpilotných meraní a vhodné na operatívny monitoring rastu a stresu (Deery & Jones, 2021; Jin et al., 2020).

RGB ukazovatele (výška, objem, habitus) spoľahlivo kvantifikovali dynamiku rastu; nižší rast a menší objem porastu počas sucha indikovali vyššiu citlivosť genotypov a dobre korelovali s agronomickými parametrami a úrodou (Xu, Y., & Reynolds, M. P., 2021). Termálne merania listovej teploty ( $\Delta T$ ) počas stresu odhalili obmedzenú transpiráciu a zhoršený vodný režim, čo je priamo využiteľné na mapovanie vodného stresu v poraste a selekciu genotypov so stabilnou prieduchovou reguláciou (Fischer et al., 2018).

Fotosyntetická výkonnosť vyjadrená parametrom Fv/Fm\_Lss potvrdila svoju citlivosť na vodný stres: pokles efektivity fotosystému II zodpovedal zníženej asimilačnej kapacite, zatiaľ čo genotypy s vyšším Fv/Fm vykazovali stabilnejšiu fyziologickú kondíciu. Tento parameter je využiteľný aj v poľných podmienkach prostredníctvom fluorometrie alebo UAV-fluorescenčných meraní (Gracia-Romero et al., 2023) a slúži ako citlivý prediktor tolerancie k suchu. Vegetatívne indexy, najmä NDVI, dlhodobo odhaľovali stabilitu fotosyntetického aparátu; vyššie hodnoty NDVI boli spojené s vyššou odolnosťou voči stresu (Zhang et al., 2022; Ram et al., 2024). Kontinuálne sledovanie NDVI a príbuzných indexov (SIPI, MCARI1, OSAVI) je preto vhodné na neinvazívne hodnotenie vitality porastu.

Kombinácia rastovej biomasy (RGB), teploty listov ( $\Delta T$ ), parametra Fv/Fm a indexu NDVI vytvorila robustný rámec na hodnotenie odolnosti pšenice voči suchu. Prenos týchto znakov zo systému PSI do poľných experimentov umožnil fyziologicky prepojiť laboratórne a terénne pozorovania. Korelácie medzi znakmi v PSI a v poli potvrdili ich prediktívnu hodnotu: genotypy G1 (IS Durablank) a G3 (PI 264936) mali vyššie Fv/Fm, nižšie  $\Delta T$  a vyššiu efektívnosť využitia vody, čo je v zhode s adaptačnými stratégiami opísanými Royo et al. (2020). Genotyp G5 (1296, Maroko) naopak prejavil nižšiu odolnosť, pravdepodobne pre iný ekologický pôvod.

Výsledky ANOVA ukázali, že úrodu a hmotnosť tisíc zŕn najviac ovplyvnil ročník, čo potvrdzujú aj Sall et al. (2020). Účinok biofortifikácie zinkom bol mierny, no konzistentný, v súlade s mechanizmami opísanými Cakmak (2008) a Broadley & White (2011). Korelácie medzi vegetačnou biomasou, HTZ a úrodou potvrdili, že nadmerný vegetatívny rast môže znižovať efektívnu tvorbu zrna (Reynolds et al., 2021).

Z metodologického hľadiska štúdia ukazuje, že multisenzorové merania výrazne zvyšujú presnosť fenotypovania a umožňujú sledovať rýchle fyziologické zmeny (Deery & Jones, 2021). Zhoda laboratórných a poľných výsledkov podporuje závery Xu & Reynolds (2021) a Sankaran et al. (2019) o vysokej reprodukovateľnosti multisenzorových metód. Kombinácia

RGB,  $\Delta T$ , Fv/Fm a NDVI tak poskytuje kvantitatívne overený systém pre selekciu genotypov s vyššou stabilitou a odolnosťou voči suchu. Integrácia multisenzorových, genetických a metabolomických údajov predstavuje perspektívny smer pre šľachtenie odrôd s vysokou adaptabilitou (Reynolds et al., 2021; Zhang et al., 2023).

### Záver

Kombinácia kontrolovaného systému PSI a poľných pokusov zachytila fenotypovú variabilitu a stresové reakcie tvrdej pšenice. Multisenzorové merania v PSI rozlíšili genotypy podľa fyziologických znakov ( $\Delta T$ , Fv/Fm, WUE) a spektrálnej odozvy, kým v poli sa potvrdila ich agronomická výkonnosť. Kľúčové štyri parametre – RGB biomasa, teplota listov ( $\Delta T$ ), efektívnosť fotosystému II (Fv/Fm) a vegetačné indexy (NDVI) – boli konzistentné a dobre prenositeľné medzi prostrediami. Najväčšie rozdiely sa prejavili v amplitúde reakcií: v PSI dominovali fyziologické odlišnosti, v poli HTZ, výška a úroda; fenotypovú odozvu výrazne formovali zrážky a teploty. Identifikované znaky (RGB biomasa,  $\Delta T$ , Fv/Fm, NDVI) sú rýchle, neinvazívne markery odolnosti voči suchu, efektívnosti vodného režimu a stability fotosyntézy a prakticky podporujú výber rodičovských línií. Integrované rastové, termálne, fluorescenčné a hyperspektrálne dáta umožnili lepšiu charakterizáciu stresu a predikciu výnosu; genotypy s vyššou rastovou vitalitou, stabilnou fotosyntézou a efektívnym využitím vody dosahovali lepšie produkčné výsledky. Multisenzorové fenotypovanie sa ukázalo ako účinný nástroj na identifikáciu genotypov tvrdej pšenice tolerantných voči suchu a vhodných pre podmienky meniacej sa klímy.

### Literatúra

- Broadley, M. R., & White, P. J. (2011). *Zinc in plants: An overview*. Plant and Soil, 361(1–2), 1–8. <https://doi.org/10.1007/s11104-011-0890-9>
- Cakmak, I. (2008). *Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification?* Plant and Soil, 302, 1–17. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9466-3>
- Deery, D. M., & Jones, H. G. (2021). *High-throughput phenotyping for abiotic stress tolerance in cereals: Opportunities and challenges*. Plant, Cell & Environment, 44(11), 3500–3518. <https://doi.org/10.1111/pce.14117>
- Fischer, R. A., Byerlee, D., & Edmeades, G. O. (2018). *Crop yields and global food security: Will yield increase continue to feed the world?* ACIAR Monograph No. 158, Canberra.
- Gracia-Romero, A., Kefauver, S. C., & Araus, J. L. (2023). *Field phenotyping of photosynthesis-related traits using proximal and remote sensing*. Frontiers in Plant Science, 14, 1178481. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1178481>
- Jin, X., Liu, S., Baret, F., Hemerlé, M., & Comar, A. (2020). *Estimation of plant water status by the combination of hyperspectral and thermal infrared measurements*. Remote Sensing of Environment, 237, 111532. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2019.111532>
- Klasifikátor – Descriptor list genus *Triticum* L., Výskumný ústav rastlinnej výroby, Piešťany. Interný metodický dokument, 2004. 92 s. Nepochikované, dostupné v NPPC – VÚRV Piešťany na vyžiadanie.
- Ram, M., Singh, D., & Sharma, R. (2024). *Spectral indices for assessing drought tolerance and yield stability in durum wheat under Mediterranean stress*. Agricultural Water Management, 296, 108669. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2023.108669>
- Reynolds, M. P., Langridge, P., & Izanloo, A. (2021). *Phenotyping approaches integral to breeding for crop adaptation*. Journal of Experimental Botany, 72(10), 3661–3675. <https://doi.org/10.1093/jxb/erab111>
- Royo, C., Álvaro, F., Martos, V., Ramdani, A., Isidro, J., Villegas, D., & del Moral, L. F. G. (2020). *Genetic resources and breeding of durum wheat for adaptation to Mediterranean*

- environments*. In *Durum Wheat: Chemistry and Technology* (AACC International), 89–112. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819876-2.00005-1>
- Sall, A. T., Chiari, T., Legesse, W., Seid-Ahmed, K., Ortiz, R., van Ginkel, M., & Bassi, F. M. (2020). *Assessing genotype × environment interaction for yield and related traits in durum wheat under drought conditions*. *Euphytica*, 216, 56. <https://doi.org/10.1007/s10681-020-02584-4>
- Sankaran, S., Khot, L. R., Espinoza, C. Z., Jarolmasjed, S., & Sathuvalli, V. R. (2019). *High-throughput field phenotyping in cereals: Integrating remote sensing technologies to predict yield and stress response*. *Agronomy*, 9(10), 596. <https://doi.org/10.3390/agronomy9100596>
- Xu, Y., & Reynolds, M. P. (2021). *Breeding for heat and drought tolerance in wheat: Progress and prospects*. *Theoretical and Applied Genetics*, 134, 1693–1708. <https://doi.org/10.1007/s00122-021-03759-9>
- Zhang, X., et al. (2022). *NDVI-based phenotyping for drought tolerance in wheat: A multi-environment approach*. *Field Crops Research*, 288, 108712. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2022.108712>

### **Pod'akovanie**

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-21-0504

### **Kontakt:**

Ing. Pavol Hauptvogel, PhD.

Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum - Výskumný ústav rastlinnej výroby

Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany

E: pavol.hauptvogel@nppc.sk ; T: +421 33 7947 272

## Molekulární charakteristika kolekce genetických zdrojů zelenin

### Molecular characteristics of vegetable genetic resources collections

Jozová E.<sup>1</sup>, Misginna S.G.<sup>1</sup>, Kamulegeya P.<sup>1</sup>, Gaoua O.<sup>1</sup>, Röslerová P.<sup>1</sup>, Rost M.<sup>1</sup>, Čurn V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta zemědělská a technologická, Katedra genetiky a biotechnologií

#### Abstrakt

Rozvoj intenzivního šlechtění rostlin zapříčinil v posledních padesáti letech výrazné zúžení genetické základny moderních odrůd. O to více je problematické tyto odrůdy identifikovat pouze na základě tradičních morfologických znaků. Z tohoto důvodu jsou do šlechtění čím dál tím více zaváděny techniky založené na použití molekulárních markerů. Tyto metody nejsou ovlivněny žádnými biotickými a abiotickými faktory, proto jsou výsledky z nich opakovatelné a dobře reprodukovatelné. Jednou z nejpoužívanějších metod jsou mikrosatelitové markery, které poskytují velké množství informací vhodných pro použití v novošlechtění. Pro tuto studii bylo po optimalizaci vybráno sedm mikrosatelitových markerů a jejich ověření bylo aplikováno celkem na 33 vzorcích zeleniny z čeledi *Apiaceae*. Pomocí těchto markerů bylo možné odlišit vzorky na úrovni druhů, ale i variet a v případě mrkev i na úrovni odrůd.

**Klíčová slova:** šlechtění rostlin, genetická diverzita, SSR, molekulární markery

#### Abstract

Plant breeding and the development of modern breeding techniques have led to a significant narrowing of the genetic base and loss of genetic diversity over the last fifty years. This makes it all the more challenging to identify modern cultivars based solely on traditional morphological characteristics. For this reason, techniques based on the use of molecular markers are increasingly being introduced into breeding. These methods are not influenced by any biotic or abiotic factors, so the results are repeatable and easily reproducible. One of the most widely used methods is the use of microsatellite markers, which provide a wealth of information suitable for new breeding applications. For this study, seven microsatellite markers were selected after optimisation, and their verification was applied to a total of 33 vegetable samples from the *Apiaceae* family. Using these markers, it was possible to distinguish samples at the species level, as well as at the variety level and, in the case of carrots, at the cultivar level.

**Keywords:** plant breeding, genetic diversity, SSR, molecular markers

#### Úvod

Rozvoj moderního šlechtění zapříčinil ve 20. století snižování genetické diversity, a to v důsledku pěstování odrůd, které jsou si často vzájemně velmi příbuzné (Rao a Hodgkin, 2002). Pěstování plodin bylo zaměřeno zejména na vysoce výnosné a kvalitní odrůdy. K tomuto přispívali jak zákazníci, kteří kladli důraz na neměnné hodnoty u jednotlivých odrůd, tak i samotní pěstitelé, kteří preferovali a preferují pěstování výnosnějších odrůd. Avšak bez široké základny pro výběr rodičovských komponent není možné, aby šlechtitelé na tyto vlastnosti dosáhli. Zúžování genetické diversity může mít tak výrazný vliv na vyšlechtění odrůd k biotickým i abiotickým stresům (Friedt et al., 2007). Nicméně právě z důvodu výběru jen na určité kvalitativní a kvantitativní parametry dochází u některých druhů ke značnému zúžení genetické variability, ztrátě řady cenných genů a vlastností tzv. planého charakteru a v důsledku pěstování těchto moderních odrůd pak k úplnému vymizení krajových odrůd, či primitivních odrůd (Zamir, 2001). Zúžování genetické diversity započalo již v samotných počátcích moderního šlechtění, kdy vznikaly nové odrůdy pomocí klasického křížení, F1 hybridního šlechtění, či pomocí využití dalších technologií (Messmer, 2015). Tím od roku 1900 postupně dochází k výrazné ztrátě cenných odrůd ve prospěch odrůd geneticky uniformních a vysoce výnosných. Uvádí se, že denně z tohoto důvodu dochází k vymizení až sta rostlinných druhů (Ehrlich a Ehrlich, 1983; Ficiciyan, 2018). Ztráta genetické diversity se považuje za největší problém ze současných nejzávažnějších ekologických problémů.

Rychlý a významný nárůst počtu odrůd, které jsou výsledkem intenzivního šlechtění, často s úzkou genetickou základnou, ztížil jejich identifikaci pomocí tradičních morfologických deskriptorů. Významný průlom v jednoznačné charakterizaci a identifikaci kultivarů přinesl vývoj technik založených na molekulárních markerech. Tyto výkonné nástroje detekují polymorfismus na úrovni DNA a nabízejí vysoké rozlišení. Jsou neocenitelné nejen pro identifikaci odrůd, ale také pro hodnocení genetické struktury odrůd a rodičovských komponent používaných při produkci F1 hybridů (O'Neil et al., 2003; Yu et al., 2007). Molekulární markery se používají ke studiu genetické rozmanitosti široké škály plodin (Bano, 2024).

Cílem této studie bylo zhodnotit využití molekulárních markerů ve šlechtění zeleniny se zaměřením na zeleniny z čeledi *Apiaceae* a ověřit schopnost identifikace jednotlivých druhů a odrůd kolekce genetických zdrojů.

## Materiál a metody

Pro molekulární charakterizaci zelenin bylo vybráno 14 vzorků petržele (*Petroselinum crispum*) - 6 vzorků petržel kořenová a 8 vzorků petržel listová, a 19 vzorků mrkve (*Daucus carota*) - 6 vzorků mrkev planá a 13 vzorků komerční odrůdy. Všechny vzorky pocházejí z českého šlechtění, v případě planých mrkví se jedná o materiál odebraných na různých místech České republiky a uložený v genové bance CARC. Materiál byl dodán ve formě semen, v případě některých vzorků petržele i jako čerstvě odebrané listy. Vždy se jednalo o směsné vzorky tak, aby došlo k pokrytí vnitroodrůdové variability. Semena byla homogenizována ve třecí misce za pomoci tekutého dusíku, čerstvé listy pak pouze ručním homogenizátorem. Následně došlo k extrakci DNA pomocí modifikované metody CTAB-PVP – listy (Doyle, 1991), nebo komerčního kitu ZymoResearch určeného pro semena.

Pro molekulární charakterizaci byly vybrány mikrosatelitové markery: GSSR 138, CUM 861, CUM 306, ECMS 16, GSSR 24, GSSR 97 a GSSR 111 (Bharti et al., 2018; Acquadro et al., 2006, Cavagnaro et al., 2011). Z celkového počtu padesáti testovaných mikrosatelitových markerů bylo vybráno sedm, které vykazovaly největší míru polymorfismu. Pro zefektivnění analýzy byly použity dvě fluorescenční barvy tak, aby bylo možné analyzovat několik markerů v jedné sekvenční reakci. PCR reakce probíhala pro každý marker zvlášť v celkovém objemu 10  $\mu$ l, v 1x reakčním pufru (75 mM Tris-HCl, pH=8,8, 20 mM  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0,01% Tween 20, 2,5 mM  $\text{MgCl}_2$ , 200  $\mu$ M dNTPs), 10 pmol každého primeru (tabulka 1), 0,5 U Taq Purple DNA polymerázy (PPP Master Mix, Top-Bio, CZ), 2x BSA a 50 ng templátové DNA. Amplifikace probíhala v termocycleru Biometra TProfessional s následujícím teplotním profilem: počáteční denaturace 5 min při 94 °C, 40 cyklů v profilu 1 min 95 °C, 1 min 45-59 °C (dle použitého primeru), 1 min 72 °C a konečná elongace 10 min 72 °C.

PCR produkty byly vizualizovány pomocí genetického analyzátoru ABI 3500 (Applied Biosystems) a vyhodnoceny pomocí software GeneMapper 3.1 (Applied Biosystem).

## Výsledky

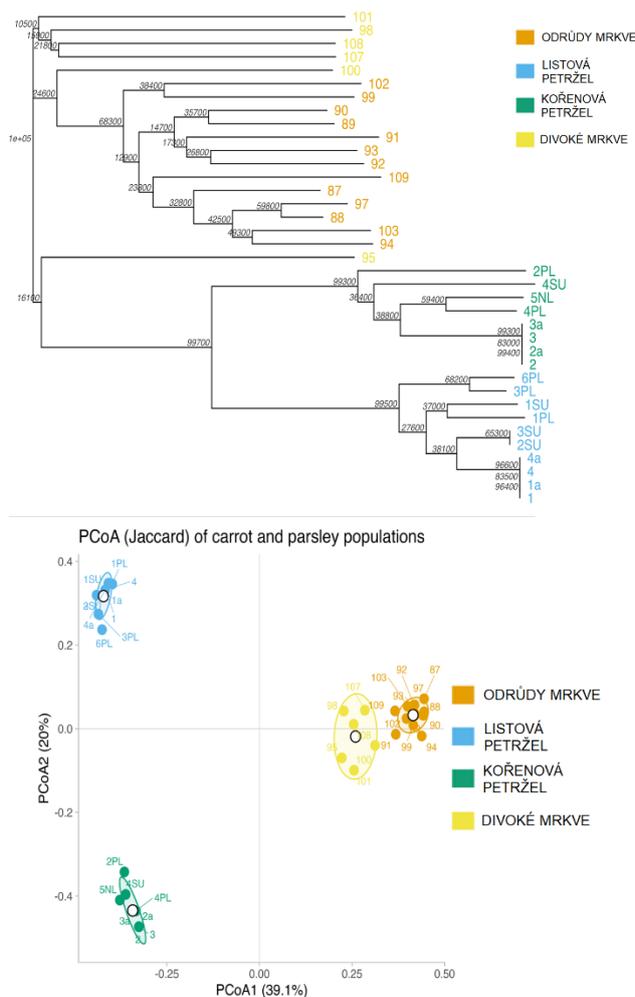
Na základě výsledků fragmentační analýzy vizualizovaných v programu GeneMapper 3.1 byla sestavena matice přítomnosti (1) a nepřítomnosti (0) alel. Tato matice byla převedena do programu MVSP pro výpočet matice genetických vzdáleností a s využitím knihovny *adegenet* byla v programovacím prostředí R 4.5.1. (R Core Team, 2025) provedena shluková analýza (UPGMA) a následně PCoA analýza, s cílem vizualizovat data v prostoru s nižší dimenzí. Výsledné hodnoty pro jednotlivé markery jsou uvedeny v Tabulce 1. Výsledky PCoA analýzy a shlukové analýzy jsou zobrazeny na Obrázku 1 a Obrázku 2.

Celkově bylo v případě sedmi použitých mikrosatelitových markerů amplifikováno 82 alel a téměř všechny tyto markery byly polymorfní. Počet alel pro jednotlivé markery se pohyboval od 1 do 15. Hodnoty PIC se pro tyto markery pohybovaly od 0 (GSSR 111\_A) do 0,8239 (GSSR 24), kdy nula znamená, že tento marker není polymorfní, naopak hodnoty přibližující se číslu 1

mají vysoký stupeň polymorfismu. V případě dvou markerů – ECMS 16 a právě GSSR 111 došlo k nasedání primerů na dvou místech genomu, proto byly tyto markery hodnoceny samostatně. V případě markeru GSSR 111 došlo k tomuto jevu pouze u vzorků petržele, kdy pro variantu GSSR 111\_A došlo k amplifikaci pouze jedné alely se shodnou velikostí u všech vzorků. Právě z toho důvodu byla hodnota PIC u tohoto markeru 0.

Tabulka 1 Hodnoty pro jednotlivé mikrosatelitové markery

SSR marker	annealing	Značení	Počet alel	Velikost (bp)	PIC
GSSR 138	59 °C	FAM	15	86, 253-293	0,6293
CUM 861	45 °C	HEX	12	200-364	0,727
CUM 306	49 °C	HEX	7	214-298	0,6615
ECMS 16_A	51 °C	HEX	6	300-336	0,6913
ECMS 16_B			2	349,360	0,25
GSSR 24	57 °C	FAM	14	146-200	0,8239
GSSR 97	57 °C	FAM	15	203-297	0,7952
GSSR 111_A	57 °C	HEX	1	184	0
GSSR 111_B			10	301-361	0,6293
<b>Celkem</b>			<b>82</b>		<b>ø 0,5786</b>



Obrázek 1 a 2 Výstupy Shlukové analýzy a PCoA analýzy.

Pomocí obou metod, jak PCoA, tak i shlukové analýzy, došlo k rozdělení všech vzorků do 3 shluků podle druhů a podle původu, tzn. společný shluk pro plané mrkve a komerční odrůdy mrkve, a samostatné shluky pro listovou petržel a kořenovou petržel. U skupiny mrkví je patrný při detailnějším prozkoumání rozpad na dvě podskupiny a to zvláště na plané mrkve a kulturní odrůdy mrkví. Oproti tomu u petrželí dochází k jednoznačnému rozdělení na odrůdy petržele listové a kořenové. U listové petržele byly některé vzorky (1, 2, 3 a 4) také v ročníkových opakováních, zde byla zároveň ověřena i čistota a genetická stabilita odrůdy. V případě vzorků obou variant mrkví došlo ke vzájemnému odlišení všech variant. U vzorku petrželí, jak ve variantě kořenové, tak i listové ke 100% rozlišení jednotlivých variant nedošlo. Bude to tedy otázka dalšího zkoumání, či výběru dalších mikrosatelitových markerů, popř. jiného typu markerů.

## Diskuze

Výsledky této studie potvrzují vysokou účinnost mikrosatelitových (SSR) markerů při charakterizaci genetických zdrojů zelenin z čeledi *Apiaceae*. Celkem bylo použito sedm SSR markerů, které amplifikovaly 82 alel u 33 vzorků petržele a mrkve. Průměrná hodnota polymorfismu (PIC) byla 0,5786, přičemž nejvyšší hodnotu vykazoval marker GSSR 24 (0,8239), což svědčí o jeho vysoké variabilitě. Tyto výsledky jsou v souladu s publikací Cavagnaro et al. (2011), která uvádí, že SSR markery izolované z mrkve vykazují vysokou míru polymorfismu a jsou vhodné pro genetické mapování i pro přenos mezi druhy čeledi *Apiaceae*.

Podobně studie Aiello et al. (2020) testovala přenositelnost SSR markerů z mrkve na fenykl a zjistila, že pouze 23 % markerů bylo vhodných pro tento účel, což poukazuje na omezenou mezidruhovou přenositelnost SSR markerů v rámci čeledi *Apiaceae*. V naší studii byly všechny použité markery schopny amplifikovat alely u obou druhů (mrkev i petržel), což naznačuje jejich vhodnost pro širší aplikaci v rámci čeledi. Zajímavé je také srovnání s prací Maksylewicz a Baranski (2013), kteří analyzovali 18 populací mrkve pomocí 27 SSR markerů. Identifikovali 253 alel s průměrem 9,4 alel na marker. V naší studii se počet alel na marker pohyboval od 1 do 15, což odpovídá těmto hodnotám, a potvrzuje vhodnost výběru markerů s vysokou variabilitou.

Na základě shlukové a PCo analýzy se vzorky v této studii rozdělily do tří hlavních skupin podle druhů a původu, což je v souladu s výsledky jiných studií, které ukazují, že SSR markery umožňují efektivní rozlišení mezi kulturními a planými formami, stejně jako mezi jednotlivými odrůdami. Zatímco u mrkve došlo k jednoznačnému rozlišení všech analyzovaných genotypů, u petržele nebylo dosaženo 100% rozlišení, což naznačuje potřebu doplnění dalších markerů nebo použití jiných typů molekulárních markerů. Podobné výsledky jsou uvedeny ve studii Hameed (2020), kde bylo dosaženo polymorfismu na úrovni 95 % při použití pěti SSR primerů napříč druhy čeledi *Apiaceae*.

### Závěr

Cílem této studie bylo zhodnotit funkčnost mikrosatelitových markerů jako účinného nástroje pro charakterizaci kolekce genetických zdrojů zelenin z čeledi *Apiaceae*. Celkem bylo vybráno sedm mikrosatelitových markerů, které amplifikovaly celkový počet 82 alel u 33 vzorků rostlinného materiálu. Všechny markery amplifikovaly alely jak u vzorků mrkve, tak i vzorků petržele. Počet alel na marker se pohyboval od 1 do 15, hodnota PCI se pohybovala od 0 do 0,8239. Na základě PCo a UPGMA shlukové analýzy došlo k rozdělení celého souboru vzorků na 3 skupiny – petržel listová, petržel kořenová a mrkve. Zároveň došlo k jednoznačnému rozlišení komerčních odrůd mrkve a mrkví z planých populací. V případě mrkví došlo k rozlišení jednotlivých odrůd navzájem, u petržele došlo ve dvou případech ke shodě. To znamená, že tyto markery vykazují specifitu a danému druhu, ale zároveň jsou dostatečně polymorfní tak, aby byly téměř schopny odlišit jednotlivé odrůdy.

Potvrdilo se tedy, že mikrosatelitové markery jsou vhodným nástrojem pro identifikaci jednotlivých odrůd zelenin a mohou být velmi dobrým pomocníkem nebo doplňkovým deskriptorem nejen při charakterizaci odrůd, ale také pro novošlechtění.

### Literatura

- ACQUADRO, A., MAGURNO, F., PORTIS, E. a LANTERI, S. dbEST-derived microsatellite markers in celery (*Apium graveolens* L. var. dulce). *Molecular Ecology Notes*. 2006, 6(4), s. 1080–1082. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01440.x>
- AIELLO, D., FERRADINI, N., TORELLI, L., VOLPI, C., LAMBALK, J., RUSSI, L., ALBERTINI, E. Evaluation of Cross-Species Transferability of SSR Markers in *Foeniculum vulgare*. *Plants*, 2020, roč. 9, č. 2, s. 175. ISSN 2223-7747.: <https://doi.org/10.3390/plants9020175>
- BANO, S. et al., eds. *Futuristic trends in biotechnology*. 1st ed. Vol. 3, Book 4. Bano: Iterative International Publishers, 2004. ISBN 978-93-6252-751-6.
- BHARTI, R., KUMAR, S. a PAREKH, M. J. Development of genomic simple sequence repeat (gSSR) markers in cumin and their application in diversity analyses and cross-transferability. *Industrial Crops and Products*. 2018, 111, s. 158–164. ISSN 0926-6690. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.018>.

- CAVAGNARO, P. F. et al. Microsatellite isolation and marker development in carrot - genomic distribution, linkage mapping, genetic diversity analysis and marker transferability across *Apiaceae*. *BMC Genomics* . 2011, 12(1), 386.
- DOYLE, J. DNA Protocols for Plants. In: HEWITT, G.M., A.W.B. JOHNSTON a J.P.W. YOUNG, eds. *Molecular Techniques in Taxonomy*. Berlin, Heidelberg: Springer, 1991. NATO ASI Series (Series H: Cell Biology), vol. 57.
- EHRlich, P. a A. EHRlich. *Extinction: The cause and consequences of the disappearance of species*. New York: Ballantine, 1983.
- FICICIYAN, A. et al. More than Yield: Ecosystem Services of Traditional versus Modern Crop Varieties Revisited. *Sustainability*. 2018, 10, 2834. DOI: 10.3390/su10082834
- FRIEDT, W., R. SNOWDON, F. ORDON a J. AHLEMEYER. *Plant Breeding: assessment of Genetic Diversity in Crop Plants and its Exploitation in Breeding*. *Progress in Botany*. 2007, 168, 152–177.
- HAMEED, A. Molecular Characterization of Selected Genera of the *Apiaceae* Family using SSR Molecular Markers. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*, 2020, roč. 14, č. 4. Institute of Medico-legal Publications Private Limited. DOI: <https://doi.org/10.37506/IJFMT.V14I4.11905>
- MAKSYLEWICZ, A., BARANSKI, R. Intra-population genetic diversity of cultivated carrot (*Daucus carota* L.) assessed by analysis of microsatellite markers. *Acta Biochimica Polonica*, 2013, roč. 60, č. 4, s. 753–760. ISSN 0001-527X. PMID: 24432327
- MESSMER, M. et al. *Plant Breeding Techniques – An Assessment for organic farming*. FiBL-Dossier. CH-Frick: Forschungsinstitut für biologischen Landbau (FiBL), 2015. 48 s.
- O'NEIL, R., R.J. SNOWDON a W. KÖHLER. Population genetic aspects of biodiversity. *Progress in Botany*. 2003, 64, 115–137.
- R Core Team. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. 2025. <https://www.r-project.org/>.
- RAO, V. R. a T. HODGKIN. Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2002, 68(1), 1–19. DOI: 10.1023/A:1013359015812
- YU, C. et al. Assessment of genetic diversity of yellow-seeded rapeseed (*Brassica napus* L.) accessions by AFLP markers. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*. 2007, 43, 105–112.
- ZAMIR, D. Improving plant breeding with exotic genetic libraries. *Nature Reviews Genetics*. 2001, 2(12), 983–989. DOI: 10.1038/35103590. PMID: 11733751.

### Poděkování

Tato studie byla podpořena projekty Ministerstva zemědělství ČR (projekt NAZV QL24010202) a Grantové agentury Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích (GAJU 083/2025/Z). Poděkování také patří společnosti Moravoseed a.s. a CARC za poskytnutí semenného materiálu k analýzám.

### Kontaktní adresa

Ing. Eva Jozová, Ph.D.

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta zemědělská a technologická

Studentská 1668, 370 05, České Budějovice

387772937, [jozovae@fzt.jcu.cz](mailto:jozovae@fzt.jcu.cz)

## Možnosti zlepšování regenerace v *in vitro* kulturách řepky olejky

### Possibilities for improving regeneration in *in vitro* cultures of oilseed rape

Klíma M.<sup>1</sup>, Bartošová P.<sup>1</sup>, Rosokha H.<sup>1</sup>, Vrbovský V.<sup>2</sup>, Baránek M.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i., Praha-Ruzyně, <sup>2</sup>OSEVA  
vývoj a výzkum, s.r.o.; <sup>3</sup>Mendelova univerzita v Brně

#### Abstrakt

Byl sledován vliv pěti vybraných nanočástic (NPs) na frekvenci regenerace embryí v mikrosporových kulturách 8 materiálů ozimé řepky (*Brassica napus* L.). U většiny genotypů, nanočástic a jejich koncentrací došlo ke statisticky významnému poklesu počtu regenerovaných embryí ve srovnání s kontrolní variantou již při koncentraci NPs 0,5 µg hlavní složky na ml NLN média. Navýšení frekvence embryogeneze oproti kontrole bylo naopak zaznamenáno při koncentraci 0,5 µg Ag/ml u genotypů Navajo a Cadeli u nanočástic AgSeNP-11 a AgSeNP-13. K dalšímu výraznému poklesu embryogeneze došlo od koncentrace 3 µg/ml u všech genotypů bez výjimky, při koncentraci 12 µg Ag/ml již nebyla zaznamenána regenerace embryí u žádné z variant.

**Klíčová slova:** *in vitro* regenerace, mikrosporové kultury, embryogeneze

#### Abstract

The effect on embryogenesis of several nanoparticles (NPs) was evaluated in microspore cultures of oilseed rape (*Brassica napus* L.) genotypes. For most genotypes, nanoparticles and their concentrations, there was a statistically significant decrease in the number of regenerated embryos compared to the control variant even at a NPs concentration of 0.5 µg of the main component per ml of NLN medium. An increase in the frequency of embryogenesis compared to the control was observed at a concentration of 0.5 µg Ag/ml in Navajo and Cadeli genotypes with AgSeNP-11 and AgSeNP-13 NPs. A further significant decrease in embryogenesis occurred from a concentration of 3 µg/ml in all genotypes without exception; at a concentration of 12 µg/ml, regeneration of embryos was no longer recorded for any of the variants.

**Keywords:** *in vitro* regeneration, microspore culture, embryogenesis

#### Úvod

Řepka olejka (*Brassica napus* L.) se dlouhodobě řadí mezi klíčové olejniny. Pokud srovnáme celosvětovou produkci rostlinných olejů, řepce náleží třetí místo, po palmě olejně a sóje. U nás i v Evropě je to olejnina nejvýznamnější; Česká republika stabilně patří mezi pět předních producentů řepkového semene v Evropské unii, s každoroční osevní plochou v rozmezí 350–400 tis. ha. Popularita této plodiny je dána vysokou poptávkou po rostlinných olejích obecně. Řepkový olej je díky své vysoké teplotní stabilitě ideální pro smažení a fritování; svou nutriční hodnotou se blíží oleji olivovému, v některých parametrech ho i předčí, protože obsahuje minimum nasycených mastných kyselin a naopak významné množství mononenasycených i esenciálních mastných kyselin omega6 a omega3 (Prybylski 2011).

S významem řepky souvisí i její intenzivní šlechtění, v současnosti ve světě i v ČR s rutinním využitím *in vitro* biotechnologií, které výrazně zrychlují a zefektivňují celý šlechtitelský proces. Jedním z těchto přístupů je využití mikrosporové embryogeneze v *in vitro* kulturách s následnou tvorbou zcela homozygotních genotypů (potenciálních liniových odrůd nebo komponent hybridů) prakticky během jedné generace (Vyvadilová *et al.* 2008).

Nanočástice (NPs) jsou mikroskopické partikule (< 100 nm), které vykazují jedinečné fyzikální a chemické vlastnosti díky své malé velikosti a zároveň velkému poměru povrchu k objemu (Salem a Fouda 2021). Jejich výhodou (např. ve srovnání s antibiotiky) je mj. i jejich nižší toxicita (Awashra a Młynarz 2023). U nanočástic na bázi stříbra (AgNPs) byla zjištěna stimulace růstu rostlin (Mahajan *et al.* (2022)). AgNPs lze využít i pro zefektivnění

mikropropagace *in vitro* (Manh Cuong *et al.* (2021)) a zvýšení frekvence somatické embryogeneze (Mahendran *et al.* (2018)). V poslední dekádě byla publikována řada studií, které se věnují vlivu NPs i na *in vitro* kultury řepky a příbuzných plodin: např. na morfologické a fyziologické změny (Tomaszewska-Sowa *et al.* (2024)), klíčení (Sarkhosh *et al.* (2022)), regeneraci (Al Ramadan *et al.* (2021)), na indukci kalusu (Kouhi a Lahouti (2018)), nebo je sledována jejich antimikrobiální aktivita (Mahajan *et al.* ((2022)).

Cílem práce je uvést výsledky *in vitro* aplikace vybraných nanočástic na bázi mědi, selenu, stříbra nebo zinku z hlediska jejich vlivu na *in vitro* regeneraci v *in vitro* kulturách řepky olejky a výsledky srovnat s výstupy předchozích experimentů s dalšími typy nanočástic.

### **Materiál a metody**

Do experimentů bylo zařazeno 8 materiálů ozimé řepky, které již byly ověřovány v našich předchozích testech (Klíma *et al.* 2024): 6 šlechtitelských materiálů ozimé řepky, dodaných organizací OSEVA vývoj a výzkum, s.r.o. a dvě vysoce embryogenní liniové odrůdy Cadeli, Navajo (viz Tabulka 1). Nově byly do experimentů zařazeny tři typy nanočástic (NPs, viz Tabulka 1) na bázi prvků mědi a zinku (rGO-Cu-10, rGO-Cu-Ag-47-3 a rGO-Zn-4); pro srovnání byly znovu testovány NPs na bázi stříbra a selenu (AgSeNP-11 a AgSeNP-13), které v předchozích experimentech u některých genotypů vykazovaly stimulační účinek. Všechny uvedené NPs byly syntetizovány na pracovišti Mendelovy univerzity v Brně v rámci řešení projektu MZe NAZV QK22010031. Příprava a udržování donorových rostlin, odběr poutat a zakládání mikrosporových kultur probíhaly v Národním centru zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i. dle standardního postupu (Vyvadilová *et al.* 2008).

Poupata byla odebírána z hlavních i postranních větví. Délka poutat pro odběry byla stanovována mikroskopicky tak, aby převažující zastoupení mikrospor v poupěti bylo ve středně až pozdně jednojaderném stádiu. Na jedno časové opakování všech vybraných typů NPs určité koncentrace + kontrolní variantu bez NPs bylo u třeba odebrat 30 poutat od každého genotypu. Následovala izolace a purifikace mikrospor třířázovou centrifugací v NLN médiu (Lichter 1985, 10–5–5 minut při 100 g). Před třetí centrifugací byla suspenze mikrospor homogenizována a rozpipetována ve stejném poměru do šesti centrifugačních kyvet. Po třetí centrifugaci byl z kyvet odpipetován supernatant a do každé přidáno takové množství NLN média s jednotlivými koncentracemi převažujících složek NPs (0; 0,5; 1,0; 3,0; 6,0 a 12  $\mu\text{g}$  Ag, Cu, nebo Zn/ml média), aby koncentrace mikrospor odpovídala  $6 \times 10^4/\text{ml}$  roztoku. Suspenze byly pipetovány po 5 ml do 60mm polystyrenových (PS) Petriho misek a uzavřeny dvojitou vrstvou Parafilmu a umístěny do termostatu (tma, 30,5 °C). Test vlivu NPs na frekvenci embryogeneze (embryogenní schopnost) byl proveden pro každou variantu 'genotyp  $\times$  koncentrace  $\times$  typ NPs' ve třech časových opakováních.

Další kultivace suspenze probíhala ve tmě až do objevení prvních proembryí, viditelných pouhým okem (obvykle 9–12 dní od založení kultury). Poté byly kultury přeneseny do kultivační místnosti (25/20 °C, fotoperioda 16/8 h a světelná intenzita 150  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ) na orbitální třepačku (60 rpm). Jakmile největší embrya dosáhla délky 5 mm (obvykle po 20 dnech na světle), byl vyhodnocen vliv NPs na frekvenci embryogeneze a morfologické charakteristiky embryí.

## Výsledky

U většiny genotypů, nanočástic a jejich koncentrací došlo ke statisticky významnému poklesu počtu regenerovaných embryí ve srovnání s kontrolní variantou již při koncentraci NPs 0,5 µg hlavní složky na ml NLN média (viz Tabulka 1).

Naopak navýšení počtu embryí oproti kontrole bylo zaznamenáno při koncentraci 0,5 µg/ml u genotypu Cadeli a Navajo u nanočástic AgSeNP–11 (118,9 % a 116,0 %) a AgSeNP–13 (103,4 % a 127,9 %); statisticky významné toto navýšení bylo pro AgSeNP–13 u genotypu Cadeli a u genotypu Navajo u obou výše zmiňovaných NPs. Od koncentrace 1 µg převažující složky/ml média a vyšších už měly významný negativní vliv na frekvenci embryogeneze všechny použité NPs. K dalšímu výraznému poklesu embryogeneze došlo od koncentrace 3 µg/ml. Při koncentraci 12 µg/ml nebylo pozorováno dělení buněk a růst embryí u žádné z variant (viz Tabulka 1). U žádné z variant nebyl pozorován negativní vliv na morfologické charakteristiky embryí.

## Diskuze

Stejně jako v našich předchozích experimentech (Klíma *et al.* 2024) byl i nyní zjištěn stimulační efekt NPs na bázi selenu a stříbra (AgSeNP–11 a AgSeNP–13) u genotypů Cadeli a Navaho při koncentracích 0,5 µg Ag/ml. Inhibiční efekt těchto NPs byl ale na rozdíl od přechodných testů pozorován u všech ostatních genotypů bez výjimky; nově zařazené NPs na bázi mědi a stříbra nevykazovaly stimulační vliv u žádného genotypu a koncentrace. Naopak Mahendran *et al.* (2018) zjistili stimulační efekt AgNPs (koncentrace 0,3, resp. 0,5 µg AgNPs/ml média) v *in vitro* kulturách *Gloriosa superba* na somatickou embryogenezi, resp. vývoj somatických embryí. Kouhi a Lahouti (2018) testovali vliv ZnNPs při koncentracích 10–100 µg/ml média na indukci kalogeneze a regeneraci rostlin z kalusu u hypokotylových segmentů řepky. Koncentrace 10 µg/ml měla stimulační efekt, vyšší koncentrace naopak inhibiční. V našich experimentech měly naopak ZnNPs inhibiční vliv již od nejnižší koncentrace (0,5 µg/ml) u všech testovaných genotypů. Pokhrel a Dubey (2013) sledovali vliv AgNPs na klíčení a inhibici růstu kořenového systému u zelí (*Brassica oleracea*). Zjistili, že zatímco u růstu kořenů významnější inhibice (o cca 25 %) nastala až u nejvyšší testované koncentrace, tj. 73,4 µg Ag/ml média, významný vliv na inhibici klíčení (50 % ke kontrole) byl zjištěn již u 0,05 µg Ag/ml média a při koncentraci 1,0 µg klíčivost klesla pod 40 %. Zajímavým zjištěním bylo, že při dalším zvyšování koncentrace (na 3,7–73,4 µg) klíčivost vzrostla na 60 %. Sarabi *et al.* (2015) testovali v *in vitro* kulturách řepky vliv AgNPs na klíčení. Stimulační účinek byl zjištěn od koncentrace 10 µg/ml a stoupal až do koncentrace 100 µg. Naopak nejvyšší inhibice byla zjištěna při 500 µg. Zuverza-Mena *et al.* (2016) naopak nezjistili významný vliv na klíčení *in vitro* u ředkve ani při koncentraci AgNPs 500 µg/ml, došlo ale k inhibici růstu nadzemní části a kořene od koncentrace 125 µg/ml. Tymoszuk (2021) nezjistil u ředkve a kadeřávku vliv na klíčení při koncentracích AgNPs 50 a 100 µg/ml. Tomaszewska-Sowa *et al.* (2018) naopak zjistili stimulační efekt na *in vitro* klíčení u řepky při koncentraci 20 µg/ml.

## Závěr

Na základě výsledků je možné konstatovat, že vybrané kombinace a koncentrace NPs u některých genotypů řepky mohou stimulovat mikrosporovou embryogenezi v *in vitro* kulturách, u dalších genotypů naopak může docházet k její inhibici.

Tabulka 1: Embryogenní schopnost materiálů řepky ve srovnání s kontrolou v závislosti na typu a koncentraci nanočástic

Materiál / Koncentrace [µg hlav. složky/ml]	Typ NPs a frekvence embryogeneze [v %] ke kontrole (= 100 %)									
	rGO-Cu-10		rGO-Cu-Ag-347-3		rGO-Zn-4		AgSeNP-11		AgSeNP-13	
<b>Cadelí</b>										
Kontrola	100,0	b	100,0	b	100,0	b	100,0	b	100,0	b
0,5	63,9±3,6	cd	63,2±10,1	cd	50,3 ±5,4	de	118,9±15,0	*a	103,4±12,6	ab
1	34,3±4,9	ef	33,0±3,8	f	40,2 ±5,7	ef	76,2±10,3	c	76,7±8,2	c
3	6,9±1,3	g	5,3±0,6	g	6,8 ±0,7	g	11,1±1,9	g	16,2±1,7	g
6	1,2±0,2	g	1,1±0,1	g	1,2 ±0,1	g	2,6±0,4	g	1,3±0,2	g
12	0,0	g	0,0	g	0,0	g	0,0	g	0,0	g
<b>Navajo</b>										
Kontrola	100,0	b	100,0	b	100,0	b	100,0	b	100,0	b
0,5	60,1±3,4	de	59,4±9,5	de	47,3±5,0	e	116,0±8,4	*a	127,9±9,3	*a
1	60,1±8,7	de	58,4±6,7	e	45,8±6,5	e	84,8±11,5	c	74,2±7,9	cd
3	10,7±2,1	f	7,3±0,8	f	9,4±1,0	f	12,9±2,2	f	10,1±1,1	f
6	1,2±0,2	f	0,7±0,1	f	0,7±0,1	f	2,2±0,4	f	3,8±0,5	f
12	0,0	f	0,0	f	0,0	f	0,0	f	0,0	f
<b>6/22</b>										
Kontrola	100,0	a	100,0	a	100,0	a	100,0	a	100,0	a
0,5	71,6±4,0	b	70,8±11,3	bc	56,4±6,0	cde	62,8±7,8	bcde	72,7±8,8	b
1	64,6±9,3	bcd	62,8±7,1	bcde	49,2±7,0	e	54,8±7,4	de	62,7±6,7	bcde
3	8,3±1,6	f	4,1±0,4	f	5,0±0,5	f	5,2±0,9	f	4,4±0,5	f
6	1,3±0,3	f	0,8±0,1	f	0,9±0,1	f	0,9±0,1	f	1,2±0,2	f
12	0,0	f	0,0	f	0,0	f	0,0	f	0,0	f
<b>8/22</b>										
Kontrola	100,0	a	100,0	a	100,0	a	100,0	a	100,0	a
0,5	54,9±3,1	bc	47,9±7,6	cd	59,3±6,3	b	48,5±6,0	bcd	53,1±6,4	bcd
1	49,6±7,2	bcd	42,4±4,8	d	51,7±7,4	bcd	42,3±5,7	d	45,8±4,9	cd
3	9,7±1,9	e	7,5±0,8	e	6,2±0,7	e	4,3±0,7	e	5,7±0,6	e
6	2,1±0,4	e	0,6±0,1	e	0,7±0,1	e	0,8±0,1	e	0,6±0,1	e
12	0,0	e	0,0	e	0,0	e	0,0	e	0,0	e
<b>9/22</b>										
Kontrola	100,0	a	100,0	a	100,0	a	100,0	a	100,0	a
0,5	62,4±3,5	cd	39,6±6,3	e	69,1±7,3	cd	87,7±10,9	ab	65,3±7,9	cd
1	56,3±8,1	d	35,2±4,0	e	60,2±8,6	d	76,5±10,4	bc	56,2±6,0	d
3	8,9±1,7	f	5,4±0,6	f	7,0±0,7	f	7,2±1,2	f	4,9±0,5	f
6	1,1±0,2	f	0,7±0,1	f	0,9±0,1	f	0,7±0,1	f	0,9±0,1	f
12	0,0	f	0,0	f	0,0	f	0,0	f	0,0	f
<b>10/22</b>										
Kontrola	100,0	a	100,0	a	100,0	a	100,0	a	100,0	a
0,5	52,1±2,9	cd	51,1±8,2	cd	63,4±6,7	bc	63,9±7,9	bc	73,4±8,9	b
1	47,1±6,8	d	45,3±5,2	d	55,3±7,9	cd	55,7±7,5	cd	63,2±6,8	bc
3	7,6±1,5	e	5,8±0,6	e	5,6±0,6	e	5,7±1,0	e	7,6±0,8	e
6	1,6±0,3	e	0,7±0,1	e	1,0±0,1	e	1,3±0,2	e	1,1±0,2	e
12	0,0	e	0,0	e	0,0	e	0,0	e	0,0	e
<b>11/22</b>										
Kontrola	100,0	a	100,0	a	100,0	a	100,0	a	100,0	a
0,5	86,1±4,8	b	43,9±7,0	fg	54,0±5,7	ef	68,6±8,5	cd	58,7±7,1	de
1	77,8±11,2	bc	38,9±4,4	g	47,1±6,7	efg	59,8±8,1	de	50,6±5,4	efg
3	5,3±1,0	h	4,0±0,4	h	5,2±0,6	h	3,0±0,5	h	4,0±0,4	h
6	1,4±0,3	h	0,9±0,1	h	1,0±0,1	h	1,0±0,2	h	1,3±0,2	h
12	0,0	h	0,0	h	0,0	h	0,0	h	0,0	h
<b>13/22</b>										
Kontrola	100,0	a	100,0	a	100,0	a	100,0	a	100,0	a
0,5	68,4±3,9	b	67,6±10,8	b	37,8±4,0	ef	47,6±5,9	de	55,1±6,7	cd
1	61,7±8,9	bc	60,0±6,8	bc	32,9±4,7	f	41,5±5,6	ef	47,5±5,1	de
3	6,1±1,2	g	5,5±0,6	g	4,6±0,5	g	4,5±0,8	g	5,9±0,6	g
6	2,3±0,4	g	0,7±0,1	g	0,8±0,1	g	1,0±0,2	g	1,0±0,2	g
12	0,0	g	0,0	g	0,0	g	0,0	g	0,0	g

± označuje směrodatnou odchylku;  
malá písmena za hodnotami regenerace označují homogenní podskupiny (Tukey HSD test;  $\alpha = 0,05$ );  
\* označuje varianty s významně vyšší úrovní regenerace než kontrola (Tukey HSD test;  $\alpha = 0,05$ );  
— převažující složka NPs (Ag, Cu, Zn) je indikována v názvu NPs podtržením chemické značky prvku

## Literatura

- Al Ramadan R., Karas M., Ranušová P., Moravčíková J. 2021: Effect of silver nitrate on *in vitro* regeneration and antioxidant responses of oilseed rape cultivars (*Brassica napus* L.) Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences 10(6): e4494.
- Awashra M., Młynarz P. 2023: The toxicity of nanoparticles and their interaction with cells: an *in vitro* metabolomic perspective. Nanoscale Adv. Jan 30;5(10): 2674–2723.
- Klíma M., Bartošová P., Rosokha H., Vrbovský V., Baránek M. 2025: Využití nanočástic v *in vitro* kulturách řepky olejky (*Brassica napus* L.). Úroda 12, roč. LXXII, 2024, vědecká příloha, s. 73–80
- Klíma M., Vyvadilová M., Kučera V. 2004: Production and utilization of doubled haploids in Brassica oleracea vegetables. Hort. Sci. (Prague), 31: 119–123.
- Kouhi S. M. M., Lahouti M. 2018: Application of ZnO Nanoparticles for Inducing Callus in Tissue Culture of Rapeseed. International Journal of NanoScience and Nanotechnology 14: 133–141.
- Lichter R. 1985: From microspores to rape plants. A tentative way to low glucosinolate strains. In: Sorensen H. (ed.): Advance in the Production and Utilisation of Cruciferous Crops. Martinus Dordecht, Boston, Lancaster, Nijhoff M., Junk W. Publishers, 268–277.
- Mahajan S., Kadam J., Dhawal P., Barve S., Kakodkar S. 2022: Application of silver nanoparticles in *in-vitro* plant growth and metabolite production: revisiting its scope and feasibility. Plant Cell Tissue Organ Cult., 150: 15–39.
- Mahendran D., Kavi Kishor P.B., Geetha N., Venkatachalam P. 2018: Phycomolecule-coated silver nanoparticles and seaweed extracts induced high-frequency somatic embryogenesis and plant regeneration from *Gloriosa superba* L. J Appl Phycol 30: 1425–1436.
- Manh Cuong D., Du Cong P., Tung H.T., Ngan H.T.M., Luan V.Q., Phong T.H., Khai H.D., Phuong T.T.B., Nhut D.T. 2021: Silver nanoparticles as an effective stimulant in micropropagation of *Panax vietnamensis* – a valuable medicinal plant. Plant Cell Tiss Organ Cult 146: 577–588.
- Pokhrel L., Dubey B. 2013: Evaluation of developmental responses of two crop plants exposed to silver and zinc oxide nanoparticles. Sci Total Environ 452–453: 321–332.
- Przybylski R. 2011: Canola/Rapeseed Oil. In: Gunstone F.D. (ed.): Vegetable oils in food technology: Composition, properties, and uses, 2<sup>nd</sup> edition 107-36. Oxford, UK: Wiley-Blackwell.
- Salem S.S., Fouda A. 2021: Green Synthesis of Metallic Nanoparticles and Their Prospective Biotechnological Applications: an Overview. Biol Trace Elem Res 199: 344–370.
- Sarabi M., Safipour Afshar A., Mahmoodzadeh H. 2015: Physiological analysis of silver nanoparticles and AgNO<sub>3</sub> effect to *Brassica napus* L. J Chem Health Risks 5: 285–294.
- Sarkhosh S., Kahrizi D., Darvishi E., Tourang M., Haghighi-Mood S., Vahedi P., Ercisli S. 2022: Effect of Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO-NPs) on Seed Germination Characteristics in Two Brassicaceae Family Species: *Camelina sativa* and *Brassica napus* L. Journal of Nanomaterials, 1–15.
- Thomas P., Kumari S. 2010: Inconspicuous endophytic bacteria mimicking latex exudates in shoot-tip cultures of papaya. Sci Hort (Amsterdam) 124: 469–474.
- Tomaszewska-Sowa M., Pańka D., Lisiecki K., Lemańczyk G. 2024: The Response of Rapeseed (*Brassica napus* L.) Seedlings to Silver and Gold Nanoparticles. Sustainability, 16: 977.
- Tomaszewska-Sowa M., Siwik-Ziomek A., Figas A., Bocian K. 2018: Assessment of metal nanoparticle-induced morphological and physiological changes in *in vitro* cultures of rapeseed (*Brassica napus* L.). Electronic Journal of Polish Agricultural Universities 21(4) DOI:10.30825/5.ejpau.166.2018.21.4, EJPAU 21(4), #07.

- Tymoszuk A. 2021: Silver nanoparticles effects on *in vitro* germination, growth, and biochemical activity of tomato, radish, and kale seedlings. *Materials* 14: 5340.
- Vyvadilová M., Klíma M., Kučera V. 2008: Metodika produkce dihaploidních linií pro šlechtění řepky ozimé. 1. vyd. Praha: VÚRV, v.v.i. ISBN 978-80-87011-80-5.
- Zuverza-Mena N., Armendariz R., Peralta-Videa J.R., Gardea-Torresdey J.L. 2016: Effects of silver nanoparticles on radish sprouts: root growth reduction and modifications in the nutritional value. *Front Plant Sci* 7: 90.

### **Poděkování**

Prezentované výsledky byly získány za finanční podpory projektu Ministerstva zemědělství České republiky, projekt MZE NAZV QK22010031

### **Kontaktní adresa**

Ing. Miroslav Klíma, Ph.D.

Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i.

Drnovská 507, 161 06 Praha 6 – Ruzyně

Telefon 233 022 325, [miroslav.klima@carc.cz](mailto:miroslav.klima@carc.cz)

## Screening citlivosti odrůd čiroku k nízké teplotě

Screening of sorghum varieties focusing on cold sensitivity

*Lhotská M., Raimanová I., Haberle J.*

*Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu – CARC*

### Abstrakt

Nízká teplota je pro čirok v počátečních fázích růstu limitující. Aby mohl být čirok v podmínkách České republiky úspěšně pěstován, je třeba hledat odrůdy, které mají potenciál přizpůsobit se vzcházení při nižších teplotách. Předkládaná práce měla za cíl otestovat spektrum odrůd na úrovni klíčení a vzcházení. Jako hraniční teplota pro výzkum byla ověřována teplota 15 °C. Pokus probíhal ve dvou fázích – na Petriho miskách v biologickém termostatu a v nádobách v klimatizovaném boxu. Výsledky (index klíčivosti (GI) a index vitality semenáčků III (SVI III)) ukázaly pestrou reakci odrůd, a to jak při klíčení, tak i při vzcházení. Práce ukazuje důležitost volby odrůdy pro časný výsev.

**Klíčová slova:** index klíčivosti, index vitality semenáčků, semeno, teplota, vzcházení

### Abstract

To successfully grow sorghum in the Czech Republic, it's important to find its suitable varieties, which have the potential to acclimate to cold conditions in emergence, because low temperature limits growth of sorghum in its early stages. Presented thesis aims to test the spectrum of sorghum varieties for germination and emergence levels. 15 °C was chosen as a limit temperature. The experiment was conducted in two phases: on Petri dishes in a biological incubator and in a cultivation box, as a pot experiment. The results (germination index and seedling vitality index III) showed varied reactions of sorghum varieties, both germination and emergence. The thesis highlighted the importance of choosing early sowing in the weather conditions of Czech Republic.

**Keywords:** germination index, seedling vitality index, seed, temperature, emergence

### Úvod

Čirok (rostlina C4) se vyznačuje šetrným hospodařením s vodou a vysokými nároky na teplotu. Pochází z Afriky, kde má širokou škálu uplatnění (potravina, krmivo, stavba plotů, lihovarnictví) (Elzebroek a Wind 2008). V České republice je na trhu dostupný řadu let, ale až v posledních letech se dostává na výsluní zemědělců, především z důvodu diverzifikace osevního postupu. Plodina, kterou lze využít tzv. od kořene po latu, se u nás zatím využívá především ve formě biomasy pro bioplynové stanice, případně na výrobu senáže/siláže. I přes množství kladů (pěstební nenáročnost, nízké nároky na chemickou ochranu, bezpečkový charakter zrna) má i své slabiny. Vzhledem ke svému původu má čirok velmi nízkou odolnost k nízkým teplotám. Při poklesu pod 15 °C dochází k narušení funkční aktivity buněk, biomembrán a procesů s tím spojených (např. transportu elektronů v chloroplastech), metabolismus rostliny je tak výrazně zpomalen (Kratsch a Wise 2000; Vera Hernández et al. 2023). Kromě uvedeného se chladové podmínky odrážejí v nevyrovnaném vzcházení (Středa et al. 2022). To vše může mít negativní vliv na konečný výnos. Screeningové testy prováděné v rámci prezentovaného výzkumu jsou prvním krokem k nalezení vhodných genetických zdrojů v rámci výzkumu směřujícímu ke zvýšení odolnosti chladu v prvotních fázích vývoje čiroku.

### Materiál a metody

Prezentované výsledky zahrnují 7 odrůd čiroku, z nichž 5 je komerčně dostupných (RANGER BMR, DIAMOND, KWS FREYA, RUZROK, BMR GOLD X) a 2 pocházejí z genové banky CARC (PI 246595, PI 314743). Odrůdy byly zvoleny s ohledem na odlišné způsoby využití – zrna, biomasa.

Výzkum probíhal v kontrolovaných podmínkách v prostorech Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu (CARC) ve dvou fázích. V první fázi byla sterilizovaná semena

umístěna na filtračním papírem vyložených Petriho miskách (30 ks, 5 opakování/odrůda) a vložena do biologického termostatu, kde byla 6 dní udržována při teplotě 15 °C. Jako kontrolní teplota byla zvolena 20 °C. Během této doby docházelo k dennímu odečtu vyklíčených a nevyklíčených semen, přičemž za vyklíčené se považovalo semeno s délkou kořínku min. 1 mm. Po ukončení pozorování byla oddělena obilka a zjištěna čerstvá hmotnost semenáčku. Poté byly semenáčky usušeny při teplotě 70 °C do konstantní hmotnosti a následně převáženy pro zjištění suché hmotnosti semenáčeků. Pro výpočet parametrů indexu klíčivosti (GI) a indexu vitality semenáčeků III (SVI III) byly využity následující vzorce (Šerá et al. 2023):

$$GI = \text{suma (počet vyklíčených semen)} / (\text{počet dnů})$$

$$SVI\ III\ (g) = 100 \times (\text{počet vyklíčených semen} / \text{celkový počet semen}) \times \text{sušina semenáčeků}$$

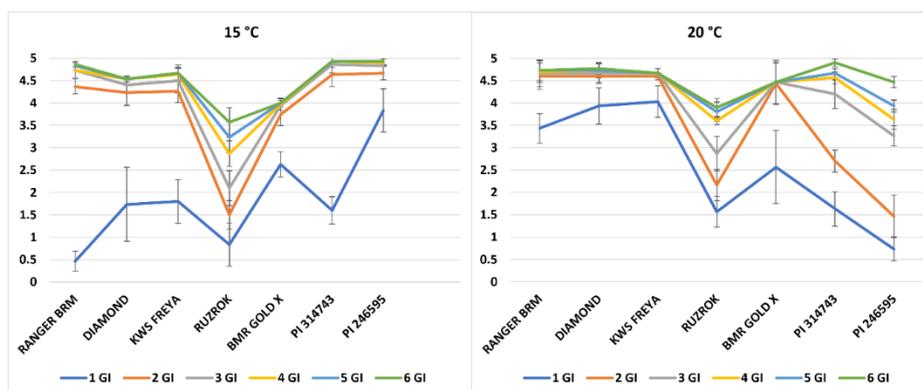
Ve druhé fázi byla semena uložena do hranatých nádob (11x11x12 cm) naplněných univerzálním zahradnickým substrátem (SOL Kladno) do hloubky 4 cm (6 ks/nádoba, 5 nádob/odrůda). Připravené nádoby byly udržovány v kontrolovaných podmínkách klimatizovaného boxu (Percival Scientific, Perry, IA) při teplotě 15°C/15°C (den/noc) a vlhkosti 55 % se světelným režimem 16/8 (světlo/tma) při osvětlení 300 μmol. Kontrolní varianta pokusu byla udržována ve stejných podmínkách při teplotě 20°C/20°C (den/noc). V průběhu růstu bylo zaznamenáváno vzcházení, přičemž za vzešlou byla považována rostlina, u které plumula prorazila povrch půdy.

Získané výsledky byly vyhodnoceny statistickým programem STATISTICA 12.0 za použití dvoufaktorové analýzy rozptylu (ANOVA) a post-hoc testu LSD Fisher na hladině významnosti 0,05.

## Výsledky

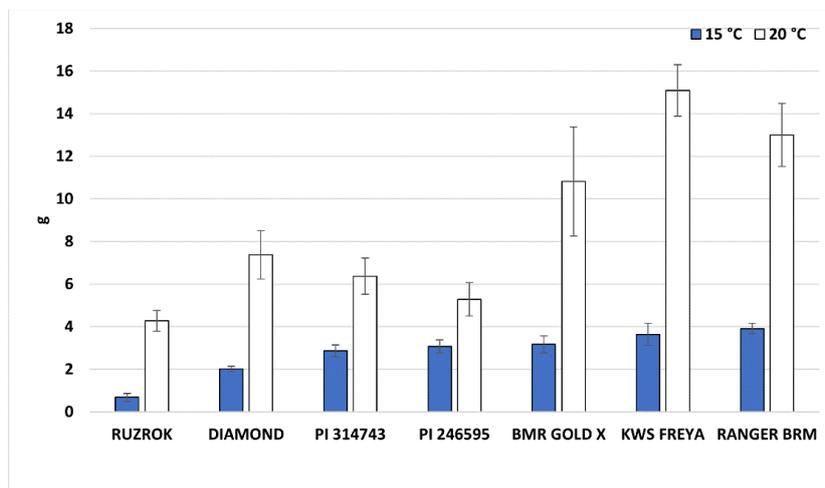
Graf 1 dokumentuje procento klíčivosti integrované hmotností semenáčeků (index klíčivosti) všech 7 testovaných odrůd ve dvou testovaných teplotách v průběhu šesti dní od založení pokusu. Odrůdy RANGER BMR, DIAMOND A KWS FREYA při působení nízké teploty výrazně snížily svůj GI v prvním dni (o 86,29 %, 55,98 % a 55,33 %). Odrůdy RUZROK a BMR GOLD X měly podobný průběh klíčení bez ohledu na testovanou teplotu. Naopak poslední dvě testované odrůdy vykazovaly výrazné abnormality v průběhu všech 6-ti dní. Semena odrůdy PI 314743 při teplotě 20 °C klíčila postupně, index klíčivosti se zvyšoval postupně, naopak při teplotě 15 °C semena dosáhla GI konečné hodnoty hned ve druhém dni. Uvedeným trendům se zcela vymykala odrůda PI 246595, která v prvním a druhém dni (1 GI, 2 GI) dosahovala pouhých 16,33 % a 32,89 % z konečného GI při 20 °C, zatímco ve stresované variantě se GI zvýšilo na 77,69 % a 94,73 % z konečného GI.

Graf 1: Index klíčivosti (GI) 1. až 6. den po založení pokusu zjišťovaný u všech testovaných odrůd



Parametr SVI III (graf 2) ukazuje průkazné snížení suché hmotnosti vlivem nízké teploty při klíčení. SVI III bylo sníženo v rozsahu 41,91 % až 84,08 %. Největší rozdíl byl zjištěn u odrůdy RUZROK a nejmenší u odrůdy KWS FREYA. Průměrné snížení suché hmotnosti semenáčků napříč odrůdami se pohybovalo kolem 67,19 %.

Graf 2: Index vitality semenáčků III (SVI III)



V tabulce 1 je zaznamenán průběh vzcházení od 10. dne po zasetí. Uvedené hodnoty jsou seřazeny od nejmenší po největší v desátém dni po zasetí dle stresované varianty. Semena kontrolní varianty však vzcházela již od 4. dne po zasetí. Dosažení konečného procenta vzešlých rostlin dosahovaly odrůdy odlišně, procento vzcházení se pohybovalo v rozmezí 57-100 %. Z výsledků je zřejmé, že i přes pozdější počátek, vyrovnaly stresované varianty, varianty kontrolní všech odrůd s výjimkou odrůdy DIAMOND. Tato odrůda vykázala při růstu v nízké teplotě o 36,7 % nižší vzcházivost. Naopak velmi dobrou vzcházivost prokázaly odrůdy pocházející z genové banky, které dosáhly konečného procenta vzcházivosti 100 % i při růstu v nízké teplotě. Průběh vzcházení poukázal také na vyrovnanost vzcházejícího porostu, kdy jako velmi vyrovnané se ukázaly opět odrůdy pocházející z genové banky.

Tabulka 1: Procento vzcházení v 10. až 17. dni od zasetí (průměr ± SD), bolt a s hvězdičkou jsou zvýrazněny statisticky průkazné rozdíly teplotních variant v rámci dne (p=0,05).

Odrůda	Teplota	Den od zasetí					
		10	11	12	13	14	17
DIAMOND	15	<b>43 ± 14,9</b>	<b>50 ± 11,8</b>	<b>50 ± 11,8</b>	<b>50 ± 11,8</b>	<b>50 ± 11,8</b>	<b>57 ± 25,3</b>
	20	<b>78 ± 0,0*</b>	<b>83 ± 11,8*</b>	<b>83 ± 11,8*</b>	<b>83 ± 11,8*</b>	<b>87 ± 11,8*</b>	<b>90 ± 14,9*</b>
RANGER BMR	15	<b>50 ± 20,4*</b>	77 ± 14,9	87 ± 19,0	87 ± 13,9	87 ± 13,9	87 ± 13,9
	20	<b>87 ± 0,0</b>	90 ± 14,9	93 ± 14,9	93 ± 9,1	93 ± 9,1	93 ± 9,1
BMR GOLD X	15	<b>60 ± 36,5</b>	73 ± 34,6	<b>80 ± 29,8</b>	83 ± 23,6	83 ± 23,6	83 ± 23,6
	20	<b>80 ± 21,7*</b>	80 ± 21,7	<b>82 ± 0,0*</b>	83 ± 23,6	83 ± 23,8	83 ± 23,6
KWS FREYA	15	<b>70 ± 27,9</b>	<b>77 ± 22,4</b>	83 ± 16,7	83 ± 16,7	83 ± 16,7	87 ± 13,9
	20	<b>97 ± 7,5*</b>	<b>97 ± 7,5*</b>	97 ± 7,5	97 ± 7,5	97 ± 7,5	97 ± 7,5
RUZROK	15	70 ± 24,7	80 ± 13,9	83 ± 16,7	87 ± 13,9	90 ± 9,1	93 ± 9,1
	20	90 ± 14,9	90 ± 14,9	90 ± 14,9	90 ± 14,9	90 ± 14,9	90 ± 14,9
PI 314743	15	90 ± 14,9	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
	20	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
PI 246595	15	93 ± 9,1	97 ± 7,5	97 ± 7,5	97 ± 7,5	97 ± 7,5	100 ± 0,0
	20	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0

### Diskuze

Klíčovost charakterizovaná parametrem GI byla výrazně odlišná napříč testovanými odrůdami. Průkazné snížení suché hmotnosti semenáčku vlivem klíčení při nízké teplotě se shoduje s dalšími autory (Yang et al. 2025; Casto et al. 2021). Odrůda RUZROK je jako jediná obalená pevnou pluchou, která semení propůjčuje ochranu a zároveň může působit jako blokáda při počátečním růstu. Odrůda se i přesto ukazuje jako velmi vhodná pro české klimatické podmínky i časný výsev (Hermuth et al. 2012). Vzcházení zjišťované při druhé fázi výzkumu ukázalo vliv nízké teploty omezeným vzcházením odrůdy DIAMOND, která je prodejci řazená mezi zrnový typ. Naopak ostatní odrůdy, které se řadí spíše k využití na biomasu, prokázaly schopnost dorovnání počátečního opožděného růstu. Uvádí se, že cíleným šlechtěním čiroku na krátké stéblo a beztaninové zrno došlo nezáměrně k ovlivnění citlivosti vůči nízkým teplotám (Marla et al. 2019). Toto tvrzení mohou potvrdovat i námi získané výsledky. Genetický materiál uchovávaný v genové bance prokázal jiné vlastnosti než komerčně pěstované odrůdy.

### Závěr

Prezentované výsledky jsou součástí ročního výzkumu věnovaného screeningu genetického materiálu se zaměřením na toleranci vůči chladu. Testované odrůdy prokázaly různou reakci na chlad v počátečních fázích s různým potenciálem pro další práci šlechtitelů i výzkumných pracovníků.

## Literatura

- CASTO, A. L., K. M. MURPHY a M. A. GEHAN, 2021. *Coping with cold: Sorghum cold stress from germination to maturity*. Crop Science [online]. 61(6), 3894–3907. ISSN 1435-0653.
- ELZEBROEK, A. T. G. a K. WIND, 2008. *Guide to cultivated plants*. Wallingford, Oxfordshire, UK: CABI. ISBN 978-1-84593-356-2.
- KRATSCH, H. A. a R. R. WISE, 2000. *The ultrastructure of chilling stress*. Plant, Cell & Environment [online]. 23(4), 337–350. ISSN 1365-3040.
- MARLA, S. R., G. BUROW, R. CHOPRA, C. HAYES, M. O. OLATOYE, T. FELDERHOFF, Z. HU, R. RAYMUNDO, R. PERUMAL a G. P. MORRIS, 2019. *Genetic architecture of chilling tolerance in sorghum dissected with a nested association mapping population*. G3: Genes|Genomes|Genetics [online]. 9(12), 4045–4057. ISSN 2160-1836.
- STŘEDA, T., I. JOVANOVIĆ, N. BŘEZINOVÁ BELCREDI, T. NOVÁČEK, H. STŘEDOVÁ, J. E. A. MEJÍA a R. CERKAL, 2022. *Testování vitality semen polních plodin: Metodika pro aplikovaný výzkum*. Brno: Mendelova univerzita v Brně. ISBN 978-80-7509-859-7.
- ŠERÁ, B., 2023. *Methodological contribution on seed germination and seedling initial growth tests in wild plants*. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca [online]. 51(2), 13164. ISSN 1842-4309, 0255-965X.
- YANG, H., W. CUI, Y. LIU, W. ZHANG, J. LIU, Q. LIU, H. YAO, Y. HUANG, J. TANG a K. WU, 2025. *Evaluation of cold tolerance in sorghum germplasm from the Chishui River Basin in China: insights from germination, field trials, and physiological assays*. Frontiers in Plant Science [online]. 16. ISSN 1664-462X.

## Poděkování

Výzkum byl proveden za podpory Ministerstva zemědělství ČR RO 0425.

## Kontaktní adresa

Ing. Marie Lhotská

Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu

Drnovská 507/73, 161 00, Praha 6 - Ruzyně

marie.lhotska@carc.cz



## Výskyt tří pestíků v kvítku u pšenice a možnost jeho využití ve šlechtění

The occurrence of three pistils in a wheat floret and its potential use in breeding

*Martinek P., Maršálková A.*

*Agrotest fyto, s.r.o.*

### Abstrakt

Kvítek pšenice (*Triticum aestivum* L.) standardně obsahuje jeden pestík se dvěma bliznami. Existuje však dominantní mutace *Pis1* (nebo také *Mg* a *Mov-1*) na chromozomu 2DL, která způsobuje vývoj tří pestíků („three pistils“, rovněž „multi gynoecea“, „multi ovary“) v jednom kvítku, jež mohou produkovat až tři vyvinutá zrna v kvítku. Tato mutace ovlivňuje květní orgánovou identitu, zejména v rámci MADS-box genů. Může být využita pro pochopení mechanismů reprodukčního vývoje. Zvýšený počet pestíků umožňuje tvorbu vyššího počtu zrn v klasu, a tím i výnos. Zvýšený počet zrn v klasu je však kompenzován jejich nižší hmotností. Projev tří pestíků v kvítku je často doprovázen vyšší mírou otevřeného kvetení, což vede ke spontánnímu cizosprašení pylem z okolních rostlin. Tohoto jevu lze využít pro získávání hybridních zrn, které může být následně využitelné v běžném šlechtitelském postupu.

**Klíčová slova:** pšenice setá, tři pestíky, počet zrn klasu, cizosprašení, šlechtění

### Abstract

The wheat floret (*Triticum aestivum* L.) normally contains one pistil with three stigmas. However, there is also a dominant mutation *Pis1* (or also *Mg*, *Mov-1*) on chromosome 2DL, that causes the development of three pistils (also "multi gynoecea", "multi ovary") within a single floret. This mutation affects the identity of floral organs, especially within the MADS-box genes. It can be used to understand the mechanisms of reproductive development. The increased number of pistils allows the formation of a higher number of grains per spike and thus the yield. However, the increased number of grains per spike is compensated by their lower weight. The manifestation of the three pistils trait in a floret is often accompanied by a higher rate of open flowering, which leads to spontaneous cross-pollination with pollen from surrounding plants. This phenomenon can be used to produce hybrid grains, which can be practically used in the subsequent breeding process.

**Keywords:** common wheat, three pistils, grain number per spike, cross-pollination, breeding

### Úvod

Kvítek pšenice (*Triticum aestivum* L.) standardně obsahuje jeden pestík se třemi bliznami, avšak v některých genetických variantách či mutantních liniích může docházet k vývoji více pestíků v rámci jednoho kvítku. Genetická odchylka, projevující se přítomností tří samostatných pestíků v kvítku (TP – three pistils) představuje potenciálně významný nástroj pro šlechtění a může indikovat změny v genech regulujících květní orgánovou identitu, zejména v rámci MADS-box regulačních genů. Může být využita pro pochopení mechanismů reprodukčního vývoje. Zvýšený počet pestíků ovlivňuje počet zrn v kvítku, potažmo klásku a klasu a tím i výnosový potenciál. TP může posloužit jako marker pro mapování míry autogamie/alogamie, kvantitativních znaků, pro studium stability reprodukčních orgánů v různých prostředích a případně pro indukci otevřeného kvetení. Lze ho použít k posouzení vlivu na fertilitu, k cílenému využití v hybridizačních programech a k inovacím ve šlechtění pšenice. U pšenice a dalších obilnin (např. ječmene nebo rýže) byly identifikovány geny homologní k *Arabidopsis* – genům skupiny MADS-box, které určují počet a typ květních orgánů. Výskyt TP bývá často důsledkem změn v expresi genů třídy C nebo interakce mezi geny tříd B a C, jež blokují vývoj plodolistů. Dosavadní studie uvádějí že u pšenice způsobuje TP v kvítku dominantní mutace *Pis1* (pistils) (Peng *et al.*, 2008), *Mg* (multi gynoecea) (Wang *et al.*, 2009) u mutace pocházející z Číny na chromozomu 2DL, nebo také *Mov-1* (multi ovary) (Schoen *et al.*, 2025) u genotypu s blíže neuvedeným původem rovněž na stejném chromozomu. V naší studii vycházíme z TP mutace pocházející z Číny (Peng, 2003).

## **Materiál a metody**

Jarní TP forma pšenice označená HTS-1 byla získána v roce 2004 od profesora Zheng Song Penga (Sichuan Normal College, Nanchong, Sichuan 637002, China), byla zařazena do pracovní kolekce genetických zdrojů v Kroměříži a rovněž byla uložena do Genové banky v Praze. Byly u ní prováděny klasové výběry s cílem stabilizace znaku TP a vytvoření dostatečně uniformního materiálu. Stabilizace do homozygotního stavu nebyla u této pšenice v běžných polních podmínkách úspěšná (docházelo k vyštěpování odchýlných forem, včetně rostlin bez výskytu tří pestíků). Po roce 2006, kdy jsme se začali zabývat pšenicemi s odlišným zabarvením zrna, se v parcelách TP pšenice začaly vyskytovat rovněž rostliny s barevným zrnem. To bylo nepochybným důkazem spontánního opylování TP rostlin pylem pocházejícím z rostlin s odlišnou barvou zrna rostoucích v okolí. Uvědomili jsme si, že projev TP je spojen se zvýšenou mírou otevřeného kvetení. Postupně byly vytvořeny ozimé formy s TP (holomrazy během zimního období 2011/2012 pomohly vyselektovat dostatečně mrazuvzdorné rostliny), které byly dál šlechtitelsky využívány. Z nich některé odvozené linie byly rovněž předány do Genové banky v Praze.

Uváděné průměrné charakteristiky některých TP ozimých forem sklizených v roce 2025 z 10 m<sup>2</sup> parcel a jejich porovnání se skupinami genotypů s odlišným zabarvením zrna vycházejí z probíhajícího šlechtitelského programu. Pokusy probíhaly na polním bloku Terezov (GPS: 49.2918153 N, 17.3698636 E) po předplodině ozimé řepce. Byla použita základní agrotechnika: na podzim zásobní hnojení NPK 200 kg ha<sup>-1</sup>, na jaře herbicidní ošetření, pouze regenerační hnojení dusíkem v LAV (40 kg N ha<sup>-1</sup>), morforegulátor Moddus, 0,2 l ha<sup>-1</sup> ve fázi DC32-DC33, bez fungicidního ošetření proti houbovým chorobám.

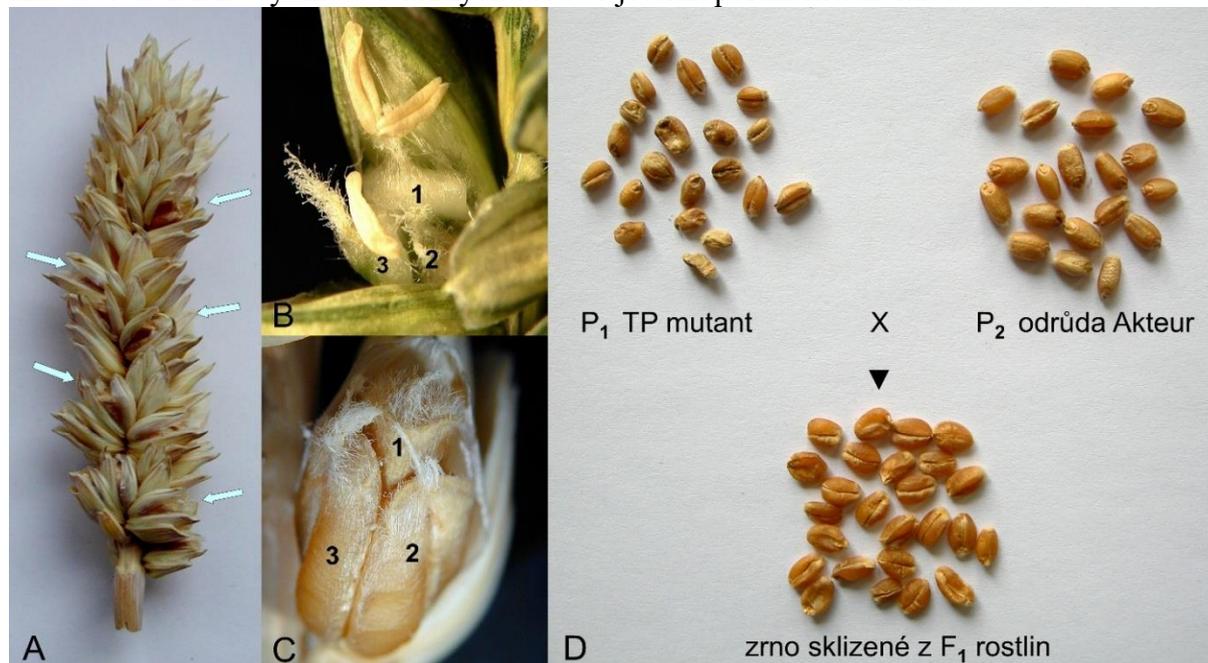
Jsou uvedeny dlouholeté zkušenosti s využitím otevřeného kvetení TP forem pro získávání hybridů jako alternativního způsobu, jež nevyžaduje klasický způsob ruční kastrace a opylení v plně kontrolovaných podmínkách.

Je diskutována literatura jiných autorů, zabývajících se výskytem homeotické transformace prašníků na pestíkům podobné struktury u TP forem po indukci ethylénem a možnost takto vytvořených pylově sterilních forem – tedy jaderně podmíněné samčí pylové sterility (NMS) pro případné využití ve šlechtění hybridní pšenice.

## Výsledky

### Charakteristika TP forem ve srovnání s běžnou pšenicí

TP mutace vytvářejí tři pestíky v kvítku (obr. 1), které jsou nezávisle opylovány (Watanabe *et al.*, 2015) a mohou za příznivých podmínek vytvořit tři plodná zrna v kvítku. Ta mají ale nižší hmotnost než zrna vyvinutá u běžných odrůd s jedním pestíkem v kvítku.



Obrázek 1. Mutace vytvářející tři pestíky v kvítku; A – vzhled klasu (šipky označují zřetelné kvítky s vyšším počtem obilek v kvítku, které rozevívají obaly kvítku, takže jsou viditelné i při pohledu zvenčí na klas); B - kvítek se třemi pestíky (jednotlivé pestíky jsou označeny čísly), jsou na nich patrné zaschlé zbytky ochmýřených blizen, v kvítku jsou zřetelné rovněž tři tyčinky s vyvinutými již vyprášenými žlutými prašníky; C – vyvinutá zrna v kvítku (jednotlivá zrna jsou označena čísly); D – příklad křížení, kdy mateřská forma (TP mutant) je křížena s odrůdou Akteur, a v důsledku dominance genu *Pis1* pro znak TP se v  $F_1$  generaci vyskytují rovněž TP kvítky vytvářející poněkud zploštělá zrna.

Ozimé TP formy pšenice jsou ve srovnání s běžnými odrůdami pšenice mnohem méně výnosné (tab. 1). Oproti výnosnější kontrolní odrůdě v hodnoceném pokusu Tobak ( $12,86 \text{ t ha}^{-1}$ ), měl soubor 10 pšeníc s TP v kvítku výnos v průměru jen  $8,13 \text{ t ha}^{-1}$ , tedy o 37 % nižší. TP formy se vyznačovaly řidšími porosty s nižším počtem klasů na  $1 \text{ m}^2$ , nižší hmotností 1000 zrn ( $24,2 \text{ g}$ ), ale mnohem vyšším počtem zrn (stanoveno přepočtem z výnosu, HTS a počtu klasů na  $1 \text{ m}^2$ ). Měly v průměru 87 zrn v klasu, což je o 43,7 % více než u kontrolní odrůdy Tobak. TP formy jsou rovněž porovnány se soubory pšeníc s jedním pestíkem v kvítku, které se navzájem liší barvou zrna. TP se vyznačovaly nižším průměrným výnosem než pšenice s černým zrnem (s kombinací genů pro modrý aleuron a purpurový perikarp), modrým zrnem (s genem nebo geny pro modrý aleuron) purpurovým zrnem (s geny pro purpurový perikarp) a se žlutým zrnem (s geny *Psy* pro enzym fytoen syntázu, jež řídí syntézu karotenoidů).

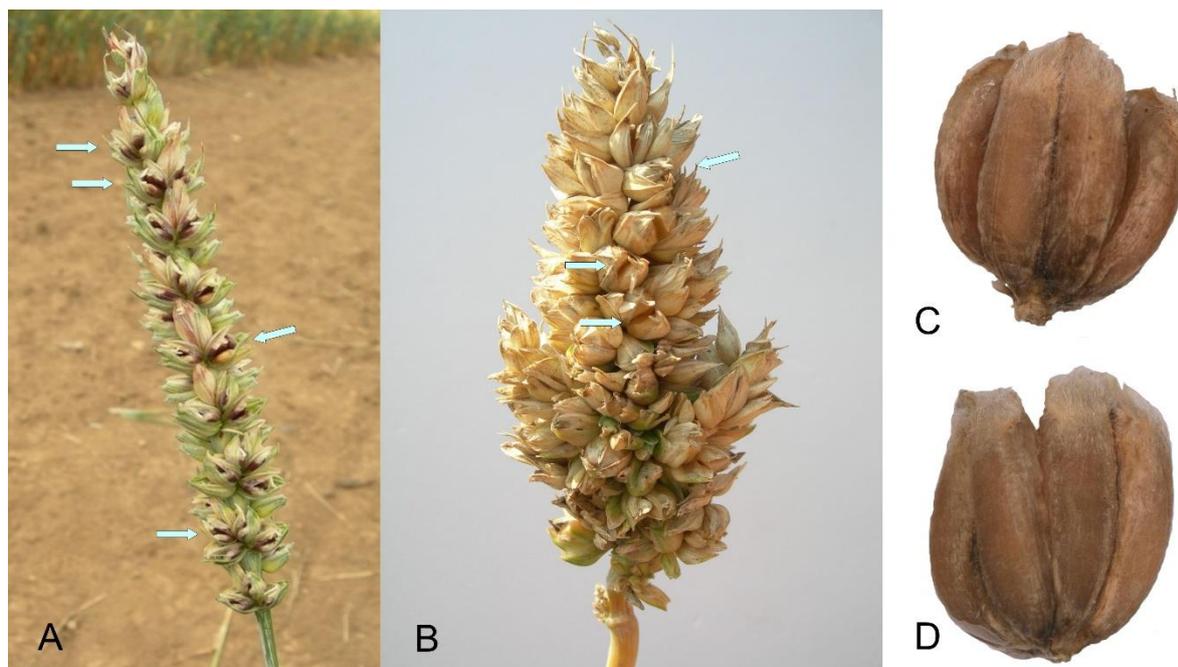
Tab. 1. Charakteristika souborů genotypů lišících se výskytem tří pestíků v kvítku a zabarvením zrna

Znak	Počet genotypů v souboru	Výnos (t ha <sup>-1</sup> )	Hmotnost 1000 zrn (g)	Datum metání (dní oproti Bohemia)	Odolnost k poléhání (9-1)*	Výška porostu (cm)	Počet klasů na 1m <sup>2</sup>	Hmotnost zrna klasu (g)	Počet zrn klasu
Tobak (kontrola)	1	12,86	45,6	6	9	102	465	2,77	61
Bohemia (kontrola)	1	11,70	48,4	0 (18. 05.)	9	111	413	2,83	59
Tři pestíky v kvítku	10	8,13	24,2	0	8	101	386	2,11	87
Černé zno	68	9,99	48,2	1	7	107			
Modré zno	27	10,19	50,0	1	9	104			
Purpurové zno	20	9,92	41,2	-2	7	100			
Žluté zno	15	11,66	44,2	3	9	107			

\* 9 - nejlepší hodnota, 0 - nejhorší hodnota

### Využitelnost TP forem pro získávání hybridních zrn

Ve vyvíjejících se kvítcích TP forem pšenice dochází v souvislosti s vyšším počtem pestíků vyrůstajících z širšího kalichu k obnažování pohlavních orgánů (pestíků, tyčinek), což se navenek projevuje vyšší mírou otevřeného kvetení. Samičí pohlavní orgány tak mohou být rovněž opyleny a oplozeny pylem přenášeným větrem z okolních rostlin. To umožňuje změnu autogamie, která je charakteristická pro pšenici setou v důsledku pseudokleistogamie (opylení v uzavřeném kvítku ještě před jeho otevřením) na částečnou alogamii (cizosprašnost). Tohoto jevu lze využít pro tvorbu hybridů, kdy mateřská TP pšenice může být opylena pylem z okolních rostlin. Pokud dojde k oplození TP rostlin (*Pis1Pis1*) pylem z rostlin s jedním pestíkem (*pis1pis1*), následující F<sub>1</sub> generace bude heterozygotní (*Pis1pis1*) a bude vykazovat TP. V F<sub>2</sub> generaci se vyskytnou rostliny s jedním pestíkem a se třemi pestíky v poměru 1:3. Rostliny s jedním pestíkem v kvítku se dají velmi dobře vizuálně odlišit od rostlin se TP. Rostliny s klasou s jedním pestíkem v kvítku lze pokládat za hybridy vzniklé cizosprašením, které v důsledku jednoho pestíku v kvítku jsou opět samosprašné. Tyto lze snadno detekovat, odděleně sklídit a následně použít v dalším šlechtitelském procesu. Je pochopitelné, že ne všechny TP rostliny v porostu (*Pis1Pis1*) budou opyleny cizím pylem z jednopestíkových rostlin v okolí. Proto frekvence výskytu jednopestíkových rostlin v druhém rokem pěstované populaci (směsi rostlin po samosprašení a F<sub>2</sub> rostlin po cizosprašení) bude poměrně malá. Využití částečné cizosprašnosti TP rostlin bylo využito pro formulování metody získávání hybridů (Martinek, 2018), která nevyžaduje provádění ruční kastrace a opylování mateřských rostlin otcovskými, jak je běžně využíváno ve šlechtění. Metoda založená na cizosprašnosti TP rostlin má některé výhody (odpadá ruční kastrace, za podmínky výsevu většího množství TP rostlin pro spontánní křížení a při vhodném uspořádání otcovských forem lze získávat poměrně velké množství hybridních zrn), ale i nevýhody (není zcela jisté, který otcovský genotyp se účastnil opylení). V Kroměříži máme nyní k dispozici několik linií vytvořených pomocí této metody. Metoda je rovněž s úspěchem využívána pro hybridizaci s pšenicí, vyznačující se barevným zrnem, případně mnohořadým klasem (obr. 2).



Obrázek 2. Příklady výskytu tří pestíků (TP) v kvítku v kombinaci s jinými znaky; A – TP v kombinaci s purpurovým perikarpem; B – TP v kombinaci s mnohořadým klasem. Jedná se o klasy rostlin vzniklé spontánním opylením TP pšenice pylem příslušných donorů. Šipkami jsou zvýrazněny kvítky s větším počtem zrn; C a D – ukázky skupin zrn v kvítcích, které jsou orientovány vně břišní rýhou

### Diskuze

Výsledky ukazují, že současné TP formy pšenice se oproti běžným odrudám liší drobným zrnem a nízkými výnosy. Je snaha tento nedostatek odstranit šlechtěním na zkracování délky stébla a zvyšování sklizňového indexu (poměr mezi hmotností zrna klasu a hmotností nadzemní biomasy stébla s klasem). Byly dosaženy dílčí pozitivní výsledky a v některých případech byl nalezen i poměrně velký projev heteroze u vzniklých hybridů (Irshad *et al.*, 2022). Přesto lze spíše předpokládat, že vytvoření komerčně využitelných liniových odrud s TP se nepodaří realizovat z důvodu, že malá hmotnost obilek takových odrud by byla pro zpracovatele nepřijatelná. Současní spotřebitelé preferují zrno, které zůstává nad sítem s 2,5 mm otvory.

TP pšenice však mají změněné uspořádání pohlavních orgánů v kvítku. Gen pro vývoj tří pestíků je evidentně součástí systému MADS-box transkripčních faktorů řídících identitu květních orgánů, aktivitu květních meristemů a přechod do kvetení. Jsou klíčové pro ovlivňování struktury a vývoje reprodukčních orgánů pšenice a mají podobnou roli jako u lépe prostudovaných modelových rostlin (například u *Arabidopsis*). TP pšenice jsou potenciálními zdroji modifikujícími autogamní způsob rozmnožování na částečně alogamní. Evidentně to má souvislost se změnou počtu pestíků v kvítku. Využití TP pšenice pro alternativní metodu získávání hybridních zrn spočívá v tom, že odpadá potřeba kastrace, a tímto novým postupem lze získávat každoročně velký počet hybridních zrn v závislosti na velikosti vysévané parcely mateřské populace. Vzhledem ke spontánně probíhající alogamii předpokládáme, že její uplatnění ve šlechtění povede k tvorbě odrud s dobrou adaptací na dané podmínky prostředí. Ve firmě Agrotest fyto, s.r.o. v Kroměříži je tato metoda úspěšně využívána již desátým rokem.

Podle dostupné literatury lze u TP pšenice navodit tak zvanou homeotickou transformaci tyčinek na pestíků podobné struktury indukci etylenem (Liao *et al.*, 2024), nebo případně i tepelným šokem. Tím dojde k vytvoření šesti „pestíků“ v kvítku, kdy u TP kvítků se tyčinky

vyvinou v pestíkům podobné struktury. Dojde tak k eliminaci samčích orgánů v kvítku a navození NMS, jež by mohla být potenciálně využita pro tvorbu hybridních odrůd. Tato transformace byla pozorována již u výchozí mutantní formy HTS-1, kdy za určitých podmínek byl popsán výskyt až šesti pestíkům podobných struktur v kvítku (Yang *et al.*, 2015). Toto ovlivnění by pravděpodobně mohlo být použito i u jiných TP forem odvozených od HTS-1. V polních pokusech v Kroměříži však tento projev sterility (homeotické transformace tyčinek na pestíkům podobné struktury) nebyl pozorován. To ale neznamená, že by ho nebylo možné uměle vyvolat například morforegulátorem obsahujícím ethefon, z něhož se ethylen uvolňuje. (Tato úvaha vede k jinému typu pylově sterilního analoga, který se odlišuje od nyní nejvíce využívané cytoplasmatické pylové sterility – CMS, podmíněné faktory mimo jádro, především v mitochondriích.) Dominantně založený projev TP, spojený s velmi drobným zrnem, by se ale projevil i při produkci F<sub>1</sub> hybridního zrna. To je potřeba považovat za potenciální problém uvažovaného šlechtitelského NMS systému, pokud by byl využit ve šlechtění hybridní pšenice.

### Závěr

V příspěvku byla představena mutace umožňující tvorbu tří pestíků v kvítku u pšenice seté, její vliv na rozmnožovací proces, potenciální využitelnost pro tvorbu hybridních zrn a její spojitost s možností indukce jaderné pylové sterility pro potenciální využití v hybridním šlechtění pšenice. Porozumění významu genů řídících identitu květních orgánů, jejich vývoj a fertilitu je významné pro efektivní šlechtění orientované na zvyšování výnosu.

### Literatura

- Irshad A., Guo H., Ur Rehman S., Gu J. (2022): Induction of semi-dwarf trait to a Three pistil tall mutant through breeding with increased grain numbers in wheat. *Frontiers in Genetics*, 2022 (PMID: 35211160, DOI: 10.3389/fgene.2022.828866)
- Liao M., Chen Z., Wu Y., Yang Q. (2024): Ethylene may be the key factor leading to the homologous transformation of stamens into pistils in three-pistil wheat. *Journal of Plant Growth Regulation*, 43(7), 1–15. DOI:10.1007/s00344-024-11261-7
- Martinek, P. (2018): Nová metoda získávání hybridů pro potřeby šlechtění pšenice. Certifikovaná metodika, Kroměříž: Agrotest fyto, s.r.o., 25 s. ISBN 978-80-87555-17-0
- Peng Z. (2023): A new mutation in wheat producing three pistils in a floret. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 189(4), 270–272.
- Peng Z., Martinek P., Kosuge K., Kuboyama T., Watanabe N. (2008): Genetic mapping of a mutant gene producing three pistils per floret in common wheat. *Journal of Applied Genetics*, 49(2), 135–139.
- Schoen A., Yoshikawa G.V., Sharma P. K., Mahlandt A., Chen Y., Sheng H., Kochian L., Gao P., Xiang D., Quilichini T. D., Venglat P., Wang S., Yadav I. S., Sablowski R., Wang Y., Zhang P., Whibley A., Hill A., Gu Y., Rodriguez-Leal D., Luo W., Qi Y., Meier N., Kajla A., Willman M., Brown-Guedira G., Simpson S. A., Youngblood R. C., Hulse-Kemp A., Murphy A., Gill B., Uauy C., Datla R., Rawat N., Boden S. A., Tiwari V. (2025): WUSCHEL-D1 upregulation enhances grain number by inducing formation of multiovary-producing florets in wheat. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 21, 122(42) e2510889122. doi: 10.1073/pnas.2510889122.
- Wang Z., Xu D., Ji J., Wang J., Wang M., Ling H., Sun G., Li J. (2009): Genetic analysis and molecular markers associated with multi-gynoecia (*Mg*) gene in Trigrain wheat. *Canadian Journal of Plant Science*, 89(5), 845–850.

- Watanabe N., Moshiba M., Martinek P., Peng, Z. (2015): Blue aleurone trait diagnoses developmental origin of three pistils in a floret in common wheat. *Plant Breeding*, 134(3), 641–645.
- Yang Z., Peng Z., Wei S., Liao M., Yu Y., Jang Z. (2015): Pistillody mutant reveals key insights into stamen and pistil development in wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Genomics*, 16, 211. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1453-0>

### **Poděkování**

Příspěvek vznikl za finanční podpory projektu QL24010230 Ministerstva zemědělství České republiky.

### **Kontaktní adresa**

Ing. Petr Martinek, CSc., Agrotest fyto, s.r.o., Havlíčkova 2787/121, 76701 Kroměříž, tel.: +420 573317152, e-mail: [martinek@vukrom.cz](mailto:martinek@vukrom.cz)



## Hodnocení genetické diverzity genetických zdrojů kmínu obecného (*Carum carvi* L.) s využitím ISSR markerů

Assessment of genetic diversity of caraway (*Carum carvi* L.) genetic resources using ISSR markers

Misginna S.G.<sup>1</sup>, Rösztlerová P.<sup>1</sup>, Jozová E.<sup>1</sup>, Gaoua O.<sup>1</sup>, Kamulegeya P.<sup>1</sup>, Čurn V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta zemědělská a technologická, Katedra genetiky a biotechnologií

### Abstrakt

V této studii byly použity markery Inter-simple sequence repeat (ISSR) k vyhodnocení genetické diverzity u 36 odrůd kmínu obecného (*Carum carvi* L.) různého geografického původu. Šest ISSR primerů generovalo celkem 55 skórovatelných markerů, z nichž 49 (89 %) bylo polymorfních. Genetická podobnost vyjádřená Jaccardovým koeficientem se pohybovala od 0,22 do 0,88, což odráží značnou variabilitu mezi analyzovanými položkami genetických zdrojů. Neiova genová diverzita ( $H = 0,33$ ) a Shannonův index diverzity ( $I = 0,50$ ) naznačovaly střední diverzitu v rámci sledovaného souboru. Vnitropopulační variabilita byla na úrovni 62% a mezipopulační variabilita na úrovni 38% (AMOVA,  $\Phi_{ST} = 0,3785$ ,  $p < 0,001$ ). České odrůdy vykazovaly nejvyšší diverzitu ( $H = 0,261$ ), zatímco nejnižší diverzita byla zjištěna mezi položkami genetických zdrojů z bývalého Sovětského svazu ( $H = 0,082$ ). Tato zjištění ukazují, že ISSR markery jsou vysoce informativní pro detekci genetické variability u kmínu.

**Klíčová slova:** molekulární markery, shluková analýza, analýza hlavních komponent

### Abstract

In this study, Inter-simple sequence repeat (ISSR) markers were used to evaluate genetic diversity among 36 caraway (*Carum carvi* L.) accessions of diverse geographic origins. Six ISSR primers produced a total of 55 scorable bands, of which 49 (89%) were polymorphic. Genetic similarity measured by Jaccard coefficient ranged from 0.22 to 0.88, reflecting substantial variation. Nei's gene diversity ( $H = 0.33$ ) and Shannon's index ( $I = 0.50$ ) indicated moderate diversity within accessions. AMOVA revealed 62% within-population and 38% among-population variation ( $\Phi_{ST} = 0.3785$ ,  $p < 0.001$ ). The Czech accessions exhibited the highest diversity ( $H = 0.261$ ), while accessions from the Former Soviet Union had the lowest ( $H = 0.082$ ). These findings demonstrate that ISSR markers are highly informative for detecting genetic variation and support effective germplasm conservation and breeding.

**Keywords:** Molecular markers, Germplasm conservation, Cluster analyses, Principal component analysis

### Introduction

Caraway (*Carum carvi* L.) is a biennial aromatic species belonging to the family *Apiaceae*, cultivated worldwide for its seeds, which serve as both a culinary spice and a source of essential oil. The crop holds considerable industrial and pharmacological significance owing to its essential oil composition and bioactive compounds with digestive and antimicrobial properties (Bailer et al., 2001; Rasooli & Allameh, 2016). Despite its long history of cultivation and economic relevance, caraway remains underrepresented in genetic and breeding studies. The maintenance of broad genetic diversity within cultivated and wild germplasm is fundamental for improving agronomic traits such as yield, essential oil content, and abiotic stress tolerance. Furthermore, the conservation of ex situ collections and in situ populations is vital to safeguard unique alleles and ensure adaptive potential for future breeding programs (de Haro Reyes et al., 2025).

Molecular marker technologies provide robust tools for elucidating genetic diversity and population structure in crop species. Among these methods, Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) markers have proven particularly useful due to their high polymorphism, reproducibility, and use without prior DNA sequence data (Gemmill & Grierson, 2021). ISSRs

amplify DNA regions between microsatellite loci, generating multilocus profiles that effectively capture genome-wide variation. Previous research demonstrated the efficiency of ISSR and RAPD markers in revealing substantial polymorphism and geographic structuring among Iranian caraway populations (Fahmideh et al., 2017). More recently, genotyping-by-sequencing analyses have identified distinct genetic lineages associated with geographic origin and growth habit (von Maydell et al., 2024). Inspired by these discoveries, the present study explores the genetic diversity of Central European *C. carvi* germplasm through ISSR markers. The specific objectives were to quantify ISSR polymorphism among accessions and assess genetic relationships in relation to their geographic origin, with the goal of supporting improved germplasm conservation and breeding strategies.

## Materials and Methods

Thirty-six accessions of caraway (*Carum carvi* L.) representing diverse genetic resources were analyzed. These accessions were divided into five groups according to their origin: varieties from the Czech Republic, Czechoslovakia, Germany, the Former Soviet Union, and Czech breeding materials. Genomic DNA was extracted from young leaves and seeds using a modified CTAB protocol, or with the Zymo Research Plant/Seed DNA kit. DNA quality was verified using a NanoDrop spectrophotometer and agarose gel electrophoresis. Six ISSR primers, UBC-807, UBC-812, UBC-836, UBC-840, UBC-841, and UBC-880, were used for PCR (dos Santos Araújo et al., 2016; Gebrehiwet et al., 2019; Grativol et al., 2011). Each 10  $\mu$ L reaction contained 1 $\times$  PPP Master Mix (Top-Bio, CZ), 2 $\times$  BSA, 10 ng primer, and 50 ng template DNA. PCR amplification was performed on a Biometra TAdvanced thermocycler. The protocol included 2 min initial denaturation at 95  $^{\circ}$ C, 40 cycles of 93  $^{\circ}$ C for 20 s, 52  $^{\circ}$ C for 1 min, and 72  $^{\circ}$ C for 20 s, followed by final extension at 72  $^{\circ}$ C for 6 min. PCR products were visualized by INGENIUS UV gel documentation (see Figure 1), and clear, reproducible bands were scored manually as present (1) or absent (0). This scoring produced a 36  $\times$  55 binary matrix. Genetic similarity between accessions was calculated using the Jaccard coefficient ( $J = a/(a + b + c)$ ) and then converted to genetic distance ( $D = 1 - J$ ) (Kosman & Leonard, 2005).

Genetic relationships were assessed using neighbor-joining (NJ) and UPGMA clustering. Both analyses were based on the Jaccard distance matrix, and accessions were color-coded by geographic origin. Principal component analysis (PCA) was performed to visualize genetic variation. Diversity indices, including the percentage of polymorphic loci (PPL), Shannon's information index (I), and Nei's gene diversity (H), were calculated for each population. A heatmap illustrated pairwise genetic similarity. AMOVA with pairwise  $\Phi$ ST was used to partition genetic variance among and within populations. All analyses were performed in R version 4.3.3 (R Core Team, 2024) using the packages *vegan*, *ape*, *adegenet*, and *poppr* for distance calculation, clustering, PCA, and AMOVA.

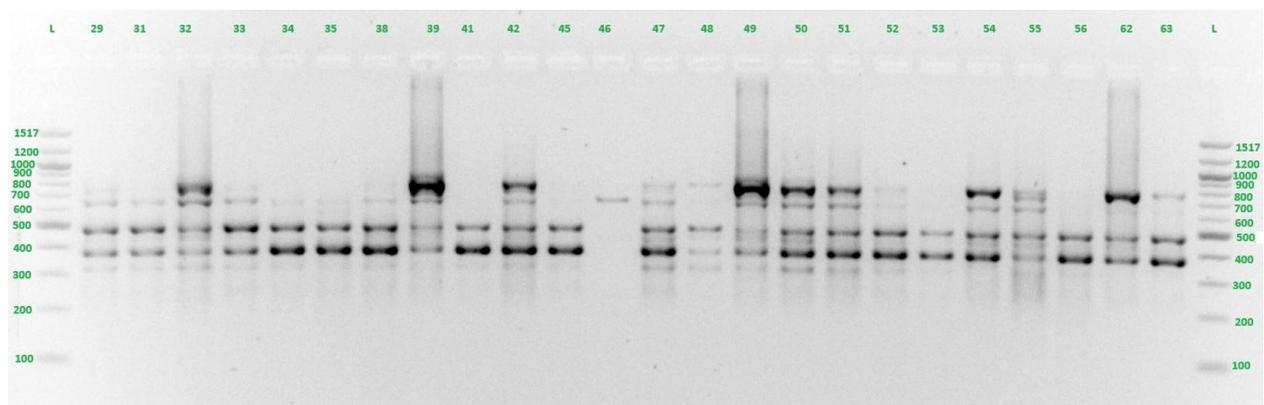


Figure 1. INGENIUS UV gel documentation for primer UBC 812

## Results

### ISSR Polymorphism and Genetic Diversity

Six ISSR primers produced a total of 55 clear and reproducible bands across 36 *Carum carvi* accessions, of which 49 (89%) were polymorphic, indicating high marker informativeness. The number of amplified fragments per primer ranged from 7 (UBC-841) to 12 (UBC-880). The Jaccard genetic similarity coefficient among accessions ranged from 0.22 to 0.88, reflecting substantial genetic variation within the collection. The Czech group exhibited the highest diversity (percentage of polymorphic loci (PPB%) = 81.63%, Shannon's information index (I) = 0.395, Nei's gene diversity (H) = 0.261), while accessions from the Former Soviet Union showed the lowest (PPL% = 16.33, I = 0.113, H = 0.082), indicating a narrower genetic base within that group. The diversity index values among primers ranged from 0.17 to 0.34, demonstrating moderate to high polymorphism across the loci.

### Genetic Relationships and Clustering

Both the Neighbor-Joining and UPGMA dendrograms separated the accessions into two major genetic groups, as shown in Figures 2 and 3. Most accessions from the Czech Republic clustered tightly together, while new breeding material (Czech Republic) and foreign-origin accessions formed a distinct subgroup. The Principal Component Analysis (PCA) supported this structure, with the first two principal components explaining 32.6% of total genetic variation and clearly grouping accessions according to their geographic origin (see Figure 4). As shown in Figure 5, the clustered heatmap further confirmed strong within-origin similarity among Czech accessions compared with broader diversity among external origins.

Genetic relationships among *Carum carvi* accessions (ISSR; Jaccard; n=36, loci=49)

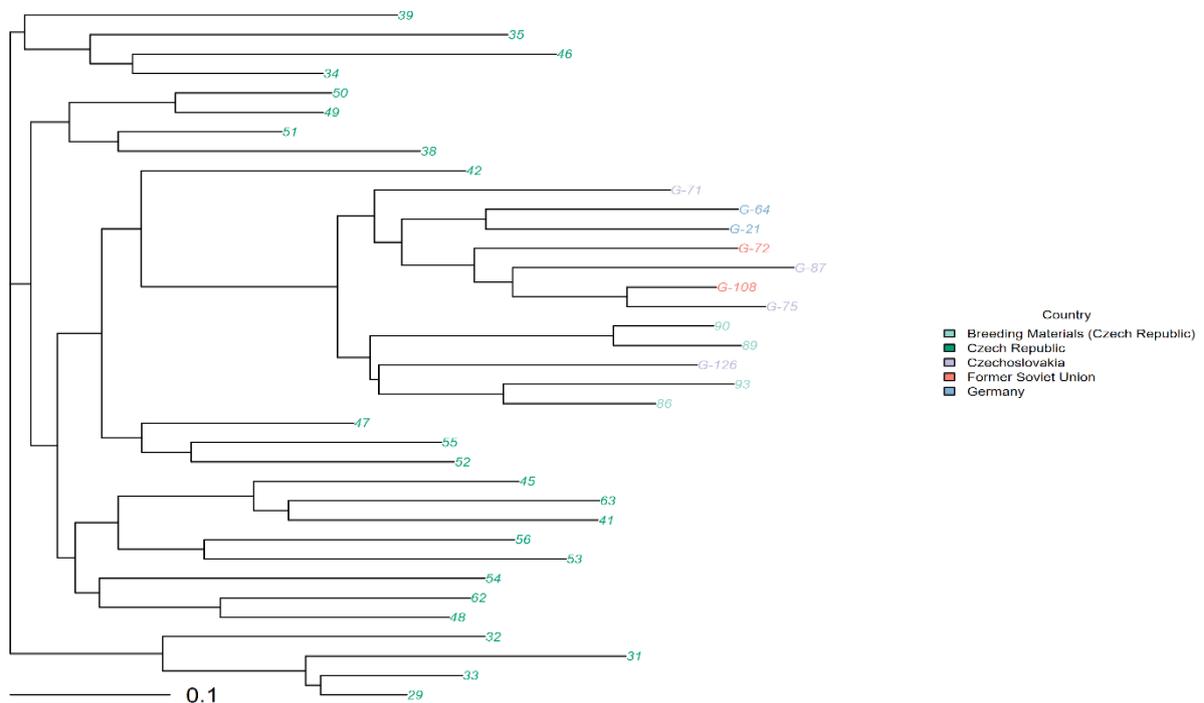


Figure 1. Neighbor-joining (NJ) tree depicting genetic clustering of accessions by geographic origin. Two major clusters are evident, with Czech Republic accessions forming a distinct main group, and breeding material and foreign accessions forming a genetically separate cluster.

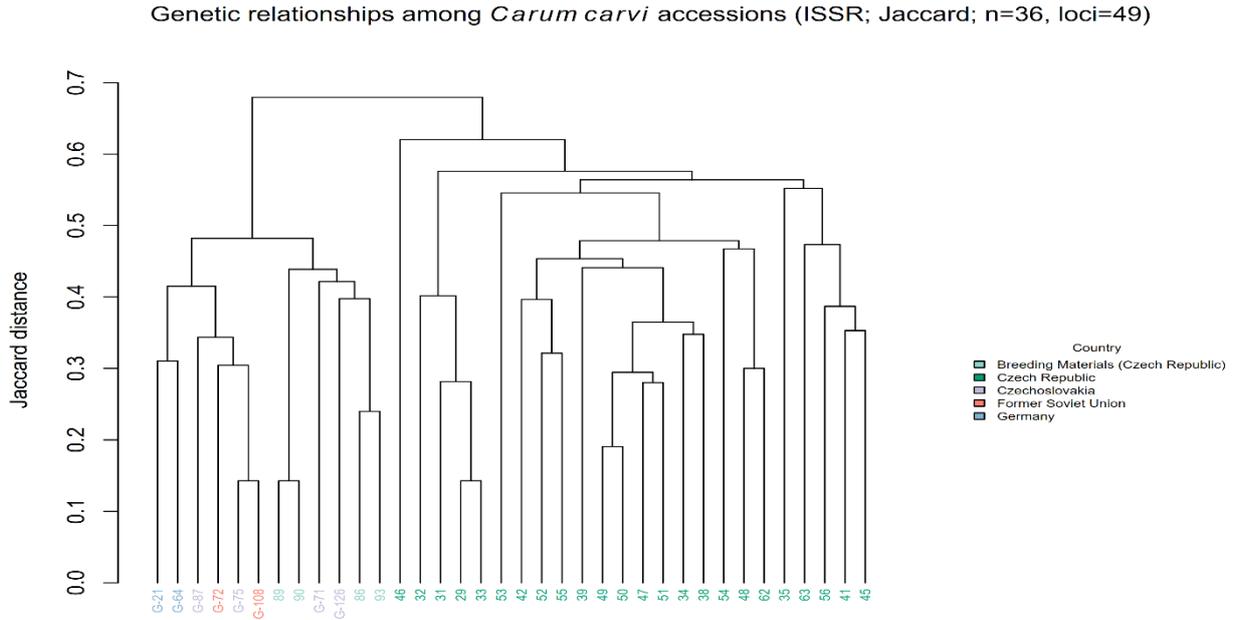


Figure 3. UPGMA dendrogram showing genetic relationships among *Carum carvi* accessions based on ISSR data. The accessions are separated into two primary genetic clusters, again distinguishing Czech Republic accessions from breeding and foreign-origin groups, confirming moderate genetic differentiation.

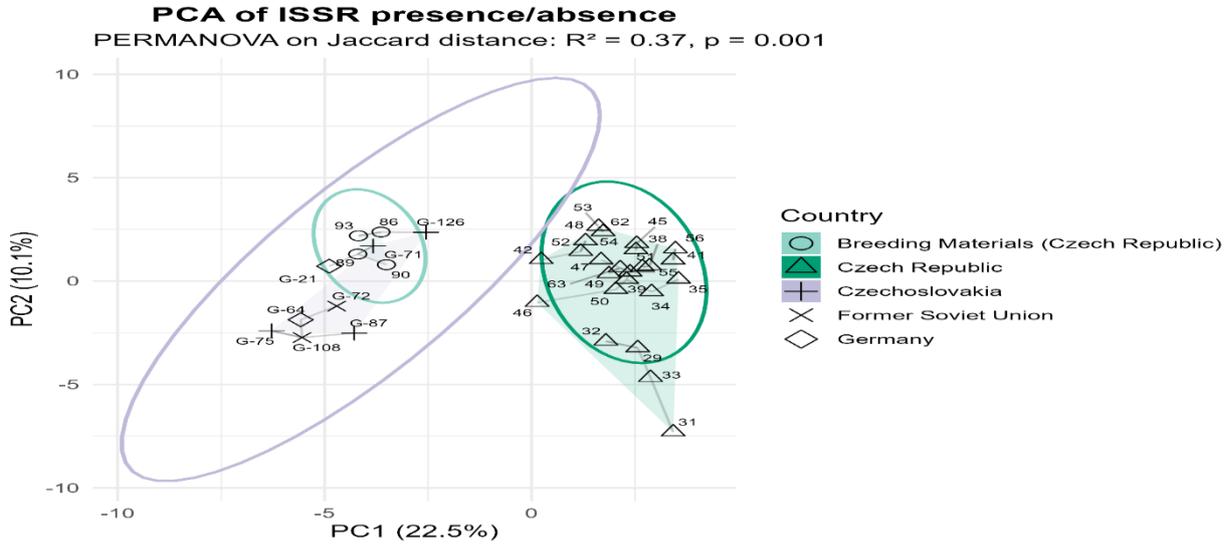


Figure 4. Principal Component Analysis (PCA) based on Jaccard genetic distance among 36 *Carum carvi* accessions. The first two principal components explain 22.5% (PC1) and 10.1% (PC2) of total genetic variation. The 95% confidence ellipses highlight clear separation between Czech Republic accessions and foreign origins (Germany, Former Soviet Union, Czechoslovakia) and Breeding Materials. PC1 primarily differentiates Czech accessions from the others, while PC2 captures variation within groups. The spatial grouping observed here is consistent with the clustering patterns revealed by the dendrogram analyses.

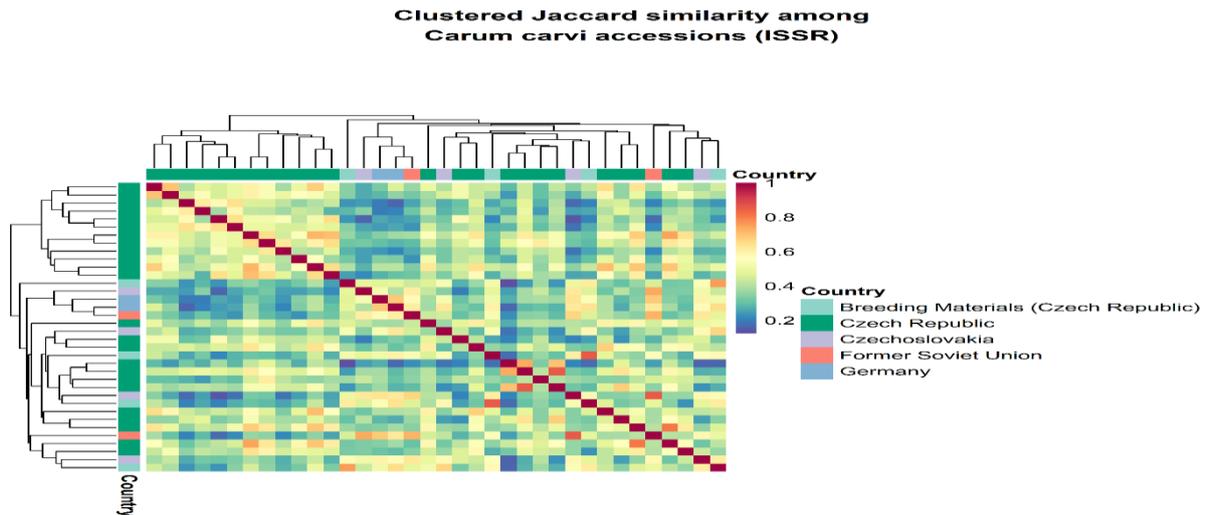


Figure 5. Clustered heatmap of pairwise Jaccard similarity among 36 *Carum carvi* accessions based on ISSR markers. Clear grouping is observed by Country / Origin, with Czech Republic accessions showing the highest within-group similarity, whereas breeding materials and foreign-origin accessions display greater genetic divergence.

#### Analysis of Molecular Variance (AMOVA)

Analysis of molecular variance (AMOVA) indicated that 62.15% of the total genetic variation occurred within countries, while 37.85% was attributed to among-country differences (see Table 1). The fixation index ( $\Phi_{ST} = 0.3785$  ( $p < 0.001$ )) confirmed moderate population differentiation, consistent with the clustering results.

Table 1. Analysis of molecular variance (AMOVA) of *Carum carvi* accessions based on ISSR data.

Source of variation	Sigma	Percentage of total variation (%)
Among countries	3.8615	37.85
Within countries	6.3414	62.15
Total	10.2029	100.00

#### Discussion

The high level of polymorphism (89%) and wide range of genetic similarity (0.22–0.88) observed in this study indicate substantial genetic diversity among the 36 *Carum carvi* accessions analyzed. Notably, the diversity indices for Czech accessions (Nei's  $H = 0.261$ ; Shannon's  $I = 0.395$ ) were higher than those from other countries, suggesting that this population retains a broader genetic base and genetically variable resources are being utilized in breeding programs. This diversity likely reflects long-term germplasm exchange and adaptation to heterogeneous Central European agro-climatic conditions. Conversely, the low diversity observed within the Former Soviet Union accessions ( $H = 0.082$ ;  $I = 0.113$ ) implies a narrower genetic background or possible genetic bottleneck (Galambosi & Peura, 1996; Von Maydell et al., 2020).

Furthermore, cluster analysis and PCA corroborated the genetic structuring, with Czech accessions forming a major cluster, while Czechoslovakian, German, and Czech breeding material accessions were more dispersed. Consistently, the predominance of within-population variation (62.15%) observed in AMOVA indicates substantial allelic richness within individual accessions, a common feature of cross-pollinated or partially outcrossing species such as *C. carvi*. Supporting these findings, similar geographic structuring and diversity patterns were reported by Fahmideh et al. (2017) using ISSR and RAPD markers in Iranian populations

(Seidler-Łozykowska et al., 2014). Taken together, these results demonstrate that ISSR markers are highly effective in detecting genetic variation in *C. carvi*, offering valuable insights for germplasm conservation and future breeding strategies.

## Conclusion

This study confirmed that ISSR markers are effective and reliable tools for assessing genetic diversity in *Carum carvi* germplasm. Thirty-six accessions were analyzed using six ISSR primers, revealing high polymorphism (89%) and moderate genetic differentiation ( $\Phi_{ST} = 0.3785$ ) among populations. Czech accessions showed the greatest genetic diversity. In contrast, accessions from the Former Soviet Union and Germany were comparatively uniform. Both cluster and PCA analyses consistently grouped accessions by geographic origin. This indicates clear regional structure. The predominance of within-population variation further demonstrates substantial allelic richness, which is highly valuable for breeding. Overall, these results provide a strong molecular basis for selecting genetically diverse parents, improving ex situ collection management, and developing future conservation and breeding strategies for caraway (*Carum carvi* L.).

## References

- Bailer, J., Aichinger, T., Hackl, G., de Hueber, K., & Dachler, M. (2001). Essential oil content and composition in commercially available dill cultivars in comparison to caraway. *Industrial Crops and Products*, 14(3), 229–239. [https://doi.org/10.1016/S0926-6690\(01\)00088-7](https://doi.org/10.1016/S0926-6690(01)00088-7)
- de Haro Reyes, B., Palmé, A., Fitzgerald, H., Göransson, M., Lyytikäinen, V., Madsen, B., Normand, S., Thorbjörnsson, H., Treier, U. A., & Hagenblad, J. (2025). An east–west distribution of genetic diversity in Nordic populations of caraway (*Carum carvi* L.) and its consequences for conservation prioritisation. *Conservation Genetics*, 26(4), 771–785. <https://doi.org/10.1007/S10592-025-01702-5>
- dos Santos Araújo, F., Vasconcelos Pacheco, M., de Almeida Vieira, F., dos Santos Ferrari, C., Cardoso Félix, F., & Teixeira das Chagas, K. P. (2016). Marcadores moleculares ISSR para el estudio de la diversidad genética de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. *Idesia*, 34(3), 47–52. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292016000300007>
- Fahmideh, L., Pour, L. J., & Fazeli-Nasab, B. (2017). Genetic assessment of some populations of the medicinal plant Caraway (*Carum carvi*) using RAPD and ISSR markers. <https://doaj.org/article/e6763bbddb0d4a258302128dabe1254e>
- Galambosi, B., & Peura, P. (1996). Agrobotanical Features and Oil Content of Wild and Cultivated Forms of Caraway (*Carum carvi* L.). *Journal of Essential Oil Research*, 8(4), 389–397. <https://doi.org/10.1080/10412905.1996.9700646>
- Gebrehiwet, M., Haileselassie, T., Gadissa, F., & Tesfaye, K. (2019). Genetic diversity analysis in *Plectranthus edulis* (Vatke) Agnew populations collected from diverse geographic regions in Ethiopia using inter-simple sequence repeats (ISSRs) DNA marker system. *Journal of Biological Research (Greece)*, 26(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/S40709-019-0100-3/FIGURES/5>
- Grativol, C., Da Fonseca Lira-Medeiros, C., Hemerly, A. S., & Ferreira, P. C. G. (2011). High efficiency and reliability of inter-simple sequence repeats (ISSR) markers for evaluation of genetic diversity in Brazilian cultivated *Jatropha curcas* L. accessions. *Molecular Biology Reports*, 38(7), 4245–4256. <https://doi.org/10.1007/S11033-010-0547-7>
- Kosman, E., & Leonard, K. J. (2005). Similarity coefficients for molecular markers in studies of genetic relationships between individuals for haploid, diploid, and polyploid species. *Molecular Ecology*, 14(2), 415–424. <https://doi.org/10.1111/J.1365-294X.2005.02416.X>

- Rasooli, I., & Allameh, A. (2016). Caraway (*Carum carvi* L.) Essential Oils. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, 287–293. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00032-8>
- Seidler-Łożykowska, K., Kuczyńska, A., Mikołajczyk, K., Nowakowska, J., & Bocianowski, J. (2014). Estimation of genetic distance among genotypes of caraway (*Carum carvi* L.) using RAPD-PCR. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 36(2), 183–188. <https://doi.org/10.4025/ACTASCIAGRON.V36I2.18197>
- von Maydell, D., Beleites, C., Stache, A. M., Riewe, D., Krähmer, A., & Marthe, F. (2024). Genetic variation of annual and biennial caraway (*Carum carvi*) germplasm offers diverse opportunities for breeding. *Industrial Crops and Products*, 208, 117798. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2023.117798>
- Von Maydell, D., Lehnert, H., Berner, T., Klocke, E., Junghanns, W., Keilwagen, J., & Marthe, F. (2020). On genetic diversity in caraway: Genotyping of a large germplasm collection. *PLOS ONE*, 15(12), e0244666. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0244666>

### **Acknowledgements**

This study was supported by the project NAZV QL24010185 and GAJU 083/2025/Z.

### **Contact Address**

Samuel Goitom Misginna, MSc.  
Faculty of Agriculture and Technology, University of South Bohemia  
Studentská 798/19, 37005 České Budějovice  
+420777040454; [samiegoitom89111@gmail.com](mailto:samiegoitom89111@gmail.com)



## Hodnocení odolnosti k suchu u dvou odrůd pšenice s odlišnou strategií odezvy na suchu na základě kombinace fyziologie, proteomiky a metabolomiky

Assessment of drought tolerance in two wheat cultivars with differential drought response strategies based on physiological, proteomic, and metabolomic data

Nešporová T.<sup>1,2</sup>, Kosová K.<sup>1</sup>, Vítámvás P.<sup>1</sup>, Planchon S.<sup>3</sup>, Renaut J.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-technologická, Praha 6, ČR,

<sup>2</sup> Laboratoř stresové biologie a biotechnologie, Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu (CARC), v.v.i., Drnovská 507/73, 16100 Praha 6-Ruzyně, ČR

<sup>3</sup> Proteomic Platform, Luxembourg Institute of Science and Technology (LIST), 5 Rue du Bomel, Hautcharage, Luxembourg

### Abstrakt

U dvou odrůd pšenice seté, Baletka a Tobak, byla hodnocena odezva na krátkodobé suchu (30% SWC, 7 dnů), dlouhodobé suchu (30% SWC, 17 dnů), a následnou krátkodobou (70% SWC, 12 h) a dlouhodobou (70% SWC, 3 dny) regeneraci na základě hodnocení fyziologických charakteristik (relativní obsah vody RWC, osmotický potenciál, fluorescence chlorofylu Fv/Fm, a charakteristik spojených s fotosyntézou a transpirací), analýzy totálního proteomu a metabolomu rostlinných listů a uzlů. Byly zjištěny změny v buněčné signalizaci, cytoskeletu, sestavování a ochraně proteinů, a v akumulaci ochranných proteinů, např. LTI65kDa a LEA1 proteinů. Na základě kombinace fyziologie, proteomiky a metabolomiky je možno formulovat nové hypotézy propojující různá data, např. o krystalech šťavelanu vápenatého jako alternativním zdroji CO<sub>2</sub> u C3 rostlin vystavených suchu.

**Klíčová slova:** strategie hospodaření s vodou; stresové proteiny; fyziologie; proteomika; metabolomika; pšenice setá

### Abstract

Two common wheat cultivars, Baletka and Tobak, were studied for their response to short-term drought (30% SWC, 7 days), long-term drought (30% SWC, 17 days), and the following short-term (70% SWC, 12 h) and long-term (70% SWC, 3 days) recovery based on the evaluation of physiological characteristics (relative water content RWC, osmotic potential, chlorophyll fluorescence Fv/Fm, photosynthesis and transpiration rates), total proteome and metabolome analysis in leaves and crowns. Changes in cell signalling, cytoskeleton, protein folding, and stress- and defense-related proteins such as LTI65kDa and LEA1 proteins were found in drought-treated plants. New hypothesis on the role of calcium oxalate as an alternative CO<sub>2</sub> source in drought-treated C3 plants such as wheat can be formulated based on the integration of physiological, proteomic and metabolomic data.

**Keywords:** water management strategy; stress proteins; physiology; proteomics; metabolomics; common wheat

## Úvod

Sucho představuje nejvýznamnější globální stres limitující růst, vývoj a výnos pšenice seté. Pšenice setá (*Triticum aestivum*) coby rostlina s C3 typem fotosyntézy je závislá na příjmu CO<sub>2</sub> skrze průduchy, které však současně představují únik vody transpirací. V reakci na sucho lze u C3 rostlin popsat dvě kontrastní strategie hospodaření s vodou: konzervativní, tzv. strategii „šetříč“ („water-saver“), kdy rostlina již při mírném deficitu vody v půdě a v pletivech uzavírá průduchy, čímž snižuje ztráty vody, ale významně omezuje asimilaci CO<sub>2</sub> prostřednictvím fotosyntézy; a naopak strategii tzv. „plýtváč“ („water-spender“), kdy rostlina nechává průduchy otevřené až do výrazného deficitu, čímž sice ztrácí vodu, ale neomezuje příjem CO<sub>2</sub> pro fotosyntézu. Obě strategie představují mezní póly a existuje široká škála mezi nimi (Tardieu 2012; Kosová et al. 2014).

Odezva rostlin na sucho je komplexní proces zahrnující významné změny na úrovni fyziologie, proteomiky i metabolomiky. Obdobně komplexní proces je i následná regenerace po znovuzalití. Hodnocení dat z těchto oblastí nám pomůže vytvořit komplexní pohled na odezvu rostliny na sucho a zjistit tak, které biologické procesy hrají v odezvě na sucho klíčovou roli. V naší studii jsme hodnotili odezvu dvou kultivarů pšenice, Baletka jako příklad tzv. šetříče a Tobak jako příklad tzv. plýtváče, na krátkodobé (30% obsah vody v půdě SWC, 7 dnů) a dlouhodobé (30% SWC, 17 dnů) sucho, a následnou krátkodobou (70% SWC, 12 h) a dlouhodobou (70% SWC, 3 dny) odezvu na znovuzalití na základě hodnocení vybraných fyziologických znaků (relativní obsah vody v listech RWC, osmotický potenciál, fluorescence chlorofylu Fv/Fm, charakteristiky spojené s čistou fotosyntézou a transpirací), analýzy totálního proteomu a metabolomu v listech a odnožovacích uzlech rostlin. Hodnocení získaných dat pomocí mnohorozměrných statistických analýz nám poskytlo komplexní proces na některé biologické procesy, které mohou hrát významnou roli v odezvě pšenice na sucho.

## Materiál a metodika

Rostlinný materiál a uspořádání pokusů: V pokuse byly použity mladé rostliny odrůd Baletka a Tobak (obě zdroj ÚKZÚZ, Brno, ČR), které byly vysety do květináčů se směsí hlíny a písku v poměru 7:2 a pěstovány v klimaboxu (Tyler, Maďarsko) za regulovaných podmínek (19°C, 350 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, 16 h fotoperioda) a regulované zálivky. Nejprve jsou rostliny až do fáze 2. listu pěstovány za optimální zálivky (70% půdní vodní kapacita SWC) a je odebrána kontrolní varianta, poté je zálivka snížena, aby bylo dosaženo 30% SWC po dobu 7 dnů (krátkodobé sucho) a 17 dnů (dlouhodobé sucho). Následně byly květináče znovuzalily na 70% SWC a byly odebrány vzorky v intervalu 12 h (krátkodobá regenerace) a 3 dny (dlouhodobá regenerace). Hodnocené fyziologické charakteristiky: U vzorků z každého odběru (kontrola, krátkodobé a dlouhodobé sucho, krátkodobá a dlouhodobá regenerace) byly stanoveny následující charakteristiky: relativní obsah vody v listech (RWC) na základě stanovení čerstvé hmotnosti FW, hmotnosti po nasycení vodou ve vlhkostní komoře TW, a suché hmotnosti DW dle vzorce:  $RWC(\%) = (FW - DW) / (TW - DW) * 100 (\%)$ . Osmotický potenciál byl stanoven jako osmolarita šťávy ze zmrazených listů pomocí osmometru VAPRO 5600 (Wescor Inc., Utah, USA) a následně vypočten dle van't Hoffovy rovnice. Maximální fotochemická účinnost fotosystému II Fv/Fm byla stanovena pomocí FluorPen FP100 (PSI, Drásov, ČR) a charakteristiky spojené s fotosyntézou (rychlost čisté fotosyntézy Pn) a transpirací (rychlost transpirace Tr, stomatární vodivost, intercelulární koncentrace CO<sub>2</sub>) byly stanoveny pomocí LCpro+ (Opti-Sciences, Inc). Analýza totálního proteomu: Proteiny byly extrahovány pomocí TCA/acetone/fenolové extrakce (Vítámvás et al. 2015; Nešporová et al. 2024). Následně byly provedeny 2D-DIGE gelové analýzy (24 cm IPG stripy pI 3-10) s označením vzorků pomocí fluorescenčních barviv CyDyes (GE Healthcare). Gely byly oskenovány pomocí laserového scanneru Typhoon FLA9500 (GE Healthcare) a vyhodnoceny pomocí software SameSpot (TotalLab Ltd). Pro identifikace byly vybrány diferenciálně abundantní proteinové spoty (DAPS) vykazující > 3.5 změnu v uzlech a

> 2.5 změnu v listech (ošetření vs kontrola) ( $p < 0.01$ ). Spoty byly identifikovány pomocí MALDI-TOF (SciexTOF/TOF<sup>TM</sup> 5800, SCIEX) za použití MASCOT server s databází NCBI-*Triticeae* (txid147389 staženo z NCBI database 16.8.2017, 213862 sekvencí) nebo JGI-*Triticum aestivum* databáze (Taestivum\_296\_v2.2, staženo 20.7.2018, 293053 sekvencí)(Mayer et al., 2014). Za reliabilní byla považována identifikace min. 2 unikátních peptidů. Povolené aminokyselinové modifikace zahrnovaly karbamidomethylaci cysteinu, oxidaci methioninu a transformace tryptofanu.

Bioinformatická analýza proteomických dat: Funkční charakterizace proteinů byla provedena na základě identifikace proteinů v databázi Uniprot ([www.uniprot.org](http://www.uniprot.org)) pomocí databáze GeneOntology ([www.geneontology.org](http://www.geneontology.org)) na základě tří kritérií: buněčná lokalizace, molekulární funkce, a biologický proces. Protein-proteinové interakce byly vyhledány pomocí nástroje STRING (<https://string-db.org/>).

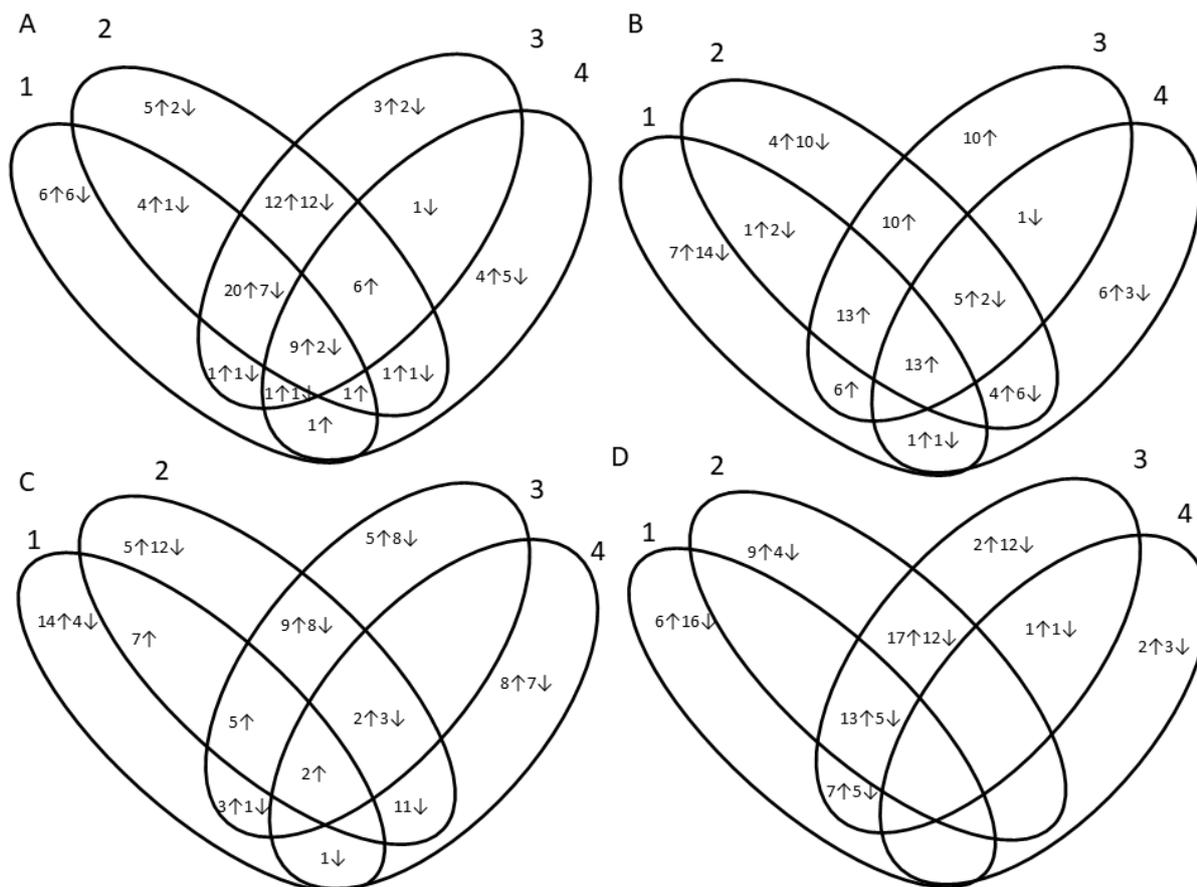
Analýza metabolomu: Metabolity byly extrahovány dle Lisec et al. (2006). Metabolity byly identifikovány pomocí plynového chromatografu 7890B (Agilent) se sběrem vzorků (Gerstel GmbH & Co), spojeným s 5977A kvadrupólovým hmotnostním spektrometrem (Agilent). Teplota rozhraní, injektoru a iontového zdroje byla 300, 250 a 230°C. Rychlost proudění helia byla 2 ml/min. Chromatograf byl spojený s kolonou Restek Rxi 5MS, 30 m x 0.25 mm x 0.25 µm (Restek GmbH).

Statistická analýza dat: Jednotlivé charakteristiky byly hodnoceny pomocí ANOVA (STATISTICA, verze 13, TIBCO). Pro mnohorozměrné analýzy, např. faktorovou a klastrovou analýzu, byla data nejprve transformována pomocí Z-skóre a poté byly analýzy provedeny v programech STATISTICA a R.

## Výsledky

Výsledky hodnocení fyziologických charakteristik odpovídají odlišným strategiím hospodaření s vodou u obou odrůd: za krátkodobého sucha měla Baletka vyšší hodnoty RWC, intercelulární CO<sub>2</sub> a Fv/Fm, naopak Tobak oproti Baletce vykazoval vyšší hodnoty čisté fotosyntézy a transpirace v průběhu dlouhodobého sucha. V průběhu regenerace po znovuzalití se hodnoty většiny fyziologických charakteristik vrátily na úroveň srovnatelnou s kontrolou, pouze průduchová vodivost a intercelulární CO<sub>2</sub> byly u obou kultivarů oproti kontrole vyšší.

Proteomická analýza: Počty DAPS detekovaných v listech a odnožovacích uzlech obou kultivarů v jednotlivých odběrech (krátkodobé a dlouhodobé sucho, krátkodobá a dlouhodobá regenerace po suchu) jsou uvedeny pomocí Vennových diagramů v Obr. 1. Funkční analýza dle biologických procesů vykazovala v odnožovacích uzlech nejvyšší zastoupení proteinů v kategoriích „proteinový metabolismus“ (27), „ochranné a stresové proteiny“ (24), „sestavování proteinů“ (15), „redox metabolismus“ (14), „aminokyselinový metabolismus“ (11), „cytoskelet“ (10), „karbohydrátový metabolismus“ (10); v listech to byly skupiny zahrnující „fotosyntézu“ (91), „aminokyselinový metabolismus“ (23), „karbohydrátový metabolismus“ (12), a „sestavování proteinů“ (11). Analýza protein-proteinových interakcí pomocí online nástroje STRING vytvořila u proteinů v odnožovacích uzlech 10 klastrů a v listech 9 klastrů.



**Obrázek 1.** Vennovy diagramy zobrazující DAPS mezi kontrolním odběrem a krátkodobým suchem (1), dlouhodobým suchem (2), krátkodobou regenerací (3) a dlouhodobou regenerací (4) v odnožovacích uzlech Baletky (A), v odnožovacích uzlech Tobaku (B), v listech Baletky (C) a v listech Tobaku (D). ↑ značí DAPS se zvýšenou abundancí, ↓ značí DAPS se sníženou abundancí.

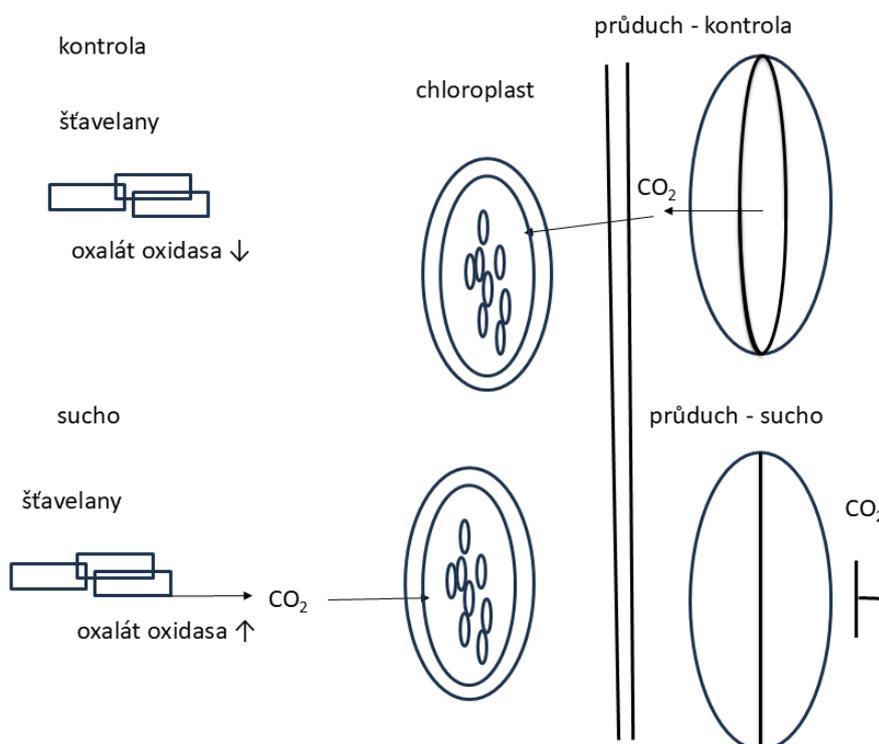
Metabolomická analýza vedla k identifikaci 46 diferenciálně akumulovaných metabolitů, z nichž nejabundantnější byly sacharidy glukosa, fruktosa, manosa, cukerné alkoholy a organické kyseliny (48 %). Další abundantní skupiny metabolitů zahrnovaly aminokyseliny (24 %) a metabolity citrátového cyklu (11 %). Faktorová analýza porovnávající celé spektrum identifikovaných metabolitů mezi jednotlivými odběry ukázala obdobné spektrum identifikovaných metabolitů u kontrolního odběru a krátkodobého sucha, a na druhé straně u dlouhodobého sucha a krátkodobé regenerace, což ukazuje na jistou setrvačnost metabolitů v odezvě na změnu podmínek.

### Diskuze

Komplexní analýza fyziologických, proteomických a metabolomických dat z listů a uzlů obou kultivarů pšenice přináší nové poznatky týkající se odezvy pšenice na sucho. Poprvé byl u pšenice detekován v odezvě na stres protein LTI65kDa, známý též jako protein RD29B, který patří do rodiny LTI65/LTI78 proteinů a je indukován nejen nízkou teplotou, ale i desikací a kyselinou abscisovou (ABA). Další suchem indukovaný protein LEA1 byl u odrůdy Baletka detekován i po 3 dnech regenerace, což ukazuje na jeho možné zapojení v procesech spojených s tzv. „stresovou pamětí“ („stress memory“) (Godwin a Farrona 2020; Kosová et al. 2025) u této odrůdy s konzervativní „water-saver“ strategií hospodaření s vodou.

Dalším zajímavým poznatkem je propojení výsledků fyziologických, proteomických a metabolomických dat ukazujících význam šťavelanů jako možného alternativního zdroje CO<sub>2</sub>

pro fotosyntézu C3 rostlin vystavených suchu, což je sice známo u některých rostlin, ale u pšenice to zatím popsáno nebylo. Korelace mezi vodivostí průduchů, obsahem kyseliny šťavelové a abundancí tzv. germin proteinu s aktivitou oxalát oxidasy vede k hypotéze o šťavelanech jako alternativním zdroji CO<sub>2</sub> u pšenice vystavené dlouhodobému suchu (Bernier a Berna 2001; Tooulakou et al. 2016a,b). Význam krystalů šťavelanů jako alternativního zdroje CO<sub>2</sub> u C3 rostlin vystavených dlouhodobému suchu je schematicky znázorněn v Obr. 2. Detailní mikroskopická analýza šťavelanových krystalů v listech pšenice vystavených suchu by mohla přinést nová data podporující tuto hypotézu.



**Obrázek 2.** Význam šťavelanů jako alternativního zdroje CO<sub>2</sub> pro C3 rostliny vystavené suchu. ↑ značí zvýšenou abundanci oxalát oxidasy, ↓ značí sníženou abundanci oxalát oxidasy.

**Poděkování:** Práce byla podpořena projekty Ministerstva zemědělství ČR (MZe ČR) QK22010293 a institucionálním projektem MZe ČR RO023.

### Literatura:

- Bernier, F., Berna, A., 2001. Germins and germin-like proteins: Plant do-all proteins. But what do they do exactly? *Plant Physiol. Biochem.* 39(7-8), 545-554. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(01\)01285-2](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(01)01285-2)
- Godwin, J., Farrona, S., 2020. Plant epigenetic stress memory induced by drought: a physiological and molecular perspective. *Methods Mol. Biol.* 2093, 243–259. [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0179-2\\_17](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0179-2_17).
- Kosová, K., Vítámvás, P., Urban, M.O., Kholová, J., Prášil, I.T., 2014. Breeding for enhanced drought resistance in barley and wheat - drought-associated traits, genetic resources and their potential utilization in breeding programmes. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 50(4): 247-261. <https://doi.org/10.17221/118/2014-CJGPB>
- Kosová, K., Nešporová, T., Vítámvás, P., Vítámvás, J., Klíma, M., Ovesná, J., Prášil, I.T. 2025. How to survive mild winters: Cold acclimation, deacclimation, and reacclimation in winter

- wheat and barley. *Plant Physiol. Biochem.* 220, 109541. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2025.109541>
- Lisec, J., Schauer, N., Kopka, J., Willmitzer, L., Fernie, A.R., 2006. Gas chromatography mass spectrometry-based metabolite profiling in plants. *Nat. Protoc.* 1(1), 387-396. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.59>
- Mayer, K.F.X., Rogers, J., Doležel, J., et al., 2014. A chromosome-based draft sequence of the hexaploid bread wheat *Triticum aestivum* genome. *Science.* 345(6194), 1251788. <https://doi.org/10.1126/science.1251788>
- Nešporová, T., Vítámvás, P., Kosová, K., Hynek, R., Planchon, S., Renaut, J., 2024. Water-saving and water-spending strategy: The physiological, proteomic and metabolomic investigation of wheat response to drought and the following recovery. *Plant Stress* 13, 100509. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2024.100509>
- Tardieu, F., 2012. Any trait or trait-related allele can confer drought tolerance: just design the right drought scenario. *J. Exp. Bot.* 63(1), 25-31. <https://doi.org/10.1093/jxb/err269>
- Tooulakou, G., Giannopoulos, A., Nikolopoulos, D., et al., 2016a. Alarm Photosynthesis: Calcium Oxalate Crystals as an Internal CO<sub>2</sub> Source in Plants. *Plant Physiol.* 171(4), 2577-2585. <https://doi.org/10.1104/pp.16.00111>
- Tooulakou, G., Giannopoulos, A., Nikolopoulos, D., et al., 2016b. Reevaluation of the plant "gemstones": Calcium oxalate crystals sustain photosynthesis under drought conditions. *Plant Signal. Behav.* 11(9), e1215793. <https://doi.org/10.1080/15592324.2016.1215793>
- Vítámvás, P., Urban, M.O., Škodáček, Z., Kosová, K., Pitelková, I., Vítámvás, J., Renaut, J., Prášil, I.T., 2015. Quantitative analysis of proteome extracted from barley crowns grown under different drought conditions. *Front. Plant Sci.* 6, 479. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00479>

**Kontakt:**

RNDr. Klára Kosová, Ph.D.,

Laboratoř stresové biologie a biotechnologie, Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i., Drnovská 507/73, 16100 Praha 6 – Ruzyně, ČR;

tel. +420 702087742; email: [klara.kosova@carc.cz](mailto:klara.kosova@carc.cz)

## Molekulární charakterizace odrůd kmínu kořeného (*Carum carvi* L.) pomocí SSR markerů: od přípravy materiálu po výběr vhodných markerů

Molecular characterization of caraway (*Carum carvi* L.) varieties using SSR markers: from material preparation to selection of suitable markers

Röszlerová P.<sup>1</sup>, Misginna S.G.<sup>1</sup>, Jozová E.<sup>1</sup>, Čurn V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra genetiky a biotechnologií, Fakulta zemědělská a technologická, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

### Abstrakt

S rostoucím počtem nových odrůd kmínu kořeného se zvyšuje potřeba přesné identifikace odrůd a dalších genetických zdrojů, a to zejména z důvodů právní ochrany odrůd a odhalování padělků, úmyslných záměn či nečistot v konečných produktech (chléb, kořenící směsi a další). Limitace morfologických a biochemických markerů překonávají markery molekulární, které však zatím u kmínu nejsou rutinně využívány. Tato práce proto přibližuje první kroky k vývoji funkčních SSR markerů využitelných pro identifikaci odrůd kmínu – od izolace DNA až po výběr a optimalizaci vhodných SSR markerů z příbuzných rostlin. Pro izolaci DNA z listů byla optimalizována metoda CTAB, zatímco pro izolaci DNA ze semen využít komerční kit. Do užšího výběru bylo zařazeno 13 SSR markerů, které byly úspěšně amplifikovány a poskytovaly polymorfní spektrum amplikonů.

**Klíčová slova:** Kmín kořený, genetické zdroje, izolace DNA, metoda PCR, SSR markery

### Abstract

With the growing number of new caraway varieties, there is an increasing need for accurate identification of varieties and other genetic resources, mainly for reasons of legal protection of varieties and detection of falsifications, intentional substitutions, or impurities in final products (bread, seasonings, and others). The limitations of morphological and biochemical markers are overcome by molecular markers, which are not yet routinely used for caraway. This work therefore outlines the first steps towards the development of functional SSR markers that can be used for the identification of caraway varieties – from DNA isolation to the selection and optimization of suitable SSR markers from related plants. For DNA isolation from leaves, the CTAB method was optimized and a commercial kit for DNA isolation from seeds was used. Thirteen SSR markers were selected because they successfully amplified and provided a polymorphic spectrum of amplicons.

**Keywords:** Caraway, genetic resources, DNA isolation, PCR method, SSR markers

### Úvod

Kmín kořený (*Carum carvi* L.) je významná hospodářská plodina z čeledi miříkovité (*Apiaceae*). V České republice má jeho pěstování dlouholetou tradici, zejména díky příznivým podmínkám podnebí a prostředí. K dnešnímu dni je v České republice registrováno sedm odrůd kmínu kořeného a od roku 2008 nese komodita „Český kmín“ chráněné označení původu v rámci Evropské unie (Králík et al., 2007; Zehnálek & Kraus, 2024). Se zvyšující se potřebou nových odrůd hospodářsky významných rostlin, zaměřených především na výnos a odolnost, je jejich odlišení na základě morfologických znaků čím dál obtížnější a mnohdy nedostačující (Abdelaziz et al., 2024; Swarup et al., 2021). Popularitu si proto v posledních letech získávají molekulární markery, které poskytují dostatečnou variabilitu, reprodukovatelnost a mohou významně podpořit i konvenční šlechtitelské postupy (Spooner et al., 2005). Při výběru vlastních molekulárních markerů je nutné zvážit nejenom finanční, časové a technické nároky jednotlivých markerů, ale také jejich schopnost odhalit genetické rozdíly existující v souboru jedinců (Shete et al., 2000). Přes velké množství dostupných molekulárních markerů patří SSR markery (*Simple Sequence Repeat*) mezi nejpobulárnější z mnoha důvodů – v genetice rostlin to je díky jejich reprodukovatelnosti, kodominantní dědičnosti a relativně dobrému pokrytí genomu (Guler & Imamoglu, 2023). U významných druhů plodin a modelových organismů jsou SSR primery dostupné ve veřejných databázích, ale v ostatních případech je třeba je

navrhnout de novo (Mason, 2015). Jednou z možností, jak získat SSR markery u minoritních plodin, kde je k dispozici málo informací o genomu, je využití přenositelnosti SSR markerů z příbuzných rostlin. Tato metoda vychází z předpokladu, že určité části DNA mohou být u příbuzných druhů či rodů dostatečně podobné, díky čemuž je možné použít již existující primery k amplifikaci SSR markerů i v novém cílovém organismu (Rossetto, 2001). Mezdruhová přenositelnost SSR markerů je rychlou a ekonomickou metodou, nicméně úspěšnost přenosu závisí na evoluční vzdálenosti mezi oběma druhy, popřípadě rody (Kumar et al., 2014). Zatímco jedinou dostupnou studií s využitím markerů SSR u kmínu kořenného je práce Ahmand et al. (2017), jiné, hospodářsky významnější plodiny z čeledi miříkovité byly prozkoumány více (Aiello et al., 2020; Bharti et al., 2018; Cavagnaro et al., 2011; Choudhary et al., 2017). Tyto studie představují významný zdroj funkčních SSR markerů, z nichž některé byly využity i v rámci této práce.

## **Materiál a metody**

### Kolekce genetických zdrojů

Základní kolekci tvoří 126 vzorků semen kmínu kořenného získaných z Genové banky CARC. Zastoupení těchto vzorků pokrývá celosvětový výskyt, jednotlivé typy odrůd (jednoleté, dvouleté i ozimé) a i různé typy materiálu (plané rostliny, šlechtitelský materiál či registrované odrůdy). Kolekce je dále významně tvořena vzorky z firmy Agritec a z Mendelovy univerzity v Brně. Vzorky byly získány ve formě semen, avšak nejvíce preferovaným materiálem pro navazující analýzy jsou listy – umožňují jednoduchou izolaci DNA a dostatek materiálu pro její případné opakování. Z tohoto důvodu byly u všech vzorků semen v první řadě provedeny testy klíčivosti. Kvůli velmi omezenému množství materiálu byly testy klíčivosti provedeny s deseti semeny. Semena byla umístěna na sterilní plastovou Petriho misku s filtračním papírem navlhčeným sterilizovanou demineralizovanou vodou a ponechána při pokojové teplotě. Po jednom týdnu byla spočítána klíčivá semena a vzorky byly rozděleny do tří kategorií – výborně klíčivá (7/10–10/10), středně klíčivá (4/10–6/10) a hůře klíčivá až neklíčivá (1/10–3/10). U semen výborně až středně klíčivých byla všechna zbývající semena předklíčivěna na Petriho miskách s navlhčeným filtračním papírem po dobu jednoho týdne, následně vyseta do zahradnického rašelinového substrátu a pěstována v laboratorních podmínkách při teplotě 21 °C a 16/8 po dobu 14 dní. Listy byly odebrány pomocí sterilních nůžek a homogenizovány v tekutém dusíku pomocí hmoždíře a tloučku. Část byla použita pro izolaci DNA, zbytek byl uchován při -80 °C. Semena hůře klíčivá a neklíčivá byla rovnou homogenizována v tekutém dusíku pomocí hmoždíře a tloučku a použita pro přímou izolaci DNA ze semen.

### Izolace DNA z rostlinného materiálu

V této práci byly použity 3 metody izolace DNA: modifikovaný CTAB-PVP protokol (Doyle, 1991), komerční kit Quick-DNA Plant/Seed Miniprep Kit (ZymoResearch) a izolace pomocí automatizované stanice MagCore s kitem MagCore<sup>®</sup> Plant DNA Kit (RBC Bioscience). Pro všechny typy izolací bylo odebráno 50 mg homogenizovaného materiálu. Pro ověření kvality DNA pomocí PCR byl vybrán osvědčený barcoding marker pro identifikaci rostlin v čeledi miříkovité *trnH-psbA* (Abdelaziz et al., 2024). PCR protokol: Master mix (PPP Top-Bio) 5 µl, primer forward 0.2 µl, primer reverse 0.2 µl, PCR H<sub>2</sub>O 3.6 µl a DNA 1 µl; Reakční podmínky: počáteční denaturace 94 °C 3 min, 30 cyklů: denaturace 94 °C 5 s, annealing 55 °C 25 s, extenze 72 °C 45 s a jeden cyklus finální extenze 72 °C 5 min. PCR produkty byly vizualizovány na 1% agarózovém gelu s ethidium bromidem jako interkalačním činidlem.

## Návrh a optimalizace SSR markerů

Zaměření této práce na SSR markery vychází z jejich výzkumného přínosu (metodika pro využití SSR markerů u kmínu nebyla dosud publikována) a technické a finanční dostupnosti (oproti finančně a technicky náročnějším SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) analýzám nebo sekvenování celého genomu). Díky vývoji SSR markerů u příbuzných rodů z čeledi miříkovité bylo možné tyto markery využít a optimalizovat pro potřeby této práce. Pro screening bylo na základě schopnosti odhalit polymorfismus v existujícím souboru rostlin (vysoká frekvence alel, vysoké číslo PIC a přenositelnost v čeledi miříkovité) vybráno 47 SSR markerů. Tyto markery byly testovány vždy pro dvě registrované odrůdy kmínu pomocí Gradient PCR. Na základě této analýzy byl navržen vhodný teplotní profil PCR reakce. PCR protokol: Master mix (PPP Top-Bio) 5 µl, primer forward 0.2 µl, primer reverse 0.2 µl, PCR H<sub>2</sub>O 3.6 µl a DNA (200 ng/µl) 1 µl; Reakční podmínky: počáteční denaturace 95 °C 5 min, 40 cyklů: denaturace 95 °C 1 min, annealing Ta 1 min, extenze 72 °C 1 min a jeden cyklus finální extenze 72 °C 10 min., přičemž Ta odpovídá rozsahu teplot očekávaných u daného markeru. PCR produkty byly vizualizovány na 3% agarózovém gelu s ethidium bromidem jako interkalačním činidlem.

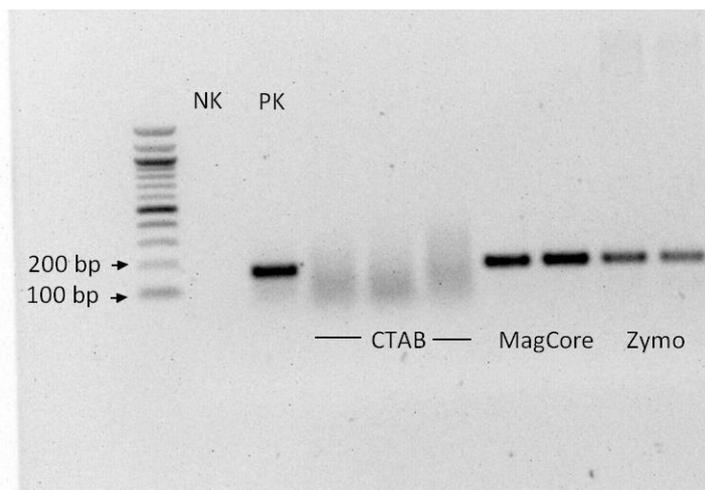
## **Výsledky**

### Klíčivost semen

Vzorky byly rozděleny do tří kategorií podle úspěšnosti klíčení: výborně klíčivá semena (42 vzorků), středně klíčivá semena (59 vzorků) a hůře klíčivá až neklíčivá semena (25 vzorků). Jako odběratelé nemáme k dispozici informaci o datu poslední regenerace semen, známe pouze rok jejich původního zařazení do genové banky. Získané vzorky pocházejí z období let 1981–2014, nicméně mezi původem ani datem jejich zařazení do genové banky nebyla zjištěna žádná souvislost s klíčivostí semen. Z toho vyplývá doporučení provádět testy klíčivosti ještě před volbou metody izolace DNA. Tyto testy jsou však často omezeny malým množstvím dostupných semen.

### Izolace DNA

Pro izolaci DNA z listového materiálu se jako nejvhodnější metoda osvědčil modifikovaný CTAB protokol (Doyle, 1991). Přestože se jedná o časově náročnou metodu, jejím výsledkem je velké množství vysoce kvalitní DNA, která je dobře využitelná pro navazující analýzy. Naopak DNA izolovaná ze semen pomocí stejného protokolu nebyla vhodná pro PCR analýzu, a to kvůli její nízké kvalitě a přítomnosti látek přirozeně inhibujících PCR reakci. Pro izolaci DNA ze semen se proto jako nejefektivnější metoda osvědčil komerční kit Quick-DNA Plant/Seed Kit (ZymoResearch), který umožnil získat DNA vhodnou pro navazující analýzy. Tento kit, stejně jako automatizovaná stanice MagCore s kitem MagCore® Genomic DNA Plant Kit, se osvědčil i při izolaci DNA z listů. Z praktického hlediska však u listového materiálu převažují výhody CTAB protokolu, zejména díky nižším nákladům na vlastní izolaci a možnosti zpracovat větší množství vstupního materiálu. Naopak při práci se semeny poskytl nejkonzistentnější výsledky kit ZymoResearch, zatímco automatizovaná stanice MagCore® se ukazuje jako vhodné řešení při zpracování velkého počtu vzorků v krátkém čase. Kvalitu DNA reflektují výsledky PCR s primery *trnH-psbA* (Obrázek 1). Dle publikace Abdelaziz et al. (2024) je očekávaná velikost fragmentu pro kmín 158 bp. Zatímco PCR proběhla úspěšně s DNA izolovanou z listů (PK) a ze semen metodami MagCore a Zymo, u DNA izolované ze semen metodou CTAB byl výsledek negativní.



**Obrázek 1:** Výsledek PCR reakce úseku *trnH-psbA*. NK – negativní kontrola, PK – pozitivní kontrola (vzorek listů izolovaný metodou CTAB), CTAB/MagCore/Zymo – vzorky semen izolované různými metodami

### Vybrané SSR markery

Pro účely screeningu bylo vybráno celkem 47 SSR markerů na základě údajů z dostupných odborných publikací. Z tohoto souboru bylo 13 markerů úspěšně amplifikováno u kmínu kořenného. Tabulka 1 uvádí přehled sekvencí SSR markerů, které se podařilo úspěšně optimalizovat, a které vykazují reprodukovatelné výsledky. Tyto optimalizované markery jsou v současné době využívány k testování celé kolekce kmínu kořenného, a to prostřednictvím fragmentační analýzy s použitím fluorescenčně značených SSR markerů.

Tabulka 1: Přehled finálních SSR markerů. T<sub>A</sub> – teplota annealingu

Název SSR markeru	Sekvence 5'–3'	T <sub>A</sub>	Reference
Cumin SSR 186	F: ACCATCACGCGAATATCAAAG	56 °C	Bharti et al. (2018)
	R: TGACCTCAAAATCACACACACA		
Cumin SSR 306	F: GCATGGAACGGAGAGAAAGA	50 °C	
	R: ACTCAACTTAAACCCACCTCAAC		
Cumin SSR 53	F: ACACAACCCAAACAGTCCAAA	50 °C	
	R: TGTC AATTTCCATTCCAGCAC		
Cumin SSR 256	F: ATAACCAAACCAGGAGGAGGA	52 °C	
	R: TTGTGATTGTTTGAGGACTGG		
Cumin SSR 699	F: GTCGTTTTGACGTGGGTTCT	52 °C	
	R: TAAAATCTCCCACTGGCTTCF		
Cumin SSR 861	F: GTCACCACCTGAACCAAAGA	45 °C	
	R: ACGAGACGTTGAAAGCAAACF		
ECMS 16	F: AGGTTTCAGTTTCTGGTAGTGT	49 °C	
	R: TGTTGCTGTGTAGGCATCT		
GSSR 24	F: GCCAACCATCAAAATCACTTCT	60,5 °C	Cavagnaro et al. (2011)
	R: GAATAACTGCCTGCAATACCG		
GSSR 97	F: GGCAAAGAAACAGATTTGGAGA	49 °C	
	R: CTGCCCTAGCATCAAAACAAAC		
GSSR 111	F: GAGGAAGGGTAGATCCAGTCA	57 °C	
	R: ATGGGATGTCTTCCCTCTAT		
GSSR 138	F: CGCTCGAGTTTCGTAGAGT	50 °C	
	R: CCTCCCCAACTCAATCCAAT		
GSSR 140	F: GGATACGAAGGAAAGACTCCAC	55 °C	
	R: AGGAGAGTAAAAGATTGAGGACTTG		
GSSR 154	F: CTTATATGTGATGGCGTCGAAA	56 °C	
	R: GACTGCACCGCTCCTAACTC		

## Diskuze

Jedním z cílů právě probíhajícího projektu je ověřit možnost využití SSR markerů pro identifikaci odrůd kmínu kořeného a analýzu genetické diverzity v kolekci. Tato práce shrnuje první kroky nezbytné pro dosažení tohoto cíle – volbu vhodné metody izolace DNA a výběr molekulárních markerů. Izolace DNA z různých typů materiálu (listů a semen) ukázala, že každý typ vyžaduje odlišný přístup. Zatímco DNA získána z listů námi vybranými izolačními metodami (protokol CTAB, kit Zymoresearch a automatizovaná stanice MagCore) byla úspěšně amplifikována, u semen byla negativní amplifikace u izolace metodou CTAB. Tento rozdíl může být vysvětlen vysokým obsahem sekundárních metabolitů (esenciální oleje, polysacharidy či fenolické sloučeniny) v semenech kmínu (Sedláková et al., 2003), tedy látek, které negativně ovlivňují vlastní izolaci DNA a následně inhibují PCR (Fadila Abna Swari et al., 2023). Listy představují vhodnější materiál, jak uvádí Aggarwal et al. (2022). Metoda ověřování genetické čistoty osiva je však sama o sobě časově náročná, a proto je zapotřebí spolehlivých postupů, které umožní kvalitní izolaci DNA přímo z osiva, nezávisle na vegetačním období (Gupta et al., 2012). Ne vždy je optimální také klíčivost semen, přestože udržení dobrého zdravotního stavu semen ve sbírkách je hlavní výzvou pro správu genových bank (Redden & Partington, 2019). V našich testech na 126 vzorcích kmínu z genové banky se ukázalo, že testy klíčivosti jsou klíčové pro plánování dalších postupů, protože preferovaný vstupní materiál – listy, lze ne vždy jednoduše získat. Vedle volby vhodné metody izolace DNA hraje zásadní roli také výběr použitých molekulárních markerů. Omezením této studie může být poměrně malý počet SSR markerů (13 markerů), které nemusí dostatečně zachytit genetickou variabilitu v kolekci kmínu. To je však dáno nedostatkem informací o genomu kmínu kořeného (von Maydell et al., 2024), což

vedlo k nutnosti využít SSR markery z příbuzných rostlin. Úspěšnost přenositelnosti závisí na evoluční vzdálenosti mezi oběma rody a dle Rossetto (2001) činí průměrně 35 %. V čeledi miříkovité popsal Cavagnaro et al. (2011) přenositelnost 41 % napříč celou čeledí. V současné době probíhá testování vybraných SSR markerů na celé kolekci kmínu. Rovněž se jeví jako přínosné využít i další typy molekulárních markerů, včetně ISSR, které jsou již v rámci tohoto projektu rozpracovány. Jejich využití obchází většinu praktických omezení SSR a nevyžadují předchozí znalost sekvence genomu. Cenová náročnost je nižší než v případě nových, ale populárních metod genotypování pomocí sekvenování (GBS) popsaných u kmínu ve studiích von Maydell et al. (2020) a de Haro Reyes et al. (2025).

## Závěr

Rostoucí počet odrůd kmínu kořeného zvyšuje potřebu spolehlivé identifikace rodičovských složek pro ochranu odrůd a kontrolu kvality produktů. Molekulární SSR markery nabízejí vysokou variabilitu, reprodukovatelnost a podporu šlechtění, a proto je tato práce zaměřena právě na ně. Testy klíčivosti potvrdily, že životaschopnost semen je klíčovým faktorem pro volbu dalšího postupu a metodu izolace. Byla optimalizována izolace DNA z listů i semen kmínu a bylo prokázáno, že pro každý typ materiálu je vhodná jiná metoda. Z příbuzných rostlin čeledi miříkovité byly vybrány SSR markery a do užšího výběru se dostalo 13 markerů, které jsou v současnosti testovány na celé kolekci. Cílem probíhajícího testování je ověřit polymorfismus mezi jednotlivými genotypy a vyhodnotit variabilitu genetické diverzity v rámci dostupného souboru odrůd a populací kmínu.

## Literatura

- Abdelaziz, S. A., Khaled, K. A. M., Younis, R. A. A., Al-Kordy, M. A., El-Domyati, F. M., & Moghazee, M. M. (2024). Comparison of four DNA barcoding loci to distinguish between some *Apiaceae* family species. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s43088-023-00457-7>
- Acquadro, A., Magurno, F., Portis, E., & Lanteri, S. (2006). dbEST-derived microsatellite markers in celery (*Apium graveolens* L. var. *dulce*). *Molecular Ecology Notes*, 6(4), 1080–1082. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01440.x>
- Aggarwal, G., Edhigalla, P., Walia Assistant Professor, P., & Walia, P. (2022). A comprehensive review of high-quality plant DNA isolation. *The Pharma Innovation Journal*, 11(6), 171–176.
- Ahmand, Z., Fahmideh, L., & Fazeli-Nasab, B. (2017). Genetic Evaluation of Cumin and Caraway Using Eryngium planum Microsatellite Markers. *Agricultural Biotechnology*, 8(2), 59–71. <https://doi.org/10.22084/ab.2017.10878.1304>
- Aiello, D., Ferradini, N., Torelli, L., Volpi, C., Lambalk, J., Russi, L., & Albertini, E. (2020). Evaluation of cross-species transferability of SSR markers in *Foeniculum vulgare*. *Plants*, 9(2). <https://doi.org/10.3390/plants9020175>
- Bharti, R., Kumar, S., & Parekh, M. J. (2018). Development of genomic simple sequence repeat (gSSR) markers in cumin and their application in diversity analyses and cross-transferability. *Industrial Crops and Products*, 111, 158–164. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.018>
- Cavagnaro, P. F., Chung, S. M., Manin, S., Yildiz, M., Ali, A., Alessandro, M. S., Iorizzo, M., Senalik, D. A., & Simon, P. W. (2011). Microsatellite isolation and marker development in carrot – genomic distribution, linkage mapping, genetic diversity analysis and marker transferability across *Apiaceae*. *BMC Genomics*, 12. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-386>
- Choudhary, S., Jethra, G., Sharma, R., & Verma, A. K. (2017). Microsatellite in Coriander: A Cross Species Amplification within *Apiaceae* Family. *International Journal of Current*

- Microbiology and Applied Sciences*, 6(5), 2714–2721.  
<https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.605.304>
- de Haro Reyes, B., Palmé, A., Fitzgerald, H., Göransson, M., Lyytikäinen, V., Madsen, B., Normand, S., Thorbjörnsson, H., Treier, U. A., & Hagenblad, J. (2025). An east–west distribution of genetic diversity in Nordic populations of caraway (*Carum carvi* L.) and its consequences for conservation prioritisation. *Conservation Genetics*.  
<https://doi.org/10.1007/s10592-025-01702-5>
- Doyle, J. (1991). DNA Protocols for Plants: CTAB Total DNA Isolation. In G. M. Hewitt, A. W. B. Johnston, & J. P. W. Young (Eds.), *Molecular Techniques in Taxonomy* (pp. 283–293). Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-642-83962-7\\_18](https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-642-83962-7_18)
- Fadila Abna Swari, Suharti, S., Evi Susanti, Eli Hendrik Sanjaya, & Sumari, S. (2023). Study of Inhibition DNA Polymerase by Phenolic Compounds in Traditional Food Spices on the Polymerase Chain Reaction Process. *Frontier Advances in Applied Science and Engineering*, 1(1), 1–13. <https://doi.org/10.59535/faase.v1i1.108>
- Guler, B. A., & Imamoglu, E. (2023). Molecular marker technologies in food plant genetic diversity studies: an overview. *Foods and Raw Materials*, 11(2), 282–292. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-2-575>
- Gupta, R., Chandrashekar, U. S., Chakrabarty, S. K., & Dadlani, M. (2012). A simple modified method of DNA extraction from seeds for PCR amplifications. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 82(1), 75–77. <https://doi.org/10.56093/ijas.v82i1.13882>
- Králík, J., Jůzl, M., & Kocourková, B. (2007). Vliv prostředí na výnos a obsah silice kmínu kořeného (*Carum carvi* L.). *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, LV(5), 83–94
- Kumar, S., Fougat, R. S., Sakure, A. A., & Mistry, J. (2014). Transferability of carrot (*Daucus carota*) microsatellite markers to cumin (*Cuminum cyminum*). *International J. Seed Spices*, 4(1), 88–90
- Mason, A. S. (2015). SSR genotyping. *Methods in Molecular Biology*, 1245, 77–89. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1966-6\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1966-6_6)
- Redden, R., & Partington, D. (2019). Gene bank scheduling of seed regeneration: Interim report on a long term storage study. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(7), 1529–1540. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62730-9](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62730-9)
- Rossetto, M. (2001). Sourcing of SSR Markers from Related Plant Species Microsatellite technology. In: Henry, R. J. (eds.) *Plant genotyping: the DNA fingerprinting of plants*. 211–224
- Sedláková, J., Kocourková, B., Lojtková, L., & Kubáň, V. (2003). The essential oil content in caraway species (*Carum carvi* L.). *Horticultural Science*, 2(30). <https://doi.org/https://doi.org/10.17221/3818-HORTSCI>
- Shete, S., Tiwari, H., & Elston, R. C. (2000). On Estimating the Heterozygosity and Polymorphism Information Content Value. *Theoretical Population Biology*, 57, 265–271. <https://doi.org/10.1006/tpbi.2000.1452>
- Spooner, D. M., Treuren, R. van., & Vicente, M. C. de. (2005). Molecular markers for genebank management. *IPGRI Technical Bulletin*. 10
- Swarup, S., Cargill, E. J., Crosby, K., Flagel, L., Kniskern, J., & Glenn, K. C. (2021). Genetic diversity is indispensable for plant breeding to improve crops. *Crop Science*, 61(2), 839–852. <https://doi.org/10.1002/csc2.20377>
- von Maydell, D., Beleites, C., Stache, A. M., Riewe, D., Krähmer, A., & Marthe, F. (2024). Genetic variation of annual and biennial caraway (*Carum carvi*) germplasm offers diverse opportunities for breeding. *Industrial Crops and Products*, 208. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117798>

- von Maydell, D., Lehnert, H., Berner, T., Klocke, E., Junghanns, W., Keilwagen, J., & Marthe, F. (2020). On genetic diversity in caraway: Genotyping of a large germplasm collection. *PLoS ONE*, 15(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244666>
- Zehnálek, P. & Kraus, P. (2024). *Odrůdy 2024. Olejniny 2024: Seznam doporučených odrůd řepka olejka – ozimá, len setý – olejný. Přehled odrůd hořčice bílá, mák setý a kmín kořený*. Brno: Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. Národní odrůdový úřad.

### **Poděkování**

Tato studie vznikla za podpory projektů GAJU 083/2025/Z a NAZV QL24010185.

### **Kontaktní adresa**

Ing. Petra Röslerová

Katedra genetiky a biotechnologií, Fakulta zemědělská a technologická, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Na Sádkách 1780, 370 05 České Budějovice

+389 032 934, [roszlerova@zsf.jcu.cz](mailto:roszlerova@zsf.jcu.cz)

## Hodnocení genetických zdrojů jetele lučního (*Trifolium pratense* L.) na odolnost k *Fusarium avenaceum*, *Fusarium oxysporum* a *Fusarium poae* v *in vitro* podmínkách

Evaluation of genetic resources of red clover (*Trifolium pratense* L.)  
for resistance to *Fusarium avenaceum*, *Fusarium oxysporum* and *Fusarium poae*  
under *in vitro* conditions

Staveníková J., Drda A., Dybová M., Trněný O.

Zemědělský výzkum, spol. s r.o.

### Abstrakt

Jetel luční (*Trifolium pratense* L.) je pícnina pěstovaná v mírném pásmu, jejíž produkce je často omežována kořenovými a krčkovými chorobami způsobenými převážně houbami rodu *Fusarium*. Tyto patogeny napadají pletiva kořene a krčku rostlin, snižují tvorbu semen a zkracují délku perzistence. Cílem studie bylo vyhodnotit odolnost 171 genetických původů jetele lučního vůči druhům *F. oxysporum*, *F. avenaceum* a *F. poae* v kontrolovaných *in vitro* podmínkách. Analýza prokázala rozdíly v náchylnosti mezi genotypy i genetickými původy. Nejvyšší stupeň infekce byl zaznamenán u *F. oxysporum*, nejnižší u *F. poae*. Popisné charakteristiky smíšeného kumulativního modelu umožnily identifikovat genetické původy s univerzální odolností vůči testovaným druhům. Tyto genotypy a výsledky testování budou využity pro následné genetické mapování a transkriptomické analýzy mechanismů odolnosti a jako výchozí materiál pro šlechtění nových rezistentních odrůd.

**Klíčová slova:** Jetel luční; *Fusarium* spp.; odolnost k houbovým chorobám; *in vitro* testování; genetická diverzita

### Abstract

Red clover (*Trifolium pratense* L.) is a forage crop cultivated in temperate regions, whose productivity is often limited by root and crown diseases mainly caused by fungi of the genus *Fusarium*. These pathogens infect root and crown tissues, reducing seed production and shortening plant persistence. The aim of this study was to evaluate the resistance of 171 genetic accessions of red clover to *F. oxysporum*, *F. avenaceum*, and *F. poae* under controlled *in vitro* conditions. The analysis revealed differences in susceptibility among genotypes and genetic accessions. The highest infection level was recorded for *F. oxysporum* and the lowest for *F. poae*. Descriptive characteristics of a mixed cumulative model enabled the identification of accessions with broad resistance to the tested *Fusarium* species. These genotypes and the obtained results will be used for subsequent genetic mapping and transcriptomic analyses of resistance mechanisms, as well as for breeding of new resistant cultivars.

**Key words:** Red clover; *Fusarium* spp.; resistance to fungal diseases; *in vitro* testing; genetic diversity

### Úvod

Jetel luční (*Trifolium pratense* L.) je vytrvalá pícnina patřící do čeledi *Fabaceae*. Po vojtěšce seté (*Medicago sativa* L.) je druhou nejvýznamnější pícninou z hlediska produkční plochy na světě (Annicchiarico et al., 2015). Pěstuje se v oblastech mírného klimatu a dosahuje vynikajících krmivářských parametrů, vysokých výnosů (až 15 tun sušiny/ha v monokultuře, i díky jeho schopnosti využít vzdušný dusík prostřednictvím symbiózy) a vyniká také vysokým obsahem bílkovin, kolem 18 % (Stackdale et al., 2003). Jeho perzistence na stanovišti je zpravidla 2 až 3 roky (Pelikán, Hýbl a kol., 2012). Na jeho vytrvalost, růst a produkci působí celá řada abiotických a biotických faktorů, některé pozitivně, jiné negativně. Mezi těmi negativními dominují krčkové a kořenové choroby způsobené houbami rodu *Fusarium* (Frey et al., 2022). Tyto vláknité houby představují vážnou hrozbu pro zdravotní stav porostů, neboť napadají kořenový systém a krček rostlin, čímž narušují příjem vody a živin, oslabují růst,

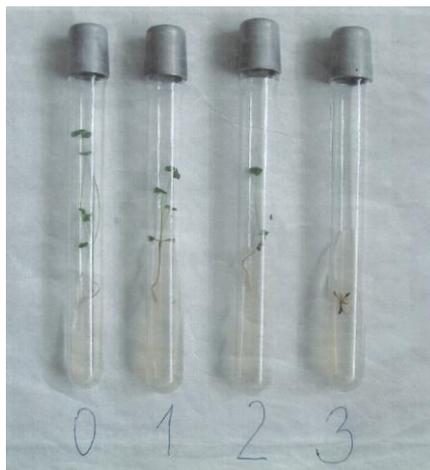
způsobují odumírání rostlin a vedou k celkovým ztrátám na výnosu píce. Při napadení porostu jetele lučního snižují nasazení květů a tvorbu semen, v některých případech v závislosti na ploidii až o 50 % (Jing a Boelt, 2021), a zároveň omezují regenerační schopnost rostlin v nové vegetační sezóně. Tyto patogenní houby navíc produkují toxické sekundární metabolity, mykotoxiny, z nichž nejvýznamnější jsou trichotecény, silné inhibitory syntézy bílkovin, a fumoniziny, považované za potenciálně karcinogenní látky, které mohou vyvolávat smrtelné choroby hospodářských zvířat (Munkvold, 2016). Nejlepším způsobem, jak se vyvarovat těmto onemocněním u rostlin, je snaha vyšlechtit nové odrůdy odolné vůči těmto patogenům. Vhodným přístupem šlechtění je kombinace fenotypového hodnocení spolu s genetickým mapováním odolnosti a výběrem benefičních rostlin nejen na základě jejich proměnlivého fenotypu, ale přímo i genetické podstaty odolnosti. Pro standardizované hodnocení odolnosti ve velkém měřítku, kdy je třeba zajistit plně kontrolované a uniformní podmínky, se jeví jako nejvhodnější kultivace rostlin v *in vitro* prostředí. Hodnocením velkého množství rostlin v odolnosti k houbovým patogenům získáme nejen cenný zdroj šlechtitelského materiálu v již otestovaných jedincích, ale i robustní popisná data potřebná k následnému genetickému mapování odolnosti u jetele lučního.

### **Materiál a metody**

Rostlinným materiálem bylo 171 genetických původů jetele lučního ze zdrojů České genové banky a ze soukromých sbírek šlechtitelů: Ing. Hana Jakešová, CSc., Selgen a. s., Oseva Uni a. s., DLF Seeds, s. r. o., Tagro, s. r. o., Seed service, s. r. o. a Agrogen, s. r. o. Rostliny byly infikovány houbovým patogenem rodu *Fusarium*. Dle výsledků pilotních experimentů s původně 10 druhy fusárií byly vybrány druhy: *Fusarium oxysporum*, *Fusarium avenaceum* a *Fusarium poae*. Proběhly celkem 4 sady hodnocení (září 2024, únor 2025, červen 2025 a září 2025). V každé sadě bylo testováno 45 až 50 původů, z nichž byly při každém testování přítomny 4 vybrané kontrolní původy: Start (2n), Callisto (2n), Feng (2n) a Ostro (4n). U každé varianty patogenu bylo plánováno hodnotit odolnost 10 rostlin daného rostlinného původu a k tomu i 10 neinokulovaných rostlin (v případě původů s nedostatkem vhodných rostlin k hodnocení bylo přistoupeno k redukci počtu rostlin pro jednotlivé varianty). Semena byla povrchově sterilizována po dobu 3 min v 70% roztoku etanolu, následně 10 min v 10% NaClO a na závěr 3x opláchnuta sterilní destilovanou vodou. Klíčení probíhalo na zvlhčeném filtračním papíru ve sterilních Petriho miskách při 20 °C ve tmě. U třídních klíčících rostlin byla dekapitována kořenová špička a rostliny byly ponořeny do dané varianty inokulačního roztoku fusária o koncentraci  $3 \times 10^5$  spór/ml, v případě kontroly do sterilní vody, po dobu 3 min. Po inokulaci byla rostlina sterilně přenesena na šikmý agarem ztužený Richterův živný roztok a zkumavka byla zajištěna hliníkovým uzávěrem. Kultivace probíhala při teplotě 22 °C za světelného režimu dlouhého dne (16/8). Richterův živný roztok ztužený agarem obsahoval následující složky: 0,72 g/l dusičnanu vápenatého ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ), 0,20 g/l dusičnanu draselného ( $\text{KNO}_3$ ), 0,20 g/l dihydrogenfosforečnanu draselného ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), 0,25 g/l heptahydrátu síranu hořečnatého ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), 0,05 g/l heptahydrátu síranu železnatého ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) a 15 g/l agaru.

Hodnocení experimentu probíhalo 5 týdnů po inokulaci. Vizually byly hodnoceny symptomy napadení na nadzemní i kořenové části rostlin, a především v oblasti krčku. Pro hodnocení byla zvolena následující stupnice (viz obrázek 1): 0 - bez příznaků; 1 - mírná chloróza listů nebo hnědnutí hypokotylu; 2 - výrazná chloróza, hnědnutí hypokotylu a kořene; 3 - uhynutá rostlina. Stupeň napadení jednotlivých původů v každé variantě infekce a kontroly byl vypočítán průměrem. Následné zpracování dat a analýza byla provedena v R. Stupeň infekce byl analyzován pomocí smíšeného kumulativního spojovacího modelu (CLMM) s logitovou spojovací funkcí:  $\text{StupeňInfekce} \sim \text{patogen} + (1 | \text{sada}) + (1 | \text{GenetickýPůvod})$ , který je vhodný pro ordinální typ dat, čemuž odpovídá i použitá stupnice napadení. Model zahrnoval fixní efekt varianty ošetření patogenem a náhodné efekty pro začlenění do experimentální sady a

příslušnost ke genetickému původu rostliny. Analýza byla provedena funkcí clmm z balíčku ordinal (Christensen, 2023).



Obrázek 1: Vzorová stupnice hodnocení napadení rostlin

## Výsledky

### *Výsledky kontrolních původů*

Hodnocení bylo provedeno ve čtyřech experimentálních sadách obsahujících 45 až 50 původů z nichž 4 byly kontrolní (Start (2n), Callisto (2n), Feng (2n) a Ostro (4n)) a vyskytovaly se ve všech čtyřech sadách. Výsledky kontrolních původů jsou uvedeny v tabulce 1.

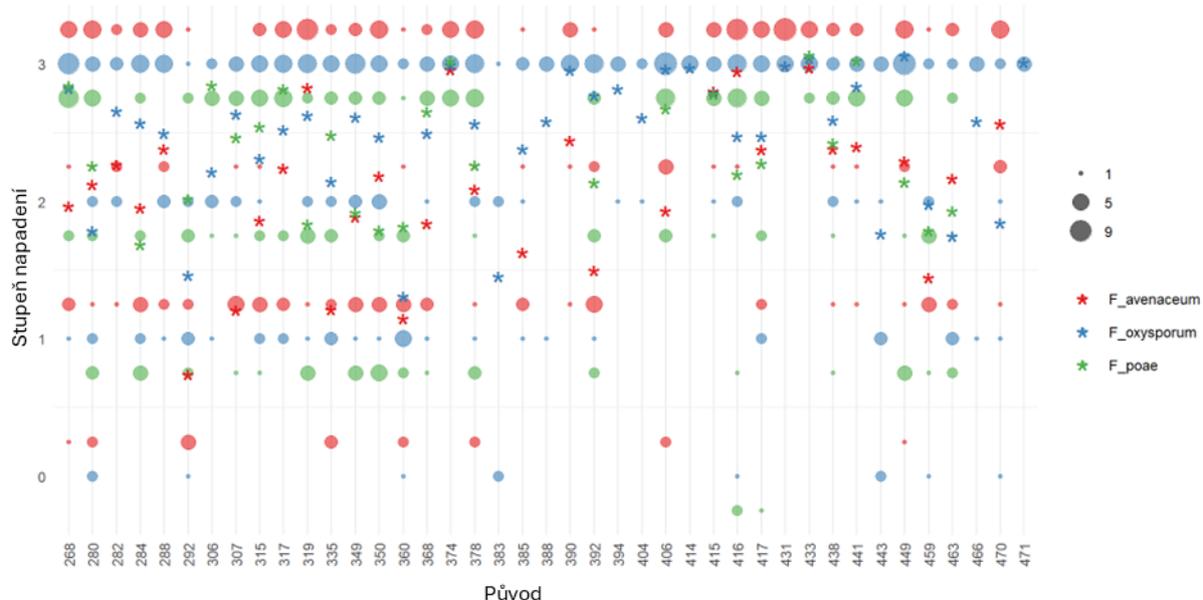
Porovnání výsledků u neinokulovaných kontrolních rostlin naznačuje kontaminaci či celkově horší zdravotní stav rostlin v druhé sadě, především u původu Feng a Ostro. Výsledky pro *F. avenaceum* mají podobný trend jako u neinokulovaných rostlin, protože systematicky vyšší hodnoty napadení jsou opět v druhé sadě původů, výsledky pro ostatní sady jsou si podobné. Pro *F. oxysporum* jsou opět výsledky pro sady 1, 3 a 4 podobné, avšak sada 2 vykazuje opět efekt sady ale opačným směrem, rostliny druhé sady vykazují výrazně nižší napadení než ostatní sady. U rostlin inokulovaných *F. poae* lze sledovat trend postupného poklesu infekce od sady 1 po sadu 4. Rozdílná variabilita kontrolních původů napříč experimentálními sadami pravděpodobně odráží drobné odchylky v technických a mikroklimatických podmínkách, které přetrvávají i v kontrolovaném prostředí. Variabilita výsledků jednotlivých sad je zapracována skrze náhodné efekty v použitém modelu hodnocení.

Tabulka 1: Přehled průměrného stupně napadení a směrodatné odchylky kontrolních původů po infekci sledovanými patogeny.

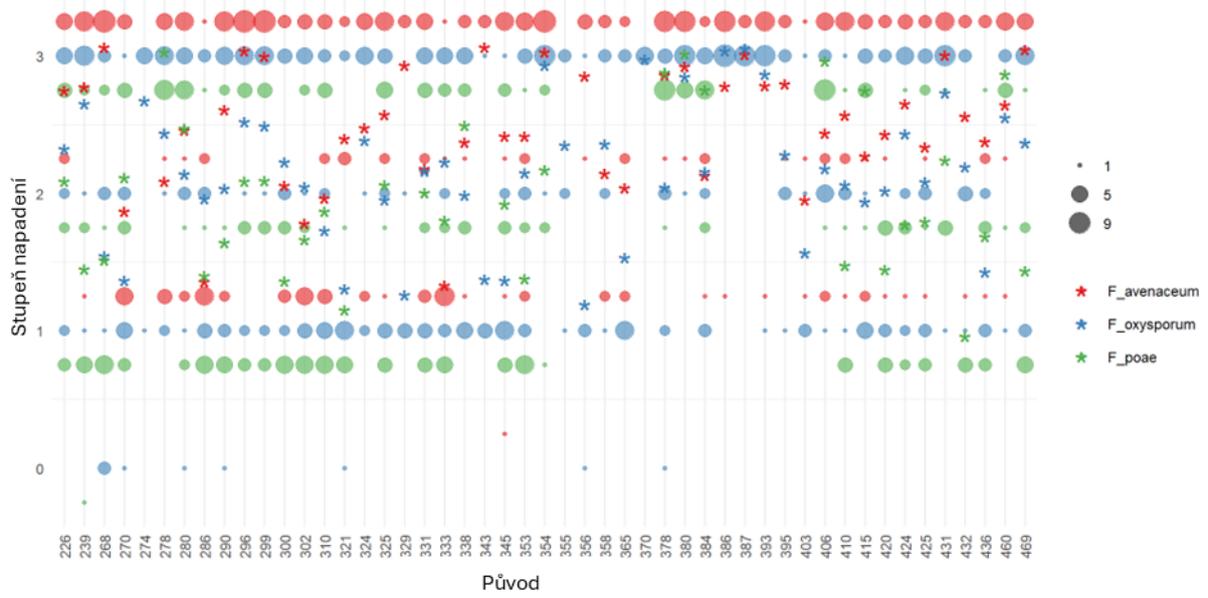
		Callisto	Feng	Ostro	Start	průměr	průměr celku
<i>F. avenaceum</i>	1.	2.00 (1.15)	2.10 (1.29)	2.00 (1.15)	2.10 (1.29)	2.05 (-1.18)	2.13 (-1.04)
	2.	3.00 (0.00)	2.50 (0.85)	2.40 (0.84)	2.90 (0.32)	2.7 (-0.65)	2.46 (-0.83)
	3.	2.30 (0.48)	2.50 (0.71)	2.90 (0.32)	1.60 (1.17)	2.33 (-0.86)	1.75 (-0.96)
	4.	2.50 (0.71)	1.80 (0.92)	2.80 (0.63)	2.50 (0.71)	2.4 (-0.81)	2.64 (-0.69)
<i>F. oxysporum</i>	1.	2.80 (0.63)	1.80 (1.23)	3.00 (0.00)	2.60 (0.70)	2.55 (-0.88)	2.45 (-0.87)
	2.	1.60 (1.26)	2.20 (1.03)	2.20 (0.63)	2.00 (1.05)	2 (-1.01)	2.18 (-0.93)
	3.	2.40 (0.84)	2.90 (0.32)	3.00 (0.00)	2.50 (1.08)	2.7 (-0.72)	2.73 (-0.63)
	4.	2.50 (0.71)	2.80 (0.42)	2.50 (0.71)	2.90 (0.32)	2.67 (-0.57)	2.52 (-0.71)
<i>F. poae</i>	1.	2.80 (0.42)	2.20 (0.92)	2.70 (0.48)	2.30 (0.95)	2.5 (-0.75)	2.3 (-0.86)
	2.	1.50 (0.85)	2.50 (0.85)	2.90 (0.32)	2.90 (0.32)	2.45 (-0.85)	1.99 (-0.89)
	3.	1.60 (1.07)	2.90 (0.32)	3.00 (0.00)	0.90 (0.88)	2.1 (-1.13)	2.18 (-0.95)
	4.	1.50 (0.71)	2.10 (0.88)	1.90 (0.88)	2.00 (0.94)	1.88 (-0.85)	2.08 (-0.87)
neinokulováno	1.	0.25 (0.46)	0.56 (1.01)	1.44 (1.13)	1.22 (1.20)	0.89 (-1.08)	0.7 (-1.03)
	2.	0.00 (0.00)	2.56 (0.53)	1.80 (0.79)	1.10 (0.32)	1.33 (-1.06)	0.82 (-0.9)
	3.	0.20 (0.42)	1.67 (0.87)	1.00 (1.15)	0.50 (0.53)	0.82 (-0.94)	1.1 (-0.89)
	4.	0.10 (0.32)	0.80 (0.42)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)	0.72 (-0.45)	0.89 (-0.74)

### Výsledky jednotlivých sad

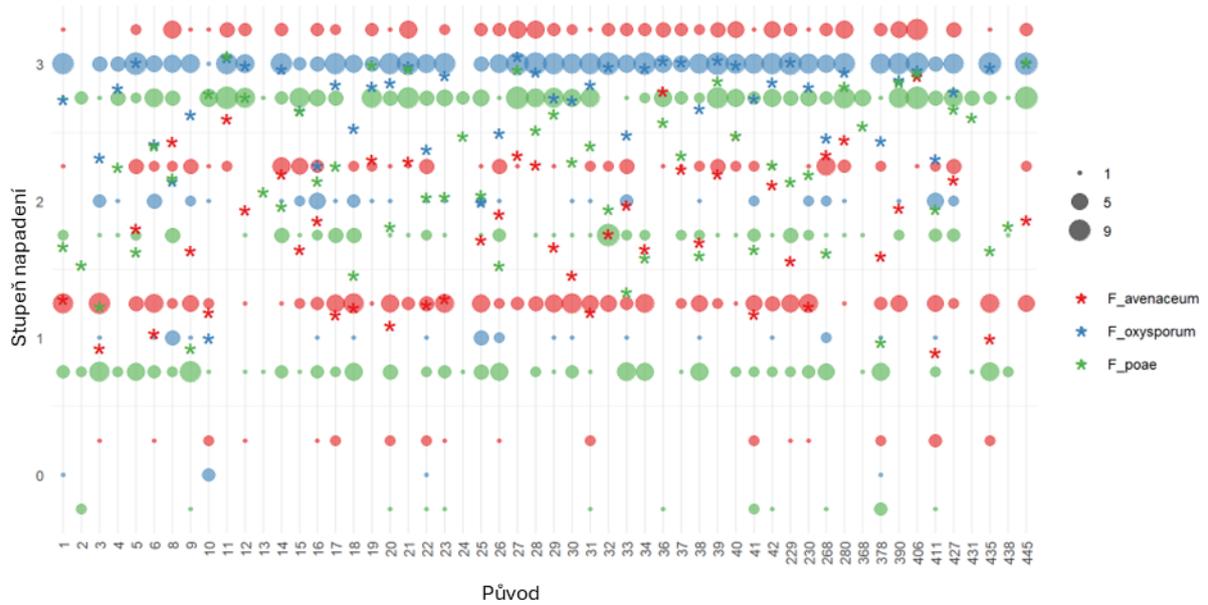
Výsledky všech původů byly zpracovány pro každou sadu zvlášť a vyneseny do následujících grafů (obrázek 1-4). Na osách X jsou vyneseny jednotlivé původů pod interním číselným označením, na osách Y je uveden stupeň napadení (0-3). Velikost barevných bodů znázorňuje počet rostlin (malý bod 1 rostlina, největší bod 9 rostlin) a jeho barevnost určuje druh fusária: červená *F. avenaceum*, modrá *F. oxysporum* a zelená *F. poae*. Hvězdičky určují průměrnou hodnotu.



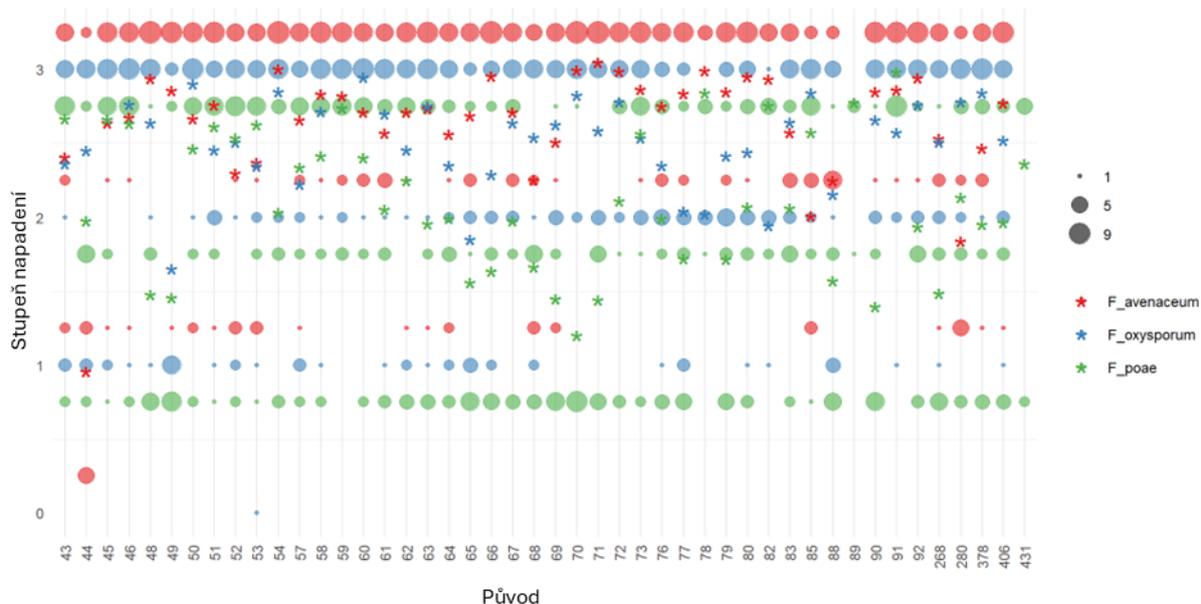
Obrázek 1: Výsledky hodnocení 1. sady.



Obrázek 2: Výsledky hodnocení 2. sady.



Obrázek 3: Výsledky hodnocení 3. sady.



Obrázek 4: Výsledky hodnocení 4. sady.

Ke komplexnímu hodnocení stupně napadení byl použit model CLMM s logitovou spojovací funkcí a náhodnými efekty pro genetický původ a sadu. Faktor ploidie byl v alternativním modelu zahrnut jako pevný efekt, avšak jeho vliv na stupeň napadení nebyl statisticky průkazný, proto byl tento efekt z modelu odstraněn a konečný model zahrnoval pouze typ patogenu jako fixní efekt a náhodné efekty pro genetický původ a experimentální sadu. Odhad náhodných efektů byl vyjádřen pomocí BLUP (Best Linear Unbiased Prediction), který vyjadřuje, do jaké míry se jednotlivé původy odchylují od celkového průměru po zohlednění fixních efektů. Mezi genetickými původy činil rozptyl interceptu 0.468 (SD = 0.684), což indikuje výraznou mezi-genotypovou variabilitu v náchylnosti k infekci. V tabulce 2 jsou uvedeny původy s nejnižšími hodnotami BLUP, tedy s nejvyšší univerzální odolností vůči infekci všemi třemi druhy fusárií. Naopak rozptyl mezi experimentálními sadami byl zanedbatelný (0,00034; SD = 0,018), což naznačuje, že rozdíly mezi sadami prakticky nepřispívají k variabilitě stupně napadení. Celkový počet hodnocených skupin (171 původů a 4 experimentální sady) poskytl dostatečnou hloubku pro odhad náhodných efektů. Koeficienty patogenů byly všechny vysoce statisticky významné ( $p < 0,01$ ), což potvrzuje, že všechny hodnocené druhy fusárií významně ovlivňují pravděpodobnost vyššího stupně infekce v porovnání s neinokulovanými vzorky. Nejnižší riziko bylo zaznamenáno u *F. poae*, poté *F. avenaceum*, zatímco *F. oxysporum* vykazoval výrazně vyšší hodnoty stupně napadení.

Tabulka 2: Genetické původy s nejnižšími hodnotami BLUP, které jsou univerzálně odolné ke všem třem hodnoceným druhům fuzárií (*F. poae*, *F. avenaceum* a *F. oxysporum*)

Původ	Název původu	BLUP	Původ	Název původu	BLUP
286	Ruttinova	-1.324	443	Barfiola	-0.954
360	Florex	-1.261	33	šlechtitelský materiál	-0.947
383	Jokioninen	-1.244	432	SW_Betty	-0.881
18	šlechtitelský materiál	-1.198	321	Himalia	-0.867
44	šlechtitelský materiál	-1.154	335	Karim	-0.861
302	Quinequeli	-1.091	329	TB-12	-0.823
403	Napoca_Tetra	-1.010	292	Noe	-0.814
459	Hayakita	-0.968	25	šlechtitelský materiál	-0.702
3	šlechtitelský materiál	-0.966	353	Poljanka	-0.688
1	šlechtitelský materiál	-0.957	23	šlechtitelský materiál	-0.662

## Diskuze

Výsledky této práce potvrdily výraznou variabilitu v náchylnosti genotypů jetele lučního k infekci houbami rodu *Fusarium* za kontrolovaných podmínek. Zjištěné rozdíly mezi genotypy naznačují, že genetický původ rostlin významně ovlivňuje výsledek infekce. Podobnou mezi-genotypovou variabilitu odolnosti k patogenům *Fusarium* dříve popsali Nedělník (2001) i Kováčiková a Kůdela (1982), kteří upozorňují na možnost výběru tolerantních genotypů v rámci šlechtitelských populací. Zanedbatelný rozptyl mezi experimentálními sadami v této studii potvrzuje robustnost použitého *in vitro* hodnocení a omezený vliv environmentální variability v celkovém pojetí, avšak pozorovaná rozdílná variabilita kontrolních původů mezi sadami nejspíš souvisí s drobnými odchylkami v podmínkách kultivace či provedení pokusu, které mohou nastat i ve vysoce kontrolovaném experimentálním systému.

Použitý *in vitro* systém se ukázal jako spolehlivý a citlivý nástroj pro hodnocení velkého množství genotypů za standardizovaných podmínek. Podobný přístup nedávno popsali Jambagi a Dixelius (2023), kteří vyvinuli hydroponický test pro hodnocení infekce *F. avenaceum* u jetele lučního a prokázali silnou korelaci mezi rozvojem symptomů a množstvím DNA patogenu. Oproti tradičním testům v půdě umožňuje *in vitro* metoda přesnější kontrolu infekčních podmínek a citlivější detekci částečné odolnosti (Jambagi a Dixelius, 2023). Přesto je nezbytné ověřit, zda odolnost zjištěná v laboratorních podmínkách přetrvává i v prostředí pole, kde infekční tlak a podmínky prostředí výrazně kolísají.

Využití kumulativního smíšeného modelu (CLMM) umožnilo integrovat ordinální informaci o stupni napadení spolu s náhodnými efekty v podobě genetického původu a poskytlo tak cenné odhady odolnosti genetických původů pomocí hodnot BLUP. Tyto odhady představují spolehlivé prediktory genotypové odolnosti a mohou být přímo využity při výběru rodičovských komponent nebo jako fenotypové vstupy pro genomické analýzy, jak doporučují Klímenko et al. (2010) a Abdelkhalek et al. (2025). Genetické původy s nejnižšími hodnotami BLUP lze tedy považovat za perspektivní zdroje univerzální odolnosti vůči *Fusarium* spp.

V souladu s dřívějšími poznatky se prokázalo, že patogenita se výrazně liší mezi jednotlivými druhy *Fusarium*. *F. oxysporum* vykazoval nejvyšší stupeň infekce, zatímco *F. poae* byl spojen s nejmírnějším průběhem onemocnění. Podobné rozdíly v agresivitě mezi druhy popsali Kováčiková a Kúdela (1982) a Nedělník (2001), což naznačuje druhově specifické interakce mezi hostitelem a patogenem. Tyto rozdíly mohou souviset s odlišnými strategiemi infekce a produkcí různých mykotoxinů u jednotlivých druhů fusárií (Dybová et al. 2025).

Celkově výsledky této studie potvrzují existenci značné genetické variability v odolnosti jetele lučního vůči infekci houbami rodu *Fusarium*. Což reflektuje značnou genetickou rozmanitost druhů, která se však skrývá nejen mezi jednotlivými rostlinami rozdílných genetických původů, ale velká porce variability zůstává i uvnitř jednotlivých genetických původů (Jones et al. 2020). Identifikace tolerantních genotypů na základě BLUP odhadů poskytuje cenný podklad pro šlechtitelské programy zaměřené na zvýšení odolnosti a perzistence porostů. Navazující výzkum by měl propojit výsledky *in vitro* fenotypizace s genomickými metodami za účelem mapování lokusů spojených s odolností a transkriptomickou studií mechanismu odolnosti a v důsledku vést k vývoji DNA markerů pro markerově asistovanou selekci.

### Závěr

Výsledky potvrdily výrazné rozdíly v náchylnosti jednotlivých genetických původů jetele lučního k infekci fusárií. Nejvyšší stupeň napadení byl zaznamenán u *F. oxysporum*, střední u *F. avenaceum* a nejnižší u *F. poae*. Analýza BLUP umožnila identifikovat genotypy jetele lučního s univerzální odolností vůči všem třem druhům fusárií, které představují vhodný základ pro další šlechtitelskou práci. Rostliny vykazující nízký stupeň napadení, pocházející z nejdolnějších genetických původů, byly po vyhodnocení výsledků převedeny do podmínek *ex vitro*. Tyto rostliny tvoří cenný genetický materiál určený pro genetické mapování a transkriptomické studie mechanismů odolnosti a budou využity jako donory geneticky podmíněné rezistence vůči houbovým patogenům v navazujícím šlechtitelském programu.

### Seznam použité literatury

- ABDELKHALEK S. M., ABDELRAHMAN M., MAZAL T. M., KIMIKO I., ELSHENAWY M., AAMER S., HASSAN A. A., ATTIA K. A. a AMMAR M. (2025) Integrating *in vitro* breeding, BLUP prediction, and marker analysis to enhance rice yield, quality, and blast resistance. *Frontiers in Plant Science*, 16: 1588427. doi: 10.3389/fpls.2025.1588427.
- ANNICCHIARICO P., BARRETT B., BRUMMER E. C., JULIER B. a MARSHALL A. H. (2015) Achievements and challenges in improving temperate perennial forage legumes. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 34: 327–380. doi: 10.1080/07352689.2014.898462
- CHRISTENSEN R. H. B. (2023) ordinal – Regression Models for Ordinal Data. R package version 2023.12-4.1. URL: <https://CRAN.R-project.org/package=ordinal>
- COULMAN B. E. a LAMBERT M. (1995) Selection for resistance to root rot caused by *Fusarium* spp. in red clover (*Trifolium pratense* L.). *Canadian Journal of Plant Science*, 75(1): 141–146. doi: 10.4141/cjps95-023.
- DYBOVÁ M., TRNĚNÝ O., NEORALOVÁ M., MICHUTOVÁ M., DRDA A., PRUDIL J., STAVENÍKOVÁ J. a HOLKOVÁ L. (2025) Korelace mykotoxinů (zearalenon, fumonisin, T-2/HT-2) v prýtu jetele lučního s úrovní napadení *Fusarium culmorum* a *Fusarium poae*. *Úroda* 12, roč. LXXIII, vědecká příloha.
- FREY L. A., VLEUGELS T., RUTTINK T., SCHUBIGER F. X., PÉGARD M., SKØT L., GRIEDER C., STUDER B., ROLDÁN-RUIZ I. a KÖLLIKER R. (2022) Phenotypic variation and quantitative trait loci for resistance to southern anthracnose and clover rot in red clover. *Theoretical and Applied Genetics*, 135(12): 4337–4349. doi: 10.1007/s00122-022-04223-8.

- JAMBAGI S. a DIXELIUS C. (2023) A robust hydroponic-based system for screening red clover (*Trifolium pratense*) for *Fusarium avenaceum*. *Legume Science*, 5(4): e209. doi: 10.1002/leg3.209.
- JING S. a BOELT B. (2021) Seed production of red clover (*Trifolium pratense* L.) under Danish field conditions. *Agriculture*, 11: 1289. doi: 10.3390/agriculture11121289.
- JONES, C., DE VEGA, J., LLOYD, D., HEGARTY, M., AYLING, S., POWELL, W. a kol. (2020) Population structure and genetic diversity in red clover (*Trifolium pratense* L.) germplasm. *Scientific Reports*, 10: 8364. doi: 10.1038/s41598-020-64989-z.
- KLIMENKO I., RAZGULAYEVA N., GAU M., OKUMURA K., NAKAYA A., KOZLOV N., ISOBE S. et al. (2010) Mapping candidate QTLs related to plant persistency in red clover. *Theoretical and Applied Genetics*, 120(6): 1253–1263. doi: 10.1007/s00122-009-1253-5.
- KOVÁČIKOVÁ E. a KÚDELA V. (1982) *Fusarium* species associated with root rot of red clover. *Zentralblatt für Mikrobiologie*, 137(5): 407–414. doi: 10.1016/S0232-4393(82)80019-X.
- MUNKVOLD G. P. (2016) *Fusarium* species and their associated mycotoxins. In: MORETTI A., SUSCA A. (Eds.) *Mycotoxigenic Fungi. Methods in Molecular Biology*, vol. 1542. Humana Press, New York, NY, USA. pp. 51–106. doi: 10.1007/978-1-4939-6707-0\_4.
- NEDĚLNÍK J. (2001) Resistance of red clover to *Fusarium* fungi. In: Breeding for stress tolerance in fodder crops and amenity grasses (proceedings), p. 112.
- PELIKÁN J., HÝBL M. a kolektiv. (2012) Rostliny čeledi *Fabaceae* LINDL. (bobovité) České republiky. Ed. KNOTOVÁ D. Vydavatelství Petr Baštan, Olomouc, CZ. ISBN 978-80-905080-2-6.
- STOCKDALE E. A., LAMPKIN N. H., HOVI M., KEATINGE R., LENNARTSSON E. K. M., MACDONALD D. W., PADEL S., TATTERSALL F. H., WOLFE M. S. a WATSON C. A. (2003) Agronomic and environmental implications of organic farming systems. *Advances in Agronomy*, 70: 261–327. doi: 10.1016/S0065-2113(01)70007-7.

### Poděkování:

Výzkum byl podpořen Ministerstvem zemědělství a proveden v rámci projektu QL24010223 Rezistentní šlechtění jetele lučního na vybraná houbová a virová onemocnění.

### Kontakt:

Mgr. Jana Staveníková  
Zemědělský výzkum spol. s r.o.  
Zahradní 400/1, 66441 Troubsko  
+420 547 138 810, stavenikova@vupt.cz



## Fyziologická odezva pšenice na kombinaci stresových faktorů (chlad, sucho, WDV)

Physiological response of wheat to a combination of stress factors (cold, drought, WDV)

Vítámvás P.<sup>1</sup>, Kosová K.<sup>1</sup>, Čit Z.<sup>1</sup>, Holková L.<sup>2</sup>, Smutná P.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu (CARC), v.v.i., <sup>2</sup>Ústav pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství, MENDELU

### Abstrakt

V polních podmínkách jsou plodiny obvykle vystaveny kombinacím různých abiotických a biotických stresových faktorů. Cílem studie je hodnocení vlivu sucha, infekce virem zakrslosti pšenice (WDV), a kombinace obou faktorů (WDV + sucho) na soubor vybraných morfofyziologických charakteristik zahrnujících charakteristiky spojené s růstem rostlin, vodním režimem, fotosyntézou a transpirací u mladých rostlin pšenice seté. Hodnocení jednotlivých charakteristik pomocí analýzy rozptylu (ANOVA) zjistilo významný vliv stresu na charakteristiky spojené s růstem (čerstvá biomasa, listová plocha), obsahem vody v pletivech (vodní sytostní deficit VSD, osmotický potenciál OP) a také na fluorescenční parametr Fv/Fm, a rychlost čisté fotosyntézy Pn. Byl charakterizován vliv vývoje rostlin a infekce WDV na zkoumané parametry.

**Klíčová slova:** abiotický stres; biotický stres; kombinace stresů; morfofyziologické charakteristiky; pšenice setá

### Abstract

In the field, crops are usually exposed to combined impacts of abiotic and biotic stresses. The aim of the present study is assessment of the impacts of drought, infection with Wheat dwarf virus (WDV), and combined WDV + drought treatments on a set of selected morphophysiological characteristics including growth-related characteristics (fresh biomass, leaf area), water content (water saturation deficit, osmotic potential), chlorophyll fluorescence parameter Fv/Fm, and photosynthesis- and transpiration-related characteristics in young wheat plants. Analysis of variance (ANOVA) revealed the significant effect of stress treatments on growth-related characteristics, water content-related characteristics, Fv/Fm, and net photosynthesis rate (Pn). The influence of plant development and WDV infection on the parameters studied was characterized.

**Keywords:** abiotic stress; biotic stress; combined stress; morphophysiological characteristics; common wheat

### Úvod

Virus zakrslosti pšenice (Wheat dwarf virus; WDV) je jednovláknový cirkulární DNA virus z čeledi Geminiviridae, rodu Mastrevirus, který byl poprvé popsán dr. Vackem (1961) v Československu. Jeho výhradním vektorem je křísek polní (*Psammotettix alienus*). Mezi hlavní symptomy WDV patří zakrslost a zvýšené odnožování vytvářející trsnatý vzhled rostlin pšenice. Dalšími významnými symptomy jsou chloróza a žluté nebo červené diskolorace listů, nekrotické skvrny na listech, sterilita květů a redukce výnosu (shrnuto v Kosová et al. 2024). Sucho představuje globálně nejvýznamnější environmentální stresový faktor, který má klíčové dopady na rostliny s C3 fotosyntézou, mezi něž patří též pšenice setá (Kosová et al. 2014). V polních podmínkách jsou rostliny často vystaveny kombinaci různých abiotických a biotických stresových faktorů, jejichž výsledný vliv na rostlinu obvykle není prostým součtem vlivu jednotlivých stresových faktorů působících samostatně (Rasmussen et al. 2013).

Cílem naší práce bylo hodnocení vlivu sucha, infekce viru zakrslosti pšenice (WDV) a kombinovaného působení obou těchto faktorů (sucho + WDV) u mladých rostlin pšenice seté ve vegetativním stadiu vývoje. V experimentu byly hodnoceny základní fenotypové charakteristiky rostlin spojené s růstem (hmotnost čerstvé biomasy, listová plocha nejmladšího

plně vyvinutého listu), hospodařením rostliny s vodou (vodní sytostní deficit, osmotický potenciál, účinnost využití vody WUE, tzv. vnitřní účinnost využití vody WUE<sub>i</sub>), fotosyntézou (rychlost čisté fotosyntézy, poměr intercelulární a ambientní koncentrace CO<sub>2</sub> ci/ca, fluorescenční parametr Fv/Fm), a transpirací (rychlost transpirace T, stomatální vodivost gs). Hodnocení jednotlivých charakteristik pomocí analýzy rozptylu umožnilo identifikovat klíčové morfofyziologické charakteristiky, které vykazují největší odezvu na aplikované stresy.

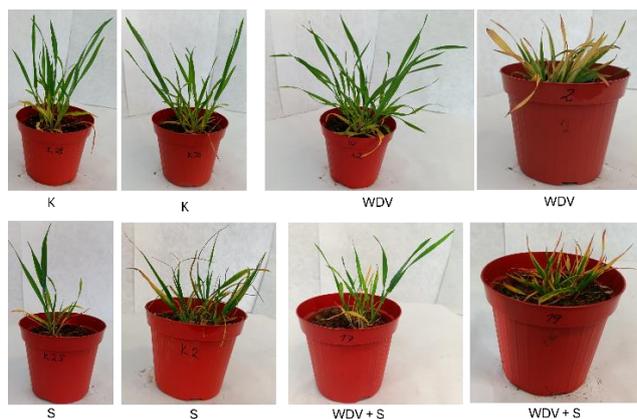
### **Materiál a metodika**

Rostliny odrůdy LG Dita byly pěstovány v květináčích (1 L) na stanici v Žabčicích. Květináče byly po zasetí (1.10. 2024) umístěny pod izolační síť. Rostliny infikované varianty (60 ks) byly po vzejití (10. 10. 2024) vystaveny sání odlovených křísků (cca 300 ks). Kontrolní varianta (40 ks) byla ponechána pod izolátorem. Koncem listopadu byly rostliny převezeny na MENDELU a u infikované varianty byl z každé odebrán jeden list pro detekci přítomnosti WDV. U kontrolní varianty byl analyzován směsný vzorek připravený vždy z 5 rostlin. Následně byly pozitivní a negativní rostliny převezeny na pracoviště VÚRV. Zde byly vybrané rostliny byly kultivovány v polních podmínkách. Ve dvou termínech (začátek 29. 1. 2025; 11. 4. 2025) byly vybrané rostliny přeneseny do řízených podmínek (18 °C, 16h fotoperioda) pod optimální zálivkou (kontroly) a třetinovou zálivkou (sucho). Po 21 dnech kultivace byl odebrán list pro PCR detekci viru WDV a na dalších listech byla provedena analýza základních fyziologických parametrů. U vzorků z každého odběru (kontrola, sucho, infekce WDV, kombinace sucho + WDV) byly stanoveny následující charakteristiky: vodní sytostní deficit v listech (VSD) na základě stanovení čerstvé hmotnosti FW, hmotnosti po nasycení vodou ve vlhkostní komoře TW, a suché hmotnosti DW dle vzorce:  $VSD (\%) = (TW-FW)/(TW-DW)*100 (\%)$ . Osmotický potenciál (OP) byl stanoven jako osmolarita šťávy ze zmrazených listů pomocí osmometru VAPRO 5600 (Wescor Inc., Utah, USA) a následně vypočten dle van't Hoffovy rovnice. Maximální fotochemická účinnost fotosystému II Fv/Fm byla stanovena pomocí FluorPen FP100 (PSI, Drásov, ČR) a charakteristiky spojené s fotosyntézou (rychlost čisté fotosyntézy Pn) a transpirací (rychlost transpirace Tr, stomatální vodivost, intercelulární koncentrace CO<sub>2</sub>) byly stanoveny pomocí LCpro+ (Opti-Sciences, Inc).

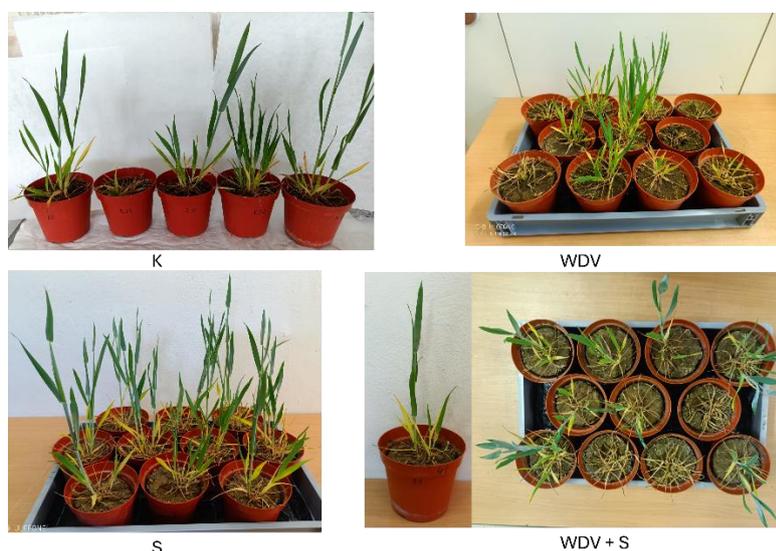
Statistická analýza dat: Jednotlivé morfofyziologické charakteristiky byly hodnoceny pomocí analýzy rozptylu (ANOVA), významné rozdíly byly zjištěny pomocí Duncanova testu rozpětí (DMRT) na hranici významnosti 0,05 pomocí software STATISTICA v. 13 (TIBCO).

### **Výsledky**

Jarovizované rostliny LG Dita vykazovaly poměrně velkou variabilitu v růstu u infikovaných rostlin a to zvláště u květnového odběru (Obr. 1 a 2). Zatímco v únorovém odběru všechny infikované rostliny přežily, tak v květnovém odběru z 12 rostlin optimálně zalévaných 5 (tj. 42 %) nepřežilo 21 dní růstu na 18 °C a z 12 infikovaných rostlin vystavených nedostatečné zálivce jich čtyři rostliny nepřežily (tj. 33 %). Oproti tomu neinfikované rostliny byly poměrně uniformní až na jednu optimálně zalévanou v květnovém odběru, kde se zjištěnou zakrslostí byla následně díky PCR potvrzena infekce WDV (Obr. 2; data z této rostliny nebyla zahrnuta do analýz kontrolních rostlin). U všech rostlin vystavených sáním odlovených křísků byl po 21 dnech regenerace v 18 °C identifikován virus WDV.



Obrázek 1. Srovnání rostlin odebraných v únorovém termínu. K – kontrolní optimálně zalévané rostliny, S – rostliny vystavené nedostatku vody, WDV – rostliny infikované virem WDV, WDV–S - rostliny infikované virem WDV a vystavené suchu.



Obrázek 2. Srovnání rostlin odebraných v květnovém termínu. K – kontrolní optimálně zalévané rostliny, S – rostliny vystavené nedostatku vody, WDV – rostliny infikované virem WDV, WDV–S - rostliny infikované virem WDV a vystavené nedostatku vody.

Hodnocení jednotlivých morfofyziologických charakteristik pomocí analýzy rozptylu (ANOVA), Duncanova testu rozpětí (DMRT) na hladině významnosti 0,05 vykazovalo rozdíly mezi čtyřmi variantami (kontrola, sucho, WDV, sucho + WDV) u následujících charakteristik: biomasa, listová plocha, VSD, OP, Fv/Fm, rychlost čisté fotosyntézy (Pn), zatímco u ostatních hodnocených charakteristik (rychlost transpirace Tr, stomatální vodivost gs, poměr intercelulární a ambientní koncentrace CO<sub>2</sub> ci/ca, účinnost využití vody WUE a tzv. vnitřní účinnost využití vody WUEi) významné rozdíly mezi experimentálními variantami zjištěny nebyly (Tab. 1-4). Stresové faktory ve srovnání s kontrolou vedly k menší hmotnosti čerstvé biomasy, menší listové ploše, nárůstu vodního sytostního deficit (VSD), poklesu osmotického potenciálu (OP), poklesu fluorescenčního parametru maximální fotochemická účinnost fotosystému II Fv/Fm, a poklesu rychlosti čisté fotosyntézy Pn.

Tabulka 1. Morfofyziologické charakteristiky rostlin LG Dita odebraných v únorovém termínu. Fv/Fm – fluorescence chlorofylu, K – kontrolní optimálně zalévané rostliny, OP – osmotický potenciál nasyceného listu, S – rostliny vystavené nedostatku vody, SMODCH – směrodatná odchylka, VSD – vodní sytostní deficit listu, WDV – rostliny infikované virem WDV, WDV–S – rostliny infikované virem WDV a vystavené nedostatku vody. Stejná písmena v závorce vyjadřují nesignifikantní rozdíly (hladina významnosti 0,05) daných charakteristik.

Odběr 1	Biomasa (g)	List (cm <sup>2</sup> )	VSD (%)	Fv/Fm	OP
<b>K</b>	6,05	11,25	2,23	0,83	-1,50
K - SMODCH	1,42 (a)	2,02 (a)	0,39 (a)	0,01 (a)	0,05 (a)
<b>WDV</b>	4,25	8,60	4,11	0,81	-1,74
WDV - SMODCH	1,73 (b)	3,12 (b)	4,02 (a)	0,03 (ab)	0,21 (b)
<b>S</b>	2,61	6,79	4,57	0,80	-1,70
WDV - SMODCH	0,76 (c)	1,38 (c)	2,72 (a)	0,02 (bc)	0,16 (b)
<b>WDV+S</b>	1,43	4,60	6,75	0,79	-1,68
WDV+S - SMODCH	0,33 (d)	1,63 (d)	3,25 (b)	0,02 (c)	0,28 (b)

Tabulka 2. Fotosyntetické parametry rostlin LG Dita odebraných v únorovém termínu. Ci/ca - poměr intercelulární a ambientní koncentrace CO<sub>2</sub>, K – kontrolní optimálně zalévané rostliny, PR – čistá fotosyntéza, S – rostliny vystavené nedostatku vody, SC – stomatální vodivost, TR – rychlost transpirace, SMODCH – směrodatná odchylka, WDV – rostliny infikované virem WDV, WDV–S – rostliny infikované virem WDV a vystavené nedostatku vody, WUE - účinnost využití vody, WUEi – vnitřní účinnost využití vody. Stejná písmena v závorce vyjadřují nesignifikantní rozdíly (hladina významnosti 0,05) daných charakteristik.

Odběr 1	ci/ca	TR	SC	PR	WUE	WUEi
<b>K</b>	0,66	1,31	0,10	8,24	6,47	87,7
K - SMODCH	0,03 (a)	0,3 (a)	0,03 (a)	1,2 (a)	0,9 (a)	11,0 (a)
<b>WDV</b>	0,57	0,97	0,06	6,68	6,97	117,1
WDV - SMODCH	0,04 (ab)	0,2 (a)	0,01 (a)	0,7 a(b)	0,6 (a)	14,3 (a)
<b>S</b>	0,60	0,65	0,04	4,13	6,17	124,0
WDV - SMODCH	0,02 (a)	0,2 (ab)	0,02 (ab)	1,7 (b)	0,6 (a)	3,7 (a)
<b>WDV+S</b>	0,64	1,15	0,07	6,09	5,54	108,6
WDV+S - SMODCH	0,04 (a)	0,6 (a)	0,05 (a)	2,7 (ab)	0,5 (a)	24,4 (a)

Tabulka 3. Morfofyziologické charakteristiky rostlin LG Dita odebraných v květnovém termínu. Fv/Fm – fluorescence chlorofylu, K – kontrolní optimálně zalévané rostliny, OP – osmotický potenciál nasyceného listu, S – rostliny vystavené nedostatku vody, SMODCH – směrodatná odchylka, VSD – vodní sytostní deficit listu, WDV – rostliny infikované virem WDV, WDV–S - rostliny infikované virem WDV a vystavené nedostatku vody. Stejná písmena v závorce vyjadřují nesignifikantní rozdíly (hladina významnosti 0,05) daných charakteristik.

Odběr 2	Biomasa (g)	List (cm <sup>2</sup> )	VSD (%)	Fv/Fm	OP
<b>K</b>	9,01	14,91	2,06	0,82	-1,35
K - SMODCH	2,20 (a)	2,30 (a)	0,59 (a)	0,02 (a)	0,07 (a)
<b>WDV</b>	3,62	11,28	3,99	0,76	-1,45
WDV - SMODCH	2,56 (c)	3,10 (b)	2,54 (a)	0,09 (b)	0,29 (ab)
<b>S</b>	7,04	12,08	4,17	0,82	-1,57
WDV - SMODCH	1,49 (b)	2,19 (b)	2,20 (a)	0,01 (a)	0,10 (bc)
<b>WDV+S</b>	4,65	10,63	4,37	0,83	-1,46
WDV+S - SMODCH	1,82 (c)	1,97 (c)	2,74 (a)	0,01 (a)	0,15 (ab)

Tabulka 4. Fotosyntetické parametry rostlin LG Dita odebraných v květnovém termínu Ci/ca - poměr intercelulární a ambientní koncentrace CO<sub>2</sub>, K – kontrolní optimálně zalévané rostliny, PR – čistá fotosyntéza, S – rostliny vystavené nedostatku vody, SC – stomatální vodivost, TR – rychlost transpirace, SMODCH – směrodatná odchylka, WDV – rostliny infikované virem WDV, WDV–S - rostliny infikované virem WDV a vystavené nedostatku vody, WUE - účinnost využití vody, WUEi – vnitřní účinnost využití vody. Stejná písmena v závorce vyjadřují nesignifikantní rozdíly (hladina významnosti 0,05) daných charakteristik.

Odběr 2	ci/ca	TR	SC	PR	WUE	WUEi
<b>K</b>	0,60	1,23	0,10	8,80	7,53	96,90
K - SMODCH	0,09 (a)	0,29 (a)	0,03 (a)	0,37 (a)	1,56 (a)	26,00 (a)
<b>WDV</b>	0,62	1,00	0,08	6,17	6,90	98,49
WDV - SMODCH	0,09 (a)	0,52 (a)	0,05 (a)	1,70 (b)	1,41 (a)	32,61 (a)
<b>S</b>	0,62	1,04	0,08	7,37	7,08	98,01
WDV - SMODCH	0,01 (a)	0,34 (a)	0,03 (a)	2,48 (ab)	0,26 (a)	6,95 (a)
<b>WDV+S</b>	0,62	1,24	0,10	8,94	7,23	94,47
WDV+S - SMODCH	0,02 (a)	0,18 (a)	0,02 (a)	1,16 (a)	0,12 (a)	5,50 (a)

Na základě hodnocení souboru výše uvedených morfofyziologických charakteristik (Tab. 1-4) lze v případě porovnání vlivu faktorů sucho a kombinace WDV + sucho se jejich vliv lišil u rozdílných charakteristik; např. u růstových charakteristik (biomasa, listová plocha) i charakteristik spojených s nasycením pletiv vodou (OP, VSD) měla největší negativní vliv oproti kontrole kombinace WDV + sucho, zatímco samotné sucho mělo největší negativní vliv na rychlost čisté fotosyntézy Pn. V únorovém odběru (Tab. 1, 2) se více odlišovaly rozdílně zalévané varianty, zatímco v květnovém odběru (Tab. 3, 4) se více odlišovaly tyto parametry u rostlin dle výskytu viru WDV v pletivech.

## Diskuze

V důsledku změn klimatu lze předpokládat častější zimy s nadnormálním teplotním průběhem a s nedostatkem srážek. Teplejší podzim prodlužuje aktivitu přenašečů nemoci. Sucho oproti tomu může mít na přenašeče negativní vliv, jak jsme ukázali např. u populační studie mšic sajících na různě zalévaných pšenících (Saska et al. 2023), kdy se populace mšic hůře rozvíjela na rostlinách pěstovaných na suchu. Ovšem pro infekci rostliny virem WDV stačí i jeden infikovaný křísek, a proto je důležité se zabývat mechanismem rozvoje této nemoci (Kosová et al. 2024). Ze získaných výsledků vyplývá, že i přes úspěšný přenos WDV se některé rostliny se s touto infekcí lépe vyrovnaly (Obr. 1, 2). Jde pravděpodobně o náhodný výsledek daného místa nasátí či počtu nasátí infikovaných křísků na konkrétní rostlině. Výskyt WDV rostliny v kontrolní skupině (kontrolní rostliny byly pod izolátorem, ale přece jen v polních podmínkách), dokumentuje důležitost ověření infekčního či neinfekčního stavu rostlin pomocí vhodných diagnostických metod (např. PCR, ELISA). S rychlostí infekce pravděpodobně souvisí i menší míra poškození virem u rostlin vystavených třítýdenním vyšším teplotám již koncem ledna, kdy žádná z rostlin nezahynula a infikované rostliny pod optimální závlivkou vykazovaly v průměru nejnižší stres hned po kontrolách. Nejhorší hodnoty zkoumaných parametrů byly v únorovém odběru nalezeny u infikovaných rostlin vystavených suchu, kdy zpomalený růst rostlin zapříčiněný nedostatkem vody (Tab. 1) pravděpodobně neumožnil tak efektivně regenerovat pletiva s menší koncentrací virů, jak tomu mohlo být u optimálně zalévané varianty. U rostlin přenesených do tepla až v polovině dubna měl virus mnohem víc času k namnožení a promoření celé rostliny. Proto zde v průměru nejhorší parametry vykazují infikované rostliny pěstované v optimální závlivce (Tab. 3, 4) a to i přes to, že tyto parametry nebyly měřitelné u mrtvých rostlin (tj. nejhorší rostliny tak nemohly ovlivnit průměrné hodnoty). U infikovaných rostlin rostoucích za nedostatečné závlivky se tak pravděpodobně projevil synergický efekt sucha (Saska et al. 2023). Stresové obranné proteiny aktivované suchem tak mohly ovlivnit dopad infekce a u některých odnoží mírně zvýšit šanci lepší regenerace a snížit tak míru úhynu infikovaných rostlin. Pro ověření těchto získaných výsledků je plánováno další zopakování pokusu a provedení proteomické analýzy odnožovacích uzlů pšenice.

## Literatura

- Kosová, K., Vítámvás, P., Urban, M.O., Kholová, J., Prášil, I.T., 2014: Breeding for enhanced drought resistance in barley and wheat – drought-associated traits, genetic resources and their potential utilization in breeding programmes. *Czech. J. Genet. Plant Breed.* 50(4): 247-261.
- Kosová, K., Vítámvás, P., Holková, L., Smutná, P., 2024. Nové poznatky týkající se rezistence pšenice k viru zakrslosti pšenice (WDV). *Obilnářské Listy* 32(3-4): 71-73.
- Rasmussen, S., P. Barah, M.C. Suarez-Rodriguez, S. Bressendorff, P. Friis, P. Constantino, et al. 2013. Transcriptome responses to combinations of stresses in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 161:1783-1794.
- Saska, P., Skuhrovec, J., Platková, H., Kosová, K., Tylová, E., Tuan, S-J., Vítámvás, P., 2023. Response of the spring wheat–cereal aphid system to drought: support for the plant vigour hypothesis. *J Pest Sci* 96: 523–537.
- Vacke J., 1961: Wheat dwarf virus disease. *Biol. Plant.* 3: 228-233.

### **Poděkování**

Práce byla vypracována v rámci řešení projektu MZe ČR QL24010142 a institucionální podpory MZe ČR RO0423.

### **Kontakt**

Mgr. Pavel Vítámvás, Ph.D.

Laboratoř stresové biologie a biotechnologie, Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i.

Drnovská 507/73, 16100 Praha 6 – Ruzyně

Tel. +420 702087729, email: [pavel.vitamvas@carc.cz](mailto:pavel.vitamvas@carc.cz)



## Nové možnosti záchrany reprodukčního úspěchu čmeláčích královen při nedostatku vhodných samců

New options for preserving reproductive success of bumblebee queens in the absence of suitable males

Votavová A.

Zemědělský výzkum spol. s r. o., Zahradní 1, 664 41 Troubsko, Česká republika

### Abstrakt

Tato studie zkoumala reprodukční úspěšnost královen *Bombus terrestris* obrácením obvyklého sledu páření a hibernace v laboratorních podmínkách. Panenské královny byly zazimovány po dobu čtyř nebo sedmi měsíců před pářením s nepříbuznými samci. Výsledky ukázaly vysokou míru přežití během hibernace, bez významných rozdílů mezi oběma délkami hibernace. Úspěšnost páření po hibernaci byla rovněž vysoká: 82,6 % královen v 4měsíční skupině a 77,7 % v 7měsíční skupině se úspěšně spářilo. Délka hibernace se zdála mírně ovlivňovat schopnost hnízd produkovat nové královny, avšak rozdíl nebyl statisticky významný. Tato zjištění naznačují, že opožděné páření po hibernaci je životaschopnou strategií pro laboratorní chovy a ochranné programy, zejména v případech, kdy nejsou před hibernací k dispozici vhodní samci.

**Klíčová slova:** Čmeláci, *Bombus terrestris*, panenské královny, hibernace, páření

### Abstract

This study investigated the reproductive success of *Bombus terrestris* queens by reversing the typical sequence of mating and hibernation under laboratory conditions. Virgin queens were hibernated for four or seven months before mating with unrelated males. Results showed high survival rates during hibernation, with no significant differences between the two hibernation durations. Post-hibernation mating success was also high, with 82.6% of queens in the 4-month group and 77.7% in the 7-month group successfully mating. The length of hibernation appeared to slightly affect the ability of nests to produce new queens, but the difference was not statistically significant. These findings suggest that delayed mating after hibernation is a viable strategy for laboratory breeding programs and conservation efforts, especially when suitable mates are unavailable before hibernation.

**Key words:** Bumblebees, *Bombus terrestris*, virgin queens, hibernation, mating

### Úvod

Hibernace představuje zásadní strategii přežití u různých druhů hmyzu, která jim umožňuje překonat nepříznivé podmínky prostředí, zejména během zimy. Tento fyziologický stav, charakterizovaný výrazně sníženou metabolickou aktivitou, umožňuje hmyzu šetřit energii v době, kdy jsou potravní zdroje vzácné a teploty nízké. U společenských druhů hmyzu, jako jsou čmeláci (*Bombus* spp.), hraje hibernace klíčovou roli v jejich životním cyklu, zejména u královen, které musí přežít zimu, aby mohly na jaře založit novou kolonii (Owen 1988). Délka a kvalita hibernace přímo ovlivňuje kondici po jejím ukončení a zasahuje do kritických faktorů, jako je reprodukční úspěšnost a schopnost založení kolonie. Výzkumy ukazují, že prodloužená hibernace může být spojena s úbytkem tělesné hmotnosti a nižší mírou přežití, což potenciálně ovlivňuje celkový reprodukční výstup královen (Gosterit & Gurel, 2009). Důležité je rovněž načasování hibernace – její začátek i konec – protože synchronizace probuzení královen s optimálními podmínkami prostředí maximalizuje jejich šance na úspěšnou reprodukci (Alford 1975).

Vztah mezi hibernací a kondicí je složitý a existují důkazy, že optimální strategie hibernace se mohou lišit mezi druhy i v rámci populací. Klíčovými faktory, které určují přežití a reprodukční

úspěšnost po hibernaci, jsou tělesná velikost, energetické zásoby a délka hibernace (Owen 1988). V nadčeledi Apoidea se vyvinuly různé strategie přežití, které umožňují překonat nepříznivé podmínky a zajistit oplození. Mnohé druhy samotářských včel, jako například z rodu *Osmia* (Panzer, 1806) nebo *Xylocopa* (Latreille, 1802), se páří na jaře po hibernaci (Eickwort & Ginsberg 1980; Vicidomini 2016), zatímco společenské druhy, jako je včela medonosná nebo čmelák, se páří v létě před hibernací, protože samci zimu nepřežívají (Alford 1975). U čmeláků hibernaci přežívají pouze mladé královny, které se před vstupem do hibernace na podzim spáří se samci (Alford 1969). Po probuzení na jaře se již znovu nepáří, ale soustředí se na založení nové kolonie a kladou oplozená vajíčka z dříve uložených spermií. Z těchto vajíček se líhnou dělnice, které pomáhají udržovat kolonii a později pohlavní jedinci. Zajímavé je, že hibernace byla pozorována také u neoplozených královen, a to jak ve volné přírodě (Cumber 1959; Milliron 1960; Alford 1975), tak v laboratorních podmínkách (Greeff & Schmid-Hempel 2008; Bogo et al. 2017). Neoplozené královny dokonce vykazovaly vyšší míru přežití během hibernace než královny spárené, což může souviset s vyššími náklady spojenými s udržováním spermií ve spermatéce. Vzhledem k haplodiploidnímu určení pohlaví u blanokřídlého hmyzu (Hymenoptera) mohou tyto neoplozené královny po úspěšné hibernaci klást vajíčka, z nichž se vyvíjejí samci (Amsalem et al. 2015). Tato studie si kladla za cíl zjistit, zda lze reprodukční úspěšnost královen *Bombus terrestris* (Linneus, 1758) zachránit obrácením fázi páření a hibernace v laboratorních podmínkách.

### **Materiál a metody**

Studie byla provedena v letech 2020–2021 s použitím 144 královen čmeláka zemního (*Bombus terrestris*), které byly odchovány v laboratoři Zemědělský výzkum, spol. s r. o., Troubsko. Královny byly odebrány z hnízd krátce po vylíhnutí, aby se zabránilo příbuzenskému křížení. Tyto královny byly následně vedeny stejným režimem, jaký se v naší laboratoři používá pro páření a hibernaci v přirozeném sledu. Během prvních sedmi dnů byly královny drženy pohromadě a krmeny pylem a nektarem ad libitum. Poté byly na pět dní umístěny do místnosti s přirozeným denním světlem, následovaných čtyřmi dny v tmavé místnosti pouze s přístupem k nektaru. Následně byly panenské královny přemístěny do plastových boxů s ventilačními otvory, vyplněných lignocelou, a umístěny do hibernační místnosti při teplotě 2 °C a vlhkosti 70 %.

Hibernace byla ukončena po čtyřech ( $n = 56$ ) a sedmi ( $n = 88$ ) měsících přemístěním boxů na světlo a do pokojové teploty. Po 1–3 dnech byli ke královnám přidáni nepřibuzní samci a páření probíhalo po dobu pěti dnů. Oplozené královny byly poté umístěny do chovných boxů s pylem a nektarem, kde byla snůška stimulována pomocí samčích kokonů ve tmě při teplotě 27 °C a vlhkosti 60 % (Duchateau, M. J., 2000).

Během celého experimentu bylo zaznamenáváno založení prvních buněk, počet hnízd, která produkovala nové královny, a počet nově vzniklých královen.

### **Statistická analýza**

K posouzení rozdílů mezi dvěma experimentálními skupinami (jedna s 4měsíční a druhá s 7měsíční hibernací) byly použity statistické testy. Fisherův exaktní test byl použit pro analýzu kategoriálních dat, například podílu úspěšných hnízd. Tento test byl zvolen kvůli své vhodnosti pro malé vzorky, protože zajišťuje přesné výsledky i v případech, kdy jsou očekávané četnosti v některých buňkách  $2 \times 2$  kontingenční tabulky nízké. (Nejmenší četnost v jedné z buněk tabulky byla 6.) Pro porovnání počtu nových královen odchovaných v jednotlivých hnízdech byl použit Mann-Whitneyho U test, protože data nesplňovala předpoklady normality

vyžadované parametrickými testy. Statistická významnost byla nastavena na hladinu  $p < 0,05$ . Všechny analýzy byly provedeny pomocí knihovny Pythonu \*scipy.stats\*.

### Výsledky

Analýza přežití královen neodhalila statisticky významný rozdíl mezi skupinami s 4měsíční a 7měsíční délkou hibernace (OR = 1,022,  $p = 1,000$ ).

Podíl královen, které přežily hibernaci a úspěšně se spářily, činil 82,6 % u skupiny s 4měsíční hibernací a 77,7 % u skupiny se 7měsíční hibernací. Tento rozdíl nebyl statisticky významný (OR = 1,357,  $p = 0,641$ ).

Délka hibernace neměla významný vliv na založení první buňky (OR = 1,304,  $p = 0,787$ ) ani na počet nových královen odchovaných v jednotlivých hnízdech (Mann-Whitney U = 75,5,  $p = 0,525$ ). Přestože rozdíl v podílu hnízd, která byla úspěšná v produkci nových královen, vypadal větší, nebyl statisticky významný. V 4měsíční skupině byla úspěšná 39,5 % hnízd, zatímco v 7měsíční skupině jen 25 % (OR = 1,957,  $p = 0,174$ ).

Tyto výsledky jsou shrnuty v tabulce 1.

**Tabulka 1: Hibernace a reprodukční úspěšnost královen *Bombus terrestris***

Délka hibernace	Počet zazimovaných královen	Královny přeživší hibernaci (%)	Spářené královny (%)	První buňka (%)	Hnízda produkující nové královny (%)	Průměrný počet nových královen
4 měsíce	56	82.1 (n=46)	82.6 (n=38)	84.2 (n=32)	39.5 (n=15)	59.8 ± 33.4
7 měsíců	88	81.8 (n=72)	77.8 (n=56)	80,4 (n=45)	25 (n=14)	47 ± 42

### Diskuse

Náš experiment byl inspirován pozorováním Ptáčka (osobní sdělení), který na jaře 80. let stimuloval královnu čmeláka skalního (*Bombus lapidarius*, Linnaeus, 1758) pomocí Bilinského metody (Bilinski 1977). V uzavřené kleci pozoroval královnu, která vychovala samce a poté se spářila s jedním z nich. Osud této královny, která se spářila se svým synem, není znám.

Toto pozorování z 80. let zdůrazňuje několik klíčových bodů. Zaprvé, že panenská královna může přežít hibernaci a následně založit hnízdo. Zadruhé, že královna se může spářit po hibernaci (dokonce i poté, co již nakladla vajíčka). A zatřetí, že je schopná páření se svým vlastním synem.

Schopnost panenských královen přežít hibernaci a poté klást neoplozená vajíčka, z nichž se vyvíjejí samci, je známa již delší dobu (Cumber 1959; Milliron 1960; Alford 1975; Amsalem et al., 2015). V přírodě jsou však tyto královny odsouzeny k reprodukčnímu neúspěchu, protože nejsou schopny vychovat dělnice a malý počet samců, které zvládnou vyprodukovat, má jen malou šanci předat své geny. Páření mezi samci a jejich matkou, jak to pozoroval Ptáček v uzavřeném prostředí, se ve volné přírodě jeví jako velmi nepravděpodobné. Na jaře se královny soustředí především na založení hnízda a péči o něj a obvykle se v této době nepouštějí do pářících letů. Navíc si čmeláci vyvinuli několik mechanismů k zabránění inbreedingu. Po vylíhnutí samci obvykle opouštějí mateřské hnízdo a hledají příležitosti k páření v odlehlých

lokalitách, čímž se snižuje pravděpodobnost páření s příbuznými jedinci (Goulson 2010). Samci čmeláků navíc dokáží rozeznat geneticky odlišné královny prostřednictvím chemických signálů, což jim umožňuje vyhnout se páření s příbuznými (Valterová et al., 2019).

Zcela jedinečným jevem je páření královny poté, co již nakladla vajíčka. Páření během snůškového období je známo u některých blanokřídlých, například u druhu *Melittobia acasta* (Eulophidae) (Walker, 1839), kde bylo popsáno také páření s potomky (Balfour Browne, 1922). V nadčeledi Apoidea je však toto chování zcela atypické.

V našem experimentu jsme se zaměřili na druhý aspekt tohoto pozorování a potvrdili jsme, že u čmeláka zemního (*Bombus terrestris*) je možné obrátit fáze páření a hibernace.

Panenské královny v našem experimentu vykázaly vysokou míru přežití během hibernace, což je v souladu se zjištěními Greeff a Schmid-Hempel (2008) a Bogo et al. (2017), a to i po prodloužené sedmiměsíční hibernaci. Podíl úspěšného páření po hibernaci (82,6 % a 77,7 %) odpovídá úspěšnosti páření v přirozeném cyklu před hibernací (62,7–93,3 %) (Kwon et al., 2006; Amin et al., 2010; Gosterit, 2016) a rovněž odpovídá výsledkům páření *Bombus terrestris* v naší laboratoři za přirozených podmínek (nepublikovaná data).

Jediným faktorem, který jsme zaznamenali jako negativně ovlivněný délkou hibernace, byla schopnost hnízď vychovávat nové královny; rozdíl však nebyl statisticky významný.

Výzkumy ukázaly, že prodloužená hibernace vyčerpává energetické zásoby, což může negativně ovlivnit reprodukční úspěšnost královen a snížit celkovou úspěšnost kolonie (Gosterit & Gurel, 2009). Je proto pravděpodobné, že tento trend pozorujeme i zde. Zaznamenali jsme také značné rozdíly mezi jednotlivými hnízďy v počtu nových královen (3–146). Ačkoli jsme v našem experimentu nehodnotili další parametry hnízď, jako je počet dělnic, rychlost či délka vývoje, zdá se, že počet nově vychovaných královen je dostatečný k zajištění reprodukčního úspěchu královen, které se spářily až po hibernaci.

Je nepravděpodobné, že by se fáze páření a hibernace v přírodě běžně obracely, vzhledem k evolučním bariérám, které upřednostňují přirozený sled. Nicméně s ohledem na vysokou míru přežití panenských královen během hibernace a jejich schopnost produkovat na jaře samce nemůžeme tuto možnost zcela vyloučit.

Naše výsledky by však mohly mít významný přínos pro laboratorní chovy a ochránářské programy vzácných druhů čmeláků. Zejména v malých chovných populacích mohou nastat situace, kdy nejsou k dispozici vhodné nepřibuzní samci pro právě vylíhlé královny. Opožděné páření po hibernaci poskytuje dostatek času k odchovu hnízď se samci vhodného genotypu.

## Závěr

Studie ukázala, že čmeláci královny *Bombus terrestris* lze úspěšně pářit až po hibernaci, přičemž míra přežití i úspěšnost páření zůstávají vysoké. Delší hibernace měla jen mírný vliv na schopnost hnízd vyprodukovat nové královny. Odložené páření lze proto považovat za perspektivní metodu v laboratorním chovu i ochraně čmeláků. Tento postup může být obzvlášť užitečný tam, kde je obtížné zajistit nepříbuzné trubce v době před zimováním.

## Literatura

- Alford, D. V. (1969). A study of the hibernation of bumblebees (Hymenoptera: Bombidae) in southern England. *Journal of Animal Ecology*, 38, 149-170.
- Alford, D. V. (1975). *Bumblebees*. Davis-Poynter, London.
- Amsalem, E., Grozinger, C. M., Padilla, M., & Hefetz, A. (2015). Bumble bee sociobiology: The physiological and genomic bases of bumble bee social behaviour. *Advances in Insect Physiology*, 48, 37-93.
- Amin, M. R., Aktar, M. H., & Iqbal, J. (2010). Mating status of bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) with notes on ambient temperature, age, and virginity. *Journal of Apicultural Research*, 59(3), 344-352.
- Balfour Browne, F. (1922). On the life-history of *Melittobia acasta* (Walker), a chalcid parasite of bees and wasps. *Parasitology*, 14(3), 349-370.
- Bilinski, M. (1977). Method for rearing bumblebees in cages. *Bee Research Copies*, 21, 237-243.
- Bogo, G., de Manincor, N., Fisogni, A., & others. (2017). Effects of queen mating status, pre-diapause weight, and pupae's sex on colony initiation in small-scale rearing of *Bombus terrestris*. *Apidologie*, 48, 845-854.
- Cumber, R. A. (1959). Some aspects of the biology and ecology of bumblebees bearing upon the yields of red-clover seed in New Zealand. *N. Z. Journal of Science and Technology*, 34, 227-240.
- Duchateau, M. J. (2000). Biological aspects of rearing bumblebees for pollination. In: Sommeijer, M. J., & de Ruijter, A. (Eds.), *Insect pollination in greenhouse*. Royal Library, Den Haag, 25-29.
- Eickwort, G. C., & Ginsberg, H. S. (1980). Foraging and mating behavior in Apoidea. *Annual Review of Entomology*, 25, 421-446.
- Goulson, D. (2010). *Bumblebees: Behaviour, Ecology, and Conservation*. Oxford University Press.
- Gosterit, A., & Gurel, F. (2009). Effect of different diapause regimes on survival and colony development in the bumble bee, *Bombus terrestris*. *Journal of Apicultural Research*, 48(4), 279-283.
- Gosterit, A. (2016). Adverse effects of inbreeding on colony foundation success in bumblebees *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). *Applied Entomology and Zoology*, 51(4), 521-526.
- Greff, M., & Schmid-Hempel, P. (2008). Sperm reduces female longevity and increases melanization of the spermatheca in the bumblebee *Bombus terrestris* L. *Insectes Sociaux*, 55, 313-319.
- Kwon, Y. J., Amin, M. R., & Suh, S. J. (2006). Mating propensity of *Bombus terrestris* reared in different photoperiodic regimes. *Apidologie*, 37(6), 679-686.
- Milliron, H. E. (1960). A successful method for artificially hibernating *Megabombus fervidus* and notes on related species (Hymenoptera: Apidae: Bombinae). *Canadian Entomologist*, 99, 1321-1332.

**Poděkování**

Práce byla podpořena Ministerstvem zemědělství ČR, projekt č. MZE-RO1725 a mým manželem Janem Votavou.

**Kontaktní adresa**

Mgr. Alena Votavová, Ph.D.  
Zemědělský výzkum spol. s r. o.  
Zahradní 1, 664 41 Troubsko  
547 138 809, [votavova@vupt.cz](mailto:votavova@vupt.cz)

## Vývoj sady SSR markerů pro genotypování hrušně obecné (*Pyrus communis* L.) v jedné reakci

Development of an SSR Marker Set for Genotyping European Pear (*Pyrus communis* L.) in a Single Reaction

Žďárská I., Čmejlová J.

VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s.r.o.

### Abstrakt

Hrušeň obecná (*Pyrus communis* L.) je hospodářsky významný druh s širokou odrůdovou variabilitou. Pro spolehlivou identifikaci a ochranu genetických zdrojů je nezbytné používat přesné metody jako vhodný doplněk tradičně používaných testů založených na fenotypu, které mohou být časově náročné a ovlivněné vnějšími podmínkami. Genotypizace pomocí mikrosatelitních neboli SSR markerů představuje moderní, rychlý a vysoce spolehlivý nástroj pro ověřování odrůdové identity. Poskytuje přesné rozlišení jednotlivých odrůd nezávisle na stáří rostliny, jejím zdravotním stavu nebo plodnosti. V rámci této studie byla navržena nová sada SSR markerů, která umožňuje současnou amplifikaci všech cílových lokusů v jediné PCR reakci. Sada byla optimalizována pro vysokou rozlišovací schopnost, reprodukovatelnost a praktické využití v rutinní laboratorní praxi.

**Klíčová slova:** mikrosatelity, DNA fingerprinting, identifikace odrůd, fragmentační analýza, genetická diverzita

### Abstract

European pear (*Pyrus communis* L.) is an economically important species characterized by broad varietal diversity. For reliable identification and protection of genetic resources, it is essential to use precise methods as a suitable complement to traditionally used tests based on a phenotype, which may be time-consuming and influenced by environmental conditions. Genotyping using microsatellite (SSR) markers offers a modern, rapid, and highly reliable tool for verifying varietal identity. It enables accurate distinguishing of individual cultivars regardless of plant age, health status, or fertility. In this study, a new set of SSR markers was designed, allowing simultaneous amplification of all target loci in a single PCR reaction. The set was optimized for high discriminatory power, reproducibility, and practical application in routine laboratory practice.

**Keywords:** microsatellites, DNA fingerprinting, cultivar identification, fragmentation analysis, genetic diversity

### Úvod

Hrušeň (*Pyrus* spp.) se řadí mezi celosvětově nejvýznamnější ovocné druhy, je ceněná pro svou chuť, výživovou hodnotu, skladovací možnosti a bohatou odrůdovou variabilitu. S globální produkcí přesahující 26,5 milionu tun v roce 2023 zaujímá hrušeň dvanácté místo mezi nejpěstovanějším ovocem (Statista; FAOSTAT). Odhaduje se, že existuje více než 3 000 odrůd hrušní (Elzebroek a Wind 2008), a jejich šlechtění pokračuje s ohledem na měnící se požadavky a preference. Rod *Pyrus* je součástí čeledi *Rosaceae* a zahrnuje přes 20 druhů, které můžeme rozdělit na západní (evropskou) skupinu, kam patří hrušeň obecná (*P. communis*), a východní (asijskou) skupinu, kterou reprezentují například druhy *P. pyrifolia*, *P. bretschneideri* a *P. ussuriensis* (Fischer 2009; Li et al. 2022). Tyto skupiny se vyvinuly odděleně a vykazují značné morfologické a genetické rozdíly. Dají se dobře rozlišit i na základě vzhledu a chuťových vlastností, kdy evropské hrušky mají protáhlý tvar, máslovou a šťavnatou dužninu s charakteristickou chutí a vůní a asijské hrušky mívají zaoblený tvar a křupavou, granulovanou dužninu (Silva et al. 2014). Hrušeň obecná může být diploidní ( $2n = 34$ , většina komerčně pěstovaných odrůd) nebo triploidní ( $3n = 51$ ), jako například odrůda 'Lucasova'.

Správná identifikace odrůd ovocných dřevin je stěžejní ve všech fázích rostlinné produkce, zejména u dlouhověkých výsad, které představují významnou investici. V České republice

se pro určování odrůd tradičně používají tzv. DUS testy (Distinctness, Uniformity, Stability) sledující fenotypické a fenologické znaky po minimálně dvě vegetační období, avšak jejich výsledek závisí na zkušenosti posuzovatele a vnějších faktorech. Moderním a vysoce spolehlivým řešením pro přesné ověření identity jsou molekulárně genetické metody, např. genotypizace pomocí mikrosatelitních neboli SSR markerů (Simple Sequence Repeats). Ty jsou vysoce polymorfní a snadno reprodukovatelné a přenositelné mezi laboratořemi.

Pro potřeby genotypování hrušní bylo vyvinuto několik sad SSR markerů, z různých důvodů je však vhodné je modernizovat. Jako první sestavil genotypizační sadu Evans et al. (2009) v rámci evropského konsorcia ECPGR (The European Cooperative Programme for Plant Genetic Resources), kdy tato sada obsahovala 17 SSR markerů s dinukleotidovou repeticí. 12 SSR markerů bylo amplifikováno ve třech multiplexech po čtyřech lokusech, zbylé byly analyzovány jednotlivě. Ačkoli tato sada dosahovala vysoké heterozygotnosti (0,81), byla technicky náročná na provedení i vyhodnocení, rovněž cena za analýzu jednoho genotypu byla vysoká. Proto byly v další sadě vynechány všechny SSR markery amplifikované jednotlivě a bylo zachováno pouze 12 SSR markerů amplifikovaných ve 3 multiplexech za cenu snížení rozlišovací schopnosti celé sady (Evans et al. 2015). Další genotypizační sadu vyvinul Zurn et al. (2020) v rámci protokolu USPGR (Uniform Standards for the Protection of Plant Genetic Resources), ta využívá 10 SSR markerů, některé s delšími repetitivními sekvencemi (až 8 bp), které jsou stabilnější a méně náchylné na nespecifitu. Tyto markery však vykazovaly nižší heterozygotnost (0,60). Výhodou této USPGR sady je amplifikace v jedné multiplexní reakci. Cílem této práce byl vývoj zcela nové sady SSR markerů, která by kombinovala výhody obou přístupů – obsahovala by 17 vysoce polymorfních SSR markerů, kdy z každého chromozómu by byl zahrnut 1 SSR marker, záměrem bylo i multiplexování celé sady do jediné reakce, aby byla výrazně zvýšena efektivita, přesnost i dostupnost molekulární identifikace pro rutinní laboratorní použití. Ačkoli bylo cílem primárně navrhnout sadu pro genotypování hrušně obecné (*Pyrus communis*), byla tato sada testována i na asijských druzích hrušní, popřípadě jejich křížencích s hrušní obecnou.

### **Materiál a metody**

Pro analýzy bylo využito 265 hrušní z genofondové sbírky VŠÚO. DNA byla izolována ze 100 mg listů, popřípadě z lýka soupravou Exgene™ Plant SV (GeneAll Biotechnology), a to dle pokynů výrobce. Koncentrace a kvalita DNA byly stanoveny spektrofotometrem NanoDrop Lite (Thermo Fisher Scientific) a DNA byla naředěna na 10 ng/μl.

Celkově bylo otestováno 67 SSR markerů, nejprve *in silico*. U některých markerů byly PCR primery pro jejich amplifikaci převzaty z původních publikací, avšak u většiny markerů byly primery nově navrženy podle potřeby délky amplifikovaného fragmentu (software Geneious Prime® verze 2024.0 (GraphPad Software LLC)), aby mohla v budoucnu probíhat analýza v jediné reakci s jasným přiřazením jednotlivých alel ke konkrétním SSR markerům. Pro prvotní pokusy byla použita sada 18 diploidních genotypů nepříbuzných odrůd *Pyrus communis*, kdy byla testována účinnost PCR amplifikace za použití PCR protokolu: 5 μl Phusion Flash High-Fidelity PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific), 1 μl premixu primerů (výsledná koncentrace každého primeru byla 0,2 μM, jeden z nich fluorescenčně značený pomocí 6-FAM), 2 μl DNA (10 ng/μl) a voda do objemu 10 μl. PCR byla provedena na PCR cykleru C1000 (Bio-Rad) s použitím teplotního profilu: 98 °C/1 min; 22x (98 °C/10 s; 58 °C/10 s; 72 °C/30 s); finální extenze 72 °C/30 s. Následně byl 1 μl PCR produktu smíchán s 15 μl Hi-Di Formamidem a 0,5 μl velikostního markeru GeneScan 600 LIZ Size Standard v2.0 (obojí Thermo Fisher Scientific). Vzorky byly 2 minuty denaturovány při 95 °C a analyzovány na genetickém analyzátoru 3500 (Thermo Fisher Scientific). Výsledky byly vyhodnoceny v softwaru GeneMapper v5 (Thermo Fisher Scientific). V případě slabého nebo žádného signálu byly přidány dva až tři PCR cykly, nebo byla až 3x zvýšena koncentrace primerů.

Poté byla vyhodnocena následující kritéria: (i) žádná nebo velmi neefektivní amplifikace i po zvýšení koncentrace primerů a počtů PCR cyklů; (ii) nízká heterogenita (malý počet alel, případně velký počet homozygotů); (iii) více než dva fragmenty pozorované v testovaném diploidním genotypu; (iv) výskyt alel lišících se o méně než 1,0 nukleotidu, což komplikuje nastavení binů v softwaru GeneMapper. Splnění jakéhokoliv z těchto kritérií vedlo k vyřazení daného SSR markeru z dalších analýz.

Ostatní SSR markery byly analyzovány na dalších 48 odrůdách hrušní a výsledky byly statisticky zhodnoceny. Pro každý marker byly vypočítány následující parametry: počet alel, počet vzácných alel (s výskytem pod 5 %), frekvence alel, velikost nejkratší a nejdelší alely, počet efektivních alel, pravděpodobnost nulových alel, očekávaná a pozorovaná heterozygotnost a byly opět vytypovány markery s výskytem alel s rozdílem menším než 1,0 nukleotidu. Pro vyhodnocení genetické diverzity markerů a stanovení frekvencí jednotlivých alel v populaci byl použit software POLYGENE v1.7 (Huang et al. 2019).

Na základě těchto kritérií byly vybrány nejlepší kandidátní markery pro sestavení multiplexní reakce. Za tímto účelem byly příslušné primery značeny pomocí 6-FAM, VIC, NED nebo PET a koncentrace primerů v multiplexní reakci byly upraveny tak, aby bylo dosaženo srovnatelných výšek signálu pro všechny markery. Finální multiplexní PCR reakce byla prováděna za stejných podmínek, jako je uvedeno výše, pouze bylo použito 24 PCR cyklů místo 22. Pokud byly identifikovány alely s nízkým signálem, což naznačuje možnou mutaci v oblasti navázání primerů, byly navrženy sekvenční primery obklopující amplifikovaný fragment tak, aby bylo možné zkontrolovat komplementární sekvence primerů. Po separaci fragmentů na agarózovém gelu byly příslušné oblasti gelu vyříznuty a DNA purifikována pomocí soupravy GeneAll Expin Combo GP (GeneAll Biotechnology). Sekvenční reakce byla provedena pomocí BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific), a to podle pokynů výrobce. Vzorok se poté analyzovaly na genetickém analyzátoru GA3500 (Thermo Fisher Scientific). V případě identifikované mutace pod primerem byly navrženy nové degenerované primery a markery znovu otestovány v multiplexní reakci. Funkčnost vybrané sady sedmnácti SSR markerů byla ověřena na 230 unikátních diploidních a rovněž na 35 unikátních triploidních genotypech. Opět byla vyhodnocena genetická diverzita markerů, byly stanoveny frekvence výskytu jednotlivých alel a nakonec byla vypočítána pravděpodobnost náhodné identity dvou nepříbuzných vzorků této sady SSR markerů (Ayres a Overall 2004).

## Výsledky

Bylo otestováno 67 dříve publikovaných SSR markerů, většina z nich byla původně vyvinuta u blízce příbuzné jabloně domácí (*Malus × domestica* Borkh.). 11 markerů bylo testováno pouze *in silico* a vyřazeno ještě před samotnou laboratorní analýzou. Hlavním důvodem vyřazení byl jejich multilokusový výskyt (markery CH02c02a, CH03h03, CH03d01, CH03g12, TsuENH025), dalším důvodem byla skutečnost, že již na základě literatury byl marker málo polymorfní (TsuENH046, NAUpy40d), případně se marker nepovedlo lokalizovat v hrušňovém genomu (CH02b07, CH03a09, RLG1-1, CH05c04). Pro první testování byla použita sada jablečných SSR markerů amplifikovaných v jednom multiplexu (Cmejlova et al. 2021), které bylo zaměřeno na schopnost efektivně amplifikovat každý marker u všech testovaných hrušňových genotypů. Z této sady markerů byly do finální sady pro genotypování hrušní vybrány dva markery i s původně navrženými primery, a to markery CH04e05\_a a CH01h10\_a. Následně byly testovány další markery a vyhodnoceny podle kritérií uvedených v oddíle Materiál a metody (tabulka 1).

**Tabulka 1.** Seznam testovaných markerů, které byly vyloučeny z dalších analýz včetně důvodu jejich vyřazení. LG – vazebná skupina/chromozóm.

Marker	LG	Příčina vyřazení	Zdroj
Hi02c07	1	nízká heterozygotnost	Silfverberg-Dilworth et al. 2006
CH_Vf1	1	některé alely mají velmi nízký signál – sekvenováním neobjevena mutace	Vinatzer et al. 2004
CH05g08	1	nízká heterozygotnost	Liebhard et al. 2002
NH013a	1	u některých vzorků se neamplifikuje	
CH02c06	2	nízká heterozygotnost	Gianfranceschi et al. 1998
CH05e03	2	u některých vzorků se neamplifikuje	
CH02b10	2	rozdíl mezi některými alelami menší než 1 nukleotid	Gianfranceschi et al. 1998
CH03d10	2	dobry marker, problematické navrzení primerů pro požadovanou délku alel	Liebhard et al. 2002
GD12	3	nulová amplifikace	Hokanson et al. 1998
CH03g07	3	velmi nízký signál i přes zvýšení koncentrace primerů	Liebhard et al. 2002
NZ01a6	4	nulová amplifikace	Guilford et al. 1997
CH05f06	5	rozdíl mezi některými alelami menší než 1 nukleotid	Liebhard et al. 2002
NB103a	5	nízká heterozygotnost; u některých vzorků se neamplifikuje	Yamamoto et al. 2002
CH04e03	5	málo polymorfní; rozdíl mezi některými alelami menší než 1 nukleotid	Liebhard et al. 2002
CH03d07	6	nulová amplifikace	Liebhard et al. 2002
CH03d12	6	málo polymorfní; rozdíl mezi některými alelami menší než 1 nukleotid	Liebhard et al. 2002
CH01f03b	9	u některých vzorků se špatně amplifikuje	Liebhard et al. 2002
NH029a	9	rozdíl mezi některými alelami menší než 1 nukleotid	Yamamoto et al. 2002
CH05c07	9	nulová amplifikace	Liebhard et al. 2002
CH01h02	9	rozdíl mezi některými alelami menší než 1 nukleotid	Gianfranceschi et al. 1998
GD142	9	rozdíl mezi některými alelami menší než 1 nukleotid	Hokanson et al. 1998
CH02c11	10	u některých vzorků se špatně amplifikuje; rozdíl mezi některými alelami menší než 1 nukleotid	Liebhard et al. 2002
CH01f07a	10	rozdíl mezi některými alelami menší než 1 nukleotid	Liebhard et al. 2002
CH01f12	10	nízká heterozygotnost	Liebhard et al. 2002
CH02a10	10	nízká heterozygotnost	Liebhard et al. 2002
CH03d11	10	nízká heterozygotnost	Liebhard et al. 2002
CH02d08	11	nízká heterozygotnost	Liebhard et al. 2002
EMPe11	11	velmi nízký signál i přes zvýšení koncentrace primerů	Fernandez-Fernandez et al. 2006
CH01f02	12	nulová amplifikace	Gianfranceschi et al. 1998
GD147	13	nízká heterozygotnost	Hokanson et al. 1998
CH03a08	13	rozdíl mezi některými alelami menší než 1 nukleotid	Liebhard et al. 2002
CH05f04	13	některé alely mají velmi nízký signál – sekvenováním neobjevena mutace	Liebhard et al. 2002
NH009b	13	nízká heterozygotnost; u diploidů pozorovány 3 alely	Yamamoto et al. 2002
CH04c07	14	nízká heterozygotnost; u některých vzorků se špatně amplifikuje	Liebhard et al. 2002
CH02c09	15	nízká heterozygotnost; rozdíl mezi některými alelami menší než 1 nukleotid	Liebhard et al. 2002

CH01d08	15	rozdíl mezi některými alelami menší než 1 nukleotid	Liebhard et al. 2002
CH05e04	16	nízká heterozygotnost; u některých vzorků se špatně amplifikuje	Liebhard et al. 2002
CH01h01	17	nízká heterozygotnost	Gianfranceschi et al. 1998
TsuENH080	17	nízká heterozygotnost	Nishitani et al. 2009

Nakonec bylo vybráno 17 markerů, kdy z každého hrušňového chromozómu byl vybrán jeden marker (tabulka 2). Z těchto 17 markerů jsou čtyři markery ponechány z doporučené genotypizační sady pro hrušně mezinárodního uskupení ECPGR, a to markery NZ05g8, CH01d09, CH05c06 a GD96 (Evans et al. 2009). Všechny 17 vybraných SSR markerů bylo zmultiplexováno do jedné PCR reakce a byla optimalizována koncentrace každého primeru, aby se dosáhlo přibližně stejné výšky signálu pro alely ve všech markerech (barevné značení, pozorování délka a počet alel a původní zdroje všech SSR markerů jsou uvedeny v tabulce 2).

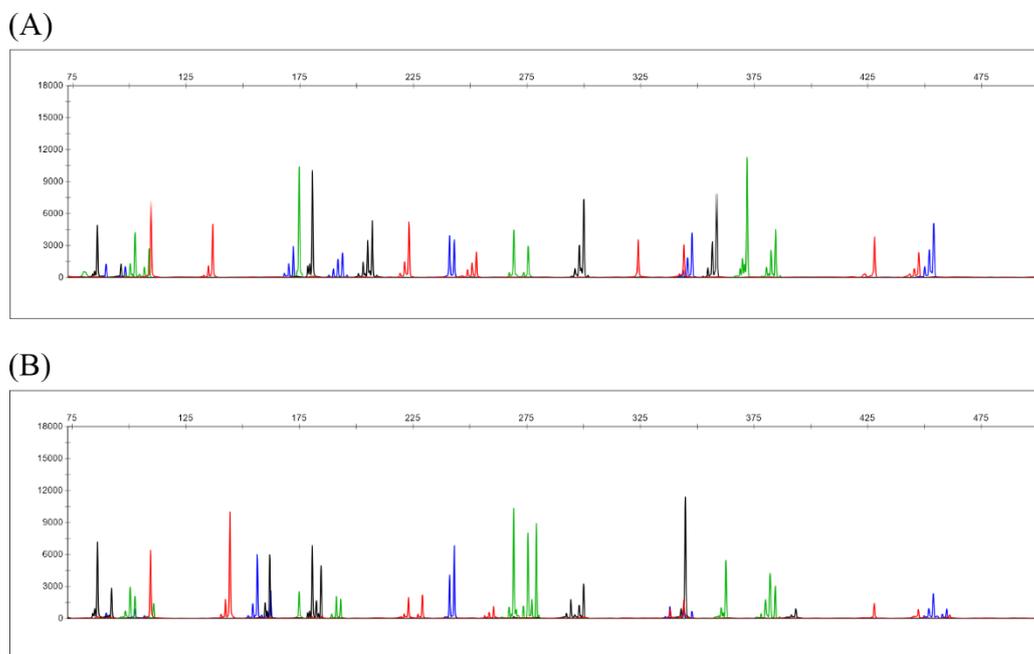
Tabulka 2. Charakteristika multiplexu SSR markerů pro genotypování hrušně domácí v jediné reakci. LG – vazebná skupina/chromozóm, An – počet různých pozorovaných alel u diploidních i triploidních odrůd. Koncovka názvu markeru „\_a“ znamená, že byl pro amplifikaci použit alespoň jeden primer navržený v jiné než originální pozici, tj. délka alely amplifikované původními primery se liší od délky téže alely amplifikované v tomto multiplexu. Jedná se však o amplifikaci téhož polymorfního místa genomu.

Marker	LG	Značení	Délka alel (nukleotidy)	An	Primární zdroj SSR markeru
CH02b03b_a	10	6-FAM	81–127	17	Liebhard et al. 2002
CH05d03	14	6-FAM	142–194	19	Liebhard et al. 2002
NZ05g8_a	4	6-FAM	241–272	9	Guilford et al. 1997
CH05a05_a	6	6-FAM	304–358	17	Liebhard et al. 2002
NB106a_a	9	6-FAM	423–506	23	Yamamoto et al. 2002
CH05c06	16	NED	82–119	13	Liebhard et al. 2002
GD96_a	17	NED	151–207	16	Hokanson et al. 1998
CH01d09_a	12	NED	269–320	26	Liebhard et al. 2002
CH05e06_a	5	NED	343–409	27	Liebhard et al. 2002
NB105a_a	11	PET	110–146	16	Yamamoto et al. 2002
NB109a_a	3	PET	196–278	26	Yamamoto et al. 2002
TsuENH003_a	1	PET	318–346	15	Nishitani et al. 2009
NH021a_a	13	PET	428–463	20	Yamamoto et al. 2002
CH01h10_a	8	VIC	85–125	15	Liebhard et al. 2002
CH04e05_a	7	VIC	175–222	24	Liebhard et al. 2002
CH02d11_a	15	VIC	254–303	23	Gianfranceschi et al. 1998
CH02f06_a	2	VIC	358–413	20	Liebhard et al. 2002

Pro nově sestavenou sadu 17 SSR markerů pro genotypizaci hrušně byly na základě analýzy 230 identifikovaných unikátních diploidních genotypů statisticky vyhodnoceny parametry charakterizující genotypizační potenciál. Průměrný počet alel pro celou sadu je 18, průměrná pozorovaná heterozygotnost ( $H_o$ ) je 0,846, průměrná očekávaná heterozygotnost ( $H_e$ ) je 0,822, průměrný polymorfni informační obsah (PIC) je 0,802 a průměrný počet efektivních alel pro sadu je 6. Pravděpodobnost náhodné identity dvou nepříbuzných vzorků této sady SSR markerů dosáhla hodnoty  $4,8 \times 10^{-24}$ .

Celá reakce probíhá v jedné multiplexní reakci a výsledkem fragmentační analýzy je elektroforeogram, na základě kterého je možné rozlišit jednotlivé odrůdy s velmi vysokou přesností. Výsledné ukázkové elektroforeogramy pro diploidní odrůdu 'Konference' a triploidní

odrůdu 'Lucasova' jsou uvedeny na obrázku 1. Pomocí této sady však není možné rozlišení jednotlivých klonů nebo mutací v rámci jedné odrůdy. Primárně je tato sada markerů navržena pro identifikaci hrušně obecné (*Pyrus communis*), avšak je možné její využití rovněž při identifikaci asijských hrušní, případně hybridů hrušně obecné s jiným druhem. V tomto případě je však nutné vzít na vědomí možnost absence amplifikace některých markerů, výskyt nulových alel, případně výskyt zcela nových alel.



**Obrázek 1.** Příklady výsledných elektroforeogramů pro diploidní odrůdu 'Konference' (A) a triploidní odrůdu 'Lucasova' (B).

## Diskuze

Hlavním cílem této studie bylo výrazně zjednodušit a zlevnit laboratorní postupy pro genotypizaci hrušně obecné (*Pyrus communis* L.), avšak se zachováním vysoké rozlišovací schopnosti. Za tímto účelem byla navržena nová sada SSR markerů umožňující amplifikaci všech příslušných lokusů v jediné reakci. Multiplexní formát výrazně snižuje časovou náročnost, náklady i riziko technických a lidských chyb. Výběr SSR markerů do nové sady vycházel z předchozích studií zaměřených na evropské i asijské hrušně (Yamamoto et al. 2002, Nishitani et al. 2009), a rovněž na jabloně, které jsou s hrušněmi blízce příbuzné (Liebhard et al. 2002; Cmejlova et al. 2021), přičemž byl kladen důraz na pokrytí všech chromozómů a zahrnutí původních markerů doporučených ECPGR (Evans et al. 2009). V případech, kdy byly některé markery označeny jako problematické (především z důvodu špatné amplifikace nebo nízké polymorfie), byly nahrazeny alternativami s lepšími charakteristikami. Sada tak byla rozšířena o několik markerů ověřených v předchozích studiích (Sehic et al. 2012, Urrestarazu et al. 2015, Pavlenko et al. 2022), čímž bylo dosaženo komplexního pokrytí genomu. Finální sada markerů byla ověřena na 265 unikátních genotypech.

V kontextu dosavadních genotypizačních přístupů pro hrušně obecnou představuje námi vyvinutá multiplexní SSR sada významný pokrok jak z hlediska technické proveditelnosti, tak z pohledu rozlišovací schopnosti. Zatímco původní ECPGR sada (Evans et al. 2009) se 17 dinukleotidovými markery dosahovala vysoké heterozygotnosti (0,81), její použití bylo technicky náročné a vyžadovalo tři multiplexní PCR reakce po 4 markerech, zbylé markery byly analyzovány jednotlivě. Naopak USPGR sada (Zurn et al. 2020) zjednodušila laboratorní protokol na jedinou multiplexní reakci, avšak za cenu nižší heterozygotnosti (0,60). Nově

navržená sada SSR markerů kombinuje výhody obou přístupů – zahrnuje 17 vysoce polymorfních markerů pokrývajících celý genom rodu *Pyrus*, dosahuje mimořádně vysoké heterozygotnosti (0,85) a velmi nízké pravděpodobnosti náhodné shody dvou genotypů ( $4,8 \times 10^{-24}$ ), přičemž umožňuje genotypizaci v jediné PCR reakci. Celková pravděpodobnost náhodné identity byla nižší než hodnoty uváděné u obdobných sad pro genotypizaci jabloní (Urrestarazu et al. 2016; Cmejlová et al. 2021), a dokonce nižší než u některých forenzních panelů používaných pro lidskou DNA (Green et al. 2013), což potvrzuje vysokou diskriminační schopnost naší nově sestavené sady pro hrušně. Ve srovnání s 70 K *Pyrus* Axiom™ SNP genotypizační platformou (Montanari et al. 2019), která vyžaduje nákladné vybavení a pokročilé znalosti bioinformatiky, nabízí vyvinutá sada SSR markerů srovnatelnou rozlišovací schopnost při výrazně nižších nákladech a vyšší dostupnost pro rutinní laboratorní programy. To umožňuje snížení ceny identifikace odrůd hrušní a použití genotypování i v rutinní zemědělské praxi, např. při produkci rozmnožovacího materiálu.

### Závěr

Byla vyvinuta souprava pro rutinní genotypizaci hrušně obecné (*Pyrus communis* L.) sestávající ze 17 SSR markerů. Díky multiplexnímu uspořádání v jedné reakci se výrazně snižují finanční náklady na analýzu, doba potřebná pro analýzu i možná chybovost. Tento nástroj je vhodný jak pro vědecké účely (např. správa genofondových sbírek či ověřování rodičovských kombinací při šlechtění hrušní), tak i pro rutinní zemědělskou praxi (kontrola produkčního řetězce materiálu pro výsadbu nových sadů – očka, rouby, matečnice, technické a prostorové izoláty, produkované stromky).

### Literatura

- Ayres, K. L., Overall, A. (2004) API-CALC 1.0: a computer program for calculating the average probability of identity allowing for substructure, inbreeding and the presence of close relatives. *Molecular Ecology Notes*. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00616.x>
- Cmejlova, J., Rejlova, M., Paprstein, F., Cmejla, R. (2021) A new one-tube reaction kit for the SSR genotyping of apple (*Malus × domestica* Borkh.) *Plant Sci* 303, 110768. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110768>
- Elzebroek, T., Wind, K. (2008). *Guide to cultivated plants*. CABI. ISBN 978-1-84593-356-2
- Evans, K.M., Fernández-Fernández, F., Govan, C. (2009) Harmonising fingerprinting protocols to allow comparisons between germplasm collections – *Pyrus*. *Acta Horti* 814, 103–106. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.814.10>
- Evans, K.M., Fernández-Fernández, F., Bassil, N., Nyberg, A., Postman J. (2015) Comparison of accessions from the uk and us national pear germplasm collections with a standardized set of microsatellite markers. *Acta Horti* 1094, 41-46. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1094.2>
- Fernandez-Fernandez, F., Harvey, N.G., James, C.M. (2006) Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers from European pear (*Pyrus communis*). *Mol Ecol Notes* 6(4), 1039–1041. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01422.x>
- Fischer, M. (2009) Pear breeding. In: *Breeding Plantation TreeCrops: Temperate Species* (Jain, S.M. and Priyadarshan, P.M., eds), str. 135–160, Springer. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-71203-1>
- Gianfranceschi, L., Seglias, N., Tarchini, R., Komjanc, M., Gessler, C. (1998) Simple sequence repeats for the genetic analysis of apple. *Theor Appl Genet* 96(8), 1069–1076. <https://doi.org/10.1007/s001220050841>
- Green, R.L., Legacé, R.E., Oldroyd, N.J., Hennessy, L.K., Mulero, J.J. (2013) Developmental validation of the AmpFℓSTR® NGM Select™ PCR Amplification Kit: A next-generation

- STR multiplex with the SE33 locus. *Forensic Sci Int Genet* 7, 41–51. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2012.05.012>
- Guilford, P., Prakash, S., Zhu, J., Rikkerink, E., Gardiner, S., Bassett, H., Forster, R. (1997) Microsatellites in *Malus × domestica* (apple): abundance, polymorphism and cultivar identification. *Theor Appl Genet* 94(2), 249–254. <https://doi.org/10.1007/s001220050407>
- Hokanson, S.C., Szewc-McFadden, A., Lamboy, W., McFerson, J.R. (1998) Microsatellite (SSR) markers reveal genetic identities, genetic diversity and relationships in a *Malus x domestica* Bork. core subset collection. *Theor Appl Genet* 97, 671–683. <https://doi.org/10.1007/s001220050943>
- Huang, K., Dunn, D., Ritland, K., Li, B. (2019) POLYGENE: Population genetics analyses for autopolyploids based on allelic phenotypes. *Methods in Ecology and Evolution*. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13338>
- Li, J., Zhang, M., Li, X., Khan, A., Kumar, S., Allan, A.C., Lin-Wang, K., Espley, R.V., Wang, C., Wang, R., Xue, C., Yao, G., Qin, M., Sun, M., Tegtmeier, R., Liu, H., Wei, W., Ming, M., Zhang, S., Zhao, K., Song, B., Ni, J., An, J., Korban, S.S., Wu, J. (2022) Pear genetics: Recent advances, new prospects, and a roadmap for the future. *Hortic Res* 9, uhab040. <https://doi.org/10.1093/hr/uhab040>
- Liebhart, R., Gianfranceschi, L., Koller, B., Ryder, C.D., Tarchini, R., Van De Weg, E., Gessler, C. (2002) Development and characterisation of 140 new microsatellites in apple (*Malus × domestica* Borkh.). *Mol Breed* 10(4), 217–241. <https://doi.org/10.1023/A:1020525906332>
- Montanari, S., Bianco, L., Allen, B.J., Martínez-García, P.J., Bassil, N.V., Postman, J., Knäbel, M., Kitson, B., Deng, C.H., Chagné, D., Crepeau, M.W., Langley, C.H., Evans, K., Dhingra, A., Troggio, M., Neale, D.B. (2019) Development of a highly efficient Axiom™ 70 K SNP array for *Pyrus* and evaluation for high-density mapping and germplasm characterization. *BMC Genomics* 20, 331. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5712-3>
- Nishitani, C., Terakami, S., Sawamura, Y., Takada, N., Yamamoto, T. (2009) Development of novel EST-SSR markers derived from Japanese pear (*Pyrus pyrifolia*). *Breed Sci* 59(4), 391–400. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.59.391>
- Pavlenko, A., Pikunova, A., Dolzhikova, M., Dolmatov, E. (2022) Using microsatellite markers to study the pear (*Pyrus*) germplasm from the VNIISPK collection. *BIO Web of Conferences* 47, 03001. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20224703001>
- Sehic, J., Garkava-Gustavsson, L., Fernández-Fernández, F., Nybom, H. (2012) Genetic diversity in a collection of European pear (*Pyrus communis*) cultivars determined with SSR markers chosen by ECPGR. *Sci Hortic* 145, 39–45. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.07.023>
- Silfverberg-Dilworth, E., Matasci, C.L., Van de Weg, W.E., Van Kaauwen, M.P.W., Walser, M., Kodde, L.P., Soglio, V., Gianfranceschi, L., Durel, C.E., Costa, E., Yamamoto, T., Koller, B., Gessler, C., Patocchi, A. (2006) Microsatellite markers spanning the apple (*Malus x domestica* Borkh.) genome. *Tree Genet Genomes* 2, 202–224. <https://doi.org/10.1007/s11295-006-0045-1>
- Silva, G.J., van Kaauwen, M.P.W., Walser, M., Kodde, L.P., Soglio, V., Gianfranceschi, L., Durel, C.E., Costa, F., Yamamoto, T., Koller, B., Gessler, C., Patocchi, A. (2014) Origin, Domestication, and Dispersing of Pear (*Pyrus* spp.). *Adv Agric*, 541097. <https://doi.org/10.1155/2014/541097>
- Urrestarazu, J., Royo, J.B., Santesteban, L.G., Miranda, C. (2015) Evaluating the influence of the microsatellite marker set on the genetic structure inferred in *Pyrus communis* L. *PLoS ONE* 10(9), e0138417. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138417>
- Vinatzer, B.A., Patocchi, A., Tartarini, S., Gianfranceschi, L., Sansavini, S., Gessler, C. (2004) Isolation of two microsatellite markers from BAC clones of the *Vf* scab resistance region and

- molecular characterization of scab-resistant accessions in *Malus* germplasm. *Plant Breed* 123, 321–326. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2004.00973.x>
- Yamamoto, T., Kimura, T., Shoda, M., Imai, T., Saito, T., Sawamura, Y., Kotobuki, K., Hayashi, T., Matsuta, N. (2002) Genetic linkage maps constructed by using an interspecific cross between Japanese and European pears. *Theor Appl Genet* 106(1), 9–18. <https://doi.org/10.1007/s00122-002-0966-5>
- Zurn, J.D., Nyberg, A., Montanari, S., Postman, J., Neale, D., Bassil, N. (2020). A new SSR fingerprinting set and its comparison to existing SSR-and SNP-based genotyping platforms to manage *Pyrus* germplasm resources. *Tree Genet Genomes* 16, 72. <https://doi.org/10.1007/s11295-020-01467-7>

### **Poděkování**

Práce vznikla za finanční podpory Národní agentury pro zemědělský výzkum Ministerstva zemědělství České republiky, číslo projektu QK22010268.

### **Kontakt:**

RNDr. Jana Čmejlová, Ph.D.

VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s.r.o.

Holovousy 129, 508 01 Holovousy

+420 733 424 518, [jana.cmejlova@vsuo.cz](mailto:jana.cmejlova@vsuo.cz)



## 2. Rostlinolékařství

### Vliv biofumigace na diverzitu mikroorganismů v porostu brambor

Effect of biofumigation on microbial diversity in potato crops

Alba-Mejía J.E.<sup>1</sup>, Holková L.<sup>1</sup>, Kmoch M.<sup>2</sup>, Jílková B.<sup>1</sup>, Neoralová M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně; <sup>2</sup>Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s. r. o.

#### Abstrakt

V této práci byl sledován vliv biofumigace na složení houbových mikroorganismů v půdě v experimentálních porostech brambor. Jako zdroj biologicky aktivních látek – glykosinulátů byly použity pokrutiny semen hořčice bílé (*Sinapis alba*), které byly zapraveny do půdy před vysázením brambor. Po sklizni bylo v půdě testováno zastoupení nejčastěji se vyskytujících rodů a skupin hub pomocí metody Illumina MiSeq. Statistické vyhodnocení získaných výsledků prokázalo vysoce průkazný vliv použité metody biofumigace na diverzitu mykobiomu v povrchové vrstvě půdy. Pokles četnosti výskytu, byl pozorován zejména u rostlinných patogenů, zatímco saprofytické houby z velké části biofumigací negativně ovlivněny nebyly. Tento trend je jednoznačně pozitivní, neboť tím zůstávají zachovány procesy vedoucí k rozkladu organické hmoty, k recyklaci živin a k udržování rovnováhy ekosystémů.

**Klíčová slova:** Biofumigace, mikrobiom, diverzita, *Sinapis alba*

#### Abstract

This study examined the effect of biofumigation on the composition of fungal microorganisms in the soil of experimental potato crops. White mustard seed meal (*Sinapis alba*) was used as a source of biologically active substances – glucosinolates – and was incorporated into the soil before sowing potatoes. After harvesting, the representation of the most common genera and groups of fungi in the soil was analysed using the Illumina MiSeq method. Statistical evaluation of the results obtained showed a highly significant effect of the biofumigation method used on the diversity of the mycobiome in the soil surface layer. A decrease in frequency was observed mainly in plant pathogens, while saprophytic fungi were largely unaffected by biofumigation. This trend is clearly positive, as it preserves the processes leading to the decomposition of organic matter, nutrient recycling, and the maintenance of ecosystem balance.

**Keywords:** Biofumigation, microbiome, diversity, *Sinapis alba*

#### Úvod

Biofumigace je definována jako fyto-sanitární účinek rostlin obsahujících glukosinoláty (GSL) na půdní patogeny prostřednictvím těkavých sloučenin, zejména isothiokyanátů (ITC), uvolňovaných po hydrolýze GSL enzymem myrosinázou během narušení buněk v jejich pletivech a následném zapravení do půdy (Gimsing a Kirkegaard, 2009). Biofumigace je běžně spojována s rostlinami bohatými na glukosinoláty, zejména s rostlinami z čeledi brukvovitých (*Brassicaceae*). V rámci čeledi jsou pro biofumigaci nejčastěji používané druhy hořčice (*Brassica juncea* (L.) Czern.), rukola (*Eruca sativa* (L.) Mill.), ředkev setá (*Raphanus sativus* L.), hořčice bílá (*Sinapis alba* L.) a další (Ntalli a Caboni, 2017).

Při biofumigaci se rostliny nadrtí a zapracují do půdy, aby se dosáhlo přirozené produkce isothiokyanátů (Gimsing a Kirkegaard, 2009). Alternativně lze aplikovat semenný šrot (Temmen et al., 2023). Účinek biofumigace byl prokázán proti houbovým patogenům a oomycetám z rodů *Aphanomyces*, *Gaumannomyces*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia* a *Verticillium* (Motisi et al., 2010). ITC pozitivně ovlivňují složení rhizosférického

společenstva, potlačují půdní patogeny rostlin a zároveň mají omezený vliv na běžné prospěšné mikrobiální druhy, jako jsou *Trichoderma* spp. (Galletti et al., 2008).

Biofumigace se tedy stále častěji testuje nebo již využívá jako náhrada aplikace fungicidů. Jejich dlouhodobé používání, je nebezpečné nejen přímo pro životní prostředí, ale také zvyšuje riziko rezistence patogenů (Massi et al., 2021). Naše práce se zaměřila na testování možnosti biofumigace s využitím zbytků semen (pokrutin) hořčice bílé (*Sinapis alba*) pro zlepšení půdy, ve které se pěstují brambory. Biofumigační vlastnosti hořčice jsou dobře známé. Semena obsahují glukosinolát sinalbin (Lietzow, 2021).

Jednou z hlavních složek půdního mikrobiomu, který zahrnuje různé skupiny mikroorganismů obývajících agroekosystémy, je mykobiom. Součástí mykobiomu mohou být zástupci jak patogenního charakteru (rody *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Phytium*, *Phyophthora* aj.), tak půdě prospěšné druhy zejména saprofyty. Ty se podílejí na interakcích mezi rostlinami a půdou, napomáhají rozkladu organické hmoty a podporují dobrý zdravotní stav a výživu rostlin. Jejich přítomnost v hospodářsky využívaných půdách je nezbytná pro udržitelný rozvoj zemědělství (Fernandes et al., 2022).

Hodnocení složení a zastoupení mikroorganismů ve zvolených půdních ekosystémech nám umožňují metody metagenomiky, které na základě hromadného vyhodnocení relativně krátkých sekvencí v hypervariabilních oblastech genomu mikroorganismů (např. ITS, 16SRNA) umožňují studovat mikrobiální společenstva ve velkých vzorcích odebraných z daného prostředí přímo bez kultivace jednotlivých druhů (Sunagawa et al., 2013).

Cílem této práce bylo ověření vlivu biofumigačního účinku pokrutin hořčice bílé na zastoupení houbových mikroorganismů v půdě v porostu brambor.

## **Materiál a metody**

Maloparcelový polní experiment byl proveden na pozemku VS Valečov VÚB, s.r.o. Havlíčkův Brod. Součet aktivních teplot nad 10 °C (květen - září) byl 2 390, úhrn srážek (duben - září) byl 461 mm. Charakteristickým půdním typem pozemku je kambiálně-ledovcová, jílovitá, skládající se ze 17 % jílu a 46 % písku. pH půdy bylo 6,6.

Pokus byl proveden ve třech variantách: i) kontrolní varianta (K) - půda bez aplikace hořčičných semen, ii) biofumigace I. (F1) - drcená hořčičná semena byla aplikována do půdy v dávce 5 000 kg ha<sup>-1</sup> (0,5 kg m<sup>-2</sup>) a iii) biofumigace II. (F2) - drcená hořčičná semena byla aplikována do půdy v dávce 10 000 kg ha<sup>-1</sup> (1,0 kg m<sup>-2</sup>). Všechny experimentální varianty byly založeny ve třech opakováních. Velikost parcely: 4,5 x 9,3 m = 41,85 m<sup>2</sup> (6 řádků po 32 shlucích = 192 shluků).

Do takto ošetřené půdy byly 30. dubna 2024 vysazeny brambory. Během vegetačního období nebyla použita žádná mechanická kultivace porostu. Průměrné měsíční teploty od května do července byly vyšší než průměr pro danou lokalitu v roce 2024 a pohybovaly se od 14,4 °C (květen) do 18,2 °C (červen) a 19,8 °C (červenec). Měsíční srážkové úhrny za sledované období byly 98,4 mm, 43,8 mm a 99,3 mm. Měsíční srážkový úhrn za červen byl 43,8 mm, což je pouze 55,5 % normálu.

Devadesát dní po výsadbě byly z každého ošetření a opakování odebrány sumární vzorky půdy z hloubky 0 až 25 cm (každý sumární vzorek půdy se skládal z pěti náhodně vybraných dílčích vzorků). Pro izolaci DNA bylo od každé varianty ošetření 9 vzorků (3 vzorky od každého opakování). DNA byla izolována z 400 mg homogenizované zeminy pomocí kitu innuSPEED soil DNA Kit (Innuscreen GmbH, Berlin, Germany). DNA byla sekvencována v oblasti ITS1. Sekvencování a výsledky byly vyhodnoceny metodou Illumina MiSeq. Vlastní analýza i statistické vyhodnocení dat bylo provedeno firmou Novogene (UK) Company Limited. Výsledky jsou prezentovány formou grafů poměrného zastoupení sledovaných rodů a skupin hub a průkaznost výsledků byla ověřena testem podobnosti ANOSIM.

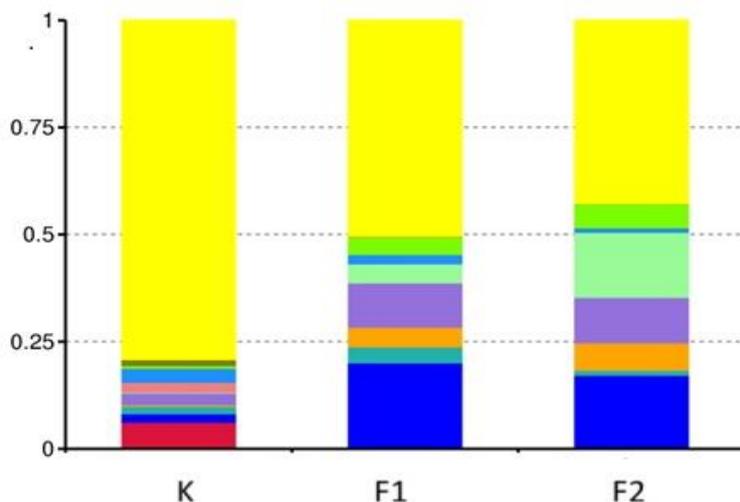
## Výsledky

Statistické vyhodnocení získaných výsledků prokázalo statisticky vysoce průkazný vliv použité metody biofumigace na diverzitu mykobiomu v povrchové vrstvě půdy u obou experimentálních variant (viz Tabulka 1).

Tabulka 1 Výsledky testu podobnosti mezi kontrolní testovanými variantami

Varianty	hodnota R	hodnota P
kontrola / F1	0,420	0,001
kontrola / F2	0,684	0,001
F1/F2	0,182	0,013

Hodnota R (viz Tabulka 1) se pohybuje mezi -1 a 1, kde kladná čísla dokazují větší podobnost v rámci variant než mezi variantami (kontrola/F1 a kontrola /F2) a hodnoty blízké nule říkají, že mezi variantami žádný rozdíl v podobnosti nebyl zaznamenán (F1/F2). I když v následujících grafech je možno pozorovat i zvyšující se účinek vyšší dávky pokrutin ve variantě F2, nebyly tyto rozdíly statisticky průkazné.



Obrázek 1 Poměrné zastoupení nejčastěji se vyskytujících rodů hub v půdách ošetřených biofumigací. K: kontrolní varianta bez ošetření, F1: půda s hořčičnými pokrutinami v dávce 0,5 kg m<sup>-2</sup>, F2: půda s hořčičnými pokrutinami v dávce 1 kg m<sup>-2</sup>. Barevné rozlišení je vysvětleno v následující tabulce 2.

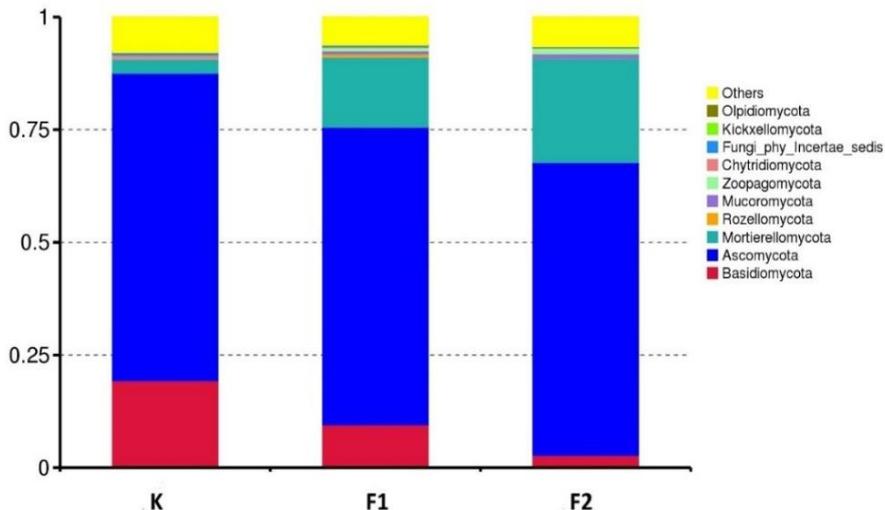
Tabulka 2 Rody hub, které se nejčastěji vyskytovaly v testovaných vzorcích půdy a jejich odezva na biofumigaci

Označení	Rod	Reakce na BF
Yellow	Ostatní	↓
Dark Green	Emericellopsis	↓
Light Green	Botryotrichum	↑
Blue	Verticillium	↓
Orange	Conocybe	↓
Light Green	Penicillium	↑
Pink	Fusarium	↑
Yellow	Linnemania	↑
Dark Green	Pseudogymnoascus	↗↘
Blue	Humicola	↑
Red	Beauvaria	↓

Z obrázku 1 je zřejmé, že četnost zastoupení rodů hub v půdě vlivem biofumigace klesala. Podíl rodů, které se vyskytovaly v nižších četnostech (žlutě označené – ostatní) klesl o 30-35 %.

Naopak četnost některých rodů hub v biofumigaci ošetřených variantách rostla. V tabulce 2 je uvedeno 10 nejčastěji se vyskytujících rodů a šipkami je naznačena jejich reakce na experimentální zásahy.

Rod *Beauveria* se řadí do oddělení Ascomycota. Několik druhů tohoto rodu jsou patogeny hmyzu. Oproti kontrolní variantě, v ošetřených variantách nebyly zástupci tohoto rodu detekováni. Oproti tomu četnost zástupců rodu *Humicola* v ošetřených variantách vzrostl. Zástupci jsou často řazeni mezi saprofyty nebo parazity, které ale nezpůsobují onemocnění brambor. Dalším identifikovaným rodem byl rod *Pseudogymnoascus*. Mnoho členů tohoto rodu je celulolytických, vyživují se jako saprofyty (Agrios, 2005). Pozitivní zjištění se týkalo rodu *Linnemannia*, četnost zastoupení členů tohoto pro rostliny užitečného rodu vlivem biofumigace rostla. Je známo, že některé druhy tohoto rodu kolonizují rhizosféru rostlin a jsou schopny vytvářet vzájemné symbiotické vztahy podobné mykorhize se širokým spektrem rostlinných druhů, čímž mohou působit jako stimulatory růstu Agrios (2005). Bohužel, četnost zastoupení patogenních hub rodu *Fusarium* vlivem fumigace neklesala, ale naopak jsme zaznamenali její nárůst. Ukazuje se, že tyto významné patogeny na biofumigaci nereagují. Tento výsledek byl pozorován i při použití jiných způsobů biofumigace (Wieczorek et al., 2024). Zvýšení četnosti může, stejně jako v ostatních případech, být vysvětleno jednak nárůstem organické hmoty v ošetřených variantách anebo „využitím“ uvolněného prostoru po mikroorganismech na biofumigaci citlivých. Stejný důvod může mít i zvýšení četnosti zástupců rodu *Penicillium* (odd. Ascomycota) v ošetřených variantách. Další detekovaný rod byl *Conocybe* patřící do odd. Basidiomycota. Na biofumigaci reagovaly snížením četnosti podobně jako zástupci rodu *Verticillium*. V tomto případě jde o pozitivní zjištění, protože zástupci tohoto rodu způsobují chorobu verticiliové vadnutí nejen u brambor, ale i u jiných plodin např. řepky. Rod *Botryotrichum* (odd. Ascomycota) zahrnuje běžné půdní houby (Agrios, 2005). Četnost jejich výskytu vlivem biofumigace rostla.



Obrázek 2 Poměrné zastoupení nejčastěji se vyskytujících oddělení z říše Hub v půdě ošetřené biofumigací

V testovaných vzorcích půdy převažovali zástupci tří taxonomických oddělení (viz Obrázek 2) a to Basidiomycota, Ascomycota a Mortierellomycota, přičemž v ošetřených variantách F1 a F2 četnost výskytu basidiomycet klesala, askomycet zůstávala na podobné úrovni (asi 70 %) a četnost mortierellomycet stoupala. Výsledky naznačují možnou souvislost navýšení četnosti s redukcí basidiomycet, protože v obou případech k poklesu i vzrůstu četností docházelo ve stejných poměrech. Většina druhů v této skupině je saprofytických. Některé druhy patří k houbám podporujícím růst rostlin. Vyskytují se v půdě, rhizosféře a rostlinných pletivech (Ozimek a Hanaka, 2021). Do oddělení basidiomycet patří i závažný patogen brambor *Rhizoctonia solani*.

Tabulka 3 Nejčastěji se vyskytující typy houbových mikroorganismů v testovaných vzorcích půdy a jejich odezva na biofumigaci

Skupina	Reakce na BF
Ostatní	↓
Emericellopsis	
Endofytické houby	↑
Saprofyty svázané na chlévskou mtvu	↓
Patogeny rostlin	↘
Patogeny rostlin - půdní saprofyty	→
Patogeny živočichů-saprofyty spojené s půdou	→
Neurčené dřevní saprofyty	↑
Neurčené saprofyty	→
Patogeny živočichů	
Nezařazeno	→

V tabulce 3 je souhrnně uvedena obecná reakce mykobiomu na námi testované experimentální podmínky. U patogenů rostlin, byl pozorován celkově pokles četnosti výskytu, i když z předcházejících výsledků víme, že se to netýká patogenů rodu *Fusarium*. Saprofytické houby z velké části biofumigací negativně ovlivněny nebyly nebo byl pozorován spíše nárůst četnosti jejich výskytu. Tento trend je jednoznačně pozitivní, neboť tím zůstávají zachovány procesy vedoucí k rozkladu organické hmoty, k recyklaci živin a k udržování rovnováhy ekosystémů. Pozorovaný nárůst četnosti endofytických hub také dokumentuje zlepšení kvality biofumigací ošetřené půdy. Tyto mikroorganismy žijí symbioticky uvnitř rostlinných tkání, aniž by způsobovaly jakékoli zjevné příznaky nebo poškození (Agrios, 2005). V současné době je uznávána jejich aktivní role v ekologii, výživě a zdravotním stavu plodin.

### Diskuse

Biofumigace je v současné době testována a doporučována jako jedna z možností udržení dobrého zdravotního stavu půdy potažmo rhizosféry bez použití chemických látek fungicidů. Pro praktické využívání je nutné ověřovat účinky konkrétních metod biofumigace na celkové složení a diverzitu mikroorganismů v takto ošetřených půdách. Pokrutiny z hořčičných semen, které jsme použili pro ozdravení půdy v našem experimentu, měly prokazatelný účinek na snížení výskytu některých patogenních druhů zejména rodu *Verticillium*. Saranya et al. (2024) prokázali 100 % inhibici *Colletotrichum falcatum* při použití drcených semen hořčice v podmínkách in vitro nebo 56 % inhibici mycelia, zatímco růst prospěšných organismů ovlivněn nebyl. Účinná byla také aplikace nasekaných rostlin nebo zapravení rostlin hořčice bílé, která byla seta jako předplodina (Wieczorek et al., 2024). Na rozdíl od našich výsledků, zaznamenali v takto ošetřené půdě snížení podílu hub asi o 20 % zejména odd. Ascomycota. Je zřejmé, že výsledky jednotlivých studií nelze jednoduše zobecňovat, protože účinnost biofumigace závisí také na vlivech prostředí (teplota, vlhkost a složení půdy z hlediska obsahu jílovitých částic), které ovlivňují jak biochemické procesy fumigace, tak podmínky růstu jednotlivých druhů mikroorganismů (Gimsing, Kirkegaard, 2009). Pro biofumigaci se využívá také moučka rozdrcených semen jiných rostlinných druhů. Mazzola et al. (2007) testovali účinnost drcených semen *Brassica juncea* a *B. napus* na potlačení půdních patogenů vyvolávajících choroby jabloní. Všechny semenné moučky potlačily kořenovou infekci

původními druhy rodu *Rhizoctonia*. Odlišné výsledky účinnosti biofumigace mohou souviset také s dobou působení biologicky aktivních látek v půdě. Mazzola et al. (2007) nepřímo dokazují, že vlastní proces aktivní fumigace v polních podmínkách trval maximálně 4–8 týdnů, pokud tedy výsledky biofumigace hodnotíme s větším odstupem, mohou být rozdíly četnostech výskytu jednotlivých mikroorganismů, rodů apod. způsobeny nepřímo – uvolněné prostory obsazují druhy, které nebyly biofumigací poškozeny. (Larkin a Griffin, 2007).

### **Závěr**

V této studii byla data získaná sekvenováním metodou Illumina použita k porovnání diverzity společenstev půdních hub v porostech brambor mezi kontrolní variantou neošetřenou biofumigací a experimentálními variantami, kde byly jako zdroj biofumigačních látek (ITC) použity dvě různé dávky hořčičných pokrutin ( $0,5 \text{ kg m}^{-2}$  a  $1 \text{ kg m}^{-2}$ ). Statisticky byl prokázán celkový pokles biodiverzity na úrovni rodu u variant ošetřených biofumigací. V ošetřených variantách bylo současně pozorováno zvýšené zastoupení saprofytických a endofytických hub důležitých pro udržení kvality půdy z hlediska dostupnosti živin pro pěstované plodiny. Výsledky této práce dokladují účinnost použité metody biofumigací a její vhodnost pro ošetření půdy před výsadbou brambor.

### **Literatura**

- Agrios GN. (2005): Plant Pathology, Elsevier Academic Press, USA  
Fernandes MLP. et al. (2022): Journal of Proteomics, 10: 104428.  
Galletti S. et al. (2008): Biological Control, 45: 319–327.  
Gimsing AL, Kirkegaard JA. (2009): Phytochemistry Reviews, 8: 299–310.  
Larkin RP, Griffin TS. (2007): Crop Protection, 26: 1067–1077.  
Lietzow J. (2021): Foods, 10: 2089.  
Massi F. et al. (2021): Microorganisms, 9: 119.  
Mazzola M. et al. (2007): Phytopathology, 97: 454–460.  
Motisi N. et al. (2010): Soil Biology and Biochemistry, 42: 2044–2057.  
Ntalli N, Caboni P. (2017): Phytochemistry Reviews, 16: 827–834.  
Ozimek E, Hanaka A. (2021): Agriculture, 11: 7.  
Saranya R. et al. (2024): Sugar Tech, 26: 647–656.  
Sunagawa S. et al. (2013): Nature Methods, 10: 1196–1199.  
Temmen D. et al. (2023): Communications in Soil Science and Plant Analysis, 54: 345–355.  
Wieczorek R. et al. (2024): Agronomy, 14: 1961.

### **Poděkování**

Tato práce byla vypracována se státní podporou Ministerstva zemědělství ČR v rámci projektu NAZV QL24010148 – “Alternativní způsoby biologické ochrany bramboru za využití bioagens a látek přírodního původu”.

### **Kontakt**

Ing. Jhonny E. Alba-Mejía, Ph.D.  
Ústav pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně  
Zemědělská 1665/1, 613 00 Brno  
+420 545 133 305, [jhonny.alba@mendelu.cz](mailto:jhonny.alba@mendelu.cz)

## Monitoring rezistence houbových patogenů obilnin k fungicidům – NAP k bezpečnému používání pesticidů

Monitoring of cereal fungal pathogens resistance to fungicides – NAP for the safe use of pesticides

*Bleša D., Matušinský P., Tvarůžek L.*

*Agrotest fyto, s.r.o*

### Abstrakt

Rezistence fytopatogenních hub vůči fungicidům představuje rostoucí problém v produkci obilnin a významně ovlivňuje efektivitu chemické ochrany rostlin. Cílem této práce je shrnout současný stav výskytu a vývoje rezistence – snížené citlivosti u klíčových patogenů obilnin – *Zymoseptoria tritici*, *Microdochium nivale*, *Ramularia collo-cygni* a *Oculimacula yallundae* – a představit metodický přístup laboratorního testování. Tento přístup je součástí dlouhodobé aktivity v rámci Národního akčního plánu pro bezpečné používání pesticidů (NAP) a slouží k monitorování změn v populacích patogenů, jejichž výsledky jsou následně využívány v systému rostlinolékařského portálu. Mezi roky 2024 a 2025 byl zaznamenán nárůst rezistence houbových patogenů obilnin k některým fungicidním látkám, zejména u druhů *M. nivale* a *R. collo-cygni*.

**Klíčová slova:** Rezistence k fungicidním látkám, FRAC, *Zymoseptoria tritici*, *Microdochium nivale*, *Ramularia collo-cygni*, *Oculimacula yallundae*, Laboratorní testy

### Abstract

Resistance of phytopathogenic fungi to fungicides represents a growing problem in cereal production and significantly affects the effectiveness of chemical plant protection. The aim of this study is to summarize the current status and development of resistance — i.e., reduced sensitivity — in main cereal pathogens (*Zymoseptoria tritici*, *Microdochium nivale*, *Ramularia collo-cygni*, and *Oculimacula yallundae*) and to present a methodological approach for laboratory testing. This approach is part of a long-term activity within the National Action Plan for the Sustainable Use of Pesticides (NAP) and serves to monitor changes in pathogen populations, with results subsequently integrated into the the Plant Health Information Portal system. During 2024 and 2025, an increase in fungicide resistance of cereal pathogens was recorded, particularly in *M. nivale* and *R. collo-cygni*.

**Keywords:** Fungicide resistance; FRAC; *Zymoseptoria tritici*; *Microdochium nivale*; *Ramularia collo-cygni*; *Oculimacula yallundae*; Laboratory assays

### Úvod

Rozvoj a šíření rezistence fytopatogenních hub vůči fungicidním látkám představuje v současnosti jednu z nejzávažnějších výzev ochrany obilnin v Evropě (Yin et al., 2023; Alkemaded, 2025). Dlouhodobé používání fungicidů se stejným mechanismem účinku (MoA) vytváří selekční tlak na patogeny, což vede ke ztrátě citlivost k účinným látkám (Hawkins, 2024). Tento proces, i když často probíhá pomalu a lokálně, může v souhrnu vést k významnému snížení účinnosti přípravků a ekonomickým ztrátám v produkci obilnin (Ulrich et al., 2025). V reakci na tento problém vznikla mezinárodní komise pro sledování rizika rezistence – FRAC (Fungicide Resistance Action Committee) – která poskytuje metodiky pro hodnocení rizika, klasifikaci fungicidních látek podle mechanismu účinku a zásady jejich správného používání (Oliver et al., 2024; FRAC Code List 2024).

V rámci implementace Národního akčního plánu (NAP) pro bezpečné používání pesticidů je v České republice kladen důraz na monitoring účinnosti přípravků a vývoj rezistence hospodářsky významných patogenů obilnin. Tento monitoring je důležitým podkladem nejen pro regulační politiku a poradenství, ale i pro samotné pěstitelské praxe, které čelí narůstající odolnosti populací patogenů a tlaku na udržitelnost chemické ochrany.

Praktickým nástrojem těchto aktivit je testování citlivosti patogenů v laboratorních podmínkách, které umožňují hodnotit snížení nárůstu mycelia v závislosti na koncentraci fungicidní látky. Tato metoda, přestože má své limity (např. odlišnou dynamiku růstu v porovnání s in planta podmínkami), představuje robustní, standardizovaný a ekonomicky dostupný přístup k monitoringu změn citlivosti populací v čase. Výsledky těchto testů často velmi dobře korelují s polními pozorováními, a proto jsou vhodným doplňkem hodnocení účinnosti fungicidů v reálných podmínkách (Hawkins, 2024).

V této práci jsou představeny nejvýznamnější patogeny obilnin způsobující poškození porostů a následné ekonomické ztráty. Testování je rozděleno na patogeny báží stébel – druhů *Microdochium nivale* a *Oculimacula yallundae* způsobující sněžnou plísňovitost obilnin a trav, a původce pravého stéblolamu. Do další skupiny testovaných organismů patří listové patogeny – *Zymoseptoria tritici* způsobující septoriovou skvrnitost pšenice a *Ramularia collo-cygni* způsobující tmavohnědou skvrnitost ječmene.

Tyto houby patří mezi nejvýznamnější patogeny obilnin ve střední Evropě. Liší se jak životním cyklem, tak průběhem infekce či trofismem (biotrofní, hemibiotrofní či nekrotrofní), způsobem přenosu inokula i rychlostí šíření rezistence (Hawkins, 2024; Alkemade, 2025). Například *Z. tritici* se vyznačuje vysokou genetickou variabilitou, které umožňují rychlou adaptaci na účinné látky. *Microdochium nivale* má pomalejší populační dynamiku (Yin et al., 2023).

Cílem dlouhodobého laboratorního monitoringu je sledovat dynamiku změn v citlivosti populací těchto patogenů v čase, identifikovat vznikající rezistentní fenotypy, a poskytnout data pro tvorbu doporučení zásad ochrany rostlin (Oliver et al., 2024; Hawkins, 2024). Tento přístup naplňuje cíle NAP – zejména podporu integrované ochrany rostlin a snižování rizik spojených s používáním pesticidů – a umožňuje propojit základní výzkum, terénní testování a praktické poradenství v jednotný systém sledování rezistence (FRAC, 2024; Alkemade, 2025).

### **Materiál a metody**

Izoláty patogenů byly získány z napadených rostlin pšenice a ječmene pocházejících z různých oblastí České republiky, převážně však z regionu střední Moravy. Odebrané vzorky listů nebo báží stébel s typickými symptomy byly povrchově dezinfikovány (vzorky listů v 70% etanolu, báže v 1% NaOCl) a přeneseny na bramborovo-dextrózový agar pro získání čistých kultur.

Základní testování bylo prováděno na Petriho miskách ( $\varnothing$  90 mm) s živným médiem obsahujícím různé koncentrace testované fungicidní látky. Použité koncentrace pokrývaly několik stupňů koncentrací (typicky  $0,01\text{--}10\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  účinné látky), včetně kontrolního média bez fungicidu. Citlivost byla vyjádřena jako inhibice růstu mycelia patogenu ve srovnání s kontrolou a následně stanovena hodnota EC50 (koncentrace účinné látky způsobující 50% inhibici růstu). Pro posouzení snížené citlivosti izolátů je jako referenční brána koncentrace  $0,5\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  účinné látky. Statistické vyhodnocení bylo provedeno pomocí probitové funkce a hodnoty EC50 byly porovnány mezi jednotlivými roky pomocí neparametrického Mann-Whitneyova U testu.

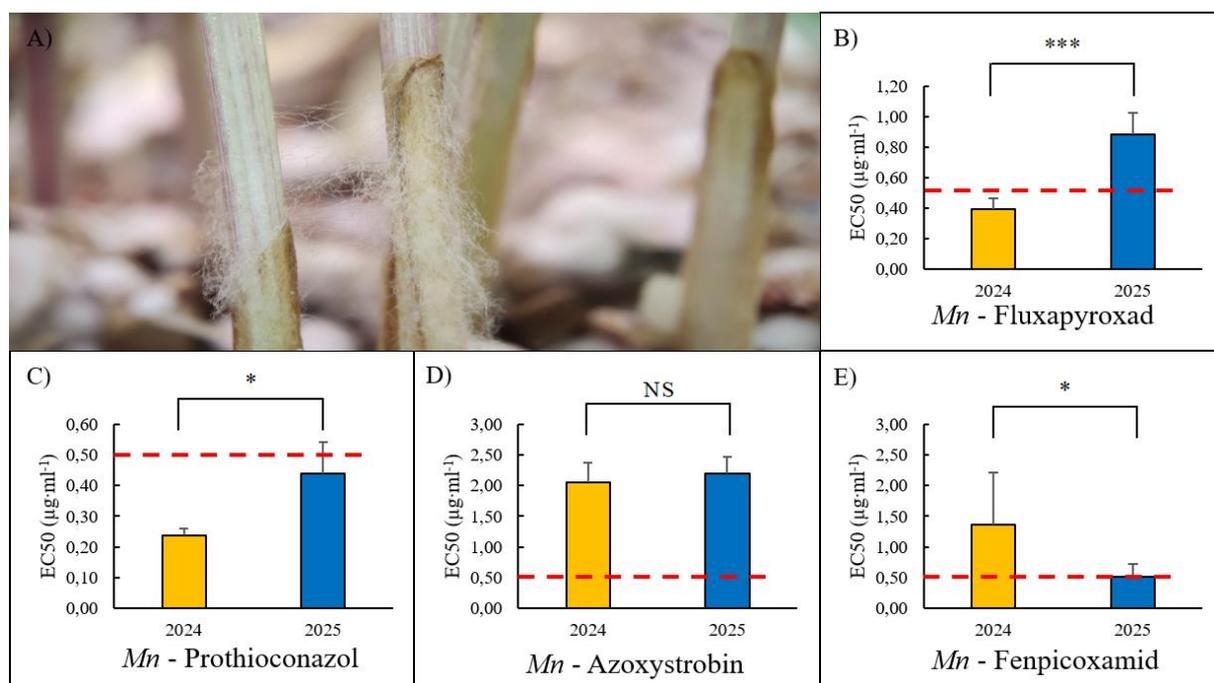
### **Výsledky**

Statistické porovnání hodnot EC50 mezi roky 2024 a 2025 potvrdilo, že u několika sledovaných druhů houbových patogenů došlo ke statisticky významným změnám citlivosti k některým fungicidním účinným látkám (tabulka 1).

**Tabulka 1:** Porovnání změny senzitivity, vyjádřené hodnotami EC50, populací fytopatogenních hub k vybraným fungicidním látkám mezi lety 2024-2025 na základě Mann-Whitneyova U-testu. Statisticky průkazné hodnoty ( $p < 0,05$ ) jsou značeny červeně.

Fungicid	Organismus	$n_1 / n_2$	Z	p	Obrázek
Fluxapyroxad	<i>Microdochium nivale</i>	40/72	3,495	<0,001	1B
Prothioconazol	<i>Microdochium nivale</i>	40/72	2,468	0,014	1C
Azoxystrobin	<i>Microdochium nivale</i>	40/72	-0,173	0,863	1D
Fenpicoxamid	<i>Microdochium nivale</i>	40/72	2,304	0,021	1E
Fluxapyroxad	<i>Oculimacula yallundae</i>	17/13	2,344	0,019	2B
Prothioconazol	<i>Oculimacula yallundae</i>	17/13	0,377	0,706	2C
Fluxapyroxad	<i>Zymoseptoria tritici</i>	43/38	-1,188	0,235	3B
Prothioconazol	<i>Zymoseptoria tritici</i>	43/38	-1,159	0,246	3C
Mefentrifluconazol	<i>Zymoseptoria tritici</i>	43/38	-3,393	0,001	3D
Azoxystrobin	<i>Zymoseptoria tritici</i>	43/38	-0,450	0,653	3E
Fenpicoxamid	<i>Zymoseptoria tritici</i>	43/38	-6,052	<0,001	3F
Fluxapyroxad	<i>Ramularia collo-cygni</i>	72/95	-1,995	0,046	4C
Prothioconazol	<i>Ramularia collo-cygni</i>	72/95	-0,131	0,896	4D
Mefentrifluconazol	<i>Ramularia collo-cygni</i>	72/95	-4,888	<0,001	4E
Fenpicoxamid	<i>Ramularia collo-cygni</i>	72/95	-9,644	<0,001	4F

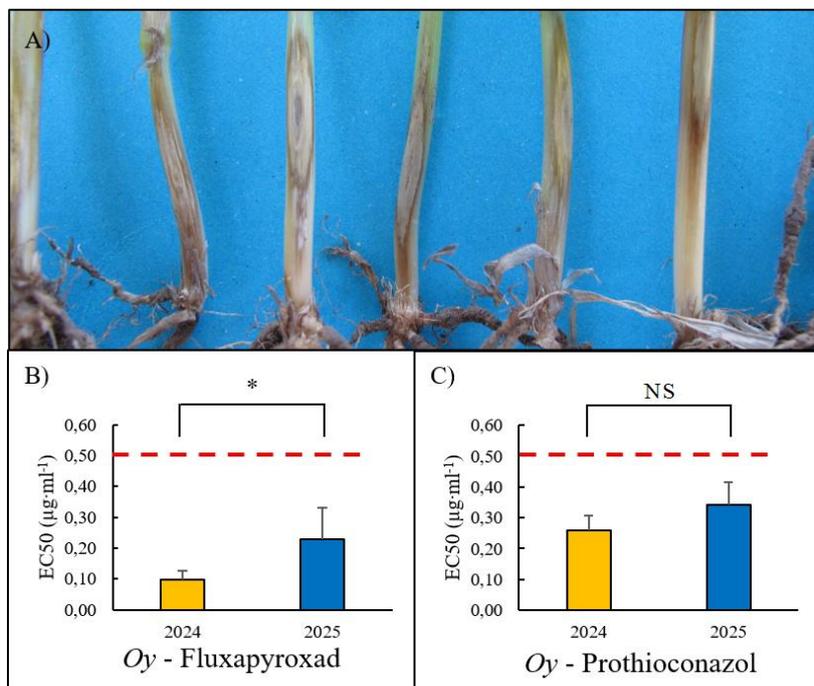
U druhu *M. nivale* byly zaznamenány významné rozdíly u tří fungicidních látek – fluxapyroxad ( $Z = 3,495$ ;  $p < 0,001$ ), prothioconazol ( $Z = 2,468$ ;  $p = 0,014$ ) a fenpicoxamid ( $Z = 2,304$ ;  $p = 0,021$ ). Výsledky ukazují na zvyšující se hodnoty EC50, a tedy pokles citlivosti populace mezi roky 2024 a 2025 pro fluxapyroxad a prothioconazol, nicméně u fenpicoxamidu bylo pozorováno snížení průměrné hodnoty EC50 (obrázek 1). U azoxystrobinu nebyl rozdíl průkazný ( $p = 0,863$ ), již dříve pozorovaná snížená citlivost zůstává na stabilní úrovni.



**Obrázek 1:** A) Mycelium patogenu *Microdochium nivale* (*Mn*) na bázích stébel ječmene. B-E) Porovnání průměrných hodnot EC50 pro vybrané fungicidní látky. Chybové úsečky znázorňují

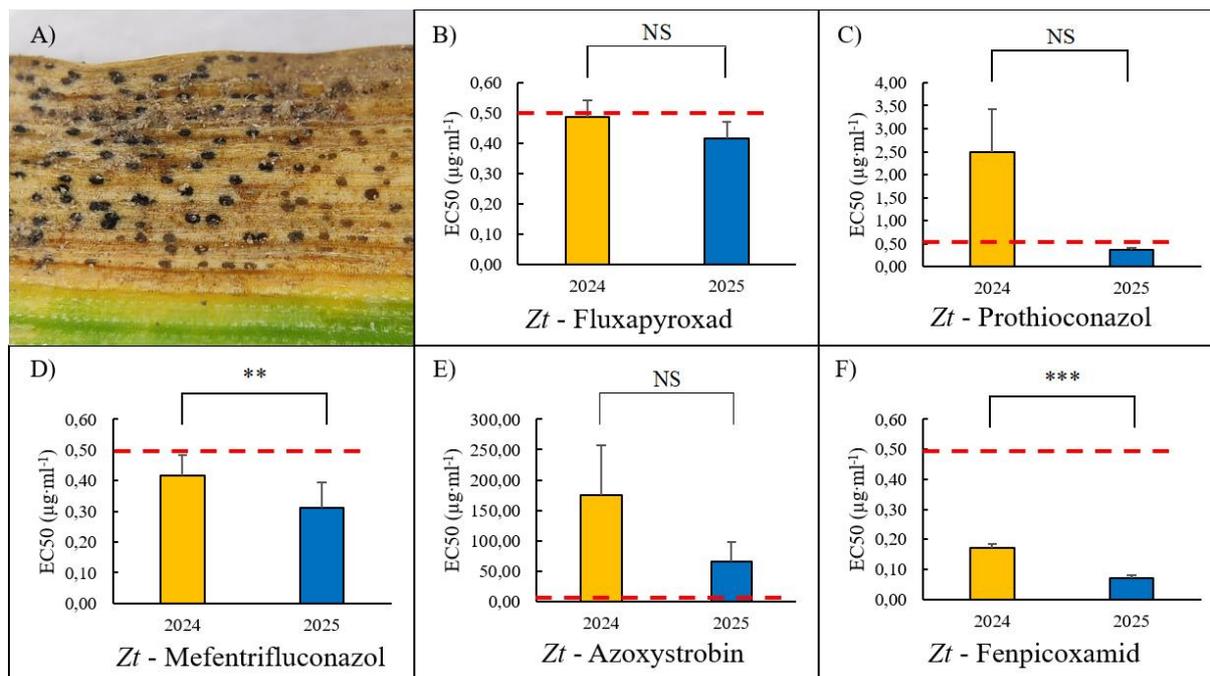
kladnou standardní chybu. Hvězdičky označují úroveň statistické významnosti mezi roky 2024 a 2025 (Mann–Whitneyův U-test;  $p < 0,05 = *$ ,  $p < 0,001 = ***$ ). Neprůkazné rozdíly jsou označeny NS. Červená přerušovaná čára značí grafické znázornění referenční koncentrace limitu citlivosti  $0,5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  účinné látky.

U patogenu *Oculimacula yallundae* (stéblolam obilnin) byl prokázán signifikantní rozdíl u fluxapyroxadu ( $Z = 2,344$ ;  $p = 0,019$ ), který ukazuje na mírné zvýšení EC50, a tedy pokles citlivosti (obrázek 2). Prothioconazol zde zůstal účinný bez průkazné změny ( $p = 0,706$ ).



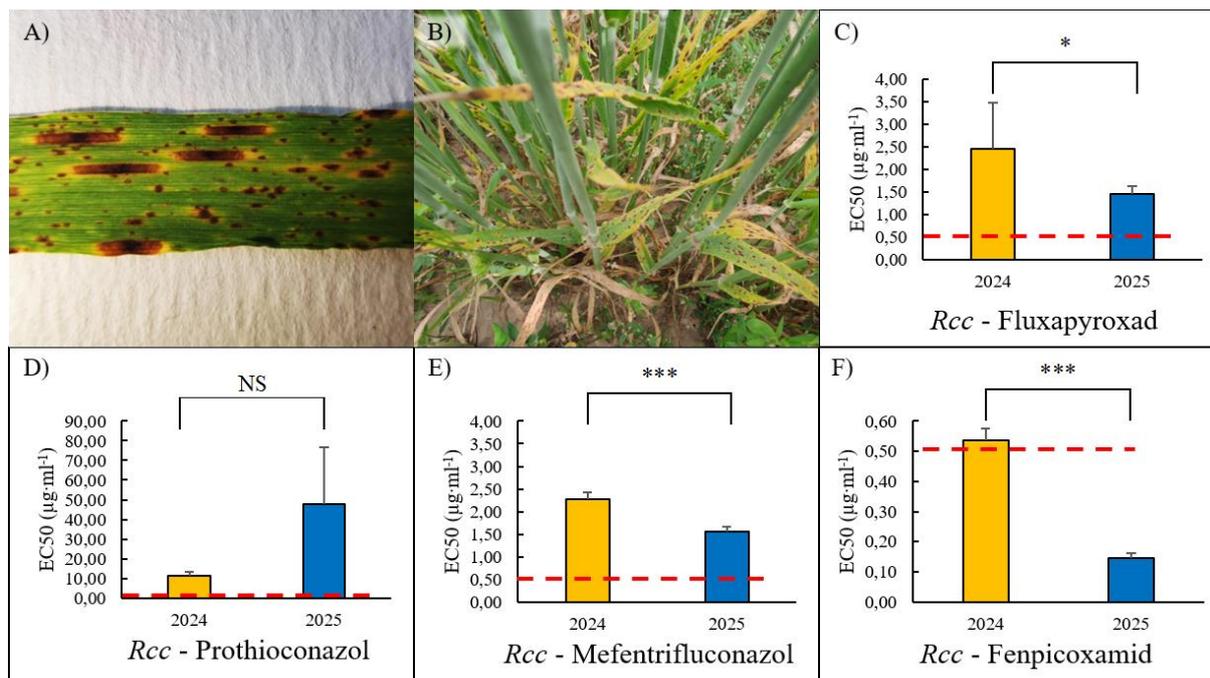
**Obrázek 2:** A) Typické symptomy napadení původcem stéblolamu *Oculimacula yallundae* (Oy). B-C) Porovnání průměrných hodnot EC50 pro vybrané fungicidy. Chybové úsečky znázorňují kladnou standardní chybu. Hvězdičky označují úroveň statistické významnosti mezi roky 2024 a 2025 (Mann–Whitneyův U-test;  $p < 0,05 = *$ . Neprůkazné rozdíly jsou označeny NS. Červená přerušovaná čára je grafické znázornění referenční koncentrace limitu citlivosti  $0,5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  účinné látky.

U *Zymoseptoria tritici* (původce septoriové skvrnitosti pšenice; obrázek 3) bylo pozorováno významné zvýšení citlivosti populací k mefentrifluconazolu ( $Z = -3,393$ ;  $p = 0,001$ ) a fepicoxamidu ( $Z = -6,052$ ;  $p < 0,001$ ). Ostatní látky, včetně fluxapyroxadu a prothioconazolu, neprojevily průkazné meziroční rozdíly. To může svědčit o potenciálu využití moderních fungicidních látek s cíleným mechanismem účinku.



**Obrázek 3:** A) Typické symptomy napadení listů patogenem *Zymoseptoria tritici* (Zt). B-F) Porovnání průměrných hodnot EC50 pro vybrané fungicidní látky. Chybové úsečky znázorňují kladnou standardní chybu. Hvězdičky označují úroveň statistické významnosti mezi roky 2024 a 2025 (Mann–Whitneyův U-test;  $p < 0,01 = **$ ,  $p < 0,001 = ***$ ). Neprůkazné rozdíly jsou označeny NS. Červená přerušovaná čára je grafické znázornění referenční koncentrace limitu citlivosti  $0,5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  účinné látky.

V případě původce ramulariové skvrnitosti ječmene (obrázek 4) bylo pozorováno zvýšení citlivosti u fluxapyroxadu ( $Z = -1,995$ ;  $p = 0,046$ ), mefentrifluconazolu ( $Z = -4,888$ ;  $p < 0,001$ ) a fenpicoxamidu ( $Z = -9,644$ ;  $p < 0,001$ ). Naproti tomu hodnoty změn citlivosti k prothioconazolu byly neprůkazné. Kromě fenpicoxamidu však snížené citlivosti izolátů dosahovaly vysoce nadlimitních hodnot EC50. Tyto výsledky jednoznačně potvrzují nejvyšší míru vývoje rezistence právě u tohoto patogenu, který dlouhodobě představuje jeden z největších problémů v ochraně ječmene v ČR.



**Obrázek 4:** Typické symptomy napadení listu (A) a rostlin v porostu jarního ječmene (B) patogenem *Ramularia collo-cygni* (*Rcc*). B-F) Porovnání průměrných hodnot EC50 pro vybrané fungicidní látky. Chybové úsečky znázorňují kladnou standardní chybu. Hvězdičky označují úroveň statistické významnosti mezi roky 2024 a 2025 (Mann–Whitneyův U-test;  $p < 0,05 = *$ ,  $p < 0,001 = ***$ ). Neprůkazné rozdíly jsou označeny NS. Červená přerušovaná čára je grafické znázornění referenční koncentrace limitu citlivosti  $0,5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  účinné látky.

Celkově lze shrnout, že mezi roky 2024 a 2025 došlo k statisticky významnému nárůstu EC50 (tedy poklesu citlivosti) především u druhů *M. nivale* a *O. yallundae*. Přesto však, zejména u patogenu *R. collo-cygni* hodnoty snížené citlivosti k fungicidním látkám byly pozorovány téměř u všech izolátů. Tyto výsledky potvrzují nutnost důsledného střídání účinných látek s odlišným mechanismem účinku, pravidelného monitoringu a praktického uplatňování strategií správné ochrany rostlin v rámci Národního akčního plánu (NAP) k bezpečnému používání pesticidů.

### Diskuze a závěr

Interpretace laboratorních dat o citlivosti patogenů vůči fungicidním látkám musí být vždy prováděna s ohledem na biologii sledovaných druhů (Yin et al., 2023; Alkemade, 2025). Laboratorní analýzy představují spolehlivý základní screening, který umožňuje identifikovat posun citlivosti ještě dříve, než se projeví praktická ztráta účinnosti v polních podmínkách (Hawkins, 2024). Klíčovým faktorem je tedy porovnávání výsledků s daty z předchozích let (Matusínský et al., 2024).

Význam laboratorních testů dále roste v okamžiku, kdy jsou výsledky doplňovány molekulárními analýzami – např. detekcí mutací *CYP51* u rezistence k DMI (FRAC 3), *cytb* G143A u QoI (FRAC 11) či *SdhB/C/D* substitucí u *SDHI* (FRAC 7) (Dumbai et al., 2025). Kombinace fenotypového a genotypového přístupu poskytuje komplexní obraz o stavu a vývoji rezistence v populaci (Hawkins, 2024).

Získaná data mají zásadní dopad i na praktickou ochranu. Rezistence se nemusí projevovat binárně jako je tomu např. u strobilurinů, ale často postupným posunem k nižší citlivosti jako například u triazolů; proto i fungicid, který má stále plnou účinnost v dané populaci, může být

již v jiné skupině populací nefunkční. To zdůrazňuje nutnost dodržování zásad integrované ochrany rostlin – včetně střídání účinných látek a omezování počtu aplikací stejného typu v sezóně (FRAC, 2024; Oliver et al., 2024).

Význam těchto činností proto přesahuje rámec jednotlivých výzkumných projektů. Pravidelný a systematický sběr dat o rezistenci je klíčovým pilířem udržitelného používání pesticidů a naplňuje cíle Národního akčního plánu i zásady integrované ochrany rostlin. Současně poskytuje pěstitelům a výzkumným institucím nástroj, jak reagovat na měnící se populační strukturu patogenů, zachovat účinnost dostupných účinných látek a plánovat další směřování vývoje ochrany rostlin (Hawkins, 2024; Oliver et al., 2024).

### **Literatura**

- ALKEMADE, Joris A., et al. Learning from fungicide resistance: Evolutionary insights to guide RNAi-based control of fungal crop pathogens. *Fungal Biology Reviews*, 2025, 53: 100443.
- HAWKINS, Nichola J. Assessing the predictability of fungicide resistance evolution through in vitro selection. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 2024, 131.4: 1257-1264.
- MATUŠINSKÝ, Pavel, et al. Hodnocení reakce hlavních houbových patogenů obilovin na vybrané fungicidní účinné látky. *Obilnářské listy*, 32, 2024, 2, 39-42.
- OLIVER, Richard, et al. The 2023 update of target site mutations associated with resistance to fungicides and a web-tool to assist label designations. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 2024, 131.4: 1265-1270.
- ULRICH, Matthew, et al. Foliar disease resistance phenomics of fungal pathogens: image-based approaches for mapping quantitative resistance in cereal germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*, 2025, 138.9: 232.
- YIN, Yanni, et al. Fungicide resistance: Progress in understanding mechanism, monitoring, and management. *Phytopathology*, 2023, 113.4: 707-718.
- DUMBAI JOE, Alexander, et al. Comprehensive analysis of the mechanisms conferring resistance to phenamacril in the *Fusarium* species. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2025, 15: 1536532.
- [FRAC Code List 2024]. Fungicide Resistance Action Committee (FRAC). 2024.

### **Poděkování**

Výstup vznikl s podporou Národního akčního plánu k bezpečnému používání pesticidů a MZE-RO1123. Poděkování za laboratorní analýzy patří Evě Švarcové, Natálii Jarošové a Janu Sedláčkovi.

### **Kontaktní adresa**

Dominik Bleša, Mgr.  
Agrotest fyto, s.r.o.  
Havlíčková 2787/121, 767 01 Kroměříž  
+420 573317113; blesa@vukrom.cz



## Vývoj real-time PCR systému pro diagnostiku fytoplazem napadajících rostliny rodu *Vaccinium*

Development of a real-time PCR system for the diagnostics of phytoplasmas infecting genus *Vaccinium*

Čmejla R.<sup>1</sup>, Valentová L.<sup>1</sup>, Rejlová M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s.r.o.

### Abstrakt

Zdravý rozmnožovací materiál je nezbytný pro úspěšné pěstování rostlin rodu *Vaccinium*, kam spadají zejména brusnice chocholičnatá, která je oblíbená i mezi zahrádkáři. Dle certifikačního schématu se povinně sleduje přítomnost sedmi virů a čtyř fytoplazem (*Candidatus* Phytoplasma asteris, *Candidatus* Phytoplasma pruni, cranberry false blossom phytoplasma a *Candidatus* Phytoplasma solani). Porovnáním dostupných sekvencí genu pro 16S rRNA u uvedených fytoplazem byly vytipovány vhodné oblasti pro návrh primerů a sond pro detekční systém na bázi real-time PCR. Analýzy s využitím syntetických standardů prokázaly za daných podmínek 100% specificitu a analytickou senzitivitu na úrovni 50 kopií v reakci. Systémy byly úspěšně vyzkoušeny i u reálných izolátů příslušných fytoplazem.

**Klíčová slova:** Brusnice, *Candidatus* Phytoplasma, certifikační schéma, qPCR

### Abstract

Healthy propagating material is essential for the successful cultivation of plants of the genus *Vaccinium*, which includes especially the northern highbush blueberry, which is also popular among gardeners. According to the certification scheme, the presence of seven viruses and four phytoplasmas (*Candidatus* Phytoplasma asteris, *Candidatus* Phytoplasma pruni, cranberry false blossom phytoplasma and *Candidatus* Phytoplasma solani) is mandatorily monitored. By comparing the available sequences of 16S rRNA gene, suitable areas for the design of primers and probes for a real-time PCR-based phytoplasma detection system were selected. Analyses using synthetic standards demonstrated 100% specificity and analytical sensitivity at the level of 50 copies in the reaction under the given conditions. The systems have also been successfully tested with respective real phytoplasma isolates.

**Keywords:** Blueberry, *Candidatus* Phytoplasma, certification scheme, qPCR

### Úvod

Zdravý vstupní materiál je nezbytná podmínka pro úspěšné dlouhodobé pěstování trvalých kultur, jako jsou ovocné stromy nebo keře. Pro zajištění této podmínky postupují producenti rozmnožovacího materiálu (např. školkaři) podle zavedených pravidel a schémat pro certifikaci rozmnožovacího materiálu konkrétního druhu. Legislativně je to v Evropské unii řešeno v rámci Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2016/2031, které je převedeno do legislativy národních států. Odbornost a popis testování pak zajišťují odborné spolky, mezi nimiž dominuje European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO), které vydává mezinárodně uznávané standardy.

Borůvky/brusinky (plody brusnice, rod *Vaccinium*) patří mezi vyhledávané ovoce, protože obsahují mnoho zdravých prospěšných látek, např. antioxidanty, karotenoidy, vitamíny, minerály a třísloviny. Kromě sběru lesních borůvek (brusnice borůvka, *Vaccinium myrtillus* L.) se z kulturních druhů nejčastěji pěstuje brusnice chocholičnatá (*Vaccinium corymbosum* L., „kanadská borůvka“), která pochází ze Severní Ameriky. Její pěstování je stále populárnější, mezi lety 2019-2023 vzrostla produkce borůvek v Evropě téměř o 40 % (FAOSTAT). To se projevuje v poptávce po rozmnožovacím materiálu: v České republice bylo v roce 2023 vypěstováno 1,1 mil. školkařských výpěstků brusnice sp. (Němcová, 2024). Certifikační

schéma EPPO pro brusnice však bylo vydané v roce 1997 (PM 4/18 (1), 1997) a samozřejmě nepostihuje objev nových patogenů a vývoj diagnostických metod posledních 30 let. Seznam škodlivých organismů, ohledně jejichž výskytu se musí provádět vizuální přehlídka u brusnic a ve vhodných případech odběr vzorků a testování rozmnožovacího materiálu, je uveden v Příloze č. 2 k Vyhlášce č. 96/2018 Sb. Kromě sedmi sledovaných virů (blueberry mosaic associated ophiovirus, blueberry red ringspot virus, blueberry scorch virus, blueberry shock virus, blueberry shoestring virus, tobacco ringspot virus a tomato ringspot virus) jsou také uvedeny čtyři druhy fytoplazem, které byly popsány u rodu *Vaccinium*.

*Candidatus* Phytoplasma spp. jsou bakteriální organizmy, které jsou řazeny do třídy Mollicutes. Jedná se bakterie, které nemají buněčnou stěnu a jsou obligátními intracelulárními parazity usídlijící se ve vodivém pletivu rostlin. Fytoplazmy byly nalezeny u mnoha druhů rostlin z nejrůznějších skupin a v hmyzích vektorech, které zprostředkovávají jejich šíření. Podle sekvence genu pro 16S rRNA se dělí do několika desítek skupin označovaných římskými číslicemi (komplexní shrnutí v knize Rao, 2018). Následující fytoplazmy je nutné kontrolovat u rozmnožovacího materiálu brusnice: *Candidatus* Phytoplasma asteris (skupina 16SrI; Lee, 2004), konkrétně z podskupiny 16SrI-E, která způsobuje zakrslost brusnice (blueberry stunt disease; Bagadia, 2013); *Candidatus* Phytoplasma pruni (skupina 16SrIII), která způsobuje metlovitost u rostlin rodu *Vaccinium*; cranberry false blossom phytoplasma, která patří do skupiny 16SrIII-Y, a způsobuje nepravé kvetení u klikvy velkoplodé (Lee, 2014) a *Candidatus* Phytoplasma solani (skupina 16SrXII), která způsobují onemocnění stolbur (Quaglino, 2013).

Autoři v původních pracích uvádějí i metody detekce a identifikace (zpravidla PCR a následná restriční analýza), tyto metody však nejsou vhodné pro komplexní rutinní diagnostiku. Cílem této práce bylo navrhnout rychlý a spolehlivý systém na principu real-time PCR pro detekci povinně sledovaných fytoplazem u rozmnožovacího materiálu brusnice, který by byl vhodný pro použití v akreditovaných diagnostických laboratořích.

### **Materiál a metody**

V první kroku byly získány dostupné sekvence oblastí 16S rRNA pro studované fytoplazmy a jejich blízké izoláty (databáze GenBank). Sekvence byly porovnány (software Geneious Prime) a identifikovány druhově konzervované oblasti, v kterých byly navrženy primery a sondy (značení 6-FAM--MBQ-1) pro jejich real-time PCR detekci. Pro ověření specifčnosti PCR byly použity syntetické standardy typu ultramer se shodnou cílovou sekvencí jako u zdrojového organismu (Integrated DNA Technologies). PCR probíhala za následujících podmínek v cykleru Rotor-Gene Q (Qiagen): Luna Universal Probe qPCR Master Mix (New England Biolabs), finální koncentrace 1×; primery a sonda finální koncentrace 0,5 μM (metabion international AG); PCR voda do finálního objemu 20 μL. Teplotní profil byl následující: úvodní denaturace 95 °C/5 minut; 40 cyklů s kroky 95 °C/20 s, 58 °C/20 s, 72 °C/20 s. Senzitivita detekce jednotlivých fytoplazem byla zjištěna na základě dekadického ředění syntetických standardů až na úroveň 5 kopií v reakci. Vyvinuté PCR systémy byly ověřeny na DNA izolátech příslušných fytoplazem, které byly získány z kolekce fytoplazem spravované International Phytoplasma Working Group.

### **Výsledky**

Pro srovnání bylo celkem získáno 638 sekvencí oblastí 16S rRNA příslušných fytoplazem (Tabulka 1). Sekvence byly porovnány a byly identifikovány druhově specifické oblasti vhodné pro návrh primerů a sond pro real-time PCR detekci (Tabulka 2). Protože *Candidatus* Phytoplasma pruni a cranberry false blossom phytoplasma patří do stejné skupiny 16SrIII, byly primery a sonda navrženy tak, aby identifikovaly oba druhy; v amplifikované oblasti se liší pouze v jednom nukleotidu. Skupiny fytoplazem 16SrI a 16SrXII jsou si fylogeneticky blízké,

proto byl pro obě skupiny navrhnout společný forward primer a diskriminace je provedena pomocí reverzního primeru a sondy.

**Tabulka 1.** Přehled sekvencí použitých pro analýzu.

Druh fytoplazmy	Počet analyzovaných sekvencí	Referenční sekvence
<i>Candidatus Phytoplasma asteris</i> [16SrI]	495	NZ_CP128397
<i>Candidatus Phytoplasma pruni</i> [16SrIII]	22	CP119306
<i>cranberry false blossom phytoplasma</i> [16SrIII]	29	KF626552
<i>Candidatus Phytoplasma solani</i> [16SrXII]	92	NZ_CP155828

**Tabulka 2.** Primery a sondy vyvinuté pro real-time PCR detekci jednotlivých druhů fytoplazem infikujících brusnice. F: forward; R: reverse; Pr: sonda; \*: stejné primery

Druh fytoplazmy	Primer/sonda
<i>Candidatus Phytoplasma asteris</i> [16SrI] Délka amplikonu: 85 bp	F: GGCKGTTAAATAAGTTTATGGTCT * R: TGCCTCTATCTTACTCTAGCTA Pr: TGCAATGCTCAACATTGTGATG
<i>Candidatus Phytoplasma pruni</i> [16SrIII] <i>cranberry false blossom phytoplasma</i> [16SrIII] Délka amplikonu: 85 bp	F: GCGGTTTAATAAGTCTATAGTTT R: TGCCTCTATCTCACTCTAGTAA Pr: TTCAGYGCTTAACGCTGTTGTG
<i>Candidatus Phytoplasma solani</i> [16SrXII] Délka amplikonu: 85 bp	F: GGCKGTTAAATAAGTTTATGGTCT * R: TGCCTCTATCCAACCTCTAGCTA Pr: TGCAACGCTCAACGTTGTGAT

Specificita navržených detekčních systémů byla testována pomocí syntetických standardů, které byly použity ve vysoké koncentraci 4 pg v jedné reakci (cca 50 mil. kopií). Výsledky ukázaly, že navržené systémy jsou specifické a ani při této koncentraci standardu (Ct hodnoty 11,9 – 14,6) nevykazovaly nespecifickou reakci. Tyto výsledky byly potvrzeny i při použití DNA z příslušných izolátů testovaných fytoplazem (Tabulka 3).

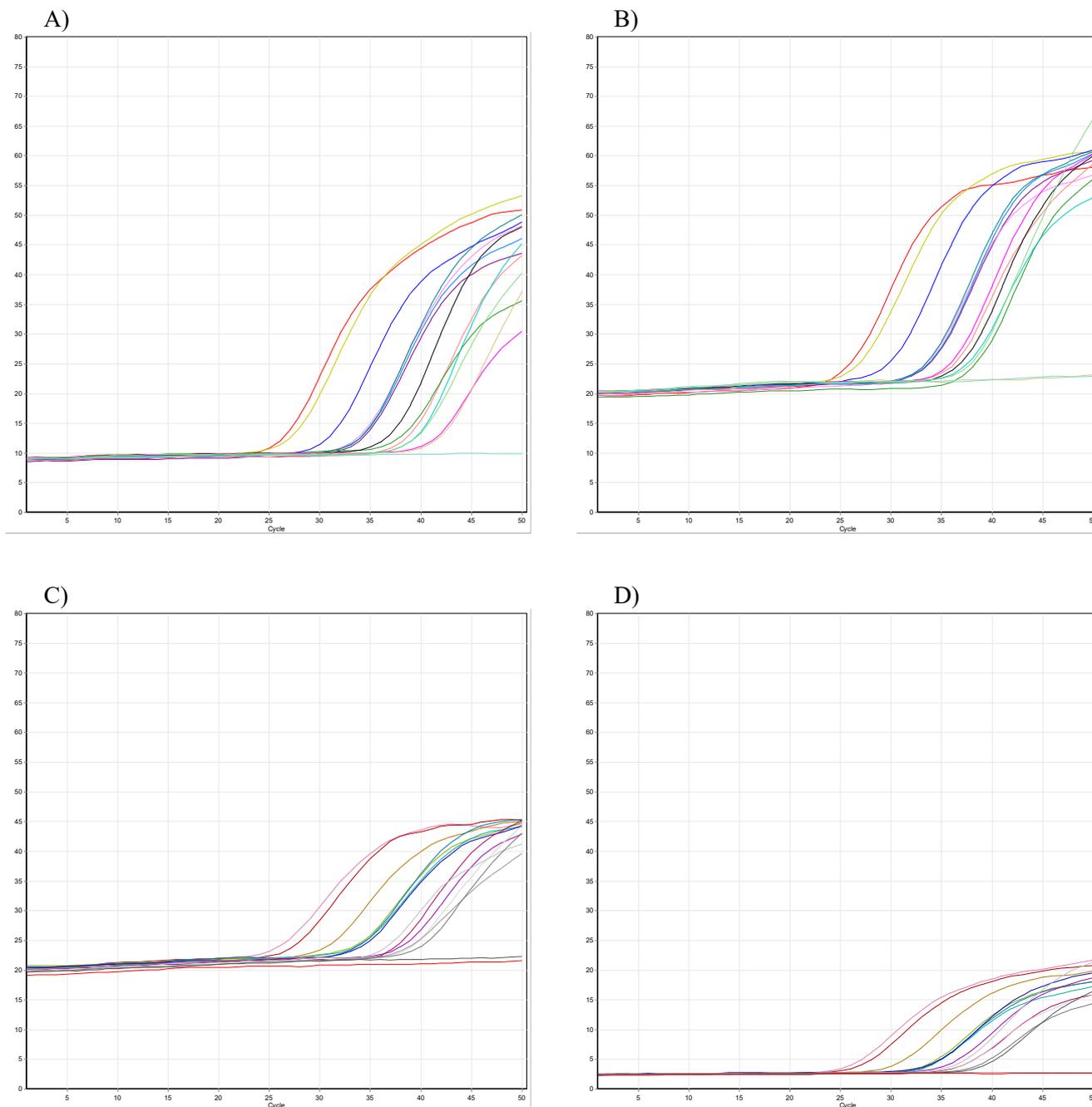
**Tabulka 3.** Specificita vyvinutého systému real-time PCR pro jednotlivé druhy fytoplazem infikujících brusnice. Pro testování byly použity 4 pg syntetických standardů a 2 µL obdržené DNA izolátů fytoplazem.

Druh fytoplazmy	Detekce 16Srl Ct hodnota	Detekce 16SrIII Ct hodnota	Detekce 16SrXII Ct hodnota
<b>Candidatus Phytoplasma asteris</b> [16Srl]			
Syntetický standard	12,39	Negativní	Negativní
Izolát „PRIVC“	19,57	Negativní	Negativní
<b>Candidatus Phytoplasma pruni</b> [16SrIII]			
Syntetický standard	Negativní	13,17	Negativní
Izolát „BF“	Negativní	18,79	Negativní
<b>cranberry false blossom phytoplasma</b> [16SrIII]			
Syntetický standard	Negativní	14,56	Negativní
Izolát „VAC“	Negativní	19,69	Negativní
<b>Candidatus Phytoplasma solani</b> [16SrXII]			
Syntetický standard	Negativní	Negativní	11,92
Izolát „StolC“	Negativní	Negativní	18,66

Pro věrohodnou diagnostiku musí být detekční systémy dostatečně citlivé. Limit detekce byl pro jednotlivé fytoplazmy stanoven pomocí ředění syntetických primerů až na hodnotu 5 kopií v reakci. Pro všechny testované fytoplazmy byla dosažena 100% detekce pro koncentraci 50 kopií v reakci (n=4; variační koeficient 0,011 - 0,034) (Obrázek 1). U všech systémů bylo detekováno i 5 kopií v reakci, ale pouze u 25-75% vzorků. Účinnost amplifikace byla 0,96 pro *Candidatus Phytoplasma asteris*, 0,94 pro *Candidatus Phytoplasma pruni*, 0,99 pro *cranberry false blossom phytoplasma* a 0,97 pro *Candidatus Phytoplasma solani*. Z Obrázku 1 je také patrné, že lze spolehlivě odlišit *Candidatus Phytoplasma pruni* (Obrázek 1B) od *cranberry false blossom phytoplasma* (Obrázek 1C), přestože jsou detekovány stejnými primery a sondou – u *cranberry false blossom phytoplasma* je signál konzistentně nižší, což je dáno odlišností sekvence v jednom nukleotidu v oblasti sondy.

### Diskuze

Fytoplazmové infekce představují závažný problém v hospodářské produkci rodu *Vaccinium*, zejména u kulturních brusnic – brusnice chocholičnatá (*Vaccinium corymbosum*), klikva velkoplodá (*Vaccinium macrocarpon*), a potenciálně také u planých druhů, jako je brusnice borůvka (*Vaccinium myrtillus*) a brusnice brusinka (*Vaccinium vitis-idaea*), které mohou představovat rezervoáry těchto patogenů. Infekce fytoplazmami se v těchto kulturách projevují snížením vitality keřů, poklesem výnosů, redukcí kvality plodů a dlouhodobým poškozením porostů, takže je nutné provádět předčasné obnovy porostů a pravidelně monitorovat a regulovat vektory.



**Obrázek 1.** Příklad stanovení senzitivity real-time PCR detekce pro jednotlivé druhy fytoplazem. Využit syntetický standard, počet kopií v reakci: 100 000 (1 vzorek), 50 000 (1 vzorek), 5 000 (1 vzorek), 500 (4 vzorky), 50 (4 vzorky) a 5 (4 vzorky). A) *Candidatus* *Phytoplasma asteris*; B) *Candidatus* *Phytoplasma pruni*; C) cranberry false blossom phytoplasma; D) *Candidatus* *Phytoplasma solani*

Nejvýznamnější fytoplazmou u brusnic je *Candidatus* *Phytoplasma asteris*, původce zakrslosti brusnice (blueberry stunt disease). Onemocnění se projevuje zkrácením internodií, což vede k zakrnělému vzhledu keřů s hustým větvením. Typickými příznaky jsou také mírně dolů prohnuté listy s chlorotickými okraji, které se později barví do červena, a opožděné či zcela chybějící dozrávání plodů. Symptomy mohou být v počátečních fázích nenápadné a snadno zaměnitelné s fyziologickými poruchami, což ztěžuje včasnou identifikaci (Hammond, 2021).

U klikvy velkoplodé je fytoplazmovým patogenem cranberry false blossom phytoplasma. Infekce způsobuje typické deformace květů, zvětšení kališních lístků, zkrácení a zbarvení okvětních lístků (Lee, 2014). Infikované rostliny nelze léčit, a je proto nutné jejich odstranění, což přispívá k ekonomickým ztrátám.

Testování fytoplazem u rodu *Vaccinium* má zásadní význam nejen pro ochranu rostlin, ale i pro ekonomickou stabilitu pěstování, šlechtění a mezinárodní obchod. Vzhledem k rostoucí poptávce po borůvkách a brusinkách je udržení zdravých porostů klíčové. Protože napadené rostliny nelze uzdravit, jediným účinným opatřením je včasná a přesná diagnostika, zejména pomocí real-time PCR, která umožňuje odstranění infikovaných rostlin dříve, než se infekce rozšíří, a zároveň je možné detekovat fytoplazmy i v asymptomatických rostlinách, což je klíčové pro výběr zdravého výchozího materiálu v návaznosti na certifikační schéma (Hammond, 2021). Význam pravidelného monitoringu podtrhuje i studie Arocha-Rosete (2019), která upozorňuje na nutnost testování i asymptomatických rostlin a na riziko šíření infekce prostřednictvím vektorů.

Detekce fytoplazem u rodu *Vaccinium* je zpravidla založena na metodě nested PCR využívající univerzální primery cílené na gen 16S rRNA (např. P1/P7 a R16F2n/R16R2). Tato metoda byla úspěšně aplikována při průzkumech výskytu u brusnic (Lee, 2014; Arocha-Rosete, 2019). Nested PCR poskytuje vysokou citlivost, ale její nevýhodou je časová náročnost, riziko kontaminace a v případě potřeby určení konkrétního druhu fytoplazmy je nutné provést následné sekvenování nebo specifický test, což omezuje její využití v rutinním testování.

Z těchto důvodů se stále více prosazuje kvantitativní real-time PCR (qPCR), která je citlivější a zároveň umožňuje kvantifikovat množství patogenu. Studie Demeuse (2016) ukázala vyšší senzitivitu qPCR (4,6 % pozitivních vzorků) ve srovnání s nested PCR (2,2 %) při detekci *Ca. P. asteris* v hmyzích vektorech. Pro efektivní detekci blueberry stunt phytoplasma u *V. corymbosum* byly vyvinuty qPCR protokoly cílené na geny *cpn60* a 16S rRNA (Hammond, 2021). qPCR systém byl nedávno vyvinut i pro detekci cranberry false blossom phytoplasma (Trickle, 2025). Pro detekci *Ca. Phytoplasma pruni* a *Ca. Phytoplasma solani* jsou qPCR testy též dostupné, ale nebyly primárně validovány pro fytoplazmy brusnice.

Vedle qPCR metody se jako perspektivní nástroj ukazuje také LAMP (loop-mediated isothermal amplification). Tato metoda je technicky méně náročná, nevyžaduje cyklování teplot a umožňuje rychlou detekci i z hrubých extraktů bez purifikace DNA (Tomlinson, 2010). Zásadní pokrok přinesla práce Akahori (2024), která popisuje LAMP systém, který cílí na gen pro 23S rRNA pro univerzální detekci fytoplazem napříč různými skupinami. Tato metoda má potenciál stát se důležitým nástrojem pro rychlou diagnostiku a monitoring fytoplazmových infekcí, včetně fytoplazem brusnic, pokud bude validována.

Pro účely rostlinné diagnostiky jsou u validované metody důležité zejména dva parametry – specificita a senzitivita dané metody (PM 7/98 (5), 2021). Pro PCR metody by specificita měla být 100% a senzitivita minimálně 1 000 kopií v reakci, což námi vyvinuté real-time PCR systémy pro detekci studovaných fytoplazem splňují a jsou tak vhodné i pro akreditované laboratoře, které se zabývají profesionální diagnostikou rostlinných patogenů.

## Závěr

Pro zajištění zdravého rozmnožovacího materiálu u rodu brusnice je nezbytné provádět testování na přítomnost virů a fytoplazem, a to metodami, které jsou spolehlivé a umožňují jejich rutinní diagnostiku. Real-time PCR metodika tato kritéria splňuje, a navíc umožňuje provádět analýzy v multiplexním uspořádání. Validace real-time PCR systému pro současnou detekci všech fytoplazem v jedné PCR je předmětem dalšího výzkumu a vývoje.

## Literatura

- Akahori M, Miyazaki A, Koinuma H, Tokuda R, Iwabuchi N, Kitazawa Y, Maejima K, Namba S, Yamaji Y. Use of the 23S rRNA gene as a target template in the universal loop-mediated isothermal amplification (LAMP) of genomic DNA from phytoplasmas. *Microbiology Spectrum*. 2024; 12(5):e00106-24. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00106-24>
- Arocha-Rosete Y, Lambert L, Joly-Séguin V, Michelutti R, Schilder A, Bertaccini A. Surveys reveal a complex association of phytoplasmas and viruses with the blueberry stunt disease on Canadian blueberry farms. *Annals of Applied Biology*. 2019; 174(2):142–152. <https://doi.org/10.1111/aab.12481>
- Bagadia PG, Polashock J, Bottner-Parker KD, Zhao Y, Davis RE, Lee IM. Characterization and molecular differentiation of 16SrI-E and 16SrIX-E phytoplasmas associated with blueberry stunt disease in New Jersey. *Molecular and Cellular Probes*. 2013; 27:90–97. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2012.11.002>
- Demeuse KL, Grode AS, Szendrei Z. Comparing qPCR and nested PCR diagnostic methods for aster yellows phytoplasma in aster leafhoppers. *Plant Disease*. 2016; 100(12):2513–2519. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-15-1444-RE>
- Hammond C, Pérez-López E, Town J, Vincent C, Moreau D, Dumonceaux T. Detection of blueberry stunt phytoplasma in Eastern Canada using cpn60-based molecular diagnostic assays. *Scientific Reports*. 2021; 11(1):22118. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01439-4>
- Lee IM, Gundersen-Rindal DE, Davis RE, Bottner KD, Marcone C, Seemüller E. ‘*Candidatus Phytoplasma asteris*’, a novel phytoplasma taxon associated with aster yellows and related diseases. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2004; 54:1037–1048. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02843-0>
- Lee IM, Polashock J, Bottner-Parker KD, Bagadia PG, Rodriguez-Saona C, Zhao Y, Davis RE. New subgroup 16SrIII-Y phytoplasmas associated with false-blossom diseased cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) plants and with known and potential insect vectors in New Jersey. *European Journal of Plant Pathology*. 2014; 139–406. <https://doi.org/10.1007/s10658-014-0396-7>
- Němcová V, Buchtová I. Situační a výhledová zpráva ovoce. Praha: Ministerstvo zemědělství, 2024. <https://mze.gov.cz/public/portal/mze/-a62906---7ijUq3h4/situacni-a-vyhledova-zprava-ovoce-2024>
- PM 4/18 (1) Certification scheme Pathogen-tested material of *Vaccinium* spp. *EPPO Bulletin*. 1997; 27:195–204. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.1997.tb00636.x>
- PM 7/98 (5) Specific requirements for laboratories preparing accreditation for a plant pest diagnostic activity. *EPPO Bulletin*. 2021; 51:468–498. <https://doi.org/10.1111/epp.12780>
- Quaglino F, Zhao Y, Casati P, Bulgari D, Bianco PA, Wei W, Davis RE. ‘*Candidatus Phytoplasma solani*’, a novel taxon associated with stolbur- and bois noir-related diseases of plants. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2013; 63:2879–2894. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.044750-0>
- Rao GP, Bertaccini A, Fiore N, Liefting LW. Phytoplasmas: Plant Pathogenic Bacteria – I Characterisation and Epidemiology of Phytoplasma - Associated Diseases. Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd., 2018. ISBN 978-981-13-0119-3. <https://doi.org/10.1007/978-981-13-0119-3>

- Trickle C, Rodriguez Bonilla F, Pozas-Rodriguez EA, Guédot C, Holland LA. Spatiotemporal Detection of ‘*Candidatus Phytoplasma vaccinium* sp. witches’ broom’, the Causal Agent of Cranberry False Blossom Disease. *Phytopathology*. 2025; <https://doi.org/10.1094/PHTO-10-24-0306-R>
- Tomlinson JA, Boonham N, Dickinson M. (2010). Development and evaluation of a one - hour DNA extraction and loop - mediated isothermal amplification assay for rapid detection of phytoplasmas. *Plant Pathology*. 2010; 59(3):465–471. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2009.02233.x>

### **Poděkování**

Práce byla podpořena výzkumným projektem Národní agentury pro zemědělský výzkum (NAZV) Ministerstva zemědělství České republiky č. QL24020033.

Velké poděkování patří Lence Tůmové a Lence Křivohlávkové za jejich excelentní laboratorní podporu.

### **Kontakt**

RNDr. Radek Čmejla, Ph.D.

VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s.r.o.

Holovousy 129, 508 01 Holovousy

Telefon: 491 848 222; E-mail: [radek.cmejla@vsuo.cz](mailto:radek.cmejla@vsuo.cz)

## Korelace mykotoxinů (zearalenon, fumonisin, T-2/HT-2) v prýtu jetele lučního s úrovní napadení *Fusarium culmorum* a *Fusarium poae*

Correlation of mycotoxins (zearalenone, fumonisin, T-2/HT-2) in Red clover shoots with the level of infection by *Fusarium culmorum* and *Fusarium poae*

Dybová M.<sup>1</sup>, Trněný O.<sup>1</sup>, Neoralová M.<sup>2</sup>, Michutová M.<sup>2</sup>, Drda A.<sup>1</sup>, Prudil J.<sup>1</sup>, Staveníková J.<sup>1</sup>, Holková L.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zemědělský výzkum, spol. s r. o., <sup>2</sup>Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta

### Abstrakt

Jetel luční (*Trifolium pratense* L.) je významná píce mírného pásma, často napadaná patogenními houbami rodu *Fusarium*, které mohou produkovat toxické sekundární metabolity, mykotoxiny. Cílem této práce bylo ověřit vztah mezi úrovní infekce *F. culmorum* a *F. poae* v kořenové části a obsahem mykotoxinů (zearalenon, T-2/HT-2 a fumonisinu) v nadzemní části čtyř odrůd jetele lučního (Agil, Callisto, Start a Trubadur). Infekce byla kvantifikována metodou qPCR, hladina mykotoxinů stanovena pomocí testu ELISA. Korelační analýza neprokázala statisticky významný vztah mezi úrovní infekce a obsahem sledovaných mykotoxinů. Významný vliv však byl zaznamenán mezi odrůdami, které se lišily jak v míře infekce, tak v obsahu toxinů. Výsledky naznačují, že genetická variabilita odrůd hraje zásadní roli v rezistenci vůči infekci fuzárií a akumulaci mykotoxinů.

### Klíčová slova:

jetel luční, *Fusarium*, zearalenon, fumonisin, T-2/HT-2

### Abstract

Red clover (*Trifolium pratense* L.) is an important forage crop in temperate regions, often affected by pathogenic fungi of the genus *Fusarium*, which can produce toxic secondary metabolites, mycotoxins. The aim of this study was to assess the relationship between the level of infection by *F. culmorum* and *F. poae* in the root and the content of mycotoxins (zearalenone, T-2/HT-2 and fumonisin) in the shoot biomass of four red clover cultivars (Agil, Callisto, Start and Trubadur). Infection was quantified by the qPCR method and mycotoxin levels were determined by ELISA test. Correlation analysis did not reveal a statistically significant relationship between the infection level and the content of the studied mycotoxins. However, significant differences were found among cultivars, which varied in both infection intensity and toxin content. The results suggest that genetic variability among cultivars plays a key role in resistance to *Fusarium* infection and in mycotoxins accumulation.

### Keywords:

red clover, *Fusarium*, zearalenone, fumonisin, T-2/HT-2

### Úvod

Jetel luční (*Trifolium pratense* L.) je klíčová pícnina mírného pásma využívaná v konvenčním i ekologickém zemědělství díky schopnosti symbiotické fixace dusíku, vysokému obsahu bílkovin a dobré stravitelnosti. Jde o krátkověkou vytrvalou rostlinu (2–3 užitkové roky; Pelikán et al., 2012), jejíž vytrvalost i kvalitu píce významně ovlivňuje zdravotní stav porostu. Nejzávažnějšími biotickými činiteli jsou krčkové a kořenové hniloby způsobené houbami rodu *Fusarium*, které narušují příjem vody a živin a vedou k úhynu rostlin. Tyto patogeny představují riziko i pro hospodářská zvířata, protože během infekce produkují mykotoxiny (Bennett a Klich, 2003; Ueno, 1977).

*Fusarium* spp. produkují především trichotecény typu A a B, zearalenon (ZON) a fumonisin (FUM) (Winnie-Pui-Pui a Sabran, 2018). Trichotecény inhibují syntézu proteinů a nukleových kyselin, což vede k oxidativnímu stresu a poškození buněk (Rocha et al., 2005; Arunachalam a Doohan, 2013). Typy A (T-2, HT-2) jsou produkovány druhy *F. sporotrichioides*, *F. langsethiae* a *F. poae* (Munkvold, 2016) a jsou vysoce toxické, s prozatímním maximálním

denním příjmem 0,06 µg/kg tělesné hmotnosti (WHO, 2002). Typ B, produkovaný *F. graminearum* s.l., *F. culmorum* a *F. crookwellense*, zahrnuje deoxynivalenol (DON) s obdobným limitem (WHO, 2011).

Zearalenon je estrogenní mykotoxin produkovaný druhy komplexu *F. sambucinum*, často se vyskytující s DON (Munkvold, 2016; Crous et al., 2021). Má nízkou akutní toxicitu, ale vyvolává reprodukční poruchy (Chang et al., 1979); povolený denní příjem činí 0,5 µg/kg (WHO, 2000). Fumonisin, produkované zejména *F. verticillioides* (komplex *F. fujikuroi*), narušují biosyntézu sfingolipidů a jsou spojovány s výskytem rakoviny jícnu (Rheeder et al., 1992; Chu a Li, 1994).

Porosty bývají často infikovány více druhy rodu *Fusarium*, což ovlivňuje spektrum akumulovaných mykotoxinů (Logrieco et al., 2002; Muthomi et al., 2012). Proto je sledování vztahu mezi přítomností patogenů a hladinami mykotoxinů zásadní. V této studii byla testována hypotéza, že přítomnost *F. poae* a *F. culmorum* koreluje s obsahem mykotoxinů v nadzemní biomase jetele lučního, s cílem přispět k poznání vztahu mezi infekčním tlakem *Fusarium* spp. a bezpečností krmivářských produktů.

## **Materiál a metody**

### *Rostlinný materiál a experimentální uspořádání*

Pro tento experiment byly vybrány 4 odrůdy diploidního jetele lučního (Agil, Callisto, Start a Trubadur). Klíčovými rostlinám byla dekapitována kořenová špička a na 5 minut byly rostliny ponořeny do inokula spor ( $2 \times 10^{-4}$  spor/µl) *F. culmorum* (izolát F-553, Česká sbírka mikroorganismů) nebo *F. poae* (izolát F-169, Česká sbírka mikroorganismů). Byly připraveny také kontrolní rostliny, které po dekapitaci kořenové špičky byly na 5 minut ponořeny do sterilní destilované vody. Poté byly rostliny zasazeny do oddělených květináčů. Od každé varianty (odrůda vs. patogen) bylo inokulováno 30 rostlin a připraveno 12 kontrolních rostlin. Celkem bylo kultivováno 310 rostlin ve dvou kultivačních komorách oddělených v závislosti na inokulovaném druhu fuzária. Rostliny byly kultivovány při umělém osvětlení v režimu 12 hodin světla a 12 hodin tmy, s odpovídajícími denními a nočními teplotami 25 °C a 15 °C a intenzitou světla 400 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> PAR během světelné fáze. Po šesti týdnech od výsevu, ve fenologické fázi začátku kvetení, byly rostliny vytaženy z květináčů. Bal substrátu s postranními kořeny byl oddělen a prýt odstrižen těsně nad krčkem. Krček s kořeny byl uložen do odběrného sáčku a skladován při -20 °C až do izolace DNA, zatímco prýt byl vložen do papírového sáčku a vysušen. Vyizolovaná DNA z krčku a kořenů byla použita pro detekci patogenů metodou kvantitativní PCR (qPCR), přičemž výsledné Ct hodnoty byly následně porovnány s obsahem mykotoxinů v nadzemní biomase rostlin, stanoveným pomocí metody ELISA.

### *Zpracování a detekce nákazy kořenové části a krčků rostlin*

Izolace DNA byla provedena pomocí QIAamp PowerFecal Pro DNA Kit (Qiagen) dle návodu výrobce. Tato DNA byla naředěna vždy 10× a využita jako templátová DNA v kvantitativní PCR reakci. Na vytvoření kalibrační křivky byla využita DNA vyizolovaná z čistých kultur sledovaných patogenů. Jako negativní kontrola byla využita DNA ze zdravých neinokulovaných rostlin jetele lučního. DNA z kultur patogenů a jetele lučního byla vyizolována stejným kitem jako DNA z pletiv inokulovaných rostlin.

Vzorky byly analyzovány metodou qPCR s využitím TaqMan sond. Složení reakční směsi: LightCycler® Multiplex DNA Master 4 µl, 20× primer-probe mix 1 µl, templátová DNA 1 µl, PCR-grade voda 14 µl. Složení 20× primer-probe mixu: 20 µM forward primer 8 µl, 20 µM reverse primer 8 µl, 20 µM sonda 5 µl. Reakční podmínky qPCR: denaturace 95 °C 30 s, 40 × (denaturace 95 °C 5 s, nasedání primerů pro *F. poae* 58 °C pro *F. culmorum* 57,1 °C 12 s, elongace 72 °C 10 s). Reakce proběhly v přístroji Rotor Gene Q (Qiagen).

Sekvence primerů a sond byla následující: pro detekci *F. culmorum*: primer forward: TCA CCC AAG ACG GGA ATG A; primer reverse: GAA CGC TGC CCT CAA GCT T; sonda: 6-FAM-CAC TTG GAT ATA TTT CC (Waalwijk et al., 2004) a pro detekci *F. poae*: primer forward: GCT GAG GGT AAG CCG TCC TT; primer reverse: TCT GTC CCC CCT ACC AAG CT; sonda 6-FAM-ATT TCC CCA ACT TCG ACT CTC CGA GGA (Yli-Mattila et al., 2008). Detekce cílové DNA patogenů byla vyhodnocována na základě Ct hodnot. Pro účely statistické analýzy byly použity samotné Ct hodnoty, protože jejich rozdělení bylo přibližně normální, což umožňuje aplikaci parametrických testů.

#### *Zpracování a hodnocení nadzemní části rostlin*

Vysušená nadzemní biomasa byla nejprve homogenizována a následně analyzována na obsah mykotoxinů pomocí metody ELISA podle standardního postupu výrobce kitu (Bio-Shield). V pilotním experimentu bylo zpracováno 5 rostlin inokulovaných *F. culmorum* a 5 rostlin inokulovaných *F. poae*, přičemž byl sledován obsah čtyř mykotoxinů: deoxynivalenolu, zearalenonu, T-2/HT-2 a fumonisinu. Na základě těchto výsledků (Tabulka 1) byly pro následnou analýzu vybrány nejvíce abundantní mykotoxiny: u rostlin infikovaných *F. culmorum* zearalenon a fumonisin, a u rostlin infikovaných *F. poae* zearalenon a T-2/HT-2. Obsah mykotoxinů je uváděn v jednotkách ppb, což odpovídá µg/kg.

#### *Statistické vyhodnocení*

Vztah mezi obsahem mykotoxinů a úrovní napadení patogenem byl hodnocen jako závislost množství mykotoxinu ve vzorku na Ct hodnotě qPCR patogenu. Data, která vykazovala přibližně normální rozdělení, byla analyzována pomocí parametrických metod. Pro vyhodnocení vztahu mezi mykotoxinem ZON a Ct hodnotami u infekce *F. culmorum*, stejně jako mezi Ct hodnotami infekce *F. poae* a mykotoxiny ZON a T-2/HT-2, byla použita Pearsonova korelační analýza s testem významnosti. Při posuzování vlivu odrůdy na výsledky Ct napadení u *F. culmorum* a *F. poae*, stejně jako při hodnocení vlivu odrůdy na obsah mykotoxinů ZON a T-2/HT-2, byla použita analýza rozptylu (ANOVA). V případech, kdy ANOVA prokázala statisticky významný rozdíl, byl následně aplikován Tukeyho post-hoc test. Výsledky byly vizualizovány pomocí sloupcových grafů s vyznačenými 95% konfidenčními intervaly průměru. Pro porovnání Ct hodnot dvou skupin fusarií byl použit t-test.

Hodnoty obsahu FUM u *F. culmorum* vykazovaly pravostranně orientované rozložení, přičemž většina měřených hodnot (80 %) byla nulová a pouze 20 % vzorků byla pozitivní na FUM. Z tohoto důvodu byly hodnoty převedeny na binární charakter. Pro vyhodnocení vztahu mezi úrovní infekce a detekcí mykotoxinu byl v tomto případě použit t-test. V případě analýzy vlivu odrůdy na výskyt FUM byl použit  $\chi^2$  test. Analýza výsledků probíhala v statistickém jazyce R. Ve všech analýzách studie byla za statisticky významnou považována hladina významnosti  $p < 0,05$ .

## **Výsledky**

### *Výběr testovaných mykotoxinů*

Nejprve bylo v pilotním experimentu metodou ELISA testováno 10 rostlin, po jedné rostlině od každé varianty (od každé odrůdy a inokula) a jedna kontrolní rostlina. Na základě metodiky (Skládanka a kol., 2017) byl zjišťován obsah DON, ZON, T-2/HT-2 toxinů a FUM. DON byl stanoven u poloviny rostlin, u druhé poloviny rostlin byl jeho obsah pod hranicí detekce sady. ZON byl detekován u všech rostlin, a v některých případech byl jeho obsah tak vysoký, že tvořil více než 80 % maximální detekce sady. T-2/HT-2 toxiny byly detekovány u dvou rostlin inokulovaných *F. culmorum* a u třech rostlin inokulovaných *F. poae*. Jeho obsah byl v rozmezí 19,24 až 26,48 % z maximální schopnosti detekce sady. FUM byl detekován pouze u rostlin inokulovaných *F. culmorum*, jeho obsah výrazně převyšoval obsah DON a pohyboval se

v rozmezí 23,67 až 38,67 % maximální schopnosti detekce sady. Na základě těchto výsledků (Tabulka 1) bylo stanoveno, že se budou testovat u rostlin inokulovaných *F. culmorum* mykotoxiny ZON a FUM, u rostlin inokulovaných *F. poae* mykotoxiny ZON a T-2/HT-2 a mykotoxin DON dále nebude analyzován.

Tabulka 1: Hladiny mykotoxinů u 10 testovaných rostlin. Procenta vyjadřují vztah detekovaného množství mykotoxinu k maximální schopnosti kvantifikace sady.

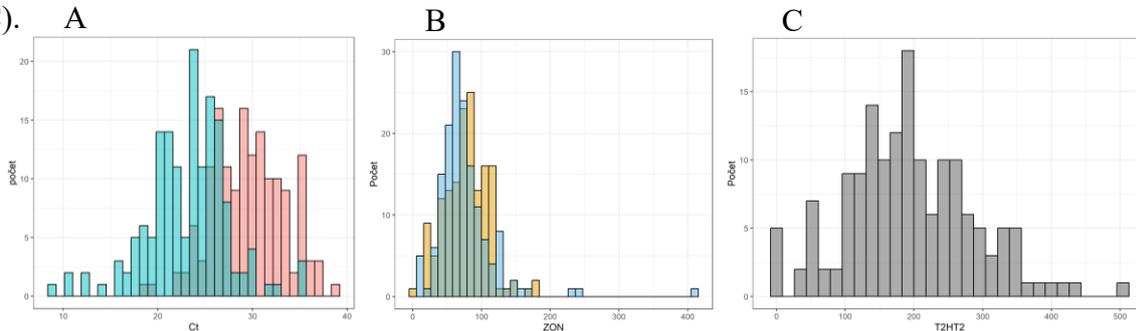
	DON		ZON		T-2/HT-2		FUM	
rozsah kvantifikace	100 – 5 000 ppb		25 – 500 ppb		20 – 500 ppb		200 – 6 000 ppb	
vzorek	ppb	%	ppb	%	ppb	%	ppb	%
CA1	<100	0	85,9	17,18	125,4	25,08	2160	36
CC1	564	11,28	99	19,8	113	22,6	1420	23,67
CST1	284	5,68	54,2	10,84	<20	0	2320	38,67
CT1	242	4,84	147	29,4	<20	0	1838	30,63
KA13	<100	0	120,4	24,08	<20	0	1810	30,17
PA12	<100	0	242	48,4	132,4	26,48	<200	0
PC28	<100	0	171,6	34,32	96,2	19,24	<200	0
PST28	<100	0	232	46,4	<20	0	<200	0
PT2	306	6,12	161,6	32,32	<20	0	<200	0
KA12	542	10,84	410	82	116,2	23,24	<200	0

*Stanovení hladiny patogenů F. culmorum a F. poae metodou qPCR a míra jejich korelace s detekovanými mykotoxiny*

Detekce patogenů byla provedena metodou qPCR specifickou pro sledované druhy. Výsledky byly vyjádřeny jako Ct hodnoty (threshold cycle), které představují prahovou linii amplifikace pro daný patogen ve fázi exponenciálního růstu metody qPCR. Naměřené Ct hodnoty pro oba patogeny vykazují, dle histogramu (Graf 1A), téměř normální rozdělení, avšak jejich průměry se statisticky liší u rostlin sledovaných na napadení *F. culmorum* a napadení *F. poae* (t-test,  $p < 0,05$ ). U hladin mykotoxinů ZON a T-2/HT-2 byla rovněž prokázána přibližně normální distribuce (Grafy 1B a 1C). Pro zhodnocení vztahu mezi úrovní infekce a obsahem těchto mykotoxinů byla použita Pearsonova korelační analýza. Žádný z vypočtených korelačních koeficientů však nebyl statisticky významný ( $p > 0,05$ ), což naznačuje, že mezi úrovní infekce a obsahem ZON a T-2/HT-2 nebyla prokázána přímá souvislost. V případě mykotoxinu FUM vykazovaly naměřené hodnoty silně pravostranně orientované rozložení, přičemž přibližně 80 % vzorků mělo nulovou hodnotu. Z tohoto důvodu byly hodnoty převedeny na binární charakter (pozitivní/negativní detekce FUM). Vztah mezi přítomností FUM a úrovní infekce byl hodnocen t-testem, který rovněž neprokázal statisticky významný rozdíl ( $p > 0,05$ ).

Celkově lze tedy konstatovat, že u žádného z analyzovaných mykotoxinů (ZON, T-2/HT-2, FUM) nebyla zjištěna statisticky významná souvislost mezi jejich obsahem v nadzemní biomase a mírou infekce sledovanými patogeny. Tyto výsledky naznačují, že úroveň infekce nemusela být primárním faktorem určujícím akumulaci mykotoxinů v rostlinách v podmínkách provedeního experimentu.

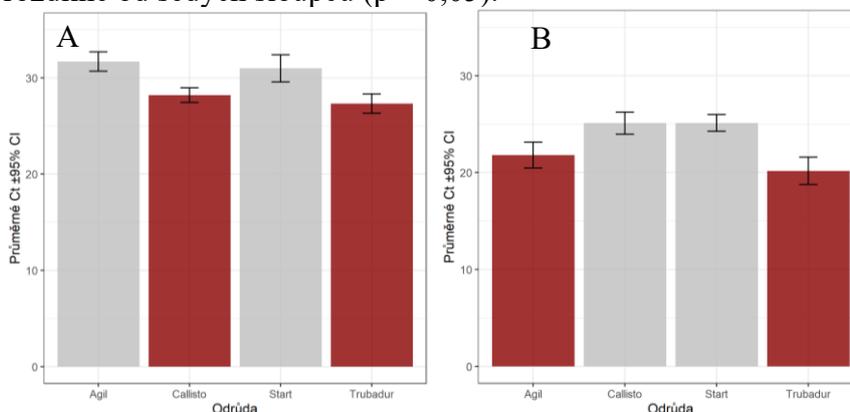
Graf 1: Histogramy Ct hodnot *F. culmorum* a *F. poae* (A; modrá – *F. poae*; růžová – *F. culmorum*); obsahu zearalenonu v rostlinách inokulovaných *F. culmorum* nebo *F. poae* (B; modrá – *F. poae*; žlutá – *F. culmorum*) a obsahu T2HT2 v rostlinách inokulovaných *F. poae* (C).



Vzhledem k absenci statisticky významných korelací mezi úrovní infekce a obsahem sledovaných mykotoxinů byly dále analyzovány další faktory experimentu, které mohly ovlivnit výsledky. Byl zkoumán vliv druhu patogena (*F. culmorum* versus *F. poae*) na obsah mykotoxinu ZON, protože tento mykotoxin byl sledován u obou nakažených skupin. Ani v tomto případě však nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl v obsahu ZON mezi rostlinami inokulovanými *F. culmorum* a těmi inokulovanými *F. poae* (t-test,  $p > 0,05$ ; Graf 1B).

Hlavním faktorem ovlivňujícím úroveň infekce i obsah mykotoxinů byl sledován vliv odrůdy hodnocených rostlin, který byl testován analýzou rozptylu. Vliv odrůdy na míru infekce obou patogenů byl statisticky významný (ANOVA,  $p < 0,05$ ). U infekce *F. culmorum* (Graf 2A) se jako odolnější projeví odrůdy Agil a Start, zatímco odrůdy Callisto a Trubadur vykazovaly signifikantně nižší Ct hodnoty, což odpovídá vyšší úrovni infekce. Párové porovnání Tukeyho testem jasně oddělilo odolné odrůdy Agil a Start od náchylnějších odrůd Callisto a Trubadur ( $p < 0,05$ ). Také u infekce *F. poae* (Graf 2B) byly zjištěny významné odrůdové rozdíly (ANOVA,  $p < 0,05$ ). Za odolnější se v tomto případě jeví odrůdy Callisto a Start, zatímco odrůdy Agil a Trubadur dosahovaly signifikantně nižších Ct hodnot, odpovídajících vyšší úrovni infekce (Tukeyho test,  $p < 0,05$ ). Navíc exponenciální povaha Ct hodnot znamená, že i malé průkazné rozdíly představují velké rozdíly v množství cílové DNA patogenu, neboť každý cyklus odpovídá přibližně dvojnásobné změně v počáteční koncentraci amplifikované cílové sekvence patogenu.

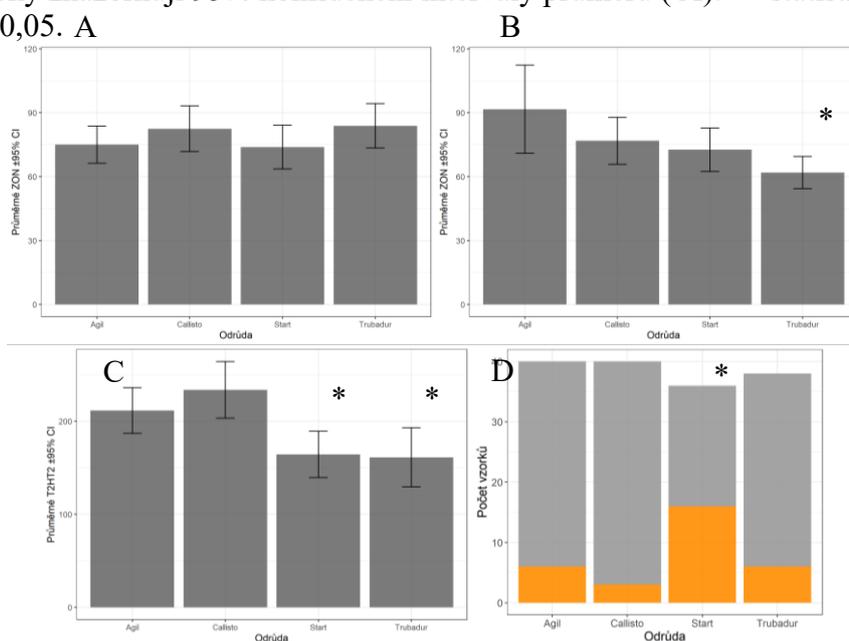
Graf 2: Průměrné Ct hodnoty v rámci jednotlivých odrůd jetele lučního, inokulace *F. culmorum* (A), inokulace *F. poae* (B). Šedá – nižší úroveň infekce; červená – vyšší úroveň infekce. Chybové úsečky znázorňují 95% konfidenční intervaly průměru (CI). Červené sloupce jsou signifikantně rozdílné od šedých sloupců ( $p < 0,05$ ).



Také pro určení vlivu odrůd na hodnoty mykotoxinů byla využita ANOVA. Signifikantní vliv odrůdy (ANOVA,  $p < 0,05$ ) byl sledován na úroveň mykotoxinu FUM v případě infekcí *F. culmorum* a na úroveň mykotoxinů ZON a T-2/HT-2 v případě infekcí *F. poae*. U rostlin

inokulovaných *F. culmorum* nebyl vliv odrůdy na hladinu ZON signifikantní (Graf 3A). V případě mykotoxinu ZON byl rozdíl signifikantní (tukeyho test,  $p < 0,05$ ) pouze mezi odrůdami Agil a Trubadur u rostlin inokulovaných *F. poae* (Graf 3B). Obsah T-2/HT-2 toxinů (Graf 3C) byl statisticky významně nižší u odrůd Start a Trubadur oproti odrůdě Callisto (tukeyho test,  $p < 0,05$ ). U mykotoxinu FUM v rostlinách inokulovaných *F. culmorum* (Graf 3D) byl zjištěn statisticky významný rozdíl v podílu pozitivních vzorků mezi odrůdami ( $\chi^2$  test,  $p < 0,05$ ). FUM byl detekován celkově u 20 % rostlinných vzorků. Nejvyšší podíl vzorků s detekovaným FUM byl u odrůdy Start (44 %), zatímco u ostatních odrůd byl podíl pozitivních vzorků výrazně nižší (7-16 %). Nejnižší detekovaná hodnota byla 400 ppb a nejvyšší 2320 ppb. Přičemž u třech čtvrtin pozitivních vzorků se hodnoty pohybovaly do 1000 ppb.

Graf 3: Průměrné hodnoty [ppb] ZON (A, B), T-2/HT-2 toxinů (C) a počet rostlin s detekovaným obsahem FUM (D) v rámci odrůd. Rostliny inokulované *F. culmorum* (A, D), rostliny inokulované *F. poae* (B, C). Žlutá – detekovaný FUM, šedá nedetekovaný FUM (D). Chybové úsečky znázorňují 95% konfidenční intervaly průměru (CI). \* – statisticky významný rozdíl na  $\alpha = 0,05$ . A



## Diskuze

V této studii byly sledovány souvislosti mezi výskytem *F. culmorum* a *F. poae* u čtyř odrůd jetele lučního (Agil, Callisto, Start, Trubadur) a hladinou mykotoxinů, které tyto patogeny produkují. Mykotoxiny byly vybrány s ohledem na jejich výskyt u sledovaných druhů fuzárií (Skládanka et al. 2017, Pasquali et al., 2016; Vandicke et al., 2019). Analýza se zaměřila na T-2, HT-2, DON, ZON a FUM. Na základě pilotního testování byly pro celkové testování zvoleny ZON a FUM u rostlin inokulovaných *F. culmorum* a ZON a T-2/HT-2 u rostlin inokulovaných *F. poae*. Detekce ZON a T-2/HT-2 odpovídá literatuře (Munkvold, 2016; Pasquali et al., 2016), zatímco výskyt FUM u druhů komplexu *F. sambucinum*, kam patří i *F. culmorum*, nebyl dosud popsán (Leslie a Summerell, 2006; Munkvold, 2016; Vandicke et al., 2019). K detekci patogenů byla použita kvantitativní PCR s TaqMan sondami (Fredlund et al., 2010). Nebyla prokázána korelace mezi hladinou mykotoxinů a množstvím patogenu (Ct hodnoty), což odpovídá zjištěním Fredlund et al. (2010) a Vandicke et al. (2019). Roli mohla hrát absence environmentálních stresorů v kontrolovaných podmínkách, které běžně podporují vyšší tvorbu mykotoxinů. Proto sledovaný rozsah jejich hladin mohl spíše odpovídat hodnotám typickým pro optimální podmínky růstu a nemusel reflektovat přirozené podmínky růstu.

Na druhou stranu, hlavním faktorem ovlivňujícím míru infekce i hladinu mykotoxinů byla odrůda. Nižší obsah T-2/HT-2 byl zjištěn u odrůd Start a Trubadur, zatímco u odrůdy Callisto byla navzdory vyšší odolnosti vůči infekci detekována vyšší hladina těchto toxinů. Vliv odrůdové příslušnosti tak odráží genetickou variabilitu druhu. Při infekci *F. culmorum* nebyl pozorován významný vliv odrůdy na hladinu ZON, přestože průměrné Ct hodnoty naznačovaly nižší množství patogenu než u *F. poae*. Naopak u infekce *F. poae*, která vykazovala nižší Ct hodnoty (tedy vyšší množství patogenu), se projevily významné odrůdové rozdíly v hladinách ZON: odrůda Agil vykazovala vyšší, zatímco odrůda Trubadur nižší hodnoty. Zajímavé je, že u odrůdy Trubadur tyto výsledky nekorrespondují s její náchylností k *F. poae*, kdy byla nejvíce napadená, ale obsah ZON byl přesto nejnižší. Tento rozdíl mezi patogeny lze vysvětlit jejich rozdílnou agresivitou a evolučními dopady. *F. culmorum* je agresivnější a vysoce virulentní patogen (Tan et al., 2020), což mohlo vést k silnější přirozené selekci hostitele proti jeho působení. Proto se i při nižším množství DNA (vyšší Ct) indukují relativně homogenní hladiny ZON napříč odrůdami. Naproti tomu *F. poae* vykazuje nižší virulenci (Stenglein et al., 2014; Khanal et al., 2024), takže jeho přítomnost rostlinu méně poškozuje a odrůdově specifické rozdíly v reakci hostitele se mohou projevit výrazněji ve vyšší míře kolonizace (nižší Ct) a větších rozdílech v hladinách ZON mezi odrůdami.

Z hlediska limitů mykotoxinů odrůdy Agil a Callisto překročily koncentrace T-2 a HT-2 toxinů hranici 200 µg/kg stanovenou pro potraviny a krmiva, zatímco u odrůd Start a Trubadur zůstaly hodnoty v normě. Obsahy ZON a FUM nepřesáhly 100 µg/kg a splňovaly limity stanovené Evropskou komisí pro potraviny i krmiva (Evropská komise, 2013).

Na rozdíl od majoritních plodin, jako je pšenice, je jetele luční cizosprašný druh, což znamená, že jeho přirozený genotypový profil je vysoce heterozygotní. Analýza genetické diverzity jetele lučního prokázala, že více než polovina celkové genetické variability (přes 50 %) se nachází uvnitř jednotlivých genetických původů, zatímco rozdíly mezi širšími genetickými skupinami i mezi jednotlivými původy v rámci těchto skupin představují pouze menší podíl z celkové variability (Jones et al., 2020). Z těchto poznatků lze usuzovat, že i když mezi odrůdami existují zjevné rozdíly v míře infekce a obsahu mykotoxinů, značná část fenotypové variability může být dále vysvětlena genetickou diverzitou skrytou uvnitř jednotlivých odrůd. Značná vnitroodrůdová fenotypová variabilita je známým charakterem odrůd jetele lučního a umožňuje dobrý výchozí potenciál pro selekci sledovaných znaků, čehož je u jetele lučního často využíváno například při selekci na úroveň fixace dusíku (Trněný et al. 2019) nebo samotnou odolnost k vybraným houbovým chorobám (Staveníková a kol., 2025).

## Závěr

Studie prokázala existenci odrůdových rozdílů v citlivosti jetele lučního k infekci *F. culmorum* a *F. poae* i v obsahu sledovaných mykotoxinů, přičemž nebyla zjištěna přímá korelace mezi úrovní infekce a koncentrací mykotoxinů v nadzemní biomase. To naznačuje, že akumulace mykotoxinů je komplexně ovlivňována nejen přítomností patogenu a fyziologickými a environmentálními faktory, ale i interakcí s genetickou výbavou rostlin. Získané výsledky potvrzují význam genotypové variability jetele lučního pro selekci nových odrůd s vyšší úrovní odolnosti vůči fuzáriím.

## Literatura

- ARUNACHALAM C., DOOHAN F.M. (2013) Trichothecene toxicity in eukaryotes: cellular and molecular mechanisms in plants and animals. *Toxicol Lett* 217(2):149–158 61. Beasley VR, Swanson SP, Corley RA. doi: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2012.12.003>
- BENNETT J. W. a KLICH M. (2003) Mycotoxins, *Clinical Microbiology Reviews*, 16(3): 497-516. doi: 10.1128/CMR.16.3.497-516.2003
- CHU F. S. a LI G. Y. (1994) Simultaneous occurrence of fumonisin B1 and other mycotoxins in moldy corn collected from the People's Republic of China in regions with high incidences of esophageal

- cancer. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(3): 847-852. doi: 10.1128/aem.60.3.847-852.1994
- CHANG K., KURTZ H. J. a MIROCHA C. J. (1979) Effects of the mycotoxin zearalenone on swine reproduction. *American Journal of Veterinary Research*, 40(9): 1260-1267. doi: 10.2460/ajvr.1979.40.09.1260
- CROUS P. W., LOMBARD L., SANDOVAL-DENIS M., SEIFERT K. A., SCHROERS H.-J., et al. (2021) *Fusarium*: more than a node or a foot-shaped basal cell. *Studies in Mycology*, 98: 100116. doi: 10.1016/j.simyco.2021.100116
- Evropská komise (2013) 2013/165/EU: Commission Recommendation of 27 March 2013 on the presence of T-2 and HT-2 toxin in cereals and cereal products. OJ L 91, s. 12-15. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/En/TXT/?uri=celex%3A32013H0165>. [citováno 2025-10-24].
- FREDLUND E., GIDLUND A., PETTERSSON H., OLSEN M. a BÖRJESSON T. (2010) Real-time PCR detection of *Fusarium* species in Swedish oats and correlation to T-2 and HT-2 toxin content. *World Mycotoxin Journal*, 3(1): 77-88. doi: 10.3920/WMJ2009.1179
- JONES, C., DE VEGA, J., LLOYD, D., HEGARTY, M., AYLING, S., POWELL, W. a kol. (2020) Population structure and genetic diversity in red clover (*Trifolium pratense* L.) germplasm. *Scientific Reports*, 10: 8364. doi: 10.1038/s41598-020-64989-z
- KHANAL, R., HUDSON, K., FOSTER, A., WANG, X., BRAUER, E.K., WITTE, T.E. a OVERY, D.P. (2024) Pathogenicity and metabolomic characterization of *Fusarium graminearum* and *Fusarium poae* challenge in barley under controlled conditions. *Journal of Fungi (Basel)*, 10(10): 670. doi: 10.3390/jof10100670
- LESLIE J.F., SUMMERELL B.A. (2006) The *Fusarium* laboratory manual. Blackwell, Ames, Iowa
- MUNKVOLD G. P. (2016). *Fusarium* species and their associated mycotoxins. In: Moretti A., Susca A. (Eds.) *Mycotoxigenic Fungi. Methods in Molecular Biology*, vol 1542. Humana Press, New York, NY, USA. Str.: 51-106. Online ISBN: 978-1-4939-6707-0.
- MUTHOMI J. W., MUSYIMI S. L., WAGACHA J. M. a NARLA R. D. (2012) Occurrence of *Fusarium* species and associated T2-toxin in Kenyan wheat. *Agricultural Sciences*, 3(1): 24-34. doi: 10.4236/as.2012.31005
- PASQUALI M., COCCO E., GUIGANRD C. a HOFFMANN L. (2016) The effect of agmatine on trichothecene type B and zearalenone production in *Fusarium graminearum*, *F. culmorum* and *F. poae*. *PeerJ*, 4: e1672. doi: 10.7717/peerj.1672
- RHEEDER J. P., MARASAS W. F. O., THIEL E. W., SYDENHAM E. W., SHEPHARD G. S. a VAN SCHALKWYK D. J. (1992) *Fusarium moniliforme* and fumonisins in corn in relation to human esophageal cancer in Transkei. *Phytopathology*, 82(3): 353-357. doi: 10.1094/Phyto-82-353
- ROCHA O., ANSARI K., DOOHAN F.M. (2005) Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells: a review. *Food Additives and Contaminants*, 22(4): 369-378. doi: 10.1080/02652030500058403
- SKLÁDANKA J., KNOTOVÁ D., MIKYSKA F., PELIKÁN J., ADAM V., DOHNAL V., KONEČNÁ K., BALABÁNOVÁ M., HODULÍKOVÁ L., HORKÝ P. a MLEJNKOVÁ V. (2017) Metodika výroby zdravotně bezpečných siláží z bílkovinných píceň v nepříznivých povětrnostních podmínkách. Metodika 40/2017. Agriprint, s. r. o., Olomouc. ISBN 978-80-88000-19-8.
- STAVENÍKOVÁ J., TRNĚNÝ O., DRDA A., DYBOVÁ M. (2025) Odolnost k napadení fusárií u jetele lučního v in vitro podmínkách pro potřeby genetického mapování. *Úroda* 12, roč. LXXIII, vědecká příloha.
- STENGLEIN, S.A., DINOLFO, M.I., BARROS, G., BONGIORNO, F., CHULZE, S.N. a MORENO, M.V. (2014) *Fusarium poae* pathogenicity and mycotoxin accumulation on selected wheat and barley genotypes at a single location in Argentina. *Plant Disease*, 98(12): 1733-1738. doi: 10.1094/PDIS-02-14-0182-RE
- TAN, J., AMEYE, M., LANDSCHOOT, S., DE ZUTTER, N., DE SAEGER, S., DE BOEVRE, M., ABDALLAH, M.F., VAN DER LEE, T., WAALWIJK, C. a AUDENAERT, K. (2020) At the scene of the crime: new insights into the role of weakly pathogenic members of the *Fusarium* head blight disease complex. *Molecular Plant Pathology*, 21(12): 1559-1572. doi: 10.1111/mpp.12996
- TRNĚNÝ, O., VLK, D., MACKOVÁ, E., MATOUŠKOVÁ, M., ŘEPKOVÁ, J., NEDĚLNÍK, J., HOFBAUER, J., VEJRAŽKA, K., JAKEŠOVÁ, H., JANSÁ, J., PIÁLEK, L. a KNOTOVÁ, D.

- (2019) Allelic variants for candidate nitrogen fixation genes revealed by sequencing in red clover (*Trifolium pratense* L.). *International Journal of Molecular Sciences*, 20(21): 5470. doi: 10.3390/ijms20215470.
- UENO Y. (1977) Mode of action of trichothecenes. *Pure and Applied Chemistry*, 49(11): 1973-1745. doi: 10.1351/pac197749111737
- WHO (2000) Safety evaluation of certain mycotoxins in food. Fifty-third report of FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series 896, Ženeva. Dostupné z: <https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/a8797edf-69ab-4d1d-afa8-241188e5e2fe/content>. [citováno 2025-10-24].
- WHO (2002) Evaluation of certain mycotoxins in food. Fifty-sixth report of the joint FAO/WHO expert committee on food additives. WHO Technical Report Series 906, Ženeva. Dostupné z: <https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/d4db2436-bca2-4ec8-8cbe-2c864dfc8029/content>. [citováno 2025-10-24].
- WHO (2011) Evaluation of certain contaminants in food. Seventy-second report of the Joint FAO/WHO expert committee on food additives. WHO Technical Report Series 959, Ženeva. Dostupné z: <https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/cf852bd0-d911-4d9d-a3d1-3b022827a7ec/content>. [citováno 2025-10-27].

### **Poděkování**

Tento výsledek byl vytvořen za podpory Technologické agentury ČR v rámci projektu TQ03000327 a za podpory Ministerstva zemědělství ČR (MZE-RO1725).

### **Kontaktní adresa**

Mgr. Magdaléna Dybová  
Zemědělský výzkum, spol. s r. o.  
Zahradní 400/1, 664 41 Troubsko  
+420 547 138 810, [dybova@vupt.cz](mailto:dybova@vupt.cz)



## Hodnocení účinku plazmatem aktivované vody proti bakterii *Pectobacterium atrosepticum*

Evaluation of the effect of plasma activated water against the bacterium *Pectobacterium atrosepticum*

Jílková B.<sup>1</sup>, Víchová J.<sup>1</sup>, Rodopská S.<sup>1</sup>, Kmoch M.<sup>2</sup>, Loubová V.<sup>2</sup>, Maršálková E.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Ústav pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně, <sup>2</sup>Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o., <sup>3</sup>Botanický ústav Akademie věd ČR, v.v. i

### Abstrakt

*Pectobacterium atrosepticum* je původcem onemocnění rostlin a hlíz bramboru způsobující významné hospodářské škody. Možnosti chemické ochrany jsou značně omezené, proto se hledají jiné alternativy. Rostliny bramboru odrůdy 'Red Anna' byly několikrát ošetřeny v různých kombinacích (moření, foliární aplikace) plazmatem aktivovanou vodou a úč. l. chitosan hydrochlorid. Chemickou kontrolou byla úč. l. hydroxid měďnatý. Stonky bramboru byly seříznuty a vloženy na 30 min do bakteriální suspenze o koncentraci 0,5 či 0,05 McF a poté byly inkubovány v čisté vodě. Hodnocení probíhalo po 2, 3 a 5 dnech. Mezi 2. až 5. dnem hodnocení byl viditelný rychlý nárůst infekce, přičemž 2. den byly všechny varianty odlišné od pozitivní kontroly, 3. den už pouze ošetření PAW 50 + chito při koncentraci 0,5 McF a PAW 50 + chito, PAW + chito, chito a PAW při koncentraci 0,05 McF. Pátý den bylo zaznamenáno u většiny variant odumírání rostlin.

### Klíčová slova:

chitosan hydrochlorid, pektinolytická bakterie, plazmatem aktivovaná voda (PAW), *Solanum tuberosum*

### Abstract

*Pectobacterium atrosepticum* is the causative agent of plant and potato tuber disease causing significant economic damage. Chemical control options are very limited, so other alternatives are being sought. Potato plants of the 'Red Anna' variety were treated with plasma-activated water and chitosan hydrochloride in various combinations. The chemical control was copper hydroxide. Potato stems were cut and placed in a bacterial inoculum with a concentration of 0.5 or 0.05 McF and then incubated in clean water. Evaluations were performed after 2, 3, and 5 days. Between the 2nd and 5th day of evaluation, a rapid increase in infection was visible, with all variants differing from the positive control on the 2nd day, and on the 3rd day only the treatments with PAW 50 + chito at a concentration of 0.5 McF and PAW 50 + chito, PAW + chito, chito and PAW at a concentration of 0.05 McF. On the fifth day, plant death was observed in most variants.

### Keywords:

chitosan hydrochloride, pectinolytic bacteria, plasma-activated water (PAW), *Solanum tuberosum*

### Úvod

Brambory (*Solanum tuberosum* L.) patří mezi nejvýznamnější hlíznaté plodiny světa a z hlediska pěstovaných ploch i celkové produkce zauímají páté místo mezi potravinářsky významnými plodinami (FAO, 2025). Světová produkce brambor dlouhodobě roste, zejména v rozvojových zemích. Přesto se odhaduje, že až 22 % sklizně je každoročně ztraceno v důsledku virových, bakteriálních a houbových chorob či působením škůdců (Vacek et al., 2022).

Bakteriální černání stonku a měkká hniloba hlíz patří v našich podmínkách k nejčastějším chorobám bramboru, které způsobují značné hospodářské ztráty. Původci těchto onemocnění jsou bakterie *Pectobacterium atrosepticum*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* a *Dickeya solani*. Tyto patogeny produkují pektolytické enzymy rozkládající buněčná pletiva, což vede k jejich měknutí a rozkladu, často doprovázenému charakteristickým zápachem. *P. atrosepticum* je hlavním původcem měkké hniloby hlíz na poli i při skladování a může způsobovat také černou hnilobu stonku („černou nohu“). Patogen přežívá v hlízách a

posklizňových zbytcích. K infekci dochází zejména přes lenticely nebo mechanická poškození, šíření probíhá kontaktem či infikovanou sadbou (Víchová, 2020).

Plazmatem aktivovaná voda (PAW) představuje inovativní technologii založenou na expozici vody nízkoteplotnímu plazmatu, při níž vznikají reaktivní formy kyslíku a dusíku (RONS). Tyto reaktivní částice a jejich stabilní produkty, jako peroxid vodíku, dusitany, dusičnany či ozon, vykazují výraznou biocidní a oxidační aktivitu. Chemické složení PAW se liší v závislosti na typu plazmového zdroje, době expozice a charakteru použité vody. Díky širokospektrálnímu antimikrobiálnímu účinku, absenci chemických reziduí a schopnosti indukovat fyziologické obranné reakce rostlin představuje PAW perspektivní nástroj udržitelné ochrany rostlin a potenciální alternativu ke konvenčním pesticidům (Rodopská, 2024). PAW použitá v tomto experimentu byla připravena pomocí patentovaného zařízení 'CaviPlasma', které kombinuje hydrodynamickou kavitaci a elektrický výboj (Rudolf et al., 2020).

Z přírodní látky chitin se specifickými postupy získává kationtový polymer chitosan a následně jeho sůl chitosan hydrochlorid (Du et al., 2009). Chitosan hydrochlorid se používá ochraně rostlin jako biostimulant a elicitor, který v rostlinném těle aktivuje přirozenou obranyschopnost proti bakteriálním a houbovým činitelům. Zvyšuje také produkci chitinázy a peroxidázy a zlepšuje pevnost buněčných stěn. Používá se pro moření semen či postřik u celé řady plodin (He et al., 2018).

### Materiál a metody

Předklíčené hlízy brambor odrůdy 'Red Anna' (Ovo-Sadba spol. s r.o.) byly vysazeny do plastových květináčů o průměru 19 cm. V jedné variantě bylo 12 květináčů. Před výsadbou byly hlízy mořeny v roztoku látek přírodního původu a kontrolních variantách – hydroxidu měďnatém a vodě (Tab. 1) po dobu 30 min. Po výsadbě byla zemina zalita 200 ml roztoku dané testované látky. Rostliny byly pěstovány ve venkovním prostředí v zastřešené kóji v období 4. 6. – 9. 7. 2025 a byly pravidelně zalévány 200 ml vody. Po 14 dnech od výsadby byl na listy rostlin aplikován postřik dané testované látky (25 ml/květináč) a také zemina byla zalita roztokem dané látky (16 ml/květináč) (Tab. 1). Za dalších 14 dnů byla aplikace stejným způsobem zopakována. Týden po poslední aplikaci byly stonky o délce cca 15 cm seříznuty. Z každého varianty bylo odebráno 20 stonků.

Testovaná pektinolytická bakterie *Pectobacterium atrosepticum* (Pa; kmen CPPB 83, VÚRV Praha-Ruzyň) byla kultivována 48 h na King B mediu za optimální teploty 26 °C. Z daného kmene bakterie byla připravena inokulační suspenze o koncentracích 0,5 a 0,05 McFarlandovy zákalové stupnice (McF).

Stonky byly namočeny po dobu 30 min do kádinky se 100 ml inokula bakterie. Poté byla bakteriální suspenze vylita, kádinka umyta vodou a stonky byly umístěny zpět do již čisté vody (300 ml). Inkubace probíhala při teplotě 22 ± 2 °C. Stonky byly hodnoceny po 2, 3 a 5 dnech od inokulace dle vytvořené stupnice napadení (Obr. 1). Z jednotlivých stupňů byl vypočítán index napadení ve stupních dle vzorce:

$$I = \frac{\sum_{i=0}^k (n_i \times s_i)}{N}$$

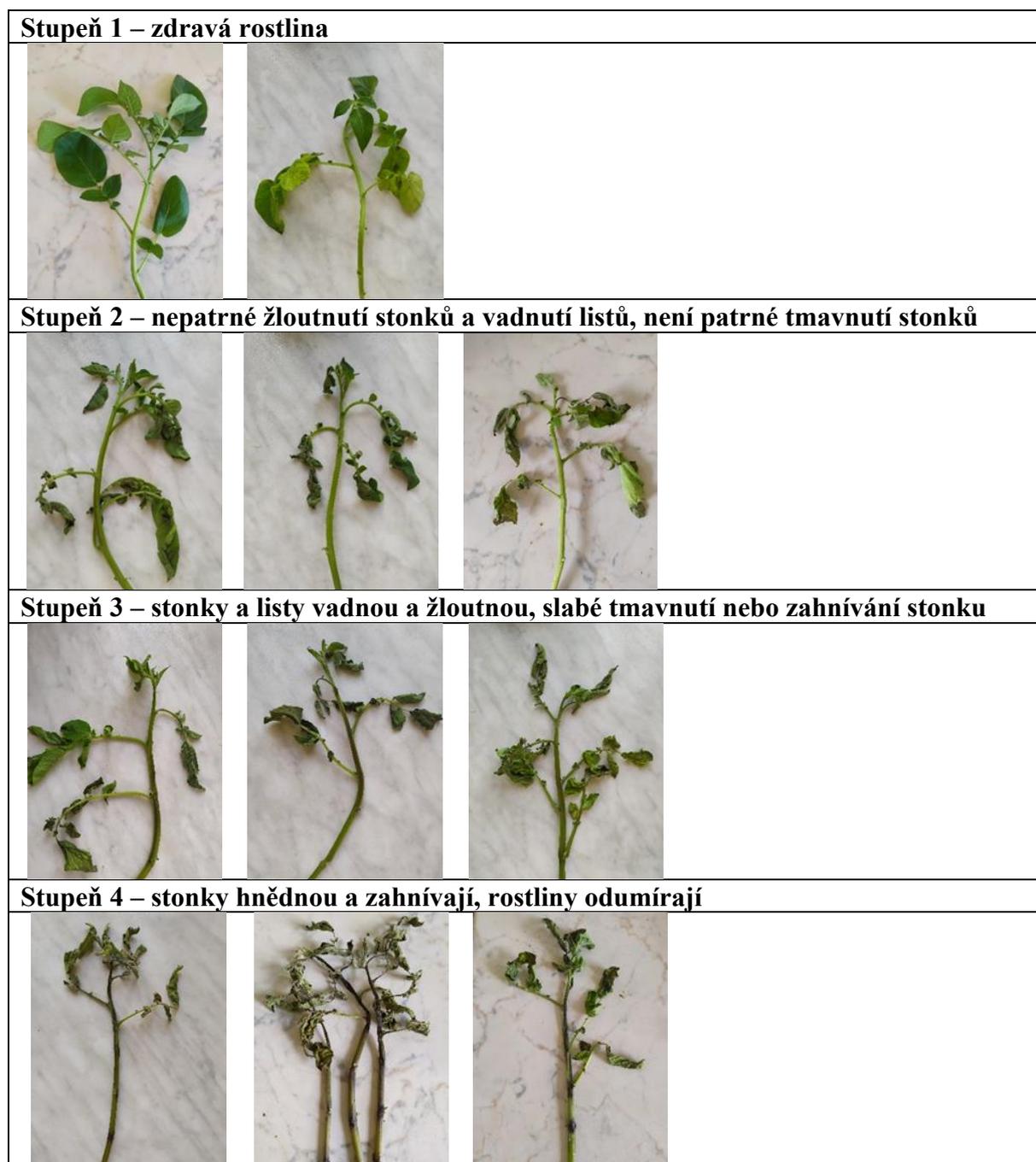
Pozn.: I – index napadení ve stupních;  $n_i$  – počet rostlin napadených  $i$ -tým stupněm;  $s_i$  –  $i$ -tý stupeň; N – počet napadených rostlin

Tabulka 1 Přehled testovaných látek přírodního původu a použité koncentrace

Testovaná látka – zkratka	Účinná látka	Koncentrace moření/prvotní zálivky/foliární aplikace [%]
PAW	plazmatem aktivovaná voda	100
PAW 50	plazmatem aktivovaná voda	50
PAW + chito	plazmatem aktivovaná voda + chitosan hydrochlorid 5%	100 PAW + 0,2 chitosan hydrochlorid
PAW 50 + chito	plazmatem aktivovaná voda + chitosan hydrochlorid 5%	50 PAW + 0,2 chitosan hydrochlorid
chito	chitosan hydrochlorid 5%	0,2
hydroxid měďnatý*	hydroxid měďnatý 768 g/kg	0,2
voda**	voda	-

Pozn: \* chemická kontrola; \*\*negativní kontrola; PAW (Akademie věd ČR)

Výsledky byly zpracovány statistickým programem TIBCO Statistica® verze 14.0.0.15 (USA) jednofaktorovou nebo vícefaktorovou analýzou variance (ANOVA) a následně Tukey HSD testem ( $P \leq 0,05$ ).

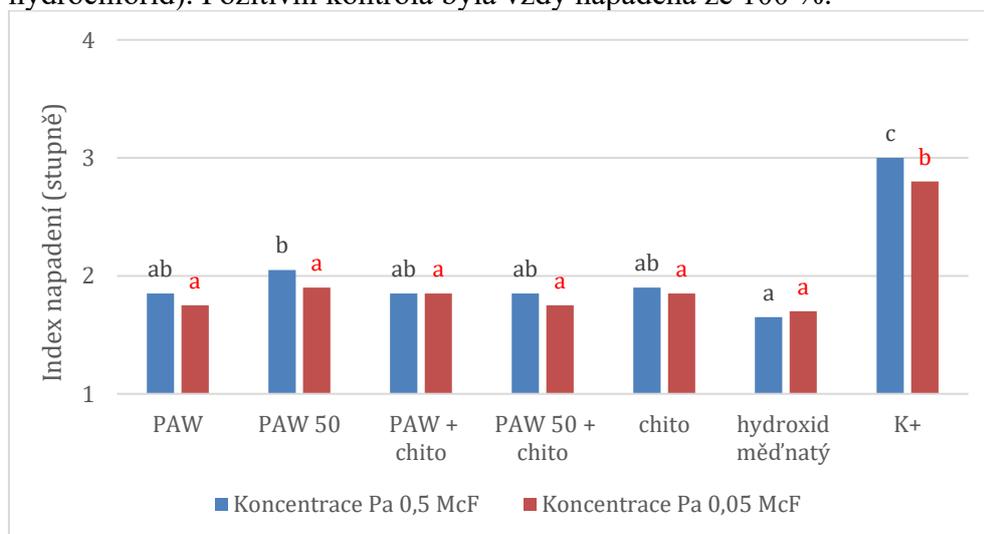


Obrázek 1 Stupnice napadení stonků bramboru bakteriemi rodu *Pectobacterium*

### Výsledky

Po dvou dnech od inokulace (Graf 1) bylo zjištěno, že při koncentraci 0,5 McF inokula bakterie *Pa* byl významný rozdíl mezi ošetřením hydroxidem měďnatým ( $I = 1,65$ ) a PAW 50 ( $I = 2,05$ ). U ostatních testovaných látek nebyl prokázán rozdíl. U koncentrace 0,05 McF nebyly zaznamenány žádné rozdíly ( $I = 1,7-1,9$ ). Nicméně všechny testované látky v obou koncentracích inokula byly variabilní od pozitivní kontroly. Při vzájemném porovnání koncentrací nebyl Tukey HSD testem zaznamenán žádný rozdíl v indexu napadení. Četnost

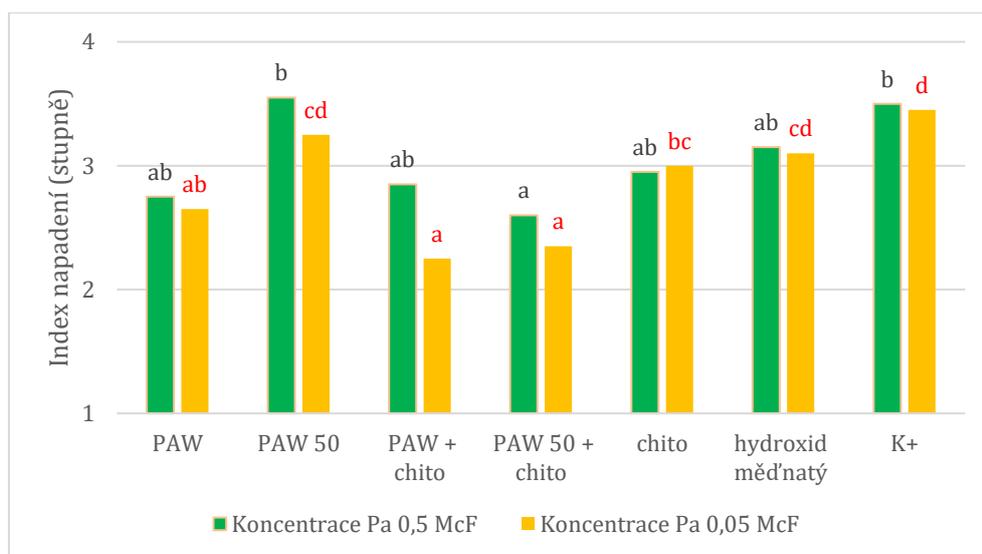
výskytu onemocnění se u koncentrace 0,5 McF pohybovala od 65 % (hydroxid měďnatý) do 95 % (PAW 50) a u koncentrace 0,05 McF od 70 % (hydroxid měďnatý) do 85 % (chitosan hydrochlorid). Pozitivní kontrola byla vždy napadena ze 100 %.



Graf 1 Index napadení stonků bramboru pro jednotlivé testované látky po dvou dnech od inokulace

Pozn. PAW – plazmatem aktivovaná voda; PAW + chito – kombinace PAW a chitosan hydrochlorid; K+ pozitivní kontrola – pouze inokulum *Pectobacterium atrosepticum*, K- negativní – máčení pouze ve vodě, bylo ve všech případech bezpříznakové; Koncentrace Pa 0,5 McF a 0,05 McF – koncentrace *Pectobacterium atrosepticum* podle McFarlandovy zákalové stupnice; Různá písmena nad sloupci značí významné rozdíly ( $P \leq 0,05$ ) podle Tukey HSD testu – černá písmena se týkají pouze rozdílů pro koncentraci Pa 0,5 McF a červená pouze rozdílů pro koncentraci Pa 0,05 McF.

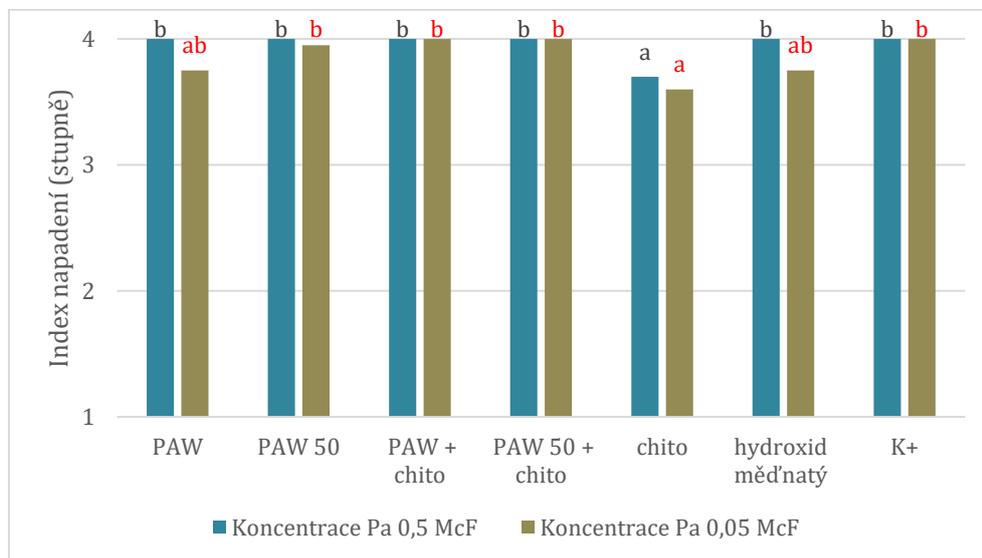
Po třech dnech od inokulace byl viditelný posun v závažnosti onemocnění oproti předešlému hodnocení (Graf 2). Rovněž všechny testované varianty byly ze 100 % napadeny. Významná variabilita byla zaznamenána mezi PAW 50 + chito ( $I = 2,6$ ) a PAW 50 ( $I = 3,55$ ) v koncentraci 0,5 McF. U koncentrace 0,05 McF byly významné rozdíly mezi PAW + chito ( $I = 2,25$ ) a PAW 50 + chito ( $I = 2,35$ ) a zbylými testovanými látkami kromě ošetření samotnou PAW.



Graf 2 Index napadení stonků bramboru pro jednotlivé testované látky po třech dnech od inokulace

Pozn. Viz Poznámka Graf 1

Po 5 dnech od inokulace bylo u většiny testovaných látek dosaženo 4. stupně napadení stonků brambor (Graf 3). Výjimku tvořily pouze stonky ošetřené chito ( $I = 3,7$  pro koncentraci 0,5 McF a  $I = 3,6$  pro koncentraci 0,05 McF). U koncentrace 0,05 McF se od chito průkazně nelišily vzorky ošetřené PAW ( $I = 3,75$ ) a hydroxidem měďnatým ( $I = 3,75$ ).



Graf 3 Index napadení stonků bramboru pro jednotlivé testované látky po pěti dnech od inokulace

Pozn. Viz Poznámka Graf 1

## Diskuze

Motyka et al. (2018) zjistili, že plazmový generátor typu dc-APGD vykazuje silný antibakteriální účinek vůči fytopatogenním bakteriím včetně druh *Pectobacterium atrosepticum*. U tohoto druhu byla zaznamenána více než 3,4log redukce životaschopných buněk, místy až úplná eradikace. *P. atrosepticum* vykazoval mírně vyšší odolnost než ostatní testované druhy, rozdíly však nebyly statisticky významné. Soni et al. (2021) zjistili, že PAW vykazuje silný antibakteriální účinek proti fytopatogenním bakteriím, včetně *Pectobacterium carotovorum*, která patří do stejného rodu jako naše testovaná bakterie *P. atrosepticum*. RONS obsažené v PAW vedly po aplikaci na povrch ovoce a zeleniny k výrazné redukci bakterií. V našem pokusu lepšího výsledku dosáhla PAW ve směsi s chitosanem hydrochloridem.

Ghimire et al. (2024) hodnotili účinnost PAW proti bakteriím *Xanthomonas arboricola* a *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. PAW vykazovala silné antimikrobiální účinky díky generaci RONS. I když *Pectobacterium atrosepticum* nebylo přímo testováno, výsledky naznačují potenciál PAW proti fytopatogenním bakteriím obecně.

Řada studií se zabývala antimikrobiální účinky samotného chitosanu či v kombinacích s jinými látkami. Steglińska et al. (2024) použili vysokomolekulární chitosan ve směsi s kyselinou mléčnou a prokázali inhibiční účinek na *Pectobacterium carotovorum* při koncentraci 0,4 %. Podobný významný antibakteriální účinek proti *P. carotovorum* byl zjištěn při použití kombinace chitosanu s tymiánovou silicí (Sotelo-Boyás et al., 2019).

## Závěr

Rostliny byly před samotným pokusem několikrát ošetřeny testovanými látkami a bakteriální inokulum *P. atrosepticum* bylo zvoleno ve dvou koncentracích. Nicméně mezi koncentracemi inokula nebyly zjištěny prokazatelné rozdíly v intenzitě napadení stonků bramboru. Mezi druhým až pátým dnem hodnocení byl viditelný rychlý nárůst infekce, přičemž druhý den byly všechny varianty odlišné od pozitivní kontroly, třetí den už pouze ošetření PAW 50 + chito při koncentraci 0,5 McF a PAW + chito, chito a PAW při koncentraci 0,05 McF. Poslední den byl zaznamenán u většiny variant stupeň 4 – odumírání rostlin.

Z výsledků vyplývá, že PAW (plazmatem aktivovaná voda) lépe účinkovala v kombinaci s chitosanem hydrochloridem, nicméně byly prokázány velmi krátkodobé účinky proti *P. atrosepticum*. Ani u jedné varianty nebyly stonky zcela ochráněny před infekcí, pouze byl postup onemocnění lehce zpomalen. Testování bude probíhat i nadále, avšak bude nutné v metodice upravit některé parametry.

## Literatura

- DU, Yunjian, Yuqiao ZHAO, Shuchao DAI a Bao YANG. Preparation of water-soluble chitosan from shrimp shell and its antibacterial activity. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2009, 10(1): 103-107. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2008.07.004>
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. FAOSTAT: Statistical Database. *Food and Agriculture Organization of the United Nation* [online]. © 2025 [cit. 2025-10-08]. Dostupné z: <https://www.fao.org/statistics/en/>
- GHIMIRE, Bhawana, Brahmaiah PENDYALA, Ankit PATRAS a Fulya BAYSAL-GUREL. Effect of Plasma-Activated Water (PAW) Generated Using Non-Thermal Atmospheric Plasma on Phytopathogenic Bacteria. *Plant Disease* [online]. Scientific Societies, 2024, 2024-12-1, 108(12), 3446-3452 [cit. 2025-10-09]. ISSN 0191-2917. Dostupné z: [doi:10.1094/pdis-05-24-0957-sc](https://doi.org/10.1094/pdis-05-24-0957-sc)
- HE, Yanqiu, Santosh Kumar BOSE, Wenxia WANG, Xiaochen JIA, Hang LU a Heng YIN. Pre-Harvest treatment of chitosan oligosaccharides improved strawberry fruit quality. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(8): 2194. <https://doi.org/10.3390/ijms19082194>
- MOTYKA, Agata, Anna DZIMITROWICZ, Piotr JAMROZ, Ewa LOJKOWSKA, Wojciech SLEDZ a Pawel POHL. Rapid eradication of bacterial phytopathogens by atmospheric pressure glow discharge generated in contact with a flowing liquid cathode. *Biotechnology and Bioengineering* [online]. Wiley, 2018, 2018, 115(6), 1581-1593 [cit. 2025-10-05]. ISSN 0006-3592. Dostupné z: [doi:10.1002/bit.26565](https://doi.org/10.1002/bit.26565)
- RODOPSKÁ, Simona. Caviplazmovaná voda jako fungicidní adjuvans v ochraně rostlin. *Agromanual.cz* [online]. 2024 [cit. 2025-10-06]. Dostupné z: <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/ochrana-obecne/caviplazmovana-voda-jako-fungicidni-adjuvans-v-ochrane-rostlin>
- RUDOLF, Pavel, František POCHYLÝ, Pavel ŠTAHEL, Jozef RÁHEL, Jan ČECH a Blahoslav MARŠÁLEK. Zařízení pro čištění kapalin a způsob čištění kapalin s využitím tohoto zařízení. Česká republika. Patentový spis. Přihlášeno 13. 12. 2019. Uděleno 16. 09. 2020. Dostupné také z: <https://isdv.upv.gov.cz/doc/FullFiles/Patents/FullDocuments/308/308532.pdf>
- SONI, Aswathi, Jonghyun CHOI a Gale BRIGHTWELL. Plasma-Activated Water (PAW) as a Disinfection Technology for Bacterial Inactivation with a Focus on Fruit and Vegetables. *Foods* [online]. MDPI, 2021, 2021-1-15, 10(1), 166 [cit. 2025-10-09]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: [doi:10.3390/foods10010166](https://doi.org/10.3390/foods10010166)
- SOTELO-BOYÁS, Maria Elena, Zormy CORREA-PACHECO, Maria Luisa CORONA-RANGEL, Ramón VILLANUEVA-ARCE a Silvia BAUTISTA-BAÑOS. Cellular

- alterations in *Pectobacterium carotovorum* treated with nanostructured formulations during the incubation time. *Arch. Microbiol.* 2019, 201, 615–622.
- STEGLÍNSKA, Aleksandra, Adriana NOWAK, Regina Janas, Mięczysław GRZESIK, Krzysztof ŚMIGIELSKI, Dorota KRĘGIEL a Beata GUTAROWSKA. Chitosan as an antimicrobial, antii-insect, and growth-promoting agent for potato (*Solanum tuberosum* L.) plants. 2024, *Molecules* 29 (14): 3313. <https://doi.org/10.3390/molecules29143313>
- VACEK, Josef, Martin KMOCH, Karel PETRZIK, Rudolf ŠEVČÍK, Filip BEŇO a Vladislav KLIČKA. *Biologická ochrana brambor proti vybraným patogenním bakteriím: možnosti využití fágů v ochraně proti pektinolytickým bakteriím*. Havlíčkův Brod: Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, 2022. Certifikovaná metodika. ISBN 978-80-86940-98-4.
- VÍCHOVÁ, Jana. Choroby bramboru 3: Bakteriální choroby bramboru (II.). *Agromanual.cz* [online]. 2020 [cit. 2025-10-02]. Dostupné z: <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/choroby/choroby-bramboru-3-bakterialni-choroby-bramboru-ii>

### **Poděkování**

Tato práce byla vypracována se státní podporou Ministerstva zemědělství ČR v rámci projektu NAZV QL24010148 – „Alternativní způsoby biologické ochrany bramboru za využití bioagens a látek přírodního původu“. Poděkování patří také prof. Ing. Blahoslavu Maršálkovi, CSc. z Botanického ústavu Akademie věd ČR.

### **Kontaktní adresa**

Ing. Barbora Jílková, Ph.D.  
Mendelova univerzita v Brně  
Zemědělská 1065/1, 613 00 Brno  
+420 545 133 049, e-mail: [jilkova@mendelu.cz](mailto:jilkova@mendelu.cz)

## Molekulárních markery pro identifikaci houbového patogenu *Mycocentrospora acerina* u zelenin

Molecular markers for identification of fungal pathogen *Mycocentrospora acerina* in vegetables

*Kamulegeya P., Stehlíková D., Beran P., Misginna S.G., Gaoua O.<sup>1</sup>, Čurn V.*

*Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích Fakulta zemědělská a technologická,  
Katedra genetiky a biotechnologií*

### Abstrakt

*Mycocentrospora acerina* je škodlivá půdní houba postihující širokou škálu zelenin. Vzhledem k překrývání symptomů s jinými patogeny je pro kontrolu choroby zásadní včasná a přesná detekce. V této studii byly optimalizovány dvě nové sady PCR primerů MA\_1a\_F3/MA\_1a\_B3 a MA\_3d\_F3/MA\_3d\_B3, které cílí na unikátní genomové oblasti *M. acerina*. Obě sady úspěšně amplifikovaly specifické fragmenty (222 bp and 226 bp) bez zkřížené reakce s necílovými houbami, což prokazuje vysokou specificitu a citlivost. Tyto primery poskytují spolehlivý nástroj pro rychlou laboratorní detekci. Budoucí práce se zaměří na jejich adaptaci do testů založených na LAMP pro podporu terénní diagnostiky.

**Klíčová slova:** PCR primery, genomové oblasti, specificita, terénní diagnostika

### Abstract

*Mycocentrospora acerina* is a damaging soil-borne fungus affecting a wide range of vegetable crops. Due to symptoms overlapping with other pathogens, early and accurate detection is critical for disease control. In this study, we developed and validated two novel PCR primer sets MA\_1a\_F3/MA\_1a\_B3 and MA\_3d\_F3/MA\_3d\_B3- targeting unique genomic regions of *M. acerina*. Both sets successfully amplified specific fragments at (222 bp and 226 bp), respectively without cross-reacting with non-target fungi, demonstrating high specificity and sensitivity. These primers provide a reliable tool for rapid laboratory detection. Future work will focus on adapting them into LAMP-based assays to support field diagnostics and broader disease-surveillance.

**Keywords:** PCR primers, genomic regions, specificity, field diagnostics

### Introduction

*Mycocentrospora acerina* (Order: Pleosporales) is a highly polyphagous soil-borne fungal pathogen responsible for economically significant diseases in a wide range of vegetable crops. It causes characteristic symptoms such as pansy leaf spot with necrotic perforations, stem and root rot, carrot liquorice rot, anthracnose, and seedling damping-off (Wall & Lewis, 1980; Yang et al., 2022). The pathogen infects several major horticultural crops, including carrots, caraway, cumin, parsley, celery, tomato, spinach, and parsnip, and is also supported by alternative hosts such as ginseng and various weed species (Sutton & Gibson, 1977; Lan et al., 2022). *M. acerina* can persist in soil and plant debris for more than two years as chlamydospores and infects host plants through wounds, leading to lesion development and subsequent disease spread (Evenhuis, 1998). It is globally distributed across Europe, North America, Asia, Australia, and New Zealand, where it is known to cause substantial pre- and postharvest yield losses, negatively affecting quality, storage stability, international trade, and food safety (Sutton & Gibson, 1977; Hermansen et al., 2012).

Vegetable production plays a critical role in global food security, human nutrition, income generation, and sustainable agricultural development (Schreinemachers et al., 2018). Among these, carrot (*Daucus carota* L.) is recognized as one of the most important vegetable crops worldwide due to its high nutritional value, economic relevance, and extensive cultivation across diverse agroecological regions (Que et al., 2019; Ding et al., 2024). In many European

countries, including the Czech Republic, carrot production constitutes a significant component of the horticultural sector and contributes meaningfully to both domestic markets and export potential (Ebert, 2020). However, the frequency and severity of fungal disease outbreaks are increasing due to climate change, as elevated temperatures and altered precipitation patterns favor growth, sporulation, infection efficiency, and virulence of pathogens such as *M. acerina* (Elad & Pertot, 2014; Glauber & Frases, 2025). These emerging threats highlight the need for rapid, reliable, and sensitive diagnostic tools beyond conventional symptom-based or culture-dependent methods. Therefore, the objective of the present study is to develop PCR-based molecular markers for the early and accurate detection of *M. acerina* in vegetable crops, enabling timely surveillance and improved disease management strategies.

## Materials and Methods

### Fungal isolates and culture conditions

A total of 19 Fungal species were obtained from the DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures) and CCF (Czech Collection of Fungi) were used in this study. The fungi were grown on potato dextrose agar (PDA) at 25 °C for 5–7 days to obtain actively grown mycelium (Sharma et al., 2010).

### DNA Extraction

Genomic DNA of the mycelium was extracted using a modified cetyltrimethylammonium bromide (CTAB- PVP) protocol (Doyle & Doyle, 1987). DNA concentration and quality were assessed by spectrophotometry (BioSpec-nano, Shimadzu, Japan) and by agarose gel electrophoresis. High-quality genomic DNA from each isolate was used for PCR assays.

**Table 1. List of fungal pathogens and specificity of tested primer sets**

ID. No	Species	Collection Place	Isolate Code	PCR 1 MA_1a	PCR 2 MA_3d	PCR 3 (Lan et al., 2022)
1	<i>Alternaria brassicicola</i>	CCF	2558	-	-	-
2	<i>Alternaria brassicicola</i>	CCF	2749	-	-	-
3	<i>Alternaria arborescens</i>	CCF	3421	-	-	-
4	<i>Alternaria arborescens</i>	CCF	6321	-	-	-
5	<i>Botrytis cinerea</i>	CCF	2361	-	-	-
6	<i>Botrytis cinerea</i>	CCF	3371	-	-	-
7	<i>Colletotrichum gleosporioides</i>	CCF	348	-	-	+
8	<i>Fusarium incarnatum</i>	CCF	1744	-	-	-
9	<i>Fusarium solani</i>	CCF	2967	-	-	+
10	<i>Fusarium avenaceum</i>	CCF	3306	-	-	+
11	<i>Fusarium avenaceum</i>	CCF	3466	-	-	+
12	<i>Gliomastix cerealis</i>	CCF	1655	-	-	+
13	<i>Striatibotrys rhabdospora</i>	CCF	3536	-	-	+
14	<i>Thielaviopsis thielavioides</i>	CCF	3486	-	-	+
15	<i>Verticillium</i> sp.	CCF	1896	-	-	-
16	<i>Stemphylium vesicarium</i>	DSMZ	63046	-	-	+
17	<i>Mycocentrospora acerina</i>	DSMZ	1202	+	+	+
18	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	DSMZ	1946	-	-	+

19	<i>Cercospora beticola</i>	DSMZ	62107	-	-	+
----	----------------------------	------	-------	---	---	---

**Target selection**

Ten unique targets from whole genome of *M. acerina* were chosen using KEC software for K-mer elimination by cross-reference which allows users to quickly and easily find unique sequences by providing target and non-target sequences (Beran et al., 2021), as shown in Table 2.

**Table 2. List of selected targets**

ID No.	Targets
1	>KEC no. 5; len = 308; orig: KEC no. 2; len = 486; orig: JAKUHH01000054.1 <i>Mycocentrospora acerina</i> isolate HS17-4 scaffold62, whole genome shotgun sequence. ActattatacgtgtatactatacctgtaacgacgcaggtataagagagtgatccgaatggggtctgaagtgtccactactagcatatgggagtgctaggactagagggtaaaccaagatactattctacacctataggtcttgtaaaaaggatacagaaaaactactctacaagctacacagactgcccccttatatacccttctaggttactatctaaggcaagtacaatcaggtagctattagataggtgttagttgactcaggggtaataataggtatgacgttgtaaatGT.
2	>KEC no. 9; len = 223; orig: KEC no. 21; len = 614; orig: JAKUHH01000037.1 <i>Mycocentrospora acerina</i> isolate HS17-4 scaffold46, whole genome shotgun sequence. tgccttttcagcgcgtctgctctgacgcctgcccgaatcaatccatcagatcatcttaacacacatcagacagctctctcccaatttctagagccctagggcctaggggtgtagttgtagctaggttgaatcctgcaatctgcaacgttgattttCAACGTTCAACGCTCggaccatgactacaccagaacgtcaagaggctagaaatagccc.
3	>KEC no. 4; len = 267; orig: KEC no. 6; len = 539; orig: JAKUHH01000057.1 <i>Mycocentrospora acerina</i> isolate HS17-4 scaffold65, whole genome shotgun sequence. attaagtacataaacagcaatgcatctaataaagtagagctctagagaagagactttagcaaattaaggaacacgcttacaaggtgttagacttgctaacaaagcaactactgctagtagatctatctagatACTTAGGCAAActtactctgctgctaaatagctacaaccTTTTAGTAGTACGCattacttatagactaagacaacaaagcactataactatgttctgctaaggacttaagcctaaagttaaggaagaactt.
4	>KEC no. 1; len = 330; orig: KEC no. 3; len = 338; orig: JAKUHH01000018.1 <i>Mycocentrospora acerina</i> isolate HS17-4 scaffold27, whole genome shotgun sequence. ttaaaaatcaggtggtgaggtctatttctagtgtagcaggggggctatttctagcctctgacgttctggtgtagtcatggtccGAGCGTTAAACGTTGaaaaatcaacgttgcaaaattgcaggttgcacactagctgcaaacaccaccctagggcctagggctctagaattggaggagagactgtctgtatgtgtgtagatgatactctgatgaaattatgatgccagcgcgcagaacagacgcgctgaaaaaaggcaaggtggtgtgtaactgctccttactaaaggccttagcctgtacaatcctttagttaaggga.
5	>KEC no. 8; len = 296; orig: KEC no. 22; len = 570; orig: JAKUHH01000010.1 <i>Mycocentrospora acerina</i> isolate HS17-4 scaffold19, whole genome shotgun sequence. AtaaagaggcagctctgtgtagctttgtagagtagttttctgtatcctttgtacaagacctataagttagagaatgatcttttagttaccctctagtcctagcactctatagcctagtagtagacactcagaccctattcggatcactctctataacctgcgctgttacagtgtccactacagggcatagggagtgtgctgggactagagggtatacctaagatactattctacacctataggtcttgtaaaaaggatacagaaaaactactgtTTAAACTACA.
6	>KEC no. 1; len = 473; orig: KEC no. 63; len = 499; orig: JAKUHH01000064.1 <i>Mycocentrospora acerina</i> isolate HS17-4 scaffold58, whole genome shotgun sequence. Acaacaggggctagcaatagcctacaacaacgtgcaacaggggctagcaataggcctctgcaacgcgcaacaggggctaccaacaggccacgacaacgtgcaacaggggctagcaataggcctctgcaacgcgcaacaggggctagcaatagcctacaacaacgagcaacagaggcctagcaacagggcctctacaacacacaaaaacaacaaatagcaacagcctagatagctgctgctgagagacttgacctaaaggcctactacaacgaaatagactgctttagaatgacctattgttagcaagccagctagtagagcactactactgtttactagggctctagggctctagaataagagagcttagcctaggggaaaaacagcgccttatagactaacgtctgcatagggcattattgtatttagctagctagtagatagattaatgcaatataaa.
7	>KEC no. 1; len = 452; orig: KEC no. 8; len = 961; orig: JAKUHH01000064.1 <i>Mycocentrospora acerina</i> isolate HS17-4 scaffold58, whole genome shotgun sequence. ggtagtactaaagcagtagcactgctactaaactcctttataACTAGCATCTCTGGCtaccacagggccacgacaatgtgcaacaggggcctagcaataggcctttgcaacgcgcaacaggggctagcaatagcctgcaacaacgtgcaacaggggctagcaacagggcctctacaacacacaaaaacaacaaatagcaacagcctagacagctgctgctgagggcctgacctaaggcctactacaacgaaatagactgctagaGAAATAAACTATTGTTAGAagccacgtagtgagaacactactactgtttactagggctctagggctctagaataagagagcttagcctaggggaaaaacagcgcctcatagactaacctctgcatagggcattattgtatttagctagctagtagatagattaatgcaatataaa.



performed using thermocycler II (Biometra T advanced, with initial temperature denaturation of 94°C for 5 min, followed by 35 cycles of 94°C for 60 sec denaturation, 57°C for 60 sec annealing, and 68°C for 30sec, with final extension at 68°C for 5 min. The amplification of the PCR products was separated on 2% agarose gel in TBE (Tris-borate-EDTA) buffer, and 100 base pair DNA ladder (New England Biolabs). The PCR product visualized under UV illumination using the InGenius3 imaging system (Syngene) and integrated with GeneSys software.

## Results

Whole-genome sequence information of *M. acerina* was screened ten candidate regions suitable for primer development. Multiple primer sets were initially generated and evaluated. However, only two newly designed primer sets met the required stability and target-specificity for the detection of *M. acerina*. The first primer set (MA\_1a\_F3/MA\_1a\_B3) produced a clear and reproducible amplification product of DNA fragment at 222 bp, confirming successful targeting of the selected genomic region. The second primer set MA\_3d\_F3/MA\_3d\_B3 amplified the expected fragment at 226 bp in *M. acerina* isolates (Table 2; ID No. 1 and No. 3). This amplification pattern is consistent with the predicted target region and supports the specificity of the primer set. Furthermore, a third primer set previously reported in the literature (F3 and B3) was included as a reference control and it produced fragment of *M. acerina* but it also amplified the DNA of other pathogens. These results confirm that MA\_1a and MA\_3d are suitable for the specific molecular detection of *M. acerina*, providing a strong diagnostic signal demonstrating selective amplification among genetically distinct isolates. In addition, our two new primers managed to specifically amplify only *M. acerina* on PCR and agarose gel electrophoresis with the positive (+) detection DNA fragment as seen in table 1, ID No 17, Isolate code 1202, while all other remained eighteen pathogens in the experiment were not detected and had a negative (-) amplification (Table 1). However, the third primer set (F3 and B3) although it amplified the target region for *M. acerina* DNA fragment with a positive (+) detection, but it also amplified other fungi species such as *Fusarium solani*- ID No. 9, Isolate code 2967, *Cercospora beticola* ID No. 19, Isolate code 62107 and *Stemphylium vesicarium* ID No. 16, Isolate code 63046 among others with positive (+) detection (Table 1).

## Discussion

Symptoms of *M. acerina* diseases, such as round leafspot (*Ascomycota*) can easily be confused with other Phytophthora diseases like leaf blight (*Oomycota*) since they share similar symptoms in their early stages of infection among the infected plants, while the control measures are different from each other. Therefore, specific identification and early detection of *M. acerina* diseases is very important for proper and timely management and control of the diseases (Lan et al., 2022).

F3/ B3 were used as outer primers for the detection of *M. acerina* in different method LAMP. Although it is not possible to compare PCR and LAMP, specificity testing can serve as a starting test for different hosts. In addition, specificity for *Alternaria brassicicola*, *Fusarium incarnatum*, *F. avenaceum*, *Gliomastix cerealis*, *Stratibotrys rhabdospora*, *Thielaviopsis thielavioides*, *Verticillium* sp., *Stemphylium vesicarium*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Cercospora beticola* is tested in our PCR. Most of these fungi showed positive results and therefore F3/B3 in PCR are not applicable in our conditions. (Lan et al., 2022). Our two new primer sets were specifically and only detected *M. acerina*.

Compared to traditional phenotypic and microbiological methods, PCR significantly reduces identification time and increases accuracy, eliminating the need for culture and morphological analysis which can be slow and error-prone (Fang & Ramasamy, 2015; Gomez-Gutierrez &

Goodwin, 2022; Wang et al., 2023; Németh & Kovács, 2025). While loop-mediated isothermal amplification (LAMP) offers potential for field-deployable diagnostics, this study focused entirely on the development of laboratory-based PCR primers. The designed primers demonstrated strong sensitivity in specific identification and detection of *M. acerina* DNA at low template concentrations. Building on this molecular foundation, studies have shown that primers optimized for PCR can often be adapted for LAMP with further sequence targets (Lan et al., 2022; Khan et al., 2018). Therefore, our validated PCR primer sets represent a promising step toward a faster and more robust diagnostic for *M. acerina*, specific identification, contributing to improved pathogen management in vegetables and other crops.

## Conclusions

In this study, we designed and validated two novel PCR primer sets MA\_1a\_F3/MA\_1a\_B3 and MA\_3d\_F3/MA\_3d\_B3 targeting *M. acerina* with high specificity and sensitivity. However, to enhance applicability under field conditions, future research can focus on adapting these primers into isothermal platforms such as LAMP, along with other additional molecular studies aimed at detection and surveillance of this pathogen.

## Funding

This study was supported by the project NAZV QL24010202 and GAJU 083/2025/Z.

## References

- Beran, P., Stehlíková, D., Cohen, S. P., & Curn, V. (2021). KEC: unique sequence search by K-mer exclusion. *Bioinformatics*, 37(19), 3349–3350. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btab196>.
- Ding, H., & Liu, M. (2024). From Root to Seed: Unearthing the Potential of Carrot Processing and Comprehensive Utilization. *Food Science & Nutrition*, 12(11), 8762. <https://doi.org/10.1002/FSN3.4542>
- Doyle, J. J. & Doyle, J. L., (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*. Available at: <https://worldveg.tind.io/record/33886>.
- Ebert, A. W. (2020). The Role of Vegetable Genetic Resources in Nutrition Security and Vegetable Breeding. *Plants*, 9(6), 736. <https://doi.org/10.3390/PLANTS9060736>
- Evenhuis, A. (1998). On ecology and control of *Mycocentrospora acerina* in caraway (*Carum carvi*) [Doctoral dissertation, Wageningen University & Research]. Wageningen University & Research Library. <https://library.wur.nl/WebQuery/wda/954738>
- Fang, Y., & Ramasamy, R. P. (2015). Current and prospective methods for plant disease detection. *Biosensors*, 5(3), 537-561.
- Glauber, G. R., & Frases, S. (2025). Fungal Pathogenesis and Virulence in the Anthropocene: Multidimensional Impacts of Climate Change. *Current Clinical Microbiology Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1007/S40588-025-00252-1>
- Gomez-Gutierrez, S. V., & Goodwin, S. B. (2022). Loop-mediated isothermal amplification for detection of plant pathogens in wheat (*Triticum aestivum*). *Frontiers in plant science*, 13, 857673.
- Hermansen, A., Wanner, L., Nærstad, R., & Klemsdal, S. S. (2012). Detection and prediction of post-harvest carrot diseases. *European Journal of Plant Pathology*, 133(1), 211–228. <https://doi.org/10.1007/s10658-011-9896-x>.

- Khan, M., Wang, R., Li, B., Liu, P., Weng, Q., & Chen, Q. (2018). Comparative evaluation of the LAMP assay and PCR-based assays for the rapid detection of *Alternaria solani*. *Frontiers in microbiology*, 9, 2089.
- Lan, C., Gan, L., Dai, Y., Liu, X., & Yang, X. (2022). Development of Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Assay for Specific and Sensitive Detection of *Mycocentrospora acerina* (Hart.) Causing Round Leaf Spot Disease in Sanqi (*Panax notoginseng*). *Horticulturae*, 8(11). <https://doi.org/10.3390/horticulturae8111060>
- Németh, M. Z., & Kovács, G. M. (2025). A comprehensive guide to loop-mediated isothermal amplification, an emerging diagnostic tool for plant pathogenic fungi. *Frontiers in Plant Science*, 16, 1568657.
- Que, F., Hou, X. L., Wang, G. L., Xu, Z. S., Tan, G. F., Li, T., Wang, Y. H., Khadr, A., & Xiong, A. S. (2019). Advances in research on the carrot, an important root vegetable in the Apiaceae family. *Horticulture Research*, 6(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/S41438-019-0150-6;SUBJMETA>
- Schreinemachers, P., Simmons, E. B., & Wopereis, M. C. S. (2018). Tapping the economic and nutritional power of vegetables. *Global Food Security*, 16, 36–45. <https://doi.org/10.1016/J.GFS.2017.09.005>
- Sharma, G. P. R. R., & Pandey, R. R. (2010). Influence of culture media on growth, colony character and sporulation of fungi isolated from decaying vegetable wastes. *Journal of yeast and fungal research*, 1(8), 157-164.
- Sutton, B. C., & Gibson, I. A. S. (1977). *Mycocentrospora acerina*. Descriptions of Fungi and Bacteria. CAB International, UK. <https://doi.org/10.1079/DFB/20056400537>
- Wall, C. J., & Lewis, B. G. (1980). Infection of carrot plants by *Mycocentrospora acerina*. *Transactions of the British Mycological Society*, 74(3), 587–593. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(80\)80060-X](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(80)80060-X).
- Wang, H., Yang, K., Huang, H., Guo, L., & He, X. (2023). Development of Simple Sequence Repeat Markers and Genetic Diversity Evaluation of *Mycocentrospora acerina* in Yunnan Province, China. *Journal of Fungi*, 9(9). <https://doi.org/10.3390/jof9090944>.
- Pepijn Schreinemachers et al., (2018), Tapping the economic and nutritional power of vegetables. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2017.09.005>.
- Yang, K., Wang, H. L., Ye, C., Wang, Z. H., Ye, K. H., Zhang, S., Huang, H. P., Wei, Z. X., Zhu, S. S., Zhu, Y. Y., Guo, L. W., & He, X. H. (2022). Infection Characteristics and Physical Prevention Strategy of *Panax notoginseng* Round Spot Disease Caused by *Mycocentrospora acerina*. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-22-0087-RE>.
- Yigal Elad and Ilaria Pertot (2014), Climate Change Impacts on Plant Pathogens and Plant Diseases. <https://doi.org/10.1080/15427528.2014.865412>.

### Contact Address

Patrick Kamulegeya, MSc.

Faculty of Agriculture and Technology, University of South Bohemia

Tel.+420775901897; kamulegeyap@gmail.com



## Vliv vybraných kmenů prospěšných bakterií na *Dickeya solani*, způsobující měkkou hnilobu hlíz bramboru, v podmínkách *in vivo*

The effect of selected strains of beneficial bacteria on *Dickeya solani*, the causal agent of potato soft rot, under *in vivo* conditions

Kmoch M.<sup>1</sup>, Loubová V.<sup>1</sup>, Demnerová K.<sup>2</sup>, Sýkorová H.<sup>2</sup>, Jílková B.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o., <sup>2</sup>Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, <sup>3</sup>Mendelova univerzita v Brně

### Abstrakt

Bakterie rodu *Pectobacterium* a *Dickeya* jsou důležitými fytopatogeny bramboru, proti kterým je obtížná ochrana. Biologická ochrana pomocí antagonistických bakterií by mohla představovat slibnou alternativu k integrované ochraně. Cílem experimentů bylo zjištění účinnosti vybraných prospěšných bakterií z rodu *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Rhodococcus* a *Lactiplantibacillus* na patogenní bakterii *Dickeya solani*, původce měkké hniloby hlíz a černání stonků bramboru, pomocí *in vivo* experimentů na plátcích hlíz bramboru. U všech testovaných kmenů bakterií byla zjištěna antagonistická aktivita na *D. solani*. Mezi kmeny bakterií byly ale zjištěny významné rozdíly v účinnosti na patogen *D. solani*, která se pohybovala v rozmezí 1,92-87,08 %. Nejvyšší účinnost (61,08-87,08 %) byla prokázána u *Pseudomonas fluorescens* (CCM 4795 a CCM 7140) a *Serratia plymuthica* (CCM 3417). Vybrané kmeny prospěšných bakterií mají potenciál pro využití v biologické ochraně bramboru před patogenem *D. solani*.

**Klíčová slova:** Brambory, pektinolytické bakterie, biologická ochrana.

### Abstract

Bacteria of the genera *Pectobacterium* and *Dickeya* are important plant pathogens of potato, against which protection is difficult. Biological protection using antagonistic bacteria could be a promising alternative to integrated protection. The aim of the experiments was to determine the efficacy of selected beneficial bacteria of the genera *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Rhodococcus* and *Lactiplantibacillus* against the pathogenic bacteria *Dickeya solani*, the causal agent of potato soft rot and blackleg, using *in vivo* experiments on potato tuber slices. All tested bacterial strains showed an antagonistic activity against *D. solani*. However, significant differences in efficacy against *D. solani* were found among bacterial strains, ranging between 1.92 and 87.08 %. The highest efficacy (61.08-87.08 %) was recorded for *Pseudomonas fluorescens* (CCM 4795 and CCM 7140) and *Serratia plymuthica* (CCM 3417). The selected strains of beneficial bacteria have the potential for use in biological control of *D. solani* in potatoes.

**Keywords:** Potatoes, pectinolytic bacteria, biocontrol.

### Úvod

Pektinolytické bakterie rodu *Pectobacterium* a *Dickeya* jsou fytopatogeny zodpovědné za několik chorob u široké škály plodin a okrasných rostlin (Pérombelon, 1992; Toth et al., 2011). Škody způsobené těmito patogeny zůstávají v mnoha zemích světa důležitým problémem. V Evropě patří mezi hlavní pektinolytické patogeny na bramboru *Pectobacterium atrosepticum*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *Dickeya dianthicola* a *Dickeya solani* (van der Wolf et al., 2014). Způsobují měkkou hnilobu hlíz a bakteriální černání stonku bramboru (tzv. černou nohu) (Golanowska & Łojkowska, 2016; Pérombelon, 2002). Mohou být příčinou značných ekonomických ztrát díky snižování kvality konzumních hlíz a vyřazování brambor během certifikace sadby (Tóth et al., 2011). Produkují charakteristické extracelulární pektinolytické enzymy, které způsobují maceraci pletiv (Adriaenssens et al., 2012; Czajkowski et al., 2011). Bakterie rodu *Dickeya* mohou snížit výnos hlíz brambor až o 25 % (Day et al., 2017). Druh *D. solani* byl popsán již v roce 2009 (Sławiak et al., 2009), ale jako nový druh byl zaveden až v roce 2014 (van der Wolf et al., 2014). Přenáší se převážně infikovanými hlízami

bramboru (Toth et al., 2011) a případně závlahovou vodou (Parkinson et al., 2015). Ve srovnání s jinými druhy rodu *Dickeya* je *D. solani* pro rostliny bramboru vysoce patogenní (Czajkowski et al., 2013) a má vyšší schopnost kolonizovat kořeny rostlin bramboru a šířit se přes cévní systém rostliny (Czajkowski et al., 2010).

Ochrana bramboru před pektinolytickými bakteriemi je obtížná kvůli nedostatku rezistence u komerčních odrůd bramboru a absenci účinných látek (Czajkowski et al., 2011). Důležitou roli hrají preventivní opatření (Rasocha et al., 2008), zahrnující používání certifikovaných sadbových hlíz prostých *Pectobacterium* spp. a *Dickeya* spp., hygienická opatření k zabránění zavlečení a šíření bakterií, zamezení mechanického poškození hlíz a zabránění navlhnutí hlíz při skladování (Czajkowski et al., 2010; Pérombelon, 1992). Biologická ochrana založená na použití antagonistických mikroorganismů je potenciálně slibnou alternativou nebo doplňkem integrované ochrany bramboru, která může významně snížit negativní dopad pesticidů na životní prostředí (Lodewyckx et al., 2002; Lahlali et al., 2022). Antagonisté ovlivňují populace patogenů přímo nebo prostřednictvím antibiόzy, konkurence o živiny nebo indukce systémové rezistence rostlin (Howarth, 2003). Mezi biologickými agens dominují bakterie s 90 % (Yuliar a Toyota, 2015), přičemž nejvíce využívanými jsou kmeny z rodů *Bacillus*, *Agrobacterium* a *Pseudomonas* (Fravel, 2005). Kromě svého antibiotického potenciálu mohou antagonistické bakterie, které zaujímají stejnou niku, zabránit kolonizaci hlíz druhu *Pectobacterium* spp. a *Dickeya* spp. a následně rozvoji symptomů měkké hniloby. Některé z těchto antagonistických bakterií jsou endofyty schopné systematicky kolonizovat rostliny (Lodewyckx et al., 2002).

Cílem experimentů bylo zjištění účinnosti vybraných užitečných antagonistických bakterií z rodu *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Rhodococcus* a *Lactiplantibacillus* na patogenní bakterii *Dickeya solani*, původce měkké hniloby hlíz a černání stonků bramboru, pomocí *in vivo* experimentů na plátcích hlíz bramboru. Problematika je důležitá mimo jiné pro vývoj nových biopesticidů využitelných v biologické ochraně bramboru před pektinolytickými bakteriemi.

## Materiál a metody

Pro experimenty byly vybrány kmeny prospěšných bakterií z České sbírky mikroorganismů (Masarykova univerzita, Brno) s potenciální antimikrobiální aktivitou uvedené v Tab. 1. Patogenní bakterie *D. solani* (kmen CPPB-050 vykazující významnou pektinolytickou aktivitu) pocházela ze Sbírký fytopatogenních a zemědělsky prospěšných bakterií (CARC v.v.i., Praha) a byla izolována z lenticel odrůdy bramboru 'Laura' (Českomoravská vrchovina, Česká republika).

Pro zjištění účinnosti vybraných prospěšných kmenů bakterií na patogen *D. solani* byly použity *in vivo* testy na plátcích hlíz bramboru. Zdravé hlízy odrůdy 'Red Anna' (česká odrůda citlivá na infekci pektinolytickými bakteriemi) byly omyty pod tekoucí vodou pro odstranění ulpívajících zbytků půdy, dezinfikovány v 1% roztoku NaClO (Unilever, Bohumín, Česká republika) po dobu 15 min, následně opláchnuty ve sterilní vodě a osušeny na vzduchu při pokojové teplotě přes noc.

Kmeny bakterií byly uchovávány ve 45% glycerolu v hlubokomrazicím boxu (- 80 °C). Bakterie byly před testy nanášeny na Petriho misky (90 mm) s King's Medium B Base (HiMedia, Mumbai, India) a inkubovány po dobu 48 hodin při teplotě 22 ± 1 °C. Bakterie byly poté z těchto ploten seškrábnuty a suspendovány sterilní destilovanou vodou na koncentraci 1,5 × 10<sup>8</sup> CFU/ml. Koncentrace bakterií v roztoku byla zkontrolována pomocí McFarland denzitometru DEN-1 Photometer (Biosan, Latvia, Riga). Antagonistická aktivita prospěšných bakterií byla zjištěna dle upravené metody Hadizadeh et al. (2019). Dezinfikované hlízy brambor nakrájeny na plátky 10 mm silné. Do středu plátek hlíz byly vytvořeny jamky (průměr 6 mm, hluboké 3 mm) pomocí sterilního korkovrtu a skalpelu. Plátky hlíz byly vyrovnány do sterilních uzavíratelných boxů z PVC o objemu 25 l na filtrační papír nasycený 150 ml

destilované vody. Na jednu variantu pokusu bylo použito 21 plátků brambor z 21 různých hlíz. Do jamek plátků hlíz bylo nejprve pomocí pipety nanášeno 15 µl suspenze prospěšného kmenu bakterie o koncentraci  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml. Plátky byly ponechány po dobu 2 h při teplotě  $22 \pm 1$  °C, aby roztok bakterií mohl dobře difundovat do pletiv. Do jamek plátků hlíz byla potom nanášena bakteriální suspenze *D. solani* (15 µl) o koncentraci  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml. Jako pozitivní kontrola sloužila varianta bez ošetření plátků hlíz prospěšnými kmeny bakterií (pouze inkulace suspenzí pektinolytické bakterie *D. solani*, kmen CPPB-050). Jako negativní kontroly byly použity varianty s aplikací roztoku prospěšných bakterií a sterilní destilované vody. Od každé varianty pokusu byla provedena tři opakování pro statistické vyhodnocení. Potom byly boxy uzavřeny a uloženy při teplotě  $22 \pm 1$  °C do tmy. Po pěti dnech inkubace bylo provedeno vyhodnocení pokusu. Pro tento účel byly plátky hlíz na jednotlivých variantách pokusu vyfotografovány fotoaparátem Olympus TG-6 (Olympus, Tokyo, Japan) a následně bylo provedeno vyhodnocení rozsahu infekce hlíz (plocha macerace v mm<sup>2</sup>) pomocí softwaru ImageJ 1.53e (Maryland, USA, <https://imagej.net/software/imagej/>) a byla vypočítána účinnost bioagens na *D. solani* porovnáním s pozitivní kontrolou.

Statistické vyhodnocení experimentů bylo provedeno pomocí analýzy rozptylu (jednofaktorová ANOVA) a Tukey-HSD testu ( $\alpha = 0,01$ ; program STATISTICA 7, StatSoft, Inc., USA), kde byla porovnána účinnost prospěšných kmenů bakterií na *D. solani*.

Tab. 1 Přehled testovaných kmenů prospěšných bakterií

Číslo kmenu	Vědecký název kmenu	Původ
CCM 3627	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> (Orla-Jensen 1919) Zheng <i>et al.</i> 2020	Ovčí mléko
CCM 2722	<i>Bacillus subtilis</i> (Ehrenberg 1835) Cohn 1872	Pšeničné otruby
CCM 640	<i>Serratia plymuthica</i> (Lehmann & Neumann 1896) Breed <i>et al.</i> 1948	Voda
CCM 4827	<i>Pseudomonas putida</i> (Trevisan 1889) Migula 1895	Půda
CCM 7140	<i>Pseudomonas fluorescens</i> Migula 1895	Jeskynní voda
CCM 2597	<i>Rhodococcus erythropolis</i> (Gray & Thornton 1928) Goodfellow and Alderson 1979	Půda
CCM 4797	<i>Pseudomonas putida</i> (Trevisan 1889) Migula 1895	Sediment odpadní vody
CCM 2267	<i>Bacillus subtilis</i> (Ehrenberg 1835) Cohn 1872	-
CCM 4795	<i>Pseudomonas fluorescens</i> Migula 1895	Kal
CCM 2794	<i>Bacillus subtilis</i> (Ehrenberg 1835) Cohn 1872	Půda
CCM 7451	<i>Rhodococcus erythropolis</i> (Gray & Thornton 1928) Goodfellow and Alderson 1979	Kal
CCM 3417	<i>Serratia plymuthica</i> (Lehmann & Neumann 1896) Breed <i>et al.</i> 1948	Voda
CCM 2769	<i>Rhodococcus erythropolis</i> (Gray & Thornton 1928) Goodfellow a Alderson 1979	Půda
CCM 4446	<i>Rhodococcus erythropolis</i> (Gray & Thornton 1928) Goodfellow & Alderson 1979	Půda

### Výsledky a diskuze

Pomocí *in vivo* experimentů na plátcích hlíz bramboru byla zjištěna účinnost vybraných bakteriálních kmenů na růst patogenu *Dickeya solani*, původce měkké hniloby hlíz a černání stonků bramboru. U všech testovaných kmenů bakterií byla zjištěna antagonistická aktivita na *D. solani*. Mezi kmeny bakterií byly ale zjištěny významné rozdíly v účinnosti na patogen *D.*

*solani* (obr. 1 a 2), která se pohybovala v rozmezí 1,92-87,08 %. Nejvyšší účinnost byla prokázána u *Pseudomonas fluorescens* (CCM 4795 a CCM 7140) a *Serratia plymuthica* (CCM 3417). Účinnost u těchto kmenů se pohybovala mezi 61,08-87,08 %.

Zjišťováním antimikrobiální aktivity různých mikroorganismů na pektinolytické bakterie bramboru se zabývala řada autorů, kteří zjistili pomocí *in vitro* a *in vivo* experimentů různou účinnost. Podle Chin-A-Woeng et al. (2003) jsou druhy rodu *Pseudomonas* obzvláště vhodné pro biologickou ochranu, protože jako zdroj živin mohou využívat mnoho exsudátů, jsou hojně přítomny v půdě, zejména v rhizosféře, mají vysokou rychlost růstu, mohou přímo podporovat růst rostlin, mají schopnost ovlivňovat patogeny řadou mechanismů. Produkují řadu sekundárních antibakteriálních metabolitů (Weller, 1988). Bakterie *Pseudomonas* spp. aplikované na hlízy dokázaly snížit populace bakterií způsobujících černou nohu a měkkou hnilobu brambor na kořenech brambor a hlízách (Kloepper, 1983). Rovněž dokázaly kontrolovat měkkou hnilobu bramboru, pokud byly aplikovány jako bakteriální suspenze přímo na periderm hlízy (Colyer & Mount, 1984). Možnost biologické ochrany bramboru před pektinolytickými bakteriemi pomocí *Pseudomonas fluorescens* úspěšně prokázali ve studiích *in vitro* Kastelein et al. (1999) a Krzyzanowska et al. (2012).

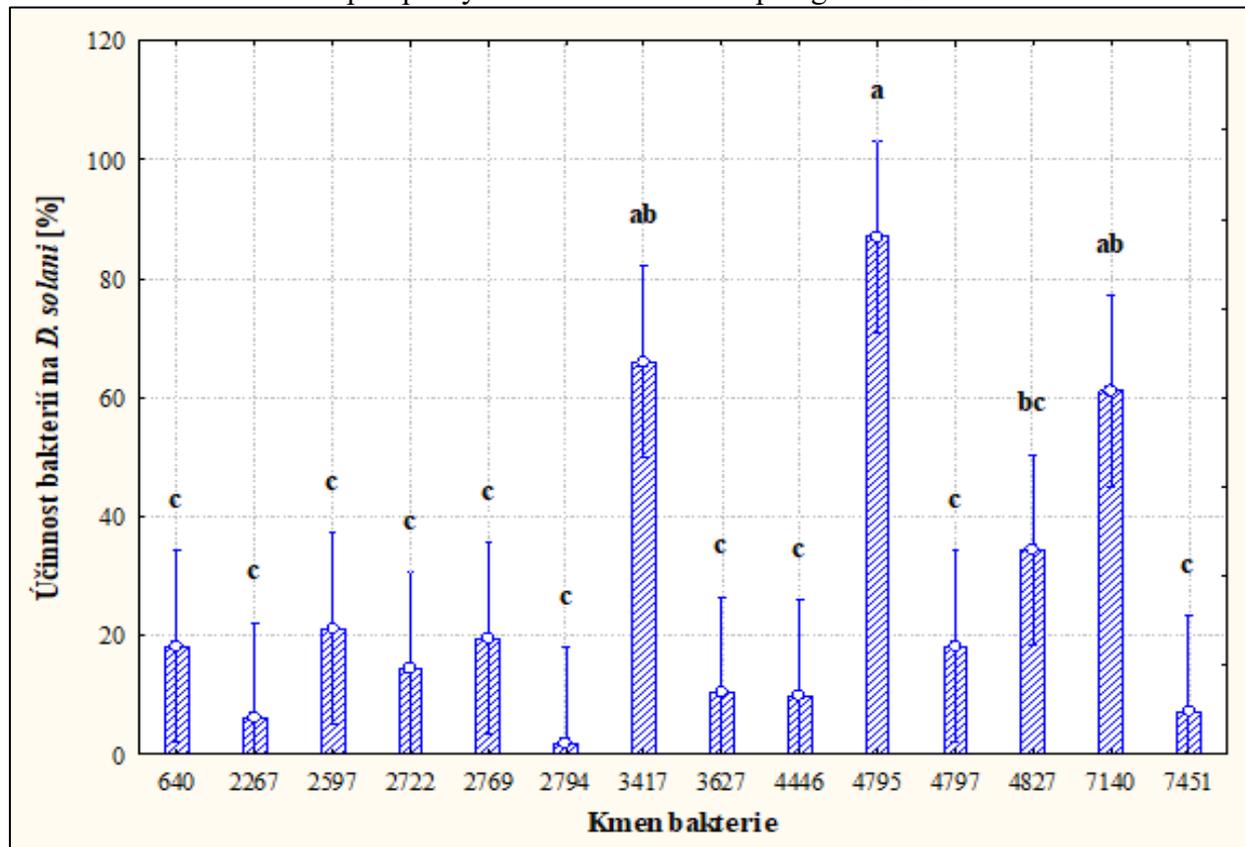


Obr. 1 Porovnání účinnosti kmenů prospěšných bakterií na patogen *D. solani* na plátcích hlíz

Pozitivní výsledky proti pektinolytickým bakteriím bramboru byly zjištěny u kmenů z rodů *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Serratia*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Delftia*, *Ochrobactrum* a *Rhodococcus* (Czajkowski et al., 2011; Diallo et al., 2011; Jafra et al., 2006). Algeblawi & Adam (2013) zjistil účinnost bakterií *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus thuringiensis* a *Pantoea agglomerans* proti bakteriálním patogenům způsobujícím měkkou hnilobu hlíz bramboru. Zhao et al. (2013) prokázal ve své studii vliv *Bacillus amyloliquefaciens* na *P. carotovorum*. Doolotkeldieva et al. (2016) prokázali účinnost druhů rodu *Streptomyces* na potlačování *P. carotovorum*. Azaiez et al. (2018) zjistil antagonistickou aktivitu *Bacillus amyloliquefaciens* na *P. carotovorum*. Ochranou bramboru proti pektinolytickým bakteriím se také zabýval ve své práci Lapidot et al. (2015), který

prokázal antagonistickou aktivitu *Paenibacillus dendriformis*. Hadizadeh *et al.* (2019) zjistil antagonistický vliv *Serratia plymuthica* na bakterie rodu *Dickeya*. Trias & Bañeras (2008) použili proti pektinolytickým bakteriím bramboru tzv. bakterie mléčného kvašení (*Lactobacillus plantarum*, *La. acidophilus*, *La. buchneri*, *Leuconostoc* spp. a *Weissella cibaria*).

Obr. 2 Průměrná účinnost prospěšných kmenů bakterií na patogen *D. solani*



### Závěr

Pomocí *in vivo* experimentů na plátcích hlíz bramboru byla zjištěna účinnost vybraných bakteriálních kmenů na patogen *Dickeya solani*, původce měkké hniloby hlíz a černání stonků bramboru. U všech testovaných kmenů bakterií byla zjištěna antimikrobiální aktivita na *D. solani*. Mezi kmeny bakterií byly ale zjištěny významné rozdíly v účinnosti na patogen *D. solani*, která se pohybovala v rozmezí 1,92-87,08 %. Nejvyšší účinnost byla prokázána u *Pseudomonas fluorescens* (CCM 4795 a CCM 7140) a *Serratia plymuthica* (CCM 3417). Účinnost u těchto kmenů byla mezi 61,08-87,08 %. Vybrané kmeny prospěšných bakterií mají potenciál pro využití v biologické ochraně bramboru před patogenem *D. solani*. Účinnost bakterií je nutné ještě ověřit pomocí experimentů během skladování hlíz a ve skleníkových a následně polních pokusech.

### Literatura

Adriaenssens, E. M., Van Vaerenbergh, J., Vandenneuvel, D., Dunon, V., Ceysens, P. J., De Proft, M., Kropinski, A. M., Noben, J.-P., Maes, M., & Lavigne, R., 2012. T4-Related Bacteriophage LIMESTONE Isolates for the Control of Soft Rot on Potato Caused by '*Dickeya solani*'. *PLoS ONE*, 7(3), e33227. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033227>

- Algeblawi, A. & Adam, F., 2013. Biological control of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* by *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*, and *Bacillus thuringiensis*. *International Journal of Chemical, Environmental and Biological Sciences*, 5: 70–79
- Azaiez, S., Slimene, I. B., Karkouch, I., Essid, R., Jallouli, S., Djebali, N. & Tabbene, O., 2018. Biological control of the soft rot bacterium *Pectobacterium carotovorum* by *Bacillus amyloliquefaciens* strain Ar10 producing glycolipid-like compounds. *Microbiological Research*, 217: 23–33
- Colyer, P. D. & Mount, M. S., 1984. Bacterization of potatoes with *Pseudomonas putida* and its influence on postharvest soft rot diseases. *Plant Disease* 68, 703–6.
- Czajkowski, R., de Boer, W. J., van der Zouwen, P. S., Kastelein, P., Jafra, S., de Haan, E. G., van den Bovenkamp, G. W., & van der Wolf, J. M., 2013. Virulence of *Dickeya solani* and *Dickeya dianthicola* biovar-1 and -7 strains on potato (*Solanum tuberosum*): Comparison of *Dickeya* spp. on potato. *Plant Pathology*, 62(3), 597–610. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2012.02664.x>
- Czajkowski, R., de Boer, W. J., Velvis, H., & van der Wolf, J. M., 2010. Systemic Colonization of Potato Plants by a Soilborne, Green Fluorescent Protein-Tagged Strain of *Dickeya* sp. Biovar 3. *Phytopathology*, 100(2), 134–142. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-100-2-0134>
- Czajkowski, R., Pérombelon, M. C. M., van Veen, J. A., & van der Wolf, J. M., 2011. Control of blackleg and tuber soft rot of potato caused by *Pectobacterium* and *Dickeya* species: A review: Control of *Dickeya* and *Pectobacterium* species in potato. *Plant Pathology*, 60(6), 999–1013. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02470.x>
- Day, A., Ahn, J., Fang, X., & Salmond, G. P. C., 2017. Environmental Bacteriophages of the Emerging Enterobacterial Phytopathogen, *Dickeya solani*, Show Genomic Conservation and Capacity for Horizontal Gene Transfer between Their Bacterial Hosts. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1654. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01654>
- Diallo, S., Crépin, A., Barbey, C., Orange, N., Burini, J.-F., & Latour, X., 2011. Mechanisms and recent advances in biological control mediated through the potato rhizosphere: Biological control mediated through the potato rhizosphere. *FEMS Microbiology Ecology*, 75(3), 351–364. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.01023.x>
- Doolotkeldieva, T., Bobusheva, S. & Suleymankisi, A., 2016. Biological control of *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* by *Streptomyces* species. *Advanced Microbiology*, 6: 104–114.
- Fravel, D.R. (2005). Commercialization and Implementation of Biocontrol. *Annual Review of Phytopathology*, 43 (1), 337–359. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.032904.092924>.
- Golanowska, M., & Łojkowska, E., 2016. A review on *Dickeya solani*, a new pathogenic bacterium causing loss in potato yield in Europe. *BioTechnologia*, 2, 109–127. <https://doi.org/10.5114/bta.2016.60781>
- Hadizadeh, I., Peivastegan, B., Hannukkala, A., Van Der Wolf, J. M., Nissinen, R., & Pirhonen, M., 2019. Biological control of potato soft rot caused by *Dickeya solani* and the survival of bacterial antagonists under cold storage conditions. *Plant Pathology*, 68(2), 297–311. <https://doi.org/10.1111/ppa.12956>
- Howarth, F. G., 2003. Environmental impacts of classical biological control. *Annual Review of Entomology* 36, 485–509. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.36.010191.002413>
- Chin-A-Woeng, T. F. C., Bloemberg, G. V. & Lugtenberg, B. J. J., 2003. Phenazines and their role in biocontrol by *Pseudomonas* bacteria. *New Phytologist*, 157 (3), 503–523. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00686.x>
- Jafra, S., Przysowa, J., Czajkowski, R., Michta, A., Garbeva, P., & Van Der Wolf, J. M., 2006. Detection and characterization of bacteria from the potato rhizosphere degrading N-acyl-homoserine lactone. *Canadian Journal of Microbiology*, 52(10), 1006–1015. <https://doi.org/10.1139/w06-062>

- Kastelein, P., Schepel, E. G., Mulder, A., Turkensteen, L. J., & Van Vuurde, J. W. L., 1999. Preliminary selection of antagonists of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (Van Hall) Dye for application during green crop lifting of seed potato tubers. *Potato Research*, 42(1), 161–171. <https://doi.org/10.1007/BF02358406>
- Kloepper, J. W., 1983. Effect of seed piece inoculation with plant growth promoting rhizobacteria on populations of *Erwinia carotovora* on potato roots and in daughter tubers. *Phytopathology* 73, 217–9.
- Krzyzanowska, D. M., Potrykus, M., Golanowska, M., Polonis, K., Gwizdek-Wisniewska, A., Lojkowska, E. & Jafra S., 2012. Rhizosphere bacteria as potential biocontrol agents against soft rot caused by various *Pectobacterium* and *Dickeya* spp. strains. *Journal of Plant Pathology*, 94: 367–378
- Lahlali, R., Ezrari, S., Radouane, N., Kenfaoui, J., Esmaeel, Q., El Hamss, H., Belabess, Z., & Barka, E. A., 2022. Biological Control of Plant Pathogens: A Global Perspective. *Microorganisms*, 10(3), 596. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030596>.
- Lapidot, D., Dror, R., Vered, E., Mishli, O., Levy, D., & Helman, Y., 2015. Disease protection and growth promotion of potatoes (*Solanum tuberosum* L.) by *Paenibacillus dendritiformis*. *Plant Pathology*, 64(3), 545–551. <https://doi.org/10.1111/ppa.12285>
- Lodewyckx, C., Vangronsveld, J., Porteous, F., Moore, E.R.B., Taghavi, S., Mezgeay, M. & Der Lelie, D.V., 2002. Endophytic Bacteria and Their Potential Applications. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 21 (6), 583–606. <https://doi.org/10.1080/0735-260291044377>
- Parkinson, N., Pritchard, L., Bryant, R., Toth, I., & Elphinstone, J., 2015. Epidemiology of *Dickeya dianthicola* and *Dickeya solani* in ornamental hosts and potato studied using variable number tandem repeat analysis. *European Journal of Plant Pathology*, 141(1), 63–70. <https://doi.org/10.1007/s10658-014-0523-5>
- Pérombelon, M. C. M., 2002. Potato diseases caused by soft rot erwinias: An overview of pathogenesis. 51(1), 1–12. <https://doi.org/10.1046/j.0032-0862.2001.Shorttitle.doc.x>
- Pérombelon, M. C. M., 1992. Potato blackleg: Epidemiology, host-pathogen interaction and control. *Netherlands J Plant Pathol* 98:135–146. doi: 10.1007/BF01974480
- Rasocha, V., Hausvater, E., & Doležal, P., 2008. Škodliví činitelé bramboru: Abionózy, choroby, škůdci = Harmful agents of potato: abionoses, diseases, pests. Výzkumný ústav bramborářský. ISBN 978-80-86940-12-0
- Sławiak, M., Van Beckhoven, J.R.C.M., Speksnijder, A.G.C.L., Czajkowski, R., Grabe, G. & Van Der Wolf, J.M., 2009. Biochemical and Genetical Analysis Reveal a New Clade of Biovar 3 *Dickeya* Spp. Strains Isolated from Potato in Europe. *Eur. J. Plant Pathol*, 125, 245–261.
- Toth, I. K., van der Wolf, J. M., Saddler, G., Lojkowska, E., Hélias, V., Pirhonen, M., Tsrör Lahkim, L., & Elphinstone, J. G., 2011. *Dickeya* species: An emerging problem for potato production in Europe: *Dickeya* spp. on potato in Europe. *Plant Pathology*, 60(3), 385–399. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02427.x>
- Trias, R., & Bañeras, L., 2008. Lactic acid bacteria from fresh fruit and vegetables as biocontrol agents of phytopathogenic bacteria and fungi. *International Microbiology*, 11, 231–236. <https://doi.org/10.2436/20.1501.01.66>
- Van Der Wolf, J. M., Nijhuis, E. H., Kowalewska, M. J., Saddler, G. S., Parkinson, N., Elphinstone, J. G., Pritchard, L., Toth, I. K., Lojkowska, E., Potrykus, M., Waleron, M., De Vos, P., Cleenwerck, I., Pirhonen, M., Garlant, L., Hélias, V., Pothier, J. F., Pflüger, V., Duffy, B., Tsrör, L. & Manulis, S., 2014. *Dickeya solani* sp. nov., a pectinolytic plant-pathogenic bacterium isolated from potato (*Solanum tuberosum*). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64 (Pt\_3), 768–774. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.052944-0>

- Weller, D.M., 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual Review of Phytopathology* 26, 379–407.
- Yuliar, Nion, Y. A. & Toyota, K., 2015. Recent Trends in Control Methods for Bacterial Wilt Diseases Caused by *Ralstonia solanacearum*. *Microbes and environments*, 30 (1), 1–11. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME14144>
- Zhao, Y., Li, P., Huang, K., Wang, Y., Hu, H. & Sun Y., 2013. Control of postharvest soft rot caused by *Erwinia carotovora* of vegetables by a strain of *Bacillus amyloliquefaciens* and its potential modes of action. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29: 411–420

### **Poděkování**

Příspěvek byl zpracován s podporou Ministerstva zemědělství ČR – projekt NAZV č. QL24010148 „Alternativní způsoby biologické ochrany bramboru za využití bioagens a látek přírodního původu“.

Poděkování patří pracovníkům České sbírky mikroorganismů (CCM; Masarykova univerzita) a Sbírcе fytopatogenních a zemědělsky prospěšných bakterií (CPABB; CARC – Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i.) za poskytnutí potřebných bakteriálních kmenů. Obě sbírky patří pod Národní program konzervace a využívání genetických zdrojů mikroorganismů a drobných živočichů hospodářského významu (NPGZM).

### **Kontaktní adresa**

Ing. Martin Kmoch, Ph.D.  
Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o.  
Dobrovského 2366, 580 01 Havlíčkův Brod  
569 466 231, kmoch@vubhb.cz

## Vliv synergistů na snížení rezistence řepkových škůdců k pyretroidům

Impact of synergists on decrease of resistance against pyrethroids in oilseed rape pests

Kořínek J.<sup>1</sup>, Seidenglanz M.<sup>2</sup>, Kolařík P.<sup>3</sup>, Hrudová E.<sup>4</sup>, Blažek L.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>OSEVA VaV; <sup>2</sup>Agritec Plant Research s.r.o.; <sup>3</sup>Zemědělský výzkum, spol. s r.o.;

<sup>4</sup>Mendelova univerzita v Brně

### Abstrakt

V roce 2025 bylo otestováno 30 populací blýskáčka řepkového (*B. aeneus*) a 20 (14) populací krytonosce čtyřzubého (*C. pallidactylus*) odebraných z různých lokalit ČR pomocí uzpůsobeného *Adult Vial Test* 011 verze 3 (*Insecticide Resistance Action Committee*) současně na lambda-cyhalothrin samotný, lambda-cyhalothrin obohacený o piperonyl butoxide (PBO) v dávce odpovídající 45 g ú.l./ha a lambda-cyhalothrin obohacený o tebuconazole (TEB) v dávce odpovídající 160 g ú.l./ha. Oba inhibitory enzymů Cytochromu P450 (PBO i TEB) vykazaly výrazný synergický efekt, který se projevil nárůstem toxicity lambda-cyhalothrinu (tedy signifikantním poklesem hodnot jeho LD<sub>50(90)</sub>) pro oba testované druhy škůdců. V případě vysoce rezistentních populací b. řepkového k lambda-cyhalothrinu zajistilo přidání PBO i TEB návrat k plné citlivosti populací tohoto škůdce k testovanému pyretroidu. To otvírá možnosti pro využití těchto synergistů k řešení aktuálních problémů s regulací výskytu klíčových škůdců v řepce.

**Klíčová slova:** blýskáček řepkový, krytonosec čtyřzubý, rezistence, pyretroidy, synergický efekt, PBO, DMIs

### Abstract

In season 2025, 30 pollen beetle (*B. aeneus*) and 20 (14) cabbage stem weevil (*C. pallidactylus*) populations sampled in different localities in CZ were tested with usage of an adjusted *Adult Vial Test* 011 version 3 (*Insecticide Resistance Action Committee*) against l-cyhalothrin solo, l-cyhalothrin + Piperonyl butoxide (PBO, 45 g a.i./ha) and l-cyhalothrin + tebuconazole (TEB, 160 g a.i./ha). Both inhibitors of Cytochrome P450 (PBO even TEB) showed high synergistic effect, that resulted in increase of l-cyhalothrin toxicity (= in significant decrease of its LD<sub>50(90)</sub>) to both assessed insect pests. In the case of highly resistant populations of pollen beetle to l-cyhalothrin, the synergists (PBO even TEB) caused a return of pollen beetle populations to full susceptibility to the tested pyrethroid. These findings open a possibility for usage of the synergists for solving actual problems with control of key insect pests in oilseed rape crops.

**Key words:** pollen beetle, cabbage stem flea beetle. resistance, pyrethroids, synergistic effect, PBO, DMIs

### Úvod

Blýskáček řepkový (*Meligethes aeneus* F.) a krytonosec čtyřzubý (*Ceutorhynchus pallidactylus* Marsham 1802), na které se zaměřuje tento příspěvek, patří ke klíčovým škůdcům řepky olejné (*Brassica napus*).

Rezistence k pyretroidům dosahuje nejvyšších úrovní z řepkových škůdců u blýskáčka řepkového (platí jak pro Evropu, tak pro ČR). Komplikace vyvolané nemožností účinně proti tomuto škůdci v porostech řepky zasahovat pyretroidními přípravky začaly být v Evropě (Zimmer et al., 2011; Philippou et al., 2011, Nauen et al. 2012; Hovorka et al., 2021) a též v ČR (Seidenglanz et al. 2021, Tóth et al. 2013) zcela zjevné po roce 2007. Tedy v době, kdy situace s dostupností insekticidních účinných látek s odlišným mechanismem účinku nebyla sice již dobrá, co se týče možností pro zavedení účinné antirezistentní strategie, ale podstatně lepší než v současné době: Byly k dispozici insekticidy na bázi některých organofosfátů, neonikotinoid thiacloprid, oxadiazine indoxacarb, pymetrozine a neonikotinoidní mořidla. Během několika

následujících let došlo k řadě zákazů insekticidních účinných látek a zastavit nebo jen brzdit vývoj rezistence u populací blýskáčka řepkového k pyretroidům se v podstatě stalo nemožné, neboť k zásahům je možné využívat právě jen pyretroidy a jeden neonikotinoid acetamiprid. Výsledkem jsou velmi vysoké úrovně rezistence blýskáčka řepkového k pyretroidům po celé Evropě (např. Seidenglanz et al. 2022, Hrudová et al. 2023).

U krytonosce čtyřzubého není úroveň rezistence tak vysoká jako u blýskáčka. Když Heimbach & Müller v roce 2013 publikovali výsledky několikaletého (2005–2011) monitoringu zaměřeného na změny v citlivosti vybraných druhů řepkových škůdců k pyretroidům v Německu, zaznamenali, že ze tří druhů krytonosců (k. řepkový, k. čtyřzubý a k. šesulový) na tom byl k. čtyřzubý podstatně hůř než další dva druhy. Hodnoty LD<sub>90</sub> pro lambda-cyhalothrin byly u populací k. čtyřzubého téměř třikrát vyšší (v průměru kolem 1.5 g a.i./ha) než u populací k. řepkového a asi dvojnásobně vyšší než u k. šesulového. U nás byl zaznamenán velmi podobný vývoj, i když se s monitoringem začalo později, a to od roku 2015 (např. Seidenglanz et al. 2021). Na základě shromážděných výsledků (Seidenglanz et al. 2022, Kocourek et al. 2024) je možné sledovat, jak se postupně během let 2017 až 2024 zvětšoval rozdíl mezi úrovněmi rezistence / citlivosti českých populací k. čtyřzubého a k. šesulového. Zatímco u k. šesulového (podobné je to i u k. řepkového) je situace víceméně stabilní, zaznamenány dosud byly jen citlivé a vysoce citlivé populace k lambda-cyhalothrinu, u k. čtyřzubého je variabilita výrazně vyšší. Kromě citlivých populací lze narazit na středně rezistentní i rezistentní populace ke zmíněnému referenčnímu pyretroidu.

V případě škůdců řepky (a polních plodin obecně) a jejich snížené citlivosti (rezistence) k pyretroidům je možné mluvit o dvou hlavních typech mechanismů rezistence. První je založen na modifikaci vazebného místa pro pyretroidní molekulu, druhý je způsoben nárůstem metabolické detoxifikace účinných látek (Vontas et al., 2010).

Rezistence na základě modifikace vazebného místa pro pyretroidy byla popsána u různých druhů hmyzu i dalších členovců (např. Dong, 2007; Roca-Acevedo et al., 2023 a další). Příčinou jsou mutace, které se mohou vyskytnout na několika místech proteinového řetězce, jenž prochází skrze všechny čtyři domény sodíkové pumpy (ta je součástí membrány nervových buněk, zde se vážou pyretroidy). Tyto mutace se z hlediska významu a síly dopadu dělí na *kdr* (*knock down resistance*) a *super kdr* (*s-kdr*). V případě mutace (*kdr* nebo *s-kdr*) se pyretroidní účinná látka nemůže na membránu axonu (= dlouhý výběžek nervové buňky, tedy neurit) navázat a funkci nervové buňky nenaruší. Proto se tento typ mechanismu rezistence také někdy označuje jako necitlivost cílového/vazebného místa (*target site insensitivity*). *Kdr* typ je u blýskáčka řepkového způsoben mutací, jejímž důsledkem je nahrazení leucinu (L) fenylalaninem (F) a to v části proteinového řetězce procházejícího segmentem 6 domény II (např. Roca-Acevedo 2023 a řada dalších). Hmyz s touto mutací vykazuje středně silnou rezistenci k pyretroidům (tj. 10–20násobné snížení citlivosti k této skupině insekticidů). *Super kdr* (*s-kdr*) typ je způsoben mutacemi, které postihují aminokyselinovou sekvenci spojující segment 4 a 5 (to je mutace M918T/L známá a potvrzená u několika druhů hmyzu) domény II sodíkové pumpy. Hmyz s rezistencí typu *s-kdr* vykazuje 100krát (a více) sníženou citlivost k pyretroidům. *S-kdr* má tedy výrazně větší praktický dopad než *kdr*. U evropských populací blýskáčka řepkového zatím nebyla (naštěstí) mutace podmiňující rezistenci *s-kdr* nalezena a frekvence mutace způsobující *kdr* rezistenci je v populacích blýskáčka řepkového velmi nízká (např. Philipou et al., 2011; Nauen et al., 2012; výsledky pro ČR: Ludvíková a Seidenglanz 2023). Jak je to s frekvencí těchto mutací u populací k. čtyřzubého v Evropě a v ČR se nic neví.

Převládající mechanismus rezistence u českých a evropských populací blýskáček (a s velkou pravděpodobností i u rezistenci vykazujících populací k. čtyřzubého) je metabolická rezistence. Spočívá v tom, že se u rezistentních jedinců schopných přežít i vysoké dávky insekticidů zvýšila aktivita určitých enzymů, které tyto insekticidy dokážou rozložit (metabolizovat) dříve, než se v těle hmyzu naváží na příslušný receptor. Ten je pro pyretroidy na nervovém vlákne

(viz výše). Za metabolizací / detoxifikací pyretroidů stojí především monooxygenázy Cytochromu P450 (Zimmer et al., 2014). Zvýšená exprese těchto enzymů v tělech rezistentních jedinců je primárním mechanismem způsobujícím rezistenci blýskáčka řepkového k pyretroidům v Evropě. U k. čtyřzubého lze předpokládat, že za sníženou citlivostí k pyretroidům bude stát také zvýšená úroveň produkce enzymů Cytochromu P450 (*nic bližšího se ale zatím neví, poznámka autorů*).

Projevy metabolické rezistence lze snižovat, respektive zcela odstranit inhibicí enzymů Cytochromu P450 vhodnými inhibitory. Na tomto principu je založena podstata tohoto příspěvku. Vychází se zde z předpokladu, že přimícháním vhodného inhibitoru monooxygenáz Cytochromu P450 k pyretroidní účinné látce (tedy vytvoření kombinace pyretroid + inhibitor monooxygenáz) dojde po jejich vstupu do metabolického prostředí hmyzího těla k tomu, že se monooxygenázy nenačítají na molekuly pyretroidu ale na molekuly inhibitoru (musí k němu mít vyšší afinitu než k molekulám pyretroidu) a tím se vytvoří možnost k tomu, aby molekuly pyretroidu mohly bezpečně doputovat k vazným místům na nervovém vlákne, napojit se zde na receptory a spustit reakci, která se projeví odpovídající odezvou cílového druhu hmyzu (blýskáček, krytonosec čtyřzubý). A protože inhibicí dochází *de facto* k posílení účinnosti insekticidu, aniž by muselo docházet ke zvyšování jeho dávky, je možné tyto inhibitory také nazývat synergisty. Protože zvyšují efekt insekticidu, v případě rezistentních skupin hmyzu lze spíše říct, že účinnost insekticidů vrací. Mezi inhibitory enzymů Cytochromu P450 patří piperonyl butoxid (PBO) a triazolový fungicid tebuconazole (TEB), který patří do skupiny Inhibitorů DeMethylace (DMIs). S těmito dvěma dostupnými a do řepky registrovanými účinnými látkami se pracovalo v pokusech, na nichž je tento příspěvek postaven.

Cílem tohoto příspěvku je:

- 1) prokázat nebo vyloučit synergický efekt PBO a TEB na nárůst toxicity ú.l. lambda-cyhalothrin k populacím blýskáčka řepkového vykazujícím vysoké úrovně rezistence k pyretroidům, tedy vyvolat signifikantní snížení hodnot LD<sub>90</sub> pro ú.l. lambda-cyhalothrin
- 2) prokázat nebo vyloučit synergický efekt obou výše zmíněných synergistů (a současně inhibitorů Cytochromu P450) na nárůst účinnosti pyretroidu lambda-cyhalothrin na populaci krytonosece čtyřzubého, které vykazují citlivost nebo jen střední úroveň rezistence k pyretroidům, tedy jestli i v případě tohoto škůdce dojde přidáním PBO resp. TEB k signifikantnímu snížení hodnot LD<sub>90</sub> pro ú.l. lambda-cyhalothrin.

## Metodika

Základem pro ověření a kvantifikaci synergického efektu PBO a TEB (v obou případech se pracovalo s analytickými standardy účinných látek, zakoupeno v Sigma Aldrich) na nárůst mortality způsobené pyretroidem lambda-cyhalothrin (i v tomto případě se pracovalo s analytickým standardem ú.l., Sigma Aldrich) v populacích b. řepkového nebo k. čtyřzubého byl *Adult vial test 011 verze 3* doporučený *Insecticide Resistance Action Committee* k testování citlivosti řepkových škůdců k pyretroidům. Princip testu spočívá v kontaktní expozici testovaných jedinců (dospělci b. řepkového nebo k. čtyřzubého) vhodně zvolenému gradientu dávek testovaného pyretroidu. Test probíhá ve vialkách o známém vnitřním povrchu. Na tuto plochu jsou napočítány dávky aplikovaného insekticidu. L-cyhalothrin (stejně tak i PBO a TEB) je rozpuštěn v acetonu. Do vialky se z roztoku pro určitou dávku vnese 1 ml, vialka se pak v horizontální poloze položí na roller, po krátké době se aceton beze zbytku vypaří a na vnitřních stěnách lahvičky zůstane rovnoměrná vrstvička konkrétní dávky lambda-cyhalothrinu (každá dávka je pro každý test, tedy populaci z určitého místa, ve třech opakováních = 3 vialky; součástí testu je i kontrola – do vialek se aplikuje pouze aceton; do každé vialky se na začátku testu dává 5–10 jedinců testovaného druhu). Pracovalo se s těmito dávkami l-cyhalothrinu (v g ú.l./ha): 0.012, 0.03, 0.06, 0.3, 1.5, 7.5 (registrovaná dávka) a 37.5. Tento gradient dávek je výsledkem pilotních testů probíhajících v letech 2024. Vzorek každé populace (sběr) dospělců

z určité lokality byl testován jednak na l-cyhalothrin samotný, za druhé na l-cyhalothrin + PBO a za třetí na l-cyhalothrin + TEB. V případě testů s PBO respektive TEB se postupovalo tak, že ke každé dávce l-cyhalothrinu (viz výše) byl přimíchán PBO v dávce odpovídající 45 g ú.l./ha respektive TEB v dávce odpovídající 160 g ú.l./ha. Tyto dávky byly zvoleny na základě řady pilotních testů provedených v roce 2024 a na počátku roku 2025 (tyto dávky PBO a TEB nemají žádný negativní dopad na dospělce testovaných druhů, jsou-li aplikovány sólo). Tímto způsobem pak lze pro každou z testovaných populací (blýskáčka i krytonosce) zjistit hodnoty LD pro lambda-cyhalothrin, když je aplikován sólo, a následně pro případ, když je aplikován s PBO respektive TEB. Výpočet hodnot LD byl proveden pomocí probitové regrese (program Polo Plus, Leora software, USA). Neboť hodnoty  $LD_{50,(90)}$  se stanovují s intervaly spolehlivosti (95% *pravděpodobnost*), lze na základě následného srovnávání zjistit, zda obohacení pyretroidu o PBO respektive TEB u dané populace přineslo statisticky významný pokles hodnot LD (a tedy signifikantní nárůst účinnosti pyretroidu) anebo ne. Stejným způsobem lze srovnávat úroveň mortality vyvolané různými dávkami l-cyhalothrinu (bez nebo s PBO respektive TEB). Tímto způsobem bylo v roce 2025 otestováno 30 populací b. řepkového a 20(14) populací k. čtyřzubého odebraných z různých lokalit ČR.

### **Výsledky a diskuse**

Z výsledků uvedených v Tabulce 1 vyplývá, že jak PBO (v dávce odpovídající 45 g ú.l./ha), tak TEB (v dávce odpovídající 160 g ú.l./ha), prokázaly zcela jasný synergický efekt, který se projevil výrazným nárůstem toxicity lambda-cyhalothrinu na blýskáčka řepkového (pokles hodnot ( $LD_{50}$  i  $LD_{90}$  je zcela zřejmý), byl-li s těmito synergisty (a inhibitory Cytochromu P450) aplikován společně. Ze srovnání úrovní mortalit vyvolaných dávkami l-cyhalothrinu, které odpovídají 7.5 (respektive 1.5) g ú.l./ha, vyplývá, že přidání PBO i TEB k l-cyhalothrinu přineslo návrat k plné funkčnosti (registrovaná dávka vyvolala opět 100% mortalitu u všech testovaných populací) jinak již značně díky rezistenci selhávajícího pyretroidu.

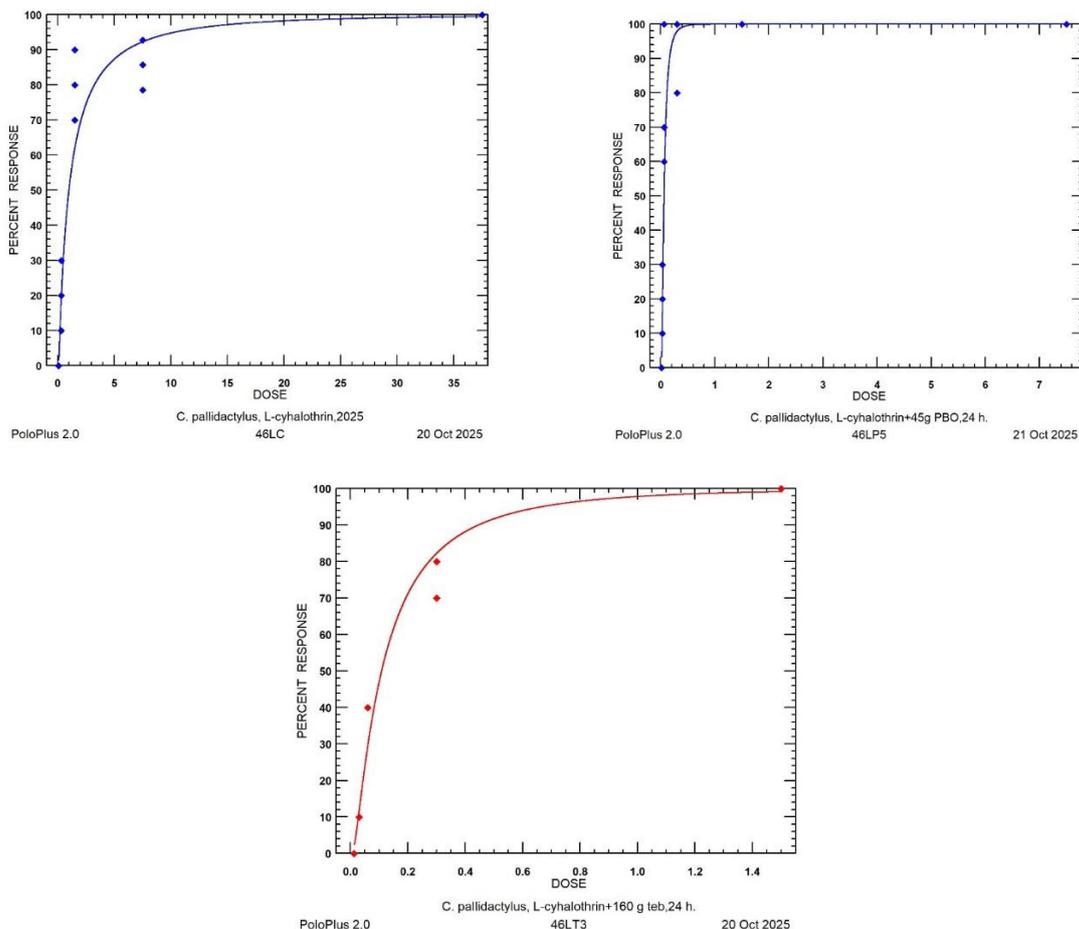
Testování populací k. čtyřzubého přineslo podobné výsledky. I v jeho případě se projevil jasný synergický efekt obou inhibitorů Cytochromu P450 na nárůst účinnosti a mortality lambda-cyhalothrinu (Tabulka 2, Obrázek 1a,b,c).

Tabulka 1 – Výsledky testování citlivosti českých populací blýskáčka řepkového (*B. aeneus*) na esterický pyretroid lambda-cyhalothrin sólo, lambda-cyhalothrin + 45 g PBO / ha a lambda-cyhalothrin + 160 g TEB ha v roce 2025. Použitá metoda: Adult vial test IRAC 011 verze 3 a její adaptovaná verze pro společné testování lambda-cyhalothrinu a PBO respektive lambda-cyhalothrinu a TEB; doba expozice: 24 hodin

číslo populace	výsledky pro lambda-hylothrin sólo				výsledky pro lambda-hylothrin + 45 g PBO / ha				výsledky pro lambda-hylothrin + 160 g TEB / ha			
	prům. mortalita vyvolaná dávkou 1.5 g/ha (%)	prům. mortalita vyvolaná registr. dávkou 7.5 g/ha (%)	LD <sub>50</sub> (g ú.l./ha)	LD <sub>90</sub> (g ú.l./ha)	prům. mortalita vyvolaná dávkou 1.5 g/ha (%)	prům. mortalita vyvolaná registr. dávkou 7.5 g/ha (%)	LD <sub>50</sub> (g ú.l./ha)	LD <sub>90</sub> (g ú.l./ha)	prům. mortalita vyvolaná dávkou 1.5 g/ha (%)	prům. mortalita vyvolaná registr. dávkou 7.5 g/ha (%)	LD <sub>50</sub> (g ú.l./ha)	LD <sub>90</sub> (g ú.l./ha)
1	60.00	75.00	8.56	28.75	100.00	100.00	0.03	0.06	100.00	100.00	0.03	0.17
2	60.00	68.00	9.12	32.65	100.00	100.00	0.01	0.08	100.00	100.00	0.04	0.24
3	60.00	73.00	8.32	25.63	100.00	100.00	0.03	0.15	100.00	100.00	0.03	0.16
4	60.00	69.00	10.63	21.36	96.88	100.00	0.01	0.23	100.00	100.00	0.04	0.18
5	60.00	71.00	7.69	31.66	96.88	100.00	0.02	0.24	100.00	100.00	0.05	0.19
6	42.85	70.00	2.08	26.10	100.00	100.00	0.02	0.03	100.00	100.00	0.02	0.03
7	56.67	76.67	1.19	16.84	100.00	100.00	0.02	0.04	100.00	100.00	0.03	0.06
8	53.33	73.33	1.42	14.69	100.00	100.00	0.01	0.03	100.00	100.00	0.02	0.03
9	0.00	32.00	14.43	57.06	100.00	100.00	0.02	0.10	100.00	100.00	0.02	0.05
10	9.10	42.42	8.59	51.36	100.00	100.00	0.01	0.03	100.00	100.00	0.01	0.03
11	6.25	41.66	9.43	28.48	100.00	100.00	0.02	0.03	100.00	100.00	0.01	0.03
12	6.25	48.64	7.52	31.84	100.00	100.00	0.02	0.04	100.00	100.00	0.01	0.03
13	3.33	38.46	10.59	40.16	100.00	100.00	0.01	0.02	100.00	100.00	0.01	0.02
14	13.33	63.33	5.16	26.47	100.00	100.00	0.01	0.03	100.00	100.00	0.01	0.04
15	19.44	58.33	5.47	28.06	100.00	100.00	0.02	0.03	100.00	100.00	0.02	0.03
16	10.00	63.33	5.64	16.37	100.00	100.00	0.02	0.05	100.00	100.00	0.01	0.01
17	19.23	66.67	4.17	24.60	100.00	100.00	0.01	0.01	100.00	100.00	0.01	0.02
18	11.54	60.00	5.45	29.49	100.00	100.00	0.02	0.03	100.00	100.00	0.01	0.02
19	16.67	46.67	6.80	47.93	100.00	100.00	0.02	0.03	100.00	100.00	0.01	0.01
20	13.33	43.33	8.75	60.37	100.00	100.00	0.02	0.01	100.00	100.00	0.01	0.01
21	18.52	63.33	3.99	29.02	100.00	100.00	0.01	0.03	100.00	100.00	0.01	0.01
22	15.63	58.82	5.87	40.18	100.00	100.00	0.01	0.01	100.00	100.00	0.01	0.01
23	16.67	52.77	6.43	55.09	100.00	100.00	0.01	0.04	100.00	100.00	0.01	0.02
24	19.44	63.64	5.62	23.95	100.00	100.00	0.01	0.05	100.00	100.00	0.01	0.03
25	26.67	53.33	5.20	40.62	100.00	100.00	0.02	0.04	100.00	100.00	0.02	0.07
26	5.41	25	17.34	94.82	100.00	100.00	0.01	0.06	100.00	100.00	0.02	0.04
27	2.63	64.71	5.88	13.93	100.00	100.00	0.02	0.06	100.00	100.00	0.01	0.08
28	6.67	40	9.02	36.15	100.00	100.00	0.02	0.04	100.00	100.00	0.02	0.05
29	0.00	46.15	8.91	23.65	100.00	100.00	0.01	0.01	100.00	100.00	0.01	0.05
30	9.01	51.52	9.89	62.01	100.00	100.00	0.01	0.01	100.00	100.00	0.01	0.01

Tabulka 2 - Výsledky testování citlivosti českých populací krytonosce čtyřzubého (*C. pallidactylus*) na esterický pyretroid lambda-cyhalothrin sólo, lambda-cyhalothrin + 45 g PBO / ha a lambda-cyhalothrin + 160 g TEB ha v roce 2025. Použitá metoda: Adult vial test IRAC 011 verze 3 a její adaptovaná verze pro společné testování lambda-cyhalothrinu a PBO respektive lambda-cyhalothrinu a TEB; doba expozice: 24 hodin

číslo populace	výsledky pro lambda-hylothrin sólo				výsledky pro lambda-hylothrin + 45 g PBO / ha				výsledky pro lambda-hylothrin + 160 g TEB / ha			
	prům. mortalita vyvolaná dávkou 1.5 g/ha (%)	prům. mortalita vyvolaná registr. dávkou 7.5 g/ha (%)	LD <sub>50</sub> (g ú.l./ha)	Int. Spol. (95%)	prům. mortalita vyvolaná dávkou 1.5 g/ha (%)	prům. mortalita vyvolaná registr. dávkou 7.5 g/ha (%)	LD <sub>90</sub> (g ú.l./ha)	Int. Spol. (95%)	prům. mortalita vyvolaná dávkou 1.5 g/ha (%)	prům. mortalita vyvolaná registr. dávkou 7.5 g/ha (%)	LD <sub>50</sub> (g ú.l./ha)	Int. Spol. (95%)
1	81.25	100.00	2.02	1.22-5.94	100	100	0.07	0.05-0.16	100.00	100.00	0.39	0.23-1.48
2	82.61	100.00	1.92	1.22-4.35	100	100	0.08	0.06-0.23	100.00	100.00	0.05	0.04-0.10
3	80.00	100.00	2.09	1.36-4.34	100	100	0.10	0.07-0.20	100.00	100.00	0.44	0.26-1.08
4	86.67	100.00	1.76	1.13-3.60	100	100	0.09	0.07-0.17	100.00	100.00	0.39	0.20-1.68
5	86.67	97.06	2.64	1.58-5.82	100	100	0.13	0.09-0.25	100.00	100.00	0.29	0.19-0.62
6	77.78	100.00	2.11	1.40-5.00	100	100	0.05	0.04-0.08	100.00	100.00	0.09	0.07-0.16
7	26.67	86.67	10.98	5.56-39.96	100	100	0.94	0.46-3.43	100.00	100.00	0.57	0.32-1.77
8	26.67	100.00	8.69	3.18-127.14	100	100	0.67	0.39-1.69	100.00	100.00	0.17	0.12-0.44
9	86.67	100.00	2.39	1.49-5.24	100	100	1.09	0.54-3.81	100.00	100.00	0.28	0.19-0.56
10	93.33	100.00	1.11	0.69-2.91	100	100	0.13	0.09-0.28	100.00	100.00	0.37	0.24-0.74
11	93.33	100.00	1.51	0.94-3.70	100	100	0.14	0.09-0.33	100.00	100.00	0.45	0.28-0.94
12	90.00	100.00	1.95	1.23-4.04	100	100	0.14	0.10-0.31	100.00	100.00	0.25	0.17-0.49
13	82.35	94.74	3.43	2.09-7.17	100	100	0.23	0.16-0.42	97.14	100.00	0.46	0.28-1.04
14	16.67	95.65	5.92	4.17-11.04	100	100	0.06	0.05-0.09	100.00	100.00	0.23	0.16-0.43
15	100.00	100	1.47	0.64-13.05	100	100	0.16	0.11-0.36				
16	33.33	100.00	5.40	3.14-14.76	100	100	0.08	0.06-0.17				
17	41.67	100.00	5.49	3.14-15.99	100	100	0.15	0.09-0.47				
18	50.00	96.97	4.93	3.19-9.91	100	100	0.14	0.09-0.30				
19	80.00	85.71	6.08	3.69-12.72	100	100	0.12	0.08-0.24				
20	53.33	93.33	6.37	3.59-15.77	100	100	0.09	0.06-0.18				



Obrázek 1a,b,c –Růst mortality dospělců k. čtyřzubého (osa Y, vyjádřeno v %) v závislosti na růstu dávky lambda-cyhalothrinu (osa X, dávky v g l-cyhalothrinu / ha); 1a (vlevo): když je lambda-cyhalothrin testován sólo; 1b (vpravo): když je ke každé testované dávce lambda-cyhalothrinu přidáno 45 g PBO / ha a 1c (dole): když je ke každé testované dávce lambda-cyhalothrinu přidáno 160 g tebuconazolu / ha. Ve všech třech případech jde o jednu populaci k. čtyřzubého z lokality Hříšice na okrese J. Hradec, populace odebrána S. Hovorkovou, SPZO). Pozor: na ose X jsou v každém z grafů jinak rozložené dávky l-cyhalothrinu.

Jedním z hlavních problémů, který ohrožuje perspektivu pěstování řepky v ČR (a v Evropě obecně) je, že přibližně od roku 2015 výrazně klesá meziroční výnosová stabilita a významně se zvyšují náklady spojené s ochranou proti hmyzím škůdcům (viz např. Andert et al. 2021). Přitom však účinnost ochrany proti blýskáčkovi a také krytonosci čtyřzubému i přes narůstající náklady a počet aplikací klesá (viz např. Seidenglanz et al. 2022).

Nemožnost účinně regulovat výskyt škůdců v porostech pomocí dostupných insekticidů je důsledkem, kromě nárůstu výskytů (*výskyty k. čtyřzubého v ČR v posledních letech pravidelně několikanásobně převyšují prahové hodnoty, výskyty blýskáčka řepkového poslední tři až čtyři sezóny vykazovaly také jasnou tendenci růst; zatím nepublikovaná data autorského týmu*) a změn v chování (*např. u k. čtyřzubého výrazně narostla délka období kladení; oba škůdci migrují do porostů dříve – nejen dle datumu ale hlavně z fenologického hlediska*), důsledkem získané rezistence. Zejména blýskáček řepkový se tak stává kritickým faktorem, který bude mít, nepodaří-li se nalézt způsob, jak proti němu účinně zasahovat v porostech, významný negativní dopad perspektivu pěstování řepky v ČR.

Výsledky předkládané v tomto příspěvku ukazují, že dopady vysokých úrovní metabolické rezistence k pyretroidům u blýskáčka řepkového lze výrazně omezit nebo i zcela eliminovat

využitím inhibitorů enzymů, které tento typ rezistence, tzv. metabolické rezistence, způsobují. Jde o monooxygenázy cytochromu P450. Zde prezentované výsledky není snadné srovnat s nějakými dalšími pracemi na toto téma, protože v případě škůdců řepky dopady možných synergistů na zvýšení účinnosti pyretroidů či oslabení dopadů rezistence k pyretroidům dosud nikdo v Evropě nepublikoval.

Proč se v případě řepkových škůdců kromě PBO zaměřovat na DMIs (někdy také EBI) fungicidy jako potenciální synergisty pyretroidů popř. i acetamipridu? DMIs v houbách blokuje syntézu sterolu ergosterol. To je velmi důležitý stavební prvek buněčných stěn hub. Způsobují tedy disrupci buněčných stěn a celkově tedy i vláken (hyf). Z hlediska zde probíraného tématu je důležité toto: biochemicky jde v houbách o narušení demethylace na pozici C14 tím, že DMIs inhibují enzymy cytochromu P450 (enzymová skupiny CYP – obecně monooxygenázy; demethylace je oxidace). Stejná skupina enzymů (monooxygenázy P450) způsobuje u hmyzu metabolický typ rezistence k pyretroidům. K pyretroidům rezistentní blýskáček disponuje výrazně většími hladinami těchto enzymů než citlivý blýskáček. A DMIs jsou inhibitory těchto monooxygenáz v houbových a stejně tak (jak ukazují výsledky našich pokusů) i v hmyzích tělech - proto má smysl se na ně zaměřit jako na synergisty – mohou tyto enzymy zablokovat – ty pak nemohou provést oxidaci a detoxifikaci molekul pyretroidů – a tak se vrací šance, že dosáhnou po vstupu do těla hmyzu cílových míst, tj. receptorů na nervovém axonu, a spustí reakci, která vede ke smrti zasaženého jedince. V laboratorních testech je nutné pokračovat a hledat ještě další (nejen mezi fungicidy) možnosti do pozice synergistů. Určitou roli zde mohou hrát např. biologické insekticidy / biologicky aktivní látky, které aplikované samostatně nestojí za nic – jejich role se ale může začít jevit jinak, když si je představíme jako synergisty syntetických insekticidů. Velkou možností do budoucna je také pokusit se cílit na endosymbionty hmyzu a poškozovat blýskáčka skrze ně (bez některých blýskáček nemůže přežít, rozmnožit se atd.). Možnosti tu jsou.

### **Závěr**

1) PBO (v dávce odpovídající 45 g ú.l./ha) i TEB (v dávce odpovídající 160 g ú.l./ha) mají statisticky významný synergický efekt na nárůst toxicity ú.l. lambda-cyhalothrin k populacím blýskáčka řepkového vykazujícím vysoké úrovně rezistence k pyretroidům. Jejich přidání k pyretroidu lambda-cyhalothrin způsobuje signifikantní pokles hodnot jeho LD<sub>90</sub> a to na úroveň, která zaručuje 100% mortalitu u populací blýskáčka řepkového kontaktně exponovaných registrované dávce (7.5 g ú.l./ha) tohoto pyretroidu.

2) PBO (v dávce odpovídající 45 g ú.l./ha) i TEB (v dávce odpovídající 160 g ú.l./ha) mají statisticky významný synergický efekt na nárůst toxicity ú.l. lambda-cyhalothrin k populacím krytonosce čtyřzubého a výrazně zvyšují jeho účinnost na tohoto škůdce.

### **Literatura**

Andert S., Ziesmer A., Zhong H. (2021): Farmer's perspective of future management of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.): A case study from North-eastern Germany. *European Journal of Agronomy*, 130.

Dong K. (2007). Insect sodium channels and insecticide resistance. *Invertebrate neuroscience*, 7, 17-30.

Heimbach U. & Müller A. (2013): Incidence of pyrethroid-resistant oilseed rape pests in Germany. *Pest. Manag. Sci.* 69, 209-216.

Hovorka T., Kocourek F., Horská, T., Stara J. (2021): Widespread resistance of pollen beetles to pyrethroids in Czechia with no evidence for kdr mutation. *Crop Protection*. 145. 105648. 10.1016/j.cropro.2021.105648.

- Hrudová E., Seidenglanz M., Tóth P., Poslušná J., Kolařík P., Havel J. (2023). Pollen Beetles in Oilseed Rape Fields: Spectrum and Distribution in Czech Republic during 2011–2013. *Agriculture* 2023, 13, <https://doi.org/10.3390>.
- Kocourek F., Seidenglanz M., Hrudová E., Kolařík P., Kořínek J. (2024). Zpráva za Plošný monitoring rezistence vybraných škůdců vůči účinným látkám pesticidů na území ČR v roce 2024 - zajištění plnění cílů NAP k bezpečnému používání pesticidů v roce 2024 (SMLOUVA O DÍLO č. č. 688-2024-18111 Č.j. MZE-38527/2024-18111).
- Ludvíková M., Seidenglanz M. (2023): Molekulární analýzy zaměřené na určení mechanismů rezistence u jedinců *Meligethes aeneus* F. fenotypově rezistentních k pyretroidům. *Úroda* 12, roč. LXXI, vědecká příloha, s.149–154, ISSN 0139-6013.
- Nauen R., Zimmer C. T., Andrews M., Slater R., Bass C. G., Ekbohm B., Gustafsson G., Hansen L. M., Kristensen M., Zebitz C. P. W., Williamson, M. S. (2012): Target-site resistance to pyrethroids in European populations of pollen beetle, *Meligethes aeneus* F. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 103, 173–180.
- Philippou D., Field L.M., Wegorek P., Zamojska J., Andrews M.C., Slater R., Moores G.D. (2011): Characterising metabolic resistance in pyrethroid-insensitive pollen beetle (*Meligethes aeneus* F.) from Poland and Switzerland. *Pest Manag Sci.* 67(2):239–43. doi: 10.1002/ps.2061.
- Roca-Acevedo G., Boscaro I., Toloza A.C. (2023): Global pattern of kdr-type alleles in *Musca domestica* (L.). *Curr Trop Med Rep* 10, 1–10.
- Seidenglanz M., Šafář J., Muñoz M., Bajerová R., Hrudová E., Havel J., Kolařík P. (2021): Mechanismus rezistence blýskáčka řepkového k pyretroidům v Česku. Řepka: odborná příloha časopisu *Úroda*. 2021, 69(4), 24–28. ISSN 0139-6013.
- Seidenglanz M., Šafář J., Ludvíková M., Horáček J., Kolařík P., Hrudová E., Havel J., Gališová V., Kocourek F., Stará J., Tancik J., Bokor P., Tóth P., Víchová L., Bajerová R., Muñoz M. (2022): Rezistence blýskáčka řepkového: aktuální stav, rozšíření, příčiny a možné dopady *Úroda: řepka: odborná příloha*, 70(4), 8–14. ISSN 0139-6013.
- Tóth P., Hrudová E., Sapáková E., Závadzka E., Seidenglanz M. (2013): Species of the genus *Meligethes* occurring in oil-seed crop fields in the Czech Republic. *Plant Protect Sci* 49, 177-186.
- Vontas J., Ranson H., Williamson M.S. (2010). Pyrethroid insecticides and resistance mechanisms, In: LI Gilbert, SS Gill (Eds.), *Insect Control, Elsevier*, 2010, pp. 30-34.
- Zimmer, C.T., Nauen, R. (2011): Cytochrome P450 mediated pyrethroid resistance in European populations of *Meligethes aeneus* (Coleoptera: *Nitidulidae*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 100. 10.1016/j.pestbp.2011.04.011.
- Zimmer C.T., Bass C., Williamson M.S., Kausmann M., Wölfel K., Gutbrod O., Nauen R. (2014): Molecular and functional characterization of CYP6BQ23, a cytochrome P450 conferring resistance to pyrethroids in European populations of pollen beetle, *Meligethes aeneus*. *Insect Biochem Mol Biol*. 45:18–29. doi: 10.1016/j.ibmb.2013.11.008.

### Dedikace

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, grant QK21010332. Při přípravě rukopisu byly také využity prostředky z projektu MZE-RO 1823 a MZE-RO1023.

### Kontakt

Ing. Jaroslav Kořínek, OSEVA VaV., Purkyňova 10, 74601 Opava, 583382127, 553 624 160, [korinek@oseva.cz](mailto:korinek@oseva.cz)

## Fytotoxicita herbicidně účinných látek k lesknici kanárské a ovsu hluchému

### Phytotoxicity of herbicides on canary grass and wild oat

**Kubíková Z., Drda A.**

*Zemědělský výzkum, spol. s r. o.*

#### Abstrakt

Ve skleníkových pokusech byla u lesknice kanárské (*Phalaris canariensis* L.) a ovsa hluchého (*Avena fatua* L.) zkoušena fytotoxicita herbicidů určených k ochraně obilnin proti jednoděložným plevelům. Byly testovány čtyři varianty: 1. neošetřená kontrola; 2. účinná látka mesosulfuron-methyl se smáčedlem; 3. kombinace účinných látek mesosulfuron-methyl a propoxykarbazon; a 4. kombinace účinných látek mesosulfuron-methyl a propoxykarbazon se smáčedlem. Byly zkoušeny tři koncentrace účinných látek a byla hodnocena fytotoxicita, výška rostlin a hmotnost nadzemní biomasy. Byly zjištěny rozdíly mezi lesknici a ovsem. Fytotoxicita u lesknice se pohybovala od 3 do 59 % a u ovsa se pohybovala od 0 do 53 %. Nejvyšší fytotoxicita byla u obou druhů zaznamenána u nejvyšší koncentrace herbicidů u varianty 4. Ošetření herbicidy mělo vliv na výšku rostlin a u lesknice také na produkci nadzemní biomasy.

**Klíčová slova:** selektivita, fytotoxicita, *Phalaris canariensis* L.

#### Abstract

The phytotoxicity of mesosulfuron-methyl and propoxycarbazone were studied in greenhouse experiments to evaluate their effects on canary grass (*Phalaris canariensis* L.) and wild oat (*Avena fatua* L.). There were four variants: 1. Untreated control; 2. mesosulfuron-methyl with surfactant; 3. mesosulfuron-methyl with propoxycarbazone; and 4. mesosulfuron-methyl with propoxycarbazone and surfactant. Three application rates were tested for each herbicide combination. The effects of these herbicides on shoot phytotoxicity, plant height and shoot biomass production were evaluated. Phytotoxicity in canary grass ranged from 3 to 59 % and in wild oat from 0 to 53 %. The highest phytotoxicity in both species was recorded at highest concentration in variant 4. Herbicide treatment affected plant height and, in canary grass, also above-ground biomass production.

**Key words:** selectivity, phytotoxicity, *Phalaris canariensis* L.

#### Úvod

Lesknice kanárská (*Phalaris canariensis* L.) je jednoletá obilnina z čeledi lipnicovitých, která se pěstuje se za účelem produkce semen. Celosvětově je považována za minoritní plodinu s produkcí okolo 250 tisíc tun ročně (Cogliatti 2012). Produkční plochy lesknice lze nalézt v Maďarsku, Nizozemsku, Kanadě, Austrálii, Spojených státech, Thajsku, Mexiku, Argentině, ale také v České republice. V roce 2000 byla v ČR povolena první odrůda lesknice kanárské Judita (Výzkumný ústav pícninářský Troubsko, spol. s r.o.) (Procházka et al. 2016). Semena lesknice se využívají převážně do krmných směsí pro ptactvo (Small 2015, Newkirk et al. 2011), ať už samostatně nebo ve směsi s jinými druhy jako je proso, slunečnice nebo len (Cogliatti 2012). Je možné ji využít také jako nenáročnou meziplodinu na píci nebo na zelené hnojení.

Lesknice má poměrně pomalý počáteční vývoj a plevele mohou v produkčních plochách lesknice způsobovat významné ekonomické ztráty. Zaplevelení může podporovat poléhání porostu, snižovat výnosy, zvyšovat náklady na čištění osiva a snižovat kvalitu osiva (znečištění osiva semeny plevelů). V tomto ohledu je poměrně problematickým plevellem oves hluchý, který stejně jako lesknice patří do čeledi lipnicovitých. U nás je do lesknice v současné době registrován pouze jeden herbicidní přípravek. Jedná se o Mustang s kombinací dvou účinných látek: florasulam a 2,4-D (MZe 2025), ale tento přípravek není určen proti lipnicovitým plevelům. V Maďarsku se do lesknice používají také účinné látky MCPA a carfentrazon-ethyl (NÉBIH 2025), ale ty jsou také určeny k ochraně proti dvouděložným plevelům. Herbicidní

ochranu lesknice studovali Holt a Hunter (1987) a proti ovsu hluchému doporučili účinné látky difenzoquat a flamprop. Colingati et al. (2011) doporučili proti ovsu hluchému účinnou látku diklofop-methyl, ale od 90. let není ani jedna z těchto účinných látek v ČR povolena (MZe 2025). V nedávné době byly do lesknice zkoušeny další účinné látky proti jednoděložným plevelům (propaquizaop, pinoxaden, fenoxaprop, cycloxydim, rimsulfuron), ale většina z nich způsobovala vážné poškození nebo odumření rostlin (Smejkalová a Kubíková 2022). Nejnižší fytotoxicitu měla účinná látka fenoxaprop, ale u té v roce 2026 končí registrace. Proto byly v této práci v nádobových pokusech testovány účinné látky mesosulfuron-methyl a propoxykarbazon, které se využívají k ochraně obilnin (ječmen, pšenice) proti jednoděložným plevelům.

### **Materiál a metody**

Byly testovány čtyři varianty: 1. neošetřená kontrola; 2. účinná látka mesosulfuron-methyl se smáčedlem (účinná látka laurylsulfát sodný); 3. kombinace účinných látek mesosulfuron-methyl a propoxykarbazon; a 4. kombinace účinných látek mesosulfuron-methyl a propoxykarbazon se smáčedlem (účinná látka laurylsulfát sodný).

Jednalo se o nádobové pokusy prováděné ve skleníku. Světelná perioda byla 14 hodin světla 10 hodin tmy a průměrná teplota byla udržována na 20°C. Ve všech pokusech byla použita lesknice odrůda Judita (vyšlechtěna ve Výzkumném ústavu pícninářském, Troubsko spol. s r. o.). Osivo pocházelo z pěstebních ploch v okolí Troubska a ze sběrů v okolí Troubska byla získána také semena ovsa hluchého. Výsevy byly prováděny do květináčů o rozměrech 18x18x16 cm, které byly naplněny hlinitopísčitou půdou s následujícím obsahem živin: N anorganický 21 mg/kg, K 275 mg/kg, Mg 310 mg/kg, P 82 mg/kg, Ca 2845 mg/kg, humus 1,21 %. Do každého květináče bylo vyseto 12 semen lesknice a 12 semen ovsa, a po vzejití byl počet rostlin redukován, tak aby v každém květináči bylo 6 rostlin lesknice a 6 rostlin ovsa. Ošetření bylo provedeno, když lesknice dosáhla BBCH 13 (tři pravé listy). Uspořádání pokusu bylo náhodné, ve čtyřech opakováních pro každou variantu a koncentraci přípravku. Byly zkoušeny účinné látky, u kterých je uváděna účinnost na jednoděložné plevele. Byly zkoušeny tři koncentrace nízká, střední (dvojnásobek nízké dávky) a vysoká (dvojnásobek střední dávky). Dávka vody byla 300 l/ha. K aplikaci byl použit postřikovač Zems 08. Seznam variant je uveden v Tabulce 1.

Bylo provedeno hodnocení fytotoxicity, vizuálně ve čtyřech termínech. Hodnocení probíhalo po 7, 14, 21 a 28 dnech od postřiku (T7, T14, T21 a T28). Fytotoxicita byla hodnocena v % celkového poškození rostlin. Poškození rostlin bylo srovnáváno s neošetřenou kontrolou. Po 14 a 35 dnech od ošetření (T14 a T35) byla měřena výška rostlin a po 35 dnech od ošetření byla sklizena a zvážena nadzemní hmota (zvláště lesknice a zvláště oves) a vypočítána průměrná hmotnost jedné rostliny jak u lesknice, tak u ovsa. Výsledky byly vyhodnoceny v programu Statistica 12 metodou analýzy rozptylu a následným testováním Tukeyho testem na hladině  $\alpha$  0,05.

**Tabulka 1: Seznam variant**

Vari	Účinná látka	Dávka účinné látky g/ha postřikové jichy*		
		Mesosulfuron-methyl	Propoxykarbazon	Laurylsulfát sodný
1_1	Kontrola	-	-	-
2_1	Mesosulfuron-methyl + smáčedlo	4,5	-	140
2_2	Mesosulfuron-methyl + smáčedlo	9	-	280
2_4	Mesosulfuron-methyl + smáčedlo	18	-	560
3_1	Mesosulfuron-methyl, propoxykarbazon	4,5	6,4	-
3_2	Mesosulfuron-methyl, propoxykarbazon	9	12,8	-
3_4	Mesosulfuron-methyl, propoxykarbazon	18	25,6	-
4_1	Mesosulfuron-methyl, propoxykarbazon + smáčedlo	4,5	6,4	140
4_2	Mesosulfuron-methyl, propoxykarbazon + smáčedlo	9	12,8	280
4_4	Mesosulfuron-methyl, propoxykarbazon + smáčedlo	18	25,6	560

\*Pozn.: při dávce postřikové jichy 300 l/ha

## Výsledky

### Fytotoxicita zkoušených herbicidních variant

Byla hodnocena fytotoxicita k lesknici kanárské a ovsu hluchému. U účinné látky mesosulfuron-methyl byla fytotoxicita k lesknici i s přidáním smáčedla nízká (do 20 % celkového poškození rostlin). Podobně na tom byla kombinace účinných látek mesosulfuron-methyl a propoxykarbazon bez přidání smáčedla. Přidáním smáčedla k této kombinaci účinných látek se fytotoxicita k lesknici zvyšovala v závislosti na dávce (od 21 % průměrného poškození u nejnižší dávky až po 55 % u nejvyšší dávky, hodnoceno po 28 dnech od ošetření). Příznaky fytotoxicity byly žloutnutí, deformace a omezení růstu. Oves byl méně citlivý než lesknice. U prvních dvou variant (var. 2 a var. 3) byla průměrná fytotoxicita k ovsu do 5 %. U varianty č. 4. pak byla po 28 dnech od ošetření průměrná fytotoxicita k ovsu od 10 do 45 %. Výsledky fytotoxicity jsou uvedeny v Tabulce 2.

**Tabulka 2: Fytotoxicita – celkové poškození rostlin v %**

Varianta	Účinná látka	Dávka účinné látky v g na ha	Fytotoxicita v %							
			Lesknice kanárská				Oves hluchý			
			A7	A14	A21	A28	A7	A14	A21	A28
1_1	Kontrola	-	0	0	0	0	0	0	0	0
2_1	Mesosulfuron-methyl + smáčedlo	4,5 + 140	0	3	3	4	0	0	0	2
2_2	Mesosulfuron-methyl + smáčedlo	9 + 280	4	13	13	14	5	5	3	4
2_4	Mesosulfuron-methyl + smáčedlo	18 + 560	4	8	10	11	3	4	3	1
3_1	Mesosulfuron-methyl, propoxykarbazon	4,5 + 6,4	0	4	5	9	0	4	3	3
3_2	Mesosulfuron-methyl, propoxykarbazon	9 + 12,8	4	4	5	10	4	4	3	3
3_4	Mesosulfuron-methyl, propoxykarbazon	18 + 25,6	3	16	16	18	1	14	10	13
4_1	Mesosulfuron-methyl, propoxykarbazon + smáčedlo	4,5 + 6,4 + 140	0	20	20	21	0	15	11	10
4_2	Mesosulfuron-methyl, propoxykarbazon + smáčedlo	9 + 12,8 + 280	3	49	46	44	5	34	31	30
4_4	Mesosulfuron-methyl, propoxykarbazon + smáčedlo	18 + 25,6 + 560	8	59	56	55	6	53	49	45

Pozn.: červená – silná fytotoxicita – poškození nad 45 %, oranžová – zvýšená fytotoxicita – poškození 31–45 %, žlutá – uspokojivá fytotoxicita – poškození 21–30 %, zelená – dobrá selektivita – poškození 0–20 %

### Vliv ošetření na výšku rostlin a hmotnost nadzemní hmoty

Hlavními zdroji variability byly následující faktory: (a) varianta, (b) druh (lesknice x oves), (c) termín hodnocení (pouze u výšky, která byla měřena ve dvou termínech). Vliv těchto faktorů byl vyhodnocen pomocí analýzy rozptylu na úrovních významnosti  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  and  $p < 0,001$  (Tabulka 2). Analýza rozptylu ukázala, že všechny faktory měly významný vliv. Projevil se zde vysoce průkazný rozdíl mezi lesknici a ovsem jak ve výšce rostlin, tak v produkci biomasy. U výšky se také projevil vysoce průkazný rozdíl mezi termíny měření.

**Tabulka 2: Výsledky analýzy variance**

Faktory	Stupně volnosti	Výška rostlin v mm	Produkce biomasy v g
Varianta	9	***	***
Druh	1	***	***
Varianta x druh	9	**	NS
Termín	1	***	-
Varianta x termín	9	***	-
Druh x termín	1	***	-
Varianta x druh x termín	9	*	-
	Stupně volnosti	<i>p</i> -value	<i>p</i> -value
Varianta	9	<0,001	<0,001
Druh	1	<0,001	<0,001
Varianta x druh	9	0,002	0,924
Termín	1	<0,001	-
Varianta x termín	9	<0,001	-
Druh x termín	1	<0,001	-
Varianta x druh x termín	9	0,04	-

Legenda: NS=neprůkazný rozdíl; \* — průkazný rozdíl na hladině  $\alpha=0,05$  ( $p < 0,05$ ); \*\* — vysoce průkazný rozdíl na hladině  $\alpha=0,01$  ( $p < 0,01$ ); \*\*\* — vysoce průkazný rozdíl na hladině  $\alpha=0,001$  ( $p < 0,001$ );

Průměrná výška rostlin lesknice se pohybovala v rozmezí od 158 do 433 mm a byly zjištěny významné rozdíly mezi sledovanými druhy, variantami i termínem měření. Vliv jednotlivých variant na výšku rostlin se více projevil po 14 dnech od ošetření, kdy byl pozorován průkazný vliv u všech variant. U neošetřené kontroly byla v prvním termínu měření (T14) průměrná výška rostlin lesknice 275 mm a pouze u varianty č. 2 v nejnižší dávce (var. 2\_1) nebyl zjištěn průkazný rozdíl oproti neošetřené kontrole. U všech ostatních koncentrací a variant (var. 2\_2 až 4\_4) došlo k průkaznému snížení výšky oproti neošetřené kontrole. Ve druhém termínu měření (T35) byly rozdíly mezi variantami menší. Průměrná výška rostlin lesknice na kontrole byla 369 mm a průkazný rozdíl oproti neošetřené kontrole byl pouze u varianty č. 4. ve střední a nejvyšší dávce (var. 4\_2 a 4\_4), kde bylo průkazné snížení výšky oproti neošetřené kontrole. Oves byl vyšší než lesknice a průměrná výška rostlin ovesa se pohybovala od 198 do 588 mm, dle varianty a termínu měření. Vliv ošetření na výšku rostlin se u ovesa také více projevil v prvním termínu měření, kdy došlo k průkaznému snížení výšky u varianty 3 ve střední a nejvyšší koncentraci (var. 3\_2 až 3\_4) a u varianty 4 ve všech koncentracích (var. 4\_1 až 4\_4). Ve druhém termínu hodnocení byly rostliny průkazně nižší jen v nejvyšší koncentraci u varianty 4 (var. 4\_4). Rozdíly ve výšce rostlin jsou uvedeny v Tabulce 3 a znázorněny v Grafu 1.

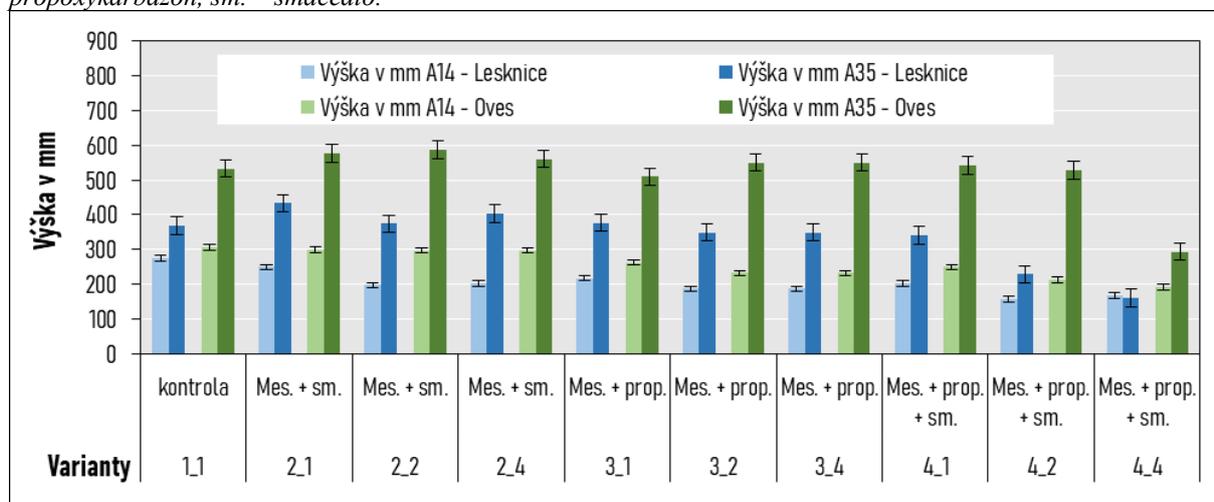
Poškození rostlin u lesknice negativně ovlivnilo produkci biomasy. Hmotnost jedné rostliny se pohybovala v rozmezí od 0,2 do 1,16 g. Nejnižší hmotnost byla zjištěna u varianty čtyři ve střední a nejvyšší koncentraci (var. 4\_2 až 4\_4), kde byla průměrná hmotnost rostliny 0,2 a 0,47, dle koncentrace (viz tabulka 4). Hmotnost se oproti neošetřené kontrole snížila o 0,51 až 0,78 g a rozdíl byl statisticky průkazný. U ovesa hluchého nebyl u žádné z variant zjištěn průkazný rozdíl ve srovnání s neošetřenou kontrolou. Rozdíly v produkci nadzemní hmoty jsou uvedeny v Tabulce 4 a znázorněny v Grafu 2.

**Tabulka 3: Výška rostlin**

Var.	Účinná látka	Dávka účinné látky v g na ha	Výška v mm				
			Lesknice		Oves		Varianta
			T14	T35	T14	T35	
1_1	Kontrola	-	275 f	369 b	307 f	533 b	371 cd
2_1	Mesosulfuron-methyl + smáčedlo	4,5 + 140	250 ef	433 b	300 ef	577 b	386 d
2_2	Mesosulfuron-methyl + smáčedlo	9 + 280	198 bc	374 b	298 ef	588 b	364 cd
2_4	Mesosulfuron-methyl + smáčedlo	18 + 560	203 c	403 b	298 ef	561 b	366 cd
3_1	Mesosulfuron-methyl, propoxykarbazon	4,5 + 6,4	218 de	377 b	263 def	510 b	342 c
3_2	Mesosulfuron-methyl, propoxykarbazon	9 + 12,8	188 cd	349 b	233 cde	550 b	342 c
3_4	Mesosulfuron-methyl, propoxykarbazon	18 + 25,6	188 abc	349 b	233 bc	550 b	330 c
4_1	Mesosulfuron-methyl, propoxykarbazon + smáčedlo	4,5 + 6,4 + 140	203 c	342 b	250 cd	542 b	334 c
4_2	Mesosulfuron-methyl, propoxykarbazon + smáčedlo	9 + 12,8 + 280	158 a	228 a	213 ab	528 b	281 b
4_4	Mesosulfuron-methyl, propoxykarbazon + smáčedlo	18 + 25,6 + 560	168 ab	160 a	193 a	293 a	203 a

Pozn.: písmenné indexy znázorňují statistické rozdíly na hladině  $\alpha$  0,05

**Graf 1: Vliv ošetření herbicidními přípravky na výšku rostlin (fytotoxicita v % poškození rostliny). Zobrazeny jsou průměrné hodnoty ( $n = 9$ ) jednotlivých variant a dávek  $\pm$  SD; Mes. – mesosulfuron-methyl, prop. – propoxykarbazon, sm. – smáčedlo.**

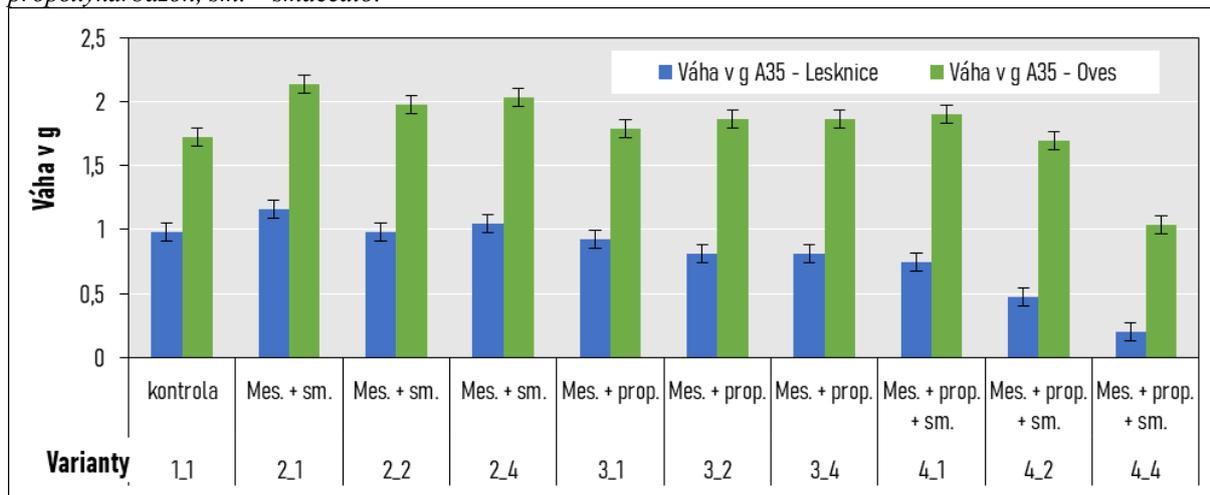


**Tabulka 4: Hmotnost rostlin**

Var.	Účinná látka	Dávka účinné látky v g na ha	Hmotnost v g		
			Lesknice	Oves	Varianta
1_1	Kontrola	-	0,98 c	1,73 ab	1,4 bc
2_1	Mesosulfuron-methyl + smáčedlo	4,5 + 140	1,16 c	2,14 b	1,6 c
2_2	Mesosulfuron-methyl + smáčedlo	9 + 280	0,98 c	1,98 ab	1,5 bc
2_4	Mesosulfuron-methyl + smáčedlo	18 + 560	1,04 c	2,04 ab	1,5 bc
3_1	Mesosulfuron-methyl, propoxykarbazon	4,5 + 6,4	0,92 bc	1,79 ab	1,2 bc
3_2	Mesosulfuron-methyl, propoxykarbazon	9 + 12,8	0,81 bc	1,87 ab	1,4 bc
3_4	Mesosulfuron-methyl, propoxykarbazon	18 + 25,6	0,81 bc	1,87 ab	1,3 bc
4_1	Mesosulfuron-methyl, propoxykarbazon + smáčedlo	4,5 + 6,4 + 140	0,75 bc	1,90 ab	1,3 bc
4_2	Mesosulfuron-methyl, propoxykarbazon + smáčedlo	9 + 12,8 + 280	0,47 ab	1,70 ab	1,1 ab
4_4	Mesosulfuron-methyl, propoxykarbazon + smáčedlo	18 + 25,6 + 560	0,20 a	1,04 a	0,6 a

Pozn.: písmenné indexy znázorňují statistické rozdíly na hladině  $\alpha$  0,05

**Graf 2: Vliv ošetření herbicidními přípravky na hmotnost rostlin (fytotoxicity v % poškození rostliny). Zobrazeny jsou průměrné hodnoty ( $n = 3$ ) jednotlivých variant a dávek  $\pm$  SD; Mes. – mesosulfuron-methyl, prop. – propoxykarbazon, sm. – smáčedlo.**



## Diskuse

Ze zjištěných výsledků lze konstatovat, že účinná látka mesosulfuron-methyl, nemá ani s přidáním smáčedla při postemergentní aplikaci vysokou fytoxicitu k lesknici a růst rostlin ovlivňuje jen krátce po ošetření. Chhokar et al. 2008 doporučují mesosulfuron do pšenice k hubení chrastice menší (*Phalaris minor*), ale u lesnice kanárské se v našich pokusech velká citlivost k mesosulfuronu neprojevila. Dobrou účinnost na chrastici menší uvádějí u mesosulfuronu také Yadav et al. (2015), ale zkoušeli tuto účinnou látku pouze v kombinaci s iodofuronem. Nízká fytoxicita mesosulfuronu se v našich pokusech projevila nejen u lesknice, ale také u ovsa hluchého, takže ve zkoušených dávkách se mesosulfuron k ochraně lesknice proti ovsu hluchému nejeví příliš perspektivní. Na druhou stranu, mesosulfuron k ochraně ječmene proti ovsu hluchému zkoušel také King (2007), dokonce v nižších dávkách a poškození ovsa bylo značně vysoké. Existují však i populace ovsa hluchého více či méně rezistentní vůči mesosulfuronu (Tafoya Razo a Carrillo Mejía 2009, Wang et al. 2024). Kombinace účinné látky mesosulfuron-methyl s propoxykarbazonem zvýšila účinnost ošetření, ale ukázalo se, že přidání smáčedla je pro dosažení účinnosti na oves poměrně zásadní. Vliv povrchově aktivních látek na fytoxicitu u ovsa jalového malokvětého (*Avena ludoviciana*) ukazují také výsledky Farkhonde et al. (2019). Problémem bylo, že kombinace účinných látek mesosulfuron a propoxykarbazon se smáčedlem nezvýšila nejen fytoxicitu k ovsu hluchému, ale také fytoxicitu k lesknici, která se k této kombinaci vykazovala poměrně vysokou citlivostí. Zvýšení citlivosti rostlin rodu chrastice (*Phalaris*) přidáním smáčedla se u herbicidní kombinace s propoxykarbazonem popsali také Fanigliulo et al. (2015).

## Závěr

Byly zjištěny rozdíly mezi lesknici a ovsem hluchým jak v růstu, tak v produkci biomasy, kdy oves rostl rychleji a měl vyšší produkci biomasy. Ošetření zkoušenými herbicidními látkami mělo vliv na růst lesknice, což se u některých variant projevilo i snížením produkce biomasy. Ošetření mesosulfuronem mělo nízkou fytoxicitu k lesknici, ale také k ovsu hluchému. U kombinace účinných látek mesosulfuron a propoxykarbazon se smáčedlem se zejména u vyšších dávek projevila vyšší fytoxicita k ovsu hluchému, ale tato kombinace měla také poměrně vysokou fytoxicitu k lesknici. Na základě získaných výsledků nelze žádnou ze zkoušených látek doporučit k ochraně lesknice, ale je potřeba ve zkoumání problematiky

pokračovat a provést další testování zaměřené zejména na dávkování mesosulfuronu, vhodné druhy smáčela, kombinaci s dalšími účinnými látkami a popřípadě také na osivo ovsa hluchého získané z jiných lokalit.

## Literatura

- Cogliatti, M. (2012). Canaryseed crop. *Scientia agropecuaria*, 3(1), 75-88.
- Cogliatti, M., Juan, V. F., Bongiorno, F., Dalla Valle, H., & Rogers, W. J. (2011). Control of grassy weeds in annual canarygrass. *Crop Protection*, 30(2), 125-129.
- Fanigliulo, A., Fili, V., & Crescenzi, A. (2012). Evaluation of efficacy and effect of application timing of a new herbicide, AI propoxy-carbazon+ iodosulfuron+ mefenpyr, on *Triticum durum*. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 77(4), 483-488.
- Farkhonde, S., Alimoradi, L., & Kalarestaghi, K. (2019). Optimizing the efficacy of mesosulfuron-methyl+ sulfosulfuron (Total) R herbicide on wild oat (*Avena ludoviciana* L.) control using mineral oils.
- Holt, N. W., & Hunter, J. H. (1987). Annual canarygrass (*Phalaris canariensis*) tolerance and weed control following herbicide application. *Weed Science*, 35(5), 673-677.
- King, S. R. (2007). Effect of mesosulfuron rate and formulation on wild oat (*Avena fatua*) control and malt barley tolerance. *Weed Technology*, 21(3), 771-776.
- MZE (Ministerstvo zemědělství): eAgri Registr přípravků na ochranu rostlin. Dostupné online: <https://mze.gov.cz/public/app/eagriapp/POR/Vyhledavani.aspx> (získáno 28. října 2025).
- NÉBIH (Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági hivatal – Národní úřad pro bezpečnost potravin). Növényvédő Szerek Adatbázisa (Maďarská online databáze registrovaných pesticidů). Dostupné online: <https://novenyvedoszer.nebih.gov.hu/Engedelykereso/kereso> (získáno 28. října 2025).
- Newkirk, R. W., Ram, J. I., Hucl, P., Patterson, C. A., & Classen, H. L. (2011). A study of nutrient digestibility and growth performance of broiler chicks fed hairy and hairless canary seed (*Phalaris canariensis* L.) products. *Poultry science*, 90(12), 2782-2789.
- Procházka, J., Pelikán, J. & Knotová, D. (2016). Metodika pěstování lesknice kanárské na semeno. Uplatněná certifikovaná metodika č. 38/16, ISBN: 978-80-88000-15-0.
- Small, E. (2015). 48. Canary Grass – a special crop for birds and biodiversity. *Biodiversity*, 16(2–3), 177–188. <https://doi.org/10.1080/14888386.2015.1038304>
- Smejkalová a Kubíková (2022): Pěstování lesknice kanárské. *Agromanuál*. <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/technologie/pestovani-lesknice-kanarske>
- Tafoya Razo, J. A., & Carrillo Mejía, R. M. (2009). *Avena fatua* resistance to herbicides inhibitors ACCasa and ALS.
- Wang, H., Zhang, Y., Ren, Y., Liu, Y., Feng, Z., & Dong, L. (2024). Mechanism of multiple resistance to fenoxaprop-P-ethyl, mesosulfuron-methyl, and isoproturon in *Avena fatua* L. from China. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 203, 105985.
- Yadav, D. B., Ashok Yadav, A. Y., & Punia, S. S. (2015). Cross-resistance of little seed canary grass against alternative herbicides in wheat and options for its management.
- Chhokar, R. S., Singh, S., & Sharma, R. K. (2008). Herbicides for control of isoproturon-resistant Littleseed Canarygrass (*Phalaris minor*) in wheat. *Crop Protection*, 27(3-5), 719-726.

### **Poděkování**

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO1725 a za podpory Národní agentury pro zemědělský výzkum (NAZV), projekt: Výzkum nástrojů pro rentabilní a udržitelnou produkci osiv minoritních plodin a zelenin, registrační číslo QL25020010.

### **Kontaktní adresa**

Zuzana Kubíková, Ing. Ph.D.

Zemědělský výzkum spol. s r. o.

Zahradní 1, 664 41

telefon: 547 138 831, e-mail: [kubikova@vupt.cz](mailto:kubikova@vupt.cz)

## Fytotoxicita herbicidně účinných látek k olejničce iberské

### Phytotoxicity of postemergence herbicides on *Lallemantia iberica*

**Kubíková Z., Drda A.**

*Zemědělský výzkum, spol. s r. o.*

#### Abstrakt

Ve skleníkových pokusech byla u olejničky iberské (*Lallemantia iberica* (M. Bieb.) Fisch. & C. A. Mey.) zkoušena fytotoxicita herbicidů při postemergentní aplikaci. Byly testovány čtyři varianty: 1. neošetřená kontrola; 2. účinná látka chizalofop-p-ethyl; 3. účinná látka propachizafof; a 4. účinná látka rimsulfuron. Byly zkoušeny tři koncentrace účinných látek a byla hodnocena fytotoxicita, výška a hmotnost nadzemní biomasy. Fytotoxicita se pohybovala od 0 do 59 % a nejvyšší byla zaznamenána v nejvyšší koncentraci u varianty 4 (v průměru od 23 do 59 % dle aplikační dávky). Silná fytotoxicita u varianty 4 měla nepříznivý vliv jak na výšku rostlin, tak na produkci nadzemní biomasy.

**Klíčová slova:** selektivita, fytotoxicita, ochrana proti plevelům

#### Abstract

The phytotoxicity of chizalofop-p-ethyl, propachizafof and rimsulfuron were studied in greenhouse experiments to evaluate their effects on dragon's head (*Lallemantia iberica* (Bieb.) Fisch. & C. A. Mey.). There were four variants: 1. Untreated control; 2. Chizalofop-p-ethyl; 3. Propachizafof and 4. Rimsulfuron. Three application rates were tested for each herbicide. The influences of these herbicides on shoot phytotoxicity, plant height and shoot biomass production were evaluated. The phytotoxicity ranged from 0 to 59 % and the highest phytotoxicity was detected in variant 4 (from 23 to 59 % on average, depending on the application rate.). High levels of phytotoxicity had a negative effect on growth and biomass production.

**Key words:** selectivity, phytotoxicity, weed control

#### Úvod

Olejnička iberská (*Lallemantia iberica* (M. Bieb.) Fisch. & C. A. Mey.) patří do čeledi hluchavkovité (*Lamiaceae*) (EPPO Global Database). Pochází z oblasti Kavkazu, ale roste také na blízkém a středním východě (Sýrie, Izrael, Irán a Irák) (Samadi et al. 2007) a zdomácněla také na některých lokalitách ve střední a východní Evropě (Aghaei-Gharachorlou et al. 2013). Roste na okrajích silnic, úhorech, na suchých šterkovitých svazích a terasách do nadmořské výšky 1700 m n. m. (Komarov 1963), v Turecku ji lze najít až do nadmořské výšky 2150 m n. m. (Davis 1965). Pěstuje se jako olejnina pro semena, která obsahují 30 až 38 % oleje. Její olej se využívá v potravinářském, barvířském a lakovnickém průmyslu. Tradičně se využívala jako léčivá rostlina se stimulačními a močopudnými účinky, a také jako lék na usnadnění vykašlávání (Koohdar et al. 2015). Olej má antioxidační účinky (Amanzadeh et al. 2011).

Je to jednoletá až dvouletá bylina, která dorůstá výšky až 50 cm. Lodyha je čtyřhranná, uvnitř dutá, bohatě větvená, listy jsou vstřícné, jednoduché, oválné na okrajích zoubkované, dlouhé 0,3 až 7,3 cm. Větve se na hlavním stonku vytváří na prvních šesti nodech a od sedmého nodu se začíná vytvářet květenství (Ion et al. 2011). Vývoj olejničky je velmi rychlý a za příznivých podmínek začíná kvést po 44 dnech. Květy jsou oboupohlavní a tvoří vrcholové květenství umístěné v paždích listů. Koruna je bílá (Ion et al. 2011) až fialová (Danin a Fragman-Sapir 2025) a má strukturu specifickou pro čeleď Lamiaceae (Ion et al. 2011). Květy jsou hmyzosubné (Ion et al. 2011), plodem je tvrdka. HTS (hmotnost tisíce semen) je okolo 4,6 g (Stražil 2007).

Vyznačuje se rychlým vývojem po setí s dobrým zakrytím půdy. Na pozemcích se slabým výskytem víceletých plevelů při dobrém založení porostu olejničky není ochrana nutná (Stražil 2007). Ale při vyšším tlaku plevelů u ní může dojít k zaplevelení, které může negativně ovlivnit

na počet semen a HTS, a tím i výnosy (Navid et al. 2023). Jedním ze způsobů ochrany proti plevelům je aplikace herbicidních přípravků (Shafagh et al. 2023, Porheidar et al. 2024), ale v ČR není v současné době do olejníčky registrován žádný herbicidní přípravek. Z tohoto důvodu byla v nádobových pokusech ověřována fytotoxicita účinných látek herbicidů při postemergentní aplikaci a jejich vliv na růst a produkci nadzemní biomasy olejníčky.

### Materiál a metody

Byly testovány čtyři varianty: 1. neošetřená kontrola; 2. účinná látka chizalofop-p-ethyl (přípravek Targa 10 EC); 3. účinná látka propachizafof (přípravek Agil 100 EC); a 4. účinná látka rimsulfuron (přípravek Titus 25 WG).

Jednalo se o nádobové pokusy prováděné ve skleníku. Světelná perioda byla 14 hodin světla 10 hodin tmy a průměrná teplota byla udržována na 20°C. Ve všech pokusech byla použita olejníčka setá odrůda *Olea* (vyšlechtěna ve Výzkumném ústavu pícninářském, Troubsko spol. s r. o.). Osivo pocházelo z pěstebních ploch v okolí Troubska. Výsevy byly prováděny do květináčů o rozměrech 18x18x16 cm, které byly naplněny hlinitopísčitou půdou s následujícím obsahem živin: N anorganický 21 mg/kg, K 275 mg/kg, Mg 310 mg/kg, P 82 mg/kg, Ca 2845 mg/kg, humus 1,21 %. Do každého květináče bylo vyseto 20 semen olejníčky a po vzejití byl počet rostlin redukován, tak aby v každém květináči bylo 6 rostlin. Ošetření bylo provedeno v BBCH 14 (čtyři pravé listy). Uspořádání pokusu bylo náhodné, ve čtyřech opakováních pro každou variantu a koncentraci přípravku.

Byly zkoušeny dvě účinné látky určené k ošetření proti jednoděložným plevelům (chizalofop-P-ethyl – přípravek Targa 10 EC a propachizafof – přípravek Agil 100 EC) a jedna účinná látka určená proti jednoděložným a dvouděložným plevelům (rimsulfuron – přípravek Titus 25 WG). U každé účinné látky byly zkoušeny tři koncentrace. Koncentrace byly zvoleny 0,5 N (polovina aplikační dávky využívané k hubení plevelů) a 1 N (běžná aplikační dávka přípravku), 2 N (dvojnásobná dávka přípravku). K aplikaci byl použit postřikovač Zems 08. Seznam variant je uveden v Tabulce 1.

**Tabulka 1: Seznam variant**

Variant a	Přípravek	Účinná látka	Dávka přípravku v l/ha	Jednotky	Dávka účinné látky g/l postřikové jichy*
1_1	kontrola	-	-	-	-
2_1	Targa 10 EC	chizalofop-P-ethyl 100 g/l	0,6	l	0,2
2_2	Targa 10 EC	chizalofop-P-ethyl 100 g/l	1,2	l	0,4
2_4	Targa 10 EC	chizalofop-P-ethyl 100 g/l	2,4	l	0,8
3_1	Agil 100 EC	propaquizafop 100 g/l	0,75	l	0,25
3_2	Agil 100 EC	propaquizafop 100 g/l	1,5	l	0,5
3_4	Agil 100 EC	propaquizafop 100 g/l	3	l	1
4_1	Titus 25 WG	rimsulfuron 250 g/kg	0,03	kg	0,025
4_2	Titus 25 WG	rimsulfuron 250 g/kg	0,06	kg	0,05
4_4	Titus 25 WG	rimsulfuron 250 g/kg	0,12	kg	0,1

\*Pozn.: při dávce postřikové jichy 300 l/ha

Byla hodnocena fytotoxicita vizuálně ve čtyřech termínech. Hodnocení probíhalo po 7, 14, 21 a 28 dnech od postřiku (T7, T14, T21 a T28). Fytotoxicita byla hodnocena v % celkového poškození rostlin. Ke každému hodnocení byl připojen podrobný popis příznaků fytotoxicity/poškození. Poškození rostlin bylo srovnáváno s neošetřenou kontrolou. Po 14 dnech od postřiku byla měřena výška rostlin. Na konci pokusu (po 35 dnech od ošetření, T35) byla znovu změřena výška rostlin v cm u jednotlivých variant a také bylo provedeno zvážení nadzemní hmoty a vypočítána průměrná hmotnost jedné rostliny. Výsledky byly vyhodnoceny v programu Statistica 12 metodou analýzy rozptylu a následným testováním Tukeyho testem na hladině  $\alpha$  0,05.

## Výsledky

### Selektivita zkoušených herbicidů

Fytotoxicita k olejníčce po sedmi dnech od ošetření byla do 20 % (dobrá selektivita). V ostatních termínech hodnocení byla dobrá selektivita zjištěna pouze u variant 2 (chizalofop-P-ethyl) a 3 (propachizafop), kde byla po 28 dnech průměrná fytotoxicita do 6 %. U varianty 4 se postupně začaly projevovat růstové deformace, které se s dávkou přípravku zhoršovaly. Po 28 dnech od výsevu byla u varianty 4 uspokojivá fytotoxicita u poloviční dávky přípravku, zvýšená fytotoxicita u standartní dávky přípravku a silná fytotoxicita u dvojnásobné dávky přípravku. Nejčastějšími projevy fytotoxicity byly deformace a omezení růstu. Výsledky fytotoxicity jsou uvedeny v Tabulce 2.

**Tabulka 2: Fytotoxicita – celkové poškození rostlin v %**

Varianta	Přípravek	Účinná látka	Dávka na ha	Fytotoxicita v %			
				A7	A14	A21	A28
1_1	kontrola	-	-	0	0	0	0
2_1	Targa 10 EC	chizalofop-P-ethyl 100 g/l	0,6	5	4	3	3
2_2	Targa 10 EC	chizalofop-P-ethyl 100 g/l	1,2	6	3	1	3
2_4	Targa 10 EC	chizalofop-P-ethyl 100 g/l	2,4	8	5	9	6
3_1	Agil 100 EC	propaquizafop 100 g/l	0,75	4	0	3	0
3_2	Agil 100 EC	propaquizafop 100 g/l	1,5	6	0	3	3
3_4	Agil 100 EC	propaquizafop 100 g/l	3	5	4	9	4
4_1	Titus	rimsulfuron 250 g/kg	0,03	9	21	26	23
4_2	Titus	rimsulfuron 250 g/kg	0,06	9	30	35	35
4_4	Titus	rimsulfuron 250 g/kg	0,12	18	41	59	59

Pozn.: červená – silná fytotoxicita – poškození nad 45 %, oranžová – zvýšená fytotoxicita – poškození 31–45 %, žlutá – uspokojivá fytotoxicita – poškození 21–30 %, zelená – dobrá selektivita – poškození 0–20 %

### Vliv ošetření na výšku rostlin a hmotnost nadzemní biomasy

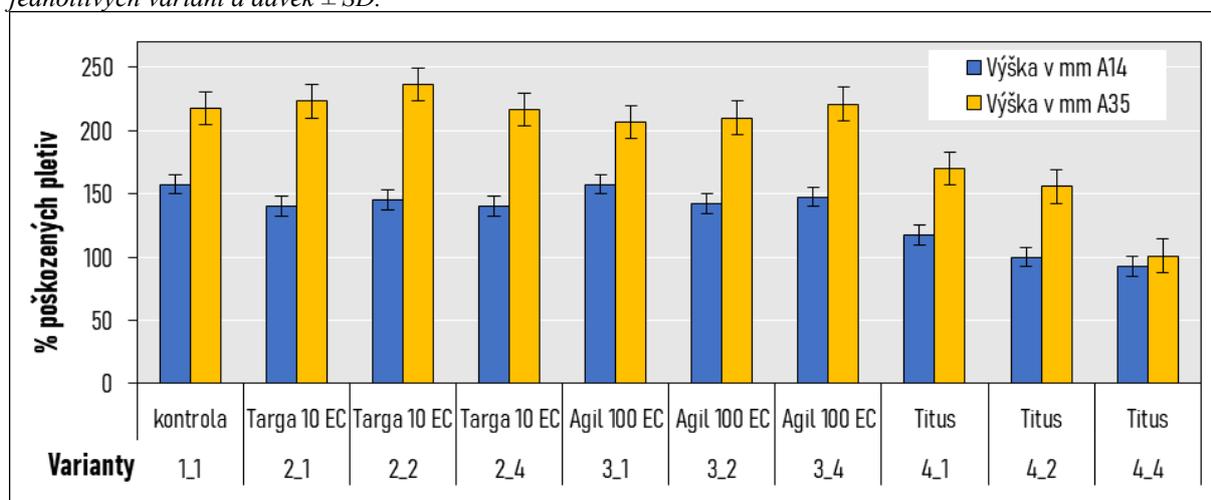
V průběhu pokusu (po 14 a 35 dnech od ošetření) byla hodnocena výška rostlin. Průměrná výška rostlin se po 14 dnech od ošetření pohybovala v rozmezí od 93 do 158 mm a byly zjištěny významné rozdíly mezi variantami. Po 35 dnech se průměrná výška rostlin pohybovala od 101 do 237 cm. U neošetřené kontroly byla průměrná výška rostlin po 14 dnech od ošetření 158 mm a po 35 dnech od ošetření 218 mm. Byl zjištěn průkazný rozdíl mezi termíny hodnocení. Také byly zjištěny průkazné rozdíly mezi variantami. Nejmenší výška byla u varianty č. 4 ošetřené účinnou látkou rimsulfuron, kde byla zjištěna fytotoxicita až 59 %. Výška rostlin se u této účinné látky pohybovala od 93 do 170 mm dle termínu hodnocení a koncentrace. Oproti neošetřené kontrole se výška rostlin snížila o 40 až 117 mm. Rozdíl oproti neošetřené kontrole byl statisticky průkazný. U ostatních variant (var. 2 až 3), kde byla fytotoxicita poměrně nízká, se negativní vliv ošetření neprojevil. Rozdíly ve výšce rostlin jsou uvedeny v Tabulce 3 a znázorněny v Grafu 1.

**Tabulka 3: Výška rostlin**

Varianta	Přípravek	Účinná látka	Dávka na ha	Výška v mm		
				A14	A35	Výška
1_1	kontrola	-	-	158	218	187 d
2_1	Targa 10 EC	chizalofop-P-ethyl 100 g/l	0,6	140	223	182 d
2_2	Targa 10 EC	chizalofop-P-ethyl 100 g/l	1,2	145	237	190 d
2_4	Targa 10 EC	chizalofop-P-ethyl 100 g/l	2,4	140	217	178 cd
3_1	Agil 100 EC	propaquizafop 100 g/l	0,75	158	207	182 d
3_2	Agil 100 EC	propaquizafop 100 g/l	1,5	143	210	176 cd
3_4	Agil 100 EC	propaquizafop 100 g/l	3	148	221	184 d
4_1	Titus	rimsulfuron 250 g/kg	0,03	118	170	143 bc
4_2	Titus	rimsulfuron 250 g/kg	0,06	100	156	128 ab
4_4	Titus	rimsulfuron 250 g/kg	0,12	93	101	96 a
Termín hodnocení:				134 a	196 b	-

Pozn.: písmenné indexy znázorňují statistické rozdíly na hladině  $\alpha$  0,05

**Graf 1: Vliv ošetření herbicidními přípravky na hmotnost rostlin.** Zobrazeny jsou průměrné hodnoty ( $n = 9$ ) jednotlivých variant a dávek  $\pm$  SD.



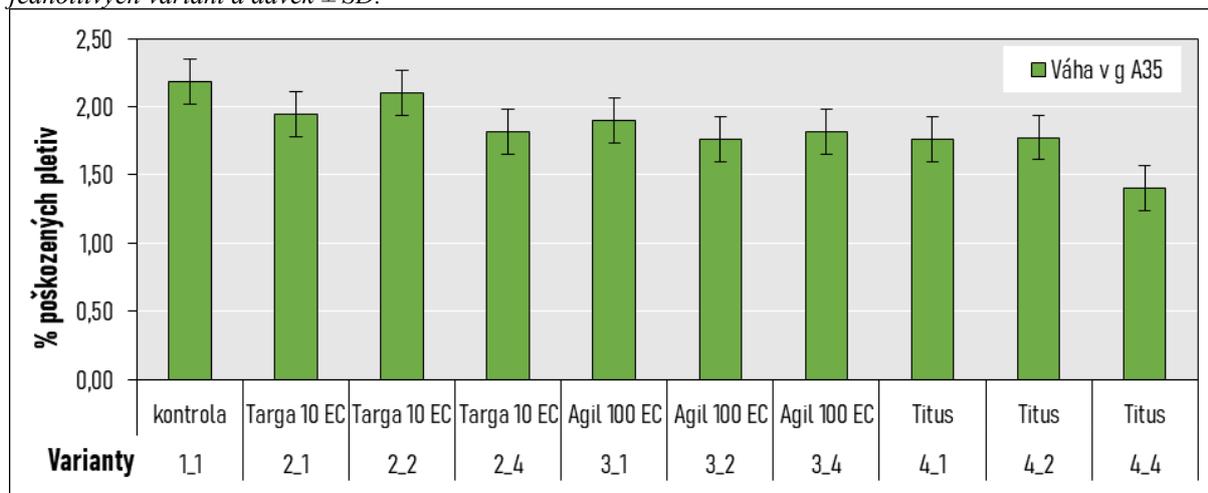
Ošetření herbicidy neovlivnilo jen výšku rostlin, ale také produkci biomasy. Hmotnost jedné rostliny se pohybovala v rozmezí od 1,41 do 2,18 g. Na neošetřené kontrole byla průměrná hmotnost 2,18 g a nejnižší hmotnost byla zjištěna u ošetření dvojnásobnou dávkou rimsulfuronu (var. 4\_4). Hmotnost se oproti neošetřené kontrole snížila o 0,78 g a snížení hmotnosti bylo statisticky průkazné. U ostatních variant a koncentrací (var. 2\_1 až 4\_2) se hmotnost pohybovala v rozmezí od 1,76 do 2,04 g a nebyl zde průkazný rozdíl s neošetřenou kontrolou. Rozdíly v produkci nadzemní hmoty jsou uvedeny v Tabulce 4 a znázorněny v Grafu 2.

**Tabulka 4: Hmotnost rostlin**

Varianta	Přípravek	Účinná látka	Dávka na ha	Hmotnost v g
				A35
1_1	kontrola	-	-	2,18 b
2_1	Targa 10 EC	chizalofop-P-ethyl 100 g/l	0,6	1,94 ab
2_2	Targa 10 EC	chizalofop-P-ethyl 100 g/l	1,2	2,04 ab
2_4	Targa 10 EC	chizalofop-P-ethyl 100 g/l	2,4	1,81 ab
3_1	Agil 100 EC	propaquizafop 100 g/l	0,75	1,90 ab
3_2	Agil 100 EC	propaquizafop 100 g/l	1,5	1,77 ab
3_4	Agil 100 EC	propaquizafop 100 g/l	3	1,82 ab
4_1	Titus	rimsulfuron 250 g/kg	0,03	1,76 ab
4_2	Titus	rimsulfuron 250 g/kg	0,06	1,78 ab
4_4	Titus	rimsulfuron 250 g/kg	0,12	1,41 a

Pozn.: písmenné indexy znázorňují statistické rozdíly na hladině  $\alpha$  0,05

**Graf 2: Vliv ošetření herbicidními přípravky na hmotnost rostlin.** Zobrazeny jsou průměrné hodnoty ( $n = 9$ ) jednotlivých variant a dávek  $\pm$  SD.



### Diskuse

Ze zjištěných výsledků lze konstatovat, že účinné látky chizalofop-P-ethyl a propaquizafop, které jsou určeny k ochraně proti jednoděložným plevelům, nemají ani při postemergentní aplikaci do olejnice vysokou fytotoxicitu a významně neovlivňují následný růst rostlin. Negativní vliv ošetření se projevil u účinné látky rimsulfuron, která je určena také k ochraně proti dvouděložným plevelům. Po aplikaci se u ní projevil negativní vliv na růst a vývoj rostlin a postupně docházelo k jejich zakrsnutí.

Herbicidním ošetřením olejnice se zatím zabývalo jen málo autorů. Shafagh et al. (2023) se zabývali metodami integrované ochrany olejnice, mezi kterými bylo také herbicidní ošetření, ale na rozdíl od našich pokusů se jednalo o preemergentní ošetření, a navíc účinnou látkou trifluralin, která u nás od roku 2009 není povolena. Postemergentním aplikacím se věnovali Porheidar et al. (2024), ale také se zabývali jinými účinnými látkami. Ve srovnání s jinými metodami ochrany proti plevelům se však využití herbicidů ukázalo velmi perspektivní. Možnosti využití účinných látek chizalofop-P-ethyl a propaquizafop u olejnice sice dříve nebyly zkoumány, ale obě účinné látky se s úspěchem využívají u mnoha jiných druhů a ke dvouděložným rostlinám obvykle nevykazují vysokou fytotoxicitu, podobně jako se to v našich pokusech ukázalo u olejnice. Účinné spektrum rimsulfuronu je mnohem širší než u účinných látek chizalofop-P-ethyl a propaquizafop, ale hluchavkovité plevele nejsou uváděny ve spektru účinnosti (Jedličková 2023) a je registrován například do čičorky (Registr přípravků na ochranu rostlin 2025), která je velmi citlivou plodinou. K olejnice však tento přípravek dobrou selektivitu nevykazoval. V poloviční dávce přípravku byla zjištěna uspokojivá fytotoxicita, ale ve vyšších dávkách zvýšená nebo silná fytotoxicita.

### Závěr

Herbicidní látky chizalofop-P-ethyl a propaquizafop měly dobrou selektivitu a ošetření nemělo vliv na růst rostlin a produktivitu biomasy. Vyšší fytotoxicita byla u účinné látky rimsulfuron a projevila se hlavně deformacemi a omezením růstu. V nejnižší (poloviční) dávce byla u této účinné látky zjištěna uspokojivá fytotoxicita (v průměru 23), ale ve vyšších dávkách byla zvýšená nebo silná fytotoxicita (35 až 59 %). Z výsledků vyplývá, že účinné látky chizalofop-P-ethyl a propaquizafop jsou perspektivní a měla by jim být věnována další pozornost. U účinné látky rimsulfuron je naopak riziko fytotoxicity poměrně vysoké, a proto se k herbicidní ochraně olejnice nejeví perspektivní.

## Literatura

- Aghaei-Gharachorlou, P., Nasrollahzadeh, S., & Shafagh-Kolvanagh, J. (2013). Morphological traits of Dragon's head (*Lallemantia iberica* Fish. et Mey.) affected by drought stress and plant density. *International Journal of Farming and Allied Sciences*, 2, 1148-1152.
- Amanzadeh, Y., Dehaghi, N. K., Gohari, A. R., Monsef-Esfehani, H. R., & Ebrahimi, S. S. (2011). Antioxidant activity of essential oil of *Lallemantia iberica* in flowering stage and post-flowering stage.
- Danin A. & Fragman-Sapir O. (2025): Flora of Israel and adjacent areas. <https://flora.org.il/en/plants/LALIBE/>
- Davis. P. H. Flora of Turkey. Edinburgh University Press 1965, cit. In: <https://pfaf.org/user/plant.aspx?LatinName=Lallemantia+iberica>
- EPPO Global Database: <https://gd.eppo.int/taxon/LALIB>
- Ion, V., Basa, A. G., Sandoiu, D. I., & Obrisca, M. (2011). Results regarding biological characteristics of the species *Lallemantia iberica* in the specific conditions from south Romania. *Scientific Papers, UASVM Bucharest, Series A*, 54, 275-280.
- Jedličková J. (2023): Titus 25 WG (3724-1) DOW. ÚSTŘEDNÍ KONTROLNÍ A ZKUŠEBNÍ ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝ. Rostlinolékařský portál.
- Komarov, V. L. (Ed.). (1963). Flora of the USSR. Jerusalem: Israel Program for Scientific Translations. cit. In: <https://pfaf.org/user/plant.aspx?LatinName=Lallemantia+iberica>
- Koohdar, F., Sheidai, M., Talebi, S. M., & Noormohammadi, Z. (2015). Population genetic structure in medicinal plant *Lallemantia iberica* (Lamiaceae). *Biodiversitas*, 16(2).
- Navid, S., Ghaffari, M., Hasannejad, S., Ahmadi Laki, A., & Khoshboo, A. (2023). The effect of hand weeding and planting density on the weeds population, yield, and yield components of dragoon's head (*Lallemantia iberica* Fisch et May.). *Iranian Journal of Weed Science*, 19(1), 105-118.
- Porheidar, G. S., Jafarzadeh, J., Ghahramanian, G., & Najafi, H. (2024). Assessment of post-emergence herbicides application effects on weed control and grain yield of Dragon's head (*Lallemantia iberica*) under cold dryland condition.
- Registr přípravků na ochranu rostlin (2025): [https://mze.gov.cz/public/app/eagriapp/POR/Detail.aspx?id=22492&idPripravek=1083&st\\_amp=638973297200799045](https://mze.gov.cz/public/app/eagriapp/POR/Detail.aspx?id=22492&idPripravek=1083&st_amp=638973297200799045)
- Samadi, S., Khaiyamiand, M., & Tappe, A. H. G. (2007). A comparison of important physical and chemical characteristics of six *Lallemantia iberica* (Bieb.) Fisch. and Mey. varieties. *Pakistan Journal of Nutrition*, 6(4), 387-390.
- Shafagh, K. J., Mokhtariyan, R., Amani, M., & Nasrollahzade, S. (2023). Effect of weed control methods on seed yield and yield components of dragon's head (*Lallemantia iberica* F. & CM).
- Stražil, Z. (2007). Základy pěstování a možnosti využití olejnice iberské. Výzkumný ústav rostlinné výroby.

## Poděkování

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO1725 a za podpory Národní agentury pro zemědělský výzkum (NAZV), projekt: Výzkum nástrojů pro rentabilní a udržitelnou produkci osiv minoritních plodin a zelenin, registrační číslo QL25020010.

## Kontaktní adresa

Zuzana Kubíková, Ing. Ph.D.

Zemědělský výzkum spol. s r. o.

Zahradní 1, 664 41, telefon: 547 138 831, e-mail: [kubikova@vupt.cz](mailto:kubikova@vupt.cz)

## Určení mechanismu rezistence u jedinců *Brassicogethes aeneus* F. prostřednictvím molekulárních analýz

Determination of resistance mechanisms in individuals of *Brassicogethes aeneus* F. using molecular analysis

Ludvíková M., Seidenglanz M.

Agritec Plant Research s.r.o., Zemědělská 16, 78701 Šumperk

### Abstrakt

V letech 2021–2024 a během prvních 9 měsíců roku 2025 byla u populací blýskáčka řepkového (*Brassicogethes aeneus* F.) pocházejících z různých lokalit České republiky testována molekulárními metodami přítomnost mutací L1014F a M918T, způsobujících rezistenci vůči pyretroidům. Běžnými laboratorními testy (Adult vial tests; International Resistance Action Committee), které jsou založeny na sledování reakcí dospělců kontaktně vystavených vzrůstajícímu spektru dávek účinných látek pyretroidů, byli z jednotlivých populací k molekulárním analýzám vybráni jedinci, kteří přežili 24 hodin trvající expozici registrované nebo vyšším dávkám. Z těchto fenotypově rezistentních jedinců byla izolována DNA, provedena PCR amplifikace oblasti domény II sodíkového kanálku, sekvence byly purifikovány a odeslány na sekvenování. Následně byla vyhodnocena přítomnost mutace L1014F nebo M918T. Celkem bylo takto testováno 494 jedinců fenotypově rezistentních k pyretroidům na přítomnost mutace L1014F (*kdr*) a 131 jedinců na přítomnost mutace M918T (*s-kdr*).

**Klíčová slova:** blýskáček řepkový, rezistence, pyretroidy, PCR, sekvenování

### Abstract

In the years 2021–2024 and during the first 9 months of 2025, populations of the pollen beetle (*Brassicogethes aeneus* F.) originating from various locations in the Czech Republic were tested by molecular methods for the presence of mutations L1014F and M918T, which cause resistance to pyrethroids. Through commonly used *Adult vial tests* (recommended by Insecticide Resistance Action Committee) which are based on evaluation of reactions in adults exposed to dose gradients of pyrethroid active ingredients the individuals that survived 24 hours lasting exposure to field recommended rates were selected for the next molecular analyses. From these phenotypically resistant individuals DNA was isolated, PCR amplification of the domain II region of the sodium channel was performed, the sequences were purified and sent for sequencing. Subsequently, the presence of the L1014F or M918T mutation was evaluated. In total, 494 individuals phenotypically resistant to pyrethroids have been tested for the presence of the L1014F (*kdr*) mutation and 131 individuals for the presence of the M918T mutation (*s-kdr*).

**Key words:** pollen beetle, resistance, pyrethroids, PCR, sequencing

### Úvod

Blýskáček řepkový (*Meligethes aeneus* F.) patří v Evropě společně s dřepčikem olejkovým (*Psylliodes chrysocephala* L.) a krytonoscem čtyřzubým (*Ceutorhynchus pallidactylus* Marsham 1802) ke klíčovým škůdcům řepky olejné (*Brassica napus*). Jak ukazují výsledky průzkumů v několika zemích Evropy, kde je řepka ozimá významně zastoupena v osevních sledech (Německo, Francie, Polsko, UK, Benelux, Dánsko, Švédsko, Rakousko, Slovensko a také Česko), farmáři, agronomové a jejich poradci vnímají perspektivu (pro blízkou budoucnost) této plodiny jako značně nejistou z několika důvodů. Pohyby na světových trzích negarantují stabilitu cen řepky a komplikace způsobují i neustálé změny zemědělské a environmentální politiky v zemích EU. Hlavním problémem jsou ale podle pěstitelů dva další faktory. Tyto lze nazvat agronomické a navzájem spolu i souvisí: 1) od roku 2015 výrazně klesá meziroční výnosová stabilita a 2) významně se zvyšují náklady spojené s ochranou proti

hmyzím škůdcům (zejména jde o kontrolu výše uvedených tří druhů) aniž by však rostla účinnost této ochrany (viz např. Andert et al., 2021). Nemožnost účinně kontrolovat škůdce v porostech pomocí dostupných insekticidů je důsledkem získané rezistence, která nejvyšších úrovní z výše tří zmiňovaných druhů škůdců dosahuje právě u evropských populací blýskáčka řepkového, na kterého se tento příspěvek zaměřuje. U tohoto druhu je v ČR navíc v posledních třech až čtyřech sezónách zaznamenáván poměrně jasný nárůst populační dynamiky a početnosti populací. Jak ukazují výsledky líhnutí nové (zatím poslední) generace imag tohoto druhu z porostů řepky během června, července a počátku srpna 2025, tedy jedinců, kteří budou poškozovat porosty řepky v průběhu jara 2026, nárůst početnosti populací tohoto druhu pokračuje (zatím nepublikovaná data autorů tohoto příspěvku). Blýskáček řepkový se tak stává kritickým faktorem, který bude mít, nepodaří-li se vyřešit způsob jeho kontroly v porostech, signifikantní negativní dopad na pěstování řepky v ČR.

Vývoj rezistence k pyretroidům v populacích blýskáčka řepkového byl postupně zaznamenáván a popisován v řadě evropských zemí: Finsko, Německo, Francie, Polsko, Dánsko, včetně Česka a Slovenska a dalších (dobře zdokumentováno např. v: Tiilikainen a Hokkanen, 2008; Zimmer et al., 2011; Philippou et al., 2011, Nauen et al. 2012; Hovorka et al., 2021).

Místo, kde se pyretroidní molekuly v těle hmyzu vážou na receptory a kde také působí, se nazývá sodíková pumpa. Sodíková pumpa je důležitou funkční částí cytoplazmatické membrány nervových buněk. V pumpách je zprostředkováván přenos kladně nabitých sodíkových iontů z vnějšího prostředí buňky do vnitřního, což je důležité pro správný přenos vzruchu po nervovém vlákne. Vzruch se šíří jako elektrický výboj, jehož základem je řízené a po axonu se šířící přepólování membrány – proces nemůže probíhat bez správné funkce sodíkové pumpy. Dojde-li k navázání molekul pyretroidní účinné látky na příslušná vazná místa na nervovém vlákne, je přenos sodíkových kationtů narušen a vzruch se po vlákne nešíří správně (projevem jsou slabé až těžké diskoordinace pohybu) nebo se nešíří vůbec (vnějším projevem je pak kompletní paralýza a následně smrt). Síla projevu je u citlivých jedinců úměrná použité dávce.

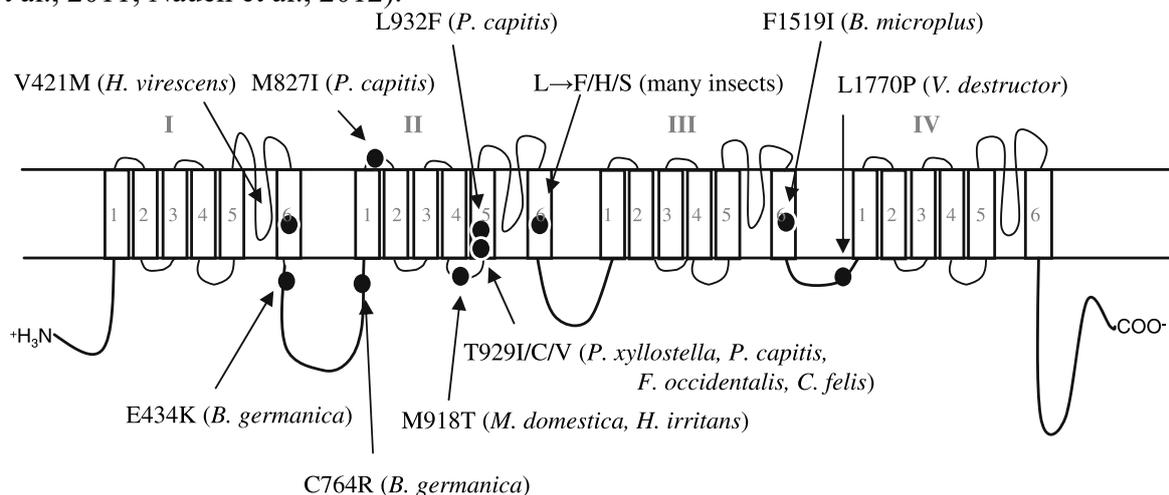
V případě škůdců řepky (a polních plodin obecně) a jejich snížené citlivosti (rezistence) k pyretroidům je možné mluvit o dvou hlavních typech mechanismů rezistence. První je založen na modifikaci vazebného místa pro pyretroidní molekulu, druhý je způsoben nárůstem metabolické detoxifikace účinných látek (Vontas et al., 2010).

Rezistence na základě modifikace vazebného místa pro pyretroidy byla popsána u různých druhů hmyzu (mouchy domácí a různých druhů komárů, švábů, několika druhů motýlů, mšic, třásněnek i brouků) i dalších členovců, např. roztočů (Ingles et al., 1996; Wang et al., 2003; Dong, 2007; Haddi et al., 2012; Zhao et al., 2014; Kasai et al., 2016; da Cruz et al., 2021; Rai a Saha, 2022; Roca-Acevedo et al., 2023 a další). Příčinou jsou mutace, které se mohou vyskytnout na několika místech proteinového řetězce, jenž prochází skrze všechny čtyři domény sodíkové pumpy (obrázek 1). Mutace, které se projevují sníženou citlivostí sodíkové pumpy k pyretroidům se z hlediska významu a síly dopadu dělí na *kdr* (*knock down resistance*) a *super kdr* (*s-kdr*). Pro většinu druhů hmyzu, u kterých byla rezistence k pyretroidům popsána, jsou podstatné mutace projevující se v části proteinového řetězce, který spojuje segmenty 4 a 5 (popř. je součástí segmentu 5) nebo prochází segmentem 6 v doméně II sodíkové pumpy. V případě mutace (*kdr* nebo *s-kdr*) se pyretroidní účinná látka nemůže na membránu axonu navázat a funkci nervové buňky nenaruší – proto se tento typ mechanismu rezistence také někdy označuje jako necitlivost cílového/vazebného místa (*target site insensitivity*).

*Kdr* typ je u blýskáčka řepkového způsoben mutací, jejímž důsledkem je nahrazení leucinu (L) fenylalaninem (F) a to v části proteinového řetězce procházejícího segmentem 6 domény II. Tato mutace se označuje jako L1014F a byla potvrzena u řady hmyzích druhů (Davies et al., 2007; Foster et al., 2014; Bkhache et al., 2016; Liu et al., 2019; da Cruz et al., 2021; Rai a Saha,

2022; Roca-Acevedo 2023 a řada dalších). Hmyz s touto mutací vykazuje středně silnou rezistenci k pyretroidům (tj. 10–20násobné snížení citlivosti k této skupině insekticidů).

*Super kdr* (*s-kdr*) typ je způsoben mutacemi, které postihují aminokyselinovou sekvenci spojující segment 4 a 5 (to je mutace M918T/L známá a potvrzená u několika druhů hmyzu) či část v segmentu 5. Ve všech případech jde opět o doménu II sodíkové pumpy. Hmyz s mutacemi na těchto pozicích vykazuje 100krát (a více) sníženou citlivost k pyretroidům. *S-kdr* má tedy výrazně větší praktický dopad než *kdr*. U evropských populací blýskáčka řepkového zatím nebyla přítomnost mutace *s-kdr* potvrzena, navzdory řadě publikovaných analýz (např. Philipou et al., 2011; Nauen et al., 2012).



Obr. 1:  $\alpha$ -podjednotka sodíkové pumpy hmyzu (a některých dalších členovců) skládající se ze čtyř homologních domén (I - IV). Každá z nich je složena ze šesti segmentů (1–6) procházejících skrze cytoplazmatickou membránu nervové buňky. Černé puntíky označují místa mutací prokazatelně způsobujících snížení citlivosti k pyretroidům u různých druhů hmyzu (převzato z publikace Dong 2007).

Metabolická rezistence je převládající mechanismus rezistence u českých a obecně i evropských populací blýskáček. Spočívá v tom, že se u rezistentních jedinců schopných přežít i vysoké dávky insekticidů zvýšila aktivita určitých enzymů, které tyto insekticidy dokážou rozložit dříve, než se v těle hmyzu naváží na příslušný receptor (ten je pro pyretroidy na nervovém vlákni). Do tohoto procesu jsou zapojeny enzymy ze skupiny oxygenáz, monooxygenázy Cytochromu P450 (Zimmer et al., 2014). Studie Zimmer et al. (2014) odhalila gen CYP6BQ23, který je zvýšeně exprimován (až 900krát) u dospělých jedinců a larev kmenů rezistentních na pyretroidy ve srovnání s kmeny citlivými. Výsledky naznačují, že zvýšená exprese CYP6BQ23 je primárním mechanismem umožňujícím rezistenci na pyretroidy v populacích blýskáček ve velké části Evropy.

Projevy metabolické rezistence lze inhibovat látkou nazvanou piperonyl butoxid (PBO). Je-li rezistence způsobena vyšší aktivitou monooxygenáz Cytochromu P450, musí po jejich inhibici v těle hmyzu v důsledku vystavení účinkům PBO dojít k návratu k citlivosti k pyretroidům (Seidenglanz et al., 2022).

## Metodika

Molekulární analýza byla zaměřena na prokázání nebo vyvrácení přítomnosti *kdr* resp. *s-kdr* rezistence u blýskáčka řepkového v různých oblastech ČR. Běžnými laboratorními testy (Adult vial tests; International Resistance Action Committee), které se používají pro testování úrovně citlivosti/rezistence k pyretroidům (ale i dalším účinným látkám insekticidů) byl proveden výběr rezistentních jedinců z jednotlivých populací blýskáčka řepkového. Pro molekulární analýzu byli použiti jedinci, kteří se v IRAC testech projeví jako fenotypově rezistentní k pyretroidům. Šlo o jedince, kteří bez výrazných projevů postižení přežili kontaktní expozici (24 hodin; světlo: tma = 12: 12 hodin; 18–20 °C) vysokým dávkám těchto pyretroidů: lambda-cyhalothrin (pro blýskáčky od dávky 7.5 g a.i./ha); cypermethrin (pro blýskáčky od dávky 25 g a.i./ha), tau-fluvalinate (pro blýskáčky od dávky 48 g a.i./ha) a v roce 2025 zařazen také etofenprox (pro blýskáčky od dávky 57.5 g a.i./ha). Brouci, kteří prošli selekčním sítím, byli ihned po ukončení IRAC testu zamrazení (-72 °C). IRAC testy byly prováděny na pracovištích Agritec Plant Research s.r.o. (Šumperk), ÚKZÚZ – pracoviště Olomouc, Zemědělský výzkum, spol s r.o. (Troubsko), OSEVA vývoj a výzkum s.r.o. (Opava) a MENDELU (Brno).

Vybraní rezistentní jedinci byli následně analyzováni na přítomnost mutace uděluující *kdr* a *s-kdr* typ rezistence. Jednotliví brouci byli homogenizováni v kapalném dusíku a pomocí Quickgene DNA tissue kit (Kurabo Industries, Německo) z nich byla izolována genomová DNA dle protokolu výrobce. Oblast domény II sodíkového kanálku v oblasti mutace *s-kdr* byla amplifikována prostřednictvím metody PCR na základě metodiky dle Nauen et al. (2012); použity byly primery PB1, PB2, PB3 a PB4, složení reakční směsi a teplotní podmínky dle uvedené publikace. Pro testování oblasti *kdr* byly využity primery nově navržené na základě sekvence dostupné v GenBank: AF354457.1, které jsou uvedeny v tabulce 1.

PBtestF	AGAGTGTTATGCGGGGAATG
PBtestR	TGGTGCTGATAAGCTGGATG

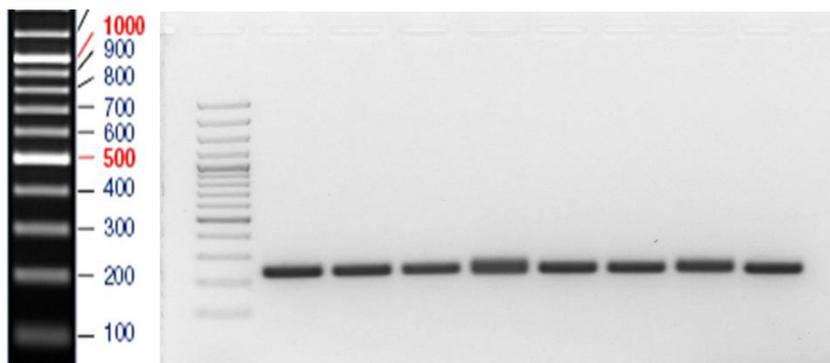
Tab.1: Primery pro amplifikaci domény II sodíkového kanálku v oblasti mutace *kdr*

Při použití uvedených primerů pro amplifikaci oblasti *kdr* bylo složení reakční směsi pro PCR: 20–50 ng DNA, 1x Dream Taq PCR buffer, 100 µM každého nukleotidu, 0,4 µM každého primeru a 1 U Dream Taq polymerázy (Thermo Scientific). Teplotní profil PCR reakcí byl 94 °C /10 min + 35x (94 °C /30 s, 55 °C /30 min, 72 °C /60 s) se závěrečnou elongací 72 °C /5 min. 10 µl vzorku po PCR reakci bylo pro kontrolu naneseno na 1,5% agarózový gel barvený ethidium bromidem, nasvíceno UV světlem a nasnímáno.

Amplifikované sekvence oblastí mutací *kdr* a *s-kdr* byly následně purifikovány Isolate II PCR and gel kit (Meridian Bioscience) a odeslány na sekvenování. Získané sekvence byly analyzovány v programu Sequence Scanner (Applied Biosystems, Foster City, CA). Na základě sekvencí byl vyhodnocen genotyp jednotlivých brouků (SS/SR/RR – senzitivní versus rezistentní genotyp).

## Výsledky a diskuze

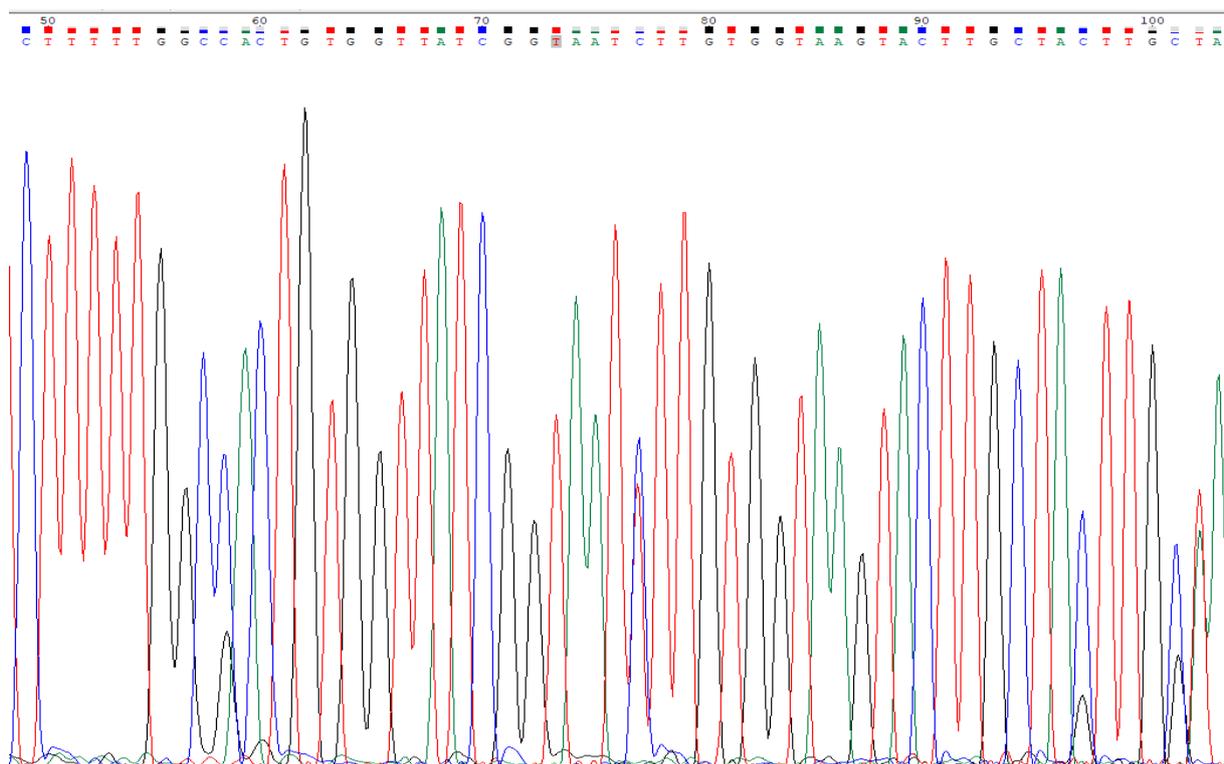
Při použití primerů PBtest F+R byla výsledná délka amplifikovaného produktu 233 bp (viz obrázek 2), při použití primerů a metodiky dle publikace Nauen et al. (2012), byla výsledná délka amplifikovaných PCR produktů 510 bp.



Obr. 2: Výsledek PCR amplifikace oblasti mutace *kdr* (233 bp), vlevo 100 bp Plus DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific).

V letech 2021–2024 a během prvních 9 měsíců roku 2025 bylo testováno celkem 494 fenotypově rezistentních jedinců blýskáčka řepkového k pyretroidům (přežili vysoké dávky lambda-cyhalothrinu, cypermethrinu, tau-fluvalinatu nebo etofenproxu) na přítomnost mutace *kdr* a 131 jedinců na přítomnost mutace *s-kdr*.

Mutace M918T (*s-kdr*) nebyla během testování detekována u žádného vzorku. Mezi výše uvedenými testovanými vzorky byl během molekulárních analýz v r. 2021 objeven 1 vzorek heterozygotní v *kdr* mutaci – výsledek jeho sekvenování je uveden na obrázku 3.



Obr.3.: Sekvence vzorku s heterozygotním (T/C) genotypem v oblasti *kdr* mutace L1014F (CTT). Záměna báze T za C vede k tomu, že na pozici 1014 aminokyselinové sekvence v doméně II (segment 6) pak není leucin ale fenylalanin. Výsledkem je pokles citlivosti k pyretroidům o 20–30 %.

Jednalo se o vzorek, který přežil expozici tau-fluvalinatu 48 g a.i./ha, pocházející z lokality poblíž Českých Budějovic. Jde o první potvrzení tohoto typu rezistence nejen u populací blýskáčků v ČR, ale i ve střední Evropě.

U tohoto vzorku bylo tedy na území ČR poprvé prokázáno, že jde o rezistenci vyvolanou mutací, projevující se obměnou aminokyselin v proteinu, který je součástí vazného místa (receptoru) na nervovém vlákne (místo, kde se pyretroidní účinná látka za normální situace váže) a ne pouze o metabolickou rezistenci související s nárůstem aktivity některých enzymů (předpokládá se, že cytochromu P450 – monooxygenáz; popř. jiných skupin enzymů) v tělech rezistentních jedinců.

Navzdory počtu sekvenovaných vzorků nebyl v dalších letech v testovaném souboru objeven žádný vzorek nesoucí *kdr* mutaci L1014F.

Nauen et al. (2012) zveřejnili výsledky testování přítomnosti mutací L1014F a M918T u více než 350 populací blýskáček pocházejících ze 13 evropských zemí. Autoři nezaznamenali ve studovaných populacích výskyt mutace M918T zapříčínující *s-kdr* rezistenci. Ve většině z testovaných populací nebyla přítomna ani mutace L1014F. Pouze vzorky ze dvou zemí, Dánska a Švédska, prokázaly výskyt blýskáček heterozygotních nebo homozygotní pro tuto mutaci. Jeden heterozygotní jedinec byl objeven také v Německu (což odpovídá i našim výsledkům). V rámci publikace Nauen et al. (2012) byly testovány pouze dvě populace pocházející z ČR, ve kterých mutace nalezena nebyla. Stará a Kocourek (2018) testovali v letech 2009 až 2015 v rámci ČR 9 populací blýskáček, *kdr* mutace u vzorků rovněž nebyla objevena. Rozsáhlejší testování jedinců blýskáčka řepkového pocházejících z České republiky popsali také Hovorka et al. (2021). Navzdory vysoké úrovni rezistence vůči pyretroidům opět nebyla ve zmíněné studii u žádného z 244 testovaných jedinců detekována mutace *kdr*.

Typ mutace *s-kdr* u blýskáčka řepkového hraje zřejmě zcela zanedbatelnou roli, což dokladují výsledky několika studií založených často na plošně velmi rozsáhlém monitoringu (např. Philipou et al. 2011, Nauen et al. 2012).

Výsledky předkládané v tomto příspěvku je možné vnímat jako pozitivní zprávu z hlediska pěstitelů řepky. A to z tohoto důvodu, že populace blýskáčka nedisponující mutacemi typu *kdr* a především *s-kdr* lze i přes nyní již velmi vysoké úrovně metabolické rezistence v porostech (alespoň do určité míry) kontrolovat kombinacemi samostatně již nefunkčních pyretroidů s inhibitory cytochromu P450 (piperonyl butoxide, některé DMIs fungicidy), jejichž přidáním se rezistentním jedincům vrací citlivost k pyretroidům (viz zatím nepublikované výsledky testování z roku 2025, autorský tým). Kdyby byla potvrzena vyšší frekvence mutací *kdr* respektive *s-kdr* v populacích blýskáčka řepkového, byla by perspektiva pěstování řepky velmi špatná.

## Závěr

Cílem práce bylo u populací blýskáčka řepkového (*Meligethes aeneus* F.) pocházejících z různých lokalit ČR testovat molekulárními metodami přítomnost mutací L1014F a M918T, způsobujících rezistenci vůči pyreteroidům. Laboratorními testy byl proveden výběr rezistentních jedinců z jednotlivých populací blýskáčka řepkového. Celkem bylo takto testováno 494 jedinců fenotypově rezistentních k pyreteroidům na přítomnost mutace L1014F (*kdr*) a 131 jedinců na přítomnost mutace M918T (*s-kdr*). V rámci této práce byl objeven pouze 1 vzorek heterozygotní v *kdr* mutaci. Jde o první potvrzení tohoto typu rezistence nejen u populací blýskáčků v ČR, ale i ve střední Evropě.

Molekulární analýzy tedy prokázaly, že u českých populací jsou přítomné oba výše zmíněné typy rezistence (jak metabolická, tak rezistence díky mutaci L1014F), nicméně metabolický typ rezistence zcela převládá a má výrazně vyšší praktický dopad. Nadále je pokračováno v molekulárních analýzách vzorků, které se v testech jeví jako fenotypově rezistentní. Analýzy probíhají se zaměřením na lokalitu, kde byl nalezen heterozygotní vzorek.

## Literatura

- Andert S., Ziesmer A., Zhong H. (2021): Farmer's perspective of future management of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.): A case study from North-eastern Germany. *European Journal of Agronomy*, 130.
- Bkhache M., Tmimi F.Z., Charafeddine O., Faraj Ch., Failloux A.B., Sarih M. (2016): First report of L1014F-*kdr* mutation in *Culex pipiens* complex from Morocco. *Parasites Vectors* 9, 644.
- da Cruz D.L., Paiva M.H.S., Guedes D.R.D., Gomes E., Pires S., Gómez L., Ayres, C. (2021): First report of the L1014F *kdr* mutation in wild populations of *Anopheles arabiensis* in Cabo Verde, West Africa. *Parasites Vectors* 14, 582.
- Davies T.G.E., Field L.M., Usherwood P.N.R., Williamson M.S. (2007): Critical review: DDT, pyrethrins, pyrethroids and insect sodium channels. *IUBMB Life* 59, 151–162.
- Dong K. (2007). Insect sodium channels and insecticide resistance. *Invertebrate neuroscience*, 7, 17-30.
- Foster S.P., Paul V.L., Slater R., Warren A., Denholm I., Field L.M., Williamson M.S (2014): A mutation (L1014F) in the voltage-gated sodium channel of the grain aphid, *Sitobion avenae*, is associated with resistance to pyrethroid insecticides. *Pest Manag Sci.*, 70(8):1249–53.
- Haddi K., Berger M., Bielza P., Cifuentes D., Field L.M., Gorman K., Rapisarda C., Williamson M.S., Bass Ch. (2012): Identification of mutations associated with pyrethroid resistance in the voltage-gated sodium channel of the tomato leaf miner (*Tuta absoluta*). *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 42 (7): 506–513, ISSN 0965–1748.
- Hovorka T., Kocourek F., Horská, T., Stara J. (2021): Widespread resistance of pollen beetles to pyrethroids in Czechia with no evidence for *kdr* mutation. *Crop Protection*. 145. 105648. 10.1016/j.cropro.2021.105648.
- Ingles, P. J., Adams, P. M., Knipple, D. C., & Soderlund, D. M. (1996). Characterization of voltage-sensitive sodium channel gene coding sequences from insecticide-susceptible and knockdown-resistant house fly strains. *Insect biochemistry and molecular biology*, 26(4), 319-326.
- Kasai S., Sun H., Scott J.G. (2017): Diversity of knockdown resistance alleles in a single house fly population facilitates adaptation to pyrethroid insecticides. *Insect Mol Biol*. 26(1):13–24. doi: 10.1111/imb.12267.
- Liu, N., Feng X., Li M. Qiu X. (2019): First detection of the *kdr* mutation (L1014F) in the plague vector *Xenopsylla cheopis* (Siphonaptera: Pulicidae). *Parasites Vectors* 12, 526 <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3775-2>.

- Nauen R., Zimmer C. T., Andrews M., Slater R., Bass C. G., Ekbohm B., Gustafsson G., Hansen L. M., Kristensen M., Zebitz C. P. W., Williamson, M. S. (2012): Target-site resistance to pyrethroids in European populations of pollen beetle, *Meligethes aeneus* F. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 103, 173–180.
- Philippou D., Field L.M., Wegorek P., Zamojska J., Andrews M.C., Slater R., Moores G.D. (2011): Characterising metabolic resistance in pyrethroid-insensitive pollen beetle (*Meligethes aeneus* F.) from Poland and Switzerland. *Pest Manag Sci.* 67(2):239–43. doi: 10.1002/ps.2061.
- Rai P., Saha D. (2022): Occurrence of L1014F and L1014S mutations in insecticide resistant *Culex quinquefasciatus* from filariasis endemic districts of West Bengal, India. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 16(1): e0010000. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0010000>
- Roca-Acevedo G., Boscaro I., Toloza A.C. (2023): Global pattern of kdr-type alleles in *Musca domestica* (L.). *Curr Trop Med Rep* 10, 1–10.
- Seidenglanz M., Šafář J., Ludvíková M., Horáček J., Kolařík P., Hrudová E., Havel J., Gališová V., Kocourek F., Stará J., Tancik J., Bokor P., Tóth P., Víchová L., Bajerová R., Muñoz M. (2022): Rezistence blýskáčka řepkového: aktuální stav, rozšíření, příčiny a možné dopady Úroda: řepka: odborná příloha, 70(4), 8–14. ISSN 0139-6013.
- Stará J., Kocourek F. (2018): Seven-year monitoring of pyrethroid resistance in the pollen beetle (*Brassicogethes aeneus* F.) during implementation of insect resistance management. *Pest Manag Sci.* 74(1):200–209. doi: 10.1002/ps.4695.
- Tiilikainen T., Hokkanen H. (2008): Pyrethroid resistance in Finnish pollen beetle (*Meligethes aeneus*) populations – is it around the corner? *EPPO Bulletin.* 38. 99–103. 10.1111/j.1365-2338.2008.01190.x.
- Vontas J., Ranson H., Williamson M.S. (2010). Pyrethroid insecticides and resistance mechanisms, In: LI Gilbert, SS Gill (Eds.), *Insect Control, Elsevier*, 2010, pp. 30-34.
- Wang, R., Huang, Z. Y., & Dong, K. E. (2003). Molecular characterization of an arachnid sodium channel gene from the varroa mite (*Varroa destructor*). *Insect biochemistry and molecular biology*, 33(7), 733-739.
- Zhao M., Dong Y., Ran X. Guo X, Xing D., Zhang Y., Yan T., Zhu X., Su J., Zhang H., Wang G., Hou W., Wu Z., Li C., Zhao T. (2014): Sodium channel point mutations associated with pyrethroid resistance in Chinese strains of *Culex pipiens quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Parasites Vectors* 7, 369. doi: 10.1186/1756-3305-7-369.
- Zimmer, C.T., Nauen, R. (2011): Cytochrome P450 mediated pyrethroid resistance in European populations of *Meligethes aeneus* (Coleoptera: Nitidulidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology.* 100. 10.1016/j.pestbp.2011.04.011.
- Zimmer C.T., Bass C., Williamson M.S., Kausmann M., Wölfel K., Gutbrod O., Nauen R. (2014): Molecular and functional characterization of CYP6BQ23, a cytochrome P450 conferring resistance to pyrethroids in European populations of pollen beetle, *Meligethes aeneus*. *Insect Biochem Mol Biol.* 45:18–29. doi: 10.1016/j.ibmb.2013.11.008.

### Dedikace

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, grant QK21010332.

### Kontakt

Ing. Michaela Ludvíková, Ph.D.  
Agritec Plant Research s.r.o.,  
Zemědělská 16, 78701 Šumperk,  
583382127, ludvikova@agritec.cz

## Nové poznatky v ochraně trav na semeno proti škodlivým činitelům

The new knowledge in grass seed crop protection against pest and weeds

*Macháč R.*

*OSEVA vývoj a výzkum s.r.o.*

### Abstrakt

V letech 2021-2024 byl na Výzkumná stanici travinářské v Zubří sledován vliv aplikace přípravků na ochranu rostlin na nejzávažnější onemocnění travosemenných porostů (insekticidy na běloklasost, fungicidy na rzivosti). U herbicidů byla hodnocena selektivita k jednotlivým travním druhům. S výjimkou Cougaru Forte (*diflufenican + flufenacet*), který prokázal dobrou selektivitu ke všem zkoušeným travám, byly ostatní herbicidy vůči sledovaným druhům trav fyto toxické. Pozitivní výsledky byly dosaženy u aplikace Sivanta prime (*flupyradifluron*) a Cyperkillu (*cypermethrin*) na původce parazitární běloklasosti – klopušku hnědožlutou. Tyto insekticidy byly v roce 2025 navrženy na rozšíření použití do trav a semeno. Podobně dobrých výsledků bylo dosaženo u aplikace fungicidů proti rzivostem a skvrnitostem. Na základě výsledků pokusů byly fungicidy Variano Xpro a Input 460 EC registrovány pro menšinové použití v porostech trav na semeno.

**Klíčová slova:** trávy; selektivita herbicidů; parazitární běloklasost; rzivost

### Abstract

Between 2021 and 2024, the effect of plant protection products on the most serious diseases of grass seed crops was monitored at the Grassland Research Station in Zubří (insecticides for controlling silvertop, fungicides for rust diseases). In the case of herbicides, selectivity toward individual grass species was evaluated. With the exception of Cougar Forte (*diflufenican + flufenacet*), which demonstrated good selectivity across all tested grass species, the other herbicides showed phytotoxic effects on the studied grasses. Positive results were obtained with the application of Sivanto Prime (*flupyradifurone*) and Cyperkill (*cypermethrin*) against the causative agent of parasitic bleaching (tarnished plant bug). These insecticides were proposed in 2025 for extension of use in grasses grown for seed. Similarly, good results were achieved with fungicide applications targeting rusts and leaf spot diseases. Based on the experimental results, the fungicides Variano Xpro and Input 460 EC were registered for minor use in grass seed crops.

**Keywords:** grasses; Selectivity of herbicide; Silvertop; Stem rust

### Úvod

Výskyt plevelů i jiných škodlivých činitelů v porostech trav na semeno je velmi závažným faktorem, který negativně ovlivňuje nejen samotnou produkci osiva, ale i rentabilitu pěstování a někdy i dobu využívání semenářského porostu. Nadměrné zaplevelení může být příčinou neuznání semenářského porostu, čím se zcela znehodnotí veškerá produkce, která nemá prakticky žádné alternativní uplatnění. Zaplevelení se však podílí i na snížení výnosu semen trav. Významnější zaplevelení některými plevely může vést k rozhodnutí o předčasném zaorání porostu. Fenomémem, který travní semenářství provází již více než 50. let je parazitární běloklasost, způsobená sáním klopušky hnědožluté v kombinaci s přenosem spor *Fusarium poae* (Cagaš *et al.*, 2010). V minulosti toto onemocnění napadalo zejména kostřavy, lipnice, trojštět a psinečky. V posledních letech byla běloklasost detekována i na bojínku, jílcích a Festuloliích (Nedělník *et al.*, 2015). Škodlivost běloklasosti spočívá v razantním snížení počtu zralých lat a tím i výnosu obilek trav. Zvláště u jílku vytrvalého je nebezpečným onemocněním černá rzivost trav, způsobená patogenem *Puccinia graminis* subsp. *graminicola*. Při silném napadení mohou ztráty na výnosu dosáhnout až 90 % (Macháč, Cagaš, 2014). Výzkum problematiky ochrany travosemenných porostů vůči škodlivým činitelům je prioritním cílem pro udržení ploch množení trav v České republice. Trávy pěstované na semeno patří mezi minoritní plodiny a nejsou v popředí zájmu chemických firem produkujících přípravky na ochranu rostlin. Výzkum této problematiky je tak podporován především semenářskými

firmami, sdruženými ve Spolku pěstitelů travních a jetelových semen. Od roku 2025 je řešen i projekt QL25020010 Výzkum nástrojů pro rentabilní a udržitelnou produkci osiv minoritních plodin a zelenin podpořený Národní agenturou pro zemědělský výzkum MZe.

### Materiál a metody

Polní maloparcelní pokusy byly provedeny v letech 2021-2024 na pozemcích Výzkumné stanice travinářské v Zubří. Charakteristiky stanoviště: nadm. výška: 356 m, průměrná teplota: 7,5 °C, srážkový normál: 864 mm, půdní typ: luvizem oglejená, půdní druh: písčitohlíná. Pokusné plochy byly vysety v roce 2017, resp. 2021. Na podzim bylo každoročně u všech pokusů provedeno přihnojení NPK v dávce ekvivalentní 60 kg dusíku na ha. Koncem října byly pokusy osečeny. Na jaře bylo provedeno přihnojení ledkem amonným s dolomitem v dávce 68 kg dusíku na ha.

Tabulka 1 Použité přípravky na ochranu rostlin

Přípravek (účinná látka)	Dávka na ha	Kategorie	Druh trávy
Mustang ( <i>florasulam</i> + 2,4-D)	0,6 l	Herbucid- standard	KL, KČ, KR, BL, FL
Lentipur ( <i>chlortoluron</i> )	3 l	Herbucid	KL, KČ, KR, BL
Boxer ( <i>pro sulfocarb</i> )	4 l	Herbucid	KL, KČ, KR, BL, FL
Agil ( <i>propaquizafop</i> )	0,3 l	Herbucid	KČ, KR, BL, FL
Cougar Forte ( <i>diflufenican</i> + <i>flufenacet</i> )	0,5 l	Herbucid	KL, KČ, KR, BL, FL
Stemat Super ( <i>ethofumesate</i> )	2 l	Herbucid	FL
Decis Mega ( <i>deltamethrin</i> )	0,15 l	Insekticid – standard	kostřavy
Sivanto prime ( <i>flupyradifluron</i> )	0,5 l	Insekticid	
Cyperkill 25 EC ( <i>cypermethrin</i> )	0,1 l	Insekticid	
Amistar ( <i>azoxystrobin</i> )	1 l	Fungicid - standard	jílky
Variano Xpro ( <i>bixafen</i> + <i>fluoxastrobin</i> + <i>prothioconazol</i> )	1; 1,5 l	Fungicid	
Delaro Forte ( <i>prothioconazol</i> + <i>spiroxamin</i> + <i>trifloxystrobin</i> )	1,5 l	Fungicid	
Input 460 EC ( <i>prothioconazol</i> + <i>spiroxamin</i> )	1; 1,25 l	Fungicid	

KL kostřava luční, KČ kostřava červená, KR kostřava rákosovitá, BL bojínka luční, FL *Festulolium*

V období před počátkem sloupkování byly pokusy přihnojeny ledkem amonným s vápencem v dávce 27 kg dusíku na ha. Celková jarní dávka dusíku činila 95 kg na ha. V rámci hodnocení selektivity, ev. fytotoxicity herbicidů byly testované přípravky (viz tabulka 1) aplikovány v základní (doporučené) dávce a ve dvojnásobné dávce (simulace překrytí postřikových ramen). Každá varianta byla hodnocena ve 3 opakováních v základní dávce (N) a ve 3 opakováních v dvojnásobné dávce (2N). Hodnocená a sklizňová plochy parcely činila 10 m<sup>2</sup>. Aplikace POR proběhla pomocí bezezbytkového přesného parcelního postřikovače Zems 09/00. Použité herbicidy a jejich dávky jsou uvedeny u jednotlivých druhů v tabulce 1. Dávka vody činila u herbicidů 200 l.ha<sup>-1</sup> u insekticidů a fungicidů 300 l.ha<sup>-1</sup>. Aplikace herbicidů proběhla na jaře ve fázi odnožování trav (BBCH 25-29). V rámci hodnocení byla sledována fytotoxicita po ošetření, výnos semen, počet fertálních stébel, klíčivost a HTS. V termínech 2, 4 a 6 týdnů po

aplikaci byly hodnoceny příznaky fytoxicity. Aplikace insekticidů byla ve fázi sloupkování, hodnocen byl počet běloklasých stébel na parcelu. Fungicidy byly aplikovány ve fázi počátku metání. Hodnocen byl vliv fungicidu na napadení rzivostí (3 termíny). Ve všech případech byl rovněž hodnocen vliv ošetření na výnos obilek (semen) trav. Výmlat trav byl proveden přímou sklizní maloparcelní sklízecí mlátičkou Wintersteiger Elite. Vymláčené osivo bylo šetrně dosušeno v komorové sušárně a následně vyčištěno na soustavě laboratorních čističek Westrup-Kamas. Z vyčištěného osiva byl stanoven výnos semen a odebrány vzorky pro stanovení kvalitativních parametrů. Výsledky byly statisticky analyzovány prostřednictvím programu Statistica 10 (Cochranův test, ANOVA, post hoc test dle Tukeye).

## Výsledky

### A. Hodnocení selektivity herbicidů ve vybraných druzích trav

#### A1. kostřava luční cv. Rožnovská

U kostřavy luční se fytoxicity projevovat zejména Lentipur, mírné příznaky byly i po aplikaci Boxeru, zejména v e vyšší dávce. Lentipur rovněž výrazně snižoval výnos semen kostřavy luční. K poklesu výnosu semeno došlo i po aplikaci Boxeru, zejména ve třetím užitkovém roce. Přípravek Cougar Forte nevykazoval fytoxicitu a neměl negativní vliv na výnos semen, či jiné výnosotvorné a kvalitativní parametry (viz tabulka A1).

Tabulka A1 Vliv herbicidů a dávek na výnos obilek a HTS kostřavy luční (2022-24)

Rok:		2022					2023					2024				
Přípravek dávka na ha	dávka	výnos obilek			HTS		výnos obilek			HTS		výnos obilek			HTS	
		kg/ha	T <sub>05</sub>	rel.	g	T <sub>05</sub>	kg/ha	T <sub>05</sub>	rel.	g	T <sub>05</sub>	kg/ha	T <sub>05</sub>	rel.	g	T <sub>05</sub>
Mustang	1N	823	a	100%	2,694	ab	902	cdef	100%	2,530	a	645	a	100%	2,427	a
	0,6 l	2N	787	ab	100%	2,720	a	844	def	94%	2,530	a	584	ab	100%	2,307
Lentipur	1N	443	e	54%	2,719	a	633	g	70%	2,455	a	272	d	42%	2,346	a
	3 l	2N	138	f	18%	2,533	b	390	h	43%	2,443	a	295	d	51%	2,178
Boxer	1N	747	abc	91%	2,765	a	835	bc	93%	2,555	a	497	c	77%	2,355	a
	2 l	2N	628	d	80%	2,645	ab	789	def	87%	2,527	a	450	c	77%	2,287
Boxer	1N	645	cd	78%	2,749	a	832	cde	92%	2,558	a	528	bc	82%	2,399	a
	2 + 2 l	2N	387	e	49%	2,654	ab	711	f	79%	2,471	a	474	c	81%	2,423
Cougar forte	1N	787	ab	96%	2,783	a	945	cde	105%	2,590	a	653	a	101%	2,312	a
	0,5 l	2N	703	cd	89%	2,712	ab	885	def	98%	2,585	a	605	ab	104%	2,265
ANOVA		0,085			0,006		<0,001			0,786		<0,001			0,439	

#### A2. kostřava červená cv. Zulu

U kostřavy červené se fytoxicity projevovat zejména herbicid Lentipur. Mírné příznaky fytoxicity byla pozorovány i po aplikaci Agilu 100 EC. Při hodnocení výnosů semen byly nejvyšší výnosy dosaženy po aplikaci Cougaru Forte. Výnosy srovnatelné s kontrolou byly dosaženy na parcelách ošetřených Boxerem a nepatrně nižší výnosy byly dosaženy po aplikaci Agilu 100 EC. Fytoxicita Lentipuru se výrazně projevila i na snížení výnosu semen kostřavy červené (viz tabulka A2).

Tabulka A2 Vliv herbicidů a dávek na výnos obilek a HTS kostřavy červené (2022-24)

Rok:		2022					2023					2024				
Přípravek dávka na ha	dávka	výnos obilek			HTS		výnos obilek			HTS		výnos obilek			HTS	
		kg/ha	T <sub>05</sub>	rel.	g	T <sub>05</sub>	kg/ha	T <sub>05</sub>	rel.	g	T <sub>05</sub>	kg/ha	T <sub>05</sub>	rel.	g	T <sub>05</sub>
Mustang	1N	737	ab	100%	1,357	a	850	a	100%	1,230	a	655	a	100%	1,132	a
	0,6 l	741	a	100%	1,252	a	809	a	95%	1,242	a	616	a	100%	1,105	a
Lentipur	1N	401	e	54%	1,261	a	513	ab	60%	1,211	a	462	bc	70%	1,082	a
	3 l	313	f	42%	1,277	a	135	b	16%	1,159	a	371	c	60%	1,078	a
Boxer	1N	695	abc	94%	1,358	a	895	a	105%	1,237	a	658	a	100%	1,141	a
	4 l	659	bc	89%	1,346	a	755	a	89%	1,276	a	655	a	106%	1,126	a
Cougar forte	1N	756	a	103%	1,224	a	943	a	111%	1,243	a	657	a	100%	1,133	a
	0,5 l	712	abc	96%	1,314	a	912	a	107%	1,236	a	624	a	101%	1,092	a
Agil	1N	641	c	87%	1,348	a	924	a	109%	1,214	a	608	a	93%	1,119	a
	0,3 l	561	d	76%	1,297	a	903	a	106%	1,244	a	560	ab	91%	1,100	a
ANOVA		0,001			0,359		<0,001			0,734		<0,001			0,08	

### A3. kostřava rákosovitá cv. Kora

Rovněž u kostřavy rákosovité vykazoval nejvyšší fytotoxicitu Lentipur, což se ovšem na výnose semen projevilo až od druhého pokusného roku. K nejvyššímu snížení výnosu semen došlo ve třetím pokusném roce. Podobně se snižoval výnos i po aplikaci Boxeru a dvojnásobné dávky Agilu. Dobré výsledky opět vykazoval přípravek Cougar Forte. Vliv použitých herbicidů na výnos semen kostřavy rákosovité je znázorněn v tabulce A3.

Tabulka A3 Vliv herbicidů a dávek na výnos obilek a HTS kostřavy rákosovité (2022-24)

Rok:		2022					2023					2024				
Přípravek dávka na ha	dávka	výnos obilek			HTS		výnos obilek			HTS		výnos obilek			HTS	
		kg/ha	T <sub>05</sub>	rel.	g	T <sub>05</sub>	kg/ha	T <sub>05</sub>	rel.	g	T <sub>05</sub>	kg/ha	T <sub>05</sub>	rel.	g	T <sub>05</sub>
Mustang	1N	823	a	100%	2,694	ab	902	cdef	100%	2,530	a	645	a	100%	2,427	a
	0,6 l	787	ab	100%	2,720	a	844	def	94%	2,530	a	584	ab	100%	2,307	a
Lentipur	1N	443	e	54%	2,719	a	633	g	70%	2,455	a	272	d	42%	2,346	a
	3 l	138	f	18%	2,533	b	390	h	43%	2,443	a	295	d	51%	2,178	a
Boxer	1N	747	abc	91%	2,765	a	835	bc	93%	2,555	a	497	c	77%	2,355	a
	4 l	628	d	80%	2,645	ab	789	def	87%	2,527	a	450	c	77%	2,287	a
Cougar forte	1N	645	cd	78%	2,749	a	832	cde	92%	2,558	a	528	bc	82%	2,399	a
	0,5 l	387	e	49%	2,654	ab	711	f	79%	2,471	a	474	c	81%	2,423	a
Agil	1N	787	ab	96%	2,783	a	945	cde	105%	2,590	a	653	a	101%	2,312	a
	0,3 l	703	cd	89%	2,712	ab	885	def	98%	2,585	a	605	ab	104%	2,265	a
ANOVA		<0,001			0,699		<0,001			0,786		<0,001			0,469	

### A4. bojínka luční cv. Sobol

Také u bojínku se Lentipur projevovat fytotoxicky jak pozorovatelnými příznaky fytotoxicity, tak i významným snížením výnosu semen. Ovšem ke snížení výnosu semen došlo i u variant ošetřených Boxerem či Agilem 100 EC. Pouze varianta ošetřená Cougarem Forte v obou dávkách poskytovala výnos srovnatelný s kontrolou ošetřenou standardem Mustang viz tabulka A4.

Tabulka A4 Vliv herbicidů a dávek na výnos obilek a HTS bojínku lučního (2022-24)

Rok		2022					2023					2024				
Přípravek dávka na ha	Rok	výnos obilek			HTS		výnos obilek			HTS		výnos obilek			HTS	
		kg/ha	T <sub>05</sub>	rel.	g	T <sub>05</sub>	kg/ha	T <sub>05</sub>	rel.	g	T <sub>05</sub>	kg/ha	T <sub>05</sub>	rel.	g	T <sub>05</sub>
Mustang 0,6 l	1N	823	a	100%	2,694	ab	902	cdef	100%	2,530	a	645	a	100%	2,427	a
	2N	787	ab	100%	2,720	a	844	def	94%	2,530	a	584	ab	100%	2,307	a
Lentipur 3 l	1N	443	e	54%	2,719	a	633	g	70%	2,455	a	272	d	42%	2,346	a
	2N	138	f	18%	2,533	b	390	h	43%	2,443	a	295	d	51%	2,178	a
Boxer 4 l	1N	747	abc	91%	2,765	a	835	bc	93%	2,555	a	497	c	77%	2,355	a
	2N	628	d	80%	2,645	ab	789	def	87%	2,527	a	450	c	77%	2,287	a
Cougar forte 0,5 l	1N	645	cd	78%	2,749	a	832	cde	92%	2,558	a	528	bc	82%	2,399	a
	2N	387	e	49%	2,654	ab	711	f	79%	2,471	a	474	c	81%	2,423	a
Agil 0,3 l	1N	787	ab	96%	2,783	a	945	cde	105%	2,590	a	653	a	101%	2,312	a
	2N	703	cd	89%	2,712	ab	885	def	98%	2,585	a	605	ab	104%	2,265	a
ANOVA		<0,001			<0,001		<0,001			0,786		<0,001			0,168	

#### A5. Festulolium cv. Fojtan

U košťavovitého typu Festulolia se nejvíce fyto toxicky projevoval přípravek Agil 100 EC. Ovšem největší snížení výnosu bylo v průměru zaznamenáno u variant ošetřených přípravkem Boxer. K výraznému snížení výnosu semen však došlo i u Agilu a k poklesu výnosu o více než 10 % došlo v průměru i u varianty ošetřené Stematem Super. Obecně k výraznějšímu snížení výnosu došlo v druhém a třetím pokusném roce. Varianty ošetřené Cougarem Forte vykazovaly výnos na úrovni kontroly (viz tabulka A5).

Tabulka A5 Vliv herbicidů a dávek na výnos obilek a HTS Festulolia (2022-24)

Rok		2022					2023					2024				
Přípravek dávka na ha	Rok	výnos obilek			HTS		výnos obilek			HTS		výnos obilek			HTS	
		kg/ha	T <sub>05</sub>	rel.	g	T <sub>05</sub>	kg/ha	T <sub>05</sub>	rel.	g	T <sub>05</sub>	kg/ha	T <sub>05</sub>	rel.	g	T <sub>05</sub>
Mustang 0,6 l	1N	823	a	100%	2,694	ab	902	cdef	100%	2,530	a	645	a	100%	2,427	a
	2N	787	ab	100%	2,720	a	844	def	94%	2,530	a	584	ab	100%	2,307	a
Stemat Super 2 l	1N	443	e	54%	2,719	a	633	g	70%	2,455	a	272	d	42%	2,346	a
	2N	138	f	18%	2,533	b	390	h	43%	2,443	a	295	d	51%	2,178	a
Boxer 4 l	1N	747	abc	91%	2,765	a	835	bc	93%	2,555	a	497	c	77%	2,355	a
	2N	628	d	80%	2,645	ab	789	def	87%	2,527	a	450	c	77%	2,287	a
Cougar forte 0,5 l	1N	645	cd	78%	2,749	a	832	cde	92%	2,558	a	528	bc	82%	2,399	a
	2N	387	e	49%	2,654	ab	711	f	79%	2,471	a	474	c	81%	2,423	a
Agil 0,3 l	1N	787	ab	96%	2,783	a	945	cde	105%	2,590	a	653	a	101%	2,312	a
	2N	703	cd	89%	2,712	ab	885	def	98%	2,585	a	605	ab	104%	2,265	a
ANOVA		<0,001			0,035		<0,001			0,015		0,001			0,592	

#### B. Hodnocení účinnosti ošetření insekticidy na parazitární běloklasost

U všech druhů košťav oba testované insekticidní přípravky měly vliv na snížení počtu stébel poškozených parazitární běloklasostí. Počet běloklasých stébel byl statisticky vysoce průkazně nižší u všech „insekticidních“ variant než na neošetřené kontrole. U parcel ošetřených testovanými přípravky Sivanto prime i Cyperkill 25 EC byl počet běloklasých stébel neprůkazně nižší než u standardu Decis Mega (viz tabulky B1-B3).

Tabulka B1: Vliv ošetření na počet běloklasých stébel a výnos semen kostřavy luční

Varianta	Dávka	Počet běloklasých stébel			Výnos semen			HTS	
		ks/parcelu	T <sub>05</sub>	rel.	kg/ha	T <sub>05</sub>	rel.	g	T <sub>05</sub>
kontrola		143	<i>b</i>	100%	578	<i>b</i>	100%	2,273	<i>a</i>
Sivanto prime	0,5 l	7	<i>a</i>	5%	661	<i>a</i>	114%	2,259	<i>a</i>
Cyperkill 25 EC	0,1 l	8	<i>a</i>	6%	614	<i>ab</i>	106%	2,218	<i>a</i>
Decis mega	0,15 l	10	<i>a</i>	7%	640	<i>a</i>	111%	2,310	<i>a</i>
<i>ANOVA</i>		<0,001			<0,001			0,737	

U všech druhů kostřav oba testované insekticidní přípravky statisticky významně zvýšily výnos semen. U kostřavy luční byl nejvyšší výnos dosažen po aplikaci insekticidu Sivanta Prime, neprůkazně nižší výnos byl u variant ošetřených standardem Decis Mega a Cyperkill 25 EC. U kostřavy červené byl nejvyšší výnos dosažen u variant ošetřené Cyperkillem 25 EC, následovaný Sivantem Prime a standardem Decis Mega. Mezi variantami ošetřenými insekticidy nebyly statisticky významné rozdíly.

Tabulka B2: Vliv ošetření na počet běloklasých stébel a výnos semen kostřavy červené

Varianta	Dávka	Počet běloklasých stébel			Výnos semen			HTS	
		ks/parcelu	T <sub>05</sub>	rel.	kg/ha	T <sub>05</sub>	rel.	g	T <sub>05</sub>
kontrola		223	<i>b</i>	100%	480	<i>b</i>	100%	1,120	<i>a</i>
Sivanto prime	0,5 l	13	<i>a</i>	6%	673	<i>a</i>	140%	1,113	<i>a</i>
Cyperkill 25 EC	0,1 l	15	<i>a</i>	7%	651	<i>a</i>	136%	1,146	<i>a</i>
Decis mega	0,15 l	17	<i>a</i>	8%	635	<i>a</i>	132%	1,122	<i>a</i>
<i>ANOVA</i>		<0,001			<0,001			0,348	

Sledování vlivu aplikace insekticidních přípravků na HTS u žádného druhu kostřavy neprokázalo statisticky významné rozdíly. U kostřavy luční a rákosovité byla nejvyšší HTS u neošetřené kontroly, u kostřavy červené u varianty ošetřené Decisem Mega.

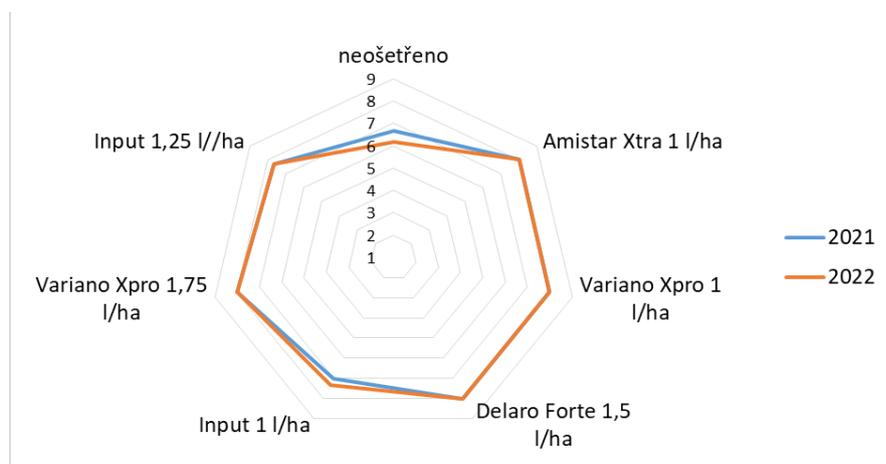
Tabulka B3: Vliv ošetření na počet běloklasých stébel a výnos semen kostřavy rákosovité

Varianta	Dávka	Počet běloklasých stébel			Výnos semen			HTS	
		ks/parcelu	T <sub>05</sub>	rel.	kg/ha	T <sub>05</sub>	rel.	g	T <sub>05</sub>
kontrola		110	<i>b</i>	100%	551	<i>b</i>	100%	2,726	<i>a</i>
Sivanto prime	0,5 l	7	<i>a</i>	7%	650	<i>a</i>	118%	2,661	<i>a</i>
Cyperkill 25 EC	0,1 l	12	<i>a</i>	11%	662	<i>a</i>	120%	2,620	<i>a</i>
Decis mega	0,15 l	10	<i>a</i>	9%	650	<i>a</i>	118%	2,597	<i>a</i>
<i>ANOVA</i>		<0,001			<0,001			0,709	

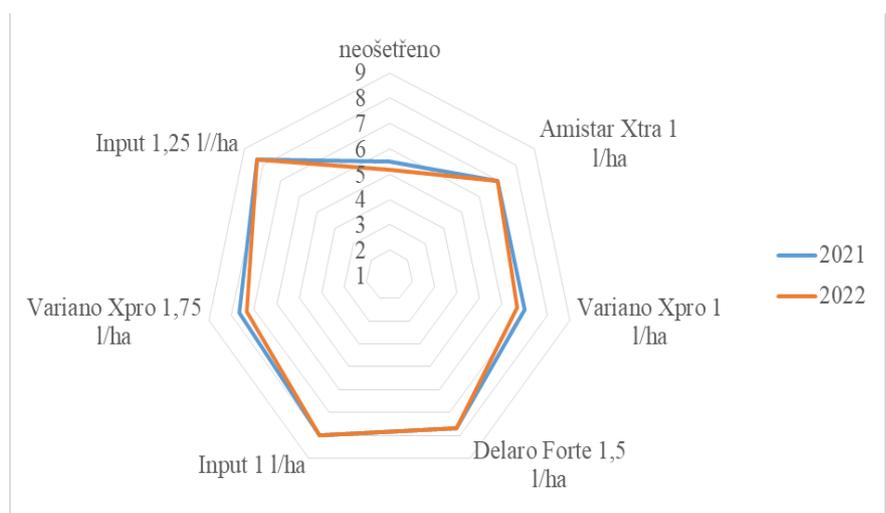
### C. Hodnocení účinnosti fungicidů na choroby jílku vytrvalého

U jílku vytrvalého všechny fungicidy zvýšily odolnost k oběma chorobám, přičemž přípravek Input 460 EC vykazoval nižší účinnost na rzivost, avšak nejvyšší účinnost na listové skvrnitosti. Účinnost Variana Xpro a Delara Forte byla na úrovni Amistaru Xpro. Účinnost fungicidů na černou rzivost i listové skvrnitosti byla v termínech T2 a T3 statisticky průkazná u všech fungicidů. Celkově bylo v obou letech napadení zejména černou rzivostí nízké a na neošetřené kontrole bylo hodnoceno hodnotou 8,5 v prvním termínu hodnocení, před sklizní hodnoceno hodnotou 6,2 (2022) - 6,7 (2021). Napadení listovými skvrnitostmi (hnědá skvrnitost trav, *Pyrenophora lolii*) bylo o něco vyšší – na neošetřené kontrole 7,2 (2022) – 7,7 (2021) v prvním termínu hodnocení, před sklizní bylo hodnoceno stupněm 5,2 (2022) - 5,5 (2021) Účinnost na choroby byla v obou letech podobná (viz grafy 1,2).

Graf 1 Vliv fungicidů na napadení jílku mnohokvětého vytrvalého černou rzivostí (Zubří 2021-22)



Graf 2 Vliv fungicidů a dávek na napadení jílku vytrvalého listovými skvrnitostmi (Zubří 2021-22)



Ošetření fungicidy mělo příznivý vliv na výnos semen jílku vytrvalého. V roce 2021 všechny varianty ošetřené fungicidy statisticky významně (na hladině významnosti 5 %) zvýšily výnos semen. Nejvyšší výnos byl dosažen po aplikaci Delara Forte v dávce 1,5 l/ha (1524 kg/ha) a Variana Xpro (1498 kg/ha) v dávce 1 l/ha. V případě Amistaru byl zaznamenán průkazně

nižší výnos (1353 kg/ha) než u jiných fungicidů. Na neošetřené kontrole byl dosažen výnos 1247 kg/ha. V roce 2022 rovněž všechny varianty ošetřené fungicidy poskytly vyšší výnos než neošetřená varianta, ovšem toto zvýšení již nebylo statisticky významné. Nejvyšší výnos byl dosažen po aplikaci Variana Xpro v dávce 1,5 l/ha (991 kg/ha), následované Inputem v dávce 1,25 l/ha (981 kg/ha). Na neošetřené kontrole byl dosažen výnos 913 kg/ha. Všechny aplikace fungicidů měly za následek zvýšení HTS, avšak toto zvýšení nebylo ani v jednom roce statisticky průkazné. Nejvyšší HTS byla v roce 2021 u varianty ošetřené fungicidem Input v dávce 1 l/ha (3,58 g), neošetřená kontrola 3,52 g, v roce 2022 byla stanovena nejvyšší HTS u varianty ošetřené fungicidy Delaro Forte v dávce 1,5 l/ha a Input v dávce 1 l/ha (shodně 3,67 g). Na neošetřené kontrole byla dosažena HTS 3,61 g.

## Diskuze

Zaplevelení se významně podílí na snížení výnosu semen trav, např. Rolston & Hare (1986) uvádějí, že každé 1 % plevelného pokryvu snižuje výnos semen srhy laločnaté v průměru o 0,9 %. Účinná ochrana proti plevelům je základem agrotechniky trav na semeno. V minulosti byla v České republice proti plevelům s úspěchem používána tzv. trojkombinace MCPA+ fluroxypyr + clopyralid (Macháč a Macháč, 2010). V současnosti se tato kombinace používá zejména v trávnickářství (komerční přípravek Bofix), neboť její použití v trávním semenářství je limitováno vysokou cenou. V letech 2010-2024 bylo do trav nově povoleno několik přípravků (např. Arrat, Arkem, Aurora Super, Callisto, Attribut SG 70, Fragma Delta, Husar). Bohužel v posledních 5 letech se situace s dostupnými herbicidy zhoršuje. Některé účinné látky byly v EU, a tedy i v ČR zakázány, některé přestaly firmy vyrábět nebo změnilly formulaci, přičemž u nové formulace není převzato používání do trav. Bohužel i přípravek Cougar Forte nemohl být navržen pro rozšíření použití, neboť re-evaluace úč. látky v březnu 2025 zařadila flufenacet na seznam zakázaných látek. (EU pesticide database)

Parazitární běloklasost je významným onemocněním, jehož škodlivost se v posledních letech rozšířila i na další druhy trav jako jsou bojínky, Festulolia, jílký nebo rodové hybridy Festulolium (Nedělník *et al.*, 2014). V našich podmínkách způsobuje tento typ běloklasosti významné snížení výnosu semen trav. Naproti tomu, Soroka a Gossen (2021a) vyvodili ze svých výzkumu závěry, že běloklasost sice průkazně snižuje výnos semen lipnice luční a sveřepu, nicméně toto snížení výnosu není velké. Proti klopuškám zkoušeli titíž autoři (2021b) dimethoate, ovšem s malým vlivem na konečné snížení napadení lat trav. V EU je dimethoate zakázána (EU pesticide database). Soroka a Gossen (2022) zjistili, že příznaky běloklasosti jsou obdobné po působení abiotického stresu, kdy dojde k ucpání xylemu, aniž by byla zjištěna přítomnost hub či bodnutí hmyzu.

Ošetření fungicidy je standardním opatřením v ochraně semenářských porostů jílků, které snižuje napadení hospodářsky významnými chorobami, zejména rzivostí. V České republice byl do roku 2023 registrován pouze jediný fungicid – Amistar. O nutnosti ošetřovat semenářské porosty jílků proti rzivostem referují Rodriguez-Algaba *et al.* (2020), kteří v dánských podmínkách doporučují dvojitou aplikaci fungicidů na bázi azolů či strobilurinů, Pfender (2006) zjistil, že aplikace propiconazolu snižuje produkci spor černé rzivosti až o 73 %, aplikace azoxystrobinu je účinnější a redukuje produkci spor až o 98 %. Rolston *et al.* (2009) na základě 19 pokusů v průběhu 12 let zjistili, že aplikace fungicidů v průměru zvyšuje výnos semen pícních odrůd jílků vytrvalého o 25 %, zatímco u trávnickových odrůd až o 42%.

## Závěr

Ze zkoušených herbicidů se fyto toxicky projevovaly zejména Lentipur a Agil. Ovšem i další herbicidy snižovaly výnos semen trav. Jediným přípravkem, který nevykazoval příznaky fyto toxicity a nesnižoval výnos semen trav byl, Cougar Forte. Tento přípravek byl navržen na rozšíření registrace do trav na semeno pro podzimní aplikaci, nicméně vzhledem k zákazu jedné z úč. látek (flufenacet) v databázi EU byla žádost stažena. Výsledky dvouletého testování účinnosti insekticidů na parazitární běloklasost přineslo pozitivní výsledky. Na základě výsledků polních pokusů byly přípravky Sivanto Prime a Cyperkill 25 EC navrženy na rozšíření registrace do trav na semeno. Rovněž výsledky dvouletých pokusů s ochranou jílků proti černé rzivosti trav a listovým skvrnitostem přinesly dobré výsledky. Všechny testované fungicidy prokázaly dobrou účinnost na dané choroby. Přípravek Input vykazoval vyšší účinnost na listové skvrnitosti, přípravky Variano Xpro a Delaro Forte měly vyšší účinnost na černou rzivost trav. Přípravky Variano Xpro a Input 460 EC byly v roce 2023 registrovány pro použití v porostech trav na semeno v rámci Menšinového použití.

## Literatura

- Cagaš B., Macháč, J., Macháč R., Ševčíková M., Šrámek P., 2010: *Trávy pěstované na semeno*. 1. vydání, Olomouc, Vydavatelství Ing. Petr Baštan. 276 s.
- EU pesticide database : <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/active-substances/details/1313>
- Macháč J., Macháč R., 2010 Ochrana proti plevelům, regulátory růstu. In: Cagaš, B. *et. al.* *Trávy pěstované na semeno*. 1. vydání Olomouc: Vydavatelství Ing. Petr Baštan, 2010. s. 237-246.
- Macháč R., Cagaš B., 2014 Resistance of Perennial Ryegrass to Crown and Stem Rust Under Field and Greenhouse Conditions. In: Quantitative Traits Breeding for Multifunctional Grasslands and Turf. Dordrecht: Springer Netherlands, p. 177-182.
- Nedělník J., Strejčková M., Sabolová T., Cagaš B., Both Z., Palicová J., Hortová B. (2015): First report of *Fusarium poae* associated with and/or causing silvertop on loloid-type Festulolium in the Czech Republic. *Plant Protect. Sci.*, 51: 136–140.
- Pfender, W. F. (2006). Interaction of Fungicide Physical Modes of Action and Plant Phenology in Control of Stem Rust of Perennial Ryegrass Grown for Seed. *Plant disease*, 90(9), 1225-1232.
- Rodriguez-Algaba, J., Boelt, B., Matzen, N., Jørgensen, L. N. (2020). Fungicide application improves seed yield of perennial ryegrass upon infection with stem and crown rust fungi. *Crop protection*, 134, 105178.
- Rolston M. P., Hare M.D., 1986: Competitive effects of weeds on seed yield of first year grass seed crops. *Journal of Applied Seed Production* 4. s. 34-36.
- Rolston, M. P., McCloy, B. L., Harvey, I. C., & Chynoweth, R. W. (2009). Ryegrass (*Lolium perenne*) seed yield response to fungicides a summary of 12 years of field research. *New Zealand Plant Protection*, 62, 343-348.
- Soroka J.J., Gossen B. D. 2021a: Silvertop in perennial grass seed production: effects of type and timing of biotic stresses, *Canadian Journal of Plant Science* 101(5), 621-631,
- Soroka J.J., Gossen B. D. 2021b: Dimethoate insecticide application seldom reduces silvertop incidence in grass seed fields on the Canadian prairies. *Canadian J. of Plant Science* 102(3): 575-588
- Soroka J.J., Gossen B. D. 2022: Vascular occlusion associated with abiotic stress is a causal agent of silvertop in perennial grasses. *Canadian J. of Plant Science* 102(3): 690-697

**Poděkování**

Příspěvek vznikl díky financování Dlouhodobého rozvoje výzkumné organizace MZE RO1823 a projektu QL25020010 Výzkum nástrojů pro rentabilní a udržitelnou produkci osiv minoritních plodin a zelenin, financovaném NAZV.

**Kontaktní adresa**

Ing. Radek Macháč, Ph.D.

OSEVA vývoj a výzkum s.r.o.

Hamerská 698, 756 54 Zubří

+420 737 037 078, machac@oseva.cz

## Využití NGS sekvenování a biotestů pro molekulární detekci a rozlišení patotypů *Plasmodiophora brassicae*

Utilization of Next-Generation Sequencing and Bioassays for the Molecular Detection and Characterization of *Plasmodiophora brassicae* Pathotypes

Pichová M.<sup>1</sup>, Hejna O.<sup>2</sup>, Píčová A.<sup>3</sup>, Čurn V.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Katedra genetiky a biotechnologií, Fakulta zemědělská a technologická, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

### Abstrakt

Nádorovitost brukvovitých, způsobená patogenem *Plasmodiophora brassicae*, představuje závažný problém v pěstování řepky a dalších brukvovitých plodin. Cílem práce bylo vyvinout efektivní postup pro identifikaci nejběžnějších patotypů *P. brassicae* v České republice kombinující biotesty, molekulární diagnostiku a sekvenační analýzu. Biotesty potvrdily rozdílnou citlivost genotypů hostitelských rostlin a umožnily přiřazení izolátů k příslušným patotypům dle Williamsovy klasifikace. Sekvenační analýza umožnila rekonstrukci genomů pěti hlavních patotypů a identifikaci variabilních oblastí vhodných pro návrh specifických primerů. Nově navržený postup PCR analýzy umožňuje současnou detekci více patotypů v jedné reakci, čímž se zvyšuje efektivita i ekonomika diagnostiky. Kombinace biotestů a molekulárních metod poskytuje komplexní přístup k hodnocení variability patogena a představuje významný nástroj pro šlechtitelská pracoviště při výběru genotypů s rezistencí nebo tolerancí k nádorovitosti brukvovitých.

**Klíčová slova:** *Plasmodiophora brassicae*, Patotypy, Biotesty, Molekulární diagnostika, Šlechtění

### Abstract

Clubroot disease, caused by *Plasmodiophora brassicae*, limits brassica cultivation. This study combines bioassays, molecular diagnostics, and sequencing to identify the five most common *P. brassicae* pathotypes in the Czech Republic. Bioassays confirmed differential host susceptibility and classification by the Williams system. Sequencing revealed variable genomic regions, enabling design of primers for multiplex PCR. The developed PCR allows simultaneous detection of multiple pathotypes, improving efficiency and reducing costs. Integrating phenotypic and molecular approaches provides a tool for breeding resistant or tolerant brassica cultivars.

**Keywords:** *Plasmodiophora brassicae*, Pathotypes, Biotests, Molecular diagnostics, Breeding

### Úvod

Obligátní biotrofní patogen *Plasmodiophora brassicae* je původcem závažného onemocnění kořenového systému brukvovitých rostlin (nádorovitosti košťálovin) které v současnosti představuje vážný problém při jejich pěstování. Tento patogen představuje vážné nebezpečí zejména kvůli snadnému, rychlému šíření a výraznému negativnímu dopadu na výnosy (Dixon, 2009). Efektivní ochrana proti tomuto patogenu vyžaduje přesné a citlivé diagnostické metody pro určení patotypové identity, neboť jednotlivé patotypy vykazují odlišnou virulenci vůči genotypům s geny specifické rezistence. Klasické metody biotestů, využívající diferenciatní soubory hostitelů, však narážejí na limity v rozlišovací schopnosti a jsou navíc časově velmi náročné (Hejna a kol., 2019). Cílem této studie bylo využít kombinaci molekulárního přístupu prostřednictvím sekvenování nové generace (NGS) a standardizovaných biotestů pro přesnější detekci a diferenciaci patotypů *P. brassicae*. Navržená strategie přináší nový přístup k hodnocení patotypové variability a slouží jako užitečný nástroj pro šlechtění a management nádorovitosti (Hejna a kol., 2024).

## Materiál a metody

### Biologický materiál

Izoláty *Plasmodiophora brassicae* byly odebrány z různých lokalit České republiky podle Říčařová a kol., (2016). Po laboratorním namnožení byly převedeny na geneticky uniformní populace. Jako hostitelská rostlina pro namnožení byla použita citlivá odrůda pekingského zelí 'Granaat' (*Brassica rapa* subsp. *pekinensis*, ECD 05). Pro testování patotypů byly využity diferenciální genotypy Laurentian (Lau), Wilhelmsburger (ECD 10), Badger Shipper (ECD 11) a Jersey Queen (ECD 13). Vzorky i namnožené nádory byly uchovávány při  $-26\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

### Příprava inokula a biotest

Infekční inokulum bylo připravováno z rozmražených a očištěných nádorů homogenizovaných ve vodě. Po filtraci a centrifugaci byla koncentrace spor upravena na  $10^8$  spor·ml<sup>-1</sup> (Chytilová a Dušek, 2007). Rostliny jednotlivých genotypů (6 rostlin × 4 opakování) byly pěstovány v substrátu (zahradní zemina: perlit = 1: 1), přičemž každé semeno bylo inokulováno 1 ml suspenze. Pěstování probíhalo při 20/18 °C (den/noc), 16 h fotoperiodě a světelné intenzitě 80–100  $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Po dvou týdnech byly rostliny přihnojeny (Jungle Garden Base, Jungle Garden Listová zelenina). Kontrolní odrůda 'Granaat' byla hodnocena po čtyřech týdnech, ostatní genotypy po sedmi týdnech. Hodnocení infekce probíhalo podle klasifikace Williamse a kol. (1966). Odrůdy s méně než 20 % napadených rostlin byly považovány za rezistentní, naopak při napadení více jak 20 % rostlin byly odrůdy označeny za citlivé. Na základě výsledků byly vzorky přiřazeny k odpovídajícímu patotypu.

### Izolace spor a extrakce DNA pro NGS

Infikované rostliny byly pěstovány hydroponicky v perlitu a devět týdnů po inokulaci byly odebrané nádory dezinfikovány, homogenizovány a zpracovány na suspenzi, která byla následně filtrována a centrifugována (10 min, 2000 RCF). Získaný pelet byl resuspendován v 5 ml 60% sacharózy, opět centrifugován (10 min, 2000 RCF) a supernatant dále zředěn vodou. Po opakovaném promytí byla suspenze purifikována pomocí Ludoxového gradientu (10–40 %, vrstvy po 5 ml, doplněné vodou) a centrifugována (30 min, 1000 RCF). Vizually identifikovaná vrstva spor byla odebrána, desetkrát promyta vodou (2000 RCF, 10 min) a výsledný pelet resuspendován v 5 ml sterilní vody a rozdělen do mikrozkušavek. Takto získané vysoce čisté spory sloužily jako výchozí materiál pro izolaci DNA. Genomová DNA byla extrahována mechanickou disrupcí spor (ocelové kuličky, 3 × 1 min, 20 Hz) následovanou CTAB metodou. Vysušený DNA pelet byl rozpuštěn v 40  $\mu\text{l}$  TE pufru (37 °C). RNáza nebyla použita.

### Sekvenování a bioinformatické zpracování

DNA vzorky byly sekvenovány technologií Illumina NovaSeq (SEQme, ČR). Pro každý vzorek bylo získáno  $\geq 10$  milionů párových čtení (150 bp), což odpovídá více než 100× pokrytí genomu (odhadovaná velikost 25 Mb). Kvalita čtení byla kontrolována nástrojem FastQC; adaptory a nekvalitní sekvence byly odstraněny pomocí BBtools a Trimmomatic. Kontaminace DNA hostitelské rostliny (*Brassica rapa*) byla eliminována mapováním na referenční genom CAAS\_Brap\_v3.01 (NCBI).

### Rekonstrukce a analýza genomů

Genomy pěti patotypů *P. brassicae* byly rekonstruovány *de novo* pomocí SPAdes a Unicycler; přičemž sekvence kratší než 500 bp byly z analýzy vyřazeny. Scaffolding byl proveden v programech Medusa a Ragout s využitím referenčního genomu (GCA\_036867785.1) a mitochondriální sekvence (CM077642.1). Kvalita sestavení byla hodnocena pomocí QUAST (podobnost), BUSCO (kompletnost) a Qualimap (přesnost pokrytí). Na základě těchto kritérií byla jako optimální zvolena kombinace programů *de novo* assembler SPAdes + scaffolder Ragout, která poskytla nejlepší rovnováhu mezi délkou sestavení, počtem contigů a

kompletností genomu. Vybrané genomy byly dále optimalizovány pomocí programu Pilon, který využívá párová čtení k opravě chyb, uzavírá mezery mezi scaffolds a zajišťuje rovnoměrné pokrytí. Účinnost korekcí byla následně ověřena nástrojem Qualimap. Pro srovnání genomových sekvencí byly na základě referenčních genomových a mitochondriálních sekvencí identifikovány příslušné oblasti a provedeno vícenásobné zarovnání sekvencí pomocí programu Kalign. Celkem bylo získáno 21 multisekvenčních alignmentů pro 20 chromozómů a 1 mitochondrion, které byly vizualizovány pomocí Mview. Patotypově specifické změny byly identifikovány v jaderných chromozomových sekvencích, na jejichž základě byly pomocí Primer3 navrženy a optimalizovány PCR primery.

## Výsledky

### Williamsova klasifikace

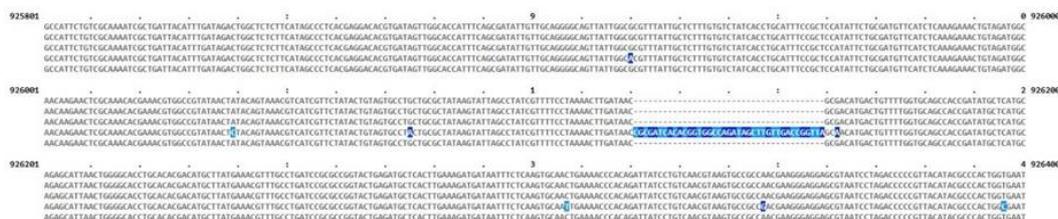
Podle Williamsovy klasifikace (Williams, a kol., 1966) bylo celkem 16 vzorků z různých lokalit zařazeno do patotypových skupin. Sedm vzorků bylo zasláno z Anglie, jeden vzorek pocházel z Číny a osm zbylých pocházelo z České republiky. V následující tabulce (Tab. 1) jsou uvedeny výsledky pro vzorky získané z území České republiky.

**Tabulka 1:** Zařazení českých izolátů podle Williamsovy klasifikace (Williams et al., 1966). Vzorky 1, 3, 4 a 8 byly dodány externě, přesná lokalita odběru není známa. Vzorek 2 pochází z Žirovnic, vzorek 5 z Holan, vzorek 6 z Horusic a vzorek 7 z Pohledů. Testované genotypy: Laurentian (Lau), Wilhelmsburger (ECD 10), Badger Shipper (ECD 11) a Jersey Queen (ECD 13)

genotyp	Vzorek							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Lau	-	+	+	+	+	+	+	-
ECD 10	+	-	-	-	+	+	-	-
ECD 11	+	-	+	-	+	-	-	+
ECD 13	+	+	+	+	+	+	-	+
Williams	P10	P3	P2	P3	P4	P1	P8	P7

### Celogenomové sekvenování a návrh primerů

Pro celogenomové sekvenování bylo vybráno pět nejběžnějších patotypů *P. brassicae* vyskytující se v ČR – patotyp P2, P3, P4, P5 a P7 (Williamsova klasifikace). Na základě detailní analýzy chromozomových sekvencí byla identifikována specifická místa s výraznými genetickými odchylkami charakteristickými pro jednotlivé patotypy nádorovitosti. Pro tato místa byly následně navrženy specifické primerové páry s cílem umožnit cílenou PCR detekci daných patotypů. Všechny navrhované primerové páry byly experimentálně ověřeny z hlediska své specificity a reakce výhradně na cílový patotyp. Současně byla provedena optimalizace PCR podmínek a vizualizace výsledných produktů pomocí gelové elektroforézy. Všechny primerové páry lze použít v jednotných podmínkách PCR reakce, přičemž generují produkty různé délky podle detekovaného patotypu. Na obrázku 1 jsou znázorněny příklady vizualizace z genomových regionů s unikátními sekvencemi pro patotyp P3.





**Obrázek 1:** Vizualizace unikátních sekvencí pro patotyp P3

V následující tabulce (tab. 2) jsou uvedené specifické primerové páry navržené pro identifikovanou specifická místa charakteristická pro určitý patotyp.

**Tabulka 2:** Navržené specifické primerové páry a velikost produktu. Pro každý patotyp byly navržené 2 páry primerů.

Patotyp	Primerové páry	Velikost produktu (bp)
P2	P2_2_F GCACGTTCTGGACCCAT	583
	P2_2_R ACTCTAAGCGTGTCTCGAG	
	P2_1_F TAATGGGAAGGCTAGCGACA	613
	P2_1_R TATCGTCGGGTTCTTCTGG	
P3	P3_1_F GCCAGATAGCTTGTGACCG	685
	P3_1_R CGAGCAGGTAGTTTGTGACG	
	P3_2_F CCAGTTGTTCTTGACGCGAT	627
	P3_2_R CACTCTTGCCTGACGGTTC	
P4	P4_1_F TTGGCTGCCGAAGAACTCAT	354
	P4_1_R CCGGGCATCAATCGTGTTT	
	P4_2_F TCGATTAACAAAGAGCAGCATCT	313
	P4_2_R CCACGGACTTGCAATCACAA	
P5	P5_1_F TAATGGGAAGGCTAGCGACA	793
	P5_1_R CGATCGTGCCCTGAGAAAAC	
	P5_2_F AACGACATATGCGCCCAAAC	725
	P5_2_R TCCTGGAAACTCTGCGTCAT	
P7	P7_1_F ACAGACCGCCGCATGTTC	455
	P7_1_R AGACGAGGACTGCACATGAT	
	P7_2_F TGATCCGACCTGTAGACACC	431
	P7_2_R ATATCTGTTCATCCGCCCC	

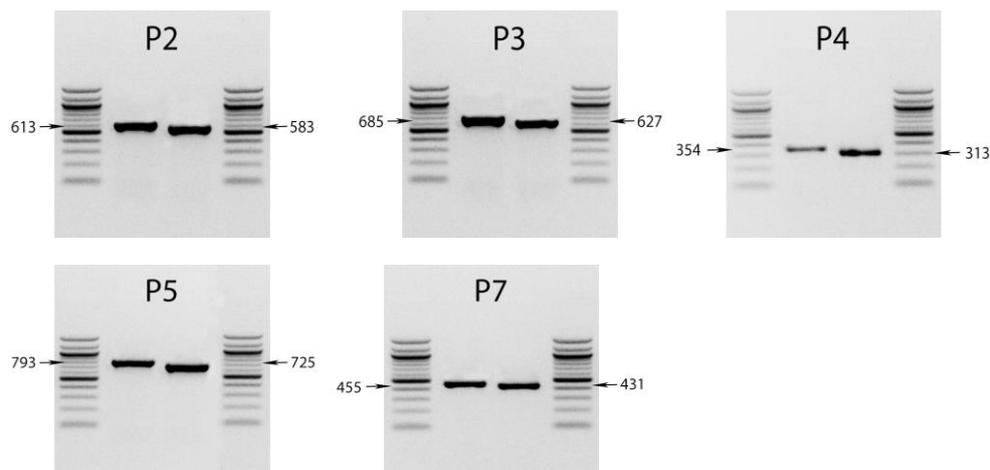
### Optimalizace PCR reakce

Pro amplifikaci DNA jednotlivých patotypů byly použity různé páry primerů, které za identických PCR podmínek generovaly produkty různé délky specifické pro daný patotyp. Optimalizace reakčních podmínek umožnila spolehlivou a reprodukovatelnou amplifikaci cílových fragmentů. Finální objem PCR reakce činil 20 µl a zahrnoval 10 µl PPP Master Mixu (Top-Bio, Česká republika), 1 µl forward primeru, 1 µl reverse primeru, 1 µl templátové DNA

a 7 µl PCR-grade vody. Reakce byla prováděna v termocykleru za následujících podmínek: úvodní denaturace při 94 °C po dobu 10 minut, následovaná 30 cykly denaturace při 94 °C po dobu 45 sekund, nasedání primerů při 60 °C po dobu 45 sekund a elongace při 72 °C po dobu 1 minuty. Po ukončení cyklování následovala finální elongace při 72 °C po dobu 10 minut. Reakce byla poté udržována při 4 °C. Tento standardizovaný protokol zajišťuje dostatečnou citlivost, specifitu a reprodukovatelnost amplifikace, což umožňuje spolehlivou detekci a charakterizaci jednotlivých patotypů.

### Elektroforetická separace PCR produktů

Pro ověření úspěšnosti amplifikace a stanovení velikosti vzniklých fragmentů byly PCR produkty analyzovány pomocí gelové elektroforézy (obr. 2).



**Obrázek 2:** Elektroforetická separace PCR produktů. V jednotlivých drahách jsou patrné amplifikované fragmenty specifických délek odpovídající jednotlivým patotypům.

### Diskuse

Biotesty potvrdily rozdílnou citlivost hostitelských genotypů a umožnily přiřazení izolátů *P. brassicae* k patotypům dle Williamsovy klasifikace. Tato metoda, založená na fenotypovém hodnocení infekční schopnosti izolátů, je často využívána ke klasifikaci patotypů již od 60. let (Williams a kol., 1966). Přestože se v následujících desetiletích objevily modifikované biotestovací systémy – např. evropský (ECD klasifikace) (Buczacki a kol., 1975) nebo kanadský (SCD systém) (Strelkov a kol., 2018), všechny sdílejí určité limity, kterými jsou vysoká pracnost, časová náročnost a možný vliv environmentálních faktorů na výsledek testu. Vzorky, které nám byly zaslány externě, pocházely z lokalit, kde již dříve probíhalo testování. K těmto místům byly přiřazeny patotypy podle Williamsovy klasifikace ve studii Říčařová a kol. (2016). Během podrobných analýz jsme však zaznamenali několik rozdíků v přiřazených patotypech. Například vzorek č. 1, dříve klasifikovaný jako patotyp P2, nyní vykazoval znaky odpovídající patotypu P10. Podobně u vzorku č. 3 došlo ke změně z patotypu P5 na patotyp P2. Tyto odlišnosti naznačují, že v populaci patogenu dochází k dynamickým změnám – tedy že patotyp, který v dané lokalitě dříve dominoval, může být po určité době nahrazen či doplněn novým patotypem s odlišným spektrem virulence. Tento vývoj ukazuje, jak důležité je průběžně sledovat aktuální výskyt patotypů v jednotlivých lokalitách. Mění se skladba populací patogenu by měla být zohledněna jak při diagnostice, tak při šlechtění a výběru odrůd s cílenou odolností. Podobné poznatky byly zaznamenány i v zahraničí – například kanadský výzkum potvrdil, že genetická diverzita *P. brassicae* je vysoká, a že vznik nových patotypů pravděpodobně souvisí jednak s tlakem vyvolaným pěstováním odolných odrůd, jednak s tím, že se mění spektrum hostitelských rostlin, které patogen dokáže infikovat (Sedaghatkish a kol., 2019).

Sekvenační analýza v tomto výzkumu přinesla vysoce kvalitní data s dostatečnou hloubkou pokrytí, která umožnila rekonstrukci genomů pěti nejběžnějších patotypů *P. brassicae* v České republice. V souladu s předchozími studiemi (Schwelm a kol., 2018; Stjelja a kol., 2019) byla v našem výzkumu mitochondriální DNA vyhodnocena jako vysoce konzervativní, což potvrzuje její nevhodnost pro spolehlivé rozlišení jednotlivých patotypů. Naproti tomu sekvence jaderné DNA vykazovaly výraznou variabilitu a zahrnovaly genové oblasti spojené s patogenitou, přičemž některé z nich byly specifické pro jednotlivé patotypy. Tento vzorec variability odpovídá pozorováním Rolfe a kol. (2016) a Sedaghatkish a kol. (2023), kteří popsali rozdíly v genových regionech souvisejících s virulencí. Na tyto poznatky navazují práce Tso a kol. (2021, 2022), které využily polymorfismy v jaderném genomu pro návrh specifických primerů umožňujících molekulární rozlišení patotypů *P. brassicae*. Tyto přístupy potvrzují, že jedinečné sekvence jaderného genomu představují vhodný základ pro vývoj přesných diagnostických markerů.

V našem výzkumu byly na základě těchto poznatků identifikovány unikátní sekvenční motivy, které jsme využili pro návrh PCR primerů umožňujících detekci více patotypů současně v rámci jedné reakce pomocí multiplexní PCR. Tento přístup je efektivnější a ekonomičtější než samostatné testování jednotlivých patotypů. Kombinace biotestů (Williams a kol., 1966; Buczacki a kol., 1975; Strelkov a kol., 2018) s molekulární analýzou představuje významný posun oproti tradičním metodám založeným jen na fenotypovém hodnocení. Molekulární diagnostika umožňuje rychlou, standardizovanou a spolehlivou identifikaci patotypů. Námi navržený postup je ekonomicky výhodný zejména pro šlechtitelská pracoviště a diagnostické laboratoře, neboť umožňuje rutinní a cenově dostupné testování (cca 250 Kč na vzorek). Spojení vysoké přesnosti a efektivity podporuje cílený výběr rezistentních genotypů a dlouhodobé sledování virulence populací, což je zásadní pro efektivní management nádorovitosti brukvovitých.

### Závěr

Sekvenační analýza umožnila rekonstrukci genomů pěti nejběžnějších patotypů *P. brassicae* a odhalila variabilní oblasti vhodné pro návrh specifických primerů. Nově vyvinuté PCR testy umožňují rychlou a spolehlivou detekci více patotypů současně, čímž zvyšují efektivitu diagnostiky i následného šlechtění odolných odrůd brukvovitých plodin. Kombinace biotestů a molekulární analýzy poskytuje komplexní pohled na variabilitu patogena. Tento přístup má přímý praktický přínos pro šlechtitelská pracoviště, umožňuje cílený výběr odolných genotypů a vytváří prostor pro další výzkum genetické diverzity *P. brassicae* a vývoj nových selekčních markerů.

### Literatura

- BUCZACKI, S. T. et al., 1975. *Study of physiologic specialization in Plasmodiophora brassicae: Proposals for attempted rationalization through an international approach.* *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 65(2): 295–303. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(75\)80013-1](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(75)80013-1)
- CHYTILOVÁ, V. a DUŠEK, K., 2007. *Metodika testování odolnosti brukvovitých plodin k nádorovitosti.* VÚRV, Praha. ISBN 978-80-87011-23-2
- DIXON, G. R., 2009. *Plasmodiophora brassicae in its environment.* *J. Plant Growth Regul.*, 28(3): 212–228
- HEJNA, O., 2019. *Identifikace genů rezistence k nádorovitosti pomocí asociativní transkriptomiky.* Disertační práce, JU v Českých Budějovicích. <https://theses.cz/id/inmrox/>
- HEJNA, O. et al., 2024. *Metodika odlišení patotypů Plasmodiophora brassicae.* JU v Českých Budějovicích. <https://agronavigator.cz/sites/default/files/2025-04/Metodika%2520odli%25C5%25A1en%25C3%25AD%2520patotyp%25C5%25AF.pdf>

- ROLFE, S. A. et al., 2016. *The compact genome of the plant pathogen Plasmodiophora brassicae is adapted to intracellular interactions with host Brassica spp.* BMC Genomics, 17: 272. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2597-2>
- ŘÍČAŘOVÁ, V. et al., 2016. *Clubroot caused by Plasmodiophora brassicae Wor.: a review of emerging serious disease of oilseed rape in the Czech Republic.* Plant Prot. Sci., 52(2): 71–86
- SEDAGHATKISH, A. et al., 2019. *Whole-genome DNA similarity and population structure of Plasmodiophora brassicae strains from Canada.* BMC Genomics, 20: 744. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6118-y>
- SEDAGHATKISH, A. et al., 2023. *Characterization of a virulence factor in Plasmodiophora brassicae, with molecular markers for identification.* PLoS ONE, 18(9): e0289842. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0289842>
- SCHWELM, A. et al., 2015. *The Plasmodiophora brassicae genome reveals insights in its life cycle and ancestry of chitin synthases.* Sci. Rep., 5: 11153. <https://doi.org/10.1038/srep11153>
- STJELJA, S. et al., 2019. *The architecture of the Plasmodiophora brassicae nuclear and mitochondrial genomes.* Sci. Rep., 9: 15753. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52274-7>
- STRELKOV, S. E. et al., 2018. *Virulence and pathotype classification of Plasmodiophora brassicae populations collected from clubroot resistant canola (Brassica napus) in Canada.* Can. J. Plant Pathol., 40(2): 284–298. <https://doi.org/10.1080/07060661.2018.1459851>
- TSO, H. H. et al., 2021. *Current and future pathotyping platforms for Plasmodiophora brassicae in Canada.* Plants, 10(7): 1446. <https://doi.org/10.3390/plants10071446>
- TSO, H. H. et al., 2022. *Protocol: rhPCR and SNaPshot assays to distinguish Plasmodiophora brassicae pathotype clusters.* Plant Methods, 18(1): 91. <https://doi.org/10.1186/s13007-022-00923-w>
- WILLIAMS, P. H., 1966. *A system for the determination of races of Plasmodiophora brassicae that infect cabbage and rutabaga.* Phytopathology, 56(6): 624–626

### Poděkování

Tato studie vznikla za podpory projektů GAJU 083/2025/Z a FW10010461.

### Kontaktní adresa

Ing. Marie Pichová

Katedra genetiky a biotechnologií, Fakulta zemědělská a technologická, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Adresa: Studentská 1668, 370 05 České Budějovice

Telefon, e-mail: +420 775 166 453, [pichom03@fzt.jcu.cz](mailto:pichom03@fzt.jcu.cz)



## Využití inokulací řepky olejky patogenem *Sclerotinia sclerotiorum* v polním pokusnictví

Use of inoculation of rapeseed oil with the pathogen  
*Sclerotinia sclerotiorum* in field experiments

Plachká E.<sup>1</sup>, Rychlá A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>OSEVA vývoj a výzkum s.r.o., pracoviště Opava, <sup>2</sup>OSEVA PRO s.r.o., pracoviště Opava

### Abstrakt

Byla modifikována metoda přípravy inokula patogenu *Sclerotinia sclerotiorum*. Jako substrát byla použita zrna prosa navlhčená destilovanou vodou. Patogen byl na tomto substrátu kultivován po dobu 7 až 10 dní, až do vytvoření mycelia a následně sklerocií. Současně byly testovány různé metody aplikace inokula a stanovováno optimální množství inokula na jednotku plochy. Dále byly ověřovány postupy pro krátkodobé uchovávání inokula před aplikací a pro jeho dlouhodobé skladování. V rámci experimentů byl sledován přirozený infekční tlak patogenu pomocí Petal testu, průběh povětrnostních podmínek a míra napadení porostů řepky ozimé (*Brassica napus* var. *napus*) bez inokulace i po inokulaci. Práce byly realizovány v letech 2023 až 2025.

### Klíčová slova

Inokulát, výroba, počasí, výskyt choroby

### Abstract

The method for preparing the inoculum of the pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* was modified. Millet grains moistened with distilled water were used as the substrate. The pathogen was cultured on this substrate for 7 to 10 days until the formation of mycelium and subsequently sclerotia. Various inoculum application methods were tested, and the optimal amount of inoculum per unit area was determined. Procedures for short-term storage of the inoculum prior to application and for its long-term preservation were also evaluated. During the experiments, the natural infection pressure of the pathogen was monitored using the petal test, along with weather conditions and the incidence of *Brassica napus* var. *napus* (winter oilseed rape) infection in both inoculated and non-inoculated plots. The experiments were conducted in 2023 to 2025.

### Keywords

Inoculum, production, weather, disease occurrence

### Úvod

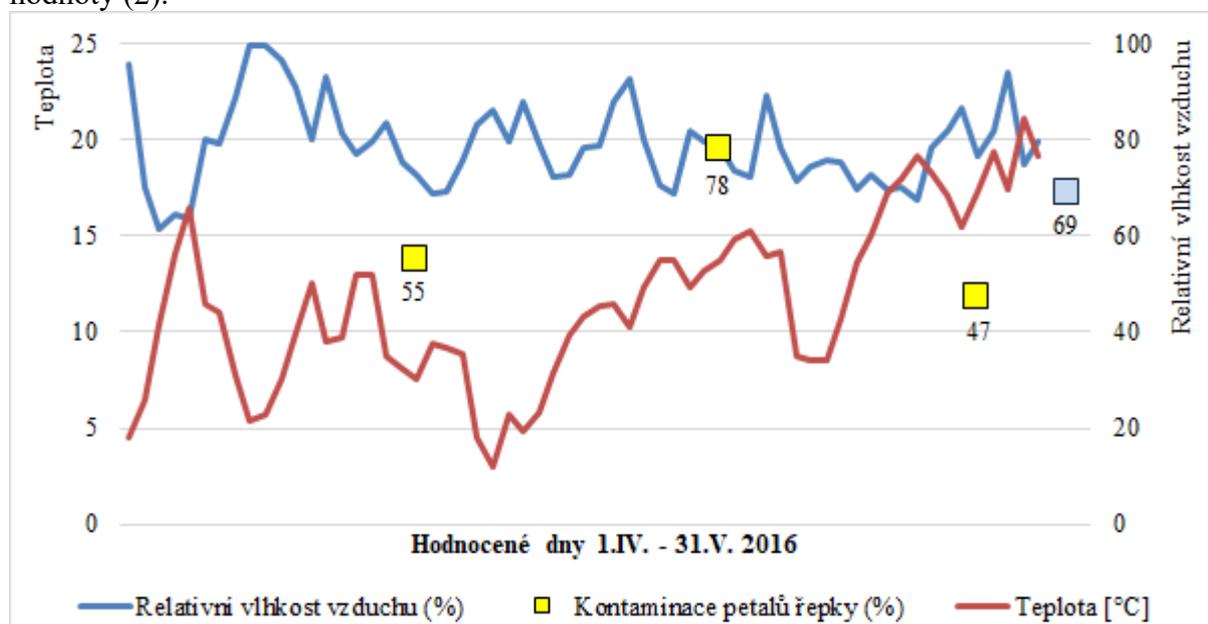
Patogen *Sclerotinia sclerotiorum* (teleom.) - *Sclerotium varium* (anom.) je původcem choroby bílé hniloby řepky. Patogen je regulovaný nekaranténní škodlivý organismus. Polyfágní patogen napadá velké množství dvouděložných rostlin z čeledí brukvovitých, bobovitých, lilkovitých, merlíkovitých, miříkovitých, hvězdnicovitých a dalších (3).

Řepka olejka, ozimá forma (*Brassica napus* var. *napus*), patří mezi významné hostitelské rostliny tohoto patogenu. Za příznivých podmínek pro jeho vývoj a infekci může dojít k výrazným ztrátám na výnosu. Výše škod závisí na stupni napadení. Při napadení do 20 % rostlin jsou pravděpodobné výnosové ztráty do 10 %. Při napadení 20 až 40 % rostlin jsou pravděpodobné výnosové ztráty 10–20 %. Při napadení vyšším než 40 % jsou pravděpodobné výnosové ztráty vyšší než 20 %. Napadení je silně závislé na zdroji infekce, průběhu počasí a lokalitě. Choroba je rozšířena na celém území ČR (3).

Vzhledem k hospodářskému významu bílé hniloby řepky je klíčová účinná ochrana porostů. V rámci registračního řízení přípravků na ochranu rostlin musí dokumentace obsahovat výsledky polních pokusů prokazujících jejich účinnost. Aby měly tyto testy dostatečnou vypovídací hodnotu, musí být dosaženo minimální úrovně napadení patogenem, která u většiny chorob činí alespoň 5 %.

Rostlinolékařský portál ÚKZÚZ uvádí, že práh škodlivosti je splněn při splnění optimálních podmínek pro vývoj a růst patogenu *S. sclerotiorum*, při vyšší kontaminaci květních plátků než 20 % nebo při splnění obou faktorů současně (3). Dlouhodobým pozorováním na pracovišti Výzkumný ústav olejin Opava bylo potvrzeno, že významným faktorem, který ovlivňuje konečné napadení původcem choroby je splnění teplotních a vlhkostních podmínek. Je zřejmé, že pokud byla zjištěna kontaminace petalů na konci kvetení nebo po odkvětu okolo 40 % a průměrná denní teplota se pohybovala mezi 13 až 15 °C a relativní vlhkost vzduchu okolo 80 % (70 až 90 %) po dobu 5 dní, potom bylo napadení před sklizní vysoké (8). To bylo splněno na konci kvetení v 3. dekádě května roku 2016, kdy byla kontaminace petalů 47 %, průměrné denní teploty se pohybovaly mezi 15 až 20 °C a relativní vlhkost vzduchu mezi 70 až 90 % po dobu 8 dní. Napadení řepky původcem choroby v období dozrávání bylo 69 % (Graf 1).

Graf 1: Průběh teplot a relativní vlhkosti vzduchu, kontaminace petalů v kvetení řepky v roce vysokého napadení patogenem *S. sclerotiorum*, Opava IV. a V. 2016, met. stanice AMET, denní hodnoty (2).



V průběhu dlouhodobých pozorování v letech 2014 až 2024 bylo na Opavsku zjištěno, že i přes kontaminaci petalů vyšší než 20 % se napadení řepky před sklizní patogenem *Sc. sclerotiorum* pohybovalo mezi 1 až 69 % a to v závislosti na průběhu počasí v období kvetení, lokalitě a odrůdě (7). Z tohoto důvodu byly na pracovišti Opava zahájeny práce s cílem zvýšit napadení řepky patogenem v polních testech pomocí inokulátu patogena *Sc. sclerotiorum* pro zvýšení vypovídací schopnosti polních testů pro ověřování vlastností přípravků na ochranu rostlin v polních testech.

### Materiál a metody

Hodnocení petal testů probíhalo na základě metodiky Petal test manual for sclerotinia in canola. Copyright University of Saskatchewan, 1991 (5). Princip metody spočívá v odebrání petalů řepky v průběhu kvetení, které jsou následně umístěny na pevnou živnou půdu (Potato Dextrose Agar) a po 4 až 5 dnech kultivace v laboratorních podmínkách je vyhodnocena kontaminace petalů askosporami patogena *Sc. sclerotiorum* v procentech. Na základě kontaminace petalů a průběhu počasí bylo vyhodnoceno riziko napadení řepky tímto patogenem.

Sběrem sklerocií patogena *Sc. sclerotiorum* v porostech řepky na Opavsku byl získán výchozí materiál pro přípravu inokulátu. Jako substrát pro jeho výrobu byla v roce 2022 ověřována

semena pohanky, pšenice a prosa. S ohledem rovnoměrné rozmístění inokulátu do porostu ručním rozhozem, jeho zachycení na rostlinách řepky velikostí, tvarem a hmotnost tisíce semen byla pro výrobu inokula vybrána zrna prosa.

Při výrobě inokulátu bylo vycházeno z Metodiky pro zakládání a hodnocení pokusů s umělou inokulací obilnin fuzariózami klasů (11). Metodika byla modifikována pro patogena *Sc. sclerotiorum*.

Byl připraveno inoculum patogena ve formě mycelia na pevné živné půdě (PDA). Naočkování sklerocií na PDA proběhlo 6 až 7 dní před inokulací substrátu.

Pro přípravu substrátu byly použity sklenice z pevného skla o objemu 0,7 l se závitem s kovovými víčky. Příprava substrátu probíhala ve 4 krocích: 1. navážení zrn prosa 100 g a odměření 80 ml destilované vody a umístění do sklenice; 2. krok sterilizace substrátu v uzavřené láhvi po dobu 60 minut při teplotě 120 °C; 3. krok za 24 hodin: promíchání substrátu ručním protřepáváním sklenice, její otevření a dolití 40 ml destilované vody a opět sterilizace po dobu 60 minut při teplotě 120 °C; 4. krok opět za 24 hodin: promíchání substrátu ručním protřepáváním sklenice a sterilizace po dobu 30 minut při teplotě 120 °C.

Naočkování substrátu: Substrát byl ručně protřepán v uzavřené sklenici. Třepáním byl rovnoměrně rozmístěn podél výšky sklenice tak, aby při otevření a naočkování inokulátů nedošlo k vypadnutí substrátu. Na připravený vychladlý substrát byl umístěn čtvereček PDA o velikosti 10 × 10 mm s myceliem patogena *Sc. sclerotiorum*. Při laboratorní teplotě mycelium substrátu prorostlo do 7 dnů, sedmý až desátý den docházelo k tvorbě sklerocií.

Homogenizace substrátu: Poté byl substrát s myceliem a sklerocií patogena vysypán do perforované plastové přepravky (60 × 40 × 22 cm) na netkanou textilií (vysterylizovanou) a homogenizován ručním promícháním. Na 1 přepravku bylo vysypáno asi 20 sklenic. Do 2 až 3 dnů byl substrát aplikován do porostu ručním rozhozem.

Jednotlivé práce od přípravy inokula do umístění inokulátů na přepravku probíhaly ve sterilních a posléze čistých podmínkách při laboratorní teplotě, osoby pracující na postupu používaly rukavice a roušky. Cílem opatření bylo zabránit kontaminaci inokulátů nežádoucími houbami a bakteriemi.

Celý postup trval 20 až 25 dní. Doporučené množství inokulátu na 10 m<sup>2</sup> je 40 až 50 g. Aplikace inokulátu je směřována do období kvetení řepky: 1 den před nebo 1 až 2 dny po foliární aplikaci fungicidů, optimálně po dešti nebo v ranních hodinách za rosy tak, aby v porostu byla vyšší vlhkost vzduchu.

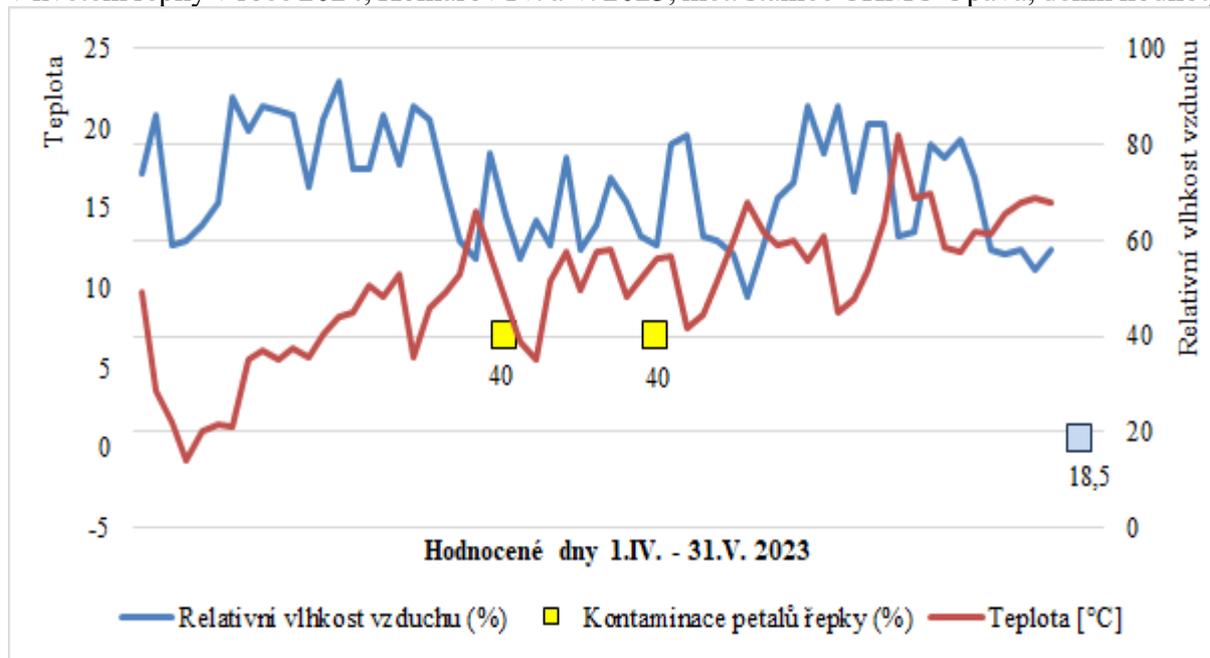
Byla vyhodnocena frekvence napadení původcem bílé hniloby v procentech. Hodnocení napadení řepky tímto patogenem byla provedena na základě aktuální metodiky EPPO PP1/78. Bylo hodnoceno ve dvou termínech: první zaznamenané výskyty na hodnotitelné úrovni (S01) a v období dozrávání BBCH 85-87 (085). Popis lokalit, názvy odrůd a termínů hodnocení jsou uvedeny v Tabulkách 1 a 2.

Pro statistické vyhodnocení byl použit Tukeyho test.

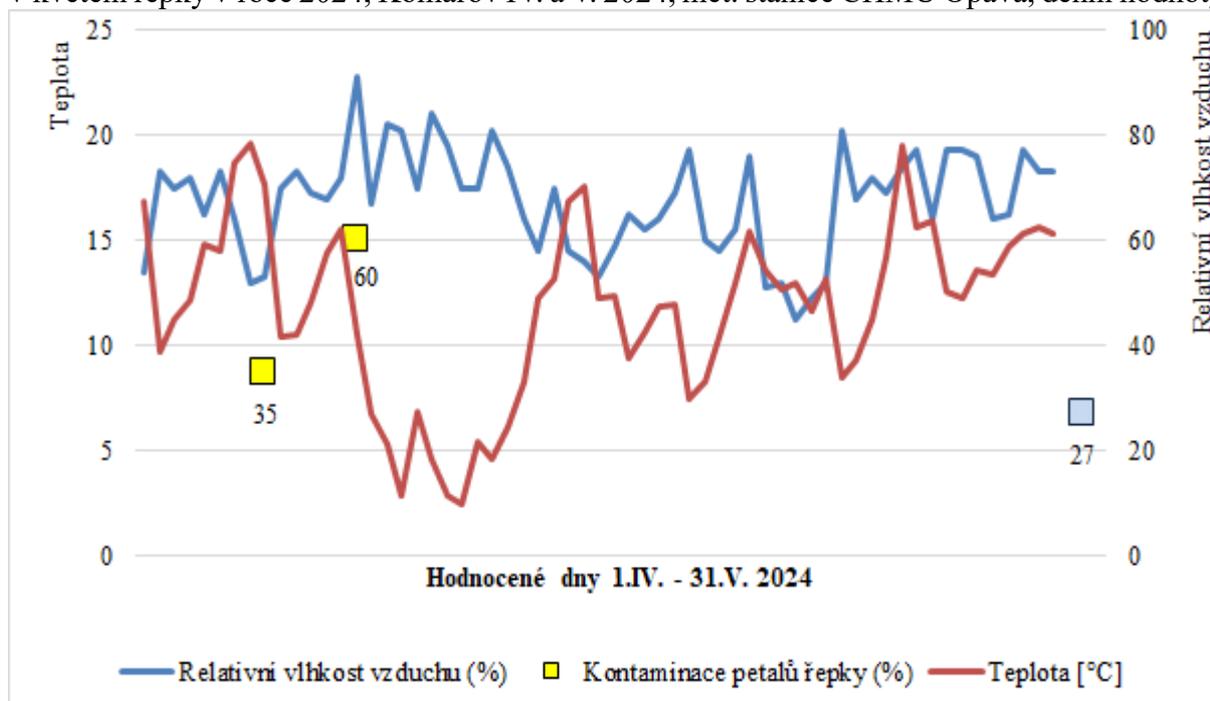
## Výsledky

Kontaminace petalu řepky byla prováděna na začátku kvetení a na konci kvetení. Pohybovala bez ohledu na fázi řepky a ročník mezi 20 až 60 %. Podmínky pro infekci řepky na základě hodnocení průběhu počasí nebyly v letech 2023 až 2024 splněny (Grafy 2 až 4).

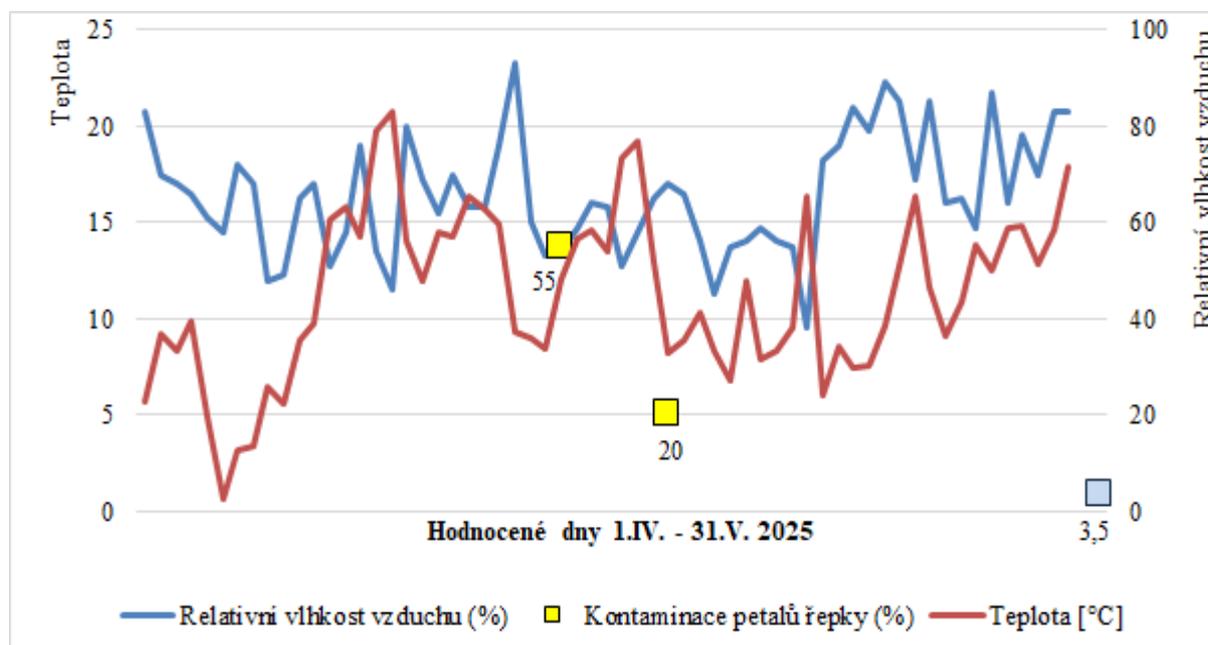
Graf 2: Průběh teplot a relativní vlhkosti vzduchu, kontaminace petalů sporami *Sc. sclerotiorum* v kvetení řepky v roce 2024, Komárov IV. a V. 2023, met. stanice ČHMÚ Opava, denní hodnoty



Graf 3: Průběh teplot a relativní vlhkosti vzduchu, kontaminace petalů sporami *Sc. sclerotiorum* v kvetení řepky v roce 2024, Komárov IV. a V. 2024, met. stanice ČHMÚ Opava, denní hodnoty



Graf 4: Průběh teplot a relativní vlhkosti vzduchu, kontaminace petalů sporami *Sc. sclerotiorum* v kvetení řepky v roce 2025, Kylešovice IV. a V. 2024, met. stanice ČHMÚ Opava, denní hodnoty



Na základě testů umělé inokulace řepky zaměřené na vyhodnocení vhodného substrátu v roce 2022 byl pro umělou inokulaci řepky vybrán substrát ze zrn prosa. Důvodem byla menší velikost zrn a tím lepší ulpívání na rostlinách. V roce 2022 bylo po umělé inokulaci za použití zrn pšenice dosaženo napadení 22 %, u prosa 21 %, nažkami pohanky 21 %. Z pohledu množství substrátu na plochu a rovnoměrnosti aplikace ručním rozhozem nejlépe vyhovoval inokulát na substrátu z prosa v dávce 40 až 50 g/10 m<sup>2</sup>.

Samotné ověřovací pokusy s hodnocením vlivu inokulátu na zvýšení napadení řepky patogenem *Sc. sclerotiorum* probíhaly v letech 2023 až 2025. Ve všech ročnicích bylo na sledovaných lokalitách Opavska a na vybraných odrůdách zaznamenáno zvýšené napadení řepky ve srovnání s neinokulovanou plochou. Dosažené napadení po inokulaci bylo vždy vyšší než 5 %. Byly zaznamenány rozdíly v napadení v rámci ročníku, lokality a odrůdy, ale také umístění pokusů na honu. V roce 2024 u odrůdy Corida, bylo napadení na inokulované a neinokulované variantě vysoké a na stejné úrovni: 53,0 a 54,5 %. Tento výsledek překvapil, protože ve všech sledovaných letech i v roce 2024 nebyly příznivé podmínky pro napadení řepky patogenem *S. sclerotiorum* s ohledem na nízké teploty nebo nízkou relativní vlhkost vzduchu v kvetení řepky (Grafy 2 až 4). Pokus na odrůdě Corida v roce 2024 se nacházel na straně honu, která sousedila s vodním tokem a mokřadem. V roce 2025 bylo v prvním termínu hodnocení S01 5.6.2025 na odrůdě Corida, lokalita Kylešovice směr Raduň provedeno hodnocení napadení listů. V termínu S01 na odrůdě LG Scorpion bylo napadení stonků vysoké, a to v místě nasazení listů a bočních větví, kde došlo k zachycení inokulátu. Rozdíly mezi frekvencí napadení v prvním termínu hodnocení a druhém termínu hodnocení byly minimální. Rozdíl byl však v intenzitě napadení. Výsledky jsou uvedeny v Tabulce 3.

V rámci statistického posouzení byly zaznamenány rozdíly, které byly potvrzeny při hladině průkaznosti 95 nebo 99 %. Pouze v roce 2024, lokalita Komárov, odrůda Corida nebyl potvrzen signifikantní rozdíl. Hodnoty neinokulované kontroly a inokulované varianty v prvním i druhém termínu hodnocení byly na stejné úrovni (Tabulka 3).

Tabulka 1: Přehled lokalit pokusů s umělou inokulací řepky olejky ozimé a sledované roky, Opavsko 2023 až 2025

Rok	Lokalita	Souřadnice GPS	Odrůda
2023	Kylešovice	49.9135856N, 17.9028194E	Corida
2023	Kylešovice	49.9126919N, 17.9042678E	DK Exoter
2024	Komárov	49.9006044N, 17.9721883E	Corida
2024	Komárov	49.9016000N, 17.9705953E	LG Arnold
2025	Kylešovice směr Raduň	49.9076808N, 17.9260492E	Ivanka
2025	Kylešovice směr Opava	49.9134844N, 17.8991842E	LG Scorpion

Tabulka 2: Termíny hodnocení frekvence napadení patogenem *Sc. Sclerotiorum*, Opavsko, 2023-2025

Rok	Lokalita	Termíny hodnocení	
		S01	085
2023	Kylešovice	8.6.2023	4.7.2023
2023	Kylešovice	24.5.2023	23.7.2023
2024	Komárov	11.6.2024	27.6.2024
2024	Komárov	8.6.2024	24.6.2024
2025	Kylešovice směr Raduň	5.6.2025	24.6.2025
2025	Kylešovice směr Opava	16.6.2025	11.7.2025

Tabulka 3: Frekvence napadení řepky olejky patogenem *Sc. Sclerotiorum* (SCLESC), Opavsko 2023 až 2025

Rok	Frekvence napadení stonku řepky (%)					
	Termín hodnocení S01			Termín hodnocení 085		
	Bez inokulace	inokulace	Tukeyho test 95 %*	Bez inokulace	inokulace	Tukeyho test 95 %*
2023	5	18	ANO	29,0	62,0	ANO
	2,8	24,5	ANO	18,5	34,0	ANO
2024	29,0	28,5	NE	53,0	54,5	NE
	0,0	8,5	ANO	1,0	9,0	ANO
2025	0,3	16,1	ANO	5,5	62,5	ANO
	0,3	28,5	ANO	2,3	30,0	ANO

\*signifikantní rozdíl byl potvrzen: ANO, nebyl potvrzen: NE

## Diskuze

Mueller et al. (6) a Clarkson (1) uvádí, že jako substrát se nejčastěji používají zrna prosa, pšenice nebo ječmene. Zrna se před použitím navlhčí destilovanou vodou (poměr 1 : 1,2) a nechají nabobtnat 12–24 hodin. Poté se sterilizují v autoklávu při 121 °C po dobu 20–30 min. Na pracovišti byl ověřován růst patogena na zrnech pšenice, prosa a nažky pohanky. Jako substrát pro růst mycelia se nejlépe osvědčila zrna pšenice a následně prosa a pohanky. Z důvodu rovnoměrnosti aplikace a velikosti vzorku na plochu byla vybrána zrna prosa. Bylo

použito opakované ovlhčení substrátu a sterilizace v horkovzdušné sušárně, kdy došlo k narušení povrchu semen a mycelium patogena mělo vhodnější podmínky pro růst.

Pro růst mycelia na sterilním substrátu uvádí následný postup Huang et al. (4) a Singh et al. (9): Sterilní zrna se naočkují fragmentem aktivního mycelia *S. sclerotiorum* (z agaru PDA). inkubace probíhá při 20–22 °C ve tmě nebo při rozptýleném světle po dobu 7–10 dnů, dokud zrna nejsou prorostlá hustým bílým myceliem. Po 10–14 dnech se na povrchu začínají tvořit černá sklerocia. Uvedený postup přípravy inokula byl v Opavě shodný. K tvorbě sklerocií docházelo již po z dnech inokulace substrátu myceliem patogena. Bylo ověřováno i umístění sklerocií patogena na živný substrát. V důsledku toho se růst mycelia a následná tvorba sklerocií posunuly až o 5 dní na 10 a 15 dní. Ne všechna sklerocia patogena naklíčila, výtěžnost inokulátu potom byla u inokulace sklerocií nižší.

Pro uchovávání inokulátu uvádí Mueller et al. (6) a Wang et al. (12), že lze krátkodobě inokulum uchovávat při 4 °C až 4 týdny v uzavřených sterilních nádobách. Pro dlouhodobé uchovávání se doporučují sušení a skladování sklerocií v papírových sáčcích při pokojové teplotě v suchu. Na pracovišti se osvědčilo načasovat přípravu inokulátu tak, aby po dokončení přípravy následovala bezprostředně aplikace. Pro dlouhodobé uchovávání inokulátu lze však také doporučit usušení inokulátu. V případě inokulátu obsahujícího sklerocia patogenu, byl inokulát po skladování v suchém stavu i po roce skladování životaschopný.

Pro aplikaci inokulátu uvádí Turkington et al. (10) a Clarkson et al. (1): Inokulum se rovnoměrně rozprostře po povrchu půdy nebo se aplikuje přímo k rostlinám (např. 5–10 g inokula/m<sup>2</sup>). Aplikace se provádí krátce před nebo v průběhu kvetení řepky, aby se napodobily přirozené podmínky infekce. Míra přirozené kontaminace petalů se sleduje pomocí petal testu. Množství aplikovaného inokula na pracovišti v Opavě bylo 4 až 5 g /m<sup>2</sup>. Aplikace v pokusech na ověřování vlastností přípravků na ochranu rostlin byla prováděna v průběhu kvetení, v době aplikace fungicidů (BBCH 61-65). Přirozená kontaminace petalů byla rovněž sledována pomocí petal testu. Ve sledovaných letech 2023 až 2025 splňovala kontaminace petalů řepky doporučení pro ošetření 20 % a více (3), ale vlivem nepříznivých podmínek pro infekci řepky sledovaným patogenem (nízká teplota nebo nízká vlhkost) byla přirozená infekce s výjimkou roku 2024 u odrůdy Corida nízká.

### Závěr

Nejlépe se osvědčil inokulát na substrátu z prosa. Dále byla potvrzena silná závislost přirozené infekce řepky původcem bílé hniloby, a to na průběhu počasí, volbě odrůdy a na lokalitě.

Bylo prokázáno, že použití inokulátu patogena *Sc. sclerotiorum* v ověřování biologické účinnosti přípravků na ochranu rostlin proti bílé hnilobě řepky olejky má pozitivní vliv na vypovídací schopnost polních testů s foliární aplikací přípravků v průběhu kvetení.

### Literatura

Clarkson, J. P., Phelps, K., Whipps, J. M., Young, C. S., Smith, J. A., Watling, M., & Parker, S. R. (2003). Validation of a model for *Sclerotinia sclerotiorum* infection in lettuce. *Plant Pathology*, 52(5), 705–716.

Han, V. C., Zhao, H., & Chen, Y. (2024). Optimization of inoculum preparation and field application methods for *Sclerotinia sclerotiorum* in oilseed rape. *Crop Protection*, 184, 106528.

[https://mze.gov.cz/public/app/srs\\_pub/fytoportal/public/#r1p|so|choroby|detail:1d717fd390a3896993e5fa66fb4c4e37](https://mze.gov.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/#r1p|so|choroby|detail:1d717fd390a3896993e5fa66fb4c4e37). 29.10.2025

Huang, Y., Wang, J., & Li, X. (2024). Laboratory and field inoculation techniques for *Sclerotinia sclerotiorum* on oilseed crops. *Plant Disease*, 108(2), 412–420.

- Morrall R.A.A., Thompson J.R. 1991: Petal test manual for sclerotinia in canola. Copyright University of Saskatchewan, 1991. s. 27. <https://seedtesting.com/wp-content/uploads/2019/02/Petal-Test-Manual-for-Sclerotinia-in-Canola.pdf>. 29.10.2025
- Mueller, D. S., Hartman, G. L., & Pedersen, W. L. (1999). Development of *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean as influenced by environment and inoculum density. *Phytopathology*, 89(9), 842–849.
- Plachká E., Kořínek J., Šáfář J., Horáček J. (2025): IOR: Řepka olejka ozimá - choroby. Přednáška Semináře Integrovaná ochrana rostlin. Zemědělský výzkum s.r.o., Troubsko 20.10.2025, Agritec Plant Research s.r.o., Šumperk 21.10.2025.
- Plachká E., Šáfář J., Prokinová E., Odstrčilová L. (2018): Signalizační modely *Leptosphaeria* spp. a *Sclerotinia sclerotiorum*, zhodnocení možností jejich využití. Certifikovaná metodika. 1. vydání, 2018, © OSEVA vývoj a výzkum s.r.o., s. 60
- Singh, R., Sharma, P., & Meena, P. D. (2020). Standardization of artificial inoculation techniques for screening of oilseed brassicas against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Mycology and Plant Pathology*, 50(3), 257–263.
- Turkington, T. K., Morrall, R. A. A., & Gugel, R. K. (1993). Use of petal infestation to forecast *Sclerotinia stem rot* of canola: The Sclerotinia Petal Test. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 15(2), 52–59.
- Tvarůžek L., Matušinský P., Vyšehlidová M. (2012): Metodika pro zakládání a hodnocení pokusů s umělou inokulací obilnin fuzariózami klasů. Agrotest fyto, s.r.o. Kroměříž 2012. s. 16. [https://agronavigator.cz/sites/default/files/2025-04/2012\\_Metodika\\_pro\\_zakladani\\_a\\_hodnoceni\\_pokusu\\_s\\_umelou\\_inokulaci\\_obilnin\\_fuzariozami\\_klasu.pdf](https://agronavigator.cz/sites/default/files/2025-04/2012_Metodika_pro_zakladani_a_hodnoceni_pokusu_s_umelou_inokulaci_obilnin_fuzariozami_klasu.pdf). 29.10.2025
- Wang, X., Li, J., & Zhou, Y. (2019). Survival and viability of *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia under various storage conditions. *Mycopathologia*, 184(4), 515–524.

### **Dedikace**

Výsledky byly získány za finanční podpory MZE-RO1823 a Národního programu konzervace MZE-62216/2022-13113/6.2.7

### **Kontakt**

Eva Plachká, Ing., Ph.D., OSEVA vývoj a výzkum s.r.o., Purkyňova 1653/10, 746 01 Opava, 553 62 41 60, [plachka@oseva.cz](mailto:plachka@oseva.cz)

## Zajímavé výsledky diagnostiky patogenů a prospěšných mikroorganismů: když laboratorní testy odhalí víc, než čekáte

Interesting results in pathogen a beneficial microorganism diagnostics: when  
laboratory tests reveal more than you expect

*Psota<sup>1</sup> V., Špetík<sup>2</sup> M., Frejlichová<sup>2</sup> L., Čechová<sup>2</sup> J., Chybiorzová<sup>1</sup> T., Eichmeier<sup>2</sup> A.*

<sup>1</sup>Farma Bezdínek s.r.o., <sup>2</sup>Mendeleum – ústav genetiky,  
Zahradnická fakulta, Mendelova univerzita v Brně

### Abstrakt

Pěstování plodové zeleniny ve skleníku ovlivňuje jak negativně, tak pozitivně soubor mikroorganismů. Mezi ty negativní patří původci chorob – patogeny. V rámci ochrany rostlin se naopak používají některé prospěšné mikroorganismy. Diagnostika mikroorganismů pouze na základě vizuálních symptomů je komplikovaná a často nemožná, protože může být jejich výskyt i bez vizuálních příznaků. Hydroponický pěstitel rajčat a v malé míře okurek Farma Bezdínek (14 ha) proto odesílá vzorky k přesné diagnostice pomocí pokročilých laboratorních metod na pracoviště Mendeleum - ústav genetiky na ZF MENDELU. V letech 2023 a 2025 vedla tato spolupráce k neočekávaným nálezům. Konkrétně byly detekovány tyto druhy: potenciálně patogenní bakterie *Enterobacter cloacae*, prospěšná bakterie *Pseudomonas veronii* a v pěstebních substrátu byly identifikovány přirozeně se vyskytující houby druhů *Trichoderma crassum* a *T. breve*.

**Klíčová slova:** skleník, mikroorganismy, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas veronii*, *Trichoderma crassum*

### Abstract

Vegetable growing in greenhouses influences the microorganisms community both negatively and positively. Among the negative ones are disease-causing agents – pathogens. On the other hand, some beneficial microorganisms are used as part of plant protection. Diagnosing microorganisms solely based on visual symptoms is complicated as they may occur even without visible signs. The hydroponic grower of tomatoes and cucumbers — Farma Bezdínek — therefore sends samples for precise diagnostics using advanced methods to Mendeleum - Institute of Genetics at Mendel University. In 2023 and 2025, this collaboration led to unexpected findings. Specifically, the following species were detected: the potentially pathogenic bacterium *Enterobacter cloacae*, the beneficial bacterium *Pseudomonas veronii*, and naturally occurring fungi in the growing substrate — *Trichoderma crassum* and *T. breve*.

**Keywords:** greenhouse, vegetable, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas veronii*, *Trichoderma crassum*

### Úvod

Mikroorganismy patří mezi běžnou součást agroekosystémů. Ve smyslu moderních hydroponických skleníků je definován částečnou uzavřeností vůči vnějšímu prostředí s tím, že je možné udržet v pěstebním prostředí ideální klima pro cílovou plodinu (Bakker a Bontsema, 1995). Avšak toto relativně stabilní prostředí je vhodné také pro rozvoj mnoha druhů mikroorganismů. Z hlediska významu pro pěstovanou plodinu bychom je mohli rozdělit do tří skupin. Do první řadíme patogeny, mezi které patří zejména viry, bakterie a houby (Blancard a kol., 2012). Z jejich řad pochází původci významných chorob, které mohou způsobit významné ztráty, v některých případech může dojít i ke kompletní destrukci porostu (Ally et al., 2023). Do druhé skupiny patří mikroorganismy, které mají naopak pozitivní vliv. Může jít o podporu zdravotního stavu rostlin, zlepšení příjmu živin, podporu růstu kořenového systému a další (Gonzalez a kol., 2016). Prospěšné mikroorganismy se v prostředí mohou vyskytovat spontánně nebo jsou součástí celé řady komerčních přípravků, které je možné aplikovat. Poslední skupinou jsou mikroorganismy, které jsou pro pěstovanou plodinu indiferentní.

Přesná detekce výskytu prvních dvou skupin mikroorganismů je zásadní. Jedná-li se o původce chorob vede správná a včasná determinace ke vhodnému nastavení řešení v rámci integrované ochrany rostlin. Naopak pozdní nebo chybná detekce může vést k prohlubování ekonomických ztrát. V případě prospěšných mikroorganismů jde především o to, ověřit, zda byla v případě komerčního přípravku jejich aplikaci úspěšná.

Identifikaci patogenních mikroorganismů je možné provést na základě typických symptomů, které se demonstrují na rostlině. Tato diagnostika je v některých případech obtížná, protože některé příznaky mohou být společné pro více možných patogenů. Vizualní diagnostika často nevede k přesnému výsledku determinace (Khakimov a kol., 2022). Výskyt pozitivních mikroorganismů lze pouze usuzovat na základě jejich očekávaného vlivu. Tedy například vyšší odolnosti rostlin, dobré kondice kořenového systému, vyššího výnosu, atd. Stejně tak platí, že mikroorganismy mohou setrvávat v latentní podobě, nemají-li vhodné podmínky. V takovém případě je na základě vizuálních symptomů nelze určit vůbec.

Spolehlivým způsobem, jak určit příslušný mikroorganismus je využití pokročilých laboratorních metod. Tyto zahrnují jak metody kultivační, tak také postupy využívající přístrojovou techniku pro molekulárně genetické metody (Khakimov a kol., 2022).

Firma Farma Bezdínek s.r.o. provozuje v Dolní Lutyni moderní hydroponický skleník, kde pěstuje rajčata a na malé ploše také okurky zejména pro tuzemský trh. Při pěstování uplatňuje režim certifikované bezreziduální produkce (Chikte a kol., 2024). Tedy veškerá produkce je bez obsahu zbytků pesticidů, přesněji v souladu s legislativou do limitu 0,01 mg/kg (nařízení ES. č. 396/2005). Z tohoto důvodu je zde potřeba zvládnout jak škůdce tak patogeny pomocí biologické ochrany a nebo přípravků, které rezidua nezanechávají. Jak bylo výše popsáno včasná identifikace patogenu je základem pro účinné řešení v rámci integrované ochrany rostlin. Pro přesnou determinaci jsou odesílány vzorky na pracoviště Mendeleum – ústav genetiky, který patří pod Zahradnickou fakultu Mendelovy univerzity v Brně. Kromě očekávaných detekcí patogenů, případně prospěšných mikroorganismů bylo v rámci této spolupráce detekováno z ekosystému skleníku také několik zajímavých potenciálně významných mikroorganismů.

## **Materiál a metody**

V provozu skleníku Farma Bezdínek je prováděn pravidelný monitoring výskytu škůdců a patogenů v souladu se zásadami integrované ochrany rostlin. Když dojde ke zjištění symptomu, který by mohl indikovat výskyt závažné choroby je z rostlinného materiálu odebrán vzorek. Zároveň se pro podporu kondice kořenového systému používají přípravky na bázi hub z rodu *Trichoderma*. V tomto případě se odebírají vzorky s cílem ověřit, zda se příslušný druh v substrátu zachytil a kolonizoval ho.

Vzorky jsou před odesláním uloženy do uzavíratelných LDPE sáčcích, označeny a krátkodobě uchovávány v ledničce. Odeslání probíhá pomocí expresní služby do 24 hodin, přičemž během přepravy jsou vzorky uchovány v chlazených termoboxech.

### Definice a metodické zpracování vzorků:

1: Dne 9. 6. 2023 byly identifikovány rostliny rajčete odrůdy Ronvine vykazující neurčité chorobné symptomy (obr. 1). Z rostlin bylo odebráno 5 vzorků a odesláno na pracoviště Mendeleum. Ze vzorků listů rajčat byla vyextrahována kompletní RNA (Spectrum™ Plant Total RNA kit). Následně byly vzorky změřeny fluorimetricky (Quant-iT™ RNA Assay kit) a smíchány na 2nM koncentraci. Small RNA byla připravena k masivně paralelní sekvenaci kitem NEBNext® Small RNA Library Prep Set for Illumina®. Vzorky byly separovány na PAGE gelu a purifikovány kitem TailorCut Gel Extraction Tool Set (SeqMatic). Kvalita a množství knihovny byly určeny pomocí sady Agilent High Sensitivity DNA Kit (Agilent), Moduluss™ Single Tube Multimode Reader (Turner Biosystems) s použitím sady Quant-iT™ dsDNA Assay

Kit (Thermo Fisher Scientific) a MCNext™ SYBR® Fast qPCR Library Quantification Kit (MCLAB) na Rotor-Gene 3000 (Corbett Research). Genomová knihovna byla sekvenována na MiniSeq (Illumina, Inc.) kitem MiniSeq High Output Reagent Kit, 75 cyklů (Illumina, Inc.), o délce čtení 36 nukleotidů. Sekvence poskytla 39,829,845 nukleotidů. Následně vytvořené kontigové sekvence byly porovnány se známými sekvencemi virů vůči databázi NCBI s prahovou hodnotou e-value  $10^{-6}$ . BlastN identifikoval 896 kontigů Pepino mosaic virus, a 2683 kontigů fagů enterobakterií. Pro potvrzení výskytu enterobakterií byla z rostlinného materiálu extrahována DNA (Macherey-Nagel; Duren DNA extraction kit), která byla amplifikována primery Hsp60-F a Hsp60-R (Hoffmann and Roggenkamp, 2003) specifickými pro rod *Enterobacter*. Výsledný amplikon o délce 341 bp byl osekvenován (Eurofins Genomic).



Obrázek 1. Zjištěné chorobné symptomy na rostlině, ze které byly odebrány vzorky 9.6.2023

2: Za účelem posouzení, zda je aplikace přípravků na bázi druhů hub rodu *Trichoderma* do pěstebního substrátu efektivní bylo provedeno v sezóně 2025 sledování. Komerční přípravky obsahující deklarované druhy houby *Trichoderma* byly aplikovány v souladu s doporučeným postupem a etiketou od výrobce do porostů rajčat odrůd Sweetelle, Ronvine a Briosio. Odrůdy Sweetelle a Ronvine jsou pěstovány v substrátu z kokosových vláken. Odrůda Ronvine byla pěstována v substrátu z čedičové vaty. Na malé ploše jsou pěstovány také okurky odrůdy Mewa a Qwerty v kokosovém substrátu. I tato varianta byla do sledování zahrnuta. Sledování bylo doplněno o dvě kontrolní varianty, kde nebyl pěstební substrát komerčním přípravkem obohacen (tab. 1). Vzorky byly odebrány 16. a 17. 3. 2025 (obr. 2). Inokulovaný substrát byl využit k izolaci hub na Petriho misky s PDA médiem. Po získání čistých kultur byla

extrahována DNA z mycelia. Pro identifikaci byly aplikovány sekvence genů *rpb2* a *tef*, získané amplikony byly sekvenovány (Eurofins Genomic).



Obrázek 2. Vzorky substrátů po příjmu do laboratoře pro detekci hub rodu *Trichoderma*

Tabulka 1: Přehled vzorků dedikovaných pro přesné určení hub rodu *Trichoderma* z pěstebního substrátu

Vzorek	Popis	Aplikace a přípravku	název Deklarovaný druh
1	rajčata Ronvine	16.1. a 10.3. Kestom	<i>T. atroviride</i>
2	rajčata Sweetelle	16.1. Kestom	<i>T. atroviride</i>
3	rajčata Ronvine	13.2. a 10.3. BSKA 3	<i>T. viride</i>
4	rajčata Sweetelle	12.2. a 11.3. Trianum-P	<i>T. harzianum</i>
5	Okurky Mewa	5.3. Trianum-P	<i>T. harzianum</i>
6	Rajčata Briosio	5.3. Trianum-P	<i>T. harzianum</i>
7	Okurky kontrola Mewa		
8	Okurky kontrola Qwerty		
9	Rajčata kontrola		

3: Dne 14. 5. 2025 byla v porostu rajčat odrůdy Ronvine identifikována rostlina s podezřením na napadení bakterií rodu *Pseudomonas* (obr. 3). Z této konkrétní rostliny byl odebrán vzorek a odeslán k následné laboratorní detekci. Zasláná rostlinná pletiva byla využita k izolaci hub na Petriho misky s LB médiem. Po získání čistých kultur byla extrahována DNA z kolonie bakterií na Petriho misce. Pro identifikaci byla aplikována sekvence 16S, získané amplikony byly sekvenovány (Eurofins Genomic).



Obrázek 3. Jeden ze symptomů na postižené rostlině vedoucí k podezření na výskyt patogenní bakterie rodu *Pseudomonas*

### Výsledky

1: Získaná sekvence byla porovnána se známými sekvencemi v databázi NCBI nástrojem Blast, který potvrdil shodu sekvence se sekvencí druhu *Enterobacter cloacae*.

2: V rámci sledování s cílem ověřit schopnost komerčně zakoupených přípravků obsahující houby rodu *Trichoderma* bylo na základě izolace, následné PCR a sekvenace detekováno celkem 6 různých druhů. Pouze v jednom případě detekovaný druh souhlasil s druhem, který byl deklarován v komerčním přípravku (tab. 2.).

Tabulka 2: Přehled identifikovaných druhů houby rodu *Trichoderma*

Vzorek	Popis	Deklarovaný druh	Detekovaný druh
1	rajčata Ronvine	<i>T. atroviride</i>	<i>T. breve</i>
2	rajčata Sweetelle	<i>T. atroviride</i>	<i>T. atroviride</i>
3	rajčata Ronvine	<i>T. viride</i>	<i>T. hirsutum</i>
4	rajčata Sweetelle	<i>T. harzianum</i>	<i>T. atroviride</i>
5	Okurky Mewa	<i>T. harzianum</i>	<i>T. hamatum</i>
6	Rajčata Briosio	<i>T. harzianum</i>	<i>T. longibrachiatum</i>
7	Okurky kontrola Mewa		<i>T. breve</i>
8	Okurky kontrola Qwerty		<i>T. crassum</i>
8	Rajčata kontrola		<i>T. breve</i>

3: Detekce zaměřená na bakterie rodu *Pseudomonas* mimo očekávání neodhalila patogenní, ale pouze prospěšný druh *Pseudomonas veronii*.

### Diskuse a závěr

Získané výsledky odhalily druhy mikroorganismů, které byly poměrně překvapivé. V prvním případě jde o na rajčatech potenciálně patogenní bakterii. V roce 2022 byl tento druh v Číně popsán jako původce hnilob stonků, listů a plodů (Jin a kol., 2023). Toto pozorování se ve sledovaných porostech rajčat nepotvrdilo.

V případě sledování druhového zastoupení hub rodu *Trichoderma* po komerční aplikaci přípravků s jejím obsahem bylo učiněno překvapivé zjištění. Pouze v jednom ze dvou případů aplikace českého přípravku Kestom (firma Monas) byl druh zjištěný v substrátu shodný s druhem deklarovaný výrobcem, a to *T. viride*. Ve všech ostatních případech byly zjištěny jiné druhy než ty, které výrobci deklarují. Zde je potřeba pracovat s faktem, že v rámci izolace hub byly z jednotlivých vzorků izolovány druhy rodu *Trichoderma*, které v daném vzorku dominovaly. Tedy mohly substrát z daných vzorků úspěšně kolonizovat ještě před aplikací samotného komerčního přípravku. To nakonec potvrzuje fakt, že houby rodu *Trichoderma* jsou zastoupeny celosvětově napříč různými zejména půdními ekosystémy a jsou schopny vytlačovat ostatní kompetiční organizmy z kolonizovaného prostředí (Schuster and Schmol, 2010). V souladu s tím je i zjištění dvou různých druhů v neošetřovaných kontrolních vzorcích. Zjištěný druh na kontrolním vzorku substrátu, kde byly pěstovány okurky odrůdy Qwerty byl *Trichoderma crassum*. Ten byl v USA potvrzen jako původce listové skvrnitosti ve skleníku (Zhao a kol., 2023). V kontrolních vzorcích ze substrátů, kde byla pěstovaná okurka odrůdy Mewa a rajče odrůdy Briosio byl zjištěný druh *T. breve*. U tohoto druhu byla potvrzena v případě kmene T069 silná hyperparazitace vůči patogenní houbě *Botrytis cinerea* (Liu a kol., 2023). Tato zjištění jen potvrdila, že rod *Trichoderma* je druhově rozmanitý a v prostředí bohatě zastoupený. Z hlediska praxe vyvstala otázka, kdy je správný čas na aplikaci komerčního přípravku? Ideálně by to mělo být tak, aby komerčně aplikovaný druh *Trichoderma* stihl obsadit substrát před tím, než dojde k jeho kolonizaci jiným přirozeně se vyskytující druh. Z tohoto pohledu by se dalo usuzovat, že největší šanci bude mít co nejdříve aplikace po výsadbě sazenic.

V posledním případě byl ve vzorku očekáván spíše patogenní druh rodu *Pseudomonas*. Naopak oproti tomuto předpokladu byl zjištěn prospěšný druh *Pseudomonas veronii*. U kmene MR-15 tohoto druhu se předpokládá, že by mohlo mít schopnost podpořit růstu a výnosu v době výskytu stresu vyvolaném suchem (Rehman a kol., 2023).

Získané výsledky potvrzují, že mikrobiální prostředí moderních skleníků je komplexní a dynamické. Přítomnost jak patogenních, tak prospěšných mikroorganismů zdůrazňuje potřebu

precizního monitoringu za použití pokročilých laboratorních metod. Zjištění zároveň ukazují, že úspěšná aplikací přípravků s obsahem hub rodu *Trichoderma*, je ovlivněn načasováním a konkurenčními vztahy v substrátu.

### Poděkování

Tato práce byla podpořena záměrem společnosti Farma Bezdínek s.r.o. směřujícímu k zavedení precizního monitoringu patogenů ve skleníkových porostech zeleniny.

### Literatura

- ALLY, N.M., H. NEETOO, V.M. RANGHOO-SANMUKHIYA a T.A. COUTINHO. Greenhouse-Grown Tomatoes: Microbial Diseases and their Control Methods: A Review. *International Journal of Phytopathology*. 2023, 12, s. 99–127. Dostupné z: <https://doi.org/10.33687/phytopath.012.01.4273>
- BAKKER, J.C. a J. BONTSEMA (eds.). *Greenhouse climate control: an integrated approach; crop growth, control principles, construction, equipment, physics, developments*. Wageningen: Wageningen Pers, 1995.
- BLANCARD, D., H. LATERROT a D. BLANCARD. *Tomato diseases: a colour handbook; identification, biology and control*. 2. vyd. London: Manson, 2012. (Plant protection handbooks series).
- CHIKTE, T., T. KOPTA, V. PSOTA, J. ARIZMENDI a M. CHWIL. A Comprehensive Review of Low- and Zero-Residue Pesticide Methods in Vegetable Production. *Agronomy*. 2024, 14, 2745. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/agronomy14112745>
- GONZALEZ, F., C. TKACZUK, M.M. DINU, Ž. FIEDLER, S. VIDAL, E. ZCHORI-FEIN a G.J. MESSELINK. New opportunities for the integration of microorganisms into biological pest control systems in greenhouse crops. *Journal of Pest Science*. 2016, 89, s. 295–311. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10340-016-0751-x>
- JIN, Y., X. WU, R. SA, H. DONG, Y. XIONG, S. HE, C. LI a X. GENG. First Report of *Enterobacter cloacae* Causing Stem, Leaf, and Fruit Rot on Tomato in China. *Plant Disease*. 2023, 107, 1936. Dostupné z: <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-22-1749-PDN>
- KHAKIMOV, A., I. SALAKHUTDINOV, A. OMOLIKOV a S. UTAGANOV. Traditional and current-prospective methods of agricultural plant diseases detection: A review. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2022, 951, 012002. Dostupné z: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/951/1/012002>
- LIU, Z., Y. LI, J. HOU a T. LIU. Transboundary miRNAs: Indispensable molecules in the process of *Trichoderma breve* T069 mycoparasitism of *Botrytis cinerea*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2023, 196, 105599. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2023.105599>
- NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 396/2005 ze dne 23. února 2005 o maximálních limitech reziduí pesticidů v potravinách a krmivech rostlinného a živočišného původu a na jejich povrchu a o změně směrnice Rady 91/414/EHS. Úřední věstník Evropské unie. L 70, 16. 3. 2005, s. 1–16.
- REHMAN, M., M. SHAHID, S. MAHMOOD, Q. ALI a M. AZEEM. Modulation of Growth and Antioxidative Defense Mechanism in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Mediated by Plant-Beneficial Strain *Pseudomonas veronii* MR-15 under Drought Conditions. *Applied Sciences*. 2023, 14, 128. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/app14010128>
- SCHUSTER, A. a M. SCHMOLL. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2010, 87, s. 787–799. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2632-1>

ZHAO, L., P. YANG, W. LI, Z. ZHAO a Y. XIA. First Report of *Trichoderma crassum* Causing Leaf Spot on Tomato (*Solanum lycopersicum*) in Ohio. *Plant Disease*. 2023, 107, 582.  
Dostupné z: <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-22-1093-PDN>

**Kontaktní adresa**

Ing. Václav Psota, Ph.D.

Farma Bezdínek s.r.o.

K Bezdínku 1515

735 53 Dolní Lutyně

725 761 112, [vaclav.psota@farmabezdinek.cz](mailto:vaclav.psota@farmabezdinek.cz)

## Vývoj druhově specifické PCR pro detekci *Stemphylium vesicarium* s využitím genomových dat

Development of a species-specific PCR assay for *Stemphylium vesicarium* using whole genome data

Stehlíková D.<sup>1</sup>, Misginna S.<sup>1</sup>, Kamulegeya P.<sup>1</sup>, Beran P.<sup>1</sup>, Čurn V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra genetiky a biotechnologií, Fakulta zemědělská a technologická JU, Na Sádkách 1780, 37005, České Budějovice

### Abstrakt

*Stemphylium vesicarium*, je obtížně identifikovatelný kvůli morfologické podobnosti s příbuznými houbami. Za účelem zvýšení přesnosti detekce byly pomocí genomově řízeného přístupu navrženy druhově specifické PCR primery. Bylo analyzováno osm kandidátních oblastí z genomových sekvencí a na jejich základě byly pomocí programu PrimerExplorer V5 navrženy sady primerů, které byly následně ověřeny in silico pomocí BLASTn. Šest sad primerů bylo vyloučeno kvůli křížové reaktivitě nebo nevhodným amplifikačním vlastnostem. Ze zbývajících sad amplifikovala sada SV\_2a DNA *S. vesicarium*, ale vykazovala nespecifické fragmenty. Naproti tomu sada SV\_3a konzistentně amplifikovala pouze *S. vesicarium*. Dříve publikované primery KES1999/KES2000 postrádaly specifitu za testovaných podmínek. Tyto výsledky potvrzují účinnost genomově řízeného vývoje primerů pro přesnou detekci patogenu. Sada SV\_3a představuje spolehlivý marker pro budoucí terénní diagnostické testy (LAMP aj.)

**Klíčová slova:** molekulární diagnostika, detekce patogenu, genom, návrh primerů

### Abstract

*Stemphylium vesicarium*, the causal agent of leaf blight in celery, is difficult to identify due to morphological similarity with related fungi. To improve detection accuracy, species-specific PCR primers were designed using a genome-guided approach. Eight candidate regions from whole genome shotgun sequences were analyzed, and primer sets were designed with PrimerExplorer V5 and screened in silico using BLASTn. Six primer sets were excluded due to predicted cross-reactivity or unsuitable amplification properties. Of the remaining sets, SV\_2a amplified *S. vesicarium* but showed non-specific fragments. In contrast, SV\_3a consistently amplified only *S. vesicarium*. For comparison, previously published primers KES1999/KES2000 lacked specificity under the conditions tested. These results confirm the effectiveness of genome-guided primer development for accurate pathogen detection. SV\_3a represents a reliable marker for future field-deployable assays such as LAMP for early disease monitoring.

**Keywords:** molecular diagnostics, pathogen detection, genome, primer design

### Úvod

*Stemphylium vesicarium* je významný vláknitý houbový patogen (teleomorfa *Pleospora allii*), který způsobuje ničivé listové choroby u mnoha plodin (Belisario et al., 2008). V Evropě způsobuje hnědou skvrnitost hrušní, jež vede k vážným ztrátám úrody před i po sklizni v hlavních oblastech pěstování. Dále způsobuje fialové skvrny na chřestu a listovou spálu u cibule a česneku (Graf et al., 2016). Nedávno byla *S. vesicarium* identifikována jako původce listové skvrnitosti celeru (*Apium graveolens*) (Abdelrhim et al., 2024). U celeru se infekce nejprve projevuje jako hnědé nekrotické léze na spodních listech. Tyto léze se postupně zvětšují a zasahují také řapíky, což snižuje tržní kvalitu i výnos. Podobné infekce se vyskytují i u příbuzných plodin z čeledi miříkovitých (Apiaceae), například u petržele (Koike et al., 2013). Izoláty *S. vesicarium* z planě rostoucí cibule mohou infikovat celer, což ukazuje na riziko přenosu mezi hostitelskými druhy. To zdůrazňuje potřebu pečlivého monitoringu v rámci střídání plodin (Abdelrhim et al., 2024).

Přesná identifikace *S. vesicarium* umožňuje včasné řízení ochrany proti chorobám. Tradiční diagnostické metody se opírají o morfologické znaky a sekvenování genových oblastí, jako jsou ITS nebo *gpd* geny, což je časově náročné, pracné a vyžaduje specializovanou odbornost. PCR testy představují rychlejší alternativu a jsou široce používány v diagnostice rostlinných patogenů. Graf et al. (2016) vyvinuli PCR test založený na genu *cytb* s použitím primerů KES1999/KES2000 k odlišení *S. vesicarium* od *S. botryosum* na základě velikosti amplifikovaného fragmentu. Tento přístup však zůstává omezený možností křížové reaktivity s jinými houbami, protože primery zaměřené na konzervované geny mohou amplifikovat i necílovou DNA. Pro překonání tohoto omezení byla v této studii použita strategie založená na genomových datech k vývoji druhově specifického PCR testu pro *S. vesicarium*. Na základě publikované sekvence celého genomu byly identifikovány unikátní oblasti, z nichž byly navrženy nové primery. Cílem bylo vyvinout specifický a spolehlivý PCR test, který dokáže odlišit *S. vesicarium* od jiných hub spojených s celerem a příbuznými hostiteli a umožní rychlou a přesnou detekci při diagnostice rostlinných chorob.

## **Materiál a metody**

### **Izoláty hub a podmínky kultivace**

K ověření specifity sad primerů byly použity izoláty houby *S. vesicarium* (cílový patogen) a několik necílových druhů hub. Cílové kmeny *S. vesicarium* (DSMZ 63046 a polní izoláty z celeru) a ostatní druhy byly získány ze sbírek DSMZ (Německá sbírka mikroorganismů a buněčných kultur) a CCF (Sbírka kultur hub) (Tabulka 1) a také z infikovaného celeru z pole. Mnohé z těchto hub způsobují skvrnitosti nebo spály listů zelenin, což je činí vhodnými pro testování možné křížové reaktivity.

Druhy hub byly identifikovány v naší laboratoři pomocí primerů ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') a ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGCTTAA-3') (Schoch et al., 2012; White et al., 1990). Všechny druhy hub byly kultivovány na PDA při 25 °C po dobu 5–7 dnů, aby bylo získáno aktivně rostoucí mycelium (Tangthirasunun & Poeaim, 2022; Umesha et al., 2016). Přibližně 100 mg mycelia z každé kultury bylo použito pro izolaci genomové DNA pomocí modifikovaného CTAB protokolu (Doyle & Doyle, 1987; Schenk et al., 2023). Koncentrace a kvalita DNA byly ověřeny spektrofotometricky (BioSpec-nano, Shimadzu, Japonsko) a elektroforézou v agarózovém gelu. Vysoce kvalitní genomová DNA z každého izolátu byla následně použita pro PCR testy.

Tabulka 1 Cílové a necílové houbové izoláty použité pro testování specifické PCR primerů

ID. No	Druhy hub	Sbírka	Izolát
1	<i>Alternaria brassicicola</i>	CCF	2558
2	<i>Alternaria brassicicola</i>	CCF	2749
3	<i>Alternaria arborescens</i>	CCF	3421
4	<i>Alternaria arborescens</i>	CCF	6321
5	<i>Botrytis cinerea</i>	CCF	2361
6	<i>Botrytis cinerea</i>	CCF	3371
7	<i>Colletotrichum gleosporioides</i>	CCF	348
8	<i>Fusarium incarnatum</i>	CCF	1744
9	<i>Fusarium solani</i>	CCF	2967
10	<i>Fusarium avenaceum</i>	CCF	3306
11	<i>Fusarium avenaceum</i>	CCF	3466
12	<i>Gliomastix cerealis</i>	CCF	1655
13	<i>Striatibotrys rhabdospora</i>	CCF	3536
14	<i>Thielaviopsis thielavioides</i>	CCF	3486
15	<i>Verticillium</i> sp.	CCF	1896
16	<i>Stemphylium vesicarium</i>	DSMZ	63046
17	<i>Mycocentrospora acerina</i>	DSMZ	1202
18	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	DSMZ	1946
19	<i>Cercospora beticola</i>	DSMZ	62107
20	<i>Stemphylium vesicarium</i>	Z pole	Celer-F1
21	<i>Stemphylium vesicarium</i>	Z pole	Celer-F2
22	<i>Stemphylium vesicarium</i>	Z pole	Celer-F3
23	<i>Stemphylium vesicarium</i>	Z pole	Celer-F4

F1-F4 = polní izolát získaný z infikovaných rostlin celeru.

### Návrh primerů a výběr genomových úseků

Sekvence typu *whole genome shotgun* (WGS) houby *S. vesicarium*, kmen 173-1a-13FI1M3 (GenBank identifikátory: QXCR01000335.1, QXCR01000084.1, QXCR01000404.1, QXCR01000272.1, QXCR01000084.1, QXCR01000180.1, QXCR01000347.1 a QXCR01000278.1), byly analyzovány za účelem identifikace kandidátních oblastí vhodných pro návrh primerů. Unikátní oblasti genomu byly určeny pomocí softwaru KEC (Beran et al., 2021), který vyhledává unikátní nukleotidové sekvence vhodné pro návrh druhově specifických oligonukleotidů.

Na základě této analýzy bylo vybráno osm genomových oblastí jako potenciální cíle pro návrh primerů. Primery byly navrženy pomocí programu PrimerExplorer V5 (Eiken Chemical Co.) s výchozím nastavením optimalizovaným pro druhově specifickou detekci. Pro ověření specifické byly kandidátní páry primerů testovány *in silico* pomocí nástroje BLASTn vůči databázi NCBI (sekvence typu WGS), aby byly vyloučeny páry s možnou křížovou reaktivitou s jinými houbami.

Vybrané primery (SV\_2a a SV\_3a) byly poté ověřeny v PCR reakcích s DNA *S. vesicarium* a necílových hub (Tabulka 1). Pro srovnání byla použita dříve publikovaná sada primerů KES 1999/2000 (Graf et al., 2016), zaměřená na gen *cytochrome b* (očekávaná velikost ampliconu 420 bp). Všechny primery byly syntetizovány firmou Integrated DNA Technologies (Coralville, USA). Sady SV\_2a a SV\_3a byly navrženy tak, aby amplifikovaly krátké (150–200 bp) fragmenty specifické pro *S. vesicarium*, a byly experimentálně ověřeny z hlediska specifity vůči všem testovaným druhům hub.

Tabulka 2 PCR Primery

Název primeru	Sekvence (5'-3')	Zdroj
SV_2a_F3	AGGGACCGCACGAGAT	Tato studie
SV_2a_B3	GTCTAAAAAGGTCTATAAGTCTTC	
SV_3a_F3	CTCCTCTAGTTAATTAGAGGTA	
SV_3a_B3	GGAGTAGAGAATAAGCGC	
KES 1999	GACCGTTCGGCCATATAAAGGGTCT	(Graf et al., 2016)
KES 2000	AACCGTCTCCGTCTATCAATCCTGCT	

### PCR reakční podmínky a elektroforéza v agarózovém gelu

PCR byla provedena v 25 µL reakční směsi obsahující 12,5 µL 2× Green PCR Master Mix (New England Biolabs), 0,4 µM každého primeru (F3 a B3) a 2 µL templátové DNA. PCR-grade H<sub>2</sub>O (Top-Bio) byla doplněna do konečného objemu 25 µL. Reakce obsahovala vnější primery F3 a B3 s následujícím cyklem: počáteční denaturace 94 °C po 5 minut, 35 cyklů denaturace (94 °C, 60 s), annealing (57 °C, 60 s) a elongace (68 °C, 30 s), následovaná závěrečnou elongací (68 °C, 5 min). PCR produkty byly vizualizovány na 2 % agarózovém gelu obarveném ethidiumbromidem (Sigma-Aldrich) a pozorovány pod UV osvětlením pomocí systému InGenius3 (Syngene) a příslušného softwaru GeneSys (Syngene)

### Výsledky

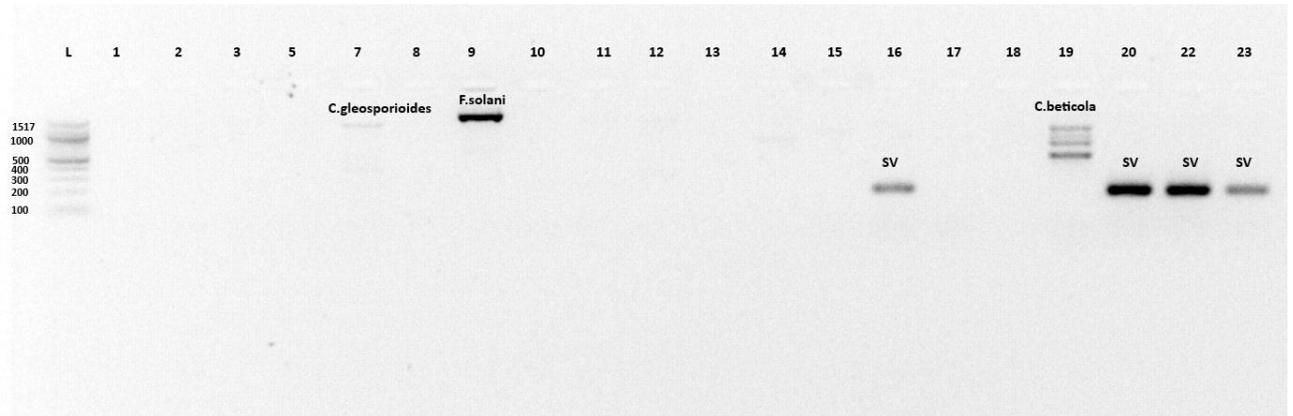
#### Návrh primerů a in silico validace

Z osmi kandidátních oblastí sekvencí celého genomu *S. vesicarium* získané metodou „whole genome shotgun“ (WGS) bylo vybráno několik potenciálních cílů pro návrh primerů. K jejich návrhu byl použit software PrimerExplorer V5, který vygeneroval více sad primerů. Pro všechny cílové oblasti však nebylo možné navrhnout primery v rámci doporučených parametrů. Z tohoto důvodu byly pro návrh vybrány dva nejvhodnější úseky (Tabulka 3). Každá sada primerů byla následně testována na specifitu pomocí analýzy BLASTn. Na základě těchto výsledků bylo šest sad vyřazeno kvůli zkřížené reaktivitě s blízkými příbuznými druhy hub. Pouze dvě sady, SV\_2a a SV\_3a, byly vyhodnoceny jako specifické pro *S. vesicarium*. Z nich sada SV\_3a vykazovala jednoznačnou druhovou specifitu, zatímco sada SV\_2a způsobovala částečnou nespecifickou amplifikaci (Obrázek 1)

#### PCR a testování specifity

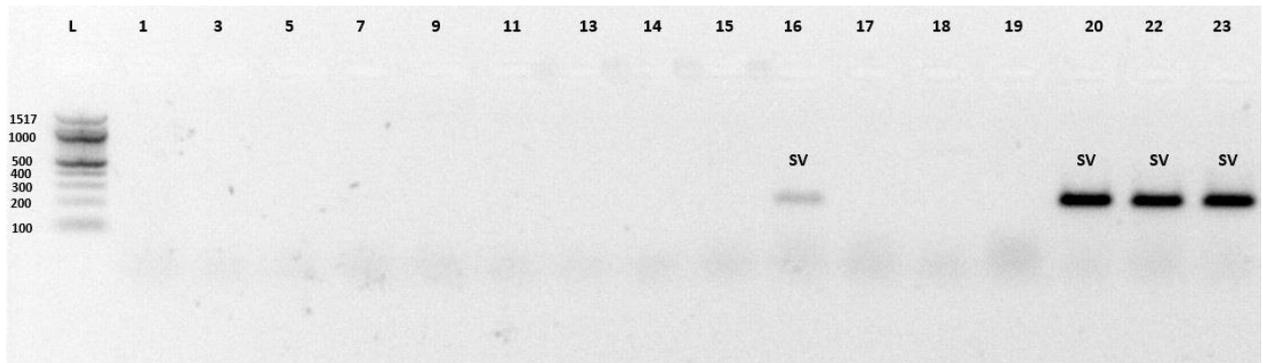
PCR amplifikace s využitím sad primerů SV\_2a a SV\_3a úspěšně amplifikovala fragmenty DNA očekávané velikosti z izolátů *S. vesicarium* (DSMZ 63046 a polní izoláty z celeru). U sady SV\_2a však byla u některých druhů hub pozorována slabá nespecifická amplifikace (Obrázek 1). Naproti tomu sada primerů SV\_3a generovala jediný, jasně patrný amplicon výhradně z *S. vesicarium*, přičemž u žádného jiného druhu nebyla detekována amplifikace (Obrázek 2), což potvrzuje její vysokou specifitu.

Obrázek 1. PCR amplifikace sady primerů SV\_2a



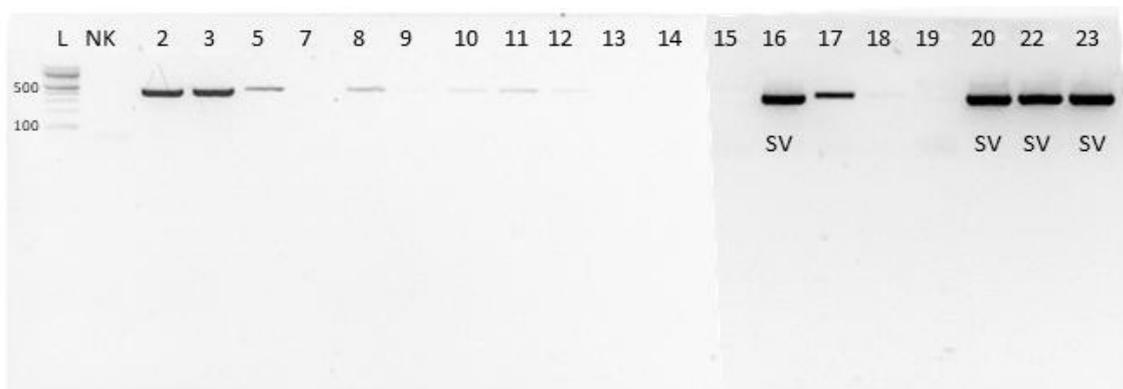
L – 100 bp Ladder (NEB); 1 – 23 (Tabulka 1)

Obrázek 2 PCR amplifikace sady primerů SV\_3a



L – 100 bp Ladder (NEB); 1 – 23 (Tabulka 1)

Obrázek 3 PCR amplifikace sady primerů KES



L – 100 bp Ladder (NEB); 1 – 23 (Tabulka 1)

### Diskuse

Přesná identifikace *S. vesicarium* je zásadní pro účinné zvládnání chorob celeru. Tradiční morfologické metody jsou však nespolehlivé vzhledem k morfologické podobnosti s příbuznými druhy hub (Puig et al., 2015; Woudenberg et al., 2017). K řešení tohoto problému

byl proto použit přístup návrhu primerů na základě genomových dat (Beran et al., 2021). Většina kandidátních primerů selhala kvůli křížové reaktivitě, avšak jedna sada (SV\_3a) prokázala vysokou druhovou specificitu. Naopak omezená specificita pozorovaná u sady SV\_2a zdůrazňuje limity spoléhání se výhradně na in silico predikce a podtrhuje význam experimentální validace. Dále bylo zjištěno, že dříve zavedené primery KES1999/KES2000 nejsou specifické pro houbové patogeny napadající zeleninu (Graf et al., 2016), což potvrzuje potřebu vývoje přesnějších markerů. Souhrnně tyto výsledky ukazují, že ačkoli genomová data mohou významně napomáhat návrhu diagnostických markerů, empirické testování zůstává nezbytné. Zásadní je, že sada primerů SV\_3a představuje základ pro další vývoj rychlých diagnostických metod, jako jsou PCR nebo Loop mediated isothermal amplification (LAMP), které mohou být využity k včasné detekci a monitorování *S. vesicarium* v polních podmínkách.

### Závěr

Tato studie ukazuje, že využití dat celého genomu umožňuje návrh a ověření vysoce specifických PCR primerů pro detekci *S. vesicarium*, původce listové skvrnitosti celeru. Ze všech hodnocených kandidátních primerů vykazovala sada SV\_3a vysokou specificitu, jelikož detekovala výhradně *S. vesicarium*. Obě sady primerů byly porovnány s dříve publikovanými primery KES1999/KES2000, které prokázaly nižší specificitu vůči některým druhům hub. Tyto výsledky potvrzují, že primery navržené na základě genomových dat, zejména sada SV\_3a, mohou sloužit jako spolehlivé nástroje pro druhově specifickou detekci *S. vesicarium*. Vývoj primerů přímo z dat celého genomu představuje významný krok směrem k rychlé a přesné diagnostice patogenů. Takto vyvinuté nástroje přispějí k efektivnějšímu monitorování a zvládnutí infekcí způsobených *S. vesicarium*, přičemž budoucí studie by měly rozšířit validaci na širší soubor izolátů a posoudit jejich použitelnost v terénních diagnostických testech, jako je Loop mediated isothermal amplification (LAMP).

### Literatura

- ABDELRHIM, A. S., HIGGINS, D. S. and HAUSBECK, M. K., 2024. Occurrence of *Stemphylium* leaf spot caused by *Stemphylium vesicarium* in commercial celery production following an onion rotation. *Plant Health Progress*, 25(3), pp. 277–286. DOI: 10.1094/PHP-07-23-0067-RS.
- BELISARIO, A., VITALE, S., LUONGO, L., NARDI, S., TALEVI, S. and CORVI, F., 2008. First report of *Stemphylium vesicarium* as causal agent of wilting and root rotting of radish sprouts in Italy. *Plant Disease*, 92(4), p. 651. DOI: 10.1094/PDIS-92-4-0651C.
- BERAN, Pavel, et al. KEC: unique sequence search by k-mer exclusion. *Bioinformatics*, 2021, 37.19: 3349-3350.
- DOYLE, J. J. and DOYLE, J. L., 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*. Available at: <https://worldveg.tind.io/record/33886>.
- EIKEN CHEMICAL CO., 2025. PrimerExplorer V5 software. Available at: <https://primerexplorer.jp/e/> [Accessed 20 September 2025].
- GRAF, S., BOHLEN-JANSSEN, H., MIESSNER, S., WICHURA, A. and STAMMLER, G., 2016. Differentiation of *Stemphylium vesicarium* from *Stemphylium botryosum* as causal agent of the purple spot disease on asparagus in Germany. *European Journal of Plant Pathology*, 144(2), pp. 411–418. DOI: 10.1007/s10658-015-0777-6.
- INTEGRATED DNA TECHNOLOGIES, 2025. Integrated DNA Technologies (IDT). Coralville, IA, USA. Available at: <https://www.idtdna.com/> [Accessed 20 September 2025].
- KOIKE, S. T., O'NEILL, N., WOLF, J., VAN BERKUM, P. and DAUGOVISH, O., 2013. *Stemphylium* leaf spot of parsley in California caused by *Stemphylium vesicarium*. *Plant Disease*, 97(3), pp. 315–322. DOI: 10.1094/PDIS-06-12-0611-RE.

- NEW ENGLAND BIOLABS, 2025. 2× Green PCR Master Mix. Ipswich, MA, USA. Available at: <https://www.neb.com/> [Accessed 20 September 2025].
- SCHENK, J. J., BECKLUND, L. E., CAREY, S. J. and FABRE, P. P., 2023. What is the “modified” CTAB protocol? Characterizing modifications to the CTAB DNA extraction protocol. *Applications in Plant Sciences*, 11(3), e11517. DOI: 10.1002/aps3.11517.
- SCHOCH, C. L., SEIFERT, K. A., HUHDORF, S., ROBERT, V., SPOUGE, J. L., LEVESQUE, C. A., CHEN, W., BOLCHACOVA, E., VOIGT, K., CROUS, P. W., MILLER, A. N., WINGFIELD, M. J., AIME, M. C., AN, K. D., BAI, F. Y., BARRETO, R. W., BEGEROW, D., BERGERON, M. J., BLACKWELL, M. ... SCHINDEL, D., 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 109(16), pp. 6241–6246. DOI: 10.1073/pnas.1117018109.
- TANGHIRASUNUN, N. and POEAIM, S., 2022. Studies on the rapid and simple DNA extraction method, antibacterial activity and enzyme activity involved in plant biomass conversion by *Cookeina sulcipes* and *C. tricholoma* (Cup fungi). *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 16(4), pp. 2851–2863. DOI: 10.22207/JPAM.16.4.58.
- UMESHA, S., MANUKUMAR, H. M. and RAGHAVA, S., 2016. A rapid method for isolation of genomic DNA from food-borne fungal pathogens. *3 Biotech*, 6(2), 123. DOI: 10.1007/s13205-016-0436-4.
- WHITE, T. J., BRUNS, T., LEE, S. and TAYLOR, J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: INNIS, M. A., GELFAND, D. H., SNINSKY, J. J. and WHITE, T. J., eds. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. San Diego: Academic Press, pp. 315–322. DOI: 10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1.
- PUIG, M., RUZ, L., MONTESINOS, E., MORAGREGA, C. and LLORENTE, I., 2015. Combined morphological and molecular approach for identification of *Stemphylium vesicarium* inoculum in pear orchards. *Fungal Biology*, 119(2–3), 136–144. DOI: 10.1016/j.funbio.2014.11.006
- WOUDEBERG, J. H. C., HANSE, B., van LEEUWEN, G. C. M., GROENEWALD, J. Z. and CROUS, P. W. (2017). *Stemphylium* revisited. *Studies in Mycology*, 87, 77. DOI: 10.1016/J.SIMYCO.2017.06.001

### Poděkování

Tato studie je podpořena projekty NAZV QL24010202 a GAJU 083/2025/Z.

### Kontaktní adresa

Ing. Dagmar Stehlíková, Ph.D.  
Katedra genetiky a biotechnologií. FZT  
Na Sádkách 1780, České Budějovice, 37005  
+420 389 032 947; [stehld@fzt.jcu.cz](mailto:stehld@fzt.jcu.cz)



## Herbicidní zásahy v kmínu kořenném v odrůdách se zkrácenou vegetační dobou

The efficacy of herbicides in spring and winter varieties of caraway

Šafář J.<sup>1</sup>, Kvapilová B.<sup>1</sup>, Seidenglanz M.,<sup>1</sup> Plachká E.<sup>2</sup>, Šmirous P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Agritec Plant Research, s.r.o.; <sup>2</sup>OSEVA vývoj a výzkum s.r.o.

### Abstrakt

Kmín kořenný (*Carum carvi*, L.) je v zemích pěstování kmínu minoritní plodinou, přesto zasluhuje pozornost z hlediska potravinářského, medicinského i pro výživu zvířat. Semena jsou zdrojem esenciálních olejů, které mají potenciál využití v ochraně rostlin před škodlivými činiteli. Vzhledem k dlouhotrvající vzcházivosti jsou porosty kmínu ohroženy rychlým vývojem plevelů, kdy i zkušení pěstitelé jsou limitováni plevelným spektrem na svých pozemcích, jež vede k snížení produkce a kvality sklizně. Zaplevelení v raných fázích vývoje porostů kmínu zásadně ovlivňuje dobrou kvalitu produkce. Tento příspěvek hodnotí 10 variant pokusu, jež probíhal v roce 2024 a 2025 v recentně vyšlechtěných odrůdách Aprim (ozimý kmín) a Aklei (jarní kmín), jež splňují odrůdovou odlišnost a mají zkrácenou vegetační dobu oproti klasickým dvouletým odrůdám.

**Klíčová slova:** herbicidy, účinnost, kmín kořenný, jarní kmín, ozimý kmín

### Abstract

Caraway (*Carum carvi*, L.) is a agriculture minor crop in many countries, but it deserves attention especially because their seeds are for food, medicine and animal nutrition. The seeds are a source of essential oils, which have the potential to plant protect plants before damage of pests. Due to the long-lasting emergence, caraway crops are threatened by the damage of better weeds condition, when even experienced farmers are limited by a wide range of weeds on their land, which leads to a decrease in production and harvest quality. Weeding in the early stages of development of caraway crops is essential for achieving good harvest quality. This contribution evaluates 10 treatments of trials, which took place in 2024 and 2025 in newly winter variety Aprim and Aklei – spring variety, which maintain varietal differences and have a shortened vegetation period compared to classic two-year varieties.

**Keywords:** herbicides, efficacy, caraway, spring and winter variety of caraway

### Úvod

Geneze pěstování kmínu v ČR, jež je v našich podmínkách tradiční kořeninovou rostlinou prošla několika milníky. Před několika desítkami let byly vyšlechtěny i v ČR neopadavé dvouleté odrůdy, což zapříčinilo stabilizaci výnosu semen. Cena merkantilu kmínu prodává v jednotlivých letech výrazné fluktuace podobně jako u máku, což pěstitele pochopitelně odrazuje. Dále byl kmín z hlediska ekonomiky přehlížen z důvodu efektivity využití orné půdy. Kmín lze také použít jako krmnou přísadu ve výživě zvířat, kde byl prokázán potenciál v efektivnější bachorové fermentaci, zlepšení stravitelnosti krmiv a zvyšování kvality mastných kyselin v mléce (Rahmy et al. 2019; Mahmoud et al. 2020). Dále by kmín mohl být použit jako alternativa k tlumení bolesti a zánětů u zvířat; dále byly nedávno prokázány antidepressivní vlastnosti, které vyžadují další studium (Seddighfar et al. 2020, Es-safi et al. 2021). V současné době se studie týkající se kmínu zaměřují pouze na léčivé, průmyslové a kulinářské vlastnosti a ponechávají stranou agronomii této plodiny. Vyšlechtěním ozimého kmínu (var. Aprim) došlo ke zkrácení vegetační doby (Šmirous 2016, Samuoliene et al. 2009) a termín setí spadá do období setí řepky ozimé, přičemž fenologií obvykle uniká ničivým napadením hálčivců (roztočů) jež mohou mít na sklizeň fatální dopady. Relativní novinkou je vyšlechtění odrůdy Aklei, což je kmín setý jako jařina brzy z jara a sklizen v téže vegetační sezóně. Tato situace může navodit dojem, že škála herbicidů, resp. jejich účinných látek zabezpečí ochranu proti

plevelům zejména v kritickém období vzcházení (obvykle 3 týdny ale i déle než měsíc), kdy jsou porosty dlouhou dobu řídké. V současnosti jsou povoleny pouze čtyři účinné látky do kmínu. Základní ošetření je preemergentní s úč. 1. aclonifen, jež má dostatečnou účinnost několik týdnů a při půdním suchu je účinnost nedostatečná. Po vzejití je povolen do kmínu pouze jediný graminicid s účinnou látkou kletodim. Opravné aplikace jsou většinou aplikovány na jaře, což je tembotrion+ isoxadifen-ethyl, který často fytotoxicitou výrazně snižuje výnos (Vaculík 2014) a poslední látkou povolenou v kmínu je MCPB s účinností k omezenému spektru plevelů.

### Materiál a metody

Mezi lety 2024–2025 byly založeny maloparcelní pokusy v katastru obce Víkyně (navazující na město Šumperk) o velikosti parcel 25 m<sup>2</sup> v plně randomizovaných čtyřech opakováních. Pokusy byly realizovány v jednotlivých letech na rozdílných odrůdách kmínu kořenného. V letech 2024–2025 se jednalo o odrůdu ozimého kmínu Aprim a v roce 2025 odrůda jarního kmínu Aklei. Odrůdy byly voleny z hlediska dostupnosti a byly šumperské proveniencí, jelikož v této oblasti byly vyšlechtěny a množeny. Mezi lety 2024–2025 byly provedeny zejména preemergentní aplikace var. 2–7 aplikováno u ozimého kmínu 16.9.2024 (10 dní po zasetí), postemergentně 7.10.2024 a u jarního po zasetí 11.4.2025 (1 den po zasetí), postemergentně 27.5.2025. Zvolené varianty jsou v Tab. 1. Hodnocení fytotoxicity proběhlo 7, 14, 21, 28 dní po aplikaci, dále hodnocení účinnosti bylo 14, 21, 28 a 56 dní po aplikaci. Hodnocení selektivity, fytotoxicity a účinnosti vycházelo ze stupnic používaných v metodikách EPPO; pro fytotoxicitu bylo hodnocení v procentech (0, 3, 5, 15, 25, 50, 75, 100 %), pro účinnost na škále 0–100 %. Statistické zpracování proběhlo v programu Statistica 12 Tukeyovým LSD testem (Tukey 1949) viz Tab. 2.1.; 2.2; 3.1; 3.2.

Tab. 1: Zvolené varianty pokusu, období zásahu a charakteristiky použitých pesticidů

Var.	Přípravek	Dávka	Aplikace	účinná látka	způsob účinku
1	Kontrola – neošetřeno				
2	Bandur	3,5 l	PRE	acлонifen	PPO inhibitor
3	Stomp aqua	3,5 l	PRE	pendimethalin	inhibitor mikrotubulů
4	Stomp 400 SC	4,0 l	PRE		
5	Buzzin 70 WG	0,6 l	PRE	metribuzin	PS II inhibitor
6	Gardoprim Plus Gold 500 SC	4,0 l	PRE	S-metolachlor + terbuthylazin	Inhibitor VLCFA+PS II
7	Merlin Flexx	0,4 l	PRE	isoxaflutole + cyprosulfamide	HPPD inhibitor + safener inhibitor prodlužování řetězců mastných kyselin
8	Boxer	3 l	post 12–14	prosulfocarb	PS II inhibitor
9	Lentagran	0,5 kg	post 12–16	pyridat	syntetický auxin
10	Butoxone	3,0 l	post 16–51	MCPB	

## Výsledky

Dobrou a často vynikající účinnost bylo dosaženo u přípravku Buzzin 70 WG s účinnou látkou metribuzin pro všechny sledované plevele až na heřmánkovec nevonný. Vynikající účinnost na merlíky byly u přípravku Merlin Flex a postemergentní aplikace Butoxone (MCPB), což je potěšující, protože zejména porosty jarního kmínu jsou silnou půdní zásobou semen merlíků ohroženy a často subtilní rostliny jarního kmínu během letního období přerůstají. Proti svízele lze počítat s dostatečnou účinností u Gardoprimu Plus Gold 500 SC. Na ježatku kuří nohu lze doporučit i účinnou látku pendimethalin, který je často využíván jako preemergentní přípravek v obilovinách a řepce olejce proti prlině rolní (*Lycopsis arvensis*). V současnosti není pendimethalin v přípravku Stomp registrován do kmínu. Účinnost vůči violkám je velice sporná, zde překvapila účinnost pyridátu (Lentagran), jež je povolen pro porosty mrkve. Účinnost pyridátu byla zjevná u violky trojbarevné podobně jako u Butoxonu. Fytotoxicita byla v pokusech zaznamenána pouze zanedbatelně a nebyla nějak významná.

Tab. 2.1: Hodnocení účinnosti herbicidního ošetření 8 týdnů po aplikaci v ozimém kmínu odrůdy Aprim zpracováno pomocí Tukeyova LSD testu

Varianta	CHEAL		GALAP		FUMOF	
UNTREATED	0	f	0	f	0	g
Bandur	46,25	d ±2,5	80,00	b ±5,8	80,00	bc ±5,8
Stomp Aqua	35,00	e 0,0	60,00	c ±5,8	60,00	d ±5,8
Stomp 400 SC	35,00	e 0,0	52,50	d ±5,0	60,00	d ±5,8
Buzzin 70 WG	<b>92,50</b>	a ±2,9	80,00	b ±5,8	<b>92,50</b>	a ±2,9
Gardoprim Plus Gold 500 SC	75,00	c 0,0	82,50	a ±5,0	<b>92,50</b>	a ±2,9
Merlin Flexx	80,00	b ±5,8	40,00	c ±5,8	20,00	f ±5,8
Boxer	82,50	c ±5,0	70,00	b ±5,8	70,00	c ±5,8
Lentagran	82,50	c ±5,0	30,00	e ±5,8	70,00	b ±5,8
Butoxone	<b>92,50</b>	a ±2,9	50,00	d ±5,8	70,00	e ±5,8

Legenda: CHEAL – merlík bílý (*Chenopodium album*, L.), GALAP – svízel přítula (*Galium aparine*, L.), FUMOF – zemědělský lékařský (*Fumaria officinalis*, L.)

Tab. 2.2: Hodnocení účinnosti herbicidního ošetření 8 týdnů po aplikaci v ozimém kmínu odrůdy Aprim zpracováno pomocí Tukeyova LSD testu

Varianta	MATIN		VIOAR		VIOTR		CAPBP	
UNTREATED	0	d		e	0	e	0	e
Bandur	65,00	b ±5,8	65,00	cd 0,0	75,00	cd ±5,8	80,00	bc ±5,8
Stomp Aqua	75,00	b ±5,8	50,00	cd ±5,8	75,00	cd ±5,8	80,00	bc ±5,8
Stomp 400 SC	75,00	b ±5,8	30,00	cd ±5,8	75,00	cd ±5,8	80,00	bc ±5,8
Buzzin 70 WG	67,50	b ±5,0	86,25	a ±2,5	<b>91,25</b>	a ±2,5	87,50	ab ±2,9
Gardoprim Plus Gold 500 SC	85,00	a ±5,8	80,00	b ±5,8	82,50	b ±2,9	87,50	ab ±2,9
Merlin Flexx	<b>90,00</b>	a 0,0	57,50	d ±5,0	72,50	d ±5,0	70,00	d ±5,8
Boxer	55,00	c ±5,8	60,00	cd ±5,8	75,00	cd ±5,8	77,50	c ±2,9
Lentagran	75,00	b ±5,8	60,00	cd ±5,8	75,00	cd ±5,8	87,50	ab ±2,9
Butoxone	75,00	b ±5,8	70,00	cd ±4,01	75,00	cd ±7,5	70,00	ab ±5,8

Legenda: MATIN – heřmánkovec nevonný (*Tripleurospermum inodorum*, L.), VIOAR – violka rolní (*Viola arvensis*, Murray), VIOTR – violka trojbarevná (*Viola tricolor*, L.), CAPBP – kokoška pastuší tobolka (*Capsella bursa-pastoris*, L.)

Tab. 3.1: Hodnocení účinnosti herbicidního ošetření 8 týdnů po aplikaci v jarním kmínu odrůdy Aklei zpracováno pomocí Tukeyova LSD testu

Varianta	CHEAL		GALAP		FUMOF		ECHCG	
UNTREATED	0	f	0	f	0	g	0	e
Bandur	51,25	d ±2,5	80,00	b 0,0	80,00	bc 0,0	65,00	c ±5,8
Stomp Aqua	40,00	e 0,0	65,00	c ±5,8	65,00	d ±5,8	<b>91,25</b>	ab ±2,5
Stomp 400 SC	40,00	e 0,0	57,50	d ±5,8	65,00	d ±5,8	<b>90,00</b>	ab 0,0
Buzzin 70 WG	<b>97,50</b>	a ±2,9	80,00	b 0,0	<b>97,50</b>	a ±2,9	82,50	b ±5,0
Gardoprim Plus Gold 500 SC	80,00	c 0,0	<b>90,00</b>	a 0,0	<b>97,50</b>	a ±2,9	<b>97,50</b>	a ±2,9
Merlin Flexx	<b>90,00</b>	b 0,0	65,00	c ±5,8	25,00	f ±5,8	<b>90,00</b>	ab 0,0
Boxer	75,00	c ±5,8	75,00	b ±5,8	75,00	c ±5,8	50,00	d ±8,2
Lentagran	75,00	c ±5,8	25,00	e ±5,8	85,00	b ±5,8	85,00	b ±5,8
Butoxone	<b>97,50</b>	a ±2,9	55,00	d ±5,8	55,00	e ±5,8	85,00	b ±5,8

Legenda: CHEAL – merlík bílý (*Chenopodium album*, L.), GALAP – svízel přítula (*Galium aparine*, L.), FUMOF – zemědělský lékařský (*Fumaria officinalis*, L.), ECHCG – (*Echinochloa crus-galli* L.)

Tab. 3.2: Hodnocení účinnosti herbicidního ošetření 8 týdnů po aplikaci v jarním kmínu odrůdy Aklei zpracováno pomocí Tukeyova LSD testu

Varianta	MATIN		VIOAR		VIOTR		CAPBP	
UNTREATED	0	d	0	e	0	e	0	e
Bandur	55,00	b ±5,8	65,00	cd ±5,8	65,00	cd ±5,8	80,00	bc 0,0
Stomp Aqua	65,00	b ±5,8	65,00	cd ±5,8	65,00	cd ±5,8	85,00	bc ±5,8
Stomp 400 SC	65,00	b ±5,8	65,00	cd ±5,8	65,00	cd ±5,8	85,00	bc ±5,8
Buzzin 70 WG	57,50	b ±5,0	<b>91,25</b>	a ±2,5	<b>91,25</b>	a ±2,5	<b>92,50</b>	ab ±2,9
Gardoprim Plus Gold 500 SC	85,00	a ±5,8	85,00	b ±5,8	82,50	b ±2,9	<b>92,50</b>	ab ±2,9
Merlin Flexx	<b>90,00</b>	a 0,0	62,50	d ±5,0	62,50	d ±5,0	85,00	d ±4,1
Boxer	45,00	c ±5,8	65,00	cd ±5,8	65,00	cd ±5,8	82,50	d ±2,9
Lentagran	65,00	b ±5,8	65,00	cd ±5,8	65,00	cd ±5,8	<b>92,50</b>	ab ±2,9
Butoxone	65,00	b ±5,8	65,00	cd ±5,8	66,25	cd ±7,5	<b>91,25</b>	ab ±2,5

Legenda: MATIN – heřmánkovec nevonný (*Tripleurospermum inodorum*, L.), VIOAR – violka rolní (*Viola arvensis*, Murray), VIOTR – violka trojbarevná (*Viola tricolor*, L.), CAPBP – kokoška pastuší tobolka (*Capsella bursa-pastoris*, L.)

## Diskuze

Analýza výsledků z pokusů v roce 2024 a 2025 kdy byly ověřeny možnosti ošetření kmínu kořenného, resp. nových ekonomicky perspektivních odrůd – ozimé a jarní odrůdy. Zkrácená doba vegetace umožňuje kratší období pro rozvoj plevelů v porostech kmínu. To ovšem neznamená, že herbicidní ochrana je v současné době dostatečná. Herbicidní ošetření kmínu kořenného selhává při pomalém klíčení kmínu, jež trvá obvykle více než tři týdny, což umožňuje rychlejšímu rozvoji plevelného spektra z půdní zásoby, jež je životaschopnější než nasetá semena kmínu (Šafář et al. 2022, Seidler-Łozykowska & Bocianowski, 2012). Nicméně herbicidní ošetření výrazně ovlivňuje biomasu a sklizeň kmínu (Blažek et al. 2023, Muñoz et al. 2022, Németh et al., 1997). Dále je herbicidní ochrana nedostatečná vůči heřmánkovým plevelům za „druhou stranu mince“ lze považovat pozitivní vliv na ekosystém, kdy nedochází k výraznému narušení plevelného agroekosystému (Adeux et al. 2019, Geoffriau et al. 2020), jež s kmínem tvoří kvetoucí most v období po odkvětu řepky či keřů a stromů v okolních biotopech. Celou situaci komplikují minimálně tři důvody, jež herbicidní ošetření dál komplikují: nezájem firem produkující a registrující pesticidy registrovat herbicidy v minoritních plodinách, postupné restrikce látek – konkrétně metribuzin, půdní zásoba plevelů selektována v řepce ozimé nebo obilovinách. Dobrou a často vynikající účinnost bylo dosaženo u přípravku účinnou látkou metribuzin napříč plevelným spektrem až na heřmánkovec nevonný, které bylo v počtostech vyšších než 8 jedinců jednotlivého druhu na 1 m<sup>2</sup>. Přípravky s úč. l. metribuzin nebudou v budoucnu k dispozici. Vynikající účinnost či dostatečnou na merlíky byly u přípravku Merlin Flex a postemergentní aplikace Butoxone (MCPB), merlíky jsou v okolí Šumperku rozšířeny v jarním období masově, vzcházejí při půdním suchu ve vlnách a často subtilní rostliny kmínu během letního období přerůstají. Proti svízelu lze počítat s dostatečnou účinností u Gardoprimu Plus Gold 500 SC. V osevních postupech, kde je ještě stále široce zastoupena řepka olejka dochází při absenci používání halauxifen–methyly s picloramem k selekci zemědělu, který Gardoprim Plus Gold dostatečně řeší. Jedná se o druh

plevelů bylinného patra, který je hůře hubitelný a semena zemědělnému záhy vypadávají v průběhu vegetace, což zapříčiní silnou půdní zásobu a po sklizni je těžkou zasažitelný.

### Závěr

Pěstování kmínu kořeného vzhledem ke své fenologii je zásadně ovlivněno zaplevelením lokality, které je pro pěstování kmínu zvoleno. Odrůdy s kratší vegetační dobou jsou ekonomicky přijatelnější a reziduální účinnost půdních herbicidů má podstatnější dopad účinnosti směrem ke sklizňovému období. Herbicidní ošetření komplikuje omezený počet herbicidních účinných látek (pouze čtyři látky s herbicidní funkcí). Opravné prostředky v jarním období (postemergentní) mají v případě MCPB (Butoxone) omezené spektrum účinnosti vůči jednotlivým druhům plevelů, další látka – tembotrion (Laudis) s rychlým vývojem porostu kmínu na jaře působí fytotoxicky probělením a výrazným snížením sklizně semen kmínu (Vaculík 2014). Tato práce zavdala na řízení o minoritní registraci přípravku Stomp Aqua do kmínu. V minulosti byl v kmínu registrován Stomp 400 SC, kdy o registraci úč. l. pendimethalin do kmínu nejevil firemní zástupce ani distributoři zájem. V současné době (říjen 2025) je zpracováváno nařízení o vydání povolení použití Stompu Aqua do kmínu.

### Literatura

- ADEUX, G. - VIEREN, E. - CARLESI, S. - BARBERI, P. - MUNIER-JOLAIN, N. - CORDEAU, S. (2019): Mitigating crop yield losses through weed diversity. *Nature Sustainability*, 2(11), pp. 1018-1026.
- BLAŽEK, L. - SEIDENGLANZ, M. - MUÑOZ ARBEÁLEZ, M. - HANÁKOVÁ BEČVÁŘOVÁ, P. - ŠMIROUS, P. - ŠAFÁŘ J. (2023): Vliv způsobu založení porostu a přístupu k regulaci plevelů na růst a vývoj kmínu se zkrácenou vegetační dobou. *Úroda* 12, roč. LXX, 2023, vědecká příloha, 85-92 pp.
- ES-SAFI, I. - MECHCHATE, H. - AMAGHNOUJE, A. - JAWHARI, F. Z. - IMTARA, H. - GRAFOV, A. - BOUSTA, D. (2021): An Insight into the Anxiolytic and Antidepressant-Like Properties of *Carum carvi* L. and Their Association with Its Antioxidant Activity. *Life*, 11(3), p. 207.
- GEOFFRIAU, E. - SIMON, P. W. (Eds.) (2020): *Carrots and related Apiaceae crops* (Vol. 33). CABI.
- HRAC (2021): HRAC Mode of Action Classification 2021 Map. Herbicide Resistance Action Committee. Retrieved February 20, 2022 from <https://hracglobal.com/tools/hrac-mode-of-action-classification-2021-map>
- MAHMOUD, A. E. M. - RAHMY, H. A. F. - GHONEEM, W. M. A. (2020): Role of caraway, fennel and melissa addition on productive performance of lactating frisian cows. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*, 23(11), pp. 1380-1389.
- MALHOTRA, S. K. - PETER, K. V. (2012): Handbook of herbs and spices.
- MUÑOZ ARBEÁLEZ, M. - SEIDENGLANZ, M. (2022): Evaluation of chemical control of weeds associated with caraway cultivation (*Carum carvi* L., var. Aprim) and its effect on some plant growth and development parameters. *Výzkum v chovu skotu/ Cattle Research* 1/2022, pp. 5-17.
- NEMÉTH, É. - BERNÁTH, J. - PLUHÁR, Z. (1998): Factors influencing flower initiation in caraway (*Carum carvi* L.). *Journal of herbs, spices & medicinal plants*, 5(3), pp. 41-50.
- RAHMY, H. A. F. - EL BANA, H. M. - E.L.-BORDENY, N. E. - MAHMOUD, A. E. (2019): Effect of Caraway, Fennel and Melissa addition on in vitro Rumen Fermentation and Gas Production. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*, 22(2), pp. 67-72.
- SAMUOLIENE', G., BRAZAITYTE', A., URBONAVIC'IUTE', A., ŠABAJEVIENE, G., DUCHOVSKIS, P., G. (2009): Flowering initiation in plants of different Apiaceae species. *Zemdirbyste-Agriculture*, 96(3), pp. 186-198.

- SEDDIGHFAR, M. - MIRGHAZANFARI, S. M.- DADPAY, M. (2020): Analgesic and antiinflammatory properties of hydroalcoholic extracts of *Malva sylvestris*, *Carum carvi* or *Medicago sativa*, and their combination in a rat model. *Journal of integrative medicine*, 18(2), pp. 181-188.
- SEIDLER-ŁOŻYKOWSKA, K. - BOCIANOWSKI, J. (2012): Evaluation of variability of morphological traits of selected caraway (*Carum carvi* L.) genotypes. *Industrial Crops and Products*, 35(1), pp. 140-145.
- ŠAFÁŘ, J. – RUSEŇÁKOVÁ, M. – MUÑOZ ARBEÁLEZ, M. – SEIDENGLANZ, M. – ŠMIROUS P. (2022): *MEDICINAL, AROMATIC AND SPICE PLANTS*, Proceedings of Peer-reviewed Scientific Papers and Abstracts of the 4th International Scientific Conference ISCMASP 2022. p. 89
- ŠMIROUS, P. (2016): Aprim, New Variety of Winter Caraway (*Carum carvi* L.). Book of abstracts: 9th Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries 9th CMAPSEEC 26-29 May 2016 Plovdiv, Bulgaria.
- TUKEY, J. (1949): "Comparing individual means in the Analysis of Variance". *Biometrics*. 5 (2): 99–114. doi:10.2307/3001913.
- VACULÍK, A. (2014): Vliv preemergentně aplikovaných herbicidů na vynos nažek a kvalitu produkce kminu kořeného (*Carum carvi* L.). *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 56(2), pp. 255-266.

#### **Poděkování**

Příspěvek byl zpracován za podpory Ministerstva zemědělství, QK21010332 a institucionální podpory MZE-RO-10/23 a MZE-RO-18/23.

#### **Kontaktní adresa**

Ing. Jaroslav Šafář, Ph.D.  
Agritec Plant Research, s.r.o.  
Zemědělská 16  
+420 776 748 289, [safar@agritec.cz](mailto:safar@agritec.cz)



## Předpověď epidemií klasových fuzárií obilnin na základě hodnocení vývoje a dozrávání plodnic patogena

Fusarium head blight epidemics of cereals prediction based on development and ripening of pathogen reproduction structures

Tvarůžek, L., Bleša, D., Matušinsky, P.

Agrotest fyto, s.r.o.

### Abstrakt

Výskyt perithecií a věceček s askosporami původců fuzárií hniloby byl sledován na posklizňových zbytcích kukuřice, shromážděných z povrchu pozemků v porostech obilnin. Průzkum probíhal na území Moravy a Slezska v letech 2019 – 2025 vždy ve dvou termínech blízko metání. V letech 2020 a 2024 nastala silná epidemie fuzárií. V obou letech se perithecia vyskytla již koncem května a věcka byla před dozráním. V obou letech byly dešťové srážky hojné v průběhu měsíce června. PCR diagnostika prokázala jako dominantní druh na kukuřičných zbytcích *F. graminearum*. Jako dominující na klasech napadených obilnin se v roce 2024 ukázaly druhy *F. graminearum*, *F. poae* a *F. tricinctum*, v roce 2025 mimo uvedené také *F. proliferatum*. Při hodnocení v epidemickém roce 2024 se potvrdilo, že stav zralosti perithecií je platný pro větší území, což umožňuje vydávat obecná doporučení k ochraně porostů.

**Klíčová slova:** fuzárií hniloby obilnin, zdroj infekce, perithecia, věcka, kukuřičné zbytky

### Abstract

Perithecia, asca and ascospores occurrence were monitored on corn crop debris collected from soil surface in cereal stands. The survey was realized in the territory of Moravia and Silesia in two terms around heading of cereals in the period 2019 – 2025. Severe fusarium head blight epidemic has occurred in 2020 and 2024. In both years the perithecia have occurred already at the end of May when the asca were near the ripening. Rainfalls were abundant in these years. PCR diagnostics confirmed *F. graminearum* as main species on corn crop residues. In infected cereal spikes *F. graminearum*, *F. poae* a *F. tricinctum* were dominating in 2024, besides them also *F. proliferatum* prevalence was found in 2025. There was confirmed in epidemic season 2024 that perithecia ripening period is valid for large area monitored, it allowed the general recommendation for stands protection.

**Key Words:** Fusarium head blight, source of infection, perithecia, ascus, corn crop debris

### Úvod

Úspěšná ochrana proti fuzáriím klasů je složitý úkol a dlouhodobý cíl generací fytopatologů, epidemiologů, šlechtitelů i tvůrců fungicidů. V praktické fungicidní ochraně obilnin zůstávají stále povoleny k použití účinné látky, které fuzária potlačují. Účinnost aplikace je však přímo závislá na jejím správném načasování a vyžaduje dobré znalosti celého patosystému choroby. Fuzariózy postihují zejména pšenici a ječmen, ale mohou se vyskytnout i u dalších obilnin, jako je žito, tritikale či oves (Parry et al., 1995). Choroba se vyznačuje napadením klasů během kvetení a následného vývoje zrna, které má za následek ztrátu výnosu a jeho kvality. Kromě hospodářských ztrát představuje významné riziko pro zdraví lidí i zvířat kvůli tvorbě mykotoxinů, především trichothecenů (deoxynivalenolu, nivalenolu), zearalenonu a dalších (Perincherri et al. 2019).

Předpokladem vzniku epidemie je současné dosažení fáze vymetání klasů a kvetení porostů obilniny s probíhajícím uvolňováním zralých askospor, doprovázeného potřebnými teplotními a vlhkostními limity okolního prostředí. Infekce klasů probíhá převážně v období kvetení, pokud nastanou pro rozvoj patogena příznivé kombinace vlhkosti a teploty. Infekční zárodky se vytvářejí především na posklizňových zbytcích kukuřice, ležících na povrchu půdy, Pro jejich dozrávání je nutná přítomnost světla. Rostlinné zbytky, které leží v povrchových částech ornice se plodnicemi - **perithecií** pokrývají v pozdním jarním období.

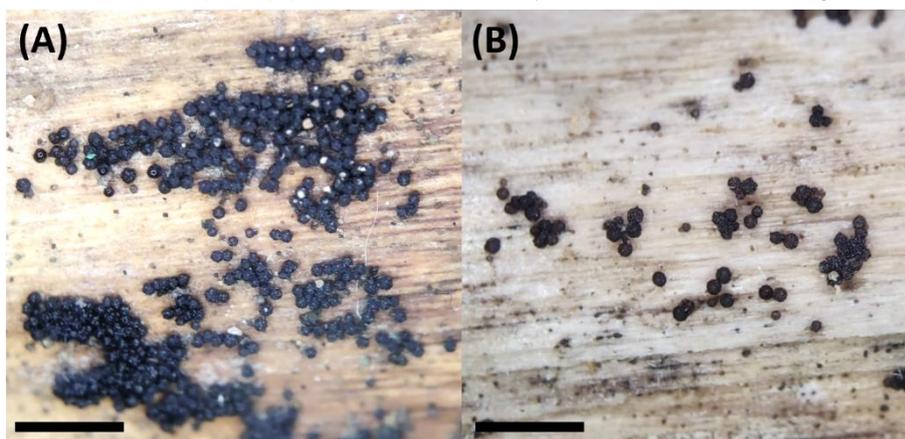
Cílem práce bylo sledování tvorby infekčních struktur fuzárií na kukuřičných posklizňových zbytcích v období jejich vývoje a dozrávání a hledání odlišností v letech, kdy nastala silná epidemie této choroby.

### Materiál a metody

V letech 2019 – 2025 byl prováděn sběr odumřelého rostlinného materiálu kukuřičné slámy ve dvou termínech hodnocení, mezi kterými byl časový odstup přibližně dvou týdnů (první kolem 20. května, druhý v prvním týdnu června). Byly vždy shromážděny posklizňové zbytky kukuřice z minulé sezóny. Sbírány byly kousky organické hmoty, ležící se na povrchu půdy. Takto vzorkováno bylo každým rokem přibližně 30 až 40 porostů ozimé pšenice rostoucí po předplodině kukuřici, ležících na území Moravy a Slezska. V roce 2024 byly kukuřičné zbytky shromážděny celkem z 28 pozemků, v roce 2025 byly kukuřičné zbytky shromážděny celkem ze 38 pozemků.

Vzorky byly převezeny do laboratoře a mikroskopicky vyhodnoceny na přítomnost a zralost plodnic fuzárií. Vedle posouzení přítomnosti perithecií a zralosti vrček byla dále sledována i kategorie označená jako „hojnost výskytu perithecií“, která měla za cíl popisně charakterizovat vysokou produkci těchto infekčních zárodků na hodnoceném povrchu rostlinného zbytku

- 
- Obr. 1: (A), (B) Perithecia rozdílných kmenů *Fusarium graminearum* na posklizňových zbytcích kukuřice.



Úsečka představuje 1 mm.

- Z perithecií na kukuřičných zbytcích a z klasů pšenice a ječmene z vybraných odběrových porostů v průběhu dozrávání, symptomaticky infikovaných fuzárií, byly v letech 2024 a

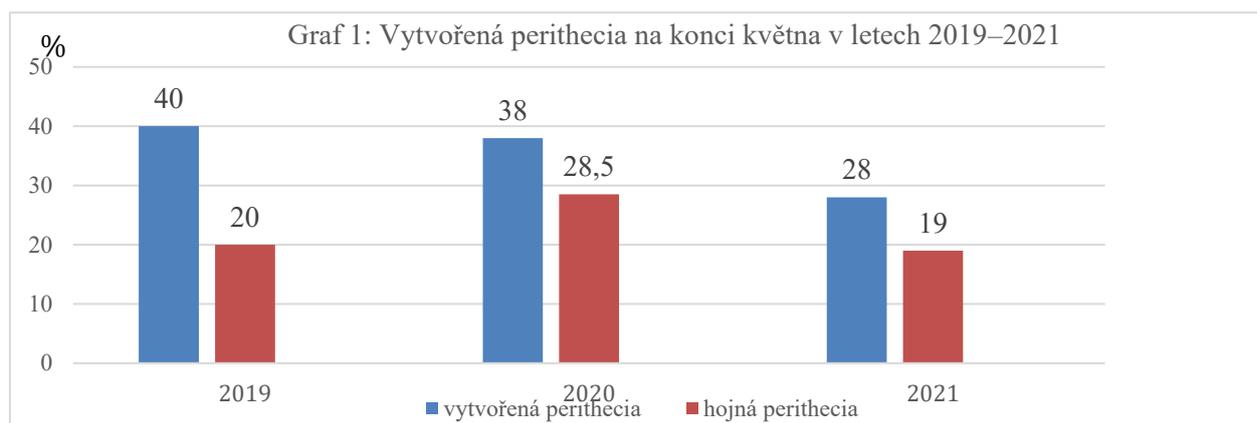
2025 získány izoláty této fytopatogenní houby. Tyto izoláty byly kultivovány na Petriho miskách s bramborovo-dextrózovým agarem. Získané mycelium bylo drceno v tekutém dusíku a izolována DNA. Vzorky pocházely z okolí Kroměříže v okruhu do 30 km. Genomová DNA z mycelia a z rozdrceného zrna pšenice a ječmene byla izolována pomocí DNeasy mericon Food Kit (Qiagen, Německo). Diagnostika byla provedena pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) v přítomnosti druhově specifických primerů a separace PCR produktu byla provedena na horizontální agarózové gelové elektroforéze. Analýza druhového složení zástupců FHB zahrnovala *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. avenaceum*, *F. poae*, *F. tricinctum*, *F. langsethiae*, *M. nivale* a *M. majus*.

## Výsledky

### Průzkum výskytu zdrojů infekce fuzárií v klasech obilnin

#### Roky 2019 - 2021

Podíl vzorků s vytvořenými perithecií na konci měsíce května se pohyboval mezi 28,0 % v roce 2021 a hodnotami blízkými nebo rovnými 40,0 % v letech 2019 a 2020 - graf 1. V epidemickém roce 2020 byl zjištěn i nejvyšší podíl hojně se vyskytujících perithecií, která byla nalezena u téměř třetiny hodnocených vzorků. Mezi ročníky 2020 a 2021 bylo rovněž možné porovnat vedle tvorby perithecií i zralost askospor. Ta byla opět v termínu konec května v celkovém součtu mezi lety podobná (přibližně polovina vzorků s prokázanými askosporami), ale v roce 2020 byl vyšší podíl askospor těsně před dozráním.



V těchto letech byl východiskem pro naše souhrnné hodnocení fakt, že v ročníku 2020 epidemie fuzárií nastala se všemi škodlivými dopady. V tomto roce byly plodnice patogena ke konci května v řadě oblastí ve stadiu před dozráním nebo až plně zralé a často hojně se vyskytující. Přítomnost infekčních zárodků, schopných klasy obilnin infikovat, byla zjištěna téměř u poloviny vzorků. Hlavní období kvetení pšenice, které nastalo na počátku června, se tak nacházelo v kontaktu s dostupným zdrojem infekce. S přihlédnutím k již známému faktu podpurného vlivu srážek a vysoké vlhkosti na počáteční průběh infekce se v roce 2020 vytvořily pro rozvoj fuzarióz mimořádně příhodné podmínky. Významná deštivá perioda začala již v poslední dekádě května, další následovala s odstupem v druhé dekádě června, riziko se tak rozložilo téměř do měsíčního intervalu.

#### Rok 2022

Výskyt choroby byl v roce 2022 v oblasti Moravy a Slezska nízký. Ve srovnání s minulými dvěma roky byl podíl vzorků posklizňových zbytků kukuřice jako primárního zdroje infekce fuzárií s prokázanými zralými zárodky choroby (perithecií s askosporami) nejnižší a to v obou termínech hodnocení - 20. května a 3. června 2022. Výrazně to bylo patrné ve srovnání s epidemickým rokem 2020.

Důležitou skutečností byl rovněž stav vývoje porostů, tedy dosažení pro infekci kritické fáze kvetení a objevení se prašníků v klasech. Díky významnému urychlení vývoje v nižších a středních polohách byla v době uvolňování infekčních zárodků naprostá většina porostů již odkvetlých. Deštivé počasí, podporující epidemii fuzárií tak nastalo v době po hlavním období kvetení a při nižším zdroji infekčního potenciálu.

### **Rok 2023**

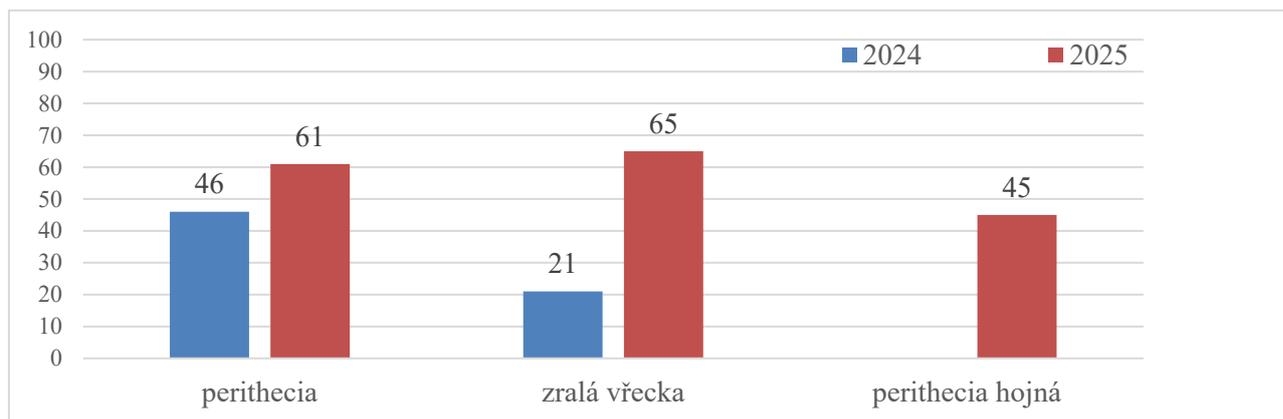
Všechny sledované hodnoty roku 2023 byly významně vyšší než v roce 2020. Podíl vytvořených perithecií a především široké časové období uvolňování askospor (řada vzorků obsahovala askospory zralé i postupně dozrávající) splnila podmínku vysokého rizika vzniku epidemie.

Veškeré riziko napadení však nakonec bylo v průběhu kvetení porostů obilnin významně sníženo nedostatkem srážek, kdy od 5. června až do konce měsíce prakticky nepršelo. Zajímavým ukazatelem, který se výrazně lišil mezi oběma roky 2020 a 2023, byla například délka doby slunečního svitu, která byla v roce 2023 o třetinu delší než ve zmiňovaném roce 2020, což jistě infekční podmínky (vzdušnou vlhkost) také ovlivnilo.

### **Rok 2024**

Téměř polovina z hodnocených vzorků posklizňových zbytků kukuřice měla vytvořeny reprodukční struktury patogena již v prvním termínu hodnocení (graf 2). Většina infekčních zárodků (askospor) byla ve fázi před uvolněním do prostředí. Znamenalo to již v tom okamžiku, že existovalo významné riziko infekce v tu dobu kvetoucích porostů fuzárií.

Ve druhém termínu hodnocení byla u 70 % hodnocených vzorků přítomna perithecia se 100 % zralých věcek. Na základě těchto zjištění existovalo vysoké riziko vzniku infekce porostů obilnin fuzárií.

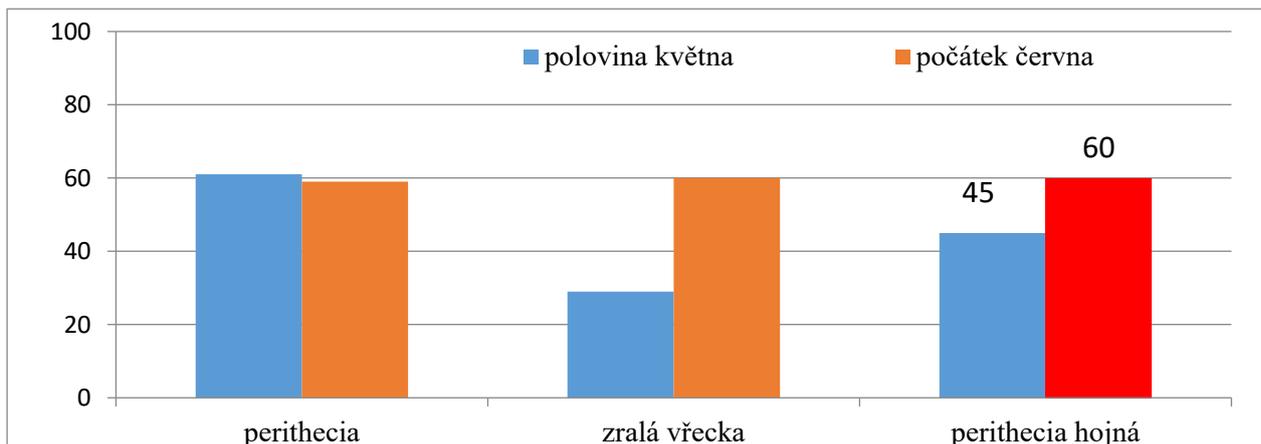


Graf 2: Srovnání tvorby perithecií a věcek v první termínu hodnocení let 2024 a 2025

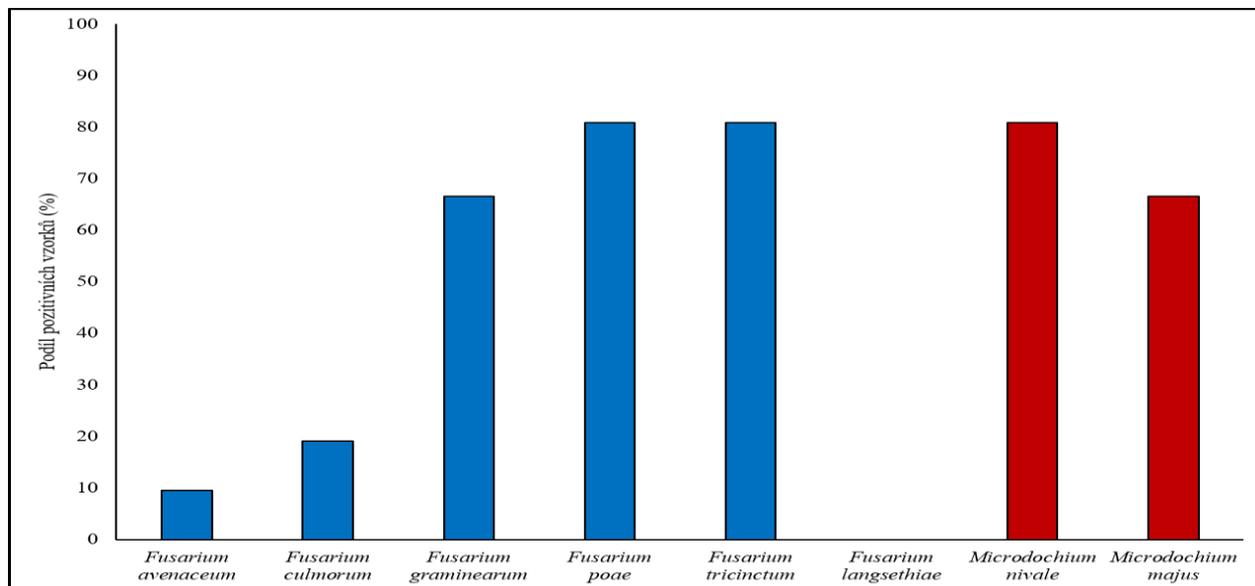
### **Rok 2025**

V květnovém termínu hodnocení byl jen nízký podíl zralých věcek (necelá třetina graf 3). Do druhého termínu se hodnota zvýšila téměř na dvě třetiny hodnocených vzorků, které měly vytvořeny perithecia, obsahující zralá věcka. Oproti prvnímu hodnocení z poloviny května také významně vzrostl podíl hojně se vyskytujících perithecií a zralých věcek (60 %).

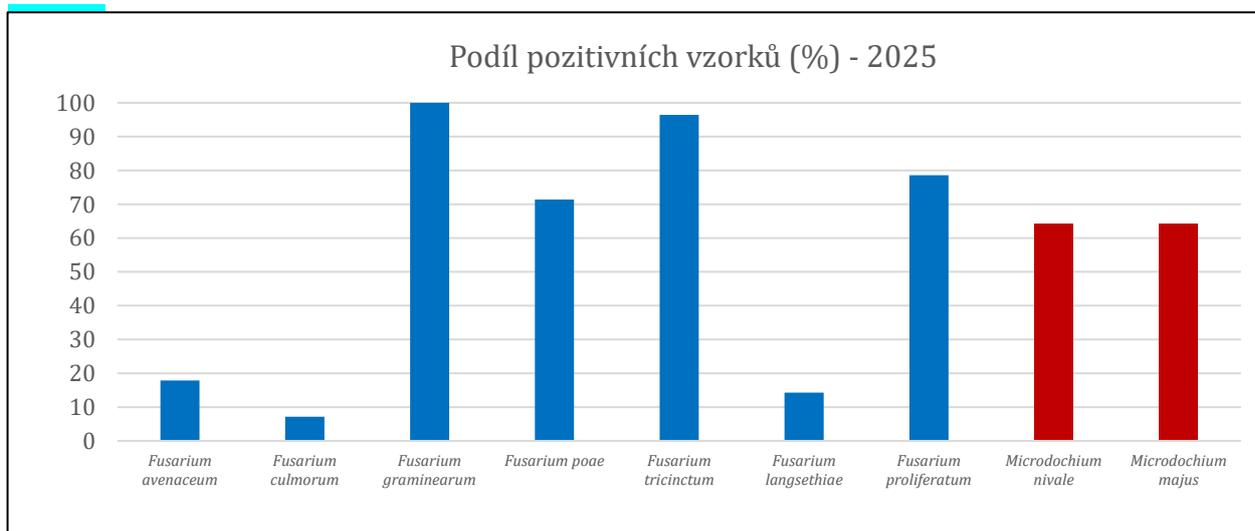
Graf 3: Srovnání vývoje infekčních zárodků fuzárií na kukuřičných zbytcích v květnu a červnu 2025



ukázala výskyty různých druhů rodu *Fusarium* a *Microdochium* ve vzorcích infikovaných klasů (graf 4). Vysoký podíl kontaminace vzorků byl způsobený v roce 2024 druhy *F. graminearum*, *F. poae* a *F. tricinctum*, v roce 2025 mimo uvedené také druhem *F. proliferatum* (graf 5). V hojně míře byly detekovány i druhy rodu *Microdochium*, které také působí pozdní poškození porostů.



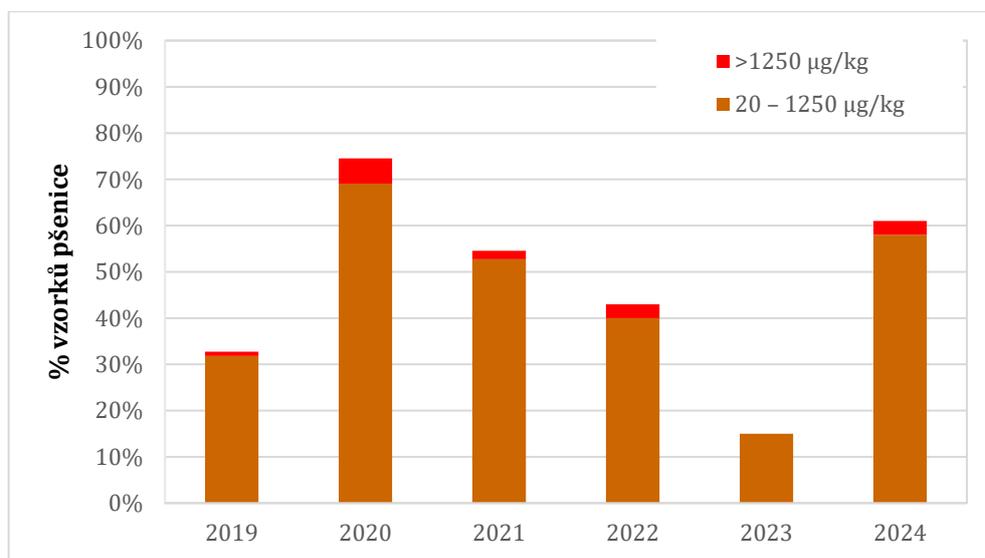
Graf 4: Druhové zastoupení na napadených klasech obilnin v roce 2024



Graf 5: Druhové zastoupení na napadených klasech obilnin v roce 2025

## Diskuze

V posledních letech byla epidemie fuzárií a následná kontaminace zrna mykotoxiny nejvyšší v roce 2020 (graf 6, Polišenská 2025).



Graf 6: Obsah deoxynivalenolu (DON) v pšenici sklizené v ČR 2019 - 2024 (Polišenská, 2025)

Čím byl epidemický rok 2020 déle charakterizován? Z pohledu průběhu počasí lze uvést: suchý březen, suchý duben, vlhký květen a silně vlhký červen. V roce 2020 došlo k metání ozimých pšenic koncem měsíce května, což podle ranosti odrůd signalizuje nástup fáze kvetení v prvních dvou týdnech června. Měsíc červen byl pak charakterizován jako teplotně normální. Průměrné teploty zdaleka nedosahovaly extrémů z jiných let a to v celém průběhu měsíce.

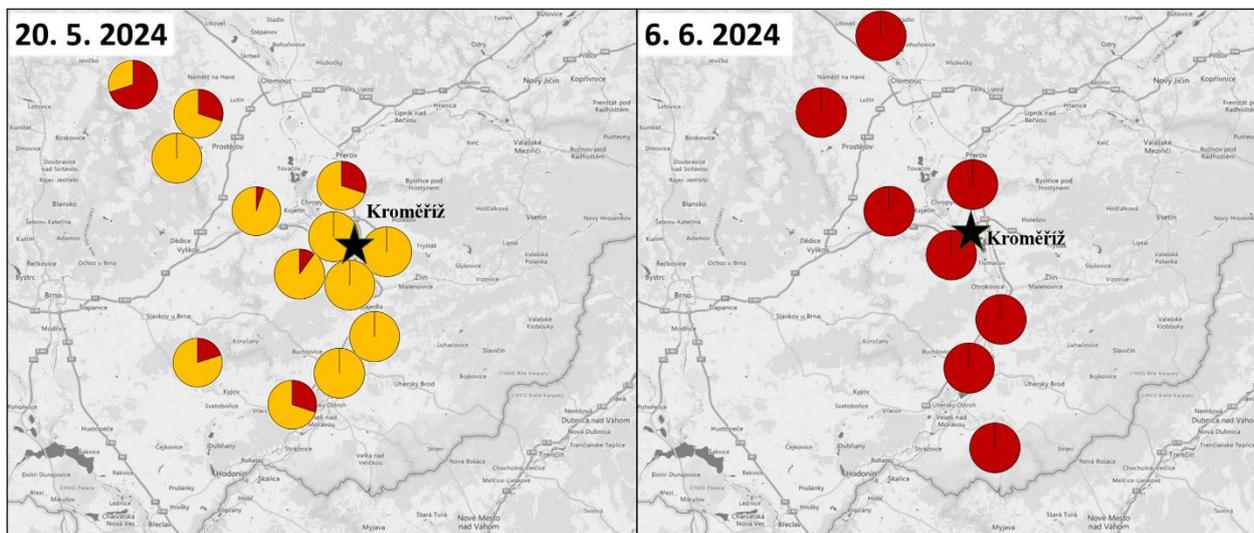
Rok 2024 byl druhým epidemickým rokem za sledované období, hodnoceno podle výsledku monitoringu mykotoxinů v ČR. Z důvodů zrychlení vegetace na jaře 2024 se v době okolo 20. května porosty ozimých obilnin nacházely ve fázích BBCH 47 – 69, většina raných odrůd ozimých pšenic metala, ozimé ječmeny a žita byly již po odkvětu. Porosty pšenic tak vstupovaly do rizikové fáze vývoje z pohledu možnosti infekce klasovými fuzárii. Porosty ozimých pšenic se počátkem června nacházely ve fázích BBCH 55 – 75, většina odrůd sortimentu ozimých pšenic již odkvetla.

Srážky byly rozloženy po celý průběh června, každý den přšelo od 1.6. do 6.6., velkým úhrnem srážek v polovině měsíce a extrémně deštivým obdobím v jeho třetí dekádě. Oproti roku následujícímu – 2025, který byl rovněž z pohledu zdroje infekce potenciálně rizikovým, však srážek měl zcela jiné rozložení s dlouhou desetidenní periodou slunečných a bezsrážkových dní. Poměr těchto dvou let v počtu hodin slunečního svitu v červnu byl 233 (rok 2024) a 288 (rok 2025). Toto je i vysvětlením, proč se epidemie v roce 2025 sice vyskytla, ale ne v takové míře jako v roce předešlém.

Spektrum přítomných druhů *Fusarium* v klasech se může měnit v závislosti na stadiu zrání a vlivem meteorologických podmínek. Některé studie naznačují, že v raných fázích kvetení bývá dominantní *F. graminearum*, zatímco v pozdějších fázích se mohou prosazovat druhy jako *F. poae* nebo *F. sporotrichioides*, které mají mírně odlišné nároky na teplotu a vlhkost (Xu & Nicholson, 2009). Specifické mikroklima uvnitř porostu může ovlivnit relativní abundanci jednotlivých druhů. Je také nutné zohlednit rozdíly mezi pšenicí a ječmenem, neboť anatomie klasu a doba kvetení se liší, což může hrát roli v tom, které druhy mají největší šanci se prosadit. V průběhu našeho sledování dozrávání zárodků fuzárií vyplynulo, že kukuřičné zbytky byly zdrojem inokula druhu *Fusarium graminearum*, který je však zároveň klíčovým druhem z pohledu četnosti zastoupení vyskytujícím se na napadených klasech. Role dalších druhů a

především jejich původ a časová následnost pronikání do klasů jsou otázkami, které toto komplexní onemocnění komplikují.

Při hodnocení v epidemickém roce 2024 se potvrdilo, že stav zralosti perithecií je platný pro větší území, tedy praktická prognóza stavu zdrojů je obecněji platná (obrázek 7). Tato skutečnost má význam k interpretaci výsledků v praxi.



Graf 7: Podíl výskytu zralých (červená) a nezralých (oranžová) askospor v peritheciích ve dvou odběrech na střední a jihovýchodní Moravě. Hvězdou je označena Kroměříž.

Tvorba perithecií nastává v rozmezí teplot 16–31 °C a uvolňování askospor mezi 13 a 30 °C s optimem 25–28 °C (Pereyra a kol. 2004). V peritheciích se tvoří askospory přibližně po dobu 10 dnů.

Z vršek uvnitř perithecií jsou vymršťovány askospory na relativně velké vzdálenosti. Následný přenos askospor fuzárií vzdušnými proudy v atmosféře dosahuje značné vzdálenosti a je zodpovědný za uchycení infekce i na polích vzdálených od jejího zdroje mnoho kilometrů.

## Závěr

Fuzáriová onemocnění klasů obilnin patří mezi stále aktuální problémy praktické ochrany rostlin. Jejich regulace je složitá a předpovězení epidemií vychází z řady proměnných, které ji ovlivňují. Ve střední Evropě se složení druhů rodu *Fusarium* postupně mění v závislosti na klimatických změnách, agrotechnice i šlechtění nových odrůd. Jen pravidelné sledování nám poskytne potřebné informace pro správná pěstitelská opatření a jejich použití v pravý čas.

### **Literatura**

- Parry, D. W., Jenkinson, P., & McLeod, L. (1995). Fusarium ear blight (scab) in small grain cereals—a review. *Plant pathology*, 44(2), 207-238.
- Pereyra, S. A., Dill-Macky, R., Sims, A. L.: Survival and inoculum production of *Gibberella zeae* in wheat residue. *Plant Disease*, 88, 2004, s. 724–730.
- Perincherry, L., Lalak-Kańczugowska, J., & Stepień, Ł. (2019). Fusarium-produced mycotoxins in plant-pathogen interactions. *Toxins*, 11(11), 664.
- Polišenská, I., Jirsa, O.: Sklizeň obilovin 2024 z pohledu výskytu mykotoxinů. *Obilnářské listy*, 33, 2025, 1, 7-10
- Xu, X., & Nicholson, P. (2009). Community ecology of fungal pathogens causing wheat head blight. *Annual review of phytopathology*, 47(1), 83-103.

### **Dedikace**

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO1123

### **Kontakt**

Dr. Ing. Ludvík Tvarůžek, [tvaruzek@vukrom.cz](mailto:tvaruzek@vukrom.cz), Agrotest fyto, s.r.o., Havlíčkova 2787, 767 01 Kroměříž

## Inhibiční efekt vybraných rostlinných extraktů proti *Monilinia laxa*

Inhibitory effect of selected plant extracts against *Monilinia laxa*

Žabka M, Militká T.

Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu

### Abstrakt

Vodní extrakty specifických částí celkem 3 vybraných druhů léčivých a/nebo aromatických rostlin *Laurus nobilis*, *Urtica dioica* a *Glycyrrhiza glabra* byly užity při studii s cílem potvrdit vysokou účinnost a praktické použití v alternativní ochraně proti *Monilinia laxa*, původci moniliové spály peckovin. Na základě dose response křivek *M. laxa*, vystavené koncentračnímu gradientu extraktů, byla potvrzena vhodnost selekce těchto druhů, jejich efektivita a potenciál jejich praktické použití, jako výhodné složky vodorozpustných či vodou extrahovatelných ekologicky bezpečných antifungálních preparátů na přírodní bázi. Vodní extrakce byla jako metoda vybrána a testována s ohledem na její jednoduchou potenciální realizaci v praxi.

**Klíčová slova:** Rostlinný extrakt, Antifungální aktivita, *Monilinia laxa*, Botanické fungicidy.

### Abstract

Aqueous extracts of specific plant parts from 3 selected medicinal and/or aromatic species, *Laurus nobilis*, *Urtica dioica*, and *Glycyrrhiza glabra*, were used in this study with the aim of confirming their high efficacy and practical applicability in alternative protection against *Monilinia laxa*, the causal agent of brown rot in stone fruit. Based on the dose–response curves of *M. laxa* exposed to concentration gradients of the extracts, the suitability of the selected species, their effectiveness, and their potential for practical use were confirmed. These extracts demonstrated promise as advantageous components of water-soluble or water-extractable, environmentally safe, natural antifungal formulations. The aqueous extraction method was selected and evaluated with regard to its simplicity and potential applicability under practical conditions.

**Keywords:** Plant extract, Antifungal activity, *Monilinia laxa*, Botanical fungicides.

### Úvod

*Monilinia laxa* patří společně s *M. fructicola*, *M. fructigena* mezi hlavní původce hniloby plodů a závažné spály ovocných stromů. Tyto patogenní druhy hub způsobují jedno z nejzávažnějších ale též nejběžnějších onemocnění peckovin a jádřovin, a to jak v sadech tak i po sklizni. Houby ze skupiny *Monilinia* patří obecně mezi polycyklické druhy patogenů značící výskyt více infekčních cyklů v sezóně. Vedou k výrazným ztrátám na výnosech a značně se podílejí na skládkových hnilobách (Garcia-Benitez et al 2020; Martini a Mari, 2014). *Monilinia laxa* (dříve známá též jako *Monilia laxa*) bývá hlavním původcem moniliové spály peckovin a byla vybrána jakou modelový cílový druh pro tuto studii. Ochrana rostlin obecně, rostlinných produktů a zdravotní bezpečnost potravin vyžaduje potlačování a kontrolu výskytu houbových patogenů. Z praktického hlediska jsou nejčastěji patogenní houby kontrolovány aplikací syntetických komerčních fungicidů. Nastávajícím problémem je však neustálý tlak, především v rámci zelené dohody v EU, na omezování množství a spektra povolených přípravků a účinných látek. Ochrana proti patogenním houbám se stává čím dál větší výzvou (Brauer et al., 2019; EC 2020). Stále však je ještě dáván prostor pro odborný a více racionální přístup k mnohdy aktivistickým a příliš ambiciózním plánům. Nicméně, v některých případech mohou syntetické fungicidy a jejich rezidua představovat reálné riziko díky přímé či nepřímé toxicitě (Hu a Liu, 2024; Pandey a Rathore, 2023; Tisza et al., 2025). V ekologickém zemědělství je sortiment použitelných látek a prostředků omezený nejvíce. Výzkum alternativních prostředků spočívající v předpokladu účinnosti a současně environmentální bezpečnosti nabývá tím více na významu (Žabka 2022). Velmi výhodné se jeví některé prostředky opírající se o přírodní rostlinné látky, jako jsou různé rostlinné extrakty. Biologická aktivita těchto extraktů je způsobena a ovlivněna přirozeným

obsahem biologicky aktivních látek, zahrnujících např. přirozené terpenoidy, fenoly a alkaloidy, které bývají obecně v rostlinách přítomny (Žabka et al., 2009). Tato práce se zabývá účinností efektivních druhů, které jsou schopny potlačit růst vybraného modelového patogenního druhu *M. laxa*. Tyto efektivní druhy byly též selektovány s předpokladem vývoje botanického preparátů s výhodou jednoduché a především ekonomicky výhodné vodní extrakce. Popisuje porovnání vybraných nejúčinnějších rostlinných druhů ve formě vodních extraktů v modelu koncentračních řad při porovnání dose response křivek patogena *M.laxa*. Navazuje tím také na předchozí výzkum, popsany v naší předchozí práci (viz Žabka 2024)

## **Materiál a metody**

### **Izolace determinace a uchovávání kultury *M.Laxa***

Testovaný izolát cílového patogenního druhu *M. laxa* (Ml-2409MZ) byl čerstvě izolován v roce 2024 pod mikroskopem z infikovaného mumifikovaného plodu třešně. Po dvoustupňovém přečištění (pomocí kultivace na ATB/Chloramphenicol) byla kultura udržována v pracovní laboratorní sbírce v nativním stavu v termostatu při teplotě 18 °C a pravidelně pasážována na potato dextrose agar (PDA). Determinace druhu byla provedena na základě makro a mikro morfologických znaků pod mikroskopem a následně ověřena na základě molekulárně genetických metod na bázi sekvenace a porovnání ITS1 a ITS4 rDNA regionů.

### **Testování inhibičního efektu proti *M. laxa* a selekce testovaných rostlinných druhů**

Inhibiční vlastnosti testovaných rostlinných extraktů na myceliární růst patogenní houby *M. laxa* byly testovány pomocí diluční metody. Rostlinné extrakty byly získány vodní extrakcí vybraných sušených a homogenizovaných vzorků při počáteční teplotě 60 °C. Extrakce byla prováděna po dobu 24 hod. Koncentrace odpovídala v přepočtu ekvivalentu výluhu vždy reprezentující danou pozici v koncentrační řadě 0.05/10; 0.1/10; 0.2/10; 0.4/10 a 0.8/10 droga/voda (w/w). Směs byla poté zfiltrována, doplněna o kultivační médium PDA (potato dextrose agar) a klávoána při teplotě 105 °C po dobu 5 min. Teplota a čas byla ověřena jako mezní nejnižší teplota a kompromis, mezi hustotou agarového média a nízkým odparem těkavých či termolabilních obsažných látek. Kontrolní sada (čistě PDA) byla připravena stejným způsobem. Připravené Petriho misky (9 cm) byly sterilně naočkovány pomocí myceliárních disků (0,4 cm) odebraných z okrajů 7denních povrchových kultur cílového patogena. Kultivace probíhala po dobu 7 dní ve 4 opakováních, při teplotě 18 °C v termostatu s režimem 14/10 (světlo/tma). Následné srovnání průměru kolonií v porovnání s kontrolními sety bylo převedeno na procentuální vyjádření inhibičního potenciálu pro všechny experimentální koncentrace. Pro tuto studii byl použit rostlinný materiál ze tří významných a dostupných druhů s prokázanou biologickou antifungální aktivitou, a to *Laurus nobilis*, *Glycorhiza glabra* a *Urtica dioica*. Testované rostlinné druhy pro tuto studii byly vybrány na základě primárních skringových testů a jejich výsledků zjištěných v předchozí práci (Žabka 2024). Kritériem byla prakticky možná extrakce vodou a prokázaná inhibice radiálního růstu modelového patogena *M.laxa*  $\geq 70$  % při koncentraci extraktu 40 g/L. Seznam rostlinných druhů a jejich vybraných částí je uveden v **Tab. 1**.

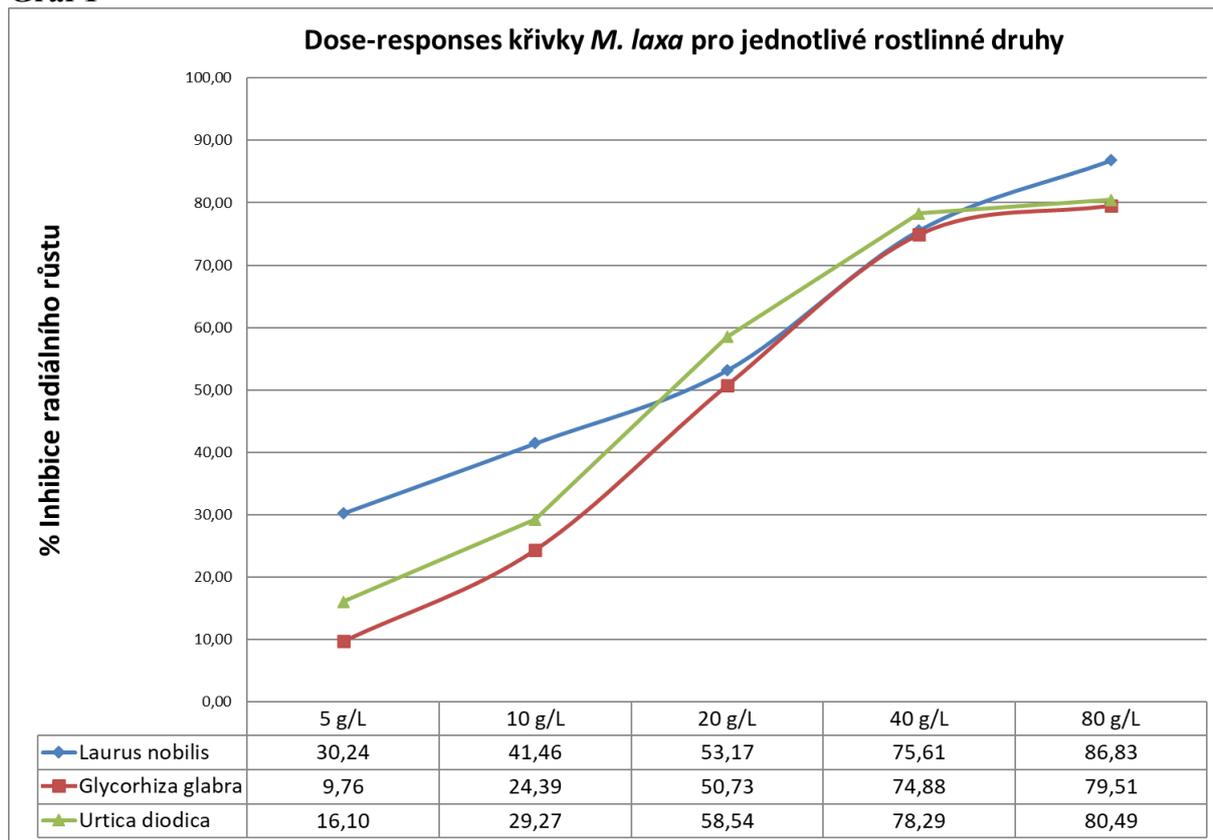
**Tab. 1:** Vybrané rostlinné druhy s vysokým inhibičním efektem proti *M.laxa*

Druh	český název	použitá část
<i>Laurus nobilis</i> L.	vavřík vznešený	list
<i>Urtica dioica</i> L.	kopřiva dvoudomá	list
<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	lékořice lysá	kořen

## Výsledky a diskuse

Výsledky potvrzují vysokou účinnost vodních extraktů vybraných rostlinných druhů. Všechny tři rostlinné druhy potvrdily základní hladinu efektivity ( $\geq 50\%$ ) proti růstu cílového patogena *M.laxa* již od koncentrace 20g/L. Stejně tak všechny tři rostlinné druhy dosáhly i v tomto experimentu vysokou a pro vývoj potenciálních botanických preparátů slibnou hladinu efektivity ( $\geq 70\%$ ) v koncentraci 40g/L. Z průběhu dose-response křivek je patrná podobná citlivost či reakce patogena a efektivita všech vybraných extraktů v celém koncentračním gradientu. Pro všechny tři vybrané rostlinné druhy byla efektivita proti *M. laxa* nejvíce srovnatelná při 40 g/L (v rozmezí 75-78% inhibice). Srovnatelně vysoká hladina inhibice, pohybující se v hladinách  $\geq 70\%$ , byla rovněž tak pozorována u všech třech vybraných rostlinných druhů v předchozí práci (Žabka, 2024) na níž tato studie experimentálně navazuje. V nižších koncentračních bodech je patrná nejvyšší citlivost a inhibice patogena v případě extraktu *L. nobilis*, a to v rozmezí 5-10g/L (**Graf 1**). V nižších koncentracích byla právě zde, u druhu *L. nobilis*, ze všech testovaných druhů předpokládána nejvyšší míra inhibice *M. laxa*. To lze vysvětlit vysokým obsahem antifungálně aktivních složek, jako je částečně ve vodě rozpustný eugenol a jeho izomery iso-eugenol a methyl-eugenol, spolu s dalšími látkami terpenoidní povahy (Belasli et al., 2020). Tyto látky vykazují výraznou schopnost už při nižších koncentracích narušovat buněčné membrány a inhibovat růst mnohých mikroskopických hub (Mssillou et al., 2020). V případě *L. nobilis* je patrné, že i vodní extrakce dokáže zajistit dostatečný obsah těchto jinak poměrně málo polárních a tím i méně vodorozpustných látek, které se významně podílejí na jeho antifungálním účinku. U extraktů *U. dioica* a *G. glabra* byl patrný společně velmi podobný průběh dose-response křivek *M. laxa* v celém koncentračním gradientu. V rozmezí koncentrací 20-40 g/L byla navíc efektivita obou srovnatelná s efektivitou extraktu *L. nobilis*. V případě *U. dioica* naznačoval průběh dose-response křivky dokonce vyšší účinnost než u *L. nobilis*. Pokud uvážíme, že toto koncentrační rozmezí (20-40 g/L) reprezentuje stále dostupnou realizaci, ve smyslu přípravy v praxi, a zároveň vysokou účinnost ( $\geq 50\%$ ) jeví se *U. dioica* velmi slibně i z hlediska nižší ceny na trhu při vývoji botanických preparátů na bázi jednoduché vodní extrakce. Zde se domníváme, že za antifungální aktivitu mohou být zodpovědny sloučeniny typu organických kyselin jako je kyselina kávová a její derivát kyselina chlorogenová s možným synergickým efektem minoritních terpenů, proteinů, dalších fenolů a flavonoidů či vodorozpustných forem křemíku například kyseliny orto-křemičité (Durovic et al., 2024; Behiry et al., 2022). Nejméně, nicméně stále ještě velmi účinným a slibným druhem, jehož vodní extrakt výrazně inhibuje růst houby *M. laxa* byl *G. glabra*. Stejně jako předchozí druhy, ve formě vodního extraktu vykazoval efektivitu ( $\geq 50-75\%$ ) v rozmezí 20–40 g/L. Tedy stále v rozmezí použitelného a jednoduše připravitelného v praxi. V případě *G. glabra* předpokládáme, že inhibiční efekt proti *M. laxa* by mohl být způsoben antifungálně účinnými fenolickými látkami, jako je formononetin, liquiritigenin, a apigenin, stejně tak terpenoidními látkami, převážně saponiny. U všech těchto látek jsou antifungální účinky popisovány (Fatima et al., 2009; Geetha a Roy, 2013; Martins et al., 2016).

Graf 1



### **Závěr**

V této práci, která navazuje a vychází z předchozích skrinigových experimentů, se podařilo potvrdit správnost selekce třech nejvíce potentních rostlinných druhů schopných inhibovat růst významného houbového patogena *M. laxa*, jednoho z významných patogenů ovocných dřevin způsobujících spálu peckovin a hnilobu plodů. Na základě dose response křivek patogena, získaných v prakticky dostupném a realizovatelném koncentračním rozmezí se podařilo prokázat vysokou efektivitu a praktickou použitelnost *L. nobilis*, *G. glabra* a *U. dioica* jako vhodných druhů pro potenciální vývoj ekologicky přijatelných a bezpečných botanických přípravků na přírodní bázi. Tyto rostlinné druhy mají dlouhou tradici využití jak v léčitelství, tak i v kulinářství. Již jednoduchá extrakce ve vodě může vést k výraznému antifungálnímu účinku. Oproti běžně používaným metodám vědecké extrakce s využitím methanolu nebo jiných organických, často nákladných rozpouštědel je vodní výluh bezpečnější alternativou. Přestože řada účinných látek vykazuje vyšší extrakční výtěžnost v organických rozpouštědlech, v této práci jsme prokázali, že i vodní extrakce může zajistit dostatečnou antifungální aktivitu vůči tomuto významnému patogenu.

### **Dedikace**

Tato práce byla financována z následujícího výzkumného projektu: FW06010376

### Seznam použité literatury

- BEHIRY, S. I., PHILIP, B., SALEM, M. Z., AMER, M. A., EL-SAMRA, I. A., ABDELKHALEK, A. a HEFLISH, A., 2022. *Urtica dioica* and *Dodonaea viscosa* leaf extracts as eco-friendly bioagents against *Alternaria alternata* isolate TAA-05 from tomato plant. *Scientific Reports*, 12(1), 16468.
- BELASLI, A., BEN MIRI, Y., ABOUDAOU, M., AÏT OUAHIOUNE, L., MONTAÑES, L., ARIÑO, A. a DJENANE, D., 2020. Antifungal, antitoxigenic, and antioxidant activities of the essential oil from laurel (*Laurus nobilis* L.): Potential use as wheat preservative. *Food Science & Nutrition*, 8(9), 4717–4729.
- BRAUER, V. S., REZENDE, C. P., PESSONI, A. M., DE PAULA, R. G., RANGAPPA, K. S., NAYAKA, S. C., GUPTA, V. a ALMEIDA, F., 2019. Antifungal agents in agriculture: Friends and foes of public health. *Biomolecules*, 9, 21.
- DUROVIC, S., KOJIC, I., RADIC, D., SMYATSKAYA, Y. A., BAZARNOVA, J. G., FILIP, S. a TOSTI, T., 2024. Chemical constituents of stinging nettle (*Urtica dioica* L.): A comprehensive review on phenolic and polyphenolic compounds and their bioactivity. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(6), 3430.
- EUROPEAN COMMISSION, 2020. *Farm to Fork Strategy: For a fair, healthy and environmentally-friendly food system*, May.
- GARCIA-BENITEZ, C., CASALS, C., USALL, J., SÁNCHEZ-RAMOS, I., MELGAREJO, P. a DE CAL, A., 2020. Impact of postharvest handling on preharvest latent infections caused by *Monilinia* spp. in nectarines. *Journal of Fungi*, 6(4), 266.
- HU, Y. a LIU, G., 2024. Food pesticide residues monitoring and health risk assessment. *Foods*, 13(3), 474. ISSN 2304-8158. DOI 10.3390/foods13030474.
- MARTINI, C. a MARI, M., 2014. *Monilinia fructicola*, *Monilinia laxa* (*Monilinia* rot, brown rot). In: *Postharvest decay*. Academic Press, pp. 233–265.
- MARTINS, N., FERREIRA, I. C., HENRIQUES, M. a SILVA, S., 2016. In vitro anti-*Candida* activity of *Glycyrrhiza glabra* L. *Industrial Crops and Products*, 83, 81–85.
- MSSILLOU, I., AGOUR, A., EL GHOZI, A., HAMAMOUCHE, N., LYOUSSI, B. a DERWICH, E., 2020. Chemical composition, antioxidant activity, and antifungal effects of essential oil from *Laurus nobilis* L. flowers growing in Morocco. *Journal of Food Quality*, 2020(1), 8819311.
- PANDEY, G. a RATHORE, H., 2023. Toxicity of strobilurins fungicides: a comprehensive review. *Journal of Chemical Health Risks*, 13(2), s. 207–218. ISSN 2251-6721.
- TISZA, B. B., et al., 2025. Possible genotoxic effects of post-harvest fungicides applied on citrus peels: imazalil, pyrimethanil, thiabendazole and their mixtures. *Foods*, 14(7), 1264. ISSN 2304-8158. DOI 10.3390/foods14071264.
- ZABKA, M., 2022. Antifungal efficacy and convenience of *Krameria lappacea* new alternatives of antifungal treatment. *Agronomy*, 12(11), 2599.
- ZABKA, M., PAVELA, R. a SLEZAKOVA, L., 2009. Antifungal effect of *Pimenta dioica* essential oil against dangerous pathogenic and toxinogenic fungi. *Industrial Crops and Products*, 30, 250–253.
- ZABKA, M., 2024. Skríníng antifungálních vlastností vybraných rostlinných extraktů proti *Monilinia laxa*. *Úroda*, 12/2024, 177–181.

### Kontaktní adresa

Ing. Martin Žabka, Ph.D

e-mail: [martin.zabka@carc.cz](mailto:martin.zabka@carc.cz);

Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i.,

Drnovská 507, Praha6 -Ruzyně

### 3. Technologie pěstování plodin a ekologie

#### Vliv nanoprimingu na dynamiku klíčení na příkladu osiv celeru

The effect of nanopriming on the dynamics of germination using celery seeds as an example

Baránek M., Pečenka J., Tekielska D., Čechová J., Pekárková J., Richtera L.

<sup>1</sup>Mendeleum - ústav genetiky, Zahradnická fakulta v Lednici, MENDELU; <sup>2</sup>Ústav chemie a biochemie, Agronomická fakulta, MENDELU

#### Abstrakt

Vliv nanoprimingu na semena celeru (*Apium graveolens*, odrůda Albín) byl hodnocen s využitím nanočástic SiO<sub>2</sub>, nanokompozitu rGO–Cu a jejich směsi při expozicích 3, 6 a 9 hodin. Na základě denního hodnocení vzcházení byly odvozeny ukazatele dynamiky klíčení T<sub>10</sub> a T<sub>50</sub>. Nejvýraznější urychlení raného nástupu klíčení i posun mediánu bylo dosaženo u nanočástic SiO<sub>2</sub> po 6 h (zkrácení T<sub>10</sub> vůči suché kontrole o ~1,8 dne, ~25 %, a T<sub>50</sub> o ~1 den, ~12 %; rozdíly statisticky průkazné). Samotné máčení ve vodě (mokrý kontrola) přineslo částečný efekt, nicméně SiO<sub>2</sub> (6 h) vykázalo nejnižší T<sub>10</sub> i T<sub>50</sub> napříč variantami. Směs rGO–Cu + SiO<sub>2</sub> obvykle klíčení tlumila a prodloužení expozice na 9 h vedlo spíše ke zpomalení či vyrovnání s kontrolami. Výsledky potvrzují potenciál SiO<sub>2</sub> nanoprimingu ke zrychlení dynamiky klíčení celeru; pro přenos do praxe je žádoucí ověření v polních podmínkách a napříč genotypy.

#### Klíčová slova:

nanopriming osiv, kořenové zeleniny, dynamika klíčení, oxid křemičitý, grafen oxid

#### Abstract

Effect of nanopriming on celery seeds (*Apium graveolens*, cv. Albín) was evaluated using SiO<sub>2</sub> nanoparticles, and rGO–Cu nanocomposite, and their mixture, with exposure times of 3, 6, and 9 h. From daily emergence counts, germination dynamics were derived as T<sub>10</sub> and T<sub>50</sub>. The most pronounced acceleration of both germination onset and median time was observed for SiO<sub>2</sub> after 6 h (T<sub>10</sub> shortened vs. dry control by ~1.8 days, ~25%, and T<sub>50</sub> by ~1 day, ~12%; differences statistically significant). Water soaking alone (wet control) had a partial effect; nevertheless, SiO<sub>2</sub> (6 h) yielded the lowest T<sub>10</sub> and T<sub>50</sub> across treatments. The rGO–Cu + SiO<sub>2</sub> mixture generally suppressed germination, and extending exposure to 9 h tended to slow germination or bring it in line with controls. These results support the potential of SiO<sub>2</sub> nanopriming to accelerate celery germination dynamics; verification under field conditions and across genotypes is warranted for practical deployment.

#### Keywords:

seed nanopriming, *Apiaceae*, germination dynamics, silica, graphene oxide

#### Úvod

Nanočástice (NPs) jsou charakteristické tím, že mají jednu nebo více rozměrových os v rozsahu 1–100 nm. Mohou se skládat z různých prvků a jejich sloučenin, zejména však z uhlíku, kovů, oxidů kovů a různých organických látek (Zítka et al., 2013; Elmer & White, 2018; Fernando et al., 2018). Tvar NPs může být plochý, sférický, válcovitý, dutý, kuželovitý, spirálovitý, nepravidelný atd., přičemž jejich povrch může být homogenní nebo nerovnoměrný s různými variacemi (Machado et al., 2015). Díky vysokému poměru povrchu k objemu se vyznačují značnou reaktivitou, což je činí jedinečnými pro využití v mnoha průmyslových odvětvích včetně zemědělství. Jedním z velmi častých způsobů využití je aplikace NPs jako nanohnojiv za účelem zvýšení produkce plodin. Další významnou skupinu tvoří nanopesticidy (Hong et al., 2021), které využívají silný antimikrobiální účinek mnoha typů NPs. Relativně novou oblastí využití NPs v zemědělství je jejich použití při úpravě osiva. Úprava osiva za účelem zlepšení

jeho užitečných vlastností se obecně nazývá priming. Na základě charakteru primingových činidel zahrnují tyto metody hydro-priming, halo-priming, osmo-priming nebo hormonální priming. Nanopriming je metoda ošetření semen pomocí různých druhů NPs (Mahakham et al., 2017; Abbasi Khalaki et al., 2020). Podle zamýšleného použití lze nanopriming rozdělit na různé aplikace, jejichž cílem je: i) zlepšit zdravotní stav semen, zejména snížením kontaminace nežádoucími mikroorganismy ii) zvýšení tolerance k abiotickým stresovým faktorům iii) zlepšení produkčních vlastností rostlin, které ze semen ošetřených touto metodou vyrůstají (Wohlmuth et al., 2022). Tyto procesy fungují prostřednictvím interakce NPs s buněčnými mechanismy v klíčovém semenech, kde mohou regulovat metabolické dráhy nebo zlepšovat příjem vody a živin (Imtiaz et al., 2023). Mezi nejčastěji používané NPs patří oxid křemičitý, oxid zinečnatý, nanočástice stříbra nebo uhlíkové nanomateriály, které mohou působit jak stimulačním, tak ochranným způsobem (Wohlmuth et al., 2022). Výzkumy ukazují, že nanopriming může významně přispět ke zvýšení výnosu plodin, čímž se stává perspektivním nástrojem v moderním zemědělství (Marthandan et al., 2020; Do Espirito Santo Pereira et al., 2021).

Jedním z pozorovaných efektů nanoprimingu je zrychlení dynamiky klíčení ošetřených semen (Mahakham et al., 2017, Ochoa-Chaparro et al., 2025). Využití tohoto aspektu je teoreticky významné u rostlinných druhů, jejichž klíčení je rozloženo do relativně dlouhých období. Mezi ně lze zařazovat například zástupce kořenových zelenin z okruhu čeledi miříkovité (*Apiaceae*), u kterých má být dle protokolů ISTA (International Seed Technology Association) hodnocen proces klíčení 14 až 28 dní (ISTA 2023). V předložené studii bylo na osivo vybrané odrůdy celeru působeno NPs na bázi oxidu křemičitého (dále  $\text{SiO}_2$ ), nanokompozitem kombinujícím redukováný grafenoxid a měďnaté ionty (dále rGO-Cu) a jejich směsí. Následně byl hodnocen vliv délky ošetření na dynamiku klíčení semen v jednotlivých dnech po výsevu, vyhodnocen dopad nanoprimingu na proces klíčení ve srovnání s kontrolami a na základě získaných výsledků byly identifikovány perspektivní kombinace pro případné aplikace v praxi nebo další optimalizační výzkum.

## **Materiál a metody**

### Použité nanočástice:

K ošetření byly použity NPs na bázi  $\text{SiO}_2$ , nanokompozitní materiál rGO\_Cu a jejich směs. NPs byly syntetizovány na Ústavu chemie a biochemie AF MENDELU, kde byla zároveň provedena jejich fyzikálně-chemická charakterizace. Nanokompozit rGO\_Cu byl tvořen v řádu jednotek nanometrů tlustými listy redukováného grafenoxidu (rGO) o průměrných planárních rozměrech několik  $\mu\text{m}$ , na jejichž povrchu byly rovnoměrně navázány NPs oxidu měďnatého ( $\text{CuO}$ ). Koncentrace mědi v roztoku činila  $2911 \text{ mg Cu} \cdot \text{ml}^{-1}$ . U  $\text{SiO}_2$  NPs byla stanovena průměrná velikost 125 nm. Pracovní roztoky byly připraveny jako vodné disperze s koncentrací  $150 \text{ mg Cu} \cdot \text{l}^{-1}$  pro rGO\_Cu a  $1600 \text{ mg SiO}_2 \cdot \text{l}^{-1}$  pro částice na bázi  $\text{SiO}_2$ . Směsná suspenze obsahovala obě složky v uvedených koncentracích.

### Rostlinný materiál:

Experiment zahrnoval osivo odrůdy celeru Albín (*Apium graveolens*). Dle protokolů ISTA se u tohoto druhu udává doba klíčení 21 dní. Osivo bylo poskytnuto společností Moravoseed CZ a.s.

### Nanopriming osiv

Osivo bylo máčeno po dobu 3, 6 a 9 hodin na laboratorní třepačce při 100 otáčkách za minutu (rpm), aby byl zajištěn rovnoměrný kontakt osiva s nanomateriály. Po ošetření bylo osivo umístěno na klíčovlá v kontrolovaných podmínkách, kde byla teplota nastavena na  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  během dne a  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  v noci. Pro srovnání byly zahrnuty kontrolní varianty: mokrá kontrola (osivo

máčené v demineralizované vodě) a suchá kontrola (neošetřené osivo). Pro každou variantu byly připraveny 3 opakování, každé opakování zahrnovalo 50 vyšetých semen. Výsevy byly následně každý den kontrolovány a až do ukončení experimentu byly počítány počty vyklíčených semen u jednotlivých variant.

### Statistická analýza

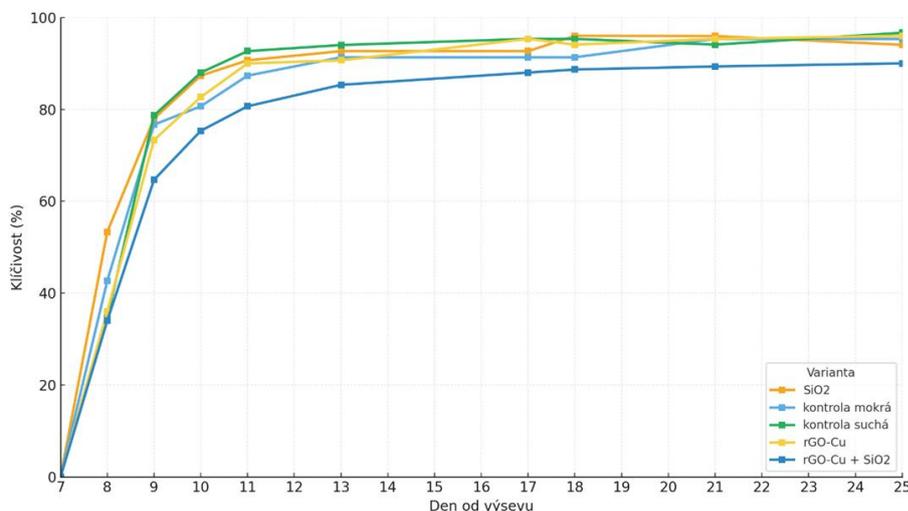
Pro každou kombinaci varianty ošetření a odrůdy byla v jednotlivých dnech po výsevu zaznamenána kumulativní procentická vzházivost. Procenta byla vždy vztažena na celé počty na úrovni opakování. Časový průběh kumulativní vzházivosti byl v každé variantě modelován tříparametrickou rostoucí log-logistickou funkcí  $p(t) = A / (1 + (T_{50}/t)^b)$ , kde  $A$  představuje horní asymptotu (maximálně dosažitelný podíl),  $T_{50}$  čas dosažení 50 % asymptoty (medián klíčení) a  $b$  parametr strmosti. Parametry ( $A$ ,  $T_{50}$ ,  $b$ ) byly určeny samostatně pro každou variantu nelineární regresí metodou nejmenších čtverců v prostředí programu TIBCO Statistica. Z odhadů parametrů byly odvozeny charakteristiky  $T_q$ , tj. doby dosažení  $q$ -násobku asymptoty, v uzavřeném tvaru  $T_q = T_{50} / ((1/q - 1)^{1/b})$ . Primárně byly reportovány  $T_{10}$  (čas raného nástupu) a  $T_{50}$  (medián).

Pro tyto ukazatele byly stanoveny 95% intervaly spolehlivosti na základě profilové "likelihood"; pokud nebyla k dispozici, vycházely intervaly z asymptotické aproximace (standardních chyb odhadu). Rozdíly mezi variantami byly hodnoceny porovnáním modelů se sdílenými vs. oddělenými parametry (extra-sum-of-squares F-test). Při vícenásobných srovnáních byla použita Holmová korekce; rozdíly s  $p_{\text{Holm}} < 0,05$  byly považovány za statisticky významné.

## Výsledky

### 3 hodiny ošetření

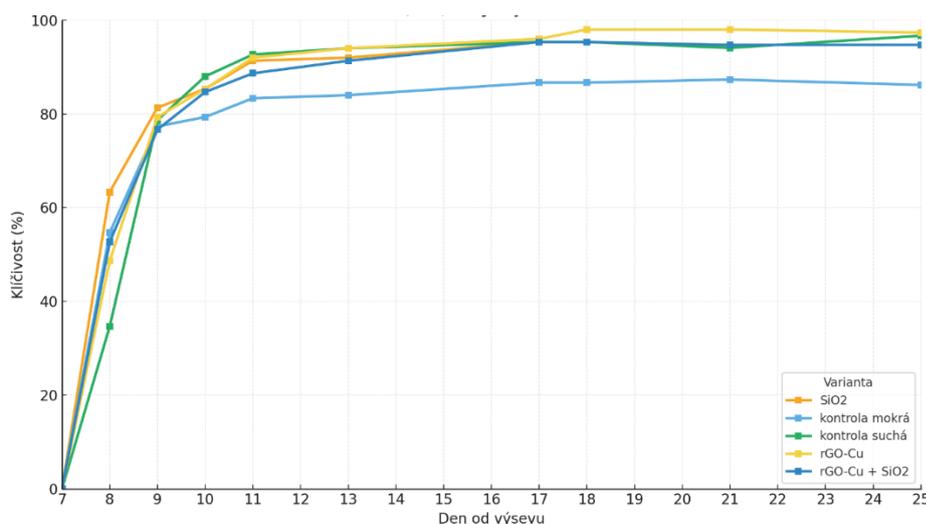
Výsledky hodnocení klíčivosti u jednotlivých variant ošetření osiv odrůdy Albín (celer) po dobu 3 hodiny jsou zachyceny v rámci obrázku č. 1. Ze zachyceného vývoje klíčivosti je zřejmé zrychlení klíčivosti u varianty NPs na bázi  $\text{SiO}_2$  ve srovnání se všemi ostatními variantami. V dalších dnech po výsevu se trend klíčivosti u většiny variant srovnává. Výjimkou je varianta ošetřená směsí NPs na bázi  $\text{SiO}_2$ , u které je dosahováno znatelně menších klíčivosti ve většině termínů hodnocení. Parametry prostřednictvím kterých byl hodnocen dopad ošetření na dynamiku klíčení byly hodnoceny: i)  $T_{10}$ , což představuje hodnotu, kdy vyklíčilo 10% vyšetých semen, která byla vypočtena dle strmosti vývoje klíčení u jednotlivých variant, ii)  $T_{50}$ , což představuje hodnotu, kdy vyklíčilo 50% vyšetých semen u jednotlivých variant. Hodnoty dosažené u jednotlivých ošetřených variant jsou uvedeny v rámci souhrnné tabulky č. 1.



Obrázek č. 1: Vývoj klíčení osiv odrůdy Albín (celer) u jednotlivých variant po 3 hodinách ošetření

### 6 hodin ošetření

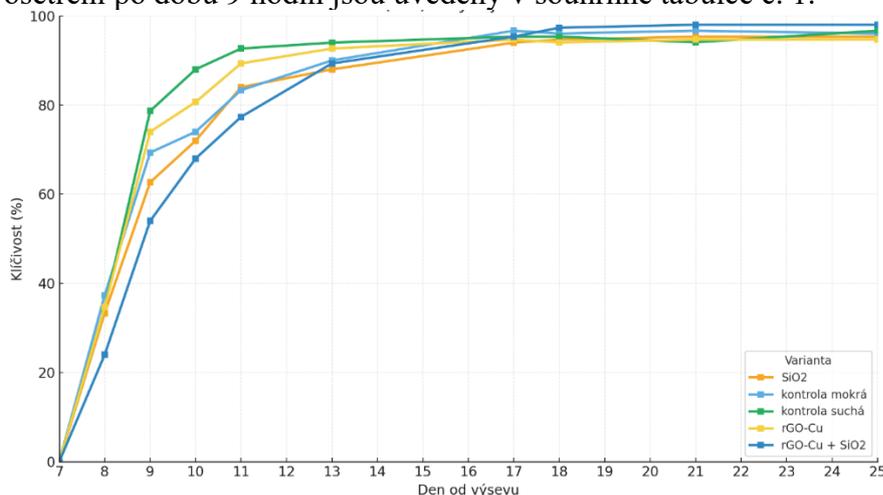
Další měřenou skupinou bylo osivo odrůdy Albín (celer) ošetřované vybranými NPs po dobu 6 hodin, přičemž vývoj klíčivosti v jednotlivých dnech po výsevu zachycuje obrázek č. 2. I v případě této skupiny variant je zřejmý nejrychlejší nástup klíčení u varianty ošetřené NPs na bázi SiO<sub>2</sub>, přičemž v následných dnech po výsevu se trend klíčivosti mezi variantami vyrovnává. Nejmenší hodnoty klíčivosti jsou pak opět dosahovány u směsi nanočástic SiO<sub>2</sub> + rGO-Cu. Dynamika klíčení prostřednictvím parametrů T<sub>10</sub> a T<sub>50</sub> pro tuto skupinu variant je pak zhodnocena v souhrnné tabulce č. 1.



Obrázek č. 2: Vývoj klíčení osiv odrůdy Albín (celer) u jednotlivých variant po 6 hodinách ošetření

### 9 hodin ošetření

Poslední měřenou skupinou byla osiva ošetřovaná po dobu 9 hodin. Z přiloženého grafu klíčivosti v jednotlivých dnech po ošetření (viz obrázek č. 3) jsou zřejmé změny v trendech ve srovnání s ošetřením pod dobu 3 a 6 hodiny. V období mezi 9 a 13 dnem po výsevu vychází z hlediska klíčivosti nejlépe varianta “suchá kontrola”, která nebyla vystavena žádným vnějším vlivům. V následujících dnech se pak klíčivosti dosahované u jednotlivých variant srovnávají, žádná z nich nevykazuje výrazně vyšších nebo nižších hodnot. Hodnoty klíčivosti T<sub>10</sub> a T<sub>50</sub> u ošetření po dobu 9 hodin jsou uvedeny v souhrnné tabulce č. 1.



Obrázek č. 3: Vývoj klíčení osiv odrůdy Albín (celer) u jednotlivých variant po 9 hodinách ošetření

V tabulce č. 1 jsou sumarizovány výsledky dosažené u jednotlivých délek ošetření, přičemž lze zaznamenat několik zajímavých skutečností nebo trendů při srovnání kontrol a nanočásticemi ošetřených variant. Absolutně nejmenší hodnota  $T_{10}$  (dosažení 10% vyklíčených osiv) byla naměřena u varianty ošetřené NPS na bázi  $\text{SiO}_2$  po dobu 6 hodin. Je zřejmé, že ve srovnání se suchou kontrolou došlo u této nanočástice ke zkrácení o 1.79 dne, což znamená zkrácení o 25 %. I pro parametr  $T_{50}$  (50 % vyklíčených semen) bylo dosaženo nejnižší hodnoty u varianty ošetřené NPs na bázi  $\text{SiO}_2$  ošetřované po dobu 6 hodin, kdy ve srovnání se suchou kontrolou došlo ke zkrácení o cca 1 den (12 %). Oba tyto nalezené rozdíly jsou také statisticky průkazné (viz legenda k tabulce č.1. Dále je zřejmé, že ošetření po dobu 9 hodin již nepřinášelo pozitivní výsledky z hlediska dynamiky klíčení, kdy téměř u všech variant byl nástup klíčení nejpomalejší ve srovnání s kratšími časy ošetření.

Tabulka 1: Hodnoty  $T_{10}$  a  $T_{50}$  dosahované u jednotlivých variant ošetření osiva

Varianta	$T_{10}^{**}$ (3 h)	$T_{10}$ (6 h)	$T_{10}$ (9 h)	$T_{50}^{***}$ (3 h)	$T_{50}$ (6 h)	$T_{50}$ (9 h)
kontrola suchá	7.26	7.26	7.26	8.25	8.25	8.25
kontrola mokrá	6.65	6.24	6.21	8.06	7.59	8.3
$\text{SiO}_2$	6.3*	5.47*	6.47*	7.79*	7.27*	8.49
rGO–Cu	6.95	6.44*	6.98	8.27	7.95*	8.28
rGO–Cu + $\text{SiO}_2$	6.7*	6.06*	6.74	8.3	7.76*	8.98

\* - hodnoty statisticky průkazně rozdílné ve srovnání se suchou kontrolou

\*\* - dny potřebné k dosažení 10% vyklíčených osiv

\*\*\* - dny potřebné k dosažení 50% vyklíčených osiv

■ - absolutně nejvyšší hodnoty  $T_{10}$  a  $T_{50}$  mezi variantami

■ - absolutně nejnižší hodnoty  $T_{10}$  a  $T_{50}$  mezi variantami

## Diskuze

V předložené studii byly porovnávány účinky nanoprimingu semen celeru (*Apium graveolens*, odrůda Albín) za použití NPs na bázi oxidu křemičitého ( $\text{SiO}_2$ ), nanokompozitu rGO–Cu a jejich směsi v různých délkách ošetření (3, 6 a 9 hodin). To vše v situaci, kdy z předchozích experimentů je pro dané NPs známo vhodné koncentrační rozmezí pro nanopriming (Wohlmuth et al., 2022; Wohlmuth et al., 2024). Vyhodnocení časového průběhu klíčení ukázalo, že nejvýraznější urychlení rané fáze vzcházení ( $T_{10}$ ) i posun mediánu klíčení ( $T_{50}$ ) bylo zaznamenáno u ošetření  $\text{SiO}_2$  po dobu 6 hodin. To je v souladu s dalšími pracemi, které poukazují na zlepšené parametry klíčivosti při nanoprimingu s NPs na bázi  $\text{SiO}_2$  (Hasanaklou et al., 2023; Ochoa-Chaparro et al., 2025). Naopak směsná varianta rGO–Cu +  $\text{SiO}_2$  vykazovala v několika termínech nižší klíčivost a ošetření trvající 9 hodin obecně vedlo ke zpomalení nástupu klíčení, případně k vyrovnání s kontrolami. Z dosažených výsledků je zřejmé, že ve srovnání se suchou kontrolou mělo nezanedbatelný efekt na snížení  $T_{10}$  i  $T_{50}$  samotné máčení osiva ve vodě. To naznačuje, že zařazení mokré kontroly (představující de facto hydro-priming) by pro kritické posouzení účinku NPs mělo být nedílnou součástí podobně zaměřených experimentů, podobně jako k tomu dospěl Mahakham et al. (2017). I přes tento základní efekt však  $\text{SiO}_2$  (6 h) přineslo nejnižší  $T_{10}$  a  $T_{50}$  napříč variantami (zkrácení  $T_{10}$  přibližně o 1,8 dne a  $T_{50}$  zhruba o 1 den vůči suché kontrole. Možné mechanistické vysvětlení zahrnuje (i) modifikaci

hydratace a vodivosti osemení, (ii) ovlivnění redoxní rovnováhy a ROS-signalingu během před-klíční aktivace metabolismu a (iii) mikro-nutriční efekt křemíku, který může nepřímo stabilizovat buněčné stěny a membrány v počátečních fázích imbibice (Hasanaklou et al., 2023; Imtiaz et al., 2023).

Délka expozice se ukázala jako klíčový optimalizační parametr. Zatímco 6 hodin poskytlo nejvýraznější benefity, prodloužení na 9 hodin již pravděpodobně způsobilo nadměrnou zátěž osiva (např. osmotická či oxidační), jež se v rané dynamice projeví zpomalením. Z tohoto pohledu se jeví jako perspektivní použití přístupů, které by posílily pronikání NPs do osiva a umožnily tak zkrácení expozice osiv vodným podmínkám. (např. řízený podtlak, vakuová infiltrace, aktivní sušení), které jsou známy z postupů testovací inokulace semen patogeny (ISTA Seed Health Committee, 2021). Tyto zásahy však musí být pečlivě optimalizovány s ohledem na potřebu vyvážit infiltraci NPs a imbibici semen a s ohledem na prevenci poškození embrya.

Získané křivky dynamiky klíčení vykazují zrychlení dynamiky u vybraných variant, přičemž v následných termínech po výsevu se úroveň klíčivosti mezi variantami zpravidla vyrovnává. Tato kvalitativní změna zrychlené klíčivosti může působit pozitivně zejména v podmínkách stresu při výsevu (kolísání teploty, perioda sucha po setí), tuto hypotézu je však nutné dále ověřit vhodně koncipovanými experimenty.

Z předchozích experimentů realizovaných v oblasti nanoprímingu osiv členy autorského kolektivu je zřejmé, že intenzita odezvy na nanopríming se může lišit dle daného genotypu nebo mezi různými rostlinnými druhy. Je proto vhodné ověřit přenositelnost pozorovaných trendů a použitého protokolu napříč genotypy celeru nebo i dalšími zástupci čeledi *Apiaceae*, ideálně v podmínkách blízkých praxi.

## Závěr

Nejvýraznější urychlení raného klíčení ( $T_{10}$ ) i posun mediánu ( $T_{50}$ ) bylo dosaženo ošetřením  $\text{SiO}_2$  po dobu 6 hodin. Směsná varianta  $\text{rGO-Cu} + \text{SiO}_2$  efekt spíše tlumila a prodloužení ošetření na 9 hodin vedlo k vyrovnání nebo zhoršení dynamiky klíčení vůči kontrolám. Hydro-priming (mokrý kontrola) přinesl částečný přínos, nicméně  $\text{SiO}_2$  (6 h) vykazovalo nadřazený účinek. Navazující experimenty by měly ověřit efekt v polních podmínkách a jeho stabilitu napříč příbuznými druhy, odrůdami, šaržemi.

## Literatura

- Abbasi Khalaki, M., Moameri, M., Asgari Lajayer, B., & Astatkie, T. (2020). Influence of nano-priming on seed germination and plant growth of forage and medicinal plants. *Plant Growth Regulation*, 93, 13–28.
- Do Espirito Santo Pereira, A., Caixeta Oliveira, H., Fernandes Fraceto, L., & Santaella, C. (2021). Nanotechnology potential in seed priming for sustainable agriculture. *Nanomaterials*, 11(2), 267.
- Elmer, W., & White, J. C. (2018). The future of nanotechnology in plant pathology. *Annual Review of Phytopathology*, 56\*, 111–133.
- Fernando, S. S. N., Gunasekara, T. D. C. P., & Holton, J. (2018). Antimicrobial nanoparticles: Applications and mechanisms of action. *Sri Lankan Journal of Infectious Diseases*, 8\*(1), 2–11.
- Hasanaklou, N. T., Mohagheghi, V., Hasanaklou, H. T... & Dalvand, Y. (2023). Seed nano-priming using silica nanoparticles: effects in seed germination and physiological properties of *Stevia Rebaudiana* Bertoni. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 10(1), 96.
- Hong, J., Wang, C., Wagner, D. C., Gardea-Torresdey, J. L., He, F., & Rico, C. M. (2021). Foliar application of nanoparticles: Mechanisms of absorption, transfer, and multiple

- impacts. *Environmental Science: Nano*, 8, 1196–1210.
- Imtiaz, H., Shiraz, M., Mir, A. R., & Siddiqui, H. (2023). Nano-priming techniques for plant physio-biochemistry and stress tolerance. *Journal of Plant Growth Regulation*.
- ISTA Seed Health Committee. (2021). Organizing and analyzing results of the Seed Health Proficiency Tests (PT-P-03, Version 3.0). International Seed Testing Association. <https://www.seedtest.org/api/rm/647V48YB6FBPKVV/pt-p-03-organizingandanalysingshpts3-0.pdf>
- International Seed Testing Association. (2018). \*Handbook on seedling evaluation\* (4th ed.). International Seed Testing Association.
- International Seed Testing Association (ISTA). (2023). International Rules for Seed Testing: 2023 Edition. Bassersdorf, Switzerland: ISTA.
- Mahakham, W., Sarmah, A. K., Maensiri, S., & Theerakulpisut, P. (2017). Nanopriming technology for enhancing germination and starch metabolism of aged rice seeds using phytosynthesized silver nanoparticles. *Scientific Reports*, 7, 8263.
- Machado, S., Pacheco, J. G., Nouws, H. P., Albergaria, J. T., & Delerue-Matos, C. (2015). Characterization of green zero-valent iron nanoparticles produced with tree leaf extracts. \*Science of the Total Environment, 533\*, 76–81.
- Marthandan, V., Geetha, R., Kumutha, K., Renganathan, V. G., Karthikeyan, A., & Ramalingam, J. (2020). Seed Priming: A Feasible Strategy to Enhance Drought Tolerance in Crop Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(21), 8258.
- Ochoa-Chaparro, E. H., Patiño-Cruz, J. J., Anchondo-Páez, J. C., Pérez-Álvarez, S., Chávez-Mendoza, C., Castruita-Esparza, L. U., ... & Sánchez, E. (2025). Seed Nanopriming with ZnO and SiO<sub>2</sub> Enhances Germination, Seedling Vigor, and Antioxidant Defense Under Drought Stress. *Plants*, 14(11), 1726.
- Wohlmuth, J., Tekielska, D., Čechová, J., & Baránek, M. (2022). Interaction of the nanoparticles and plants in selective growth stages—usual effects and resulting impact on usage perspectives. *Plants*, 11(18), 2405.
- Wohlmuth, J., Tekielska, D., Hakalová, E., Čechová, J., Bytešníková, Z., Richtera, L., & Baránek, M. (2024). Eliminating the Pathogen *Xanthomonas hortorum* pv. *carotae* from Carrot Seeds Using Different Types of Nanoparticles. *Agriculture*, 14(3), 498.
- Zítka, O., Vysoké učení technické v Brně, & Mendelova univerzita v Brně. (2013). \*Moderní nanotechnologie na počátku 21. století: Kolekce učebních textů projektu OPVK NANOTEAM\*. Brno: Vysoké učení technické v Brně.

### Poděkování

Předložená studie vznikla na základě podpory projektu NAZV „Využití inovativního potenciálu nanotechnologií pro zvýšení rentability vybraných oblastí zemědělské produkce“ vedeného pod označením QK22010031.

### Kontaktní adresa

prof. Mgr. Miroslav Baránek, Ph.D  
Mendeleum – ústav genetiky, Zahradnická fakulta v Lednici, Mendelova univerzita v Brně  
Valtická 334  
Lednice, 6914  
Tel.: 519367311, baranek@mendelu.cz



## Reakce vybraných odrůd brambor pro výrobu škrobu na hnojení organicko-minerálním hnojivem Lyckeby koncentrát

Reaction of selected potato varieties for starch production to fertilization with Lyckeby Concentrate organic-mineral fertilizer

Bárta J.<sup>1</sup>, Kasal P.<sup>2</sup>, Stupková A.1, Jarošová M.1, Kuljová M.2, Bártová V.1, Doubek M.1,3, Švajner J.<sup>1</sup>, Kopecký J.<sup>1</sup>, Kusá H.<sup>4</sup>, Henžel V.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta zemědělská a technologická,

<sup>2</sup>Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o., <sup>3</sup>Agrospol Malý Bor, a.s.

<sup>4</sup>Národní centrum pro zemědělský a potravinářský výzkum, v.v.i., <sup>5</sup>Lyckeby Amylex, a.s.

### Abstrakt

Příspěvek se zabývá reakcí čtyř modelových odrůd brambor pro výrobu škrobu (odrůdy Dominátor, Euroresa, Eurostarch, Westamyl) na hnojení organicko-minerálním hnojivem Lyckeby koncentrát (LK) v rámci maloparcelního polního pokusu. Pokus byl realizován v roce 2024 na dvou stanovištích – Lukavec (590 m n. m.) a Valečov (460 m n. m.) a u hodnocených odrůd byly testovány dvě varianty hnojení – varianta s močovinou (120 kg N/ha) a varianta kombinující LK a močovinu (80 kg N/ha v podobě močoviny + 40 kg N/ha v podobě 4 t hnojiva LK). Bylo zjištěno, že u parametrů obsah škrobu, výnos škrobu, obsahu bílkovin a výnos bílkovin byl významný vliv odrůdy a stanoviště. Hlízy ze stanoviště Lukavec měly v průměru o 2,66 % vyšší obsah škrobu a o 0,27 % vyšší obsah bílkovin než ve Valečově. Přímý vliv hnojení nebyl průkazný. Ukázalo se, že část aplikovaného dusíku může být nahrazeno organicko-minerálním hnojivem LK. K vyvození zobecňujících závěrů je nutné provést ročníková opakování pokusu.

**Klíčová slova:** brambory pro výrobu škrobu; výnos hlíz; obsah škrobu; obsah bílkovin

### Abstract

The paper deals with the response of four model potato varieties for starch production (Dominador, Euroresa, Eurostarch, Westamyl) to fertilization with Lyckeby concentrate (LK) organic-mineral fertilizer in a small-plot field trial. The trial was conducted in 2024 at two sites – Lukavec (590 m above sea level) and Valečov (460 m above sea level), and two fertilization variants were tested for the evaluated varieties – a variant with urea (120 kg N/ha) and a variant combining urea and LK (80 kg N/ha in the form of urea + 40 kg N/ha in the form of 4 t of LK fertilizer). It was found that the parameters of starch content, starch yield, protein content, and protein yield were significantly influenced by the variety and site. Tubers from the Lukavec site had an average of 2.66 % higher starch content and 0.27 % higher protein content than those from Valečov. The direct effect of fertilization was not significant. It was shown that part of the applied nitrogen can be replaced by Lyckeby Concentrate organic-mineral fertilizer. To draw general conclusions, it is necessary to repeat the experiment annually.

**Keywords:** potatoes for starch production; tuber yield; starch content, protein content

### Úvod

Pěstování brambor pro výrobu škrobu má v řadě států EU (zejména Německo, Nizozemí, Polsko, Francie, Dánsko, Švédsko, Rakousko) včetně ČR tradici a značný význam (Bárta a kol., 2015). Již delší dobu jsou bramborové hlízy surovinou nejen k získání kvalitního škrobu, ale také pro výrobu bílkovin s ceněnými kvalitativními parametry (Fu et al., 2020; Bhutto et al., 2024; Hu et al., 2024). Ty jsou významně ovlivněny způsobem koncentrace bílkovin z hlízové šťávy (PFJ), která vzniká při zpracování hlíz ve škrobárně jako hlavní vedlejší produkt. Více rozšířena je denaturační technologie kombinující isoelektrické srážení s tepelnou koagulací, která sice negativně ovlivňuje funkční vlastnosti bílkovin (zejména snižuje rozpustnost), ale neovlivňuje příznivou skladbu aminokyselin a díky denaturaci skupiny bílkovin patřících k inhibitorům proteas zlepšuje výslednou stravitelnost vyrobeného bílkovinného koncentráту (Alting et al., 2011; Bárta a kol., 2015). V Nizozemí je provozována také šetrnější, avšak

náročnější technologie adsorpční chromatografie, která je schopna nejen zachovat nativní vlastnosti bílkovin, ale je schopna i obě hlavní frakce bílkovin od sebe oddělit a plně využít jejich vlastnosti v potravinářských, medicinských a průmyslových aplikacích (Alting et al., 2011).

Technologie pro získávání bramborových bílkovin instalovaná v Horažďovicích ve společnosti Lyckeby Amylex a.s. produkuje po procesu izolace bílkovin hlízovou vodu (PW), která obsahuje ještě stále významné množství nebílkovinných dusíkatých látek (cca 40 % z původního množství), ale také značné množství draslíku, ostatních živin a organických látek, které mohou být využity pro aplikaci do půdy jako hnojení před zakládáním porostů polních plodin (Bárta et al., 2015). Výstupní PW obsahuje jen asi 3 % sušiny, což neumožňuje dlouhodobé skladování a efektivní aplikaci na vzdálenější pozemky, nicméně v rámci technologie je PW koncentrována prostřednictvím odparky na sušinu min. 34 %, což zmíněné nedostatky řeší. Vzniká tak koncentrované organicko-minerální hnojivo Lyckeby koncentrát (LK), které může být zpětně, v souladu s principy udržitelného zemědělství a cirkulární ekonomiky, využito pro hnojení brambor nebo jiných polních plodin, jako je např. kukuřice. Cílem práce bylo zhodnotit produkční reakci čtyř modelových odrůd brambor pro výrobu škrobu na aplikaci organicko-minerálního hnojiva LK jako částečné substituce dusíku dodaného minerálním hnojivem.

### **Materiál a metody**

**Maloparcelní polní pokus** byl realizován v roce 2024 na dvou pokusných stanovištích – Lukavec (49.567860 N, 14.982751 E; 590 m n.m.) a Valečov (N 49.6419, E 15.4969; 460 m n.m.). Základní informace o termínech hlavních pracovních operací a charakteristice půd obou experimentálních stanovišť jsou uvedeny v tabulce 1. Na podzim byl pozemek vyhnojen chlévským hnojem – 30 t/ha v Lukavci, 26 t/ha ve Valečově. Na jaře před provedením záhonového odkameňování byla na obou stanovištích polovina experimentálního pozemku vyhnojena kombinací močoviny a hnojiva LK (varianta M+LK) v celkové dávce dusíku 120 kg N/ha (4 t LK/ha = 40 kg N/ha + 80 kg N/ha v podobě močoviny) a druhá polovina byla vyhnojena močovinou (v dávce 120 kg N/ha) jako kontrola (varianta M). Hnojivo LK má pH 5,0 – 7,0 a dle příbalové informace má deklarované následující složení: sušina min. 34 %, v hnojivu je min. 15 % organických látek a dále min. 1 % N, min. 0,6 % P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, min. 5 % K<sub>2</sub>O, min. 0,3 % MgO a min. 0,5 % S. Jednotlivé varianty byly vysázeny do dílčích parcel, které byly vytvořeny vysázením hlíz na odkameněných záhonech v podobě dvourádků dlouhých 4,5 m (na parcele vysázeno 30 hlíz, spon 30 x 90 cm).

**Tabulka 1:** Termíny hlavních pracovních operací a charakteristika půd experimentálních stanovišť

sledovaný parametr	Lukavec	Valečov
<i>termíny hlavních operací</i>		
aplikace hnojiv (močovina, LK)	2. 5. 2024	3. 5. 2024
rýhování a odkameňování	4. 5. 2024	6. 5. 2024
sázení pokusu	13. 5. 2024	14. 5. 2025
sklizeň pokusu	8. 10. 2024	23. 10. 2024
<i>charakteristika půd pozemků</i>		
sušina (%)	84,8	85,7
Nmin (kg/ha)	71	24
P (mg/kg)	64	171
K (mg/kg)	246	159
Mg (mg/kg)	114	147
Ca (mg/kg)	1885	2320
pH	6,6	6,6

Čtyři odrůdy brambor pro výrobu škrobu – Dominátor (polopozdní, Vesa Velhartice, ČR), Euroresa (polopozdní, Europlant, Německo), Eurostarch (polopozdní, Europlant, Německo), Westamyl (polopozdní, Vesa Velhartice, ČR) – byly vybrány pro hodnocení. U každé varianty byly založeny 4 parcely jako 4 opakování. Ochrana proti plevelům byla řešena aplikací preemergentního herbicidu, ochrana proti mandelince bramborové a plísní bramboru byla řešena jednotně pomocí registrovaných insekticidů a fungicidů. Informace o průběhu povětrnosti jsou uvedeny v tabulce 2.

**Tabulka 2:** Měsíční úhrny srážek a průměrné teploty vzduchu v roce 2024 a jejich odchylky od normálu (1991-2020) na stanovištích Lukavec a Valečov.

měsíc	Lukavec				Valečov			
	US24	O-USN	PTV24	O-PTVN	US24	O-USN	PTV24	O-PTVN
1	33	-15	-1,5	-0,3	49	+7	-0,7	+0,8
2	54	+15	5,0	+5,5	64	+30	5,5	+6,0
3	31	-22	6,9	+3,9	46	0	6,8	+3,7
4	28	-11	10,0	+1,9	19	-18	10,1	+1,9
5	106	+38	14,2	+1,4	98	+17	14,4	+1,5
6	54	-38	18,2	+2,0	44	-35	18,2	+1,8
7	136	+40	19,8	+1,8	99	0	19,9	+1,6
8	79	-5	20,6	+2,9	66	-19	20,4	+2,5
9	205	+148	14,7	+1,9	207	+147	14,6	+1,7
10	45	-6	9,6	+1,7	45	-1	9,5	+1,3
11	21	-24	2,7	-0,5	29	-12	2,3	-1,2
12	38	-6	0,8	+1,1	44	-1	0,4	+1,0

**Vysvětlivky:** US24 – měsíční úhrny srážek v roce 2024 (mm); O-USN – odchylka od měsíčních úhrnů srážek (mm); PTV24 – měsíční průměrná teplota vzduchu v roce 2024 (°C); O-PTVN – odchylka od normálu měsíční průměrné teploty vzduchu (°C)

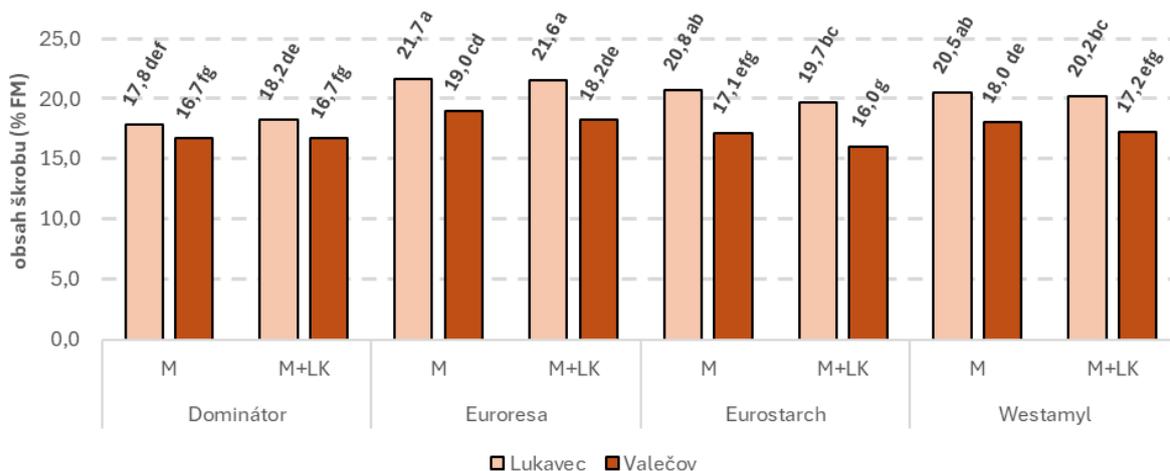
Bramborové hlízy sklizené z jednotlivých parcel byly podrobeny rozborům a analýzám pro stanovení hodnot sledovaných parametrů:

**Výnos hlíz (t/ha)** byl stanoven přepočtem hodnoty hmotnosti hlíz z dílčí parcely na 1 ha. **Obsah škrobu (% FM)** byl stanoven na základě určení měrné hmotnosti na speciální váze dle patentu Hošpes-Pecoldova. **Obsah bílkovin (% FM)** byl stanoven spektrofotometricky prostřednictvím BCA metody využívající bicinchoninové kyseliny (BCA) a redukce med'natého iontu, a to po extrakci sušiny prostřednictvím Tris-HCl pufru (0,0625M Tris-HCl, pH 6,8 + 2 % SDS) podle metodiky Bárta et al. (2008). Parametry **výnos škrobu (t/ha)** a **výnos bílkovin (kg/ha)** byly stanoveny součinem výnosu hlíz a obsahu obou složek. Data byla statisticky zpracována pomocí software Statistica 12 (StatSoft, Tulsa, OK, USA) s využitím třífaktorové analýzy rozptylu a testu středních hodnot (Fisher LSD test). Pro zpracování byly u každé varianty použity 4 opakování.

### Výsledky

Obsah škrobu se v rámci hodnocených odrůd a variant pohyboval v rozpětí 16,00 (Eurostarch, Valečov, M+LK) až 21,68 (Euroresa, Lukavec, M) % čerstvé hmoty hlíz (obr. 1). Statisticky průkazný vliv na obsah škrobu měly faktory odrůda a stanoviště. Zcela jednoznačně byla vyšší úroveň obsahu škrobu na stanovišti Lukavec (průměru pokusu 20,05 % FM) než na stanovišti Valečov (průměru pokusu 17,39 % FM). Vliv hnojení nebyl průkazný, ale ve většině případech byl u kombinace M+LK zjištěn mírný pokles obsahu škrobu v hlízách.

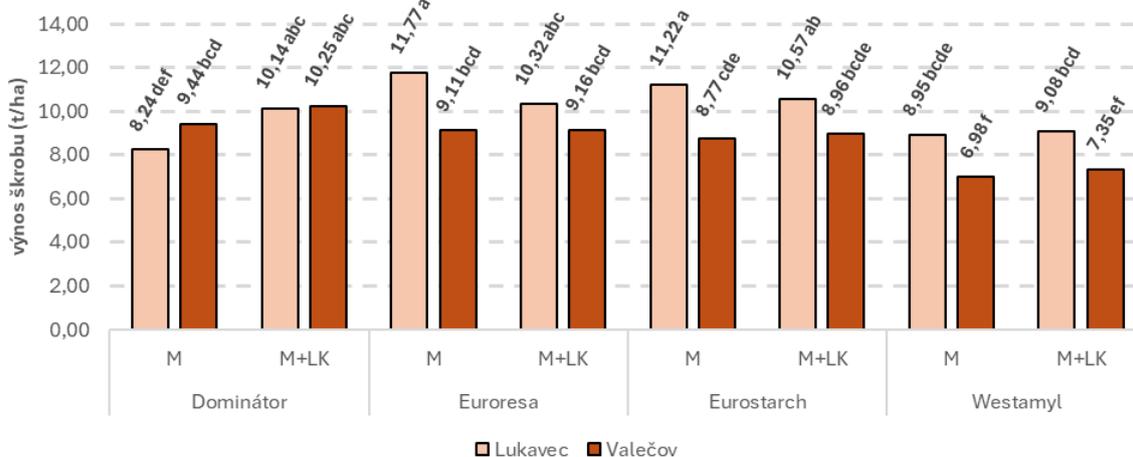
**Obrázek 1:** Obsah škrobu v čerstvé hmotě hlíz (% FM) u hodnocených odrůd brambor pod vlivem způsobu hnojení (M – močovina, M+LK kombinace močoviny a hnojiva LK) a stanoviště.



Rozdílná malá písmena za hodnotami indikují statisticky významný rozdíl na hladině významnosti P < 0,05 (Fisher LSD test).

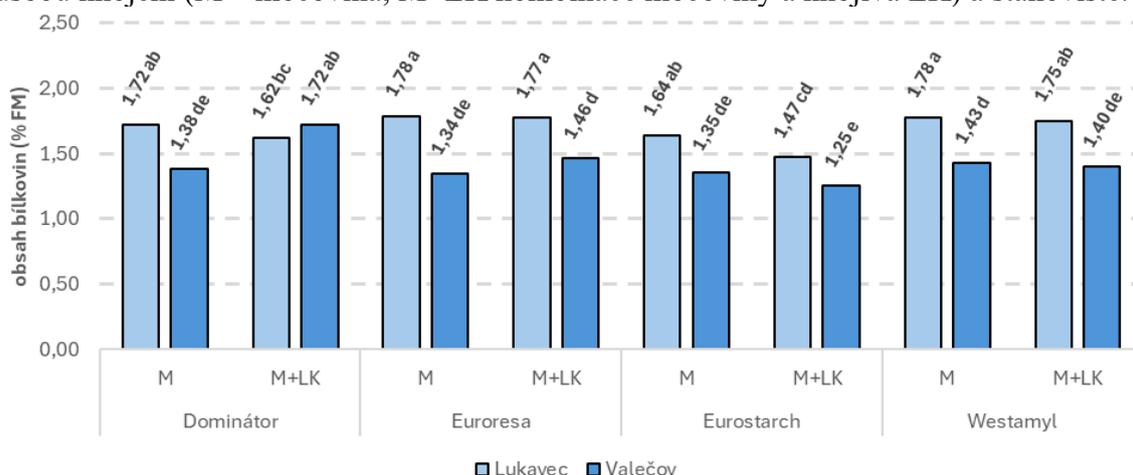
Výnos škrobu (viz obr. 2) byl průkazně ovlivněn stanovištěm (průměrný výnos škrobu v Lukavci byl 10,04 t/ha a ve Valečově 8,75 t/ha), odrůdou a interakcí stanoviště s odrůdou. Vliv hnojení nebyl průkazný, nicméně ve většině případů varianta M+LK nepatrně navyšovala výnos škrobu oproti variantě M.

**Obrázek 2:** Výnos škrobu (t/ha) u hodnocených odrůd pod vlivem způsobu hnojení (M – močovina, M+LK kombinace močoviny a hnojiva LK) a stanoviště.



Rozdílná malá písmena za hodnotami indikují statisticky významný rozdíl na hladině významnosti  $P < 0,05$  (Fisher LSD test).

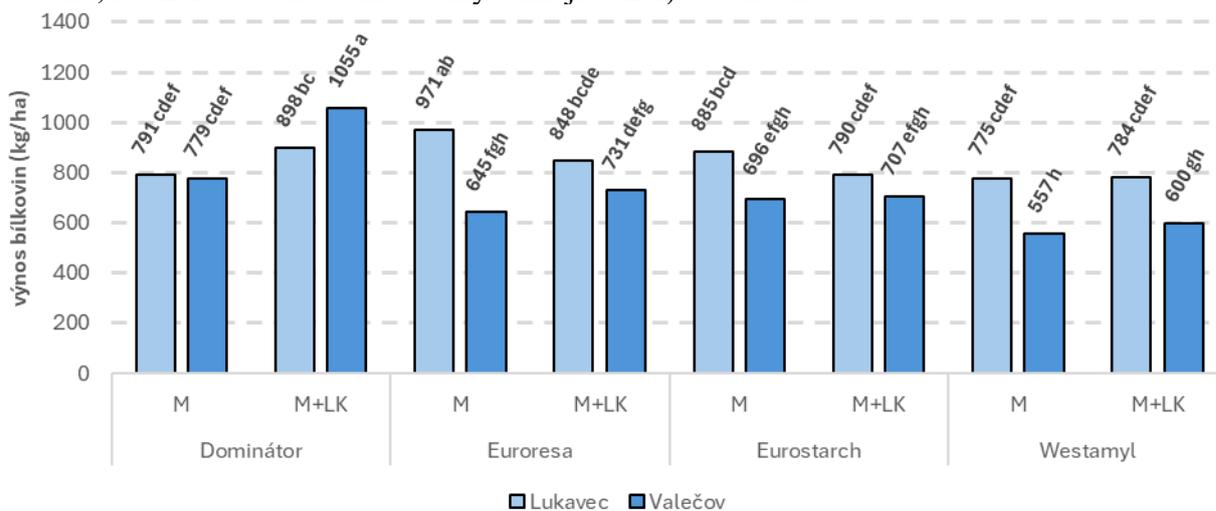
**Obrázek 3:** Obsah bílkovin v čerstvé hmotě hlíz (% FM) u hodnocených odrůd pod vlivem způsobu hnojení (M – močovina, M+LK kombinace močoviny a hnojiva LK) a stanoviště.



Rozdílná malá písmena za hodnotami indikují statisticky významný rozdíl na hladině významnosti  $P < 0,05$  (Fisher LSD test).

Obsah bílkovin se pohyboval v rozpětí 1,25 (Eurostarch, Valečov, M+LK) až 1,78 (Euroresa, Lukavec, M) % FM (obr. 3) a byl nejvíce ovlivněn stanovištěm a následně odrůdou. Vliv hnojení nebyl průkazný, nicméně byly průkazné interakce hnojení s oběma dalšími faktory (stanoviště, odrůda). Ve většině případech vedla varianta M+LK k mírnému snížení obsahu bílkovin. Výnos bílkovin (obr. 4) byl průkazně ovlivněn odrůdou a stanovištěm. Vliv hnojení byl průkazný jen v interakcích s odrůdou a stanovištěm. Jak ukazuje obr. 4, v rámci variant pokusu se výnos bílkovin pohyboval v rozmezí 557 (Westamyl, Valečov, M) – 1055 (Dominátor, Valečov, M+LK) kg/ha. Varianta hnojení M+LK měla u jednotlivých odrůd nejednoznačný projev – jednoznačné navýšení výnosu bílkovin bylo zaznamenáno u odrůdy Dominátor.

**Obrázek 4:** Výnos bílkovin (kg/ha) u hodnocených odrůd pod vlivem způsobu hnojení (M – močovina, M+LK kombinace močoviny a hnojiva LK) a stanoviště.



Rozdílná malá písmena za hodnotami indikují statisticky významný rozdíl na hladině významnosti  $P < 0,05$  (Fisher LSD test).

## Diskuze

Výsledky potvrdily významný vliv odrůdy na běžně sledované produkční parametry obsah škrobu a výnos škrobu (Domkářová et al., 2013; Čermák, 2023), ale také na málo často hodnocené parametry obsah bílkovin a výnos bílkovin (Bárta et al., 2015). Nalezené rozpětí výnosu bílkovin (557–1055 kg/ha) potvrzuje předpoklad, že rozpětí této ceněné složky může být velmi výrazné. Bárta a kol. (2012) uvádějí při hodnocení 7 odrůd určených pro výrobu škrobu rozpětí výnosu bílkovin 460–663 kg/ha. Odhady sezónní produkce bílkovin ve zpracovatelském závodu z hlízové šťávy pomocí zavedené technologie tak budou zřejmě výrazně záviset na výběru vhodné odrůdy, podobně jako v případě obsahu škrobu. Specifické podmínky pěstitelské sezóny roku 2024 – zejména kombinace nižšího resp. nerovnoměrného přísunu srážek a vyšších teplot na stanovišti Valečov v průběhu července a srpna – způsobily výrazné rozdíly v obsahu sušiny hlíz mezi oběma stanovišti. To se projevilo ve vyšším průměrném obsahu škrobu (o 2,66 % více) a bílkovin (o 0,27 % více) v hlízách odrůd pěstovaných na stanovišti v Lukavci.

Ačkoliv vliv hnojení, zejména dusíkem, má významné dopady na produkční parametry brambor (Wichrowska, Szczepanek, 2020; Skrabule et al., 2023), tak v případě našeho experimentu se hnojení – reprezentované variantou M a variantou M+LK – neprojevilo statisticky průkazně. Z hlediska stanoveného cíle, zhodnocení produkční reakce modelových odrůd na částečnou substituci dusíku aplikovaného ve formě minerálního hnojiva dusíkem v podobě organicko-minerálního hnojiva, kdy celková dávka dusíku byla u obou variant na úrovni 120 kg N/ha, byl výsledek spíše očekávaný a obecně by mohl potvrzovat, že substituce dusíku hnojivem LK nepůsobí výrazné změny v produkčních parametrech odrůd brambor pro zpracování na škrob a bílkoviny. Kromě dusíku přinášela varianta M+LK navíc draslík, fosfor a ostatní živiny. Přes neprůkazný vliv hnojení na hodnocené parametry v rámci celého pokusu, lze z výsledků vypožorovat rozdílné odrůdové reakce na variantu M+LK. Zatímco u odrůdy Dominátor varianta M+LK zvyšovala oproti kontrolní variantě M výnos škrobu i bílkovin výrazněji, tak u odrůdy Westamyl spíše mírně a u odrůd Euroresa a Eurostarch byl projev varianty M+LK nejednoznačný. Jednoleté výsledky naznačují, že hnojivo LK by mohlo uspokojivě nahrazovat příslušnou část minerálního N hnojiva. Pro potvrzení tohoto předpokladu je nutné provést ročníková opakování v dalších letech.

## Závěr

Dosažené výsledky potvrzují, že výběr vhodné odrůdy je významný nejen z pohledu dosažení vysokého obsahu škrobu, ale také obsahu bílkovin a hektarového výnosu obou složek. Informace o odrůdových rozdílech parametrů obsah škrobu a výnos škrobu jsou u doporučených odrůd běžně dostupné, ale informace o obsahu a výnosu bílkovin u pěstovaných odrůd brambor pro zpracování většinou zcela chybějí. S ohledem na produkci koncentrátů bílkovin brambor v ČR z hlízové šťávy vznikající při zpracování brambor na škrob, je žádoucí, aby informace o obsahu a výnosu bílkovin u pěstovaných odrůd byly dostupné. Výsledky ukazují, že hnojivo LK může být dobrou náhradou části minerálního dusíku, nicméně existují rozdíly v odrůdové reakci. Je proto nutné věnovat se ročníkovým opakováním, která potvrdí nebo vyvrátí uvažované předpoklady. Ročníková opakování rovněž pomohou ověřit míru odrůdové stability ve sledovaných parametrech.

## Literatura

- Alting A. C., Pouvreau L., Giuseppin M.L.F., van Nieuwenhuijzen N.H. (2011): Potato proteins. In: G.O. Phillips, P. A. Williams (eds.): Handbook of Food Proteins. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Woodhead Publishing, pp. 316-334.
- Bárta J. a kol. (2015): Potenciál bílkovin hlíz brambor v rámci rodu Solanum. Nakladatelství Kurent, České Budějovice, 142 s. (ISBN: 978-80-87111-42-0)
- Bárta J., Bártová V., Čurn V., Diviš J. (2008): Stanovení obsahu bílkovin v sušině hlíz brambor pomocí vybraných kolorimetrických technik. Metodika pro praxi, ZF JU v Českých Budějovicích, 24 s. (ISBN: 978-80-7394-099-7).
- Bárta J., Diviš J., Švajner J., Bártová V. (2012): Pěstování brambor pro produkci škrobu a bílkovin. Metodika pro praxi, ZF JU v Českých Budějovicích, 33 s. (ISBN 978-80-7394-369-1)
- Bhutto I. A., Bhutto H. ul ain N., Khanal S., Wang M., Iqbal S., Fan Y., Yi J. (2024): Potato protein as an emerging high-quality: Source, extraction, purification, properties (functional, nutritional, physicochemical, and processing), applications, and challenges using potato protein. Food Hydrocolloids, 157, 110415.
- Čermák V. (2023): Seznam doporučený odrůd bramboru 2023. ÚKZÚZ Brno, Brno, 86 s. (ISBN 978-80-7401-224-2)
- Domkářová J., Bárta J., Bártová V., Vokál B. (2013): Odrůdová skladba bramboru. In: Vokál et al. Brambory – šlechtění, pěstování, užití, ekonomika. Profí Press, Praha, s. 54-58. (ISBN 978-80-86726-54-0)
- Fu, Y., Liu, W.-N. and Soladoye, O.P. (2020), Towards potato protein utilisation: insights into separation, functionality and bioactivity of patatin. International Journal of Food Science and Technology, 55: 2314-2322.
- Hu C., He Y., Zhang W., He J. (2024): Potato proteins for technical applications: Nutrition, isolation, modification and functional properties – A review. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 91, 103533.

- Skrabule I., Lāsma Rābante-Hāne L., Ilze Dimante I., Inese Taškova I., Sergii Sviatchenko S. (2023): The effect of nitrogen use efficiency on significant traits of potato starch production. *Zemdirbyste-Agriculture*, 110: 329–338.
- Wichrowska D., Szczepanek M. (2020): Possibility of limiting mineral fertilization in potato cultivation by using bio-fertilizer and its influence on protein content in potato tubers. *Agriculture*, 10: 442.

**Poděkování**

Příspěvek vznikl v rámci řešení výzkumného projektu MZe NAZV č. QL24010101. Autoři děkují za podporu.

**Kontaktní adresa**

doc. Ing. Jan Bárta, Ph.D.  
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích  
Fakulta zemědělská a technologická  
Katedra rostlinné výroby  
Na Sádkách 1780  
370 05 České Budějovice  
+420 387 772 922, barta@fzt.jcu.cz

## Kopřiva dvoudomá, cenný zdroj vláken pro budoucnost

*Urtica dioica* a valuable source of fiber for the future

**Bjelková M.**

*Agritec Plant Research s.r.o., Zemědělská 2520/16, Šumperk*

### Abstrakt

Kopřiva dvoudomá (*Urtica dioica*) je tradiční rostlina, která se v současnosti dostává do popředí zájmu jako perspektivní zdroj vláken. Díky nízkým nárokům na pěstování a významným ekologickým benefitům představuje atraktivní alternativu k jiným přírodním vláknitým rostlinám. Tento příspěvek nabízí přehled historie využití kopřivy, jejích ekologických vlastností, fyzikálních a chemických parametrů vláken, technologií zpracování i současných aplikací. Zabývá se možným ekonomickým potenciálem, hlavními výzvami a perspektivami rozvoje v kontextu cirkulární bioekonomiky. Zvláštní pozornost je věnována moderním metodám zpracování, které zvyšují efektivitu využití kopřivy a přispívají ke snížení ekologické zátěže. Kopřiva dvoudomá tak může sehrát klíčovou roli v přechodu k udržitelnému textilnímu průmyslu a cirkulární ekonomice.

**Klíčová slova:** Kopřiva dvoudomá, *Urtica dioica*, vlákno

### Abstract

Stinging nettle (*Urtica dioica*) is a traditional plant that is currently gaining attention as a promising source of fibers. Thanks to its low cultivation requirements and significant ecological benefits, it represents an attractive alternative to other natural fiber plants. This paper provides an overview of the history of nettle use, its ecological properties, physical and chemical parameters of the fibers, processing technologies, and current applications. It addresses the potential economic value, main challenges, and development prospects in the context of the circular bioeconomy. Special attention is given to modern processing methods that increase the efficiency of nettle utilization and contribute to reducing environmental impact. Stinging nettle can thus play a key role in the transition to a sustainable textile industry and circular economy.

**Keywords:** Nettle, *Urtica dioica*, fibre

### Úvod

Systematika rodu *Urtica* mátlá vědce po mnoho let. Za posledních 200 let nebyl publikován jediný komplexní pokus o pochopení vnitrorodových vztahů ani nebyly jednoznačně stanoveny delimitace druhů. Nicméně bylo stanoveno celkem pět morfotypů rozšířených a často plevelných *U. dioica* subsp. *dioica*, které jsou stabilní v kultivaci a obvykle se vyskytují v několika různých regionech Evropy anebo se vyznačují určitým typem preference stanovišť. Ovšem pro účely průmyslového využití byly německým šlechtitelem Bredemannem vyšlechtěny kultivované druhy kopřivy dvoudomé (*Urtica dioica* pro obsah vlákniny. Bredemannův výzkum v polovině 20. století, který hodnotil četné odrůdy kopřiv, vedl k rostlinám s obsahem vlákniny až 17 %, ve srovnání s přibližně 5 % u divoké kopřivy. Cílem Bredemannovy práce bylo vyvinout obnovitelný zdroj textilních vláken. Zatímco projekt byl odsunut kvůli vzestupu levných syntetických materiálů, klony jeho kopřiv s vysokým obsahem vláken byly znovu objeveny výzkumníky v Hamburku v 90. letech 20. století a od té doby jsou zkoumány pro komerční využití v textilním průmyslu. Cílem této studie je poskytnout syntetický přehled o kopřivě dvoudomé (*Urtica dioica*) jako zdroji textilních vláken, včetně jejích vlastností, technologií zpracování, současných aplikací a ekonomického potenciálu. Historické doklady z doby železné (Dánsko, Německo) potvrzují využití kopřivových vláken v textiliích, včetně pohřebních tkanin, což naznačuje jejich praktický i symbolický význam [15]. Ve středověku sloužila kopřiva k výrobě hrubých látek (pytle, provazy, pracovní oděvy), zejména díky dostupnosti a nenáročnosti na pěstování [2]. První cílené pěstování pro textilní účely se objevilo v 19. století v Německu a Rakousku jako alternativa k bavlně [2]. Během

první světové války se kopřiva stala strategickou surovinou pro výrobu uniforem; vznikly specializované podniky a technologie analogické zpracování lnu [2]. Ve druhé světové válce probíhal intenzivní šlechtitelský program, jehož výsledkem byly genotypy s obsahem vláken až 15 % (oproti 3–8 % u divokých rostlin) [2]. Po roce 1945 zájem o kopřivu ustoupil syntetickým vláknům (nylon, polyester) [11] a renesance nastala koncem 20. století v souvislosti s ekologickými a udržitelnými přístupy v textilním průmyslu. Kopřiva je perspektivní díky nízkým nárokům na vstupy, schopnosti růstu na marginálních půdách a kvalitě vláken [8]. Současné projekty (např. ARKNOKK ve Finsku) potvrzují její adaptabilitu i v severských podmínkách a rozšiřují využití i na krmivo [6]. Historie ukazuje, že kopřiva může hrát strategickou roli v udržitelném průmyslu, zejména při snaze snížit závislost na neobnovitelných zdrojích a ekologickou zátěž výroby [8], [13]. Dalším významným přínosem je podpora biodiverzity, kdy přispívá k ekologické stabilitě a zachování druhové rozmanitosti [6]. Kopřiva rovněž vykazuje schopnost revitalizace půdy z důvodu možného růstu na půdách kontaminovaných těžkými kovy a podílí se tak na jejich fytořemediaci, přičemž její kořenový systém zlepšuje půdní strukturu [7]. nebo pěstováním na okrajových půdách nevhodných pro potravinářské plodiny [6].

### **Vlastnosti vláken kopřivy**

Vlákná kopřivy (*Urtica dioica*) patří mezi ekologická, biologicky rozložitelná lýková vlákna, která se získávají ze stonku rostliny. Jejich fyzikální a chemické vlastnosti jsou srovnatelné s tradičními vláknitými plodinami, jako je len (*Linum usitatissimum* L.) a konopí (*Cannabis sativa* L.). Kopřivová vlákna se vyznačují vysokou pevností, nízkou tažností a příjemným leskem, což je činí vhodnými pro výrobu oděvních i technických textilií navíc s možností směsi s bavlnou, bambusem nebo syntetickými vlákny, čímž se zlepšují jejich mechanické a estetické vlastnosti [10]. Délka jednotlivých vláken se pohybuje mezi 40 a 70 mm, průměr je obvykle 40 až 50 mikrometrů. Pevnost vláken dosahuje hodnoty 50 až 59 cN/tex, což je srovnatelné s lnem a konopím, zatímco jemnost se pohybuje kolem 5 až 6 tex. Tažnost vláken je nízká, přibližně 1,2 %, a modul pružnosti dosahuje hodnoty okolo 65 GPa [5], [9]. Chemické složení kopřivového vlákna je klíčové pro jeho mechanické vlastnosti a zpracovatelnost. Vlákno obsahuje přibližně 54 % celulózy, 10 % hemicelulózy a 4 % pektinu, přičemž lignin je zastoupen jen minimálně [9]. Nízký obsah ligninu je významnou výhodou, protože snižuje potřebu chemického zpracování při výrobě textilií. Ve srovnání s lnem a konopím (65–70 %) má kopřiva mírně nižší obsah celulózy, ale její pevnost je srovnatelná [13]. Možností využití směřují i do kompozitních materiálů, kde nahrazují skleněná vlákna (automobilový průmysl) [13]. Další oblastí využití jsou netkané textilie pro absorpční materiály, filtry a izolace [11]. V medicínských textiliích se kopřiva uplatňuje díky možnosti enkapsulace bioaktivních látek, což otevírá cestu k výrobě funkčních oděvů s terapeutickými účinky [8].

### **Technologie zpracování kopřivového vlákna**

Zpracování kopřivového vlákna je komplexní proces analogický se zpracováním lnu. [2]. Moderní technologie se snaží proces zefektivnit a minimalizovat ekologickou zátěž. Jedním z inovativních postupů je enzymatické zpracování, které využívá specifické enzymy k rozkladu pektinů a hemicelulózy [14]. Další významnou metodou je parní exploze (STEX), která kombinuje vysokou teplotu a tlak k rychlému oddělení vláken od pazdeří. STEX je považována za perspektivní technologii pro průmyslové zpracování kopřivy, protože umožňuje zpracování velkých objemů suroviny s minimálním použitím chemikálií [14]. Kromě těchto metod se zkoumají i alkalické úpravy, které zvyšují pevnost vláken až o 30 % a zlepšují jejich spřádací vlastnosti [9]. Chemické ošetření, například hydroxidem sodným, odstraňuje zbytky pektinů a zlepšuje sorpční schopnosti vláken. Tyto postupy jsou často kombinovány s mechanickými metodami, jako je dekortikace, která mechanicky odděluje lýková vlákna od dřevnaté části

stonku. Proces zpracování má zásadní vliv na kvalitu výsledného vlákna a například správné načasování sklizně je klíčové, protože s věkem rostliny roste podíl sekundárních vláken, která jsou kratší a méně kvalitní [13]. Technologie zpracování kopřivy se tak pohybují na pomezí tradičních postupů a moderních inovací.

### Materiál a metody

S ohledem na fakt, že společnost Agritec v dubnu 2025 převzala z Německa pod svůj patronát genovou banku 56 genotypů kopřivy dvoudomé, včetně původních genotypů šlechtitele Bredemanna bylo cílem studie vyhodnotit získání vláken nekultivované kopřivy dvoudomé získané z volných přírodních nalezišť jako modelového zdroje zkoušení možné produkce vláken. Rostliny ve dvou vzorcích o hmotnosti 31 a 50 kg byly sklizeny ke konci vegetace v měsíci září a podrobeny analýzám změny hmotnosti stonků před a po rosení, obsahu vláken, pazdeří a nečistot, stejně jako délce procesu rosení. Současně byly využity i enzymy Texazym SCW a BFE jako přírodní prostředky v procesu máčení stonků kopřivy. U vzorků byl současně analyzován vliv různých metod úpravy kopřivových stonků na čistotu vláken a jejich délkovou charakteristiku. Hodnocené metody zahrnovaly vodní máčení a chemické úpravy (Texazym SC, SCW a DLG + SC). U každého vzorku byla stanovena hmotnost vzorku, hmotnost čistého vlákna a nečistot, procentuální obsah nečistot a čistého vlákna, průměrné délky vláken (krátká, střední, dlouhá) a jejich minimální a maximální hodnoty.

### Výsledky

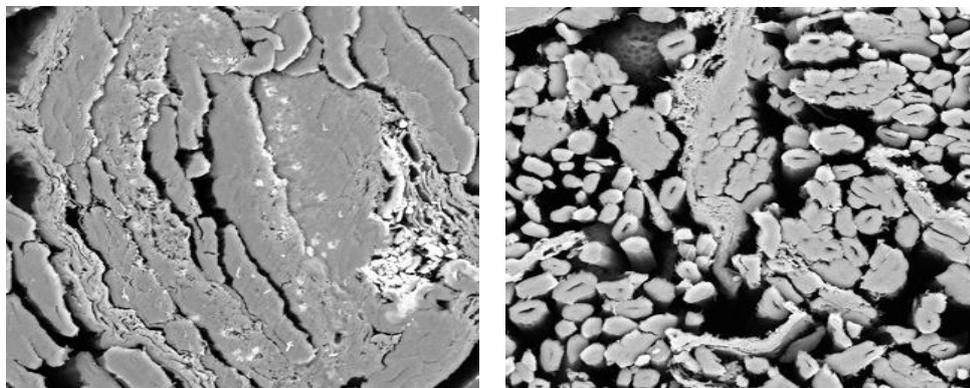
Průměrná hmotnost neroseného stonku obou vzorků byla 40,5 kg, zatímco po rosení klesla na 5,85 kg. Průměrné množství získaného vlákna činilo 0,595 kg, což odpovídalo průměrnému obsahu vlákna 9,7 %. Obsah nečistot dosahoval průměrně 43,1 %. Délka rosení byla v průměru 52 dní. Mezi obsahem vlákna a počtem dnů rosení se projevila korelace, ale vzhledem k tomu, že byly k dispozici pouze dva vzorky, nelze tento výsledek považovat za statisticky významný. Lineární regrese naznačuje, že vyšší hmotnost neroseného stonku zvyšuje obsah vlákna, přičemž model ukazuje přibližný vztah: obsah vlákna (%) =  $-1,3842 + 0,2737 \times \text{hmotnost stonku (kg)}$ . Počet dnů rosení (57 dní) byl spojen s vyšším obsahem vlákna (12,3 % oproti 7,1 %) a zároveň s nižším obsahem nečistot (35 % oproti 51,2 %), jak ukazuje tabulka 1. To naznačuje, že prodloužení doby rosení může mít pozitivní vliv na kvalitu vlákna. Pro spolehlivé závěry bude nutné provést další výzkum s větším počtem vzorků a zahrnout další faktory, jako jsou vlhkost, teplota, aby bylo možné stanovit optimální délku rosení pro maximální obsah vlákna a minimální množství nečistot.

**Tabulka 1: Analýza stonků kopřivy dvoudomé**

Vzorek	Nerosený stoněk (kg)	Rosený stoněk (kg)	Vlákno (kg)	Obsah vlákna (%)	Obsah nečistot (%)	Počátek rosení	Počet dnů rosení	Konec rosení
1	31,00	4,90	0,35	7,1	51,2	17.9.	3.11.	47
2	50,00	6,80	0,84	12,3	35,0	3.9.	30.10.	57

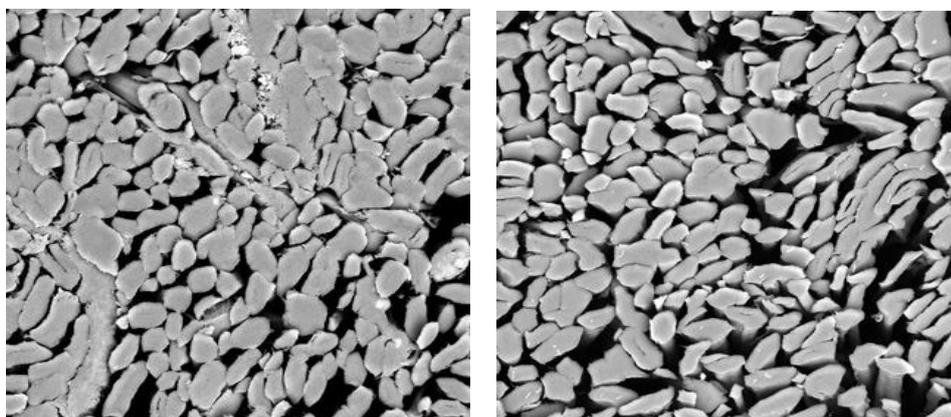
Studie ukázaly, že enzymaticky aktivovaný proces zpracování stonků dokáže zlepšit nebo nahradit tradiční postupy zpracování lýkových rostlin, čímž se zvyšuje reprodukovatelnost, výtěžnost a kvalita vláken. Enzymy dokážou snížit množství necelulózových vazebných vrstev v technických vláknech, a tím usnadnit separaci a elementarizaci lýkových vláken. Vlákna kopřivy byla po procesu rosení stonků kopřivy poměrně dobře oddělena, jak je znázorněno na

obrázku 2 oproti neroseným stonkům viditelných na obrázku 1. Dalšího zlepšení oddělení vláken bylo dosaženo po ošetření přípravkem Texazym SCW (viz obrázek 3 a 6). Účinek přípravku Texazym BFE byl v tomto případě téměř stejný jako u přípravku Texazym SCW. Nejlepšího oddělení vláken bylo dosaženo po dodatečném peroxidovém bělení (obr. 4).



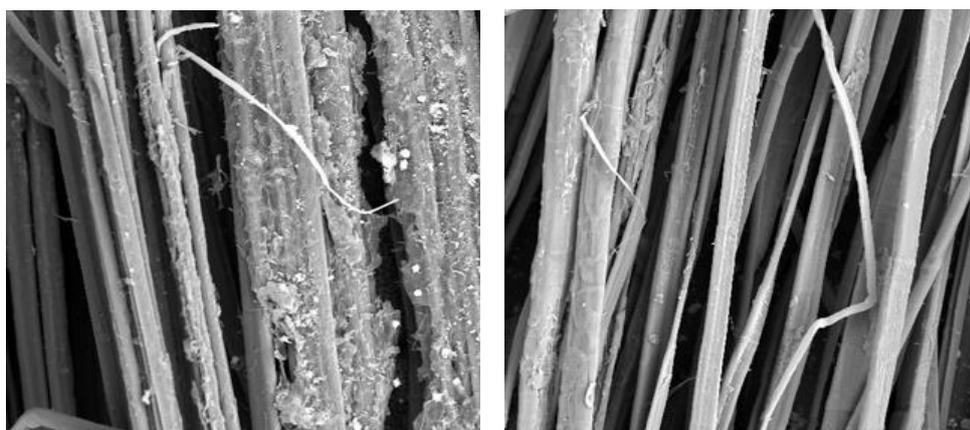
Obr. 1 (vlevo): Příčný řez nerosených vláken kopřivy

Obr. 2 (vpravo): Příčný řez rosených vláken kopřivy



Obr. 3 (vlevo): Příčný řez vláken z rosených stonků kopřivy ošetřených Texazymem SCW

Obr. 4 (vpravo): Příčný řez vláken z rosených stonků kopřivy ošetřených Texazymem SCW a peroxidem vodíku



Obr. 5 (vlevo): Podélný pohled na neošetřená vlákna kopřivy

Obr. 6 (vpravo): Podélný pohled na vlákna kopřivy ošetřená Texazymem SCW

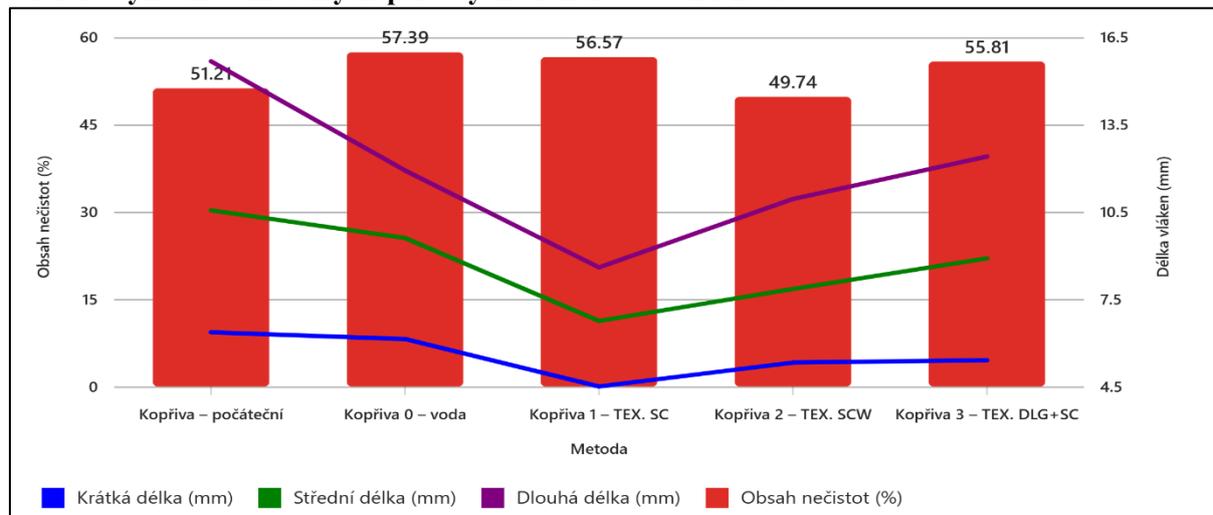


Obr. 7. Vlákno kopřivy dvoudomé po tírenské úpravě

U vzorků analyzovaných z pohledu délkové charakteristiky vláken byl obsah nečistot mezi 49,74 % a 57,39 % (průměr 54,14 %). Nejnižší hodnotu vykazoval vzorek 2 TEX. SCW, zatímco nejvyšší vzorek 0 -voda. Obsah čistého vlákna byl nejvyšší u SCW (48,59 %) a nejnižší u vzorek 0 -voda (40,95 %). Délka vláken se s intenzitou úpravy snižovala. Počáteční vzorek měl nejdelší vlákna (dlouhá: 15,67 mm, střední: 10,55 mm, krátká: 6,36 mm). Nejkratší vlákna byla u vzorku 1 TEX. SC (dlouhá: 8,59 mm). Chemické úpravy tedy výrazně redukovaly délku vláken, přičemž SCW varianta zachovala relativně delší vlákna než SC. Vodní máčení zvyšovalo obsah nečistot a mírně zkrátilo délku vlákna, což může být důsledkem nedostatečné degradace pektinů. Chemické úpravy zlepšily čistotu vláken, ale snížily jejich délku, pravděpodobně v důsledku agresivního působení chemikálií na strukturu vláken. Metoda SCW se jevila jako optimální kompromis mezi čistotou a zachováním délky vláken (tabulka 2 a graf 1).

**Tabulka 2: Vyhodnocení délky kopřivových vláken a obsahu nečistot**

Vzorek	Hmotnost vzorku (g)	Hmotnost vlákna ve vzorku (g)	Hmotnost nečistot (g)	Obsah nečistot (%)	Obsah čistého vlákna (%)	Krátká délka vlákna – průměr (mm)	Střední délka vlákna – průměr (mm)	Dlouhá délka vlákna – průměr (mm)	Min. délka vlákna (mm)	Max. délka vlákna (mm)
Kopřiva – počáteční	6,19	3,00	3,17	51,21	48,47	6,36	10,55	15,67	4	21
Kopřiva 0 – voda	13,26	5,43	7,61	57,39	40,95	6,13	9,60	11,92	4	16
Kopřiva 1 – TEX. SC	12,87	5,45	7,28	56,57	42,35	4,50	6,75	8,59	3	10
Kopřiva 2 – TEX. SCW	11,38	5,53	5,66	49,74	48,59	5,32	7,85	10,94	3	19
Kopřiva 3 – TEX. DLG+SC	12,13	5,22	6,77	55,81	43,03	5,40	8,90	12,40	2	21

**Graf 1: Vyhodnocení délky kopřivových vláken a obsahu nečistot**

## Diskuse

Výsledky studie potvrzují, že kopřivová vlákna mají mechanické vlastnosti srovnatelné s tradičními lýkovými vlákny, jako je len a konopí, což je činí perspektivními pro textilní i technické aplikace. Etiopská studie [18] uvádí, že obsah vláken u volně rostoucích rostlin může dosahovat 19–21 %, zatímco v našem experimentu byl průměrný obsah pouze 9,7 %. Tento rozdíl lze přičíst genetickým faktorům, původu rostlin a metodice sklizně. Stejnou problematiku řešila i studie [19] a podobně jako naše studie potvrzuje, že enzymatická úprava výrazně zlepšuje čistotu vláken a usnadňuje jejich separaci. Naše práce využívala enzymy Texazym SCW a BFE, zatímco studie [19] testovala Viscozyme L a Pectinex Ultra SP-L. Zásadní rozdíl spočíval v tom, že [19] zdůrazňují význam přídavku EDTA, který zvyšoval účinnost enzymů a zabraňoval negativním efektům, jako bylo snížení pevnosti a obsahu celulózy. Bez EDTA vedlo enzymatické čištění ke zvýšení tloušťky vláken a snížení pevnosti. Další rozdíl byl v typu suroviny, kdy naše studie pracovala s nekultivovanou kopřivou z přírodních nalezišť, zatímco [19] s klonovanou, což mohlo ovlivnit obsah vláken i jejich délku. Obě práce se shodly na tom, že enzymatické metody jsou ekologicky šetrnější než tradiční chemické postupy a představují perspektivní směr pro průmyslové zpracování kopřivy. Navíc strategie EU pro udržitelné a cirkulární textilie (COM(2022)0141) míří do roku 2030 na odolné, opravitelné a recyklovatelné produkty s vyšším podílem recyklovaných vláken, zavádí digitální produktový pas, omezuje greenwashing a zavádí harmonizovanou rozšířenou odpovědnost výrobce. Tím otevírá prostor pro přírodní vlákna (len, konopí, kopřiva) a pro lokální hodnotové řetězce kompatibilní s národními rámci, např. Cirkulární Česko 2040. [16, 17].

## Závěr

Studie ukazuje, že kopřivová vlákna představují ekologicky atraktivní alternativu k tradičním lýkovým vláknům. Přestože obsah vláken u nekultivovaných rostlin je relativně nízký, jejich mechanické vlastnosti a nízký obsah ligninu jsou slibné pro textilní i technické aplikace. Enzymatické metody zpracování výrazně zlepšují čistotu vláken a mohou nahradit nebo doplnit tradiční postupy, čímž se zvyšuje efektivita a snižuje ekologická zátěž. Kopřiva dvoudomá rozšiřuje možnosti využití přírodních vláken, která jsou v souladu s vizí EU „fast fashion is out of fashion“. Tyto vlastnosti činí kopřivu perspektivní plodinou v rámci rozvoje bioekonomiky a cirkulární ekonomiky. Kopřiva dvoudomá má potenciál stát se významnou obnovitelnou surovinou pro textilní průmysl, kompozity i medicínské aplikace, pokud budou vyřešeny technologické a ekonomické aspekty jejího zpracování.

## Literatura

- Grauso, S., et al. *Stinging Nettle: A Review of Its Bioactive Components and Potential Applications*. *Plants*, 2020, 9(3), 3529.
- Samanta, A. K., et al. *Applications of Nettle Fibre in Textile: A Brief Review*. *Journal of Natural Fibers*, 2016a.
- Chattopadhyay, D., et al. *Natural Fibres and Their Applications in Textiles*. *Textile Research Journal*, 2021.
- Galambosi, B., et al. *Cultivation of Stinging Nettle in Northern Conditions*. *Agricultural and Food Science*, 2004.
- Kirchherr, J., et al. *Conceptualizing the Circular Economy: An Analysis of 114 Definitions*. *Resources, Conservation and Recycling*, 2018.
- Debnath, S. *Nettle Fibre Properties and Spinning Performance*. *Journal of Textile Engineering*, 2015.
- Kumar, A., Das, D. *Effect of Alkaline Treatment on Nettle Fibre Properties*. *Journal of Applied Polymer Science*, 2017.
- Viju, S., Thilagavathi, G. *Oil Absorption Properties of Nettle Fibres*. *Journal of Industrial Textiles*, 2020a.
- Bodros, E., Baley, C. *Study of Nettle Fibre Blends for Textile Applications*. *Composites Part A*, 2008.
- Bhardwaj, R., Pant, S. *Development of Nettle-Acrylic Blended Fabrics*. *Indian Journal of Fibre & Textile Research*, 2014.
- Sabir, T., Unal, B. *Evaluation of Woven Fabrics from Nettle Fibres*. *Textile Research Journal*, 2017.
- Royet, J., et al. *Eco-friendly Textile Fibres: A Review*. *Journal of Cleaner Production*, 2019.
- Radhakrishnan, P., Preeti, S. *Blended Yarn Development Using Nettle Fibres*. *Journal of Textile Association*, 2015.
- Brindha, D., et al. *Nonwoven Fabrics from Nettle Fibres*. *Journal of Industrial Textiles*, 2019.
- Vogl, C., Hartl, W. *Traditional Fibre Plants in Central Europe*. *Economic Botany*, 2003.
- Ministerstvo životního prostředí ČR. *Cirkulární ekonomika / Cirkulární Česko 2040 – vize, cíle a nástroje na národní úrovni*.
- European Commission (DG Environment). *EU Strategy for Sustainable and Circular Textiles* (Textiles strategy overview: dopady spotřeby, vize 2030, DPP, EPR; 20–35 jobs/1000 t
- Tadele, G. A. *Separation and Characterization of Ethiopian Origin Nettle Fiber* (MSc thesis, Ethiopian Institute of Textile and Fashion Technology, Bahir Dar University). *International Journal of Engineering Research & Technology (IJERT)*, 5(03). 2016.
- Bacci, L., Di Lonardo, S., Albanese, L., Mastromei, G. a Perito, B. *Effect of different extraction methods on fiber quality of nettle (Urtica dioica L.)*. *Textile Research Journal*, 81(8), s. 827–837.2010.

## Kontakt:

Ing. Marie Bjelková, Ph.D.  
Agritec Plant Research s.r.o.  
Zemědělská 2520/16, Šumperk  
+420728270748;  
bjelkova@agritec.cz



## Tajemství planých druhů rodu *Vicia*: jak půdní podmínky ovlivňují jejich růst a složení biomasy

The Secret of Wild Vetch Species: How Soil Conditions Influence Their Growth and Biomass Composition

Frei I.<sup>1</sup>, Sedláková V.<sup>2</sup>, Kopecký P.<sup>3</sup>, Huňady I.<sup>1</sup>, Vymyslický T.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zemědělský výzkum, spol. s r. o., <sup>2</sup>AGRITEC, výzkum, šlechtění a služby, s.r.o., <sup>3</sup>Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v. v. i.

### Abstrakt

U sedmi vybraných planých druhů rodu *Vicia*, shromážděných z různých lokalit České republiky, byla zkoumána variabilita klíčových fenotypových znaků (morfologické, fenologické a fyziologické) a produkce biomasy. *V. cracca*, *V. sativa*, *V. angustifolia*, *V. tetrasperma*, *V. villosa*, *V. pisiformis* a *V. hirsuta* byly hodnoceny po dobu 2 po sobě jdoucích let na 3 experimentálních lokalitách (Troubsko, Olomouc, Šumperk) s odlišnými klimatickými podmínkami a půdními profily. Analýzy půd a rostlinné biomasy prokázaly významné vztahy mezi obsahem živin v půdě a složením biomasy. Výsledky potvrzují, že druhy rodu *Vicia* mají vysokou plasticitu vůči půdním faktorům, což je činí perspektivními pro šlechtění pícnin a krycích plodin přizpůsobených měnícím se klimatickým podmínkám.

**Klíčová slova:** variabilita, *Vicia*, biomasa, fenotyp, ekologie

### Abstract

The variability of key phenotypic traits (morphological, phenological, and physiological) and biomass production was investigated in seven selected wild *Vicia* species collected from various locations in the Czech Republic. *V. cracca*, *V. sativa*, *V. angustifolia*, *V. tetrasperma*, *V. villosa*, *V. pisiformis*, and *V. hirsuta* were evaluated over two consecutive years at three experimental sites (Troubsko, Olomouc, Šumperk) differing in climatic and soil conditions. Analyses of soil and plant biomass revealed significant relationships between soil nutrient content and biomass composition. The results confirm that wild *Vicia* species exhibit high plasticity to soil factors, making them promising candidates for breeding forage and cover crops adapted to changing climatic conditions.

**Key words:** variability, *Vicia*, biomass, phenotype, ecology

### Úvod

Podle aktuální databáze Pladias (2025) zahrnuje flóra České republiky 3557 druhů cévnatých rostlin. K tomuto počtu je dále evidováno 194 poddruhů a 609 hybridů. Čeleď bobovité (*Fabaceae* Lindl.) je na území České republiky zastoupena 45 rody, které podle *Checklistu cévnatých rostlin České republiky* z roku 2012 zahrnují celkem 170 druhů (Daníhelka et al., 2012; Pladias, 2025). Tato čeleď představuje významný zdroj potravy pro opylovače i volně žijící živočichy a zahrnuje druhy mnoha hospodářsky významných plodin. Zároveň hraje klíčovou roli při obohacování půdy o dusík prostřednictvím biologické fixace atmosférického dusíku, čímž přispívá k obnově půdní úrodnosti a zamezuje její degradaci. Tento proces vede ke zvýšení produktivity a výnosu následně pěstovaných plodin a podporuje udržitelnější zemědělské systémy (Desalegn a Hassen, 2015).

Rod *Vicia* L. (vikev) zahrnuje celosvětově přibližně 150-210 druhů, rozšířených především v mírném pásmu severní polokoule (Jaaska, 2005). V Evropě se vyskytuje přibližně 55 druhů (Arslan et al., 2012; Javadi et al., 2022). V České republice je podle databáze Pladias zaznamenán výskyt 36 druhů, z nichž 15 je původních, 3 druhy byly zavlečeny pěstováním a 18 druhů bylo zavlečeno neúmyslně antropogenní činností (Pladias, 2025). Plané druhy vikví představují mimořádně cenné genetické zdroje pro moderní zemědělství. Kromě tradičního využití jako pícniny či krycí plodiny vykazují širokou adaptabilitu k abiotickým i biotickým

stresům, zlepšují kvalitu půdy a mají vysoký potenciál pro šlechtění nových kultivarů vhodných pro diverzifikaci zemědělských systémů a obnovu krajiny. Některé druhy rodu *Vicia* mají rovněž významný ekonomický potenciál (Martin et al., 2018; Issolah et al., 2022).

Tato studie vybraných druhů rodu *Vicia* je součástí Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin, zaměřeného na hodnocení a zhodnocování rostlinných genetických zdrojů pícninářského, pastevního a šlechtitelského významu. Cílem práce je analyzovat fenotypovou variabilitu sedmi vybraných planých druhů rodu *Vicia* z různých lokalit České republiky. Hodnocení je zaměřeno na klíčové morfologické, fenologické a fyziologické znaky a na produkční parametry biomasy.

Fenotypová variabilita představuje klíčový faktor v botanickém, zemědělském a šlechtitelském výzkumu, neboť umožňuje identifikovat vztahy mezi genetickými predispozicemi a environmentálními vlivy. Tyto poznatky jsou zásadní pro efektivní výběr rodičovských komponent při šlechtění zaměřeném na adaptaci na biotické i abiotické stresové faktory, zvýšení produktivity a stabilizaci zemědělských ekosystémů (Petrova et al., 2025). Vzhledem k rostoucí frekvenci sucha a projevům klimatické změny v České republice je šlechtění odrůd vikví s vyšší adaptabilitou na měnící se podmínky prostředí nezbytné pro stabilní produkci pícnin, efektivní využití krycích plodin a posílení odolnosti zemědělské krajiny.

V rámci studie byly vybrané druhy (*V. cracca*, *V. sativa*, *V. angustifolia*, *V. tetrasperma*, *V. villosa*, *V. pisiformis*, *V. hirsuta*) pěstovány a hodnoceny po dvě po sobě jdoucí vegetační sezony na třech experimentálních stanovištích (Troubsko, Olomouc, Šumperk), která se liší edafickými podmínkami.

Cíle práce:

- Zjistit, jak půdní vlastnosti pěstitelských stanovišť ovlivňují kvalitu a výživovou hodnotu biomasy pěstovaných druhů.
- Identifikovat, které druhy vykazují nejlepší plasticitu a adaptabilitu na nové prostředí.
- Určit, které plané druhy vikví jsou nejperspektivnější pro šlechtění.

## **Materiál a metody**

### *Sběrové expedice*

V rámci systematických sběrových expedic napříč územím České republiky byly shromážděny semenné vzorky různých druhů rodu *Vicia*. Cílem těchto expedic bylo získat reprezentativní soubor genetické variability populací vyskytujících se na území ČR. U každého vzorku byla zaznamenána tzv. pasportní data, nezbytná pro pochopení ekologických nároků populací: přesná GPS lokalizace, nadmořská výška stanoviště a základní popis biotopu (typ stanoviště, doprovodná vegetace, míra disturbance).

### *Uchovávání v Národní genové bance*

Shromážděné semenné vzorky jsou dlouhodobě uchovávány v souladu s mezinárodními standardy v České národní genové bance (Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, CARC, Praha-Ruzyně). Semena jsou skladována za optimálních podmínek nízké teploty (obvykle kolem -18 °C) a nízké vlhkosti semen (pod 8 %), což zajišťuje jejich dlouhodobou životaschopnost po desítky let. Tato činnost je nedílnou součástí Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiverzity (NPGZR), který je zřízen Ministerstvem zemědělství ČR (dle zákona č. 148/2003 Sb.) a zastrešuje veškeré

aktivity související s konzervací a využíváním genetických zdrojů rostlin. Sběrka rodu *Vicia* v České národní genové bance se průběžně rozšiřuje. Ke konci roku 2024 zde bylo evidováno 35 druhů, reprezentovaných celkem 851 položkami. Každá položka představuje vzorek semen z konkrétní populace nebo odrůdy, tvořící cenný soubor genetické variability.

#### Rostlinný materiál

Pro experimentální hodnocení byly použity vybrané druhy rodu *Vicia* uvedené v Tabulce 1. Na každé lokalitě bylo hodnoceno 5 rostlin na položku. Sledovány byly morfologické a fenologické znaky, hospodářské parametry a napadení chorobami a škůdci. Taxonomická nomenklatura vychází z Květeny České republiky (Kaplan et al., 2019) a online databáze Pladias (2025).

Tabulka 2: Přehled hodnocených druhů rodu *Vicia* a pěstovaných položek.

Název druhu	ECN položky z GB		Počet pěstovaných rostlin		
			Troubsko	Olomouc	Šumperk
<i>Vicia sativa</i> L.	13L1800238		15	15	15
<i>Vicia cracca</i> L.	13L1800009	Pan 107/10	10	10	0
	13L1800507	TROU 38/99	15	15	15
	13L1800004	MUR 102/04	0	15	0
<i>Vicia villosa</i>	13L1800025	CZETROU 41/99	15	15	15
<i>Vicia cracca</i>	13L1800022	CZEORL 71/96	15	15	15
	13L1800518	KRUH 210/98	15	15	15
	13L1800024	CZETRE 74/2014	15	15	15
	13L1800509	TROU 37/99	14	8	0
	13L1800019	ORL 140/96	15	15	15
	13L1800014	CESTR 144/04	15	15	0
	13L1800515	JES 135/00	15	11	0
<i>Vicia pisiformis</i> L.	13L1800021	TROU 35/98	18	16	0
<i>Vicia hirsuta</i> (L.) Gray	13L1800506	TROU 7/99	15	15	15
<i>Vicia lathyroides</i> L.	13L1800393	CZETROU 71/95	15	15	15
<i>Vicia tetrasperma</i> (L.) Schreb.	13L1800484	CZETROU 126/96	15	15	15
<i>Vicia sativa</i> cv. LYRA			15	15	15

#### Edafické parametry pěstitelských stanovišť

Pro účely výzkumu vlivu půdních podmínek na pěstování druhů z rodu *Vicia* byla zvolena tři experimentální stanoviště – Troubsko, Šumperk a Olomouc. Z každé lokality byly odebrány tři reprezentativně náhodné vzorky půdy z jednotné hloubky 20 cm, což představuje orniční vrstvu klíčovou pro růst většiny plodin. Celkem bylo získáno 9 půdních vzorků pro detailní laboratorní analýzu. Každý z odebraných vzorků byl následně podroben komplexní chemicko-fyzikální analýze standardizovanými analytickými metodami k určení klíčových edafických vlastností: pH půdy, N/NO<sub>3</sub>, N/NH<sub>4</sub>, K, Mg, P, Ca, sušina, Nan-100%, celkový dusík (Nc), oxidovatelný dusík (Cox) (Tab. 2). Z naměřených hodnot parametry organická hmota a poměr C/N.

Tabulka 3: Základní fyzikálně-chemické charakteristiky půd podle lokality (rok 2024)

Lokalita	N/NO <sub>3</sub> [mg/kg]	K [mg/kg]	Mg [mg/kg]	P [mg/kg]	Ca [mg/kg]	pH
Troubsko	7,70	357	392	89	2785	5,6
Šumperk	7,51	268	205	276	2335	6,0
Olomouc	22,20	108	188	182	2487	6,8
Lokalita	N/NH <sub>4</sub> [mg/kg]	Nan-100 % [mg/kg]	sušina [%]	Nc [%]	Cox [%]	
Troubsko	1,61	11,34	82,1	0,18	1,11	
Šumperk	2,67	11,46	88,8	0,21	1,23	
Olomouc	7,13	33,95	86,4	0,16	0,69	

#### Analýza dat – biomasa a půdní vzorky

Chemická analýza nadzemní biomasy vybraných druhů rodu *Vicia* byla zaměřena na stanovení klíčových nutričních a agronomicky významných složek: sacharidů, vlákniny a dusíkatých látek. Obsah jednotlivých složek byl stanoven standardizovanými metodami – obsah dusíkatých látek byl určen Kjeldahlovou metodou, obsah sacharidů polarimetrickou metodou a obsah vlákniny podle metody vycházející z principu hydrolytické metody dle Henneberg-Stohmanna. Cílem bylo stanovit výživovou hodnotu a chemické složení biomasy studovaných druhů.

Data fyzikálně-chemických parametrů analyzovaných pro každý směsný vzorek půdy z dané lokality byla statisticky zpracována v programu Statistica 13.5 (TIBCO Software Inc., USA). Byla provedena analýza hlavních komponent (PCA) k identifikaci vztahů mezi půdními charakteristikami jednotlivých lokalit a obsahem nutričních látek v rostlinách.

#### Výsledky a diskuze

Analýza sedmi druhů rodu *Vicia* (Tab. 3) prokázala významnou variabilitu ve složení nadzemní biomasy, zejména sacharidů a dusíkatých látek (NL), která byla ovlivněna jak druhovou příslušností, tak i lokalitou pěstování. Druh *V. tetrasperma* vykazoval nejvyšší obsah sacharidů a současně nejnižší podíl dusíkatých látek, zatímco *V. villosa* se vyznačovala nejnižším obsahem sacharidů, avšak nejvyšším obsahem vlákniny. Nejvyšší koncentrace dusíkatých látek byla zjištěna u druhu *V. angustifolia*. Každé z hodnocených stanovišť (Troubsko, Olomouc, Šumperk) mělo specifický profil půdních vlastností (pH, P, K, Mg organického uhlíku – Cox) což se významně promítlo do chemického složení biomasy. (obsah cukrů, NL a vlákniny).

Tabulka 4: Analýza biomasy 7 druhů vikve

P.č.	<i>Vicia</i> druh	Biomasa – cukry [%]	Biomasa – N-látky [%]	Biomasa – vláknina [%]
1	<i>angustifolia</i>	7.27	22.08	20.83
2	<i>cracca</i>	6.01	20.54	20.35
3	<i>hirsuta</i>	7.86	20.34	17.60
4	<i>sativa</i>	5.40	18.41	22.56
5	<i>tetrasperma</i>	15.08	16.86	19.72
6	<i>villosa</i>	5.32	21.28	21.57
7	<i>pisiformis</i>	11.80	19.78	19.33

*Vliv půdních faktorů*

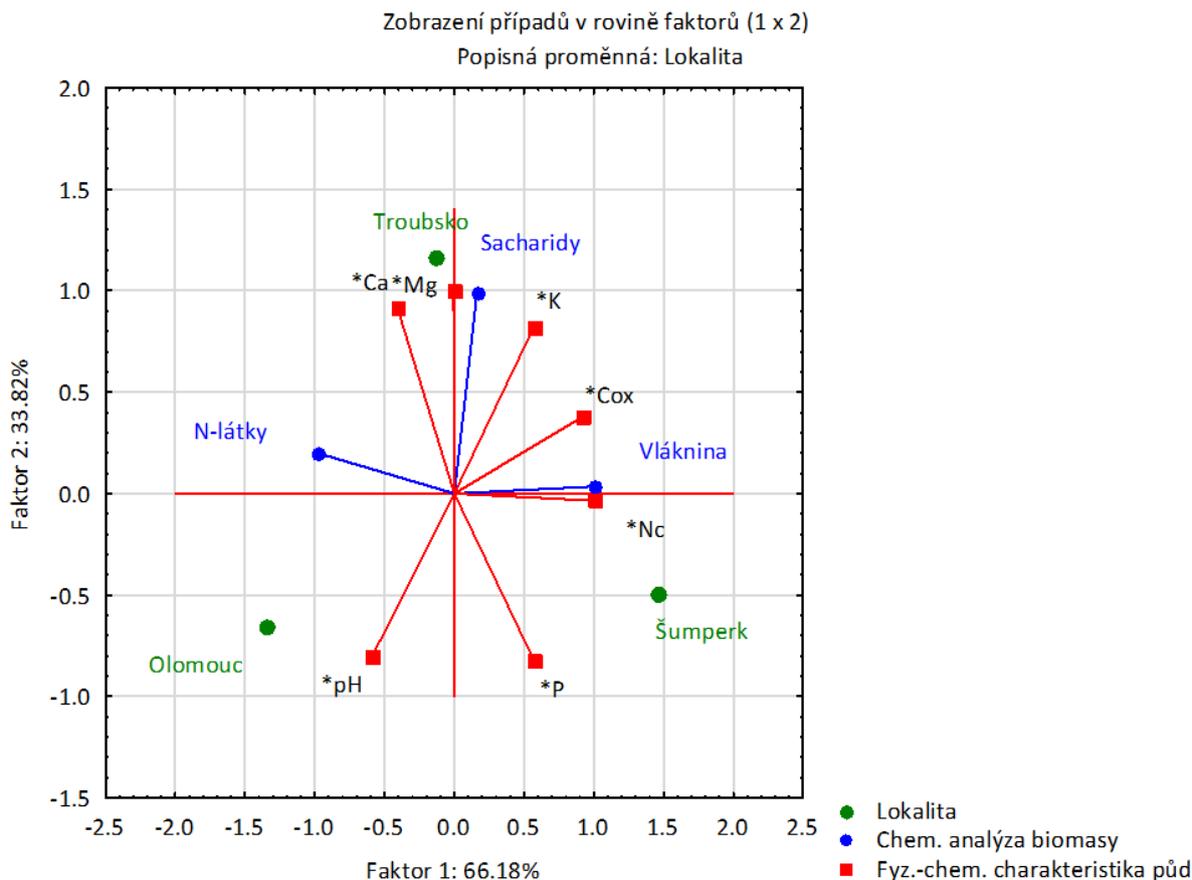
Klíčovým zjištěním je statisticky významný vliv půdních faktorů (Tab. 4) na obsah dusíkatých látek a vlákniny v biomase rostlin rodu *Vicia*, bez ohledu na druh.

- Mezi obsahem sacharidů v biomase rostlin (bez rozlišení druhu a lokality) a půdními parametry byly zjištěny žádné nebo jen slabé a nevýznamné vztahy.
- Mezi obsahem NL v biomase rostlin (bez rozlišení druhu a lokality) a obsahem K, Mg a Ca v půdě byly zjištěny statisticky významné pozitivní korelace a signifikantní negativní korelace ( $r = -0,65$ ) s obsahem P. Rovněž mezi obsahem NL a hodnotou pH půdy existuje významný středně silný negativní vztah ( $r = -0,42$ ).
- Obsah vlákniny v biomase vykazuje nejsilnější pozitivní korelaci s obsahem P ( $r = 0,58$ ) a obsahem celkového dusíku (Nc,  $r = 0,38$ ) v půdě. Negativní korelace byla nalezena mezi obsahem vlákniny a obsahem Ca ( $r = 0,58$ ) a Mg ( $r = 0,58$ ) v půdě.

Tabulka 5: Korelace mezi obsahem látek v biomase a půdními parametry

proměnná	průměrné hodnoty	směrodatná odchylka	cukry	N-látky	vláknina
cukry	7.08	3.25	1.00	0.04	-0.39
N-látky	18.82	2.99	0.04	1.00	-0.53
vláknina	22.06	3.32	-0.39	-0.53	1.00
K	266.87	104.33	0.22	0.44	-0.22
Mg	287.73	99.40	0.23	0.63	-0.47
P	163.67	79.15	-0.18	-0.65	0.58
Ca	2585.53	197.99	0.21	0.66	-0.56
Nc	0.18	0.02	0.02	-0.25	0.38
Cox	1.03	0.21	0.13	0.08	0.12
pH	6.03	0.50	-0.21	-0.42	0.21

Z grafu 1 je patrné, že nejvyšší obsah sacharidů byl zjištěn v rostlinách na lokalitě Troubsko (7,86 %DM), kde byl také zaznamenán nejvyšší obsah Ca, Mg a K v půdě. Nejvyšší obsah dusíkatých látek v rostlinách byl zjištěn v Olomouci (21,52 % DM), kde byla naměřena nejvyšší hodnota pH (6,8) a v Troubsku (20,76 % DM) s pH 6,0. Nejvyšší obsah vlákniny v rostlinách byl zjištěn na lokalitě Šumperk (22,64 % DM), kde byl také naměřen nejvyšší obsah P (276 mg/kg), celkového dusíku Nc (0,21 % DM) a organického uhlíku (Cox 1,21 %).



Graf 1: Souhrnné rozložení parametrů rostlinné biomasy a půdních parametrů ve vztahu k jednotlivým lokalitám

Obsah sacharidů nevykazoval statisticky významnou závislost na sledovaných půdních parametrech. Zajímavé je, že lokalita v Olomouci zaznamenala nejvyšší průměrný obsah N-látek (21,52 % sušiny) i navzdory nejvyššímu pH (6,80), což naznačuje, že jiné lokální faktory mohou převážet nad obecnými trendy ve vztahu půda a biomasa.

Při zaměření se na vztahy obsahových látek k půdním fyzikálně-chemickým parametrům podle lokalit, byly na lokalitách Šumperk, Olomouc a Troubsko zjištěny následující vztahy:

- Na lokalitě Šumperk byly zjištěny střední hodnoty obsahu sacharidů v biomase (6,60 % DM) při relativně vysokém obsahu fosforu v půdě (276,00 mg/kg) a středním obsahu draslíku (268,00 mg/kg). Půda v této lokalitě vykazuje neutrální pH (6,00) a střední hodnotu organického uhlíku (Cox 1,23).
- Lokalita Olomouc vykazuje nejnižší hodnoty obsahu sacharidů v biomase (6,18), ale nejvyšší obsah N-látek (21,52 % DM). Zároveň má nejnižší obsah draslíku v půdě (108,00 mg/kg) a nejnižší hodnotu Cox (0,69). Půda v Olomouci má nejvyšší pH (6,80) ze všech tří lokalit.
- Lokalita Troubsko se vyznačuje nejvyšším obsahem sacharidů v biomase (7,86 % DM), střední hodnotou N-látek (20,76 % DM) a nejvyšším obsahem vlákniny (20,20). Z půdních parametrů zde nacházíme nejvyšší hodnoty draslíku (357,00 mg/kg) a hořčíku (392,00 mg/kg), ale nejnižší obsah fosforu (89,00 mg/kg). Půda v této lokalitě má nejnižší pH (5,60).

Výsledky potvrzují poznatky Issolah et al. (2022), že druhy rodu *Vicia* vykazují vysokou ekologickou plasticitu a jsou schopny růst na půdách s různou reakcí, od kyselé až po zásaditou. Tato adaptabilita vysvětluje jejich široké geografické rozšíření i vysoký potenciál pro využití v agroekologických systémech.

## Závěr

Co z toho všeho plyne?

1. Výsledky dvouletého sledování potvrzují komplexní interakci mezi genetickými predispozicemi druhů rodu *Vicia* a půdními podmínkami stanoviště, které společně formují výsledné chemické složení biomasy. Druhy vikví preferují půdy s neutrální až mírně alkalickou reakcí. Výraznější rozdíly mezi lokalitami byly zaznamenány u parametrů K, Mg, P, pH a obsahu organické hmoty.
2. Byly prokázány významné vztahy mezi fyzikálně-chemickými parametry půdy a obsahovými látkami v biomase. Výsledky zdůrazňují komplexní interakci mezi genetickými predispozicemi jednotlivých druhů rodu *Vicia* a specifickými půdními podmínkami daného stanoviště. Tato interakce formuje výsledné chemické složení biomasy, zejména pokud jde o obsah dusíkatých látek (nejvyšší obsah byl zaznamenán u *Vicia angustifolia*), což ukazuje na vysokou proteinovou hodnotu daného druhu pro zvířata, vlákniny (nejvyšší obsah byl zaznamenán u *Vicia villosa*) a sacharidů (nejvyšší obsah byl zaznamenán u *Vicia tetrasperma*), co daný druh vikve činí slibným zdrojem pro energeticky bohaté krmivo. Naše výsledky potvrzují, že lokální edafické podmínky mohou významně ovlivnit složení rostlinné biomasy, a tím i její výživovou hodnotu.

V kontextu klimatických změn, kdy se v České republice očekává sušší a méně stabilní klima, představují genetické zdroje vikví uchovávané v genové bance klíčový materiál pro šlechtitelské programy. Tyto zdroje umožní výběr linií s vyšší adaptabilitou k suchu a proměnlivým podmínkám prostředí, čímž mohou přispět ke zvýšení biodiverzity a celkové ekologické stability zemědělské krajiny. Tyto vikve by mohly být využívány nejen jako krycí plodiny nebo součást krmných směsí, ale také v moderní agronomii, kde mohou pomoci zvýšit stabilitu a produktivitu zemědělských plodin.

## Literatura

- ARSLAN, Emine, ERTUĞRUL, Kuddisi; ÖZTÜRK, Ayşe B. (2012). *Karyological studies of some species of the genus Vicia L. (Leguminosae) in Turkey*. Online. Caryologia, 65(2), p. 106–113. Accessed 2025 April 2. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/00087114.2012.709804>. [citováno 2025-05-12].
- DANIHELKA, Jiří; CHRTEK jr., Jindřich; KAPLAN, Zdeněk. *Checklist of vascular plants of the Czech Republic*. Online. Preslia 84, 2012, p. 647-811. Dostupné z: <https://www.preslia.cz/P123Danihelka.pdf>. [citováno 2025-07-14].
- DESALEGN, Kassahun; HASSEN, Wasihun. *Evaluation of biomass yield and nutritional value of different species of vetch (Vicia)*. Online. Academic Journal of Nutrition 4 (3), 2015, p. 99-105. ISSN 2309-8902. Dostupné z: <https://doi.org/10.5829/IDOSI.AJN.2015.4.3.96130>. [citováno 2025-05-12].
- ISSOLAH, Rachida; ZAHIA, Sebkhi; BOUZIANE, Zahira. *Ecological characterization of natural habitats of some Vicia L. species (Fabaceae) in northeastern Algeria*. Online. Pakistan Journal of Botany, 54 (6). Accessed 2022 June. Dostupné z: [http://dx.doi.org/10.30848/PJB2022-6\(23\)](http://dx.doi.org/10.30848/PJB2022-6(23)). [citováno 2025-07-14].
- JAASKA, Vello. *Isozyme variation and phylogenetic relationships in Vicia subgenus Cracca (Fabaceae)*. Online. Annals of Botany, Volume 96, Issue 6, November 2005, p. 1085–1096, Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/aob/mci260> [citováno 2025-05-20].

- JAVADI, Hamideh; SHANJANI, Parvin S.; HOSEINI, Leila F.; YEGANEH, Masoumeh R. *Evaluation of morphological and yield traits in the populations of Vicia spp.* Online SciELO, vol.13 no.4. Accessed 2025 April 12. ISSN 2448-6698. Dostupné z: <https://doi.org/10.22319/rmcp.v13i4.6125>. [citováno 2025-05-20].
- KAPLAN, Zdeněk; DANIHELKA, Jiří; CHRTEK jr., Jindřich; KIRCHNER, Jan; KUBÁT, Karel; ŠTECH, Milan; ŠTĚPÁNEK, Jan. *Klíč ke květeně České republiky* [Key to the flora of the Czech Republic]. Ed. 2. – 1168 p., Praha: Academia, 2019. ISBN 978-80-200-2660-6
- MARTIN, Esra; YILDIZ, Hatice Kübra; KAHRAMAN, Ahmet; BINZAT Okan Kaan; EROĞLU, Halil Erhan. *Detailed chromosome measurements and karyotype asymmetry of some Vicia (Fabaceae) taxa from Turkey.* Online. Caryologia, vol. 71, 2018, p. 224-232. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/00087114.2018.1460058>. [citováno 2025-05-12].
- PETROVA, Sofiya; STOILOVA, Tsvetelina; VELINOV, Valentin; VASEVA, Irina I.; SIMOVA-STOILOVA, Lyudmila. *Phenotypic Diversity and Abiotic Stress Tolerance Among Vicia ervilia (L.) Willd. Accessions.* Online. Plants (Basel). Accessed 2025 March 24; 14(7):1008. Dostupné z: National Library of Medicine, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40219076/>. [citováno 2025-10-15].
- Pladias: Database of the Czech Flora and Vegetation.* Online. Accessed 2025 April 2. Dostupné z: <https://pladias.cz/taxon/overview/Vicia>. [citováno 2025-05-12].
- TIBCO Software Inc. *STATISTICA* [software]. Version 13.5 Palo Alto (CA): TIBCO Software Inc., 2018.
- ÚKZÚZ. *Laboratorní analýzy.* Dostupné z: <https://ukzuz.gov.cz/public/portal/ukzuz/laboratore/dokumenty-a-publikace/jednotne-pracovni-postupy/metody-laboratorniho-zkouseni-krmiv> [citováno 2025-10-15].

**Dedikace:** Výsledek vznikl z institucionální podpory MZE-RO1725, MZE-RO0425 a z podpory MZe ČR 206553/2011-17253 "Národní program konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiversity"

**Kontakt:**

Ing. Ivana Frei Ph.D.  
Zemědělský výzkum, spol. s r. o.  
Zahradní 1  
664 41 Troubsko  
tel.: 547 138 806, e-mail: frei@vupt.cz

## Dynamika produktivity vybraných druhů rostlin v časovém průběhu po založení matečných porostů

Dynamics of productivity of selected plant species over time after establishment of mother stands

Frei I.

Zemědělský výzkum, spol. s r. o.

### Abstrakt

Cílem práce bylo sledovat produktivitu osiva pěti vytrvalých bylin (*Dianthus deltoides*, *Leucanthemum vulgare*, *Vicia cracca*, *Galium verum* a *Hypericum perforatum*) pěstovaných v matečných porostech po dvě sezóny. Důvodem je rostoucí poptávka po lokálním osivu pro obnovu druhově bohatých společenstev a omezené možnosti sběru z volné krajiny. Hodnoceny byly výnos osiva ( $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ), HTS a pokryvnost porostu (%). Ve druhém roce většina druhů výrazně zvýšila produkci osiva. Nejvyšší výnosy dosáhly *L. vulgare* ( $39,7 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ ), *V. cracca* ( $35,7 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ ) a *G. verum* ( $30,7 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ ). Naopak u *H. perforatum* došlo k poklesu vlivem antraknózy. Z hlediska stability produkce se jako nejvhodnější jeví *V. cracca*, *L. vulgare* a *G. verum*. Výsledky potvrzují význam výběru druhů s vyšší odolností vůči chorobám a klimatickým výkyvům pro efektivní management matečných porostů.

**Klíčová slova:** produkce osiva, antraknóza třezalky, regionální směsi

### Abstract

The aim of this study was to monitor the seed productivity of five perennial herbs (*Dianthus deltoides*, *Leucanthemum vulgare*, *Vicia cracca*, *Galium verum* and *Hypericum perforatum*) grown in mother stands over two growing seasons. This work was motivated by the increasing demand for local seed for the restoration of species-rich communities and the limited possibilities of seed collection from natural populations. Seed yield ( $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ), thousand seed weight (TSW), and stand cover (%) were evaluated. In the second year, most species showed a significant increase in seed production. The highest yields were recorded for *L. vulgare* ( $39.7 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ ), *V. cracca* ( $35.7 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ ), and *G. verum* ( $30.7 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ ). In contrast, *H. perforatum* showed a marked decrease due to anthracnose infection. In terms of production stability, *V. cracca*, *L. vulgare*, and *G. verum* appear to be the most suitable species. The results highlight the importance of selecting species with greater resistance to diseases and climatic fluctuations for effective management of mother stands.

**Key words:** seeds production, *Colletotrichum gloeosporioides*, regional mixtures

### Úvod

Produkce osiva planě rostoucích druhů představuje nezbytný předpoklad pro obnovu druhově bohatých travinobylinných společenstev s významnou ekologickou i krajínotvornou funkcí. V posledních desetiletích roste poptávka po lokálním osivu, které slouží jako základní zdroj pro tvorbu regionálních směsí využívaných při revitalizacích, rekultivacích či zakládání květnatých luk a trvalých travních porostů. Současná i budoucí poptávka po semenech dlouhodobě převyšuje objem, který je z praktických, ekonomických i etických důvodů neudržitelné získat sběrem z volné krajiny (Nevill et al., 2016). Tato skutečnost zásadně zvyšuje tlak na spolehlivou dodávku osiva s vhodnými genetickými vlastnostmi (Pedrini et al., 2020).

Sběr osiva z přirozených populací často nestačí zajistit požadované množství kvalitního osiva. I samotný sběr na donorových plochách, zejména v případě nadměrného odebrání zralých semen, může vést k degradaci původních populací a k poklesu počtu reprodukčních rostlin. (Pedrini et al., 2020). Proto se v praxi čím dál častěji využívají tzv. *seed production areas* (produkční plochy osiva tzv. matečné porosty), kde jsou cíleně pěstovány vybrané druhy pro dlouhodobou produkci osiva (Nevill et al., 2016).

Při zakládání matečných porostů je proto klíčové udržet genetickou variabilitu osiva, minimalizovat nežádoucí selekci a negativní dopady na strukturu populace (Pedrini et al. 2020)

a zároveň se vyvarovat cílené maximalizaci výnosu osiva, které může vést k zvýšení frekvence agronomických znaků, např. k synchronní fenologii (Nevill et al., 2016). Navíc je známo, že i prostředí mateřské rostliny může ovlivnit vlastnosti osiva, například jeho velikost, klíčivost či výkonnost potomků — tzv. mateřské (maternal) efekty (Brunel-Muguet et al. 2025). Tyto efekty mohou zkomplikovat interpretaci vztahu mezi kvantitou produkovaného osiva a jeho efektivitou při zakládání nových porostů (Donohue 2009).

Po založení matečných porostů se produkční schopnost jednotlivých druhů vyvíjí různě v čase, a to v závislosti na biologii druhu, stanovištních podmínkách a způsobu obhospodařování. Tento vývoj odráží rozdíly v životních strategiích, konkurenci i v postupných změnách mikrostanovištních podmínek (Drenovsky et al., 2016).

Cílem této práce je proto sledovat dynamiku produktivity vybraných pěti druhů rostlin: *Vicia cracca*, *Galium verum*, *Hypericum perforatum*, *Dianthus deltoides* a *Leucanthemum vulgare*. Konkrétně se zaměřujeme na zhodnocení časového průběhu produkce osiva po založení matečných porostů, abychom identifikovali druhy s nejstabilnější produkcí a pochopili produkční stabilitu jednotlivých druhů pro účely dlouhodobé tvorby regionálního osiva.

## Materiál a metody

### Experimentální plocha

Matečné porosty byly založeny na experimentální ploše v areálu Zemědělského výzkumu, spol. s r. o. (278 m n. m.). Půdní typ představuje kambizem se střední zásobou živin a neutrálním až slabě zásaditým pH. Průměrné roční teploty a úhrny srážek jsou uvedeny v Tab. 1. Klima oblasti odpovídá podle Quittovy klasifikace (Quitt, 1971) mírně teplé oblasti (M11).

Tabulka 6: Průměrné měsíční teploty a srážky v letech 2023-2025

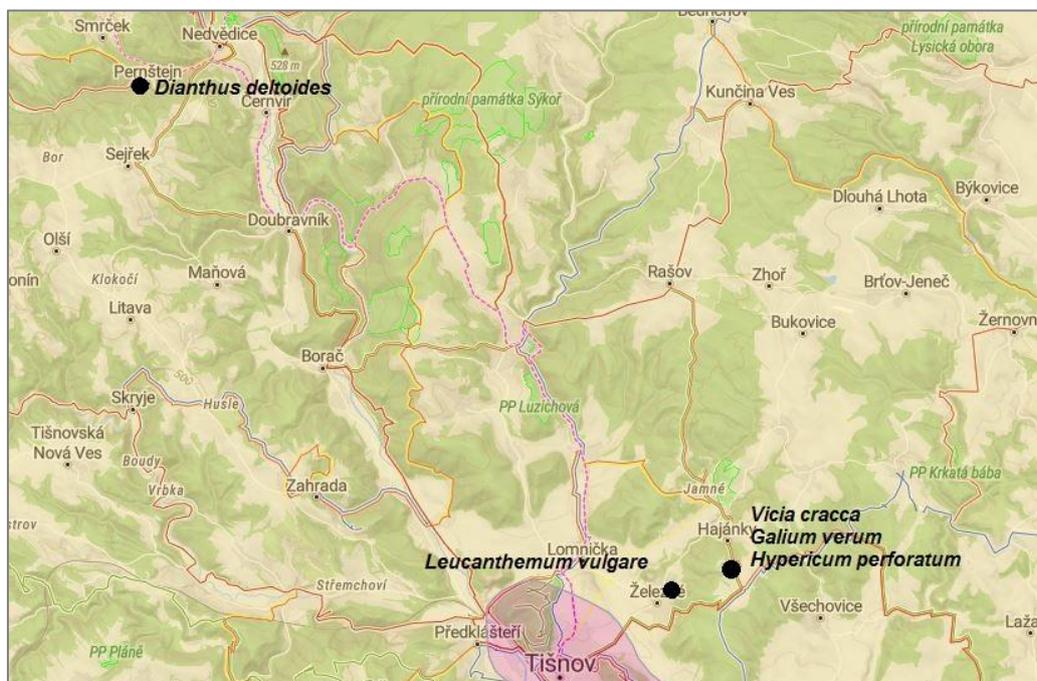
měsíc	2023		2024		2025	
	Průměrná měsíční teplota (°C)	Průměrné měsíční srážky (mm)	Průměrná měsíční teplota (°C)	Průměrné měsíční srážky (mm)	Průměrná měsíční teplota (°C)	Průměrné měsíční srážky (mm)
leden	2.8	27.2	0.2	39.2	0.6	13.8
únor	2.3	16.6	6.1	21.2	-0.4	10.8
březen	5.6	15.6	8.1	38.6	6.2	35.7
duben	8	78.3	11.1	18.1	11.7	20.7
květen	13.8	52.9	15.8	118.2	13	19.6
červen	18.7	32	19.4	155.8	19.6	52.3
červenec	21.8	21.4	21.7	58.8	19.8	124.3
srpen	19.9	116.9	22.1	35.3	19.4	60.8
září	17.8	19.8	16.2	193.6	15.4	105.9
říjen	12.1	24.2	10.4	27.1		
listopad	4.9	52.3	3.1	11.1		
prosinec	1.9	70.7	1.7	25.4		

### Sledované druhy a původ osiva

Předmětem sledování bylo pět bylinných druhů: *Vicia cracca*, *Galium verum*, *Hypericum perforatum*, *Dianthus deltoides* a *Leucanthemum vulgare*. Tyto druhy byly zvoleny na základě jejich ekologické a fytoecnologické významnosti v travinobylinných společenstvech střední Evropy a s ohledem na jejich potenciál pro produkci regionálního osiva (Pedrini et al., 2020). Osivo pro založení porostů pocházelo přirozených populací v regionu Vysočiny a na hranici s Panonskou oblastí (viz Obr. 1 a Tab. 2).

Tabulka 7: Seznam sesbíraných druhů

Název druhu	Zdrojová plocha	GPS
<i>Vicia cracca</i>	Stanoviska – louka	49°21'32.464"N, 16°28'3.456"E
<i>Hypericum perforatum</i>	Stanoviska – louka	49°21'32.464"N, 16°28'3.456"E
<i>Galium album</i>	Stanoviska – louka	49°21'32.464"N, 16°28'3.456"E
<i>Dianthus deltoides</i>	palouček pod hradem Pernštejn	49°27'01.885"N, 16°18'37.508"E
<i>Leucanthemum vulgare</i>	louka pod lesem, Železné	49°21'21.109"N, 16°27'15.951"E



Obrázek 1: Zdrojové lokality semen

### Založení matečných porostů

Matečné porosty byly založeny v září roku 2023 ručním výsevem do připravené půdy. Výsevní množství bylo specifické pro každý druh a pohybovalo se v rozmezí 0,25 – 3,5 g/m<sup>2</sup> v závislosti na velikosti semen. Experimentální parcely měly rozměr 1,5 × 4 m a byly odděleny 0,5 m rozestupy. Po výsevu byla plocha lehce uvalčována. Během vegetace byly porosty ručně odplevelovány a jednou ročně (na podzim) skoseny.

### Hodnocené parametry a sběr dat

Produktivita vysetých druhů byla hodnocena po dobu dvou vegetačních sezón po založení porostů. Sběr osiva probíhal individuálně pro každý druh v období fyziologické zralosti (Probert, 2000). Každoročně byly sledovány následující parametry:

- **výnos osiva ( $\text{g}/\text{m}^2$ )** – stanovený po dosušení a vyčištění sklizeného materiálu
- **pokryvnost porostu (%)**
- **hmotnost tisíce semen (HTS) (ISTA, 2020)**

### Zpracování a analýza dat

Data byla statisticky vyhodnocena pomocí vícefaktorové analýzy rozptylu (ANOVA), která zahrnovala faktory: rok, druh, výnos osiva, HTS a pokryvnost porostu k posouzení jejich vlivu na produktivitu a ke stanovení časového trendu. Pro následné porovnání průměrů mezi jednotlivými ročníky a druhy byl použit post-hoc Tukeyho test. Úroveň významnosti ( $\alpha$ ) byla pro všechny testy stanovena na 0,05 ( $p < 0,05$ ). Statistické zpracování bylo provedeno v programu STATISTICA 13.5 (TIBCO Software Inc., USA).

## Výsledky

### Dynamika produkce v čase

Během sledovaného období se u všech pěti druhů projevila výrazná dynamika jak v produkci osiva, tak v proměnách porostní struktury. Nízká, avšak přítomná, produkce osiva v prvním roce je typická pro fázi establishmentu porostu. To je v souladu s literaturou, která uvádí, že u vytrvalých druhů je první produkční rok charakterizován nízkým výnosem v důsledku postupné tvorby vegetativních orgánů a pozvolného zapojování porostu (Nevill et al., 2016; Pedrini et al., 2020).

Ve druhém roce došlo u čtyř z pěti druhů k významnému nárůstu produkce osiva (Tab. 3, Graf 1), což odpovídá obecné produkční křivce typické pro druhy s víceletým vývojovým cyklem (Pedrini et al., 2020). Ačkoli ANOVA naznačila rozdíly mezi roky 2024 a 2025, Tukeyho test neidentifikoval signifikantní rozdíly mezi žádnými konkrétními dvojicemi průměru.

### Kontrastní produkční strategie:

1. **Rychlá iniciální produkce:** V prvním roce dosáhl nejvyššího výnosu druh *Hypericum perforatum* ( $35 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ ), což potvrzuje jeho vysokou adaptabilitu vůči mírnému suchu a schopnost rychlé alokace zdrojů do reprodukce (Brunel-Muguet et al., 2025).
2. **Produkční vrchol ve druhém roce:** *Dianthus deltoides* produkoval v prvním roce pouze minimální množství osiva ( $0,19 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ ), ale ve druhém roce zaznamenal prudký nárůst na  $22,1 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ , co odpovídá dosažení maximální velikosti trsu. Podobný výrazný nárůst produkce semen byl zaznamenán u *Leucanthemum vulgare* ( $39,7 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ ), *Vicia cracca* ( $35,7 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ ) a *Galium verum* ( $30,7 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ ). Jejich vyšší produktivita souvisí s rychlým vegetativním šířením a tvorbou odnoží (*Leucanthemum vulgare*) a plnému zapojení porostu (*Dianthus deltoides*, *Vicia cracca* a *Galium verum*).

Tabulka 8: Vývoj výnosu osiva ( $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ) v průběhu dvou let po založení matečných porostů

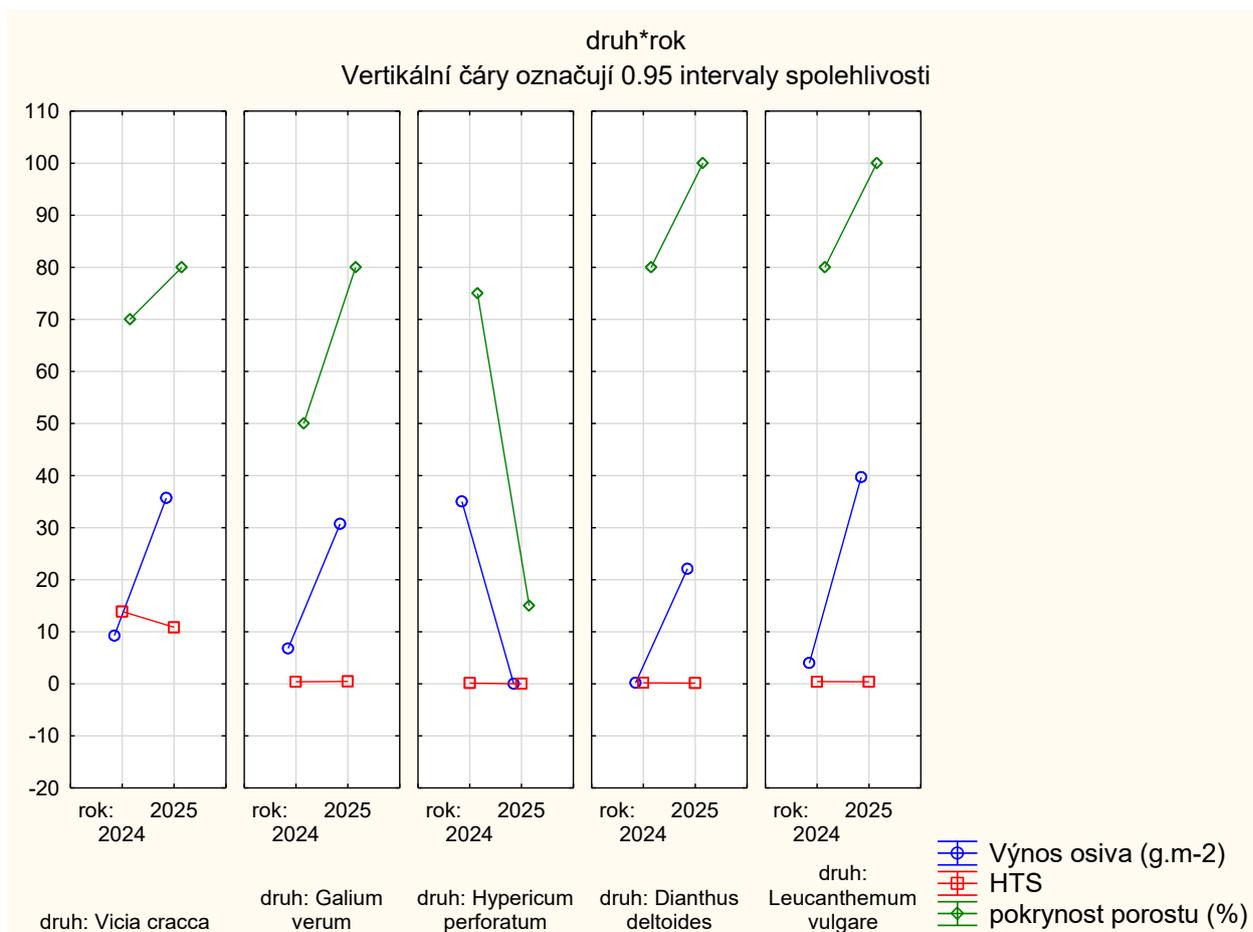
Název druhu	rok 2024			rok 2025		
	Výnos osiva ( $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ )	HTS	pokrynost porostu (%)	Výnos ( $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ )	HTS	pokrynost porostu (%)
<i>Vicia cracca</i>	9.3	13.906	70	35.7	10.869	80
<i>Galium verum</i>	6.8	0.407	50	30.7	0.461	80
<i>Hypericum perforatum</i>	35	0.137	75	0	0	15
<i>Dianthus deltoides</i>	0.19	0.184	80	22.1	0.141	100
<i>Leucanthemum vulgare</i>	4	0.419	80	39.7	0.397	100

*Biotický a abiotický stres*

Nárůst výnosu nebyl statisticky potvrzen pouze u *Hypericum perforatum*, kdy došlo ve druhém roce k dramatickému poklesu výnosu (snížení až o 100 % oproti prvnímu roku). Tento pokles nebyl způsoben suchem, ale silným napadením antraknózou třezalky (*Colletotrichum gloeosporioides*). Choroba vedla k tvorbě nekrotických skvrn, hnědnutí a následnému zasychání rostlin (Šafránková, 2020), čímž zásadně redukovala tvorbu semen. Ostatní sledované druhy nebyly významně poškozeny chorobami ani škůdci a prokázaly dobrou regenerační schopnost.

*Hodnocení produkční stability*

Meziroční variabilita výnosů, i po odečtení vlivu patogenů, souvisela především s průběhem počasí v době kvetení a dozrávání. To je v souladu s pozorováním Maity et al. (2023), kteří zdůrazňují význam srážkových výkyvů. Na srážkové výkyvy v jarním období jsou citlivé zejména druhy s mělkým kořenovým systémem (*Dianthus deltoides*, *Leucanthemum vulgare*).



Graf 2: Vývoj výnosu osiva (g.m-2), HTS a pokryvnosti v průběhu dvou let po založení matečných porostů

### Potenciál pro dlouhodobou produkci

- **Stabilní druhy:** *Vicia cracca*, *Galium verum* a *Leucanthemum vulgare* vykazují v prvních dvou letech postupný nárůst výnosu a zároveň vysokou pokryvnost porostu, což je činí ideálními kandidáty pro dlouhodobě udržitelnou produkci osiva.
- **Druhy s krátkodobým maximem:** Prudký nárůst u *Dianthus deltoides* ve druhém roce pravděpodobně představuje krátkodobý produkční vrchol, po němž se, v důsledku zvýšené vnitrodruhové konkurence a stárnutí porostu, očekává útlum produktivity (Nevill et al., 2016).
- **Rizikové druhy:** *Hypericum perforatum*, přes vysokou iniciální produkci, prokázalo vysokou citlivost k biotickým stresům, což znemožňuje stabilní produkci bez zvýšené ochrany proti patogenům.

Celkově výsledky jasně identifikují *Vicia cracca*, *Galium verum* a *Leucanthemum vulgare* jako druhy s nejvyšším potenciálem pro stabilní a dlouhodobě udržitelnou produkci osiva v matečných porostech, což je v souladu s doporučeními Pedrini et al. (2020) pro výběr druhů k dlouhodobému udržování porostů pro produkci autochtonního osiva.

## Závěr

Dvouleté sledování matečných porostů pěti vybraných lučních druhů (*Vicia cracca*, *Galium verum*, *Hypericum perforatum*, *Dianthus deltoides* a *Leucanthemum vulgare*) potvrdilo výraznou variabilitu mezi druhy v produkční schopnosti i stabilitě výnosu. Ve většině sledovaných druhů došlo ve druhém roce po založení k významnému nárůstu výnosu osiva, což signalizuje dosažení plné produkční fáze po počáteční stabilizaci.

Nejvyššího výnosu ve druhém roce dosáhly *Leucanthemum vulgare* (39,7 g·m<sup>-2</sup>) a *Vicia cracca* (35,7 g·m<sup>-2</sup>). *Dianthus deltoides* dosáhl silného produkčního vrcholu (22,1 g·m<sup>-2</sup>), u něhož se však v dalších letech očekává pokles. *Hypericum perforatum* vykázalo dramatické snížení výnosu ve druhém roce (až o cca 90 %) v důsledku silného napadení antraknózou třezalky (*Colletotrichum gloeosporioides*), což potvrdilo jeho vysokou citlivost k biotickým stresům.

Z hlediska dlouhodobé udržitelnosti a spolehlivosti produkce osiva se proto jako nejvhodnější jeví druhy *Vicia cracca*, *Leucanthemum vulgare* a *Galium verum*, které prokázaly vysokou vitalitu, schopnost regenerace a stabilní výnos v daném časovém horizontu.

Výsledky potvrdily, že dynamika produktivity je výrazně ovlivněna kombinací biotických a abiotických faktorů. Pro optimalizaci produkce a zajištění dlouhodobé stability osiva je proto vhodné zaměřit se na:

- pečlivý výběr druhů s vyšší odolností vůči chorobám a klimatickým výkyvům
- monitoring zdravotního stavu porostů, zejména u druhů náchylných k patogenům (jako je *H. perforatum*)
- udržování přiměřené hustoty porostu pro minimalizaci vnitrodruhové konkurence, zejména u druhů s krátkodobým produkčním vrcholem

Získané poznatky přispívají k optimalizaci managementu matečných porostů a k efektivnějšímu využívání domácích genetických zdrojů pro tvorbu regionálních směsí, přičemž zjištěné trendy jsou v souladu s literaturou o produkční dynamice vytrvalých bylin (Pedrini et al., 2020).

## Literatura

- BRUNEL-MUGUET, Sophie; BARÁNEK, Miroslav; FRAGKOSTEFANAKIS, Sotirios; SAUVAGE, Christopher; LIEBERMAN-LAZAROVICH, Michal; MAURY, Stéphane; KAISERLI, Eirini; SEGAL, Na'ama; TESTILLANO, Pilar S.; VERDIER, Jérôme. *Maternal environmental effects and climate-smart seeds:unlocking epigenetic inheritance for crop innovation in the seed industry*. Online. Wiley Online Library. 08 August 2025, The Plant Journal, Vol. 123, Issue 3; pp. 1-14. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111%2Ftpj.70407> [citováno 2025-10-13]
- DONOHUE, Kathleen. *Completing the cycle: maternal effects as the missing link in plant life histories*. Online. Philosophical transactions of the royal society B. 12 March 2009, Volume 364, Issue 1520, pp. 1059-1074. Dostupné z: <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0291> [citováno 2025-09-16]
- DRENOVSKY, Rebecca E.; THORNHILL, Megan L.; KNESTRICK, Matthew A.; DLUGOS, Daniel M.; SVEJCAR, Tony J.; JAMES, Jeremy J. *Seed Production and Seedling Fitness Are Uncoupled from Maternal Plant Productivity in Three Aridland Bunchgrasses*. Online. Elsevier. May 2016, Rangeland Ecology & Management. Volume 69, Issue 3, pp. 161-168. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.rama.2016.01.003> [citováno 2025-09-25]

- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA). International Rules for Seed Testing. Edice 2020. Bassersdorf, Switzerland: ISTA, 2020.
- MAITY, Aniruddha; DEBASHIS, Paul; AMRIT, Lamichaney; ABHRADIP, Sarkar; NIDHI, Babbar; NANDITA, Mandal; SUMAN, Dutta; PRAGATI, Pramanik; CHAKRABARTY, Shyamal K. *Climate Change Impacts on Seed Production and Quality*. Online. Seed Science Technology, Volume 51, Number 1, pp. 65-96. Dostupné z: <https://doi.org/10.15258/sst.2023.51.1.07> [citováno 2025-09-25]
- NEVILL, Paul G.; TOMLINSON, Sean; ELLIOTT, Carole P.; ESPELAND, Erin K.; DIXON, Kingsley W.; MERRITT, David J. *Seed production areas for the global restoration challenge*. Online. Wiley Online Library. 28. September 2016, Ecology and Evolution, Vol. 6, Issue 20; pp. 7490-7497. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/ece3.2455> [citováno 2025-10-13]
- PEDRINI, Simone; GIBSON-ROY, Paul; TRIVEDI, Clare; GÁLVEZ-RAMÍREZ, Candido; HARDWICK, Kate; SHAW, Nancy; FRISCHIE, Stephanie; LAVERACK, Giles; DIXON, Kingsley. *Collection and production of natives seeds for ecological restoration*. Online. Wiley Online Library. 29 April 2020, Restoration Ecology, Vol. 28, Issue S3; pp. S228-S238. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/rec.13190> [citováno 2025-10-09]
- PROBERT, Robin J. Seed Viability under Ambient Conditions, and the Importance of Drying. In: *Seed conservation: turning science into practice*. London: The Royal Botanic Gardens, Kew., 2003, s. 339-365. doi 10.1093/aob/mci097. [citováno 2025-09-25]
- QUITT, Eugen. Klimatické oblasti Československa. Brno: Geografický ústav ČSAV, 1971
- ŠAFRÁNKOVÁ, Ivana: *Choroby a škůdci třezalky*. Online. Agromanual 2020/4. 11.07.2020, s. 44. Mendelova univerzita v Brně  
Dostupné z: <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/ochrana-obecne/choroby-a-skudci-trezalky> [citováno 2025-10-17]

**Dedikace:** Výsledek vznikl z institucionální podpory MZE-RO1725.

**Kontakt:** Ing. Ivana Frei Ph.D.  
Zemědělský výzkum, spol. s r. o.  
Zahradní 1  
664 41 Troubsko  
tel.: 547 138 806, e-mail: frei@vupt.cz

## Inovace pěstitelské technologie pohanky seté

### Innovation in Common Buckwheat Cultivation Technology

*Frydrych J., Bradáčová L., Raab S.*

*OSEVA vývoj a výzkum s.r.o. se sídlem v Zubří*

#### **Abstrakt**

Výsledkem výzkumu v letech 2015 a 2025 bylo ověření selektivity pohanky seté (7 vybraných herbicidů Agil 100 EC, Fusilade Forte 150 EC, Betanal Tandem, Stemat Super, Lontrel 300, Select Super a Gramin). Uvedené herbicidy v testovaných dávkách neprokázaly fytotoxicitu u pohanky ve sledovaných znacích. V roce 2022 bylo povoleno rozšíření menšinového použití přípravků Fusilade Forte 150 EC v dávce 0,8–1 l·ha<sup>-1</sup> proti jednoletým jednoděložným plevelům a přípravku Agil 100 EC v dávce 0,5–0,8 l·ha<sup>-1</sup> proti jednoletým lipnicovitým plevelům a v dávce 1,2 l·ha<sup>-1</sup> proti pýru plazivému do množitelských porostů pohanky seté. V roce 2025 bylo povoleno rozšíření menšinového použití přípravku Select Super v dávce 0,8 l·ha<sup>-1</sup> proti jednoletým jednoděložným plevelům u množitelských porostů pohanky seté. V současnosti probíhá na stanici v Zubří výzkum zaměřený na snížení sklizňových ztrát a zvýšení kvality výsledného semene u pohanky seté.

**Klíčová slova:** pohanka setá, herbicidy, fytotoxicita, výzkum, kvalita semene

#### **Abstract**

Research conducted between 2015 and 2025 focused on evaluating the selectivity of buckwheat *Fagopyrum esculentum* Moench (seven herbicides Agil 100 EC, Fusilade Forte 150 EC, Betanal Tandem, Stemat Super, Lontrel 300, Select Super and Gramin). The tested herbicides, applied at the recommended rates, did not exhibit any phytotoxic effects on buckwheat in the assessed parameters. In 2022, the minor use extension was approved for Fusilade Forte 150 EC at a rate of 0.8–1.0 l·ha<sup>-1</sup> for the control of annual grass weeds, and for Agil 100 EC at rates of 0.5–0.8 l·ha<sup>-1</sup> against annual grasses and 1.2 l·ha<sup>-1</sup> against couch grass (*Elymus repens*) in seed-production stands of common buckwheat. In 2025, an additional minor use extension was approved for Select Super at a rate of 0.8 l·ha<sup>-1</sup> for the control of annual grass weeds in seed-production stands. Currently, ongoing research at the Zubří experimental station is focused on reducing harvest losses and improving the grain quality of common buckwheat.

**Keywords:** common buckwheat, herbicides, phytotoxicity, research, quality

#### **Úvod**

V roce 1993 bylo založeno celosvětově asi 2 milióny hektarů pohanky seté (Myers and Meinke, 1994). Mezi největší světové producenty pohanky můžeme zařadit Spojené státy americké, Čínu, Rusko, Ukrajinu a Francii (AG Canada Outlook, 2007); Alberta Agriculture and Food, 2001). Zvýšený zájem spotřebitelů v České republice o pohanku setou (*Fagopyrum esculentum*) se začíná projevovat od 90. let minulého století, zejména pro její nezastupitelnou úlohu v racionální výživě člověka a bezlepkové dietě. Zájem o pohanku v současnosti je motivován zejména důvody zdravotními, dietou, která posiluje imunitní systém člověka, zvyšuje pružnost cévních stěn, reguluje krevní srážlivost a obsah cholesterolu v krvi. Produkce pohanky se v posledních letech celosvětově zvýšila v důsledku poptávky na trhu se zdravou výživou po mouce, krupici a pohankovém medu (Myers a Meinke, 1994).

Tradičně u nás převažují názory, že pohanka je málo náročná na agroekologické podmínky. Dnes ovšem chceme využít pohanku jako perspektivní tržní plodinu k přímému potravinářskému využití s dobrou jakostí (Petr a kol., 1997). Z toho vyplývá, že musíme vytvořit co nejlepší podmínky pro pohanku tak, aby byl využit co nejlépe její výnosový potenciál a dosaženo požadovaného výnosu a kvality produkce zrna. Pohanka má však všestranné využití nejen jako obilnina, ale i jako zelenina a krmivo pro hospodářská zvířata. Lze ji využít na zelené hnojení či k získávání fytofarmak. Pohanka je plodina vhodná pro

pěstování v ekologickém zemědělství a díky svým vynikajícím nutričním vlastnostem je považována za jednu z nejhodnotnějších plodin (Janovská a kol., 2008).

Pohanka v současnosti začíná nabývat na významu jako minoritní plodina a výzkum selektivity pohanky vůči herbicidům významným způsobem inovuje pěstitelskou technologii této plodiny. V oblasti pěstitelských technologií ve všech plodinách je ochrana proti plevelům rozhodující opatření, které směřuje k zajištění odpovídajícího výnosu, ale také potřebné kvality produkce. Plevelé negativně ovlivňují růst pohanky zejména v období vzcházení, tvorby pravých listů až do začátku tvorby poupat, a to zejména jednoděložné a dvouděložné plevelé. Současně plevelé způsobují snížení výnosu osiva pohanky. Z těchto důvodů je menšinové povolení herbicidů do pohanky velmi důležité. Pěstovaná plocha pohanky seté v ČR není ČSÚ evidována a její odhadovaná pěstovaná plocha se dle různých zdrojů pohybuje zpravidla kolem 3 000 ha. Pohanka setá tedy výměrou, na které je pěstována, splňuje kritérium menšinového použití dle § 37 odstavec 2a zákona (Návrh na rozšíření povolení přípravku na ochranu rostlin na menšinová použití (čl. 51 nařízení ES č. 1107/2009 ve spojení s ustanovením §37 Zákona o rostlinolékařské péči 326/2004 Sb.)

Sama pohanka je dobrou předplodinou pro obilniny, dokonce s fytosanitárním účinkem. Jen u prosovitých obilnin se zjistilo, že výluhy z posklizňových zbytků pohanky inhibovaly klíčení a vzcházení. Ovšem po pohance je velmi dlouhé meziporostní období, takže se může tento vliv zmírnit (Petr a kol., 1997). Regulace plevelé prostřednictvím kořenových exsudátů potlačujících růst je slibnou alternativou k herbicidům. Pohanka setá (*Fagopyrum esculentum*) je známá pro potlačení plevelé a regulaci druhu laskavec ohnutý (*Amaranthus retroflexus*), pravděpodobně částečně způsobují alelopatické kořenové exsudáty (Gfeller a spol., 2018).

Pohanka má dobrou konkurenční schopnost vůči plevelům za tepla a vlhka. Mechanická regulace plevelů se provádí plečkováním širokořádkového porostu nebo vláčením plecími branami s vysokými prutovými nebo plochými prsty. Úzké i široké řádky lze odplevelit vláčením porostu plecími branami ve fázi 3–5 listů, tj. do výšky 20–25 cm vždy v odpoledních hodinách, kdy jsou rostliny pružné a nelámou se (Janovská a kol., 2008). Plevelé škodí v pohance seté zejména po založení porostu, vedle pozdních jarních plevelů je to v současnosti zejména ježatka kuří noha (*Echinochloa crus-galli*), která může výrazným způsobem oslabit porost pohanky před zapojením porostu (Frydrych a kol., 2016).

Současný zvýšený zájem pěstitelů a spotřebitelů o pohanku vytváří nové možnosti pro výzkumnou práci. Zejména je třeba řešit otázku pěstitelské technologie pohanky a zaměřit se na její slabá místa. Cílem nového výzkumu bude inovace pěstitelské technologie pohanky v současné zemědělské praxi a zvýšení kvality výsledného produktu zrna, který bude odpovídat vysokou jakostí potravinářským parametrům. Jedním ze slabých článků pěstitelských postupů je chemická ochrana proti plevelům (Frydrych a kol., 2016).

V roce 2022 a 2023 byl v pohance seté testován přípravek Select Super ((účinná látka clethodim 120 g.l<sup>-1</sup>)) v dávkce 0,8 l.ha<sup>-1</sup> a 1,6 l.ha<sup>-1</sup>. Select Super je selektivní graminicid, specialista na trávy v řepce, cukrovce a máku setém. Jeho účinnou látkou je clethodim, který patří do chemické skupiny cyklohexanonů. Přípravek účinkuje systemicky, jeho účinná látka proniká přes listy vzešlých plevelů v průběhu 1 hodiny po aplikaci a meristematickým pletivem je rozváděna do celé rostliny. Mechanismus účinku spočívá v inhibici syntézy mastných kyselin, tím dochází ke zničení pletiv u citlivých trav. Zasažené citlivé plevelé přestávají růst a postupně odumírají. Dostatečná teplota a vzdušná vlhkost podporují účinnost přípravku. Herbicidní účinek se podle povětrnostních podmínek projeví za 7–10 dní po aplikaci Selectu Super je díky obsahu výjimečné účinné látky ze skupiny tzv. DIMů přetrvávající inovací a vyčnívajícím produktem mezi graminicidy do řepky, cukrovky, máku setého a dalších plodin. V dávkce 0,8 l.ha<sup>-1</sup> přípravek působí proti jednoletým lipnicovitým plevelům, v dávkce 2 l.ha<sup>-1</sup> proti pýru plazivému.

V roce 2022 a 2023 byl v pohance seté testován přípravek Gramin (účinná látka quizalofop-P-ethyl 50 g.l<sup>-1</sup>). Gramin je postemergentní systémový graminicid ve formě emulgovatelného koncentrátu pro spolehlivé hubení pýru plazivého, jednoletých trav a výdrolu obilovin v řepce, cukrovce, krmné řepě, bramborách, slunečnici, bobu, hrachu, fazolích, čočce, sóji, lnu, brukvovité zelenině, cibuli, česneku, rajčatech, paprice, mrkvi, petrželi, červené řepě salátové, víceletých píceňkách, révě vinné, ovocných sadech a lesním hospodářství. Přípravek se aplikuje postemergentně, výhradně v době růstového optima plevelných trav, kdy většina z nich je ve fázi od 2 listů do konce odnožování. Aplikujte v období aktivního růstu trav. Dávku přípravku je třeba volit podle vývojových fází plevelných trav, ve fázi odnožování je třeba zvolit vyšší hranici dávkování. V dávce 1–1,5 l.ha<sup>-1</sup> přípravek působí proti jednoletým lipnicovitým plevelům, v dávce 2 l.ha<sup>-1</sup> proti pýru plazivému.

Jako standardní byl použit v pohance seté v letech 2022 a 2023 přípravek Agil 100 EC. Agil 100 EC je celosvětově intenzivně používán v mnoha zemích proti řadě významných druhů plevelných trav. V doporučených dávkách Agil 100 EC poskytuje vynikající a úplnou postemergentní ochranu proti širokému spektru jednoletých i vytrvalých trav. Agil 100 EC byl testován v dávkách 1,2 l.ha<sup>-1</sup> a 2,4 l.ha<sup>-1</sup> v letech 2017 a 2020 bez projevů fytoxicity na výnose semen, hmotnosti tisíce semen a klíčivosti u pohanky seté.

V současnosti probíhá na stanici v Zubří výzkum zaměřený na snížení sklizňových ztrát u pohanky a zlepšení kvality výsledného semene. Pohanka kvete dlouho a nerovnoměrně zdola nahoru. Také přisednutí plodů v květenství není pevné, a proto jsou velké ztráty výdrolem ještě před sklizní. Zvyšují se při nepříznivém počasí. Při optimální době setí v květnu jsou menší a s pozdní sklizní stoupají. Dosahují 300–600 kg na hektaru. Při předčasné sklizni jsou však nažky nenaplněné a s menší hmotností. Doba sklizně se posuzuje podle zbarvení nažek, které mají být tmavě hnědé. Sklizeň se zahajuje, když jsou na rostlinách dvě třetiny zralých nažek. Zbývající nažky bývají světlé nebo dokonce zelené. Dnes se obvykle sklízí přímo žací mlátičkou, šetrněji, s menší pojezdovou rychlostí a vyšším strništěm (15–20 cm) (Petr a kol., 1997). Sklizeň pohanky je poměrně náročná zejména z hlediska stálého nakvétání porostu a postupného dozrávání pohanky. Základním cílem při sklizni je dosažení minimálních ztrát a zabránění zapaření a plesnivění nažek u pohanky. Do výzkumu v letech 2023–2024 byl zařazen přípravek Agrovital (úč. l. pinolen 96 %) používaný v polních plodinách ovlivňující rovnoměrnost dozrávání a snižující ztráty po aplikaci u vybraných plodin. Agrovital omezuje samovolné praskání šesulí řepky olejky, lusků hrachu a ostatních luskovin, strboulů jetele lučního před sklizní a při sklizni. Prodlužuje dobu zrání u řepky o 3–5 dní, což má příznivý vliv na výnos, HTS, obsah oleje a nižší vlhkost. Vysoký smáčivý a lepivý efekt přispívá k optimálnímu využití účinných látek přípravků na ochranu rostlin i při nižším množství aplikační kapaliny a tím zároveň umožňuje zvýšit výkon postřikovače. Agrovital na povrchu listů chrání přípravky na ochranu rostlin před smyvem deštěm. Přípravek je určen i pro ekologické zemědělství. V kombinaci s fungicidy nezvyšuje toxicitu pro včely. Agrovital prodlužuje ovlhčení listů po aplikaci a tím umožní vstřebání většího množství účinné látky aplikovaného přípravku. Film Agrovitalu chrání přípravky na ochranu rostlin před odparem (důležité při aplikaci za vysokých teplot). Film Agrovitalu zůstává elastický (pružný) po celou dobu životnosti, nepraská jako je tomu u syntetického latexu. Agrovital nepodporuje fytoxicitu přípravků, a proto jej lze aplikovat i do citlivých plodin jako je cukrovka, mák a vytrvalé kultury. Přípravek omezuje tvorbu mlhy při aplikaci, tím se významně snižuje úlet.

## Materiál a metody

V publikaci je prezentována metodika hodnocení 3 herbicidů. Stejná metodika byla použita u všech 7 přípravků testovaných na selektivitu pohanky seté. Pro ověření biologické účinnosti herbicidů v pohance seté (*Fagopyrum esculentum*) ve dvouletém období let 2022 a 2023 byly založeny maloparcelkové pokusy o výměře parcely 10 m<sup>2</sup>. Pohanka byla založena po předplodině pšenici ozimé. Před výsevem byl pokus nahnojen dávkou 40 kg dusíku ve formě NPK. Výsevek pohanky činil 100 kg.ha<sup>-1</sup>, pro testování byla vybrána odrůda pohanky seté 'Zita'. Pohanka byla vyseta do bloku se čtyřmi opakováními pro jeden přípravek. V roce 2022 a 2023 byl testován přípravek Select Super (účinná látka clethodim 120 g.l<sup>-1</sup>) v dávkce 0,8 l.ha<sup>-1</sup> a 1,6 l.ha<sup>-1</sup>, přípravek Gramin (účinná látka quizalofop-P-ethyl 50 g.l<sup>-1</sup>) v dávkce 1 l.ha<sup>-1</sup> a 2 l.ha<sup>-1</sup> a přípravek Agil 100 EC (účinná látka propaquizafop 100 g.l<sup>-1</sup>) v dávkce 1 l.ha<sup>-1</sup> a 2 l.ha<sup>-1</sup>. Do pokusu byla zařazena i neošetřená kontrola.

Přípravky byly aplikovány v roce 2022 a 2023 ve fázi pohanky 3–5 listů. Dávka vody pro přípravky činila 200 l.ha<sup>-1</sup>. Pozorování bylo provedeno ve dvou termínech, 14 dnů po aplikaci a měsíc po aplikaci přípravků a zjišťovala se vizuální fytotoxicita po aplikaci (Tab. 1). Fytotoxicita byla hodnocena vizuálně v % odhadem se zaměřením na chlorózu a deformaci rostlin. V tabulce 1 jsou uvedeny průměrné hodnoty odhadované fytotoxicity u rostlin po aplikaci přípravků. Byl stanoven výnos zrna, hmotnost tisíce semen a klíčivost.

Pro výzkum metod usnadňujících sklizeň pohanky a snižující ztráty byl založen v roce 2023 maloparcelkový pokus o výměře parcely 10 m<sup>2</sup>. Výsevek pohanky činil 100 kg.ha<sup>-1</sup>, pro testování byla vybrána odrůda pohanky seté Zita. Pohanka byla vyseta do bloku se čtyřmi opakováními pro jednu variantu ošetření a celkem s 4 testovanými variantami a jednou neošetřenou kontrolou. Do výzkumu byl zařazen přípravek Agrovital v dávkce 0,7 l.ha<sup>-1</sup> v termínu aplikace 4, 3, 2 a 1 týden před sklizní pohanky s dávkou vody 300 l na hektar. Byl stanoven čistý výnos a výnosotvorné prvky (HTS, hektolitrová hmotnost a klíčivost) u všech testovaných variant.

## Výsledky a diskuze

(Petr a kol., 1997) udává na základě zkušeností pěstitelů v praxi v minulosti možnost použití přípravků pro postemergentní aplikace do pohanky Racer 25 EC 1,2–2 kg.ha<sup>-1</sup>, Ramrod 5 kg.ha<sup>-1</sup>, Synbetan D 3 l.ha<sup>-1</sup> + Citowet 0,1 l.ha<sup>-1</sup>, Kusagard 1,5–2 kg.ha<sup>-1</sup> a Fusilade 1,5–2 l.ha<sup>-1</sup>. Tyto přípravky rovněž nebyly registrovány v metodikách pro zemědělskou praxi. Frydrych (2016) uvádí ověření selektivity přípravků Garland Forte – ú. l. propachizafop – 100 g.l<sup>-1</sup> a Fusilade Forte 150 EC – ú. l. fluazifop-P-butyl – 150 g.l<sup>-1</sup> v roce 2015 a 2016 v pohance seté. Fytotoxicita u přípravků Garland Forte a Fusilade Forte 150 EC v pohance nebyla prokázána ve sledovaných značích výnosu zrna a hmotnosti tisíce semen v obou letech 2015 a 2016.

Frydrych (2021) uvádí, na základě výsledků výzkumu nebyla prokázána fytotoxicita po použití přípravků Betanal Tandem v dávkce 0,5 l.ha<sup>-1</sup> a 1 l.ha<sup>-1</sup>, Stemat Super v dávkce 0,5 l.ha<sup>-1</sup> a 1 l.ha<sup>-1</sup>, Lontrel 300 v dávkce 0,4 l.ha<sup>-1</sup> a 0,8 l.ha<sup>-1</sup> v pohance seté v roce 2019 a 2020 u sledovaných znaků výnos zrna, hmotnost tisíce semen a klíčivost. Příznaky fytotoxicity na rostlinách vymizely měsíc po aplikaci přípravků. V roce 2021 na základě výsledků výzkumu v letech 2017–2020 byl podán návrh na rozšíření povolení na menšinová použití přípravku na ochranu rostlin do množitelských porostů pohanky seté u herbicidních přípravků Betanal Tandem (ú.l. ethofumesát 190 g/l + fenmedifam (účinná látka propaquizafop 100 g.l<sup>-1</sup> 200 g/l, Stemat Super (ú.l. ethofumesát 500 g/l), Lontrel 300 (ú.l. clopyralid 300 g/l), Agil 100 EC a (ú.l. propaquizafop 100 g.l<sup>-1</sup>) Fusilade Forte 150 EC (ú.l. Fluazifop-P-butyl 150 g/l).

V roce 2022 bylo povoleno rozšíření menšinového použití přípravků Fusilade Forte 150 EC v dávkce 0,8–1 l.ha<sup>-1</sup> proti jednoletým jednoděložným plevelům a přípravku Agil 100 EC v dávkce 0,5–0,8 l.ha<sup>-1</sup> proti jednoletým lipnicovitým plevelům a v dávkce 1,2 l.ha<sup>-1</sup> proti pýru.

Aplikace přípravků Select Super, Gramin a Agil 100 EC v letech 2022 a 2023 proběhla v obou letech v první polovině měsíce června.

Fytotoxicita u těchto přípravků v rozsahu 5–7 % se projevila mírným zežloutnutím listů, pokroucením listů a nižším vzrůstem rostlin čtrnáct dnů po aplikaci u všech ošetřených variant. Měsíc po aplikaci přípravků příznaky fytotoxicity u nižších i vyšších dávek vymizely. Hodnocení fytotoxicity proběhlo v obou letech 2022 a 2023 v druhé polovině června a v první polovině měsíce července.

Tab. 1: Testované přípravky a dávky použité v roce 2022 a 2023 (odhady v %)

Varianta	Přípravek	Dávka (l.ha <sup>-1</sup> )	Fytotoxicita za 14 dnů průměr dvou let	Fytotoxicita za 28 dnů průměr dvou let
1	Kontrola			
2	Select Super	0,8	5	0
3	Select Super	1,6	7	0
4	Gramin	1,0	5	0
5	Gramin	2,0	7	0
6	Agil 100 EC	1,0	5	0
7	Agil 100 EC	2,0	7	0

Tab. 2: Výnos semene v roce 2022 a 2023 (kg.ha<sup>-1</sup>)

2022	Průměr (kg.ha <sup>-1</sup> )	% na kontrolu	Průkaznost na kontrolu	2023	Průměr (kg.ha <sup>-1</sup> )	% na kontrolu	Průkaznost na kontrolu
1	1351	100,00		1	1497	100,00	
2	1457	107,83	++	2	1620	108,25	++
3	1450	107,27	++	3	1609	107,52	++
4	1461	108,12	++	4	1623	108,44	++
5	1453	107,55	++	5	1615	107,90	++
6	1463	108,29	++	6	1632	109,02	++
7	1460	108,03	++	7	1626	108,65	++

Anova: md 0,05: 4,451 md 0,01: 6,56

++ vysoce průkazný rozdíl

Anova: md 0,05: 3,828 md 0,01: 5,208

+ průkazný rozdíl

U přípravků Select Super, Gramin a Agil 100 EC se neprojevila fytotoxicita ve sledovaném znaku výnos semene (Tab. 2). Nejnižší výnos v roce 2022 a 2023 byl zaznamenán u neošetřené kontroly.

Tab. 3: Hmotnost tisíce semen v roce 2022 a 2023 (g)

2022	Průměr (g)	% na kontrolu	Průkaznost na kontrolu	2023	Průměr (g)	% na kontrolu	Průkaznost na kontrolu
1	25,30	100,00		1	26,64	100,00	
2	26,29	103,90	++	2	27,70	103,97	++
3	26,11	103,19	++	3	27,58	103,50	++
4	26,32	104,05	++	4	27,74	104,10	++
5	26,26	103,81	++	5	27,65	103,76	++
6	26,43	104,46	++	6	27,78	104,28	++
7	26,31	103,98	++	7	27,67	103,87	++

Anova: md 0,05: 0,072 md 0,01: 0,098

++ vysoce průkazný rozdíl

Anova: md 0,05: 0,049 md 0,01: 0,066

+ průkazný rozdíl

Tab. 4: Klíčivost semen v roce 2022 a 2023 (%)

2022	Průměr (%)	% na kontrolu	Průkaznost na kontrolu	2023	Průměr (%)	% na kontrolu	Průkaznost na kontrolu
1	95,00	100,00		1	96,50	100,00	
2	96,25	101,32	++	2	97,50	101,04	++
3	96,00	101,05	+	3	97,25	100,78	+
4	96,75	101,84	++	4	98,25	101,81	++
5	96,50	101,58	++	5	97,75	101,30	++
6	97,25	102,37	++	6	98,75	102,33	0
7	97,00	102,11	++	7	98,50	102,07	0

Anova: md 0,05: 0,889 md 0,01: 1,209

Anova: md 0,05: 0,879 md 0,01: 1,196

++ vysoce průkazný rozdíl

+ průkazný rozdíl

Výsledky výzkumu byly zpracovány statistickou metodou Anova.

U přípravků Select Super, Gramin a Agil 100 EC se neprojevila fytotoxicita ve sledovaném znaku hmotnost tisíce semen (Tab. 3) a klíčivost (Tab. 4) ve dvou zkušebních letech. U obou sledovaných znaků byly nejnižší hodnoty u neošetřené kontroly.

Sakaliene a kol. (2008) uvádí výsledky ověření herbicidů Lontrel 300 s účinnou látkou clopyralid a herbicidu Betanal AM s účinnou látkou desmedipham a jejich kombinací v pohance seté. Autoři uvádí účinnost vybraných herbicidních variant na cílené plevele. U pohanky byl hodnocen vliv ošetření u jednotlivých variant na počet rostlin na metr čtvereční, výšku rostlin, hmotnost rostlin, počet semen, výnos zrna a hmotnost tisíce semen. Autoři zjistili, že kombinace herbicidních přípravků významně nezvyšovaly výnos zrna pohanky oproti neošetřené kontrole. U samostatných aplikací clopyralidu a desmediphamu docházelo k navýšení výnosu zrna u některých dávek účinné látky. Výzkum probíhal ve 4 letech.

V roce 2024 na základě výsledků výzkumu v letech 2022–2023 byl podán Návrh na rozšíření povolení na menšinová použití přípravku na ochranu rostlin do množitelských porostů pohanky seté u herbicidních přípravků Select Super v dávce 0,8 l.ha<sup>-1</sup> a Gramin v dávce 1–1,5 l.ha<sup>-1</sup> a 2 l.ha<sup>-1</sup> do množitelských porostů pohanky seté. Všechny herbicidy jsou určeny pro postemergentní ošetření ve fázi 3–5 listů pohanky seté (BBCH 13–15). V publikaci jsou uvedeny výsledky výzkumu fytotoxicity testovaných herbicidů v pohance seté. Publikace je určena pro odbornou zemědělskou veřejnost.

Tab. 5: Výnos semene a výnosotvorné prvky u pohanky seté v roce 2023 po aplikaci Agrovitalu

Varianta	Výnos semene (kg.ha <sup>-1</sup> )	Průkaznost	% navýšení	HTS (g)	Průkaznost	% navýšení
1	1451,05	0	100,00	26,3964	+	100,00
2	1543,93	+	106,40	26,8163	++	101,59
3	1570,48	+	108,23	27,1136	++	102,72
4	1592,95	+	109,78	27,3569	++	103,64
5	1560,13	+	107,52	26,9792	++	102,21

ANOVA md 0,05: 142,051 md 0,01: 104,405

ANOVA md 0,05: 0,414 md 0,01: 0,563

+ průkazný rozdíl ++ vysoce průkazný rozdíl

Tab. 6: Výnos semene a výnosotvorné prvky u pohanky seté v roce 2023 po aplikaci Agrovitalu

Varianta	Hektolitrová hmotnost (kg.m <sup>-3</sup> )	Průkaznost	% navýšení	Klíčivost (%)	Průkaznost	% navýšení
1	718,43		100,00	96,00		100,00
2	726,33	++	101,10	96,50	0	100,52
3	726,85	++	101,17	97,00	++	101,04
4	727,15	++	101,21	97,25	++	101,30
5	726,55	++	101,13	96,75	+	100,78

ANOVA md 0,05: 5,418      md 0,01: 7,372

ANOVA md 0,05: 0,570      md 0,01: 0,776

+ průkazný rozdíl      ++ vysoce průkazný rozdíl

Testované varianty pro aplikaci pohanky v roce 2023

- 1 – neošetřená kontrola
- 2 – Agrovital 0,7 l/ ha 4 týdny před sklizní
- 3 – Agrovital 0,7 l/ ha 3 týdny před sklizní
- 4 – Agrovital 0,7 l/ ha 2 týdny před sklizní
- 5 – Agrovital 0,7 l/ ha 1 týden před sklizní

Navýšení výnosu semene pohanky po aplikaci Agrovitalu v dávce 0,7 l.ha<sup>-1</sup> se pohybovalo od 6,40 % do 9,78 % u jednotlivých variant (Tab. 5). Nejvyšší navýšení výnosu semene dosáhla varianta s aplikací Agrovitalu v dávce 0,7 l.ha<sup>-1</sup> 14 dnů před sklizní v roce 2023 (9,78 %). V roce 2023 u všech testovaných variant nebyla prokázána fytotoxicita ve výnosotvorných prvcích, HTS, hektolitrové hmotnosti a klíčivosti (Tab. 6). Fytotoxicita nebyla prokázána na rostlinách po aplikaci Agrovitalu ve všech aplikačních termínech. Výnos semene pohanky může být za optimálních půdních a zejména klimatických podmínek vyšší než 2 t/ha, za nepříznivých podmínek však zůstane pod 1 t/ha (Varga, 1966). Podle údajů FAO se výnos semene pohanky v Maďarsku v období od roku 1992 do roku 2008 pohyboval od 0,35 (1992) do 1,5 t/ha (1997) (FAOSTAT 2010).

### Závěr

Cílem výzkumu bylo ověřit selektivitu pohanky seté (*Fagopyrum esculentum*) vůči vybraným herbicidům a jejich využití pro zemědělskou praxi. V letech 2015–2025 byla ověřena selektivita pohanky seté u 7 vybraných herbicidů (Agil 100 EC, Fusilade Forte 150 EC, Betanal Tandem, Stemat Super, Lontrel 300, Select Super a Gramin). Uvedené herbicidy v testovaných dávkách neprokázaly fytotoxicitu u pohanky ve sledovaných znacích výnos semene, HTZ a klíčivost. Příznaky fytotoxicity herbicidů pokud se vyskytly vymizely v termínu 28 dnů po aplikaci přípravků. V roce 2022 bylo povoleno rozšíření menšinového použití přípravků Fusilade Forte 150 EC v dávce 0,8–1 l.ha<sup>-1</sup> proti jednoletým jednoděložným plevelům a přípravku Agil 100 EC v dávce 0,5–0,8 l.ha<sup>-1</sup> proti jednoletým lipnicovitým plevelům a v dávce 1,2 l.ha<sup>-1</sup> proti pýru plazivému do množitelských porostů pohanky seté. V roce 2025 bylo povoleno rozšíření menšinového použití přípravku Select Super v dávce 0,8 l.ha<sup>-1</sup> proti jednoletým jednoděložným plevelům u množitelských porostů pohanky seté. V současnosti probíhá výzkum inovace pěstitelské technologie pohanky zaměřený na snížení sklizňových ztrát a zvýšení kvality výsledného produktu semene pohanky. První výsledky v roce 2023 ukazují pozitivní vliv přípravku Agrovital na zvýšení výnosu semene pohanky a kvality sklizeného produktu. Výzkum inovace pěstitelské technologie pohanky zaměřený na herbicidy a snížení výnosových ztrát semene a zvýšení kvality výsledného produktu pokračuje i v současnosti.

## Literatura

- Ag Canada Outlook, (2007) Buckwheat/Fababeans. [http://www.fna.ca/index.php?option=com\\_content&task=view&id=5341&Itemid=51](http://www.fna.ca/index.php?option=com_content&task=view&id=5341&Itemid=51). Accessed: March, 2008.
- Alberta Agriculture and Food, (2001) Common Buckwheat. [http://www1.agric.gov.ab.ca/\\$department/deptdocs.nsf/all/agdex103?opendocument](http://www1.agric.gov.ab.ca/$department/deptdocs.nsf/all/agdex103?opendocument). Accessed: March, 2008.
- Frydrych, J., Bradáčová L. (2021) Nové herbicidy na ochranu rostlin do pohanky seté. *Úroda* roč. 69, č. 12, vědecká příloha, s. 234–244. ISSN 0139-6013.
- Frydrych, J., Volková, P. (2016). Selektivita pohanky seté vůči vybraným herbicidům. *Úroda, vědecká příloha*, roč. 64, č. 12, s. 205–208.
- Gfeller, A., Glauser, G., Etter, C., Signarbieux, C., Wirth, J. (2018) *Fagopyrum esculentum* alters its root exudation after *Amaranthus retroflexus* recognition and suppresses weed growth. *Frontiers in Plant Science*, Vol. 9, 50. <https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2018.00050/full#h1>
- Janovská, D., Kalinová, J., Michalová, A. (2008) Metodika pěstování pohanky obecné v ekologickém a konvenčním zemědělství. *Metodika pro praxi*, 14 s.
- Myers, R. L. and Meinke, L. J. (1994) Buckwheat: a Multipurpose, Short Season Alternative. MU Extension G4306. <https://extension.missouri.edu/publications/g4306>. Accessed: March, 2008.
- Petr, J., Hradecká, D. (1997) Základy pěstování pohanky a prosa. IVV MZe ČR Praha, 32 s.
- Sakaliene, O., Clay, S.A., Koskinen, W.C. and Source, G.A. (2008) Early Season Weed Suppression in Buckwheat Using Clopyralid. *Weed Technology*, Vol. 22, No. 4, pp. 707–712.
- Radics, L.; Mikóházi, D. (2010) Principles of common buckwheat production. *The European Journal of Plant Science and Biotechnology*, 4.1: 57–63.
- Farooq, S., et al. (2016) Cultivation, agronomic practices, and growth performance of buckwheat. In: *Molecular breeding and nutritional aspects of buckwheat*. Academic Press, p. 299–319.
- Domingos, I. F. N; Bilsborrow, P. E. (2021) The effect of variety and sowing date on the growth, development, yield and quality of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). *European journal of agronomy*, 126: 126264.

## Poděkování

Publikace vznikla za finanční podpory MZe v rámci institucionální podpory na rozvoj výzkumné organizace OSEVA vývoj a výzkum s.r.o. se sídlem v Zubří č. MZE-RO1823.

## Kontakt

Ing. Jan Frydrych  
OSEVA vývoj a výzkum s.r.o.  
Hamerská 698, Zubří 756 54  
[frydrych@oseva.cz](mailto:frydrych@oseva.cz)

## Využití trav jako obnovitelných zdrojů energie se zaměřením na peletování a spalování

Using grasses as renewable energy sources with a focus on pelleting and combustion

Frydrych J.<sup>1</sup>, Jezerská L.<sup>2</sup>, Raab S.<sup>1</sup>, Bradáčová L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>OSEVA vývoj a výzkum s.r.o. se sídlem v Zubří, <sup>2</sup>VŠB – Technická univerzita Ostrava, CEET, Centrum ENET, Ostrava

### Abstrakt

Studie se zabývá možnostmi využití vybraných druhů kostřav – kostřavy červené (*Festuca rubra*), kostřavy luční (*Festuca pratensis*) a kostřavy rákosovité (*Festuca arundinacea*) – jako obnovitelných zdrojů energie se zaměřením na peletování a spalování. Experimentální výzkum trav probíhal v letech 2024–2025 v podmínkách OSEVA vývoj a výzkum s.r.o. v Zubří ve spolupráci s VŠB – TU Ostrava, Centrem energetických a environmentálních technologií (CEET), Centrem ENET. Byly hodnoceny výnosy zelené a suché hmoty, elementární složení a energetické parametry biomasy. Nejvyššího výnosu suché hmoty (6,24 t·ha<sup>-1</sup>) dosáhla kostřava rákosovitá v roce 2025. Z energetických analýz vyplynulo, že kostřava červená vykazuje nejvyšší hodnoty spalného tepla (19 201 kJ·kg<sup>-1</sup>), nejnižší obsah popele (2,7 %) a nejvyšší podíl uhlíku (44,03 hm. %), což z ní činí nejvhodnější alternativní biopalivo z hodnocených druhů.

**Klíčová slova:** kostřava červená, kostřava luční, kostřava rákosovitá, peletizace, biomasa

### Abstract

This study focuses on potential use of selected fescue species – red fescue (*Festuca rubra*), meadow fescue (*Festuca pratensis*), and tall fescue (*Festuca arundinacea*) – as renewable energy sources, with a particular focus on pelletization and combustion processes. Experimental research was carried out between 2024 and 2025 under the conditions of OSEVA Development and Research Ltd. in Zubří, in collaboration with the Centre for Energy and Environmental Technologies (CEET), ENET Centre, VŠB – Technical University of Ostrava. The study assessed green and dry matter yields, elemental composition, and energy characteristics of the biomass. The highest dry matter yield (6.24 t·ha<sup>-1</sup>) was obtained for tall fescue in 2025. Energy analyses showed that red fescue exhibited the highest gross calorific value (19,201 kJ·kg<sup>-1</sup>), the lowest ash content (2.7%), and the highest carbon content (44.03 wt.%), identifying it as the most suitable alternative biofuel among the evaluated species.

**Keywords:** red fescue, meadow fescue, tall fescue, pelletization, biomass

### Úvod

Využití obnovitelných zdrojů energie v současnosti nabývá na významu. Trávy představují významný zdroj biomasy v podmínkách České republiky ze zemědělských i nezemědělských ploch. Výzkumem a využitím trav jako obnovitelných zdrojů energie se zabývala OSEVA vývoj a výzkum s.r.o. se sídlem v Zubří ve spolupráci s Vysokou školou báňskou – Technickou univerzitou v Ostravě a Výzkumným ústavem zemědělské techniky, v.v.i. Praha. Výzkum trav probíhal se zaměřením na využití travní biomasy pro spalování a výrobu bioplynu. Výroba energie z travní biomasy vytváří nové možnosti a rozšiřuje široký potenciál trav z hlediska jejich zemědělského i nezemědělského využití o oblast fytoenergetiky pro zemědělskou praxi. Travní biomasa má energetický potenciál a lze ji uplatnit jako udržitelný obnovitelný zdroj energie. Praktické použití má však několik technických problémů jako například nerovnoměrná morfoloická struktura, nižší obsah ligninu, nízká objemová hmotnost a průměrný obsah energie ve srovnání s jinými palivy. Výzkumné aktivity v této oblasti jsou značné. Je však zřejmá nutnost zvýšit dynamiku komerčního peletizačního procesu, s cílem využití různorodých vstupních kombinací. V roce 2024 byl podpořen projekt Vysoké školy báňské – TU v Ostravě, Centra energetických a environmentálních technologií (CEET) a firmy OSEVA

vývoj a výzkum s.r.o. se sídlem v Zubří s názvem Výzkum procesů zahrnujících výrobu biopellet. Výsledkem projektu bude nová experimentální laboratorní technologická linka pro pelletizaci různých materiálů a směsí. Kvalita připravených palivových pelet z energeticky využitelných trav bude vzájemně porovnávána a vyhodnocována (Ježerská, 2024). Výzkumná práce nového projektu zdůrazňuje také význam optimalizace pojiv a homogenizace směsí při výrobě pelet a identifikuje klíčové výzvy průmyslového pelletování. Výsledky budou aplikovány v začínajícím projektu zacíleného na vývoj technologické linky, která by měla přispět k zefektivnění přípravy směsí biomasy a k urychlení jejich praktického využití. Studie přispívá k udržitelnému rozvoji fytoenergetiky a využití biomasy jako obnovitelného zdroje energie. Vytrvalé trávy jsou odolné vůči abiotickým stresům a spolu s jejich mnohostranným využitím, včetně krmiva a vlákniny, výroby obnovitelné energie a příspěvku k ekosystémovým službám, mohou být předními bylinnými rostlinami vhodnými pro multifunkční zemědělství. Vytrvalé energetické trávy mají schopnost růst v proměnlivých prostředích, včetně okrajových oblastí, čímž se minimalizuje konkurence s potravinářskými plodinami na účinky nepřímé změny ve využívání půdy (iLUC efekt) (Scordia et al., 2019). Od poloviny 80. let 20. století v USA a Evropě vzrůstá zájem o využití víceletých trav jako energetických plodin. Charakteristiky, které činí vytrvalé trávy atraktivní pro produkci biomasy, jsou jejich vysoký výnosový potenciál, vysoký obsah ligninu a celulózy v jejich biomase a jejich obecně očekávaný pozitivní dopad na životní prostředí (Lewandovski et al., 2003). Zároveň trávy jsou vhodnou vstupní surovinou pro pelety, které jsou využitelné jak pro tepelné, tak energetické aplikace a jsou ve shodě s politikou snižování emisí skleníkových plynů (Whittaker et al., 2017). Pelletizovaná biomasa potom produkuje méně emisních částic ve srovnání se svou původní formou. V posledních letech se pěstování trvalých trav, jako energetických plodin ukázalo jako velmi schůdná možnost, a to především díky jejich komparativním ekologickým výhodám oproti jednoletým energetickým plodinám (Shen et al., 2012; Varnero et al., 2018). Nedřevní biomasová paliva mají velký potenciál nahradit fosilní paliva a snížit emise skleníkových plynů. Kromě tradičního použití vykazují trvalé oddenkové trávy, jako energetické plodiny několik pozitivních vlastností díky své vysoké produktivitě a nízkým nárokům na vstupy živin, což je důsledek recyklace živin jejich oddenkou a odolnosti vůči biotickým i abiotickým stresům. Proto se používají k výrobě tepla a elektřiny. Kromě toho se trávy jeví jako ekonomicky a environmentálně vhodné palivo pro výrobu místní energie ve venkovských oblastech.

### **Materiál a metody**

Pro výzkumné účely, jež probíhaly v letech 2025 a budou probíhat v roce 2026, byl v roce 2024 založen maloparcelový pokus s vybranými druhy trav. U trav bylo osivo pro pokus naváženo podle jednotlivých druhových komponentů a rozváženo do papírových sáčků pro vlastní výsev. Před výsevem byl zhotoven plán výsevu jednotlivých variant pro navržené trávy. Pozemek před setím byl zpracován vláčením těžkými branami a válením rýhovanými válci. Před setím byl pozemek přihnojen kombinovaným hnojivem NPK – 12-12-12 v dávce 4 q na hektar. Po rozměření pokusu a vytýčení bylo proveden zásev secím strojem Hege 80. Pokus s travami byl založen na parcelách o velikosti 10 m<sup>2</sup>, vždy ve čtyřech opakováních. Parcely byly zasety s roztečí řádků 20 cm. Po zasetí byl pokus přiválen rýhovanými válci. Pokus vzešel do 21 dnů po zasetí. Do pokusu byly zařazeny tyto druhy: kostřava červená (*Festuca rubra* L.) 'ZULU', kostřava luční (*Festuca pratensis* Huds.) 'OTAVA', kostřava luční (*Festuca pratensis* Huds.) 'ROŽNOVSKÁ', kostřava rákosovitá (*Festuca arundinacea* Schreb.) 'KORA'. Na podzim v roce 2024 byly trávy přihnojeny dávkou 50 kg N.ha<sup>-1</sup>. Na jaře v roce 2025 byly trávy přihnojeny dávkou 50 kg.ha<sup>-1</sup> dusíku a ošetřeny proti dvouděložným plevelům přípravkem Mustang v dávce 0,6 l na hektar. V prvním roce řešení 2024 byla využita travní biomasa z pokusů genových zdrojů trav v Zubří a ze založených semenářských porostů na stanici. Trávy

založené v maloparcelovém pokuse v roce 2024 byly určeny pro sklizeň v roce 2025 a 2026. Pro testování byly odebrány vzorky u vybraných travních druhů ve fázi začátku metání a vymláčená sláma po sklizni trav pěstovaných na semeno. U vybraných travních druhů v roce 2024 byly odebrány vzorky a stanoven výnos zelené hmoty a suché hmoty. V roce 2025 byla využita biomasa z genových zdrojů trav v Zubří a současně i z pokusů založeného v roce 2024. Pokusy byly sklizeny na výnos zelené a suché hmoty. Biomasa z genových zdrojů trav byla sklizena ve fázi začátku metání trav a trávy z pokusu založeného v roce 2024 byly sklizena ve fázi technické zralosti semen. Pro testování a energetické analýzy byly rovněž odebrány vzorky u vybraných travních druhů ve fázi začátku metání a vymláčená sláma po sklizni trav pěstovaných na semeno.

**Charakteristika trav testovaných v podmínkách OSEVY vývoje a výzkumu s.r.o. v Zubří**  
**Kostřava červená (*Festuca rubra* L.)** – tráva trsnatá nebo výběžkatá, u nichž jsou zpravidla přítomny vněpochevní výběžky, nižšího vzrůstu (20–100 cm) matně zelené až šedo zelené barvy. Vytrvalý druh ozimého charakteru. Po zasetí vzchází středně rychle, za 2–3 týdny. Obrůstá časně z jara a začátkem metání se řadí k travám raným až středně raným. V roce zásevu a dalších sečích nemetá. Je velmi odolná vůči nepříznivým klimatickým podmínkám, toleruje sucho, zastínění, nízké pH i chudé půdy. Existují trávnickové i pícní odrůdy. Pícní odrůdy náleží převážně k výběžkaté formě a uplatňují se v extenzivně obhospodařovaných trvalých lučních a pastevních porostech na extrémnějším stanovištích.

**Kostřava luční (*Festuca pratensis* Huds.)** – volně trsnatá tráva středního až vyššího vzrůstu (40–100 cm), sytě zelené barvy. Víceletá až vytrvalá tráva ozimého charakteru. Po zasetí se vyvíjí středně rychle. V roce zásevu nemetá, plného vývinu dosahuje ve druhém užitkovém roce. Na jaře obrůstá časně. Dobou metání se řadí k travám středně raným. Poskytuje vysoké výnosy velmi kvalitní píce. Po seči regeneruje dobře. Je poměrně zimovzdorná a toleruje přísušky. Nevýhodou je slabší konkurenční schopnost zvláště při intenzivnějším způsobu obhospodařování. Z pícninářského hlediska je hodnocena jako jeden z nejkvalitnějších, univerzálně využitelných druhů trav. Používá se do směsí jak pro dočasné jetelotravní porosty na orné půdě, tak i pro víceleté a vytrvalé luční a pastevní porosty.

**Kostřava rákosovitá (*Festuca arundinacea* Schreb.)** – volně trsnatá tráva robustního vzrůstu (60–150 cm i více) a krátkými podzemními výběžky, vytvářející mohutné trsy sytě zelené barvy. Vytrvalý druh ozimého charakteru. Po zásevu vzchází středně rychle, za 2–3 týdny, v roce zásevu nemetá. Má rychlý jarní růst. Dobou metání se řadí k travám středně raným. Je velmi vitální a přizpůsobivá k širokému spektru půdních i klimatických podmínek. Vyznačuje se výjimečnou schopností snášet nepříznivé biotické a abiotické stresy, zejména extrémní nedostatek srážek v letním období. Toleruje i zastínění. Z pícninářského hlediska jde o velmi výnosný druh, avšak s horší kvalitou píce.

### Popis pokusné lokality

OSEVA vývoj a výzkum s.r.o. se sídlem v Zubří leží 4 km západně od Rožnova pod Radhoštěm (Zlínský kraj) v nadmořské výšce 345 m. Dlouhodobá průměrná roční teplota je 8,8 °C a dlouhodobý roční úhrn srážek činí 790,2 mm. Dlouhodobá průměrná teplota za vegetační období je 15,3 °C a dlouhodobý úhrn srážek za vegetační období činí 512,7 mm. Pozemky na stanici se nacházejí v klimatickém regionu 7 – mírně teplém.

### Metodika energetických analýz vybraných travních druhů

Prvková složení pro všechny testované kostřavy byla stanovena na VŠB-TU Ostrava, CEET, IET analyzátořem LECO CHN 628. Vzorky byly spalovány v oxidační atmosféře při teplotách 950 °C pro stanovení prvků C, H a N a pro síru při teplotě 1 350 °C. Obsah C, H a S byl detekován infračerveným senzorem, koncentrace N teplotně vodivostním senzorem. Energetické parametry byly stanoveny termogravimetrickou analýzou na přístroji LECO TGA

701. Stanoveny byly obsah vlhkosti, popela a hořlaviny. Spalné teplo bylo měřeno kalorimetrem LECO AC600 na základě spalování vzorku v oxidační atmosféře.

### Výsledky

Tab. 1: Výnosy zelené hmoty a suché hmoty u vybraných trav v době sklizně semen v roce 2024

Číselné označení	Druh	Odrůda	Sklizňová zralost	Výnos zelená hmota t.ha <sup>-1</sup>	Výnos suchá hmota t.ha <sup>-1</sup>
1	Kostřava červená	ZULU	sláma	7,06	3,65
2	Kostřava luční	ROŽNOVSKÁ	sláma	11,00	5,58
3	Kostřava rákosovitá	KORA	sláma	11,75	5,96

Tab. 2: Výnosy zelené hmoty a suché hmoty u vybraných trav v době sklizně semen v roce 2025

Číselné označení	Druh	Odrůda	Sklizňová zralost	Výnos zelená hmota t.ha <sup>-1</sup>	Výnos suchá hmota t.ha <sup>-1</sup>
1	Kostřava červená	ZULU	sláma	7,67	3,94
2	Kostřava luční	OTAVA	sláma	11,81	6,03
3	Kostřava rákosovitá	KORA	sláma	12,04	6,24

V roce 2025 byla biomasa z genových zdrojů trav sklizena ve fázi začátku metání a trávy z pokusu založeného v roce 2024 byly sklizeny ve fázi technické zralosti semene.

Nejvyšší výnos zelené hmoty 12,04 t.ha<sup>-1</sup> a suché hmoty (slámy) 6,24 t.ha<sup>-1</sup> dosáhla v roce 2025 kostřava rákosovitá 'Kora'. Frydrych (2023) uvádí, jako významný zdroj biomasy využitelné pro energetické účely v současnosti vymlácenou slámu z trav pěstovaných na semeno a produkci sena z trvalých travních porostů. Jasinskas et al. 2008 uvádí – produktivita trav za dobrých povětrnostních podmínek se pohybovala mezi 6,3 a 8,8 t sušiny.ha<sup>-1</sup>, zatímco za nepříznivých podmínek mezi 2,8 a 6,5 t.ha<sup>-1</sup>. Čistá výhřevnost suché biomasy se pohybovala od 17,1 do 18,5 MJ.kg<sup>-1</sup> a závisela na složení trav, pěstebních podmínkách a době sečení. Teplota spalování se pohybovala od 770 do 955 °C. V litevských klimatických podmínkách byl energetický potenciál vysokorostlých trav pěstovaných na lehkých půdách s nízkým obsahem humusu 115–153 GJ.ha<sup>-1</sup> a energetický vstup pro výrobu biopaliv činil 8,0–19,2 GJ.ha<sup>-1</sup>.

### Energetické analýzy slámy vybraných travních druhů

Kostřava červená, luční a rákosovitá byly nejprve podrceny na kladívkovém drtiči (Kovo Novák, Česká republika). Nadrcený materiál je pro ilustraci znázorněn na obr. 1. Následovala

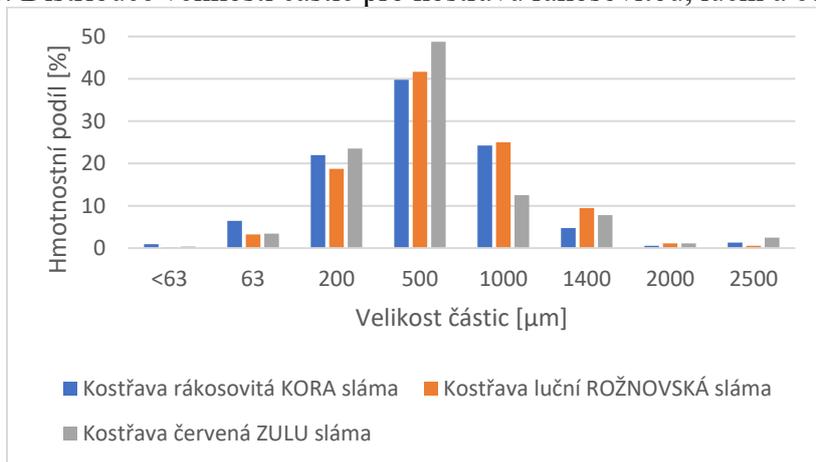
peletizace připraveného materiálu na peletizačním lisu Stiler KL200C (Stiler, Polsko). Výsledné pelety pro košťavu luční jsou na obr 1.



Obr. 1: Kostřava luční. Vlevo – nadrcený vzorek, vpravo – pelety.

U vstupních surovin byl stanoven sypný úhel a také distribuce velikosti částic. Výsledné distribuce velikosti částic jsou uvedeny v grafu 1. Tabulka 3 ukazuje výsledky stanovení charakteru toku.

Graf 1: Distribuce velikosti částic pro košťavu rákosovitou, luční a červenou



Tab. 3: Hodnoty sypného úhlu pro různé druhy košťav

Vzorek	Sypný úhel [°]
Košťava rákosovitá	57± 2
Košťava luční	56±3
Košťava červená	56±1

Distribuce velikosti částic ukazuje, že materiál je vhodný pro peletizaci. V hodnotách sypných úhlů nejsou evidentní rozdíly. Charakter toku byl pro všechny typy košťav hodnocen jako velmi kohezivní. Peletizace probíhala bez přídavku pojiv. Průměr pelet byl 6 mm.

V rámci mechanických zkoušek pelet byly hodnoty sypných hustot v souladu s normativními údaji u všech košťav, měrná hustota byla v průměru 1,3 kg.m<sup>-3</sup>, mechanická odolnost pelet dosahovala hodnot 94 % pro košťavu luční, 90 % pro košťavu červenou a 87 % pro košťavu rákosovitou.

Elementární složení a energetické parametry jsou uvedeny v tabulkách 4 a 5.

Tab. 4: Elementární složení kostřav

Vzorek	C [hm. %]	H [hm. %]	N [hm. %]	S [hm. %]	O [hm. %]
Kostřava rákosovitá	42,51	6,22	0,57	0,11	38,1
Kostřava luční	42,68	6,29	0,54	0,10	38,5
Kostřava červená	44,03	6,42	0,41	0,09	38,1

Tab. 5: Energetické parametry kostřav

Vzorek	Popel [hm. %]	Celková hořlavina [hm. %]	Prchavá hořlavina [hm. %]	Spalné teplo [kJ/kg]	Výhřevnost [kJ/kg]
Kostřava rákosovitá	4,5	95,50	75,85	18560	17372
Kostřava luční	3,8	96,23	76,61	18553	17349
Kostřava červená	2,7	97,34	77,76	19201	17970

Z hodnot je zřejmé, že i přesto, že procesní zpracování probíhalo bez problémů u všech tří trav shodně, parametricky se kostřavy liší. Z dat je patrné, že jako nejvhodnější alternativní palivo je kostřava červená. Obsahuje nejvyšší obsah uhlíku a vodíku, což podporuje energetickou hustotu vyrobených pelet. Současně má nejnižší obsah síry a dusíku, což teoreticky predikuje nejnižší tvorbu NO<sub>x</sub> a SO<sub>2</sub>. Energetické parametry ukazují u kostřavy červené také nejnižší obsah popela, nejvyšší hořlavinu a prchavou hořlavinu. Také tyto hodnoty indikují relativně lepší spalitelnost a menší riziko provozních problémů při topení, jako je zanášení nebo tvorba strusky. Spalné teplo, resp. výhřevnost dosahuje také u kostřavy červené nejvyšších hodnot.

## Diskuze

Výhřevnost suchých dřevních peletek činí 18 MJ.kg<sup>-1</sup> a výhřevnost psinečku velikého kolem 16,8 MJ.kg<sup>-1</sup> (Andert, 2007). Frydrych (2009) uvádí výhřevnost lučního sena kolem 15,88 MJ.kg<sup>-1</sup>. Stražil (2010) uvádí průměrnou energetickou hodnotu sušiny fytomasy kostřavy rákosovité 17,77 MJ.kg<sup>-1</sup>. Spalné teplo je silně závislé na vlhkosti fytomasy. Při vlhkosti 50 % je pouze 9,5 MJ.kg<sup>-1</sup>. Při vlhkosti do 20 % vhodné pro přímé spalování ve většině kotlů s nižším výkonem je spalné teplo kostřavy 14,7 MJ.kg<sup>-1</sup>.

Zajonc, Frydrych (2012) uvádí hodnoty výhřevnosti travin ve vysušeném stavu v rozmezí 15 489–18 068 kJ.kg<sup>-1</sup>. Průměrná hodnota výhřevnosti energetických travin ve vysušeném stavu byla 16 167 kJ.kg<sup>-1</sup>. Při odběru vzorků se hodnoty vlhkosti travin pohybovaly v rozmezí 32,31–54,84 %. Průměrná hodnota vlhkosti travin byla 48,9 %. Hodnoty výhřevnosti čerstvě odebraných vzorků travin se pohybovaly v rozmezí 5 855–11 487 kJ.kg<sup>-1</sup>. Průměrná hodnota výhřevnosti čerstvě odebraných travin byla 7 173 kJ.kg<sup>-1</sup>. Vlhkost travin snižuje jejich výhřevnost, proto je třeba traviny vysušit. Kostřava červená v této studii obsahovala 44 % C a 38 % O, což je v relativní ve shodě se studií (Wyszkowska J. et al., 2022), kde bylo zhodnoceno, že kostřava červená má stabilní výhřevnost, která není ovlivněna těžkými kovy. Vědecká práce z roku 2025 (Nazare A. et al., 2025) se zaměřuje na biochemické a energetické hodnoty různých druhů kostřav, včetně rákosovité a luční. U těchto trav byly stanoveny 2x vyšší hodnoty obsahu popela v porovnání s daty v této studii. Chybí však hodnoty kostřavy červené. Z dat je i přesto zřejmé, že hodnoty mohou být ovlivněny také typem půdy, způsobem zavlažování nebo typem použitých hnojiv. U trav pěstovaných na semeno ekonomický přínos v současnosti představuje zejména tržní zhodnocení travního semene a využití vymláčené slámy pro energetické účely. V současnosti pracovníci ze Zubří provádějí poradenství přímo v zemědělské praxi. Bylo ověřeno mnoho nových technologických prvků, které jsou nedílnou součástí technologických postupů v travách pěstovaných na semeno. Sklizeň travního semene

a využití vymláčené slámy pro energetické účely je novým směrem v pěstitelské technologii travního semenářství.

### Závěr

Výzkum ukázal, že kostřava červená, kostřava luční a kostřava rákosovitá představují hodnotné zdroje biomasy pro energetické účely. Nejvyšší výnos zelené hmoty  $12,04 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$  a suché hmoty  $6,24 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$  dosáhla v roce 2025 kostřava rákosovitá. Její procesní zpracování bylo snadné a bez problémů a také energetické parametry ukázaly příznivé vlastnosti pro spalování. Avšak díky vysoké energetické hustotě, nízkému obsahu popela a optimálnímu elementárnímu složení pro spalování se jako nejvhodnější pro výrobu pelet ukázala kostřava červená. Výsledky naznačují, že travní biomasa může významně přispět k diversifikaci obnovitelných zdrojů energie v České republice, zvláště v oblastech, kde je dostupná travní biomasa po sklizni semen nebo v trvalých travních porostech. Pokračující výzkum v této oblasti je důležitý především pro optimalizaci technologií zpracování biomasy a pro rozvoj udržitelného využívání trav jako energetického zdroje. Výsledky potvrzují, že travní biomasa představuje perspektivní a udržitelný obnovitelný zdroj energie vhodný pro lokální výrobu tepla a energie. Studie přispívá k rozvoji fytoenergetiky a praktickému využití vymláčené slámy trav pěstovaných na semeno v rámci cirkulární bioekonomiky. Využití trav jako obnovitelného zdroje energie rozšiřuje možnosti širokého potenciálu využití trav v našich podmínkách České republiky. V podmínkách severní Moravy mají pěstitelé trav na semeno a zemědělci možnost po vymláčení porostů trav dodat přímo vymláčenou slámu firmě, která ji zpracuje na biopelety. Současně i seno z trvalých travních porostů pro alternativní využití.

Ekonomika produkce trav pěstovaných pro energetické účely závisí na výnosech a tržních cenách jednotlivých produktů – u kostřavy červené, která spolu s kostřavou rákosovitou představují dva nejvíce pěstované druhy kostřav v České republice. Uvažujeme, že tržní cena semene je  $40\,000 \text{ Kč}\cdot\text{t}^{-1}$  při průměrném výnosu  $750 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  semene, sena  $1200 \text{ Kč}\cdot\text{t}^{-1}$  a slámy po sklizni semen  $500 \text{ Kč}\cdot\text{t}^{-1}$ . Průměrná hodnota produkce pak v přepočtu na 1 rok činí  $21\,800 \text{ Kč}\cdot\text{ha}^{-1}$ , z toho 46 % je hodnota semen a 54 % je hodnota sena slámy. Hrubý zisk vyjádřený jako rozdíl tržní ceny produkce a celkových nákladů na technologické operace je  $7\,848 \text{ Kč}\cdot\text{ha}^{-1}$ , čistý zisk po odečtení fixních nákladů činí  $4\,848 \text{ Kč}\cdot\text{ha}^{-1}$ . Čistý zisk se započtením dotací je pak  $10\,265 \text{ Kč}\cdot\text{ha}^{-1}$  v průměru za 1 rok. Energetická produkce u kostřavy červené představuje hodnotu  $56 \text{ GJ}\cdot\text{ha}^{-1}$  při výnosu slámy  $3,65 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ .

### Literatura

- Andert, D., Frydrych, J., Juchelková, D., Gerndtová, I. (2007) Energetické využití trav a travních směsí. In Příručka pro pěstování, spalování a využití trav při výrobě bioplynu. Vydavatel Výzkumný ústav zemědělské techniky, v.v.i., Praha, 110 s. ISBN: 978-80-86884-35-6.
- Frydrych, J., Bradáčová, L., Raab, S., Macháč, R., Gerndtová, I., Andert, D., Jezerská L. (2024) Výzkum trav pro výrobu energie v souvislosti s nepotravinářským využitím půdy. *Úroda - vědecká příloha časopisu*, 71, 12: 203–210. ISSN 0139-6013
- Frydrych, J., Bradáčová, L., Volková, P., Jezerská, L., Gerndtová, I., Andert, D. (2023) Nové technologie zpracování půdy pro zakládání semenářských porostů jílku vytrvalého a jejich vliv na výnos semen a slámy využitelné pro energetické účely. *Pícninářské a trávníkářské listy*, 29: 24–27. ISBN: 978-80-88610-01-4
- Jasinskas, A., Zaltauskas, A., Kryzeviciene, A. (2008) The investigation of growing and using of tall perennial grasses as energy crops. *Biomass and bioenergy*, 32.11: 981–987. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0961953408000305>
- Lewandowski, I. et al. (2003) The development and current status of perennial rhizomatous grasses as energy crops in the US and Europe. *Biomass and bioenergy*, 25 (4): 335–361.

- Nazare, A., Titei, V. (2025) Productivity and Nutritional Value of Some Festuca Species in Moldova. In: *Romanian Agricultural Research*, vol. 2025, pp. 205-214. ISSN 1222-4227.
- Scordia, D., Cosentino, S. L. (2019) Perennial energy grasses: Resilient crops in a changing European agriculture. *Agriculture*, 9 (8): 169.
- Shen, G., Tao, S., Wei, S., Zhang, Y., Wang, R., Wang, B., Li, W., Shen, H., Huang, Y., Chen, Y., Chen, H., Yang, Y., Wang, W., Wei, W., Wang, X., Liu, W., Wang, X., Simonich, S. L. M. (2012) Reductions in emissions of carbonaceous particulate matter and polycyclic aromatic hydrocarbons from combustion of biomass pellets in comparison with raw fuel burning, *Environmental Science and Technology*, 46 (11): 6409–6416, DOI: 10.1021/es300369d.
- Stražil, Z., Weger, J. (2010) Studium kostřavy rákosovité (*Festuca arundinacea* Schreb.) pěstované pro energetické využití. *Acta Pruhoniciana*, 96: 19–26.
- Varnero, Claudia Santibáñez; Urrutia, Marcela Vargas; Ibaceta, Sebastián Vargas (2018) Bioenergy From Perennial Grasses. In: *Advances In Biofuels And Bioenergy*. Intechopen. <https://www.intechopen.com/chapters/59551>
- Whittaker, C., Shield, I. (2017) Factors affecting wood, energy grass and straw pellet durability – A review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 71: 1–11, ISSN 1364-0321. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.12.119>
- Wyszkowska, J., Boros-Lajszner, E., Kucharski, J. (2022) Calorific Value of *Festuca rubra* Biomass in the Phytostabilization of Soil Contaminated with Nickel, Cobalt and Cadmium Which Disrupt the Microbiological and Biochemical Properties of Soil. *Energies*, 15, 3445. <https://doi.org/10.3390/en15093445>

### Poděkování

Publikace je realizována na základě podpory projektu č. SS07020061 „Výzkum procesů zahrnujících výrobu biopellet“, který je spolufinancován se státní podporou Technologické agentury ČR v rámci Programu Prostředí pro život. Tento projekt je financován v rámci Národního plánu obnovy z evropského Nástroje pro oživení a odolnost. Současně je tento článek podpořen v rámci projektu „Odpady jako alternativní zdroj energie“, reg. číslo CZ.02.01.01/00/23\_021/0008590 v rámci Operačního programu Jan Amos Komenský. Výsledky experimentální části této práce byly získány s využitím velké výzkumné infrastruktury ENREGAT, podporované MŠMT, č. projektu LM2018098.

### Kontakt

Ing. Jan Frydrych  
OSEVA vývoj a výzkum s.r.o.  
Hamerská 698, Zubří 756 54  
[frydrych@oseva.cz](mailto:frydrych@oseva.cz)

## Spektrálne indexy ako indikátory reakcie slovenských genotypov fazule na stres zo sucha

Spectral indices as indicators of the response of Slovak bean genotypes to drought stress

Gubišová M., Kaňuková Š., Gubiš J., Zetochová E., Hudcovicová M., Ondreičková K.

Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Výskumný ústav rastlinnej výroby

### Abstrakt

V rámci pokusu bolo hodnotených deväť slovenských genotypov fazule obyčajnej (*Phaseolus vulgaris* L.) pestovaných v optimálnych a suchých podmienkach. Spektrálne vegetačné indexy a obsah prolínu boli použité na charakterizáciu fyziologickej odpovede rastlín na deficit vody. Multivariačné analýzy (PCA, PLS-DA, ROC) potvrdili výraznú separáciu variantov podľa vodného režimu, pričom indexy GM2, ZMI, Ctr2, MCARI a SR vykázali najvyššiu diskriminačnú schopnosť. Zmeny v hodnotách chlorofylových indexov v suchom variante naznačovali, že rastliny reagovali prechodnou adaptačnou fázou, charakterizovanou krátkodobým nárastom chlorofylu a stabilizáciou fotosyntetického aparátu. Obsah prolínu sa v suchých podmienkach výrazne zvýšil, avšak v modeli PLS-DA nevystupoval ako významný diskriminačný parameter. Genotypy 'Marta', 'Melinda' a 'Timea' sa vyznačovali lepšou toleranciou voči suchu, zatiaľ čo 'Nigrona' sa prejavila zvýšenou citlivosťou aj pri optimálnej vlhkosti. **Kľúčové slová:** *Phaseolus vulgaris*, prolín, suchá hmotnosť, PolyPen RP410, multivariačná analýza

### Abstract

In this study, nine Slovak genotypes of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) were evaluated under optimal and drought conditions. Spectral vegetation indices and proline content were used to characterise the physiological response of plants to water deficit. Multivariate analyses (PCA, PLS-DA, ROC) confirmed a clear separation of treatments according to water regime, with the indices GM2, ZMI, Ctr2, MCARI, and SR showing the highest discriminative power. Changed values of chlorophyll-related indices in the drought variant indicated that plants responded through a transient adaptive phase, characterized by a short-term rise in chlorophyll concentration and stabilization of the photosynthetic apparatus. Proline concentration increased markedly under drought conditions; however, it did not appear to be a significant discriminating parameter in the PLS-DA model. The genotypes 'Marta', 'Melinda', and 'Timea' exhibited better tolerance to drought, whereas 'Nigrona' showed increased sensitivity even under optimal moisture conditions.

**Keywords:** *Phaseolus vulgaris*, proline, dry weight, PolyPen RP410, multivariate analysis

### Úvod

Sucho predstavuje jeden z najvýznamnejších abiotických stresov, ktorý negatívne ovplyvňuje poľnohospodársku produkciu na celom svete. Je predpoklad, že so zvyšujúcou sa frekvenciou extrémnych teplôt a nerovnomerným rozdelením zrážok sa bude vodný stres ďalej prehlbovať, čo zásadne znižuje úrodový potenciál citlivých druhov, vrátane fazule obyčajnej (*Phaseolus vulgaris* L.) (Beebe et al. 2013). Tento druh, hoci je jednou z najvýznamnejších strukovín mierneho pásma, patrí medzi plodiny s vysokou citlivosťou na nedostatok vody, najmä v raných rastových fázach a počas kvitnutia (Polania et al. 2016). Vodný deficit spôsobuje komplex fyziologických a biochemických zmien, od redukcie asimilačnej plochy a obmedzenia transpirácie až po narušenie fotosyntetickej rovnováhy a akumuláciu osmolytov ako je prolín (Hayat et al. 2012).

Tradičné hodnotenie stresu zo sucha sa často opiera o meranie biomasy, obsahu vody a fotosyntetických pigmentov, ktoré sú však deštruktívne a časovo náročné. V posledných rokoch sa preto čoraz viac využívajú spektroskopické a nedeštruktívne metódy, ktoré umožňujú sledovať stav rastlín v reálnom čase prostredníctvom vegetačných indexov odvodených z odrazivosti listov v špecifických spektrálnych pásmach (Carter and Knapp 2001; Gitelson et al.

2003). Indexy ako NDVI, SR, MCARI či ZMI sú úzko prepojené s obsahom chlorofylu a celkovou fotosyntetickou aktivitou, pričom ich zmeny odrážajú nielen rozsah poškodenia, ale aj adaptívne reakcie rastlín na stres (Peñuelas et al. 1994; Agathokleous et al. 2020).

V kontexte klimatickej zmeny a potreby zachovania stability produkcie sa preto pozornosť venuje genetickej variabilite domácich genotypov, ktoré môžu vykazovať špecifické adaptačné mechanizmy. Slovenské genotypy fazule predstavujú cenný zdroj diverzity s potenciálom pre šľachtenie odolnejších odrôd. A preto cieľom tejto práce bolo hodnotiť fyziologickú a spektrálnu odpoveď slovenských genotypov fazule na krátkodobý vodný stres využitím nedeštruktívnych spektrálnych meraní. Pozornosť bola zameraná na identifikáciu indexov s najvyššou diskriminačnou schopnosťou, ako aj na interpretáciu ich vzťahu v rámci stresovej odozvy.

## Materiál a metódy

Experiment bol zameraný na hodnotenie reakcie slovenských genotypov fazule záhradnej (*Phaseolus vulgaris* L.) na stres zo sucha. Do pokusu bolo zaradených 9 slovenských genotypov: 'Gama', 'Ema', 'Leonarda', 'Lilana', 'Kreola', 'Marta', 'Melinda', 'Nigrona' a 'Timea'. Semená boli vysievané do 6,5 L plastových črepníkov naplnených substrátom na báze rašeliny s prídavkom zeolitu (Florcom Profi SCH02) v 4 opakovaniach na genotyp. Iničiálna vlhkosť substrátu pri výseve bola 40 %, čo predstavuje 65 % pôdnej kapacity (FC). Rastliny boli kultivované po 4 ks/črepník vo vonkajších podmienkach pri priemernej teplote 15,4 – 22,8 °C (9,2 °C min. – 32,8 °C max.) Prvých 10 dní po výseve sa vlhkosť udržiavala v rozsahu 35 – 40 %, po tomto období sa vlhkosť v kontrolnom variante udržiavala na rovnakej úrovni a v stresovanom variante postupne klesala – 20 % (t.j. 32 % FC; 16. deň), 14 % (23 % FC; 20. deň) a 12 % (20 % FC) na 24. – 26. deň, kedy bol pokus ukončený. Vlhkosť substrátu bola priebežne meraná sondou WET-2 Sensor (Delta-T Devices, UK).

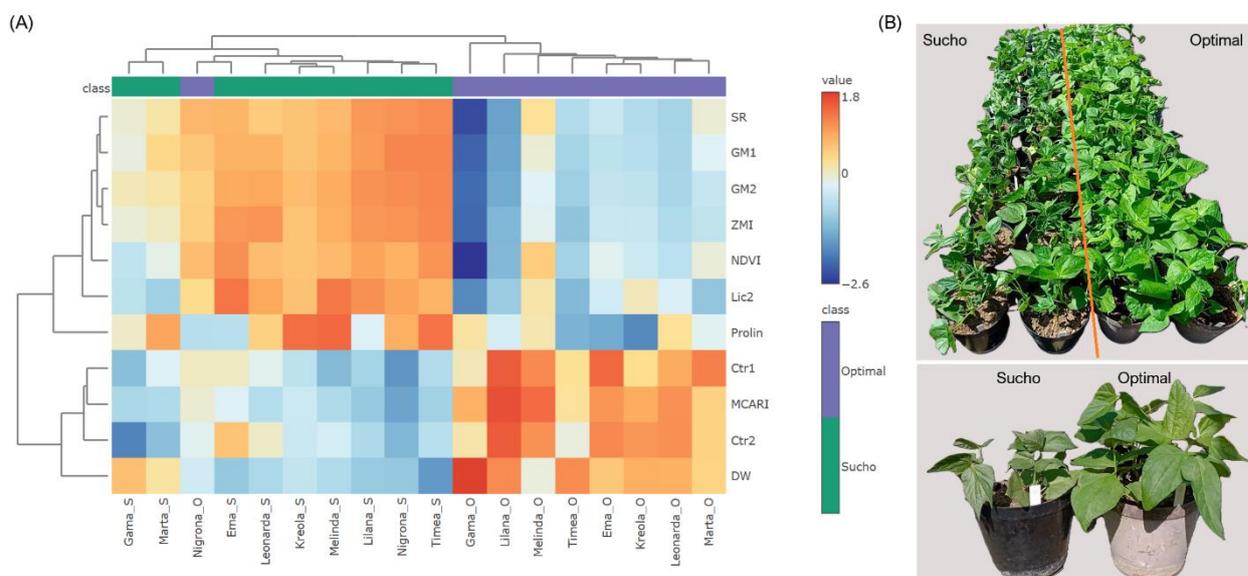
Z rastlín boli na konci experimentu odobrané vzorky na analýzu obsahu prolínu (Bates et al. 1973) z 50 mg pletiva listov. Absorbancia bola meraná spektrofotometrom NanoDrop™ 1000 spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, USA) a koncentrácia prolínu vypočítaná zo štandardnej krivky L-prolínu (0,025 – 1,5 mM). Nadzemná časť rastlín bola odobratá na úrovni pôdy a po vysušení rastlín bola zistená suchá hmotnosť biomasy (dry weight, DW). Fyziologické parametre boli hodnotené nedeštruktívnym meraním spektrálnych vegetačných indexov pomocou zariadenia PolyPen RP410 (Photon System Instruments, ČR). Zaznamenané boli nasledujúce indexy: Normalized Difference Vegetation Index (NDVI, fotosyntetická kapacita, celková vitalita porastu); Simple Ratio index (SR, obsah chlorofylu, zelená biomasa); Zarco-Tejada a Miller Index (ZMI, hladina chlorofylov  $a + b$ ); Modified Chlorophyll Absorption in Reflectance Index (MCARI, intenzita absorpcie chlorofylu); Gitelson a Merzlyak indexy (GM1 a GM2, optická hustota listov, obsah chlorofylu); Carter indexy (Ctr1 a Ctr2, detekcia stresom indukovaných zmien v absorpcii pigmentov); Lichtenthaler index (Lic2, detekcia raného stresu, zmeny v efektívite fotosyntézy). Všetky merania boli vykonané na stredných listoch rastlín v rovnakom dennom čase, aby sa minimalizoval vplyv intenzity slnečného žiarenia.

Štatistické vyhodnotenie bolo realizované v prostredí MetaboAnalyst 6.0 (<https://www.metaboanalyst.ca/home.xhtml>, Pang et al. 2021). Pred samotnými analýzami boli všetky údaje normalizované podľa súčtu (Normalization by Sum), logaritmicke transformované (Log Transformation) a autoškálované, aby sa znížil vplyv odľahlých hodnôt a zabezpečila porovnateľnosť premenných. Hierarchická klastrová analýza bola vykonaná na základe Euklidovskej vzdialenosti a Average linkage algoritmu. Analýza hlavných komponentov (PCA) bola použitá na zobrazenie variability medzi vzorkami a identifikáciu vzťahov medzi parametrami. Na potvrdenie diskriminačnej schopnosti premenných bola vykonaná multivariátna ROC analýza so zabudovaným klasifikačným algoritmom SVM (Support Vector

Machine), pričom cieľovou skupinou bol variant Sucho a referenčnou skupinou Optimal. Grafické porovnanie percentuálnych rozdielov jednotlivých parametrov medzi variantmi Sucho a Optimal bolo spracované v programe Microsoft Excel. Všetky analýzy boli hodnotené na hladine štatistickej významnosti  $p < 0,05$ .

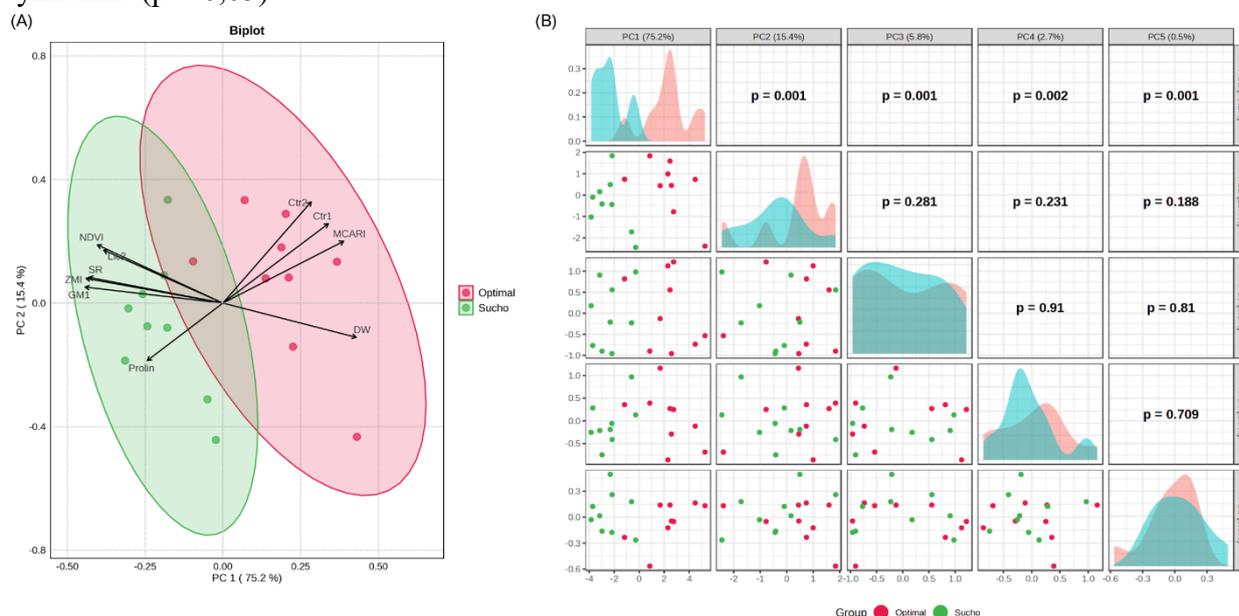
## Výsledky

Hierarchické klastrovanie (Obr. 1A) potvrdilo jasnú separáciu vzoriek podľa vodného režimu (variant Optimal vs. Sucho). Dendrogram na hornej osi ukazuje, že väčšina genotypov pestovaných v suchých podmienkach vytvorila kompaktný a homogénny klaster, zatiaľ čo vzorky z optimálnych podmienok boli rozptýlenejšie. Farebný gradient odráža smer zmien jednotlivých parametrov - červené odtiene predstavujú vyššie hodnoty, modré nižšie. V skupine stresovaných rastlín (Sucho) boli zreteľne zvýšené hodnoty prolínu, ako aj indexov SR, GM1, GM2, ZMI, NDVI a Lic2, zatiaľ čo ostatné indexy (Ctr1, MCARI a Ctr2) vykazovali pokles. Tento trend odráža reakciu rastlín na skorú fázu stresu zo sucha, keď dochádza k redukcii rastu a zvýšeniu hustoty chlorofylu na jednotku plochy listu (Obr. 1B). Zaujímavé je, že odroda 'Nigrona' pestovaná pri optimálnych podmienkach (Nigrona\_O) bola začlenená do klasteru vzoriek pochádzajúcich zo suchého variantu. Tento výsledok naznačuje, že pri tomto genotype mohlo dôjsť k fyziologickému prejavu podobnému stresovej odpovedi aj pri dostatku vody, napríklad v dôsledku geneticky podmienenej odlišnej dynamiky pigmentov alebo odrazivosti listov. Tento jav môže poukazovať na vyššiu citlivosť genotypu 'Nigrona' na kolísanie vlhkosti alebo teploty, alebo na jeho odlišný metabolický profil v porovnaní s ostatnými slovenskými genotypmi.



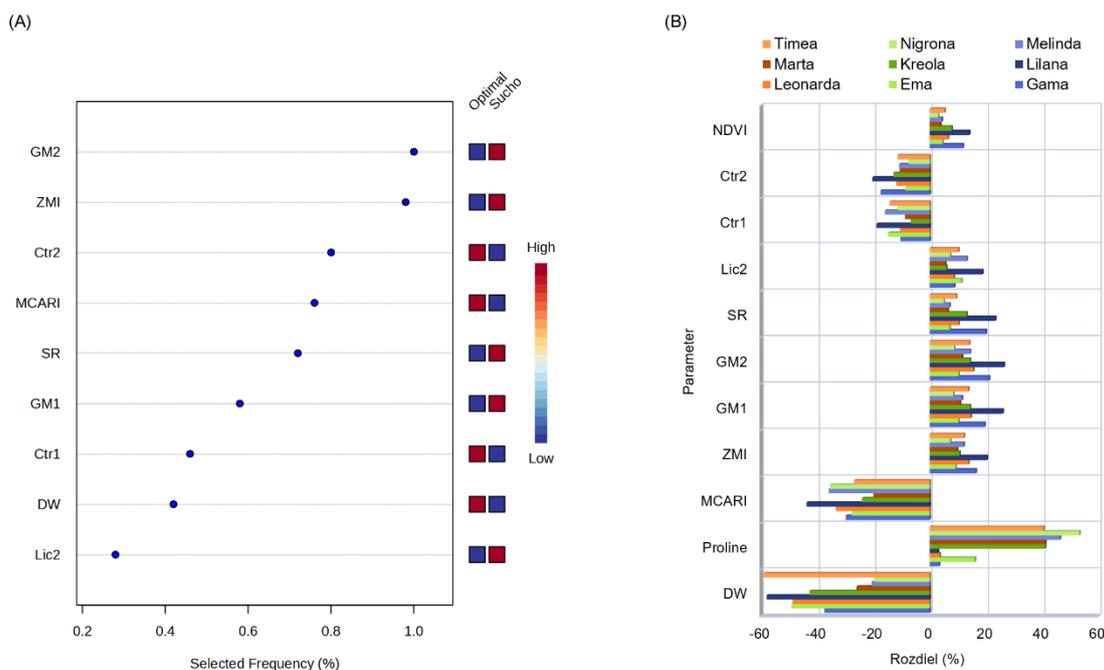
**Obr. 1.** Hierarchické klastrovanie slovenských genotypov fazule na základe spektrálnych a fyziologických parametrov. Farebná škála znázorňuje normalizované hodnoty jednotlivých parametrov (červená – vyššie hodnoty, modrá – nižšie hodnoty). Genotyp\_O = variant Optimal, Genotyp\_S = variant Sucho (A). Vizualný prejav pokusu po 26 dňoch kultivácie, kde rastliny pestované v suchých podmienkach boli vzrastovo menšie, avšak vizuálne zelenšie v porovnaní s optimálnym variantom (B).

Analýza hlavných komponentov (PCA, Obr. 2) bola použitá na overenie štruktúry dát a vizualizáciu vzťahov medzi genotypmi a hodnotenými parametrami. Prvé dva hlavné komponenty spolu vysvetlili viac ako 90 % celkovej variability datasetu, čo potvrdzuje vysokú mieru rozlíšiteľnosti medzi variantmi Optimal a Sucho. Na biplote (Obr. 2A) sú vzorky pestované v optimálnych podmienkach sústredené v pravej časti diagramu, zatiaľ čo vzorky z variantu Sucho v ľavej. Indexy Ctr1, Ctr2, MCARI a DW (dry weight, suchá hmotnosť) boli orientované v smere genotypov pestovaných pri optimálnej vlhkosti, zatiaľ čo indexy ZMI, GM1, GM2, SR, NDVI, Lic2 a obsah prolínu smerovali k variantu Sucho. V oblasti prekryvu oboch elíps sa nachádzali dva genotypy – Ema\_S (z variantu Sucho) a Nigrona\_O (z variantu Optimal). V prehľade všetkých hlavných komponentov PCA (Obr. 2B) bolo potvrdené, že najväčšiu mieru variability medzi skupinami vysvetľuje prvý hlavný komponent (PC1), ktorý zachytáva 75,2% z celkového rozptylu dát. Rozdelenie vzoriek podľa PC1 bolo štatisticky významné ( $p = 0,001$ ). Ďalšie komponenty (PC2 – PC5) zachytávali len menšiu časť variability (15,4%, 5,8%, 2,7% a 0,5%), pričom ich rozdelenie medzi skupinami nebolo štatisticky významné ( $p > 0,05$ ).



**Obr. 2.** Analýza hlavných komponentov (PCA) slovenských genotypov fazule pestovaných v optimálnych a suchých podmienkach. PCA biplot znázorňujúci rozloženie vzoriek a vektory premenných na prvých dvoch hlavných komponentoch (PC1 a PC2). Elipsy znázorňujú 95 % interval spoľahlivosti pre skupiny Optimal a Sucho (A). Celkový prehľad hlavných komponentov PCA s grafickým porovnaním rozdelenia vzoriek medzi skupinami na jednotlivých komponentoch (PC1–PC5) a uvedenými p-hodnotami (B).

Multivariátna ROC analýza dosiahla vysokú diskriminačnú presnosť (AUC = 0.94–0.95) a prediktívnu úspešnosť 88 %. Najvýznamnejšie spektrálne indexy pre odlišenie variantu Sucho od Optimal boli GM2, ZMI, Ctr2, MCARI a SR (Obr. 3A). Tieto indexy predstavujú komplexné fyziologické ukazovatele súvisiace s obsahom chlorofylu a ranými symptómami stresu. Percentuálne porovnanie jednotlivých parametrov medzi variantmi ukázalo, že reakcia na vodný stres sa líšila v závislosti od genotypu a sledovaného ukazovateľa (Obr. 3B) a výsledky potvrdzujú, že jednotlivé slovenské genotypy fazule sa odlišujú v rozsahu adaptačných mechanizmov, ktoré sa prejavili na úrovni spektrálnych indexov, fyziologických parametrov aj obsahu prolínu.



**Obr. 3.** Porovnanie vybraných parametrov slovenských genotypov fazule pestovaných v optimálnych a v podmienkach sucha. Najvýznamnejšie premenné na základe výberu v modeli SVM v analýze ROC (A). Percentuálne rozdiely jednotlivých parametrov medzi variantmi Optimal a Sucho vyjadrené pre každý genotyp (B).

## Diskusia

Krátkodobý vodný stres viedol pri hodnotených slovenských genotypoch fazule k trendu, kde väčšina chlorofylových a „greenness“ indexov (NDVI, SR, GM1, GM2, ZMI) dosiahla vyššie hodnoty v suchom variante než v optimálnych podmienkach. Tento opačný trend rozdielov, v kontraste s typickou stresovou odpoveďou sprevádzanou degradáciou chlorofylu, poukazuje na aktiváciu tzv. adaptačnej alebo hormetickej fázy stresovej odozvy (Agathokleous et al. 2020). V tejto fáze, charakteristickej pre mierny alebo krátkodobý stres, rastliny redukujú rast a veľkosť listov, no zároveň koncentrujú fotosyntetický aparát v existujúcom pletive, čím zvyšujú hustotu chlorofylu a efektivitu fotosyntézy na jednotku plochy (Peñuelas et al. 1994; Carter and Knapp 2001). Zníženie hodnôt MCARI, Ctr1 a Ctr2 zároveň indikovalo, že napriek zvýšenej hustote chlorofylu dochádzalo k iniciácii pigmentového preusporiadania a menil sa pomer chlorofylu ku karotenoidom a aktivovali sa fotoprotektívne mechanizmy (Gitelson et al. 2006). Tento komplex reakcií charakterizuje prechod medzi adaptačnou a stresovou fázou. Zistenia zároveň korešpondujú s konceptom „stay-green“ (Ramírez et al. 2014), ktorý opisuje oneskorenú senescenciu alebo spomalenú stratu zelenej farby počas vodného stresu. Podľa Ramírez et al. (2014) môže tento jav predstavovať funkčnú adaptáciu spojenú s udržaním fotosyntézy alebo len vizuálny prejav akumulácie chlorofylu pri obmedzenej fotosyntéze. Z hľadiska genotypovej odozvy sa odrody ‘Marta’, ‘Melinda’ a ‘Timea’ vyznačovali stabilnejšími hodnotami indexov a menšou variabilitou, čo naznačuje ich lepšiu fyziologickú stabilitu a schopnosť udržať fotosyntetický aparát v adaptačnom režime. Naopak, ‘Nigrona’ prejavila vyššie hodnoty stresových indexov už v optimálnych podmienkach, čo svedčí o nižšom prahu stresovej aktivácie alebo o citlivosti na krátkodobé kolísanie vlhkosti a teploty. Výsledky potvrdzujú, že krátkodobý deficit vody nevyvolal pri skúmaných genotypoch ireverzibilné poškodenie, ale aktivoval adaptačný obranný mechanizmus spojený s dočasným zvýšením obsahu chlorofylu a fotoprotektívnej aktivity. Tento jav má význam pri fenotypizácii tolerancie sucha, keďže naznačuje, že rýchle nedeštruktívne spektrálne merania dokážu zachytiť včasnú fázu adaptácie ešte pred nástupom viditeľných symptómov stresu.

## Záver

Stres zo sucha významne ovplyvnil fyziologické a spektrálne ukazovatele slovenských genotypov fazule. Najvýraznejšie rozdiely medzi variantmi boli zaznamenané v indexoch GM2, ZMI, Ctr2, MCARI a SR, ktoré predstavovali spoľahlivé biomarkery stresu. Multivariačné analýzy potvrdili ich vysokú diskriminačnú schopnosť pri odlíšení rastlín pestovaných v optimálnych a suchých podmienkach. Obsah prolínu sa v suchých podmienkach síce výrazne zvýšil, avšak v multivariačných modeloch nevystupoval ako signifikantný diskriminačný faktor. Zvýšené hodnoty chlorofylových indexov v suchom variante naznačujú, že rastliny reagovali prechodnou adaptačnou (hormetickou) fázou, v ktorej dochádza ku krátkodobému nárastu chlorofylu a stabilizácii fotosyntetického aparátu ako súčasťou obranného mechanizmu. Tento jav poukazuje na schopnosť rastlín optimalizovať využitie zdrojov a zachovať fotosyntetickú aktivitu pri obmedzenej dostupnosti vody. Genotypy ‘Marta’, ‘Melinda’ a ‘Timea’ prejavili lepšiu odolnosť voči suchu, zatiaľ čo ‘Nigrona’ vykazovala známky citlivosti aj pri optimálnej závlaha. Získané poznatky potvrdzujú využiteľnosť spektrálnych indexov ako rýchlych a účinných ukazovateľov raných adaptačných reakcií fazule na deficit vody.

## Literatúra

- AGATHOKLEOUS, Evgenios, ZhaoZhong FENG and Josep PEÑUELAS, 2020. Chlorophyll hormesis: Are chlorophylls major components of stress biology in higher plants? *The Science of the Total Environment* [online]. **726**, 138637. Available at: doi:10.1016/j.scitotenv.2020.138637
- BATES, L. S., R. P. WALDREN and I. D. TEARE, 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* [online]. **39**(1), 205–207. Available at: doi:10.1007/bf00018060
- BEEBE, Stephen E., Idupulapati M. RAO, Matthew W. BLAIR and Jorge A. ACOSTA-GALLEGOS, 2013. Phenotyping common beans for adaptation to drought. *Frontiers in Physiology* [online]. **4**. Available at: doi:10.3389/fphys.2013.00035
- CARTER, Gregory A. and Alan K. KNAPP, 2001. Leaf optical properties in higher plants: linking spectral characteristics to stress and chlorophyll concentration. *American Journal of Botany* [online]. **88**(4), 677–684. Available at: doi:10.2307/2657068
- GITELSON, Anatoly A., Yuri GRITZ and Mark N. MERZLYAK, 2003. Relationships between leaf chlorophyll content and spectral reflectance and algorithms for non-destructive chlorophyll assessment in higher plant leaves. *Journal of Plant Physiology* [online]. **160**(3), 271–282. Available at: doi:10.1078/0176-1617-00887
- HAYAT, Shamsul, Qaiser HAYAT, Mohammed Nasser ALYEMENI, Arif Shafi WANI, John PICHTEL and Aqil AHMAD, 2012. Role of proline under changing environments. *Plant Signaling & Behavior* [online]. **7**(11), 1456–1466. Available at: doi:10.4161/psb.21949
- PANG, Zhiqiang, Jasmine CHONG, Guangyan ZHOU, David Anderson DE LIMA MORAIS, Le CHANG, Michel BARRETTE, Carol GAUTHIER, Pierre-Étienne JACQUES, Shuzhao LI and Jianguo XIA, 2021. MetaboAnalyst 5.0: narrowing the gap between raw spectra and functional insights. *Nucleic Acids Research* [online]. **49**(W1), W388–W396. Available at: doi:10.1093/nar/gkab382
- POLANIA, Jose, Idupulapati M. RAO, Cesar CAJIAO, Mariela RIVERA, Bodo RAATZ and Stephen BEEBE, 2016. Physiological traits associated with drought resistance in Andean and Mesoamerican genotypes of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Euphytica* [online]. **210**(1), 17–29. Available at: doi:10.1007/s10681-016-1691-5
- PEÑUELAS, J., J.A. GAMON, A.L. FREDEEN, J. MERINO and C.B. FIELD, 1994. Reflectance indices associated with physiological changes in nitrogen- and water-limited sunflower leaves. *Remote Sensing of Environment* [online]. **48**(2), 135–146. Available at: doi:10.1016/0034-4257(94)90136-8

RAMÍREZ, D.A., W. YACTAYO, R. GUTIÉRREZ, V. MARES, F. DE MENDIBURU, A. POSADAS and R. QUIROZ, 2014. Chlorophyll concentration in leaves is an indicator of potato tuber yield in water-shortage conditions. *Scientia Horticulturae* [online]. **168**, 202–209. Available at: doi:10.1016/j.scienta.2014.01.036

### **PodĎakovanie**

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v rámci projektu APVV-24-0226 – „*Jedinečnosť genetickej diverzity slovenskej fazule: Inovatívne prístupy pre zvýšenie rezistencie voči fytopatogénnym hubám a vírusom*“.

### **Kontaktná adresa**

Mgr. Katarína Ondreíčková, Ph.D.  
Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum  
Výskumný ústav rastlinnej výroby  
Bratislavská cesta 122  
921 68 Piešťany, Slovenská republika  
Tel.: +421 337 947 154, e-mail: katarina.ondreickova@nppc.sk



## Vplyv pôdných aditív s relevanciou pre biofortifikáciu na rast pšenice tvrdej (*Triticum durum*)

Impact of soil additives relevant to biofortification  
on the growth of durum wheat (*Triticum durum*)

Hlavatá Alexandra<sup>1</sup>, Matušíková Ildikó<sup>1</sup>, Hauptvogel Pavol<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave, Ústav chémie a environmentalistiky FPV, Námestie J. Herdu 2, 917 01 Trnava, Slovensko, <sup>2</sup>Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum, Výskumný ústav rastlinnej výroby, Bratislavská cesta 122, 92168 Piešťany, Slovensko

### Abstrakt

Deficit zinku predstavuje závažný problém globalnej malnutricie, postihujúci približne 17 % svetovej populácie. V kontexte klimatických zmien a deficitu vody je nevyhnutné nielen intenzifikovať produkciu obilnín, ale predovšetkým modulovať ich nutričnú kvalitu zvýšením obsahu esenciálnych mikroelementov (Zn, Fe) a ich biodostupnosti. Agronomická biofortifikácia pšenice sa javí ako udržateľné riešenie, podmienené selekciou kultivarov s optimálnymi agronomickými parametrami a genetickou predispozíciou pre efektívny príjem a translokáciu zinku ako aj toleranciou na sucho. V rámci experimentu analyzujeme 13 kultivarov pšenice tvrdej (*Triticum durum*) z hľadiska tolerancie k zvýšeným koncentráciám Zn a kapacity akumulovať tento element v zrne. Prostredníctvom konvenčných prístupov molekulárnej biológie, fenotypizácie a analytickej chémie selektujeme genotypy vhodné pre biofortifikačné programy. Hodnotíme vplyv aplikácie zinku, arbuskulárnych mykoríznych húb (AMF) a ich kombinácie, pričom faktor deficitu vody (sucho) bol integrovaný ako kľúčová stresová premenná do všetkých experimentálnych variantov. Prostredníctvom fenotypizácie, molekulárno-biologických a analytických metód identifikujeme mechanizmy zodpovedné za pozorované variácie v akumulácii Zn, expresii génov a morfológických charakteristikách rastlín pod vplyvom interakcie biofortifikačných faktorov a vodného stresu. Parametre fotosyntetického aparátu odrážajú toleranciu genotypov na kombinovaný stres, ktorá predstavuje základný predpoklad úspešnej biofortifikácie v podmienkach klimatických zmien.

**Kľúčové slová:** biodostupnosť, biofortifikácia, fenotypovanie, minerálna výživa, zinok.

### Abstract

Zinc deficiency represents a serious problem of global malnutrition, affecting approximately 17% of the world's population. In the context of climate change and water deficit, it is essential not only to intensify cereal production, but primarily to modulate their nutritional quality by increasing the content of essential microelements (Zn, Fe) and their bioavailability. Agronomic biofortification of wheat appears to be a sustainable solution, conditioned by the selection of cultivars with optimal agronomic parameters and genetic predisposition for efficient zinc uptake and translocation as well as drought tolerance. Within the experiment, we analyse 13 cultivars of durum wheat (*Triticum durum*) in terms of tolerance to elevated Zn concentrations and capacity to accumulate this element in grain. Through conventional approaches of molecular biology, phenotyping and analytical chemistry, we select genotypes suitable for biofortification programs. We evaluate the effect of zinc application, arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and their combination, while the water deficit factor (drought) was integrated as a key stress variable into all experimental variants. Through phenotyping, molecular biological and analytical methods, we identify mechanisms responsible for observed variations in Zn accumulation, gene expression and morphological characteristics of plants under the influence of the interaction of biofortification factors and water stress. Parameters of the photosynthetic apparatus reflect the tolerance of genotypes to combined stress, which represents a fundamental prerequisite for successful biofortification under climate change conditions.

**Keywords:** bioavailability, biofortification, phenotyping, mineral nutrition, zinc.

## Úvod

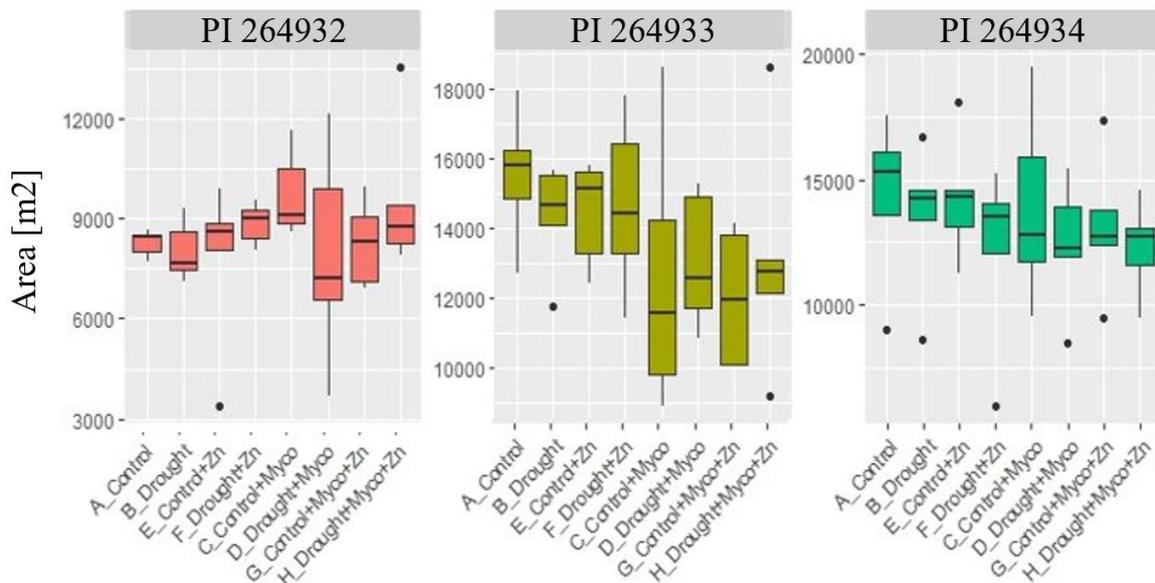
Tvrdá pšenica je jedným z hlavných zdrojov kalórií a bielkovín v mnohých rozvojových krajinách. V dôsledku obmedzenej translokácie zinku do nadzemných častí plodiny a/alebo pôsobenia antinutrientov v zrne populácia čelí deficitu mikronutrientov, čo má priame dôsledky na zdravie. Biofortifikácia plodín, definovaná ako zvýšenie koncentrácie mikroživín v konzumných častiach prostredníctvom šľachtiteľských či biotechnologických prístupov, predstavuje jeden z nákladovo najefektívnejších a environmentálne udržateľných prístupov na zmiernenie malnutricie [1]. Agronomická biofortifikácia Zn je primárne volenou metódou pre zvýšenie obsahu Zn v zrne a zahŕňa aplikáciu hnojív do pôdy a/alebo foliárne [2]. Obsah Zn v zrnách pšenice je ovplyvnený aplikačnou technikou, dĺžkou vegetačného cyklu, ako aj abiotickými stresmi, pričom deficit vody (sucho) predstavuje kľúčový limitujúci faktor ovplyvňujúci nielen príjem a redistribúciu Zn, ale aj celkovú produktivitu plodiny v podmienkach klimatických zmien. Pokroky v genomike, najmä dostupnosť vysokovýkonných testov genotypovania (napr. sekvenovanie celého genómu, detekcia polymorfizmu nukleotidov), uľahčili mapovanie komplexných znakov aj v rastlinných druhoch s veľkými genómami ako je pšenica [3]. Fenotypizácia rastlín predstavuje neinvazívnu metódu na komplexné hodnotenie morfo-fyziologických charakteristík, zahŕňajúce rast, vývin, toleranciu, rezistenciu a architektúru pletív, ktoré odrážajú adaptačný potenciál rastlín na príjem, translokáciu a alokáciu Zn pri súčasnom pôsobení vodného stresu [4,5].

## Materiál a Metódy

V experimente študujeme nasledovné genotypy tvrdej pšenice: 1296, 1352, 1N1, IS Durablank, IWA8611094, Kirmizi Yazlik, Nursith, PI 264932, PI 264933, PI 264934, PI 264936, PI 278269 a PI 263989. Kultivácia rastlín prebiehala v štyroch opakovaníach pre každý variant: Kontrola – pôdny substrát Klasmann; Mykoríza – Klasmannov substrát a aplikácia komerčnej zmesi mykoríznych húb (Symbivit) aplikovaných priamo do pôdy; aplikácia zinku (Zn) – Klasmann substrát a prídanie minerálneho hnojiva (vo forme  $ZnSO_4$  v koncentrácií 5 mg Zn na kilogram pôdy); Mykoríza + Zn – substrát Klasmann a prídavok mykoríznych húb aj hnojiva so zinkom. Pre každý z týchto variantov bol integrovaný aj faktor deficitu vody (sucho), ktorý je vyhodnocovaný z hľadiska jeho vplyvu na akumuláciu Zn a morfo-fyziologické parametre rastlín. Vodný stres bol indukovaný v dvoch fázach vývoja rastlín. Prvý krát bol aplikovaný na deň 41 s intenzitou 20 % (po dobu 15 dní), nasledovaný 9-dňovým rekonvalescenčným obdobím (deň 56). Druhý stres bol indukovaný na deň 65 s intenzitou 15 % (po dobu 7 dní). Rastliny boli fenotypizované počas 7 týždňov až do obdobia reprodukčnej zrelosti a tvorby zrna. Stanovené boli dynamika rastu rastlín (RGB zobrazenie), teplota listov (IR zobrazenie) a parametre fotosystému II (napr. fluorescencia chlorofylu FC) priamo na fenotypizačnej linke. Pre prezentačné účely uvádzame výsledky z morfológického parametru listovej plochy pri 3 odrôd: PI 264932, PI 264933 a PI 264934.

Vzorky zreých zŕn (200 mg) boli mineralizované v 8 ml koncentrovanej  $HNO_3$  (Mikrovlnný digesčný systém Anton Paar) a obsah vybraných elementov ako zinok Zn, železo Fe, vápnik Ca a horčík Mg je vyhodnotený atómovou absorbnou spektrometriou (ThermoScientific). Sledujeme aktivitu antioxidantných enzýmov a realizujeme komplexné molekulárne analýzy zamerané na transportné mechanizmy zinku v rastlinných pletivách. Získané údaje z fenotypizácie a biochemických analýz budú podrobené štatistickému vyhodnoteniu pomocou analýzy rozptylu (ANOVA).

## Výsledky a Diskusia



**Obr.1:** Vplyv rôznych ošetrení na listovú plochu (Area) troch genotypov tvrdej pšenice (*Triticum durum*)

Analýza listovej plochy troch genotypov pšenice tvrdej (PI 264932, PI 264933, PI 264934) odhalila signifikantné genotypovo-špecifické rozdiely v reakcii na aplikované biofortifikačné faktory a vodný stres (Obr. 1). Genotyp PI 264932 vykazoval najnižšie hodnoty listovej plochy v rozmedzí cca 6 500–11 000 cm<sup>2</sup>. Kontrolné podmienky (A\_Control) a variant so suchom (B\_Drought) vykazovali podobné hodnoty okolo 8 000 cm<sup>2</sup>. Aplikácia zinku (E\_Control+Zn, F\_Drought+Zn) viedla k miernemu nárastu listovej plochy. Najvyššie hodnoty listovej plochy boli zaznamenané pri aplikácii mykoríznych húb v optimálnych podmienkach (C\_Control+Myco) s mediánom okolo 10 000–11 000 cm<sup>2</sup>, čo predstavuje najvýraznejší pozitívny efekt spomedzi všetkých variantov u tohto genotypu.

Genotyp PI 264933 dosahoval najvyššie absolútne hodnoty listovej plochy spomedzi testovaných genotypov. Kontrolný variant (A\_Control) vykazoval mediánové hodnoty okolo 15 500–16 000 cm<sup>2</sup>. Aplikácia sucha (B\_Drought) viedla k miernemu poklesu na hodnoty okolo 14 500–15 000 cm<sup>2</sup>, čo naznačuje relatívne dobrú toleranciu tohto genotypu na vodný deficit. Pri kombinácii zinku so suchom (F\_Drought+Zn) došlo k najväčšiemu zvýšeniu listovej plochy, kde sa hodnoty dostali na úroveň okolo 16 500 cm<sup>2</sup>. Najnižšie hodnoty boli dosiahnuté pri ošetrení (C\_Control+Myco) čo naznačuje, že mykorízna inokulácia nemala u tohto genotypu priaznivý efekt na rast.

Genotyp PI 264934 vykazoval strednú listovú plochu (10 000–16 000 cm<sup>2</sup>) s najvyššími hodnotami v kontrolných podmienkach (A\_Control) okolo 15 000 cm<sup>2</sup>. Tento genotyp preukázal najvýraznejšiu citlivosť na sucho, pričom všetky varianty so suchom vykazovali tendenciu k nižším hodnotám v porovnaní s optimálne zavlažovanými podmienkami. Kombinácia všetkých faktorov (G\_Control+Myco+Zn, H\_Drought+Myco+Zn) viedla k redukcii listovej plochy, pričom pri súčasnom pôsobení sucha bol efekt výraznejší. Pre komplexné vyhodnotenie biofortifikačného potenciálu testovaných genotypov je kľúčové stanoviť koreláciu medzi analyzovanými morfo-fyziologickými parametrami a finálnou akumuláciou zinku v zrne. Prezentované fenotypové charakteristiky tak slúžia ako indikátory fyziologickej odpovede rastlín na aplikované ošetrenia, pričom definitívnym kritériom úspešnosti biofortifikácie zostáva kvantifikácia obsahu Zn v konzumných častiach plodiny.

Zaujímavým zistením našej štúdie je protektívny efekt aplikácie zinku pri súčasnom pôsobení sucha, najmä u genotypu PI 264933, kde kombinácia Zn + sucho viedla k zmierneniu negatívnych účinkov vodného deficitu. Shoormij et al. (2024) preukázali, že aplikácia zinku signifikantne zmiernovala redukciu výnosu spôsobenú vodným stresom u rôznych druhov pšenice, pričom Zn aplikácia zvyšovala relatívny obsah vody (RWC), obsah chlorofylu a aktivitu antioxidantných enzýmov [6].

### Záver

Výsledky potvrdzujú genotypovo-špecifickú reakciu pšenice tvrdej na biofortifikáciu zinkom a inokuláciu arbuskulárnymi mykoríznyimi hubami v podmienkach optimálneho zavlažovania aj vodného stresu. Genotyp PI 264933 vykazuje najvyšší rastový potenciál s listovou plochou dosahujúcou až 16 500 cm<sup>2</sup>, pričom aplikácia zinku pri súčasnom pôsobení sucha preukazuje významný protektívny efekt. Genotyp PI 264932 reaguje najlepšie na mykorízu inokuláciu, zatiaľ čo PI 264934 je najcitlivejší na vodný deficit. Vodný stres predstavuje významný limitujúci faktor ovplyvňujúci efektivitu biofortifikačných opatrení, pričom jeho vplyv je modulovaný genotypovou toleranciou a typom aplikovaných agrotechnických zásahov. Identifikácia kultivarov s optimálnou kombináciou tolerance na suchu a schopnosti akumulovať zinok je kľúčová pre úspešné implementácie ekologicky prijateľných biofortifikačných programov v podmienkach klimatických zmien v stredoeurópskom regióne.

### Literatúra

- [1] Ana María Magallanes-López, Nayeli Hernandez-Espinosa, Govindan Velu, Gabriel Posadas- , José Crossa, Karim Ammar, Carlos Guzmán, Variability in iron, zinc and phytic acid content in a worldwide collection of commercial durum wheat cultivars and the effect of reduced irrigation on these traits, *Food Chemistry*, Volume 237, 2017, Pages 499-505, ISSN 0308-8146,
- [2] Singh S, Kaur J, Ram H, Singh J, Kaur S. Agronomic bio-fortification of wheat (*Triticum aestivum* L.) to alleviate zinc deficiency in human being. *Rev Environ Sci Biotechnol*. 2023;22(2):505-526. doi: 10.1007/s11157-023-09653-4. Epub 2023 Apr 27. PMID: 37234132; PMCID: PMC10134721.
- [3] Gupta OP, Singh AK, Singh A, Singh GP, Bansal KC, Datta SK. Wheat Biofortification: Utilizing Natural Genetic Diversity, Genome-Wide Association Mapping, Genomic Selection, and Genome Editing Technologies. *Front Nutr*. 2022 Jul 12;9:826131. doi: 10.3389/fnut.2022.826131. PMID: 35938135; PMCID: PMC9348810.
- [4] Watt M, Fiorani F, Usadel B, Rascher U, Muller O, Schurr U. Phenotyping: New Windows into the Plant for Breeders. *Annu Rev Plant Biol*. 2020 Apr 29;71:689-712. doi: 10.1146/annurev-arplant-042916-041124. Epub 2020 Feb 25. PMID: 32097567.
- [5] Al-Quraan NA, Samarah NH, Tanash AA. Effect of drought stress on wheat (*Triticum durum*) growth and metabolism: insight from GABA shunt, reactive oxygen species and dehydrin genes expression. *Funct Plant Biol*. 2024 Jan;51(1):NULL. doi: 10.1071/FP22177. PMID: 36346967.

- [6] Fatemeh Shoormij, Aghafakhr Mirlohi, Ghodratollah Saeidi, Mohammad R. Sabzalian, Mehran Shirvani, Zinc foliar application may alleviate drought stress in wheat species through physiological changes, *Plant Stress*, Volume 13, 2024, 100534, ISSN 2667-064X, <https://doi.org/10.1016/j.stress.2024.100534>.

**Acknowledgements**

Práce je podporovaná projektom VEGA 1-0018-22. a agentúrou na podporu výskumu a vývoja SR v rámci grantu č. APVV-21-0504.

**Kontakt:**

Ing. Alexandra Hlavatá

Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave

Fakulta Prírodných vied, Námestie J. Herdu 2 917 01 Trnava

hlavata6@ucm.sk, +421918105955



## Vliv aplikace hydrolyzátů na výnos ozimé pšenice a obsahu chlorofylu v jarním ječmeni

Effect of hydrolysate application on winter wheat yield and chlorophyll content in spring barley

Koprna R.<sup>1</sup>, Špišek Z.<sup>1</sup>, Nožková V.<sup>1</sup>, Karády M.<sup>1</sup>, Teplá K.<sup>1</sup>, Mík V.<sup>1</sup>, Pospíšil T.<sup>1</sup>, Zatloukal M.<sup>1</sup>, Šolcová O.<sup>2</sup>, Fous K.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Univerzita Palackého v Olomouci, Katedra chemické biologie, <sup>2</sup> Ústav chemických procesů AV ČR, v.v.i., <sup>3</sup> Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s.

### Abstrakt

V roce 2025 byly vybrané hydrolyzáty z odpadních surovin živočišného a rostlinného původu ověřeny v podmínkách maloparcelních pokusů na ozimé pšenici. Hydrolyzát z peří a stejný hydrolyzát se syntetickým cytokininem byly také ověřeny na tvorbu odnoží a obsah chlorofylu. I přes vysoký výnos zrna pšenice (11,66 t/ha), bylo zaznamenáno po dvojí aplikaci hydrolyzátů zvýšení výnosu až o 8,38 %, významně se zvýšil i počet zrn v klasech (až o 9,75 %) a HTZ (až o 6,45 %). Předpokládané výrazné zvýšení počtu produktivních a celkových odnoží se nepotvrdilo. V nádobovém pokusu na jarním ječmeni, bylo zjištěno po aplikaci hydrolyzátu a jeho kombinace s cytokininem zvýšení relativního obsahu chlorofylu v listech. Hodnota normalizovaného diferenčního vegetačního indexu (NDVI) se zvýšila jen nepatrně. Hydrolyzáty, jako druhotný produkt po zpracování živočišných a rostlinných surovin, nabízejí nadějnou alternativu následného využití organických odpadů v zemědělství.

**Klíčová slova:** hydrolyzáty, obilniny, výnos, aminokyseliny, chlorofyl

### Abstract

In 2025, selected hydrolysates derived from waste raw materials of animal and plant origin were evaluated in small-plot trials on winter wheat. Feather hydrolysate, both alone and in combination with synthetic cytokinin, was tested for its effects on tiller formation and chlorophyll content. Despite the already high grain yield of winter wheat (11.66 t/ha), a double application of the hydrolysates resulted in a yield increase of up to 8.38%. The number of grains per ear increased by up to 9.75%, and the thousand-grain weight rose by up to 6.45%. However, the anticipated significant increase in the number of productive and total tillers was not confirmed. In a container trial with spring barley, a significant increase in the relative chlorophyll content was observed following the application of hydrolysate and its combination with cytokinin. The normalized difference vegetation index (NDVI) values showed only a slight increase. Hydrolysates, as secondary products obtained from the processing of animal and plant raw materials, present a promising alternative for agriculture use.

**Keywords:** hydrolysates, cereals, yield, amino acids, chlorophyll

### Úvod

Druhotné využití surovin po zpracování rostlinných a živočišných produktů nabývá na významu, pokud lze takové suroviny opětovně použít v zemědělství jako biostimulanty. Podle způsobu hydrolyzy a typu zdrojových surovin mohou takové přípravky obsahovat cenné aminokyseliny případně fytohormony, které mají pozitivní vliv na výnos polních plodin a zvýšení jejich odolnosti vůči abiotickým vlivům (zejména suchu). Celosvětově je zpracováváno cca 40 mil. tun mořských ryb a stejné množství drůbeže, z čehož je cca 1/4 nezpracovatelný odpad a peří. V případě zpracování masa je celosvětová produkce cca 120 mil. tun. Z rostlinných surovin se ročně zpracovává cca 540 mil. tun rýže a 90 mil. tun řepky. Z rýže po zpracování zůstávají otruby, z řepky pokrutiny po lisování. Po hydrolytickém rozštěpení bílkovin v těchto surovinách z nich lze vyrobit cenné biostimulanty aplikovatelné v zemědělské prvovýrobě. V ČR se již dříve ověřoval účinek hydrolyzátů z odpadu po zpracování drůbeže (peří) a odpadu po zpracování ryb na základní parametry výnosu obilnin v polních pokusech. Tyto přípravky vznikly hydrolyzou pomocí kyseliny jablečné (Šolcová et al., 2021; Hanika et

al., 2021). Hydrolyzáty obsahovaly 2,33 – 3,69 g aminokyselin v 1 l s převahou kyseliny asparagové (57,9 – 64,5 %). Zastoupení serinu bylo 3,1 – 9,6 %, prolinu 2,3 – 7,3 % a alaninu 3,0 – 5,1 %. Zbylé aminokyseliny byly zastoupeny do 5 %.

Mnoho autorů potvrdilo pozitivní vliv hydrolyzátových biostimulantů na výnos a stresuodolnost polních plodin. Původ hydrolyzátů byl různý, stejně jako metoda hydrolyzy. Nephali et al. (2020), poukázali na pozitivní účinek prolinu, alaninu, argininu a glycin-betainu, které působily stimulačně při stresu rostlin. Na tvorbu chlorofylu měl významný vliv glycin a glutamin (kyselina glutamová), který působil jako růstový stimulant. El-Sanatawy et al. (2021) aplikovali papainový hydrolyzát v pokusu s pšenicí, u které se zvýšil obsah chlorofylu (hodnota SPAD) z 50,30 na 52,91 a hmotnost tisíce zrn (HTZ) z 37,35 na 44,53 g. Jednalo se o opakovanou aplikaci ve fázích odnožování a začátku sloupkování. Výnos zrna se v roce 2019 zvýšil z 5,29 na 6,08 t/ha, zvýšil se také počet klasů na 1 m<sup>2</sup> z 425,6 na 463,3. Hydrolyzát obsahoval vysoké množství argininu (19,4 %), kyseliny asparagové (20,0 %) a histidinu (11,7 %). Celkově byl však výnos zrna na nižší úrovni, než je běžný výnos v podmínkách ČR. Zvýšená produkce zrna, odnoží a zrn v klasech po aplikaci hydrolyzátů na obilninách byla prokázána i Popkem et al. (2018). Počet odnoží se zvýšil až o 50 %, výnos zrna byl u jednotlivých variant vyšší o 2,0 – 11,0 % a počet klasů na 1 m<sup>2</sup> vzrostl o 4,0 – 17,3 % oproti neošetřené kontrole. Aplikace hydrolyzátu v jiném pokusu zvýšila výnos pšenice oproti kontrole u 3 odrůd pšenice o 7,59 %, počet zrn v klasech se zvýšil z 36,11 na 41,57 a HTZ se zvýšila ze 40,14 na 44,44 g (Mohan et al., 2024). Výsledky aplikace hydrolyzátů na jarním ječmeni a ozimé pšenici ve formě moření osiva a listovou aplikací prokázaly pozitivní vliv hydrolyzátů na výnos zrna a počtu odnoží (Koprna et al., 2024). V případě přidání cytokininového derivátu do hydrolyzátů byl výraznější pozitivní efekt u ozimé pšenice. U raných fází aplikace byl zjištěn vyšší počet produktivních odnoží až o 13,8 % nad kontrolu. Pozdější fáze aplikace (v BBCH 33-34 a později) nenavýšily tak výrazně počet klasů na 1 m<sup>2</sup>, jak tomu bylo u raných fází.

V biotestech na kukuřici s enzymaticky připraveným hydrolyzátem byla zjištěna vyšší hmotnost nadzemní biomasy, kořenů i délka kořene. Na pokusech s hrachem došlo po aplikaci ke zvýšení hodnoty SPAD o 15 % oproti kontrole (Colla et al., 2014). K podobným závěrům dospěl i Ambrosini et al. (2021). Kukuřice po postřiku hydrolyzátem z kolagenní suroviny měla větší kořenový systém ve stresových podmínkách až o 78,1 %. Významný byl také nárůst hodnoty SPAD, která byla již po 4 dnech od ošetření vyšší o 37,5 a 42 %. Pozitivní vliv hydrolyzátů na ochranu proti oxidativnímu stresu rostlin zaznamenali v experimentech i Jindo et al. (2022).

V případě aplikace hydrolyzátů se jeví jako významný faktor čas aplikace, kdy rané aplikace vedou k podpoře odnožování a pozdější aplikace (od BBCH 45) k podpoře tvorby zrn a klasů. El Said a Mahli (2016) zjistili, že po foliární aplikaci aminokyselin se u pšenice výrazně zvýšil počet odnoží, počet klasů na ploše, počet zrn v klasech, HTZ i výnos zrna. Pranckietienė et al. (2015) prokázali u ječmene po aplikaci aminokyselinového přípravku ve fázi BBCH 21-23 zvýšení výnosu zrna o 0,15 – 0,47 t.ha<sup>-1</sup>, podobné zvýšení výnosu zrna bylo zjištěno i při pozdějších fázích aplikace (v BBCH 26-29 a 32-35). Správné načasování aplikace je pravděpodobně závislé na odrůdě, výživovém stavu rostlin a klimatických podmínkách v době růstu a bez důkladného testování nelze jednoznačně určit, v jakém parametru se u rostlin aplikace hydrolyzátů projeví.

## **Materiál a metody**

Hydrolyzáty byly získány z těchto surovin: 1) peří po zpracování drůbeže (**HP**), 2) zbytky po zpracování ryb (**HR**), 3) sladový květ (**HS**) jako zbytek po sladování, 4) rýžové otruby (**HO**), 5) výlisky po zpracování řepky (**HV**) a 6) hydrolyzát z pivovarnických kvasinek (**HK**).

Hydrolyza HP a HR proběhla pomocí kyseliny jablečné v inertní atmosféře bez kyslíku následným zahřátím směsi na 90 až 150 °C a tlakem min. 0,1 MPa po dobu 5 až 8 h. Hydrolyza HS, HO a HV proběhla pomocí 85 % kyseliny fosforečné zahřátím směsi na 130 °C a tlakem min. 0,1 MPa po dobu 2 až 8 h. Poté byla směs neutralizována 28 % vodným roztokem amoniaku na pH 7,01. Ke vzorku HR byl přidán do polního experimentu cytokininový derivát (2F-3MeO-BAP), který byl rozpuštěn v DMSO a poté naředěn v poměru 1:1000 do vodného roztoku a konečné koncentraci 5  $\mu\text{Mol}\cdot\text{l}^{-1}$  (označ. CK). HP a HR byly vyrobeny na pracovišti Ústavu chemických procesů AV ČR, v.v.i., vzorky HS, HO a HV byly vyrobeny na Univerzitě Palackého v Olomouci – Katedra chemické biologie. HL byl vyroben ve Výzkumném ústavu pivovarnickém a sladařském, a.s.

Polní experimenty byly provedeny formou maloparcelních pokusů s randomizovaným uspořádáním jednotlivých 5 opakování dle metodiky GEP, použitá odrůda byla Turandot (Selgen a.s.). Pokus probíhal ve vegetační sezóně 2024/25, výsevní množství bylo 3,5 MKS/ha. Postřik hydrolyzáty byl proveden ve vybraných kombinacích a termínech. První termín (**T1**), byl v odnožování (BBCH 21-25), další termín aplikace (**T2**) byl v počátku sloupkování (BBCH 30-33), posledním termínem aplikace (**T3**) byla aplikace ve fázi praporcového listu (BBCH 37-45). Dávka hydrolyzáty, byla přepočtena vzhledem k obsahu aminokyselin takto: HR v dávce 7,2 l/ha, HP v dávce 5,6 l/ha a HO, HV, HS a HK v dávce 4,0 l/ha. Dávka postřikové jichy byla 300 litrů/ha. V pokusech byl hodnocen počet jednotlivých odnoží (produktivních, středních a neproduktivních, 30 rostlin z každé varianty), počet zrn v klasech (40 rostlin na variantu), výnos zrna (sklizeň z 5 opakování), objemová hmotnost, hmotnost tisíce zrn (HTZ) a počet klasů na 1 m<sup>2</sup> (z 5 opakování). Počet odnoží a klasů na 1 m<sup>2</sup> byl počítán ve fázi sloupkování jen (BBCH 36-37) u variant postřiků v termínu T1, protože u pozdějších termínů nebyl předpoklad vlivu aplikace hydrolyzáty na tyto parametry. U hodnot jako výnos zrna, počet odnoží, a počet zrn v klasech byla vypočítána i statistická průkaznost pro  $p \leq 0,05$ - $0,01$  [\*] a  $p \leq 0,01$  [\*\*].

Měření parametrů fotosyntézy a reakce na stres bylo provedeno na jarním ječmeni (odrůda Francin - Selgen a.s.) v řízených podmínkách. Hodnoceny byly 3 varianty: kontrolní, HR a HR+CK. Rostliny byly pěstovány ve fyto-komóře, koncentrace hydrolyzáty v postřikové kapalině byla 3,0 % obj. Podmínky ve fyto-komóře byly 16 hod. světlo, 8 hod. tma, 21 °C, relativní vlhkost 60%. Měření obsahu chlorofylu bylo provedeno na přístroji Chlorofylmetr SPAD-502 (Konica Minolta Sensing, Osaka, Japan) pro velmi rychlé a nedestruktivní určení relativního obsahu chlorofylu v listech bez nutnosti extrakce pigmentů. Hodnoty měřené chlorofylmetrem byly počítány z propustnosti listu pro dvě různé vlnové délky (650 nm a 940 nm). Na stejných rostlinách byla také změřena hodnota vegetačního indexu spočítaného z odrazivosti listu (NDVI), která nepřímo odráží obsah chlorofylu v rostlinách. K měření byl použit přístroj PolyPen (Photon System Instruments, Drásov, CZ). Hodnoty NDVI se pohybují v rozmezí -1 až +1. Nižší hladina chlorofylu v důsledku stresu nebo stárnutí je měřitelná jako hodnota NDVI blízká 0 v důsledku menší absorpce viditelného červeného světla (Stamford et al., 2023). Obě měření proběhla v 7-10 opakováních pro danou variantu v horní třetině listu na adaxiální straně. Byly získány mediány a kvartily pro každou variantu.

Tab. 1: Obsah jednotlivých aminokyselin v testovaných hydrolyzátech (v mg\*l<sup>-1</sup>)

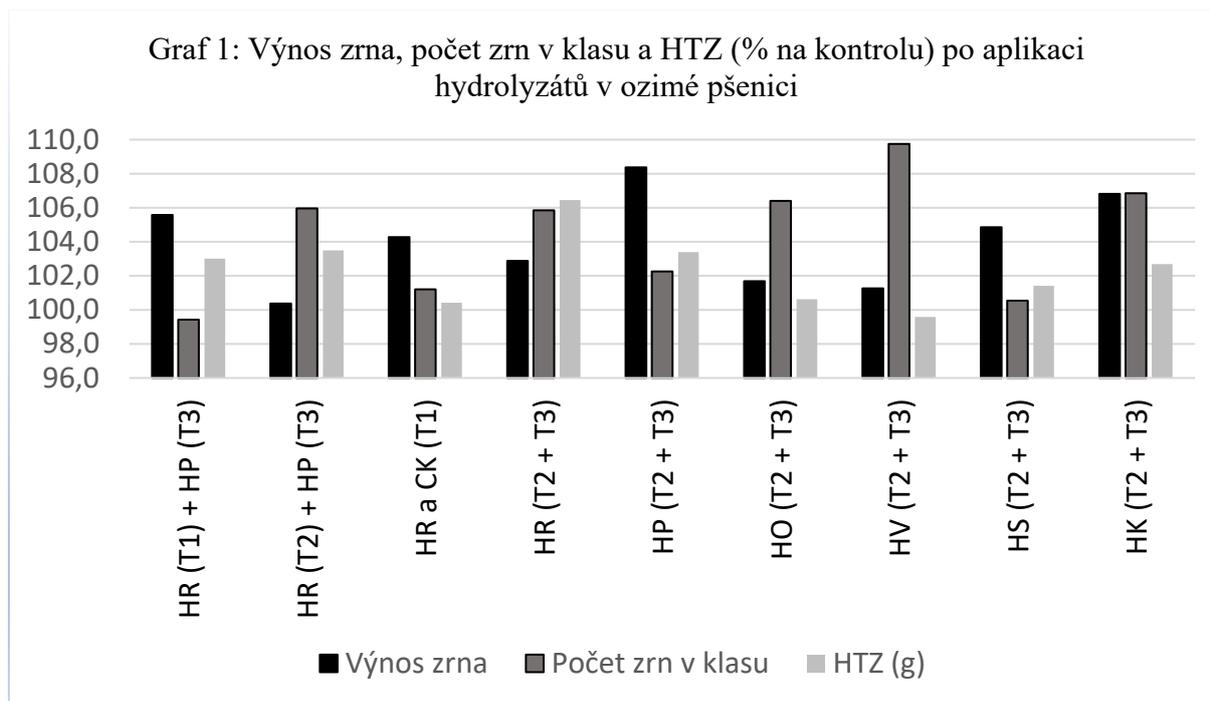
Aminokyselina	Vzorek					
	HP	HR	HK	HS	HV	HO
Ala	95,6	57,0	165,0	136,0	153,0	158,0
Arg	21,6	43,0	138,0	8,2	260,0	35,0
Asn	4,1	1,5	62,0	33,0	3,8	52,0
Asp	1194,9	795,0	21,0	38,0	22,0	17,0
Phe	47,9	28,0	115,0	83,8	162,0	148,3
Gln	1,8	2,7	0,1	0,3	0,0	0,1
Glu	17,8	12,0	117,0	135,0	241,0	104,0
Gly	69,8	69,0	266,0	297,0	818,0	394,0
His	11,8	51,0	66,0	142,0	262,0	255,0
Ile+Leu	54,5	38,0	170,2	217,9	240,1	310,4
Lys	43,1	51,0	3,6	17,0	29,9	4,4
Met	14,9	17,0	32,7	11,8	58,3	33,4
Pro	75,7	44,0	83,0	367,0	201,2	139,0
Ser	91,8	38,0	113,0	44,0	98,0	63,0
Thr	35,7	31,0	132,0	84,1	160,4	108,1
Trp	4,0	5,6	LOD	0,3	LOD	LOD
Tyr	36,5	24,0	75,1	22,1	65,9	30,8
Val	53,0	34,0	61,1	113,0	82,0	180,2
<b>suma</b>	<b>1874,3</b>	<b>1341,8</b>	<b>1620,8</b>	<b>1750,4</b>	<b>2857,6</b>	<b>2032,7</b>

### Výsledky

Z hlediska výnosu zrna po aplikaci hydrolyzátů byl zjištěn nejvyšší nárůst výnosu u kombinace termínů aplikace T2 a T3, nejvyšší výnos byl u hydrolyzátů HP a HK (108,38 a 106,81 % na kontrolu). Hydrolyzát s cytokininem (HR + CK) v jedné aplikaci (termín T1) měl vyšší výnos nad kontrolu o 4,27 %, dvojitá aplikace (T1 a T3) téhož hydrolyzátu bez cytokininu poskytla vyšší výnos a to o 5,57 % více než kontrola (Tab. 2, Graf 1). Z hlediska tvorby odnoží nebyly rozdíly mezi hydrolyzátem bez CK a s CK významné, výraznější rozdíly pak byly až v parametru počtu klasů na 1 m<sup>2</sup> ve prospěch varianty HZ + CK (4,98 % nad kontrolu). Výraznější však byl nárůst počtu zrn v klasu a to zejména po dvojitém ošetření T2 a T3 u hydrolyzátů HO, HV a HK (+ 6,41 % až 9,75 % nad kontrolu). Tento parametr však nebyl klíčový pro výnos, protože například u hydrolyzátu HV klesla hodnota HTZ pod úroveň kontroly. Kombinace listových aplikací, kde významněji vzrostl po aplikaci hydrolyzátů HTZ i počet zrn v klasech, byly varianty HR a HP a opakované aplikace HR a HK. Vliv hydrolyzátů na objemovou hmotnost byl minimální, nejvyšší nárůst tohoto parametru o 3,41 % byl zaznamenán u dvojitě aplikace HR a HP v termínech T1 a T3.

Tab. 2: Výnos zrna a výnosotvorné parametry v pokusu s ozimou pšenicí v roce 2024/25

hodnocený znak	kontrola	varianta postřiku (hydrolyzát a termín ošetření - T1, T2 a T3)								
		HR (T1) + HP (T3)	HR a CK (T1)	HR (T2) + HP (T3)	HR (T2 + T3)	HP (T2 + T3)	HO (T2 + T3)	HV (T2 + T3)	HS (T2 + T3)	HK (T2 + T3)
výnos zrna t/ha při 14 % vlhkosti	11,66	12,31	12,15	11,70	11,99	12,63	11,85	11,80	12,22	12,45
% na kontrolu	100,00	105,57	104,27	100,37	102,88	<b>108,38*</b>	101,69	101,26	104,85	<b>106,81*</b>
počet produktivních odnoží	2,40	2,45	2,50							
% na kontrolu	100,00	102,08	104,17							
počet středních odnoží	1,05	1,35	1,20							
% na kontrolu	100,00	128,57*	114,29*							
počet neproduktivních odnoží	3,35	2,95	3,35							
% na kontrolu	100,00	88,06	100,00							
Suma odnoží	6,80	6,75	7,05							
% na kontrolu	100,00	99,26	103,68							
počet zrn v klasu	59,50	59,16	60,22	63,04	62,98	60,84	63,31	65,30	59,82	63,58
% na kontrolu	100,00	99,42	101,21	<b>105,96*</b>	<b>105,85*</b>	102,26	<b>106,41*</b>	<b>109,75**</b>	100,54	<b>106,85*</b>
objemová hmotnost (kg/hl)	71,95	74,40	72,56	72,06	73,70	71,44	72,85	72,62	72,04	71,74
% na kontrolu	100,00	103,41	100,85	100,15	102,43	99,29	101,25	100,93	100,13	99,71
Hmotnost tisíce zrn (g)	38,29	39,44	38,45	39,63	40,76	39,59	38,53	38,13	38,83	39,32
% na kontrolu	100,00	103,00	100,42	103,50	106,45	103,40	100,63	99,58	101,41	102,69
Počet klasů na 1 m <sup>2</sup>	513,60	500,00	539,20							
% na kontrolu	100,00	97,35	104,98							



Sledované parametry relativního obsahu chlorofylu a NDVI byly po aplikaci hydrolyzátů u obou variant vyšší. Současně nebyl zjištěn výrazně lepší vliv aplikace cytokininu s hydrolyzátem (CK+HP), než tomu bylo u aplikace samotného hydrolyzátu HP (Tab. 3). Nejvýraznější efekt s vysokou statistickou významností byl zjištěn u hodnoty SPAD (+10,36 % a 11,97 %), u vegetačního indexu NDVI došlo po aplikaci HP a HP+CK k navýšení pouze o 4,59, resp. 3,48 %.

Tab. 3: Sledované parametry relativního obsahu chlorofylu (SPAD) a normalizovaného vegetačního indexu (NDVI) po aplikaci HP a HP+CK na jarním ječmeni

hodnota / měření	varianta	Medián	% na kontrolu
SPAD	kontrola	30,90	100,00
	HP+CK	34,10	110,36**
	HP	34,60	111,97**
NDVI	kontrola	0,646	100,00
	HP+CK	0,668	103,48
	HP	0,676	104,59

### Diskuse

Testované hydrolyzáty kromě HP a HR byly připraveny méně šetrnou kyselou hydrolyzou. Celkový obsah aminokyselin u hydrolyzátů připravených touto cestou byl srovnatelný či vhodnější než u hydrolyzátů HP a HR, které vznikly šetrnou hydrolyzou za působení kyseliny jablečné. To potvrzuje vhodnost využití HP a HR v zemědělství podle receptury Šolcové a Hanyky (2021). Vysoký obsah kyseliny asparagové na úkor jiných aminokyselin je však pravděpodobně méně vhodný pro aplikaci na obilniny. Důvodem může být i zdrojový materiál, který obsahuje živočišné bílkoviny, zatímco rostlinný materiál obsahuje i malé množství

fytohormonů a neobsahuje jedinou dominantní aminokyselinu. Naše výsledky potvrzují částečně výsledky autorů jako El-Sanatawy et al. (2021), Mahliho et al. (2016) a Prancietiené et al. (2015) o možnostech zvýšení výnosu zrna u obilnin po aplikaci hydrolyzátů. Vysoké výnosy z našich pokusů v roce 2024/25 (výnos kontroly 11,66 t/ha) pravděpodobně neumožnily výraznější projev pozitivního účinku hydrolyzátů na rozdíl od pokusů, kde byl přítomen abiotický stres nebo byla výnosová úroveň mnohem nižší. I skrze takto vysoký výnos většina hydrolyzátů (zejména HP a HK ve dvojité aplikaci) zvýšila výnos zrna (až o 8,38 %). Narozdíl od zjištění autorů Popka et al. (2018) a El Saida et al. (2016) nebyl zjištěn výraznější efekt na počet produktivních ani jiných odnoží po rané aplikaci HR ani HR+CK. Právě vysoký výnos zrna mohl být příčinou slabé odezvy na samotný hydrolyzát i na cytokinin s HR. Naopak se potvrdily závěry Mohana et al. (2024) a Prancietiené et al. (2015) o pozitivním vlivu aplikace hydrolyzátů na parametry HTZ a počtu zrn v klasech. Ve sledovaných pokusech došlo k navýšení těchto ukazatelů o 9,75 % v případě počtu zrn v klasech a 6,45 % u HTZ. Vliv hydrolyzátů na objemovou hmotnost se výrazněji nepotvrdil. V případě vlivu hydrolyzátů na parametry obsahu chlorofylu a potažmo i stresuodolnosti se po aplikaci zvýšila hodnota SPAD statisticky významně o 10,36 a 11,97 % nad neošetřenou kontrolu, NDVI se zvýšilo jen nepatrně. Tyto závěry korespondují se zjištěními El-Sanatawyho et al. (2021) a Colla et al. (2014), kteří zejména v případě hodnoty SPAD zjistili nepatrné zvýšení této hodnoty po aplikaci hydrolyzátů.

### **Závěr**

Aplikace hydrolyzátů měla pozitivní vliv na výnos pšenice i v případě vysokého výnosového potenciálu. Tento výnos byl navýšen zejména vyšším počtem zrn v klasech a hmotností tisíce zrn. Počet odnoží ani objemová hmotnost výrazněji na aplikaci hydrolyzátů nereagovaly. Byl zjištěn částečný pozitivní vliv syntetického cytokininu v postřiku, nebyl však výraznější v podobě zvýšené tvorby produktivních odnoží. Výrazněji se však zvýšil počet klasů na 1 m<sup>2</sup>. Z výsledků vyplývá, že správné načasování aplikace hydrolyzátů může v případě ranných aplikací, zejména s přidavkem cytokininů, vést ke zvýšení produkci odnoží a tím i vyššímu výnosu. Pozdější aplikace zase mohou vést z vyššímu ozrnutí klasů a vyšší HTZ. Výraznější efekt aplikace hydrolyzátů lze očekávat v případě vystavení rostlin stresu nebo při nižší výnosové úrovni. Po aplikaci hydrolyzátů došlo k pomalejší degradaci chlorofylu v listech, vegetační index NDVI vykazoval nesignifikantně vyšší hodnoty. Výběrem vhodného zdrojového materiálu a způsobu hydrolyzy lze velmi účinně ovlivnit výslednou koncentraci jednotlivých aminokyselin a tím i zacílit aplikaci hydrolyzátů pro konkrétní plodiny.

### **Literatura**

- Ambrosini S., Segal D., Santi Ch., Zamboni A., Varanini Z., Pandolfini T. (2021): Evaluation of the Potential Use of a Collagen-Based Protein Hydrolysate as a Plant Multi-Stress Protectant. In: *Front. Plant Sci.*, 09 Feb. 2021, Sec. Crop and Product Phys., Vol. 12–2021
- Colla, G. et al.: Biostimulant action of protein hydrolysates: Unraveling their effects on plant phys. and microbiome. *Front.Plant Sci.* 8(2017). [doi.org/10.3389/fpls.2017.02202](https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02202)
- El-Said M. A. A., A.Y. Mahdy (2016): Response of Two Wheat Cultivars to Foliar Application with Amino Acids under Low Levels of Nitrogen Fertilization. *Middle East Journal of Agriculture Research*, Vol. 5, Issue 04, pp 462–472, ISSN 2077-4605.
- El-Sanatawy A.M., Ash-Shormillesy S.M.A.I., El-Yazied A.A., El-Gawad H.G.A., Azab E., Gobouri A.A., Sitohy M., Osman A. (2021): Enhancing Grain Yield and Nitrogen Accumulation in Wheat Plants Grown under a Mediterranean Arid Environment by Foliar Spray with Papain-Released Whey Peptides. *Agronomy* 2021, 11, 1913. <https://doi.org/10.3390/agronomy11101913>.

- Hanika J., Rousková M., Šabata S., Kaštánek F., Šolcová O. (2021): New Green Animal Waste Hydrolysis Initiated by Malic Acid, In: *Current Biochem. Eng.*, 2021, Vol. 7, No. 2
- Jindo, K. et al.: Application of biostimulant products and biological control agents in sustainable viticulture: A review. *Front. Plant Sci.* 13 (2022).
- Koprna R., Špíšek Z., Humplík J., Weger J., Mík V., Pospíšil T., Zatloukal M., Šolcová O., Dlasková M. (2024): Využití hydrolyzátů z odpadních surovin v zemědělství a rekultivaci krajiny - Use of hydrolysates from waste raw materials in agriculture a landscape reclamation. In: *Aktuální poznatky v pěstování, šlechtění, ochraně rostlin a zpracování produktů*. In: *Úroda 12*, roč. LXXII, 2024, vědecká příloha, s. 237-244., ISSN 0139-6013
- Mohan J., Singh I, Behl R.K., Sharma P.K., Bharti N., Arya R., Mittan S., Tomar Z. (2024): Effect of Hairamin and Fertilizer Application on Grain Yield and Its Attributes in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Varieties. *Asian J. Soil Sci. Plant Nutri.*, vol. 10, no. 1, pp. 389-396, 2024
- Nephali, L. et al.: Biostimulants for plant growth and mitigation of abiotic stresses: A metabolomics perspective. *Metabolites* 10 (2020). DOI: [doi.org/10.3390/metabo10120505](https://doi.org/10.3390/metabo10120505)
- Popko M., Michalak I., Wilk R., Gramza M., Chojnacka K., Górecki H. (2018): Effect of the New Plant Growth Biostimulants Based on Amino Acids on Yield and Grain Quality of Winter Wheat. In: *Molecules* 2018, 23, 470.
- Pranckietienė I., Mazulytė-Miškinė E., Prancietis V., et al. (2015): The Effect of Amino Acids on Nitrogen, Phosphorus and Potassium Changes in Spring Barley Under the Conditions of Water Deficit. *Zemdirbyste-Agriculture*, vol. 102, No. 3 (2015), p. 265–272.
- Stamford, J. D., S. Vialet-Chabrand, I. Cameron & T. Lawson (2023) Development of an accurate low cost NDVI imaging system for assessing plant health. *Plant Methods*, 19.
- Šolcová O., Knapěk J., Wimmerová L., Vávrová K. et al. (2021): Environmental aspects and economic evaluation of new green hydrolysis method for waste feather processing. In: *Clean Technol. and Environmental Policy*, Springer, [doi.org/10.1007/s10098-021-02072-5](https://doi.org/10.1007/s10098-021-02072-5).

**Dedikace:** Výsledky byly získány za podpory projektu NCK/NPO č. TN02000044 „Biorafinace a cirkulární ekonomika pro udržitelnost“.

**Kontakt:** Ing. Radoslav Koprna, Ph.D.  
Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta – Katedra chemické biologie  
Šlechtitelů 27, 783 71 Olomouc - Holic  
Tel: 585 63 4945  
e-mail: [radoslav.koprna@upol.cz](mailto:radoslav.koprna@upol.cz)

## Ověřování plošně diferencovaných aplikací postřikových látek v precizním zemědělství

Verification of site-specific spraying  
in precision agriculture

Lukas V.<sup>1</sup>, Elbl J.<sup>1</sup>, Širůček P.<sup>1</sup>, Slezák V.<sup>1</sup>, Kaplánek T.<sup>1</sup>,  
Schilhabová K.<sup>1</sup>, Czírja K.<sup>2</sup>, Smutný V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav agrosystémů a bioklimatologie, Mendelova univerzita v Brně, <sup>2</sup>Skymaps s.r.o.

### Abstrakt

Cílem precizního zemědělství je přizpůsobit pěstební zásahy lokálním podmínkám stanoviště a stavu porostů. Současný vývoj detekčních metod a postřikovací techniky umožňuje reagovat na rozdílnou intenzitu a distribuci zaplevelení v rámci pozemků formou plošně diferencovaných aplikací herbicidů. Výsledky ověřování mapování zaplevelení pomocí bezpilotního snímkování a následná tvorba aplikačních map na 22 poloprovozních pokusných plochách v různých produkčních podmínkách s celkovou výměrou 1095 ha poukázaly na potřebu provedení aplikace na 17 - 100 % plochy pozemku v závislosti na intenzitě zaplevelení a parametrech aplikační techniky. Celkový průměr modelově aplikované plochy byl 77 %, při odečtení ploch s nastavenou dvojitou aplikační dávkou se jednalo o 50 %. Reálné provedení aplikace na třech pozemcích zemědělské společnosti ROSTĚNICE a.s. o výměře 78,4 ha vykazovalo aplikaci postřiku na 29,9 ha, tzn. plošnou úsporu na úrovni 62 %.

**Klíčová slova:** Ochrana rostlin, dálkový průzkum Země, analýza obrazu, bezpilotní snímkování, herbicidní ošetření

### Abstract

The aim of precision agriculture is to adapt crop management practices to the site-specific soil properties and crop status. Current developments in detection methods and spraying technology enables to respond to varying distribution of weeds within fields through site-specific herbicide applications. The results of weed mapping by using unmanned aerial imaging and creation of application maps on 22 trial fields under different production conditions with a total area of 1,095 ha indicated the need of application on 17–100% of the field area depending on weed intensity and the parameters of the application equipment. The overall average of the model-applied area was 77% (50 % without areas with double application rate). The real application of herbicides on three fields of the farm ROSTĚNICE a.s., with a total area of 78.4 ha, resulted in spraying 29.9 ha (62 % of area).

**Keywords:** Crop protection, remote sensing, image analysis, UAV imaging, herbicide application

### Úvod

Základním principem precizního zemědělství při pěstování rostlin je optimalizace pěstebních zásahů na základě stanovené variability půdních či porostních podmínek v rámci jednotlivých pozemků pro efektivní využívání materiálových vstupů a přírodních zdrojů. V oblasti výživy rostlin jsou variabilní aplikace uplatňovány již řadu let a stávají se běžnou realitou, plošně diferencované aplikace přípravků na ochranu polních rostlin se do prvovýroby zavádí teprve v posledních letech. Souvisí to s vývojem aplikační techniky schopné prostorově přesnější aplikace, a také nově uplatňovaným metodám detekce stavu porostů a škodlivých organizmů. Významnou roli zde hrají pokročilé nástroje strojového učení.

Cílené aplikace pesticidních látek se v současnosti orientují hlavně na aplikaci herbicidů, okrajově na také aplikaci fungicidního ošetření dle detekce houbových chorob a (Anastasiou et al., 2023). Zatímco plošná distribuce plevelů je heterogenní a v návaznosti na intenzitu zaplevelení je zde velký potenciál pro celkovou úsporu, lokálně cílená aplikace insekticidů je problematická z důvodu obtížného monitoringu škodlivých činitelů v rámci plochy pozemků a jejich významné časové dynamiky výskytu (Ørum et al., 2017). Lokálně cílená regulace zaplevelení (SSWM - site specific weed management) postihuje rozdíly v početnosti nebo

složení populace plevelných rostlin na ploše pozemků (Wiles, 2009). Regulační zásah je cílen na oblasti s intenzitou zaplevelení nad ekonomickým prahem škodlivosti nebo na volbu herbicidu s nejvyšší účinností dle detekovaného výskytu plevelných či zaplevelujících rostlin. Problematice celoplošné detekce zaplevelení se věnuje řada výzkumných prací, rozlišení kulturních a plevelných druhů často vychází základě ze spektrálních měření (Burgos-Artizzu et al., 2011). Dle Rai et al. (2023) jsou pro detekci zaplevelení využívány často pokročilé metody zpracování obrazu včetně nástrojů strojového učení, jako jsou Random Forest, Support Vector Machine či v současnosti často využívaný algoritmus YOLO.

Pro provedení cíleného zásahu je nezbytné ovládnutí aplikačního záběru – to zajišťuje např. systém s pulzní modulací (PWM - Pulse Width Modulation) se změnou dávkování proměnlivou dobou otevření trysky nebo systém regulace Selejet se skokovou změnou dávkování kombinací trysek o různém průtoku. Pro plošně diferencované aplikace je možné využít obě řešení. S ohledem na technické řešení lze ale najít mezi nimi rozdíly, jak z hlediska přesnosti dávkování, tak rychlosti reakce změny dávky (Olšan, 2023).

Cílem této odborné studie bylo ověřit význam plošně diferencovaných aplikací herbicidního ošetření na základě detekce zaplevelení vybraných pozemků a vyhodnotit dopad na spotřebu postřikových látek.

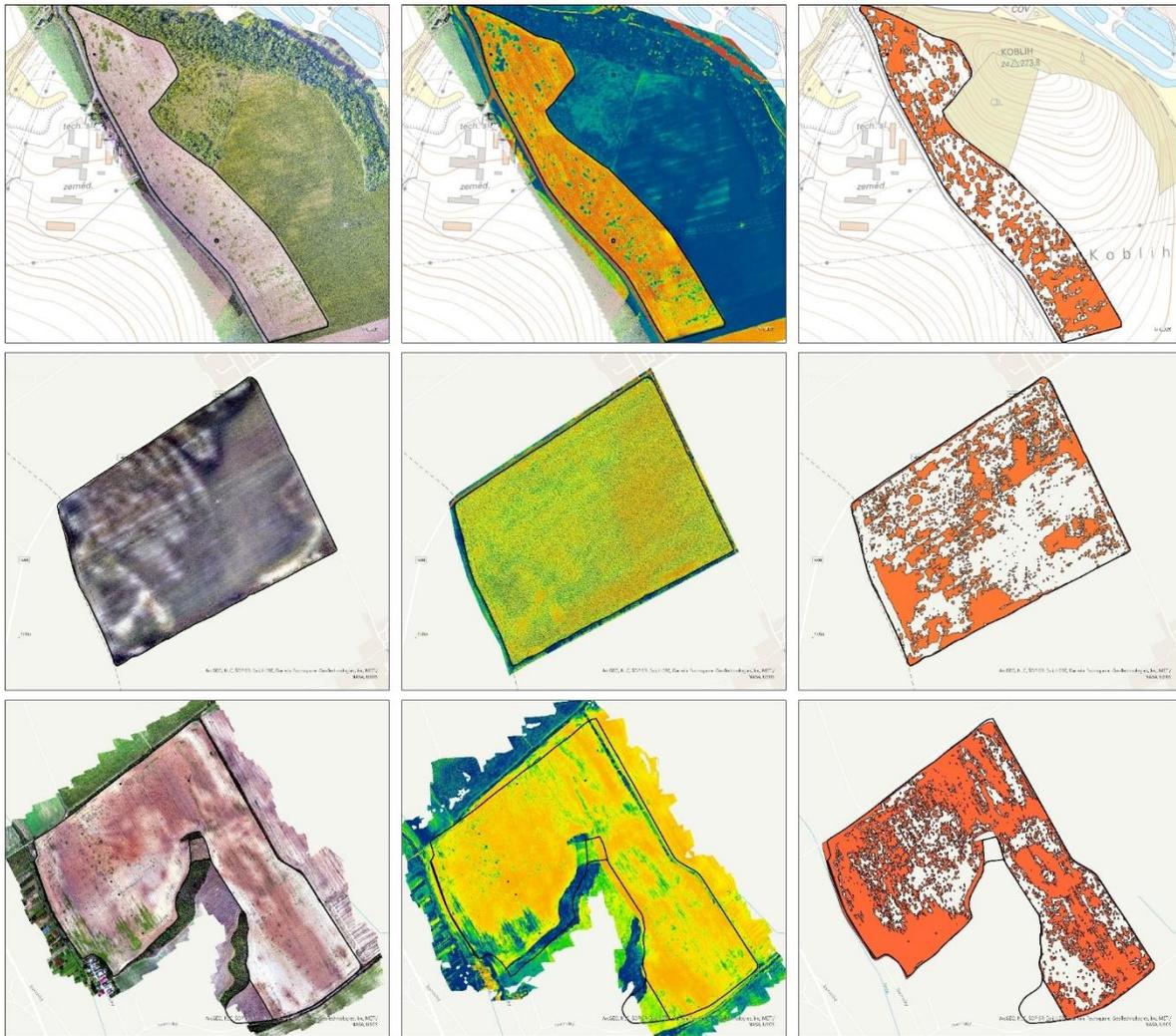
### **Materiál a metody**

Ověření mapování zaplevelení bylo realizováno ve spolupráci se společností Skymaps s.r.o. na několika pozemcích v České republice, Slovensku a Rumunsku v období 2021 - 2023. Soupis pokusných ploch je uveden v Tab. 1. Jednalo se o celkem 22 pokusných ploch orné půdy o souhrnné výměře 1095 ha s úlohou aplikace glyfosátu na výdrol plodin po sklizni, pcháč rolní a heřmánkovec nevonný. Pro přípravu aplikačních map byla nastaven režim ohniskové aplikace s aplikací pouze na vybraných částech pozemků nebo režim zonální s navolením dvojí úrovně dávkování dle intenzity zaplevelení. Podrobný popis uvádí v ověřené technologii (Lukas et al., 2023). Vlastní plošně cílená aplikace herbicidního ošetření byla ověřena pouze na několika vybraných pozemcích.

Použitými bezpilotními prostředky byly multispektrální drony DJI Phantom 4 Multispectral, DJI Mavic 3 Multispectral a DJI Matrice M300 osazený multispektrální kamerou Micasense Altum. Radiometrické kalibrace byly provedeny na základě snímání kalibračního panelu Micasense CRP06 bezprostředně před nebo po provedení snímání. Při zpracování ortomozaiky byly využity údaje o úrovni přichodí radiace senzorů slunečního světla upevněných na bezpilotních prostředcích pro normalizaci změny světelných podmínek v průběhu snímání.

### **Výsledky**

Zpracování obrazových dat a detekce zaplevelení bylo provedeno v cloudové aplikaci Cultiwis od společnosti Skymaps s.r.o., která nabízí uživatelům nástroj pro zpracování dat DPZ (bepilotních a družicových) a tvorbu podkladů pro variabilní aplikace. Tvorba ortorektifikovaných map využívá nástroje pro sestavení bezešvé mozaiky (algoritmus structure from motion), výpočet digitálního modelu povrchu (DSM) a ortorektifikace. Z multispektrální ortomozaiky byly vypočteny vegetační indexy a následně provedena klasifikace obrazových dat.



Obr. 1 Příklad vyhodnocení zaplevelení a tvorba aplikačních map pro vybrané pozemky

Plošné zastoupení oblastí vymezených na pozemcích pro aplikaci herbicidu se pohybovalo od 17 po 100 % v závislosti na intenzitě zaplevelení. Při vyšší pokryvnosti zaplevelení byly využity zonální aplikace s nastavením dvou rozdílných dávek. V absolutním vyjádření představovala plocha aplikace 852 ha z celkových 1095 ha, plošná úspora aplikace tak představuje 23 % celkové výměry. Pokud by vyhodnocení nezahrnovalo aplikace s rozlišením dvojití dávky herbicidu, tak by úspora činila 50 %.

Tab. 1 Tabulkový přehled mapování zaplevelení Skymaps a MENDELU na anonymizovaných pozemcích České republiky, Slovenska a Rumunska za období 2021–2023 včetně uvedení snímací techniky a cílových plevelných druhů.

pole	země	Plevelné druhy a plodina	Výměra (ha)	Zaplevelení (%)	Dávka postřiku (l/ha)	Úspora postřiku (%)
DS1	SK	výdrol v řepce	31.22	68.58	100	31.42
DS2	SK	výdrol v řepce	22.44	57.35	100	42.65
A	CZ	pcháč (strniště)	19.75	74.43	200	25.57
AHN1	SK	pcháč	68.48	99.58	75, 150	28.62
AHN2	SK	pcháč	36.86	99.67	75, 150	18.14
B	SK	pcháč (mák)	56.08	64.91	200	35.09
NZ	SK	pcháč (kukuřice)	78.03	37.04	200	62.96
AV	CZ	pcháč (strniště)	20.02	98.80	75, 120	18.36
In80	RO	pcháč (sója)	15.47	51.73	120, 200	63.69
In81	RO	pcháč (sója)	8.58	31.59	120, 200	78.57
In82	RO	pcháč (sója)	18.75	71.84	120, 200	45.34
In83	RO	pcháč (sója)	9.93	75.03	120, 200	47.21
In99	RO	pcháč (sója)	113.16	96.37	120, 200	21.90
In52	RO	pcháč (kukuřice)	44.32	81.32	120, 200	40.16
In62	RO	pcháč (kukuřice)	64.45	89.94	120, 200	19.97
In44	RO	pcháč (kukuřice)	104.34	73.42	120, 200	38.58
In50	RO	pcháč (kukuřice)	148.78	82.08	120, 200	39.26
In43	RO	pcháč (kukuřice)	143.94	100	120, 200	31.24
AP	CZ	pcháč (kukuřice)	12.57	49.16	200	50.84
RRS	CZ	heřmánkovec, pcháč (kukuřice)	29.03	60.63	200	39.37
RMP	CZ	heřmánkovec, pcháč (kukuřice)	31.69	17.36	200	82.64
RNP	CZ	heřmánkovec, pcháč (kukuřice)	17.68	38.46	200	61.54

Na vybraných pozemcích s kukuřicí setou byla ve spolupráci se zemědělskou společností ROSTĚNICE a.s. koncem května 2023 provedena také plošně cílená aplikace herbicidního ošetření (Lukas et al., 2023). Pozemky o celkové výměře 78,4 ha. byly zmapovány s využitím bezpilotní techniky DJI Mavic 3 Multispectral v náletové výšce nad terénem 120 m (AGL) a výsledném prostorovém rozlišení (GSD) 5,6 cm/pixel. Mapování bylo cíleno na herbicidní ošetření jednoletých (heřmánkovec nevonný, *Tripleurospermum inodorum*) a vytrvalých (pcháč rolní, *Cirsium arvense*) plevelů vyskytujících se na pozemku v porostu kukuřice seté v růstové fázi 5-6 listů (BBCH 15-16) (Obr. 2).



Obr. 2 Detekce zaplevelení vytrvalých (pcháče) a jednoletých (heřmánkovec) plevelů na pozemku o výměře 31,69 ha (vlevo), aplikační mapa nahraná do palubního terminálu postřikovače (uprostřed) a Provedení plošně diferencované aplikace herbicidních látek postřikovačem Horsch Leeb na pozemcích ROSTĚNICE a.s.

Pořízené snímky byly zpracovány s využitím software Agisoft Metashape, identifikace zaplevelení následně probíhala s využitím metod řízené klasifikace a strojového učení (random forestry) v GIS. Následně byla provedena aplikace přípravků Dicavel (0,6 l/ha) a Story (0,2 l/ha) s dávkou postřikové jichy 200 l/ha samojízdnými postřikovači Horsch Leeb 6.300 VN a Agrifac Condor s aplikačním záběrem 36 m a řízením ovládání jednotlivých trysek pulzní modulací (PWM). Aplikace herbicidu na ohniska zaplevelení byla realizována na 29,9 ha, což představuje plošnou úsporu na úrovni 62 %.

### Diskuze

Výsledky odborných studií zaměřených na ověřování ohniskové aplikace herbicidů již před řadou let poukazovaly na výraznou redukci herbicidních látek (20–60 %) při ohniskové aplikaci v nižších desítkách procent (Gerhards et al., 1997; Johnson et al., 1995). Později již bylo konstatováno, že technologie ohniskové aplikace je dnes dostatečně vyspělá pro lokálně cílené aplikace, pro další využití však bude zapotřebí zlepšit kamerové systémy a algoritmy obrazové analýzy, zejména pro online systémy aplikace herbicidů (Gerhards a Oebel, 2006). Již samotné zavedení ovládání postřikovací techniky po sekcích přineslo dle některých studií snížení úspory na úrovni 15–17 % (Luck et al., 2010), přičemž logicky je vyšší úspory dosahováno u nepravidelných pozemků. Úspora může být dále navýšena použitím kompenzace při otáčení postřikovače. Plošně diferencované aplikace na základě detekce výskytu zaplevelení tyto hodnoty ještě dále navyšuje. Ekonomická analýza cílené aplikace herbicidů a fungicidů v severním Německu prokázala snížení spotřeby přípravků od 26 do 66 % (Rajmis et al., 2022). Plošně diferencovaná aplikace vedla ke zvýšení příspěvku na úhradu o 156 EUR na ha v porovnání s konvenčně realizovanou (uniformní) aplikací. Elbl et al. (2025) dosáhli zonální aplikací se zařazením nižší dávky herbicidního ošetření na méně zaplevelených částech pozemků ke snížení spotřeby přípravku o 12 %. V případě cílené aplikace herbicidu na ohniska pcháče rolního a heřmánkovce nevonného byla prokázána nižší spotřeba herbicidů o 56 %.

Kromě úspory postřikové jichy je nutné také zmínit přínosy v podobě snížení fyto toxického působení herbicidů či obecná redukce kontaminace rostlinných produktů rezidui pesticidních látek. Nelze opomenout také úsporu na dopravě vody či míchání postřikové jichy. Vyčíslení pozitivních přínosů v tomto směru ale vyžaduje podrobnější výzkum. Je nutné zmínit, že podobné efektivity je dosahováno pouze u vybraných herbicidních zásahů - často se jedná o opravné zásahy nákladnější selektivními herbicidy po celoplošně provedené předsetové a preemergentní neselektivní aplikaci.

Plošně diferencované aplikace lze uplatnit při dalších postřikových operacích, např. vypínáním trysek nad plochami poškozeného porostu. Kaplánek et al. (2025) popisují detekci poškození

pšenice ozimé hraboši v rozsahu 2 – 40 % plochy ozimých plodin, kde není nutné aplikovat fungicidní či insekticidní ošetření nebo regulaci porostu. Problémové plochy lze identifikovat z družicových snímků PlanetScope a Sentinel-2, pro účely plošně diferencované aplikace postřiku je však nezbytné použít data s vyšším prostorovým rozlišením, jako je bezpilotní snímkování.

### Závěr

Výsledky ukazují na potenciál plošně diferencovaných aplikací herbicidního ošetření v závislosti na celoplošné detekci zaplevelení. Ověřování na 22 poloprovozních pokusných plochách v různých produkčních podmínkách s celkovou výměrou 1095 ha ukázaly na potřebu provedení aplikace na 17 - 100 % plochy pozemku v závislosti na intenzitě zaplevelení a parametrech aplikační techniky. Celkový průměr modelově aplikované plochy byl 77 %, při odečtení ploch s nastavenou dvojitou aplikační dávkou se jednalo o 50 %. Reálné provedení aplikace na třech pozemcích zemědělské společnosti ROSTĚNICE a.s. o výměře 78,4 ha vykazovalo aplikaci postřiku na 29,9 ha, tzn. plošnou úsporu na úrovni 62 %. Potenciál využití se ale týká pouze vybraných herbicidních ošetření – nejčastěji opravných zásahů zaměřené na vytrvalé plevele s ohniskovým výskytem.

### Literatura

- Anastasiou, E., Fountas, S., Voulgaraki, M., Psiroukis, V., Koutsiaras, M., Kriezi, O., Lazarou, E., Vatsanidou, A., Fu, L., Bartolo, F. D., Barreiro-Hurle, J., Gómez-Barbero, M. 2023. Precision farming technologies for crop protection: A meta-analysis. *Smart Agricultural Technology*. vol. 5, pp. 100323. 2023/10/01/. ISSN 2772-3755
- Burgos-Artizzu, X. P., Ribeiro, A., Guijarro, M., Pajares, G. 2011. Real-time image processing for crop/weed discrimination in maize fields. *Computers and Electronics in Agriculture*. vol. 75, no. 2, pp. 337-346. ISSN 0168-1699
- Elbl, J., Lukas, V., Vítek, T., Smutný, V., Kuchaříková, K., Výmola, I., Kintl, A., Sobotková, J., Sojka, T., Hnilička, O., Kouřil, J., Pinkas, J. 2025. Ohnisková a zonální aplikace herbicidů v podmínkách konvenčně hospodařícího podniku. Ověřená technologie. , Mendelova univerzita v Brně a JTZE Horní Moštěnice s.r.o.
- Gerhards, R., Oebel, H. 2006. Practical experiences with a system for site-specific weed control in arable crops using real-time image analysis and GPS-controlled patch spraying. *Weed Research*. vol. 46, no. 3, pp. 185-193. ISSN 0043-1737
- Gerhards, R., Sökefeld, M., Schulze-Lohne, K., Mortensen, D. A., Kühbauch, W. 1997. Site Specific Weed Control in Winter Wheat. *Journal of Agronomy and Crop Science*. vol. 178, no. 4, pp. 219-225. ISSN 0931-2250
- Johnson, G. A., Mortensen, D. A., Martin, A. R. 1995. A simulation of herbicide use based on weed spatial distribution. *Weed Research*. vol. 35, no. 3, pp. 197-205. ISSN 0043-1737
- Kaplánek, T., Slezák, V., Lukas, V., Večerka, T., Elbl, J., Škarpa, P., Křen, J. 2025. Comparison of UAV and satellite imagery to identify Winter Wheat and Oilseed Rape crop damages for site-specific spraying, in *Living Planet Symposium 2025*.
- Luck, J. D., Pitla, S. K., Shearer, S. A., Mueller, T. G., Dillon, C. R., Fulton, J. P., Higgins, S. F. 2010. Potential for pesticide and nutrient savings via map-based automatic boom section control of spray nozzles. *Computers and Electronics in Agriculture*. vol. 70, no. 1, pp. 19-26. 2010/01/01/. ISSN 0168-1699
- Lukas, V., Širůček, P., Mezera, J., Porčová, L., Czírja, K., Elbl, J., Neudert, L., Smutný, V. 2023. Lokálně cílená aplikace herbicidů v precizním zemědělství, Brně, M. u. v.
- Olšan, I. Selejet nebo PWM? Precizně znamená přesně; <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/mechanizace/selejet-nebo-pwm-precizne-znamena-presne>.

- Ørum, J. E., Kudsk, P., Jensen, P. K. 2017 Economics of Site-Specific and Variable-Dose Herbicide Application, In: Pedersen, S. M. et al. (eds.) Precision Agriculture: Technology and Economic Perspectives, pp. 93-110, Cham: Springer International Publishing. ISBN 978-3-319-68715-5
- Rai, N., Zhang, Y., Ram, B. G., Schumacher, L., Yellavajjala, R. K., Bajwa, S., Sun, X. 2023. Applications of deep learning in precision weed management: A review. Computers and Electronics in Agriculture. vol. 206, pp. 107698. 2023/03/01/. ISSN 0168-1699
- Rajmis, S., Karpinski, I., Pohl, J.-P., Herrmann, M., Kehlenbeck, H. 2022. Economic potential of site-specific pesticide application scenarios with direct injection and automatic application assistant in northern Germany. Precision Agriculture. vol. 23, no. 6, pp. 2063-2088. 2022/12/01. ISSN 1573-1618
- Wiles, L. J. 2009. Beyond patch spraying: site-specific weed management with several herbicides. Precision Agriculture. vol. 10, no. 3, pp. 277-290. 2009/06/01. ISSN 1573-1618

### **Poděkování**

Příspěvek byl zpracován za podpory výzkumného projektu MZe NAZV QL25020034 „Optimalizace používání přípravků na ochranu rostlin plošně diferencovanou aplikací metodami precizního zemědělství“ a obsahuje výsledky řešení výzkumného projektu MPO Aplikace s názvem „Skymaps – výzkumný projekt“ (CZ.01.1.02/0.0/0.0/20\_321/0024838).

### **Kontaktní adresa**

doc. Ing. Vojtěch Lukas, Ph.D.  
Mendelova univerzita v Brně  
Zemědělská 1, 613 00 Brno  
Tel. 545 133 081  
Email: vojtech.lukas@mendelu.cz



## Výnosy a kvalita píce kukuřice seté v systému úzkých řádků (37,5 cm) v oblasti Boskovické brázdy

Yields and forage quality of silage maize sown in a narrow row system (37.5 cm) in the Boskovice furrow area

L. Menšík ml.<sup>1</sup>, P. Nerušil<sup>1</sup>, V. Smutný<sup>2</sup>, E. Mrkvicová<sup>2</sup>, D. Kincš<sup>3</sup>, L. Menšík st.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v. v. i. (CARC), Odbor systémů hospodaření na půdě, Drnovská 507/73, 161 00 Praha – Ruzyně, Česká republika, [ladislav.mensik@carc.cz](mailto:ladislav.mensik@carc.cz), <sup>2</sup>Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, Brno, <sup>3</sup>Výzkumný ústav monitoringu a ochrany půdy, v.v.i., Praha, <sup>4</sup>AGROSPOL a.d., Knínice

### Abstrakt

Kukuřice setá (*Zea mays* L.) je důležitá píce, potravina, ale i průmyslová plodina pěstovaná na orné půdě. Současný pokrok v genetice, šlechtění rostlin, ale i technická vyspělost a přesnost moderních secích strojů umožňují vysévat přesný počet rostlin kukuřice v různých šířkách řádků (např. 37,5; 45; 51; 75 cm atd.). Výzkum byl proveden v provozních pokusech podniku AGROSPOL a.d. Knínice v období 2021–2025, hospodařícího v podmínkách Boskovické brázdy. Kukuřice byla vysévána ve druhé polovině dubna (hybrid: FAO 280; výsevok: 95 tis. klíčivých semen/ha; secí stroj: Kinze 3500; rozteč řádků: 75 cm /Kontrola/ a 37,5 cm /ÚŘ/). Cílem příspěvku bylo vyhodnotit produkční ukazatele a kvalitu píce při pěstování kukuřice seté v systému ÚŘ (37,5 cm). Průměrný výnos řezanky suché hmoty za období 2021–2025 v systému ÚŘ dosáhl 17,54 t.ha<sup>-1</sup> a byl významně vyšší (p=0,05) oproti Kontrolě (15,86 t.ha<sup>-1</sup>). Kvalita píce v systému ÚŘ byla srovnatelná s Kontrolou. Na základě výsledků lze konstatovat, že technologie ÚŘ poskytuje v dané oblasti dlouhodobě o ca 16 % vyšší výnosy biomasy a způsob setí kukuřice nemá vliv na její krmnou hodnotu.

**Klíčová slova:** silážní kukuřice, systém úzkých řádků, výnos, kvalita píce

### Abstract

Corn (*Zea mays* L.) is an important crop for food, feed and industry, and is grown on arable land. Advances in genetics and plant breeding, coupled with the technical sophistication and precision of modern seed drills, now allow for the precise sowing of corn plants at various row widths (e.g. 37.5, 45 and 51 cm). This research was conducted by AGROSPOL a.d. Knínice in operational trials between 2021 and 2025 under the conditions of Boskovice furrow area. Corn was sown in the second half of April (hybrid: FAO 280; sowing rate: 95,000 germinating seeds/ha; seeder: Kinze 3500; row spacing: 75 cm (Control) and 37.5 cm (NarrowRow /NR/). This paper aimed to evaluate production indicators and forage quality when growing corn sown in the NR system (37.5 cm). The average dry matter yield in the NR system over the period 2021–2025 reached 17.54 t.ha<sup>-1</sup>, which was significantly higher (p=0.05) than the yield in the control system (15.86 t.ha<sup>-1</sup>). The forage quality in the NR system was comparable to that in the control system. Based on these findings, it can be concluded that the NR technology provides a long-term increase in biomass yield of around 16 % in the given area and that the method of sowing corn has no effect on its feed value.

**Key words:** silage corn, narrow row system, yield, forage quality

### Úvod

Kukuřice setá má v České republice své nezastupitelné místo ve struktuře pěstovaných polních plodin. Je pravidelně zařazována v osevních postupech a po hustě setých obilninách patří k jedné z nejčastěji pěstovaných zemědělských komodit (CZSO 2023). Velký hospodářský význam má nejen z pohledu lidské výživy (Klopfenstein et al. 2013, Bagnall et al. 2021), ale také jako zdroj glycidového objemného krmiva ve výživě a krmení zvířat, zejména polygastrů (Kolver et al. 2001, Khan et al. 2015). V chovech s vysokou užitkovostí skotu to ale přináší enormní tlak na zabezpečení dostatku kvalitní objemné píce a jádra (Menšík and Nerušil 2019). Tento obtížný stav v zemědělských provozech navíc ještě v posledním desetiletí často

umocňuje výstavba a provoz bioplynových stanic s další potřebou minimálního množství rostlinné biomasy jako substrátu pro výrobu energie (Chodkowska-Miszczuk et al. 2020). Požadavky zemědělců na zabezpečení dostatečně vysoké produkce zrna a kukuřičné siláže se proto úměrně intenzifikaci výroby zvyšují, s čímž ovšem souvisí jak potřeba dostatku ploch vhodných pro její pěstování, tak i případné využití nových technologií a postupů (Menšík et al. 2018). Vzhledem k pokračující globální změně klimatu (GZK), která se projevuje v podobě oteplování a častějších výskytů sucha apod. s nepříznivými dopady na produkci i kvalitu tradičně pěstovaných plodin včetně kukuřice seté, se předpokládá (jsou již dostupná data), že každé zvýšení průměrné globální teploty o 1 °C snižuje výnosy kukuřice v průměru o 7,4 % (Olesen et al. 2011, O'Brien et al. 2021, Li et al. 2022). Produkce kukuřice na zeleno a siláž v minulosti měla, a v současné době stále má převažující využití jako základní zdroj objemné píče v krmných dávkách skotu, ale v posledních 10–15 let i jako substrát pro zemědělské bioplynové stanice. Současné vysoké teploty vzduchu, nerovnoměrně rozložené srážky a opakovaný výskyt period sucha v posledních 10-ti letech významně ovlivňují růst a vývoj kukuřice a vedou ke snížení výnosů nejen na území ČR (Hlavinka et al. 2009, Maitah et al. 2021), ale i ve světovém měřítku (van der Velde et al. 2012, Mangani et al. 2019). Proto je nezbytně nutné získávat nové informace jak o limitech tolerance kukuřice k suchu, tak i ve vztahu k hustotě porostů (Li et al. 2022) a organizaci setí /rozmístění rostlin v prostoru/ (Mackey et al. 2016, Lindsey et al. 2019). Cílem příspěvku je vyhodnotit produkční ukazatele a kvalitu píče na příkladu provozních pokusů v oblasti Boskovické brázdy při pěstování kukuřice seté v systému úzkých řádků (rozteč řádků 37,5 cm).

### **Materiál a metody**

Provozní pokusy s úzkořádkovou technologií (vzdálenost řádků 37,5 cm) pěstování silážní kukuřice byly založeny a hodnoceny v letech 2021–2025 v provozních podmínkách zemědělského podniku AGROSPOL a.d. Knínice, hospodařícího v řepařské výrobní oblasti v oblasti Boskovické brázdy (*Malé Hané*). Toto území se nachází v Jihomoravském kraji v okrese Blansko (cca 50 km severně od Brna), v nadmořské výšce od 340 do 550 m. Geologickým podložím zájmového území jsou kvarterní hlíny, spraše, písky a šterky. Další část je tvořena permokarbonskými horninami jako jsou pískovce, slepence a jílovce a okrajová nejmenší část je zastoupena tercierními písky a jíly ([www.geoport.cz](http://www.geoport.cz)). V zájmové oblasti rozeznáváme několik půdních typů: černozem luvická, černice glejová, hnědozem modální, luvizem glejová, šedozem modální, fluvizem glejová, kambizem modální, kambizem luvická, pararendzina kambická, pelozem karbonátová, glej modální, pseudoglej modální aj. (Němeček et al. 2011). Klimatický region dle Culka (1995) je mírně teplý, vlhký, nížinný. Podnebí v zájmové oblasti Malé Hané dle klasifikace (Quitt, 1971) můžeme v období 1961–2000 zařadit do kategorie mírně teplá /MT8–9/ (Štěpánová 2010). Úhrn srážek a průměrná teplota vzduchu ve vegetačním období 2021–2025, zjištěné pro zájmovou oblast v nejbližší klimatologické stanici ČHMÚ Ostrava, pobočka Jevíčko, jsou uvedeny v *tab. 1*.

Tab. 1: Úhrn srážek (mm) a průměrná teplota vzduchu (°C) ve vegetačním období 2021–2025).

Rok	Srážky / měsíc						Veget. období	Teplota / měsíc						Veget. období
	4.	5.	6.	7.	8.	9.		4.	5.	6.	7.	8.	9.	
2021	24,4	59,8	45,8	143,2	80,7	10,9	364,8	5,8	11,5	19,1	19,6	16,5	14,2	14,5
2022	28,8	72,4	62,8	53,8	141,9	61,0	420,7	6,9	14,5	19,0	19,0	19,4	12,0	15,1
2023	64,4	32,0	24,8	53,4	150,2	6,8	331,6	6,8	13,0	17,8	20,2	18,9	16,3	15,5
2024	18,5	70,6	114,8	45,2	49,0	183,8	481,9	10,2	15,0	18,6	20,5	20,5	15,2	16,7
2025	17,4	39,2	47,1	110,9	31,3	88,2	334,1	10,5	11,3	18,6	18,6	17,9	14,0	15,2
Normál	33,8	62,6	68,7	83,3	66,0	54,9	369,2	8,6	13,3	16,8	18,4	17,9	13,1	14,7

Pozn.: Vegetační období 1.4.–30.9.; normál (1991–2020). Zdroj: ČHMÚ Ostrava.

Kukuřice byla v jednotlivých ročnících vysévána do konvenčně připravené půdy ve druhé polovině dubna (použitý hybrid kukuřice: FAO 280; výsevek: 95 tis. klíčivých semen/ha; secí stroj: Kinze 3500; rozteč řádků: 75 cm /Kontrola/ a 37,5 cm /ÚŘ/). Velikost pokusných parcel byla cca 700 až 750 m<sup>2</sup> v závislosti na záběru secího (6 m u Kontroly /8 řádků /, resp. 5,625 m ÚŘ /15 řádků/) a jejich délce (125 m). Varianty pokusu byly v každém roce založeny ve čtyřech opakováních. Hnojení a ochrana rostlin byla prováděna dle normativů pro danou výrobní oblast a pěstovanou plodinu. Sklizeň silážní kukuřice byla provedena sklízecí rezačkou při sklizňové sušině 31–44 %. Hodnoceny byly produkční ukazatele (výška rostlin, výnos zelené a suché hmoty, výnos škrobu), u odebraných vzorků řezanky byla laboratorně stanovena sušina a pomocí NIR spektrometru (FOSS) stanovena kvalita píce v parametrech obsah škrobu, dusíkatých látek (NL), vlákniny, neutrodetergentní vlákniny (NDF) a stravitelnost organické hmoty /SOH24/ (Neružil et al. 2016). Statistické analýzy včetně grafických výstupů byly provedeny v programu STATISTICA ver. 14.0. K hodnocení bylo využito průzkumové analýzy vícerozměrných dat (EDA), ANOVA (HSD test) a faktorové analýzy /FA/ (Meloun and Miličský 2012). Statistická průkaznost byla posuzována na hladině významnosti  $p = 0,05$ .

## Výsledky

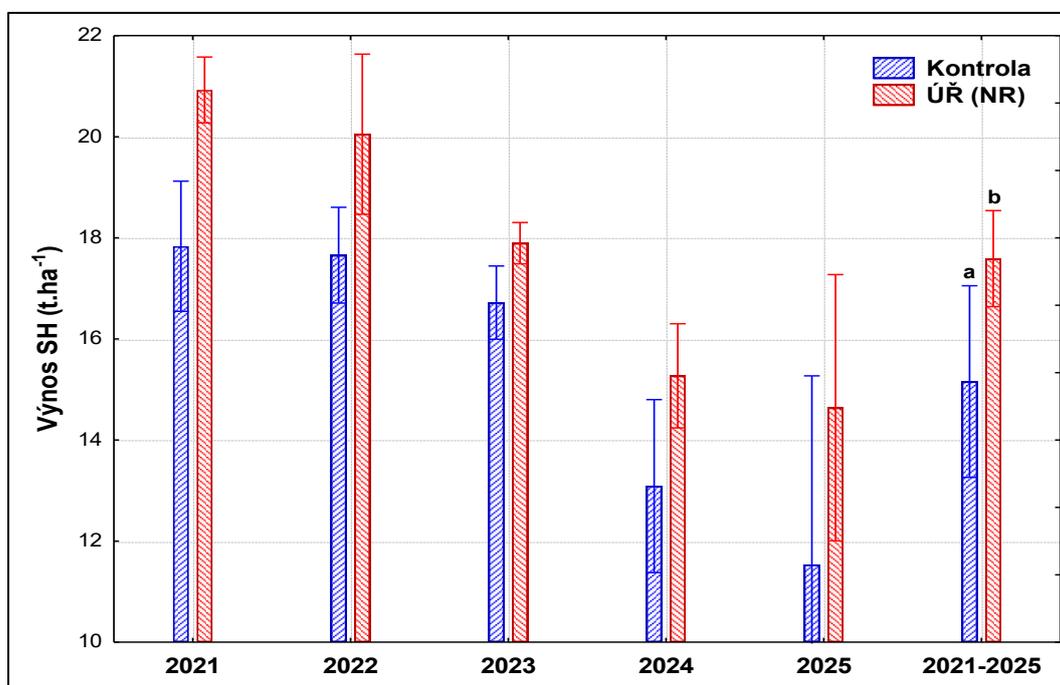
V posledním desetiletí zaznamenáváme v souvislosti s probíhající klimatickou změnou stále častěji extrémní projevy počasí (vysoké teploty vzduchu v letním období a výskyty period sucha), které výrazně ovlivňují produkci i kvalitu píce. Dopady uvedených anomálií ve vegetačním období ovlivnily výnosy silážní kukuřice pěstované úzkořádkovou technologií v provozních pokusech. Zatím co v letech 2021–2023 byly výnosy vyrovnané, v následujících dvou letech (2024–2025) došlo k poklesu hladiny produkce (tab. 2).

Tab. 2: Produkční ukazatele silážní kukuřice pěstované úzkořádkovou technologií v období 2021–2025.

Varianta	Rok	Výnos ZH		Výnos SH		Sušina		Výška		Výnos škrobu	
		<i>t.ha<sup>-1</sup></i>	<i>SD</i>	<i>t.ha<sup>-1</sup></i>	<i>SD</i>	%	<i>SD</i>	<i>m</i>	<i>SD</i>	<i>t.ha<sup>-1</sup></i>	<i>SD</i>
Kontrola	2021	55,67	1,98	17,83	0,81	32,04	0,99	3,51	0,03	5,78	0,13
Kontrola	2022	56,57	1,22	17,66	0,38	31,21	0,05	3,20	0,02	5,30	0,07
Kontrola	2023	51,60	1,88	16,72	0,46	32,41	0,34	2,27	0,04	5,31	0,28
Kontrola	2024	29,95	0,90	13,09	1,08	43,69	3,08	3,10	0,06	4,23	0,45
Kontrola	2025	33,74	6,95	11,53	2,35	34,19	0,42	2,92	0,03	3,78	0,73
<b>Kontrola</b>	<b>2021–2025</b>	<b>44,65<sup>a</sup></b>	<b>3,56</b>	<b>15,16<sup>a</sup></b>	<b>1,19</b>	<b>34,89<sup>a</sup></b>	<b>0,77</b>	<b>2,99<sup>a</sup></b>	<b>0,03</b>	<b>4,83<sup>a</sup></b>	<b>0,37</b>
ÚŘ (NR)	2021	63,23	1,68	20,92	0,41	33,10	0,76	3,55	0,09	6,50	0,12
ÚŘ (NR)	2022	62,97	1,50	20,05	0,64	31,84	0,40	3,32	0,01	6,61	0,10
ÚŘ (NR)	2023	56,26	0,27	17,89	0,26	31,81	0,55	2,25	0,03	5,47	0,25
ÚŘ (NR)	2024	33,17	1,54	15,27	0,65	46,12	3,05	3,30	0,03	4,59	0,31
ÚŘ (NR)	2025	42,20	4,07	14,64	1,66	34,65	1,11	2,96	0,11	4,33	0,60
<b>ÚŘ (NR)</b>	<b>2021–2025</b>	<b>50,81<sup>b</sup></b>	<b>2,11</b>	<b>17,59<sup>b</sup></b>	<b>0,60</b>	<b>35,72<sup>a</sup></b>	<b>0,74</b>	<b>3,06<sup>b</sup></b>	<b>0,05</b>	<b>5,42<sup>b</sup></b>	<b>0,26</b>

Pozn.: ÚŘ (NR) – úzký řádek (Narrow row), ZH – zelená hmota, SH – suchá hmota, SD – směrodatná odchylka, <sup>a,b</sup> – statistická významnost ( $p = 0,05$ )

Zejména v roce 2024 byly v červenci a srpnu zjištěny nadprůměrné měsíční teploty vzduchu a nedostatek srážek, což vedlo k předčasné termínu sklizně se sníženou úrovní výnosů jak v úzkořádkové technologii, tak i v širokořádkové kontrole. V roce 2025 byly výnosy částečně ovlivněny chybami secího stroje (porucha navigace) a dále poškozením porostu v důsledku škod způsobených zvěří (černá zvěř). Produkční ukazatele silážní kukuřice pěstované úzkořádkovou technologií v období 2021–2025 na pozemcích zemědělského podniku AGROSPOL, a.d. Knínice jsou uvedeny v tab. 2. Výnosy dosáhly v průměru pěti hodnocených let v Kontrolní variantě 15,16 t.ha<sup>-1</sup> suché hmoty, resp. 4,83 t.ha<sup>-1</sup> škrobu při průměrné sušině 34,89 %. V úzkořádkové technologii byly zjištěna produkce suché hmoty 17,59 t.ha<sup>-1</sup>, resp. 5,42 t.ha<sup>-1</sup> škrobu při průměrné sušině 35,72 %. Dosažená produkce suché hmoty ve variantě ÚŘ byla o 2,39 t.ha<sup>-1</sup> vyšší (16,3 %) oproti standardní širokořádkové technologii, což bylo statisticky významně více ( $p=0,05$ ), než u širokořádkové Kontroly (viz obr. 1). Obdobně významné zvýšení (o 0,59 t.ha<sup>-1</sup> /12 %/) bylo rovněž dosaženo ve výnosu škrobu u varianty s ÚŘ. Dále bylo zjištěno, že rostliny kukuřice v porostech úzkořádku měly v průměru pěti hodnocených let o 7 cm větší výšku (statisticky významný rozdíl).



Pozn.: ÚŘ (NR) – úzký řádek (Narrow row), SH – suchá hmota, <sup>a,b</sup> – statistická významnost ( $p = 0,05$ )

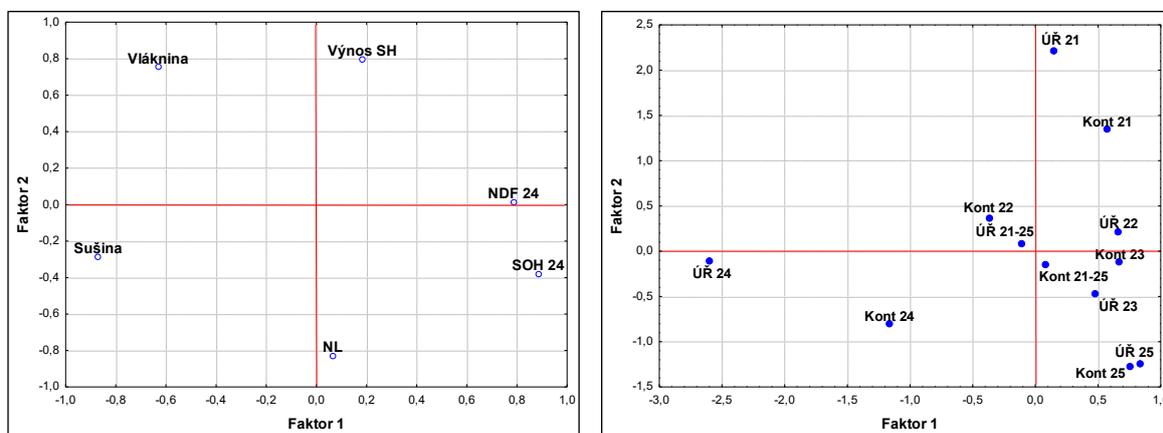
Obr. 1: Výnos suché hmoty silážní kukuřice pěstované úzkořádkovou technologií v období 2021–2025.

Kvalita píče řezanky silážní kukuřice byla v průměru období 2021–2025 v systému ÚŘ u tří z pěti hodnocených parametrů srovnatelná s Kontrolou (viz. tab. 3). V případě obsahu škrobu a parametru SOH 24 byl zjištěn v úzkém řádku pokles hodnot (ca o 1 % méně škrobu a 1,4 % nižší stravitelnost organické hmoty). Pro komplexní vyhodnocení výnosových parametrů (výnos SH, sušina) a kvality píče (NL, vláknina, NDF apod.) byla použita vícerozměrná analýza dat (faktorová analýza /FA/) – viz obr. 2 a tab. 3. Faktor 1 popisuje jednoznačně vlastnosti z pohledu parametrů Sušina, SOH24 a NDF24; Faktor 2 popisuje jednoznačně obsah NL, vlákniny a výnos SH – viz obr. 2, vlevo. Na rozptylovém diagramu komponentního skóre – viz obr. 2, vpravo se obdobně diferencovaly shluky variant (Kontrola, ÚŘ) v jednotlivých letech.

Tab. 3: Vybrané parametry kvality píce silážní kukuřice pěstované úzkořádkovou technologií v období 2021–2025.

Varianta	Rok	Škrob		NL		Vláknina		NDF		SOH 24	
		%	SD	%	SD	%	SD	%	SD	%	SD
Kontrola	2021	32,45	1,43	7,41	0,37	21,97	1,38	46,21	2,13	68,25	1,40
Kontrola	2022	30,00	0,27	8,37	0,13	21,32	0,92	47,36	1,41	66,28	0,75
Kontrola	2023	31,78	1,47	8,14	0,85	18,90	1,28	44,30	2,58	70,13	0,49
Kontrola	2024	32,28	0,98	8,23	0,34	20,79	1,81	43,75	4,62	66,67	2,02
Kontrola	2025	32,86	0,81	8,45	0,62	18,07	1,54	44,09	3,06	70,15	4,05
<b>Kontrola</b>	<b>2021–2025</b>	<b>31,88<sup>a</sup></b>	<b>0,18</b>	<b>8,13<sup>a</sup></b>	<b>0,07</b>	<b>20,14<sup>a</sup></b>	<b>0,34</b>	<b>45,09<sup>a</sup></b>	<b>1,04</b>	<b>68,29<sup>a</sup></b>	<b>1,01</b>
ÚŘ (NR)	2021	31,09	0,96	7,23	0,42	22,93	1,22	50,86	5,25	64,87	1,04
ÚŘ (NR)	2022	32,98	0,55	8,50	0,37	19,45	1,29	44,25	1,27	69,58	1,36
ÚŘ (NR)	2023	30,59	1,39	8,94	0,28	19,00	1,27	45,24	1,63	68,16	1,29
ÚŘ (NR)	2024	30,06	0,86	8,23	0,50	22,88	0,62	48,68	1,91	61,29	0,69
ÚŘ (NR)	2025	29,57	1,66	8,76	0,35	17,21	0,77	43,39	1,52	70,10	1,80
<b>ÚŘ (NR)</b>	<b>2021–2025</b>	<b>30,82<sup>b</sup></b>	<b>0,29</b>	<b>8,34<sup>a</sup></b>	<b>0,15</b>	<b>20,34<sup>a</sup></b>	<b>0,26</b>	<b>46,60<sup>a</sup></b>	<b>1,09</b>	<b>66,87<sup>b</sup></b>	<b>0,54</b>

Pozn.: ÚŘ (NR) – úzký řádek (Narrow row), NL – dusikáté látky, NDF – neutrodetergentní vláknina, SOH – stravitelnost organické hmoty, SD – směrodatná odchylka, <sup>a,b</sup> – statistická významnost ( $p = 0,05$ )



Pozn.: SH – suchá hmota, NL – dusikáté látky, NDF – neutrodetergentní vláknina, SOH – stravitelnost organické hmoty, ÚŘ – úzký řádek (Narrow row), Kont – kontrola, 21, 22, 23, 24, 25 – rok

Obr. 2: Faktorová analýza parametrů (výnos, kvalita píce) silážní kukuřice pěstované úzkořádkovou technologií v období 2021–2025 (AGROSPOL, a.d. Knínice, provozní pokusy).

Tab. 3: Faktorové váhy a příspěvky daného faktoru do komunity pro jednotlivé znaky po rotaci Varimax normalizovaný u silážní kukuřice pěstované úzkořádkovou technologií v období 2021–2025 (AGROSPOL, a.d. Knínice, provozní pokusy).

Parametr	Faktorové váhy		Příspěvky daného faktoru do komunity		
	Faktor 1	Faktor 2	Faktor 1	Faktor 2	Komunalita
Výnos SH (t.ha <sup>-1</sup> )	0,1848	0,7966	0,0341	0,6687	0,6646
Sušina (%)	-0,8704	-0,2870	0,7577	0,8400	0,7940
NL (%)	0,0658	-0,8289	0,0043	0,6914	0,8987
Vláknina (%)	-0,6306	0,7537	0,3976	0,9656	0,9597
SOH 24 (%)	0,8851	-0,3795	0,7833	0,9274	0,9208
NDF 24 (%)	0,7866	0,0116	0,6188	0,6189	0,7588

Pozn.: SH – suchá hmota, NL – dusikáté látky, NDF – neutrodetergentní vláknina, SOH – stravitelnost organické hmoty

Ve většině jednotlivých let (kromě roku 2024, významně vyšší obsah sušiny – viz *tab. 1*) a v období 2021–2025 jsou si varianty /shluky/ (Kontrola a ÚŘ) podobné (blízko u sebe – varianty se od sebe významně neliší převážně v kvalitativních parametrech – viz *tab. 3*, vysoká komunalita /kvalita píce převládá nad parametrem výnos SH/, výnos SH je ve variantě ÚŘ vždy vyšší v jednotlivých letech, ale i v celém období – viz *tab. 2* a *obr. 1*). Komunalita představuje podíl proměnlivosti znaku vyjádřený dotyčnými faktory. Je obdobná hodnotě  $R^2$ , kterou obdržíme v případě, když se budou původní znaky vysvětlovat pomocí regrese vybranými faktory (Meloun et al. 2018). Z tabulky je patrné, že komunalita nabývá vysokých hodnot (0,66–0,96), a tím jsou znaky všech hodnot dobře započteny navrženým faktorovým modelem. Na základě výsledků FA lze konstatovat, že technologie ÚŘ poskytuje v dané oblasti dlouhodobě vyšší výnosy biomasy a způsob setí kukuřice nemá vliv na její krmnou hodnotu (kvalitu píce).

## Diskuze

V intenzivních podmínkách zemědělské výroby je cílem pěstitelů dosahovat co nejvyšších výnosů při splnění náročných požadavků na vysokou kvalitu píce (Iptas and Acar 2006, Yerli et al. 2023). Mezi faktory, které významně ovlivňují produkci hmoty (výnos zelené, resp. suché hmoty) kukuřice, je hustota porostu a vzdálenost mezi řádky (Cox and Cherney 2002, Sharratt and McWilliams 2005, Noland et al. 2025). Tyto podmínky splňuje inovovaná úzkořádková technologie pěstování kukuřice, která našla své široké uplatnění zejména ve středozápadní části USA, označované jako kukuřičný pás, angl. „corn belt“ (Widdicombe and Thelen 2002). Zjištěné výsledky vyšších výnosů a srovnatelné kvality píce kukuřice seté pěstované systémem úzkých řádků (37,5 cm) ve srovnání se standardní technologií (75 cm) jsou v souladu s celou řadou výzkumných prací (Shibles et al. 1966, Demmel et al. 1999, Cox and Cherney 2002, Fuksa et al. 2023, Singh et al. 2023, Noland et al. 2025, Hamoda and Dabbour 2025). V pěstebních podmínkách ČR širšímu uplatnění úzkořádkové technologie (37,5 cm) dosud brání poměrně konzervativní přístup managementu zemědělských podniků, jehož pracovníci vidí jistotu produkce spíše v tradiční širokořádkové technologii. Současný pokrok v oblasti precizního zemědělství (Cheng et al. 2023) a zvyšování efektivity produkce směřuje dynamicky dopředu a v tlaku konkurenčního prostředí je zcela nezbytné sledovat a využívat nové trendy (Gabriel and Gandorfer 2023).

## Závěr

Z výsledků provozních pokusů se silážní kukuřicí dosažených v období 2021–2025 je patrné, že porosty u technologie úzkého řádku s rovnoměrným prostorovým uspořádáním rostlin lépe využívající světelné podmínky a vláhu, zvyšují výnos suché hmoty silážní kukuřice v průměru o 2,39 t.ha<sup>-1</sup> oproti standardní širokořádkové technologii. Průměrný výnos řezanky suché hmoty za období 2021–2025 v systému ÚŘ dosáhl 17,54 t.ha<sup>-1</sup> a byl významně vyšší ( $p=0,05$ ) oproti Kontrolě (15,86 t.ha<sup>-1</sup>). Kvalita píce v systému ÚŘ byla srovnatelná s Kontrolou. Na základě výsledků lze konstatovat, že technologie ÚŘ poskytuje v dané oblasti dlouhodobě o ca 16 % vyšší výnosy biomasy a způsob setí kukuřice nemá výrazný vliv na její krmnou hodnotu.

## Literatura

- Bagnall, D. K., J. F. Shanahan, A. Flanders, C. L. S. Morgan, and C. W. Honeycutt. 2021. Soil health considerations for global food security. *Agronomy Journal* 113(6):4581–4589.
- Cheng, D., Y. Yao, R. Liu, X. Li, B. Guan, and F. Yu. 2023. Precision agriculture management based on a surrogate model assisted multiobjective algorithmic framework. *Scientific Reports* 13(1):1–17.
- Chodkowska-Miszczuk, J., S. Martinat, M. Kulla, and L. Novotný. 2020. Renewables projects in peripheries: determinants, challenges and perspectives of biogas plants – insights from Central European countries. *Regional Studies, Regional Science* 7(1):362–381.

- Cox, W. J., and D. J. R. Cherney. 2002. Evaluation of Narrow-Row Corn Forage in Field-Scale Studies. *Agronomy Journal* 94(2):321.
- Culek, M. 1995. Biogeografické členění České republiky. Praha: Enigma.
- CZSO. 2023. Vývoj ploch, hektarových výnosů a sklizní zemědělských plodin - Sklizňová/osevní plocha, hektarový výnos, sklizeň. [https://vdb.czso.cz/vdbvo2/faces/cs/index.jsf?page=vystup-objekt&pvo=ZEM02G&z=T&f=TABULKA&skupId=386&katalog=30840&pvo=ZEM02G&evo=v1442 !\\_ZEM02G-celek\\_1#w=.](https://vdb.czso.cz/vdbvo2/faces/cs/index.jsf?page=vystup-objekt&pvo=ZEM02G&z=T&f=TABULKA&skupId=386&katalog=30840&pvo=ZEM02G&evo=v1442 !_ZEM02G-celek_1#w=)
- Demmel, M., H. Auernhammer, G. Kormann, and M. Peterreins. 1999. First Results of Investigations with Narrow Row Equal Space Planting of Corn for Silage. *In ASAE/CSAE-SCGR Annual International Meeting*, 1–10. Toronto: ASAE/CSAE.
- Fuksa, P., Z. Hrevušová, O. Szabó, and J. Hakl. 2023. Effect of Row Spacing and Plant Density on Silage Maize Growth, Dry Matter Distribution and Yield. *Agronomy* 13(4).
- Gabriel, A., and M. Gandorfer. 2023. Adoption of digital technologies in agriculture—an inventory in a European small-scale farming region. *Precision Agriculture* 24(1):68–91.
- Hamoda, A., and M. Dabbour. 2025. Optimizing corn productivity: Hybrid and intra-row spacing effects on growth, yield, and nutritional quality. *Scientific Reports* 15(1).
- Hlavinka, P., M. Trnka, D. Semerádová, M. Dubrovský, Z. Žalud, and M. Možný. 2009. Effect of drought on yield variability of key crops in Czech Republic. *Agricultural and Forest Meteorology* 149(3–4):431–442.
- Iptas, S., and A. A. Acar. 2006. Effects of hybrid and row spacing on maize forage yield and quality. *Plant, Soil and Environment* 52(11):515–522.
- Khan, N. A., P. Yu, M. Ali, J. W. Cone, and W. H. Hendriks. 2015. Nutritive value of maize silage in relation to dairy cow performance and milk quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 95(2):238–252.
- Klopfenstein, T. J., G. E. Erickson, and L. L. Berger. 2013. Maize is a critically important source of food, feed, energy and forage in the USA. *Field Crops Research* 153 (2013):5–11.
- Kolver, E. S., J. R. Roche, D. Miller, and R. Densley. 2001. Maize silage for dairy cows. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association* (2001):195–201.
- Li, Y. C., H. Y. Dai, and H. Chen. 2022. Effects of plant density on the aboveground dry matter and radiation-use efficiency of field corn. *PLoS ONE* 17(11 November):1–15.
- Lindsey, A. J., P. R. Thomison, K. Reese, A. B. Geyer, A. Ritchie, S. Banks, and M. Ogando do Granja. 2019. Does Narrow-Row Corn Production Influence Plants' Response to Foliar Inputs? *Crop, Forage & Turfgrass Management* 5(1):190039.
- Mackey, G. L., J. M. Orłowski, J. Baniszewski, and C. D. Lee. 2016. Corn Response to Row Spacing and Seeding Rate Varies by Hybrid and Environment in Kentucky. *Crop, Forage & Turfgrass Management* 2(1):1–8.
- Maitah, M., K. Malec, and K. Maitah. 2021. Influence of precipitation and temperature on maize production in the Czech Republic from 2002 to 2019. *Scientific Reports* 11(1):1–11.
- Mangani, R., E. H. Tesfamariam, C. J. Engelbrecht, G. Bellocchi, A. Hassen, and T. Mangani. 2019. Correction to: Potential impacts of extreme weather events in main maize (*Zea mays* L.) producing areas of South Africa under rainfed conditions. *Regional Environmental Change* 19(5):1453–1454.
- Meloun, M., and J. Militký. 2012. Interaktivní statistická analýza dat. 1. vydání. Praha: Nakladatelství Karolinum.
- Meloun, M., J. Militký, and M. Hill. 2018. Statistická analýza vícerozměrných dat v příkladech. 1. vydání. Praha: Nakladatelství Karolinum.
- Mensík, L., D. Kincl, P. Nerušil, J. Srbek, D. Kabelka, M. Herout, M. Jurka, A. Šedek, T. Horký, and M. Vach. 2018. Pěstování kukuřice seté půdoochrannými technologiemi. Příkladová studie Boskovická Brázda a Středočeská Pahorkatina. Praha: Výzkumný ústav rostlinné

- výroby, v.v.i., Praha 6 - Ruzyně.
- Menšík, L., and P. Nerušil. 2019. Production, qualitative and stand changes of permanent grassland in relation to the intensity of utilization and fertilization level in the Malá Haná region. Praha: Crop Research Institute, Praha 6 - Ruzyně.
- Němeček, J., M. Mühlhanslová, J. Macků, D. Vavříček, and P. Novák. 2011. Taxonomický klasifikační systém půd. Taxonomický Klasifikační Systém Půd České Republiky 2. upraven. Praha: ČZU v Praze.
- Nerušil, P., L. Menšík, and V. Jambor. 2016. Využití blízké infračervené spektroskopie ke stanovení výživné hodnoty hybridů kukuřice, určených k výrobě kukuřičné siláže. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha – Ruzyně.
- Noland, R., M. Dowdy, and G. Harris. 2025. Maize Row Spacing and Seeding Rate Informed by Space-per-Plant Geometry. *Agronomy* 15(2).
- O'Brien, P., K. Kral-O'Brien, and J. L. Hatfield. 2021. Agronomic approach to understanding climate change and food security. *Agronomy Journal* 113(6):4616–4626.
- Olesen, J. E., M. Trnka, K. C. Kersebaum, A. O. Skjelvåg, B. Seguin, P. Peltonen-Sainio, F. Rossi, J. Kozyra, and F. Micale. 2011. Impacts and adaptation of European crop production systems to climate change. *European Journal of Agronomy* 34(2):96–112.
- Quitt, E. 1971. Klimatické oblasti Československa. *Studia Geographica*. Brno: GgÚ ČSAV.
- Sharratt, B. S., and D. A. McWilliams. 2005. Microclimatic and rooting characteristics of narrow-row versus conventional-row corn. *Agronomy Journal* 97(4):1129–1135.
- Shibles, R. M., W. G. Lovely, and H. E. Thompson. 1966. For corn and soybeans, narrow rows. *Iowa Farm Sci. Shibles*, R(20):3–6.
- Singh, M., R. Thapa, N. Singh, S. B. Mirsky, B. S. Acharya, and A. J. Jhala. 2023, November 20. Does narrow row spacing suppress weeds and increase yields in corn and soybean? A meta-analysis. Cambridge University Press.
- Štěpánová, M. 2010. Mapy podnebí Česka v prostředí Google maps. Univerzita Palackého v Olomouci.
- van der Velde, M., F. N. Tubiello, A. Vrieling, and F. Bouraoui. 2012. Impacts of extreme weather on wheat and maize in France: evaluating regional crop simulations against observed data. *Climatic Change* 113(3–4):751–765.
- Widdicombe, W. D., and K. D. Thelen. 2002. Row width and plant density effects on corn grain production in the northern Corn Belt. *Agronomy Journal* 94(5):1020–1023.
- Yerli, C., U. Sahin, S. Ors, and F. M. Kiziloglu. 2023. Improvement of water and crop productivity of silage maize by irrigation with different levels of recycled wastewater under conventional and zero tillage conditions. *Agricultural Water Management* 277(December 2022).

### **Poděkování**

Příspěvek byl zpracován s institucionální podporou MZe RO0425 a projektu NAZV QL24010237.

### **Kontaktní adresa**

Ladislav Menšík, Ing., Ph.D.

Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i., Odbor systémů hospodaření na půdě, VS Jevíčko

Drnovská 507/73, 161 00 Praha – Ruzyně, Česká republika

ladislav.mensik@carc.cz, +420 461 327 814

## Obsah živin v travinobylinných společenstvech při obnovené pastvě hospodářských zvířat

Nutrient content in of grass-herb communities under renewed livestock grazing

<sup>1,2</sup>Mrázková M., <sup>3</sup>Bjelková M.

<sup>1</sup>Agritec Plant Research s.r.o., <sup>2</sup>Agrovýzkum Rapotín s.r.o.,

<sup>3</sup>AGRITEC, výzkum, šlechtění a služby, s.r.o.

### Abstrakt

Cílem studie bylo vyhodnotit kvalitu porostů vyskytujících se na třech lokalitách v NPR Praděd, kde byla obnovena pastva hospodářských zvířat po dlouhodobě ukončeném hospodaření. Naše zjištění poukazují na celkově nízkou výživnou hodnotu porostu na lokalitách Švýcárna, Ovčárna i Praděd. Z výsledků vyplynulo, že tři sledované lokality se od sebe významně lišily v koncentraci N-látek, a to tak, že nejvyšší kvalitu píce z tohoto hlediska vykazovala lokalita Ovčárna, která se vyznačovala poněkud odlišným botanickým složením. Smilka tuhá a brusnice borůvka se projevily být jako druhy s podřadnou krmnou hodnotou. K druhům s nejpříznivější výživnou hodnotou patřila bika lesní. Koncentrace sledovaných těžkých kovů (Cd, Pb a Zn) v píci byly zanedbatelné a nepředstavovaly pro zvířata dietetické riziko.

**Klíčová slova:** kvalita píce, travní porosty, ochrana přírody, obnovená pastva, biodiverzita

### Abstract

The aim of this study was to evaluate the vegetation quality at three sites within the Praděd National Nature Reserve, where livestock grazing has been reintroduced following a long-term cessation of agricultural management. Our findings indicate an overall low nutritional value of the vegetation at the Švýcárna, Ovčárna, and Praděd sites. The results showed significant differences in nitrogen content among the three studied sites, with the highest forage quality observed at Ovčárna, which also exhibited a somewhat distinct botanical composition. *Nardus stricta* and *Vaccinium myrtillus* were identified as species with low forage value, whereas *Luzula luzuloides* was among the species with the most favorable nutritional characteristics. The concentrations of the monitored heavy metals (Cd, Pb, and Zn) in the forage were negligible and did not pose a dietary risk to livestock.

**Keywords:** forage quality, grasslands, nature conservation, renewed grazing, biodiversity

### Úvod

Jak dokládají studie řady autorů (např. Dullinger *et al.*, 2003; Isselstein *et al.*, 2005; Prévosto *et al.*, 2011), ústup od hospodaření na polopřirozených travních porostech představuje z hlediska zachování jejich druhové diverzity značné riziko. Řada současných českých i zahraničních studií se z výše uvedeného důvodu věnuje významu pastvy hospodářských zvířat právě pro údržbu cenných travních společenstev, a to nejen v horských oblastech, ale i v oblastech nižších poloh, kde mají mnohé travní porosty (především v chráněných územích) rovněž zvláštní ekologický význam. Podrobnou recenzi pastvy, jakožto prostředku k zachování biodiverzity travních porostů provedl např. Metera *et al.* (2010). Z českých autorů se uvedenou problematikou zabývali např. Mládek *et al.* (2006), Veselý *et al.* (2012) aj.

Ve vrcholových partiích Hrubého Jeseníku bylo po 2. světové válce definitivně ukončeno pastevní hospodaření (Bureš, 2013). V současnosti je na mnoha místech zaznamenáno značné rozšíření expanzivních druhů, např. brusnice borůvka, bika lesní aj., jež místy tvoří rozsáhlá společenstva vytlačující unikátní flóru Hrubého Jeseníku. Často je výskyt vzácných druhů rostlin vázán na biotopy původně ovlivňované pastvou. Z důvodu snahy o zachování druhové diverzity Hrubého Jeseníku bylo proto za podpory AOPK ČR – RP Olomoucko, oddělení Správa CHKO Jeseníky v roce 2012 přistoupeno nejprve k experimentálnímu obnovení pastvy skotu v okolí chaty Švýcárna (Obr. 1), později v roce 2014 také k obnovení pastvy ovcí v okolí chaty Ovčárna. V letech 2018-2025 byla realizována pastva skotu, resp.

později smíšená pastva skotu a koní, přímo na úbočí Pradědu. Hlavním účelem obnovené pastvy bylo posílení mimoprodukčních funkcí travních společenstev (zvláště druhové diverzity), přesto nelze opomíjet ani využití jejich funkce produkční, která úzce souvisí se zajištěním adekvátní výživy pasených zvířat. Cílem tohoto příspěvku proto bylo hodnocení kvality píce na třech lokalitách v NPR Praděd s obnovenou pastvou hospodářských zvířat.

### **Materiál a metody**

Výzkum byl proveden na horských lokalitách v okolí turistických chat Švýčárna a Ovčárna, a dále na úbočí Pradědu. Na blízkém Pradědu (1 491 m n.m.) je průměrná roční teplota 0,9 °C a roční úhrn srážek 1 231 mm.

Rostlinné vzorky směsí, v nichž hlavní podíl představovaly druhy dominující na vymezených trvalých plochách lokalit Švýčárna, Ovčárna a Praděd, byly odebírány v roce 2022 třikrát během vegetačního období (červen, srpen a září) za účelem zjištění kvality porostů. Vzorky byly sušeny při 65 °C, následně pomlety na laboratorním mlýnku (Retsch, Něm.) s velikostí oka sítky 1 mm a připraveny pro další laboratorní stanovení. V Agrovýzkumu Rapotín s.r.o. byl metodou Weendeské analýzy proveden základní organický rozbor (NL = N-látky, T = tuk, Vlák = vláknina a Pop = popeloviny; v g/kg sušiny píce), a to podle České státní normy ČSN 46 7092 „Metody zkoušení krmiv“. Obsah bezdusíkatých látek výťažkových (BNLV) byl zjišťován dopočtem podle rovnice:  $BNLV \text{ (g/kg suš.)} = 1000 - (NL + T + \text{Vlák} + \text{Pop})$ . Analyzovány byly také koncentrace základních **makroprvků** (Ca, Mg, P, K, Na) a některých **mikroprvků**, resp. potenciálně rizikových prvků (Zn, Cd, Pb). Stanovení makroprvků (Ca, Mg, K, Na), a dále mikroprvku Zn bylo provedeno s využitím techniky AAS s plamenovou atomizací; P byl stanoven spektrofotometricky, Cd a Pb bylo analyzováno pomocí metody AAS s elektrotermickou atomizací (AAS-ETA).

Data byla statisticky zpracována s využitím programu STATISTICA 10 (StatSoft, 2011) a byla vyhodnocena pomocí statistických metod ANOVA, Tukey HSD test.

### **Výsledky**

V tabulce 1 jsou uvedeny průměrné hodnoty obsahů živin u porostů odebíraných z lokalit Švýčárna, Ovčárna a Praděd v roce 2022 se statistickou analýzou rozdílů, přičemž hodnoceny byly faktory: „lokalita“, „dominantní druh v porostu“ a „termín odběru“.

Z výsledků v tabulce 1 je zřejmé, že tři sledované lokality se od sebe významně lišily ( $P < 0,05$ ) pouze v koncentraci N-látek, a to tak, že nejvyšší kvalitu píce z tohoto hlediska vykazovala lokalita Ovčárna (136,3 g/kg suš. N-látek). Přestože rozdíly mezi lokalitami v dalších parametrech kvality píce nebyly statisticky významné, lokalita Ovčárna se vyznačovala o něco nižší koncentrací vlákniny (346,2 g/kg suš.) a vyšší koncentrací dalších živin (tuk, Mg, P, K). Píce z lokality Ovčárna však obsahovala také více potenciálně rizikových prvků (Pb, Cd a Zn).

Dále byl statisticky hodnocen faktor „dominantní druh ve vzorku“. Bylo zjištěno, že tento faktor byl významný ( $P < 0,05$ ) z hlediska koncentrací: popela, N-látek, Ca, Mg, K, Pb a Zn. Smilka tuhá a brusnice borůvka se z tohoto hlediska projevíly být jako druhy s podřadnou krmnou hodnotou. Především ve smilce tuhé byla zjištěna nízká koncentrace živin (93,2 g/kg suš. N-látek; 0,76 g/kg suš. Ca; 0,82 g/kg suš. Mg; 6,63 g/kg suš. K ...) a poměrně vysoká průměrná koncentrace vlákniny (383 g/kg suš. vlák.). Smilka tuhá obsahovala významně více olova ( $P < 0,05$ ) než ostatní dominantní druhy (2,01 mg/kg suš. Pb). Přestože brusnice borůvka se vyznačovala celkově nižší kvalitou píce, především co se týče koncentrace N-látek (92,6 g/kg suš. N-látek), vyznačovala se významně vyšší ( $P < 0,05$ ) koncentrací vápníku (viz Obr. 1) oproti ostatním druhům (2,33 g/kg suš. Ca). K druhům s nejpříznivější výživnou hodnotou patřila bika lesní. Obsahovala 121,5 g/kg suš. N-látek, 347,6 g/kg suš. vlákniny, a dále nejvyšší koncentraci hořčíku (1,72 g/kg suš. Mg; viz Obr. 2), draslíku (13,96 g/kg suš. K) a zinku (57,97 mg/kg Zn).

Byla v ní však zjištěna také nejvyšší koncentrace kadmia (0,57 mg/kg suš. Cd). Smilka tuhá zase významně nejvíce kumulovala ve své pící olovo (2,01 mg/kg suš. Pb).

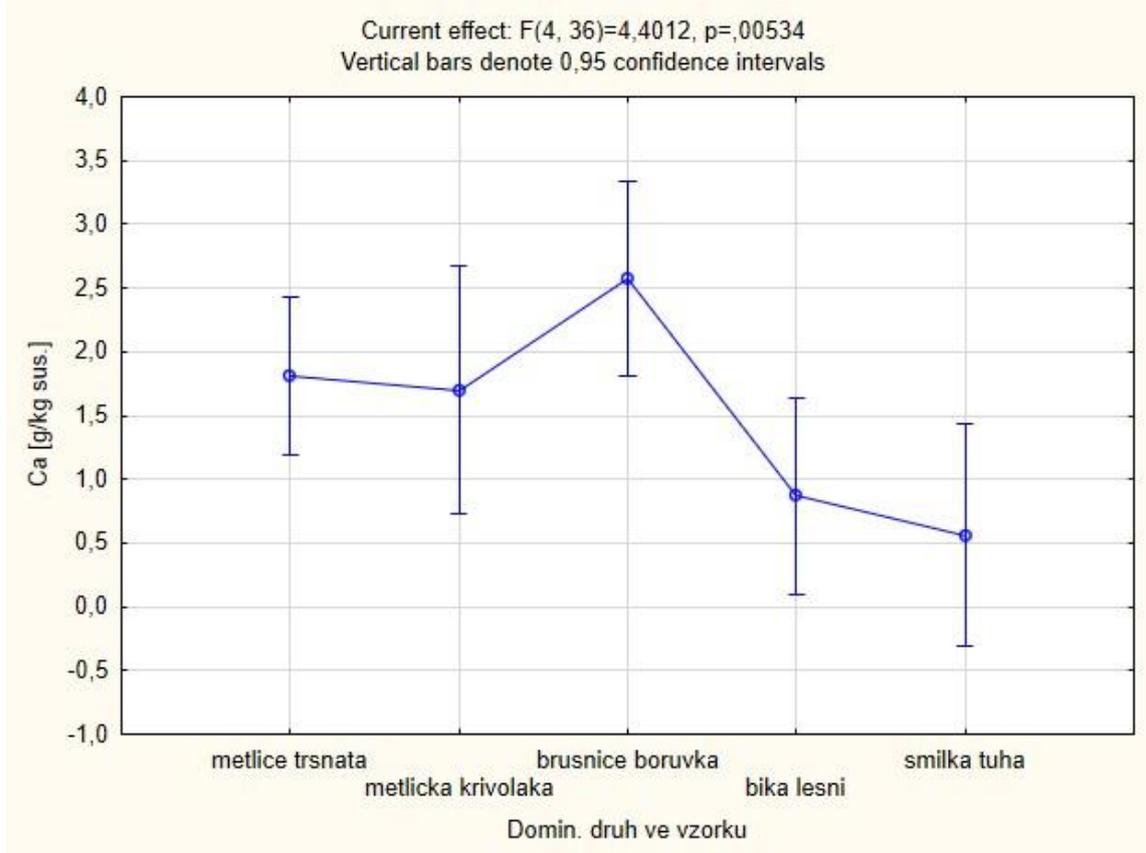
Podíváme-li se blíže na rozdíly z hlediska „termínu odběru“, vidíme, že koncentrace N-látek v porostech byla nejvyšší ( $P < 0,05$ ) v měsíci červnu (138,9 g/kg suš.), a během vegetačního období se snižovala na úroveň 84,9 g/kg suš. (v srpnu), resp. 95,7 g/kg suš. (v září). V červnu byla významně vyšší ( $P < 0,05$ ) také koncentrace dalších živin: fosforu, draslíku, sodíku, ale také olova. Naopak zvyšovala se koncentrace vápníku a hořčíku. Zajímavé zjištění bylo v roce 2022 z hlediska koncentrace vlákniny, která se během vegetačního období nesnižovala, ale naopak mírně zvyšovala. Může to být dáno tím, že v červnu byly odebrány vzorky s obsahem stařiny z minulého roku. Během vegetace vlivem spásání stařiny v porostech ubývalo, což vedlo i k úbytku vlákniny v odebraných vzorcích píce.

**Tab. 1 Obsah živin a potenciálně rizikových prvků v porostech na lokalitách Švýcárna, Ovčárna a Praděd s obnovenou pastvou hospodářských zvířat.**

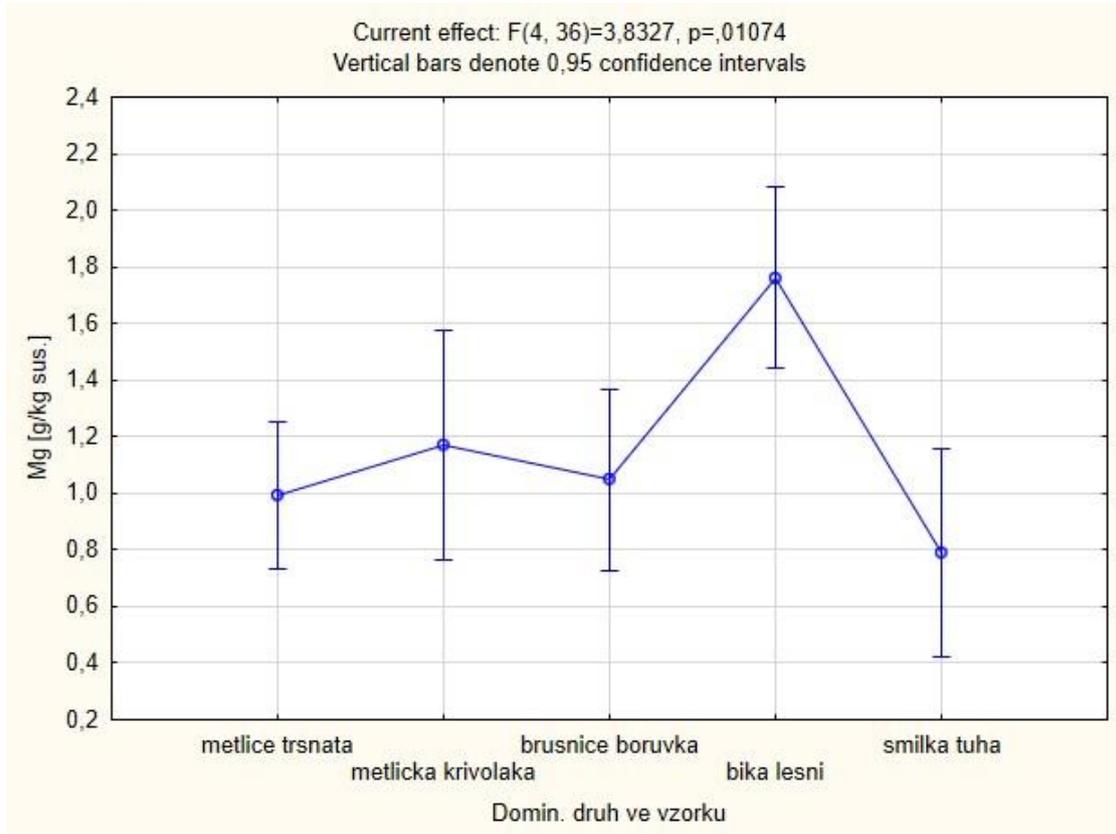
n=45	Popel	Vlák.	N-látky	Tuk	BNLV	Ca	Mg	P	K	Na	Pb	Cd	Zn
	[g/kg suš.]	[g/kg suš.]	[g/kg suš.]	[g/kg suš.]	[g/kg suš.]	[g/kg suš.]	[g/kg suš.]	[g/kg suš.]	[g/kg suš.]	mg/kg suš.	mg/kg suš.	mg/kg suš.	mg/kg suš.
<b>Průměry - Lokalita</b>													
Ovčárna	52,3	346,2	136,3 <sup>a</sup>	32,17	434,5	1,13	1,68	1,67	14,60	29,05	1,54	0,59	53,88
Švýcárna	45,9	375,2	99,5 <sup>b</sup>	25,58	454,1	1,63	1,08	1,23	9,89	23,08	1,23	0,23	45,93
Praděd	43,9	371,4	104,7 <sup>b</sup>	27,05	452,3	1,57	1,12	1,33	9,60	26,06	1,15	0,18	47,89
<b>Průměry - Domin. druh ve vzorku</b>													
metlice trsnatá	50,1 <sup>a</sup>	373,7	111,6 <sup>a</sup>	24,77	438,8	1,75 <sup>ab</sup>	1,03 <sup>a</sup>	1,33	11,65 <sup>a</sup>	25,54	0,68 <sup>a</sup>	0,21	44,14 <sup>ab</sup>
metlička krivolaká	44,4 <sup>b</sup>	376,7	105,3 <sup>a</sup>	27,46	447,1	1,24 <sup>ab</sup>	1,22 <sup>a</sup>	1,24	9,83 <sup>ab</sup>	26,46	1,38 <sup>a</sup>	0,20	55,49 <sup>a</sup>
smilka tuhá	41,5 <sup>b</sup>	383,0	93,2 <sup>b</sup>	25,21	457,4	0,76 <sup>a</sup>	0,82 <sup>a</sup>	1,08	6,63 <sup>b</sup>	19,42	2,01 <sup>b</sup>	0,15	44,56 <sup>ab</sup>
bíka lesní	49,4 <sup>b</sup>	347,6	121,5 <sup>a</sup>	30,14	451,8	1,11 <sup>ab</sup>	1,72 <sup>b</sup>	1,47	13,96 <sup>a</sup>	26,85	1,77 <sup>b</sup>	0,57	57,97 <sup>a</sup>
brusnice borůvka	39,5 <sup>b</sup>	372,2	92,6 <sup>b</sup>	28,70	467,6	2,33 <sup>b</sup>	1,09 <sup>a</sup>	1,40	7,67 <sup>ab</sup>	25,33	1,04 <sup>a</sup>	0,13	40,65 <sup>b</sup>
<b>Průměry - Termín odběru</b>													
červen	46,3	403,9 <sup>a</sup>	138,9 <sup>a</sup>	29,15 <sup>a</sup>	382,3 <sup>b</sup>	1,41	1,14	1,63 <sup>a</sup>	12,96 <sup>a</sup>	43,47 <sup>a</sup>	1,62 <sup>a</sup>	0,21	51,44
srpen	46,1	370,4 <sup>b</sup>	84,9 <sup>b</sup>	24,24 <sup>b</sup>	474,2 <sup>b</sup>	1,27	1,12	1,10 <sup>b</sup>	9,07 <sup>b</sup>	13,36 <sup>b</sup>	0,79 <sup>b</sup>	0,35	44,39
září	45,5	335,2 <sup>c</sup>	95,7 <sup>b</sup>	27,75 <sup>ab</sup>	495,8 <sup>b</sup>	1,92	1,27	1,26 <sup>b</sup>	9,19 <sup>b</sup>	18,37 <sup>b</sup>	1,31 <sup>ab</sup>	0,22	47,49
<b>Faktor</b>	<b>P-hodnota</b>												
Lokalita	0,237	0,713	<0,001	0,121	0,077	0,217	0,906	0,053	0,496	0,653	0,115	0,917	0,131
Domin. druh ve vzorku	0,031	0,482	0,007	0,316	0,090	0,005	0,011	0,401	<0,001	0,871	<0,001	0,208	0,001
Termín odběru	0,956	<0,001	<0,001	0,007	<0,001	0,114	0,486	<0,001	<0,001	<0,001	0,002	0,234	0,132

*Legenda:* Průměrné hodnoty ve sloupcích se stejnými písmeny se statisticky významně neliší na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  (Tukey HSD test).

Obr. 1 Rozdíly v koncentraci vápníku v píce vybraných rostlinných druhů.



Obr. 2 Rozdíly v koncentraci hořčíku v píce vybraných rostlinných druhů.



## Diskuze

Naše zjištění poukazují na celkově nízkou výživnou hodnotu porostu na lokalitách Švýcárna, Praděd i Ovčárna, vzhledem k tomu, že pastevní porosty, vyznačující se v příznivějších podmínkách vyšší kvalitou píce, obsahují (dle autorů Pavlů, 1994; Kováč, 2005; Pavlů *et al.*, 2006): 150–200 g/kg suš. vlákniny a 180–200 g/kg suš. N-látek. Porosty na lokalitě Ovčárna se vyznačovaly o něco vyšší kvalitou patrně z důvodu vyššího zastoupení bylinné složky.

Zvláštní význam vlákniny ve výživě zvířat spočívá především v tom, že zabezpečuje jejich mechanické nasycení a podporuje peristaltiku střev a bachoru (u přežvýkavců), čímž napomáhá pohybu potravy trávicí soustavou. Je tedy v krmné dávce (především přežvýkavců) nezbytná. Pokud je však v krmné dávce vlákniny mnoho, koncentrace energie je nízká, příjem je redukován a produktivita klesá (Mudřík *et al.*, 2006). Jakobe *et al.* (1982) uvádí, že krmná dávka skotu by měla obsahovat 160–240 g/kg suš. vlákniny v sušině krmné dávky podle kategorie skotu a jeho užitkovosti. Tato hranice byla u všech sledovaných lokalit překročena, a to již v červnovém období.

Obsah živin v rostlinách je v průběhu roku proměnlivý. Jak popisuje Ulrychová (2014), důležitou roli hraje mj. příjem živin z půdy, ve které se jejich koncentrace rovněž během roku mění. Pro příjem draslíku nejsou příznivé podmínky sucha a chladu. Z jara, kdy je dostatek vláhy, jej však rostliny mohou přijímat až v nadbytečném množství (luxusní příjem). Rozvíjející se listy hromadí N, P, K, pak rychlost produkce biomasy převýší příjem minerálních živin, zvyšuje se podíl organické hmoty. Se stárnutím listů se v nich hromadí hůře pohyblivé prvky - Ca, S, Fe, Mn, B. Výsledkem je vzrůst poměru Ca : K v listech v průběhu roku. To, že směrem ke konci vegetačního období narůstá koncentrace vápníku v porostech a koncentrace draslíku klesá, jak bylo potvrzeno i našimi výsledky, zmiňuje např. také Kováčiková *et al.* (2012).

Zatímco Cd a Pb jsou těžké kovy toxické pro zvířata i v menších koncentracích, Zn patří k mikroelementům, jejichž obsah v krmivu je do určité míry přijatelný. Tvrzník a Zeman (2005) uvádějí, že Zn má ve výživě hospodářských zvířat význam jako složka nebo aktivátor důležitých enzymů a hormonů. Podle Vrzguly *et al.* (1990) je žádoucí koncentrace zinku v krmné dávce zvířat 40-50 mg/kg suš., přičemž je nutno mít na paměti, že ve vyšších koncentracích (nad 250 mg/kg suš.) již může Zn působit toxicky. V našem případě byly koncentrace všech tří těžkých kovů v píci zanedbatelné a nepředstavovaly pro zvířata zdravotní riziko.

**Obr. 1 Pastva skotu plemene Highland obnovená v roce 2012 v lokalitě Švýcárna.**



### **Závěr**

V půdně-klimatických podmínkách námi sledovaných horských lokalit byly zjištěny nízké obsahy živin v pastevních porostech. Je potřeba brát v úvahu, že v horských podmínkách při daném botanickém složení bývá dosahováno průměrné roční produkce jen okolo 2–3 t.ha<sup>-1</sup> suš. (v případě smilkových porostů to je pouze cca 1,8 t.ha<sup>-1</sup> suš.). Uvedené faktory by měly být brány v potaz při řízení pastvy, a zvláště při použití případných doplňkových krmiv (minerálních lizů). Zahajování pastvy na jaře a její ukončení na podzim by mělo být voleno také s přihlédnutím ke stavu porostu, jež je velkou měrou ovlivněn klimatickými podmínkami v daném roce. Údaje předložené v tomto článku jsou důležité pro volbu vhodného pastevního managementu, pro zajištění adekvátní výživy zvířat a pro posouzení změn v souvislosti s uplatňovanou obnovenou pastvou skotu během sledovaných let.

### **Literatura**

- BUREŠ, L. (2013): *Chráněné a ohrožené druhy CHKO Jeseníky*. Nakl. Agentura Rubico, s.r.o. Olomouc. 314 s. ISBN 978-80-7346-158-4
- DULLINGER, S. – DIRNBÖCK, T. – GREIMLER, J. – GRABHERR, G. (2003): A resampling approach for evaluating effects of pasture abandonment on subalpine plant species diversity. *Journal of Vegetation Science*, 14: 243–252.
- ISSELSTEIN, J. – JEANGROS, B. – PAVLŮ, V. (2005): Agronomic aspects of biodiversity targeted management of temperate grasslands in Europe - A review. *Agronomy Research*, 3: 139–151.
- JAKOBE, P. [Ed] (1982): *Racionální způsoby využití slámy ve výživě skotu*. Min. zeměd. a výživy ČR, Praha, 23 s.

- KOVÁČ, L. (2005): Koncentrácia minerálnych látok vo viacročných krmovinách na VSN. In: *Realizáciou poznatku vedy a výskumu k trvalo udržiteľnému poľnohospodárstvu*. Michalovce, s. 289–293. ISBN 80-88790-40-9
- KOVÁČIKOVÁ, Z. – VARGOVÁ, V. – MICHALEC, M. (2012): Effects of non-fertilised grassland management intensity on herbage quality and quantity. *Agriculture (Polnohospodárstvo)*, 58: 41-49.
- METERA, E. – SAKOWSKI, T. – SŁONIEWSKI, K. – ROMANOWICZ, B. (2010): Grazing as a tool to maintain biodiversity of grassland – a review. *Animal Science Papers and Reports*, 28, (4): 315–334.
- MLÁDEK, J. – PAVLŮ, V. – HEJCMAN, M. – GAISLER, J. (2006): *Pastva jako prostředek údržby trvalých travních porostů v chráněných územích*. VÚRV, v.v.i., Praha, 104 s.
- MUDŘÍK, Z. – DOLEŽAL, P. – KOUKAL, P. [Eds] (2006): *Základy moderní výživy skotu*. Česká zemědělská univerzita v Praze. 270 s.
- PAVLŮ, V. (1994): Content of mineral substances in pasture herbage in relation to requirements of cattle. *Rost. výr.*, 40: 209–217.
- PAVLŮ, V. – HEJDUK, S. – MLÁDEK, J. – HEJCMAN, M. (2006): Kapitola 5.3. Kvalita pastevní píče. In: Mládek, J., Pavlů, V., Hejcman, M., Gaisler, J. (eds) *Pastva jako prostředek údržby trvalých travních porostů v chráněných územích*. VÚRV, Praha, 104 s.
- PRÉVOSTO, B. – KUITERS, L. – BERNHARDT-RÖMERMANN, M. – DÖLLE, M. – SCHMIDT, W. – HOFFMANN, M. – VAN UYTVANCK, J. – BOHNER, A. – KREINER, D. – STADLER, J. – KLOTZ, S. – BRANDL, R. (2011): Impacts of land abandonment on vegetation: successional pathways in European habitats. *Folia Geobotanica*, 46: 303–325.
- TVRZŇÍK, P. – ZEMAN, L. (2005): *Stopové prvky ve výživě zvířat*. VÚŽV, Praha. 52 s
- ULRYCHOVÁ, J. (2007): *Acidifikace lesních půd a odolnostní potenciál lesních ekosystémů*. [on line]. Vystaveno: 15-01-2007 [Citace. 10.12.2014] Dostupné z: [http://fle.czu.cz/~ulbrichova/Skripta\\_HIO/kapitoly/Puda%20acid/Acidifikace%20pud.htm](http://fle.czu.cz/~ulbrichova/Skripta_HIO/kapitoly/Puda%20acid/Acidifikace%20pud.htm)
- VESELÝ, P. – ČÁP, J. – SKLÁDANKA, J. (2012): Metodika sběru a hodnocení dat dokumentujících dynamiku změn travinobylinných porostů vlivem pastvy malých přežvýkavců. Mendelova univerzita v Brně, 57 s. ISBN 978-80-7375-615-4
- VRZGULA, L. – ALIJEV, A.A. – BAREJ, W. – BARTKO, P. – BOUDA, J. – DVOŘÁK, R. – GARBAŠANSKI, P. – ILLEK, J. – KARSAL, F. – KÓŇA, E. – KOVÁČ, G. – NEDKOVÁ, L. – SOKOL, J. – SOVA, Z. – SCHÄFER, M. (1990): Poruchy látkového metabolismu hospodárskych zvierat a ich prevencia. *Príroda*, Bratislava. 494 s.

### Poděkování

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO1023 a MZE-RO1223, a dále s podporou dotačního titulu „Národní program konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin, zvířat a mikroorganismů významných pro výživu a zemědělství“.

### Kontaktní adresa

Mgr. Marie Mrázková, Ph.D.  
Agritec Plant Research s.r.o.  
Zemědělská 2520/16, 787 01 Šumperk  
583 382 105, [mrazkova@agritec.cz](mailto:mrazkova@agritec.cz)



## Potenciál zemědělské půdy pro ukládání uhlíku

The potential of agricultural soil for carbon storage

Mühlbachová G., Kusá H., Růžek P., Vavera R. a Káš M.

Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i.

### Abstrakt

Ukládání uhlíku do půdy bylo sledováno v dlouhodobém polním pokusu s různými způsoby zpracování půdy založeném v roce 1995 v Praze-Ruzyni. V pokusu jsou porovnávány tři způsoby zpracování půdy: konvenční (CT), redukované (RT) a půda bez zpracování (NT). Na poli zůstávají posklizňové zbytky plodin, které jsou zapravovány podle použité technologie. V půdách byl v různých vrstvách (0-10 cm, 10-20 cm, 20-30 cm) a ve čtyřletých obdobích posuzován obsah organického uhlíku (Corg). Osevní postup je čtyřletý (řepka ozimá - pšenice ozimá – hrách – pšenice ozimá). Obsah Corg byl u RT a NT koncentrován v povrchové vrstvě půdy, zatímco u CT byly mezi vrstvami rozloženy rovnoměrněji. Mezi lety 1995 a 2024 dosáhl průměrný roční přírůstek hmotnosti uhlíku na hektar v půdě u CT, RT a NT hodnot 221, 462 a 571 kg C/ha, za období 2010–2024 se nárůst C u stejných zpracování půdy snížil na 195, 317 a 436 kg C/ha.

**Klíčová slova:** Půda; konvenční zpracování; redukované zpracování; bez zpracování; organický uhlík

### Abstract

The potential of agricultural soil for carbon storage was studied in a long-term field experiment with different tillage practices established in 1995 in Prague-Ruzyně. Three tillage practices are compared: conventional (CT), reduced (RT), and no-tillage (NT), where crop residues remain in the field and are incorporated according to the technology used. In the soils, the content of organic carbon (SOC) was assessed at various layers (0-10 cm, 10-20 cm, 20-30 cm) and over four-year periods. The crop rotation is four years long (winter oilseed rape - winter wheat – pea – winter wheat). The SOC content was concentrated in the topsoil layer under RT and NT, while under CT they were more evenly distributed between layers. Between 1995 and 2024, the annual increase in average soil carbon weight per hectare reached 221, 462, and 571 kg C/ha under CT, RT, and NT, respectively, while during the period 2010–2024, the C increase under the same tillage practices was 195, 317, and 436 kg C/ha.

**Keywords:** Soil; Conventional tillage; Reduced tillage; No-tillage; Organic carbon

### Úvod

Obsah organického uhlíku v půdě (Corg) je považován za klíčový faktor zdraví půdy a je kromě dalších faktorů ovlivňován také zpracováním půdy (Skaalsveen et al., 2019). Tradiční konvenční zpracování půdy orbou (CT) je v posledních letech nahrazováno méně intenzivním bezorebným zpracováním, případně není půda zpracovávána. Orba obrací povrchovou vrstvu půdy, což způsobuje její silné narušení, urychluje mineralizaci Corg, a tím i ztráty Corg. Pokles obsahu organické hmoty v půdě souvisí hlavně s hlubokou orbou prováděnou v teplém období, kdy dochází ke ztrátám uhlíku v důsledku mineralizačních procesů a s tím souvisejících emisí CO<sub>2</sub> z půdy (Iocola et al., 2017; Mühlbachová et al., 2023). Bezorebné zpracování půdy zmírňuje negativní účinky klasických způsobů zpracování půdy, a proto se již běžně po celém světě používá, neboť zvyšuje obsah Corg, rozpuštěného organického uhlíku a zásobu dusíku v půdě (Iocola et al., 2017). Vzhledem k probíhající změně klimatu je téma omezení zpracování půdy stále aktuálnější.

Střední Evropa za posledních 50 let zaznamenala oproti minulosti posun k teplejšímu a suššímu agroklimatu, přičemž období sucha jsou stále častější (Torbenson et al., 2024; Meitner et al., 2023). Tento posun se vyznačuje teplejšími podzimy, zimami bez sněhové pokrývky a teplejším letním počasím. Bylo by proto třeba vracet do půdy více organických látek, ale při výrazném poklesu počtu hospodářských zvířat, současně poklesu ploch s pěstovanými pícninami a nižší produkci kvalitních statkových a organických hnojiv s širším poměrem C:N (více než 15:1), je obtížné dosáhnout navrácení dostatečného množství organických látek do půdy (Růžek et al., 2025).

Jednou z možností, jak zamezit ztrátám uhlíku a podpořit jeho ukládání do půdy, je zavedení inovovaných agrotechnických postupů včetně konzervačních technologií zpracování půdy, které jsou zvláště v teplejších oblastech s omezenou zásobou vody v půdě potřebné. Při nedostatku zdrojů organické hmoty je třeba snížit intenzitu mineralizace půdní organické hmoty, což umožní využití konzervačních technologií zpracování půdy (Růžek et al., 2025).

Orba, která významně narušuje půdu a vede k jejímu většímu prokysličení, tyto procesy urychluje. Naopak konzervační způsoby zpracování půdy vedou časem k nárůstu obsahu Corg. Ponecháním posklizňových zbytků na povrchu půdy lze u konzervačních technologií také omezit ztráty vody z půdy a snížit teplotu (Gholamhoseini et al., 2019). Rozdíl v teplotě půdy může mezi konvenčním zpracováním a půdou bez zpracování v odpoledních hodinách činit 8–10 °C (Mühlbachová et al., 2024). Na druhou stranu, orba má příznivý vliv na provzdušnění půdy, které usnadňuje klíčení semen, je účinnější při kontrole plevelů a zapravení posklizňových zbytků do půdy (Sae-Tun et al., 2022). Současně vyšší mineralizace v důsledku přístupu vzduchu napomáhá uvolňování živin z půdy, které jsou prospěšné pro růst rostlin (Skaalsveen et al., 2019). U bezorebných způsobů zpracování půdy může nižší provzdušnění v kombinaci s vyšší mikrobiální aktivitou vést k imobilizaci dusíku v půdě (Rüdiger et al., 2018), což vede k jeho nižší dostupnosti pro rostoucí rostliny, a tím jsou ovlivněny výnosy plodin.

Dlouhodobý polní pokus s různými způsoby zpracování půdy, založený v roce 1995 v Praze-Ruzyni, je v České republice jedinečný a umožňuje v podmínkách změny klimatu hodnocení dlouhodobého vlivu různých způsobů zpracování půdy a agrotechniky na obsah organického uhlíku a jeho distribuci v půdním profilu. V budoucnu lze očekávat celkově vyšší teploty, teplejší zimy bez mrazů a sněhu, častější sucha, která ovlivní mineralizaci organické hmoty a dostupnost živin v půdě a v konečném důsledku i výnosy plodin.

Cílem této práce bylo zhodnotit vliv různých způsobů zpracování půdy na sekvestraci uhlíku v půdě a změny obsahu organického uhlíku v půdě (Corg) a mikrobiologických charakteristik v různých vrstvách půdního profilu do hloubky 30 cm. Výsledky budou využity v dalším výzkumu a inovacích technologií zpracování půdy v zemědělství.

## **Materiál a metody**

Dlouhodobý polní pokus s různými způsoby zpracování půdy byl založen v roce 1995 v Praze – Ruzyni. (50°05' s.š.; 14°17' v.d.). Nadmořská výška je 360 m n. m., průměrná roční teplota v letech 2009–2024 byla 10,1 °C (8,3 °C - 11,1 °C) a průměrný roční úhrn srážek činil 509 mm ( od 345 mm - 731 mm); Typ půdy je klasifikován jako luvisol na spraši, jílovito-hlinitá půda, hodnota pH (CaCl<sub>2</sub>) 7,0, pH (H<sub>2</sub>O) 7,8, obsah Corg. 1,3 %. Průměrný obsah živin stanovený metodou Mehlich 3 byl následující: P – 61 mg kg<sup>-1</sup>; K – 176 mg kg<sup>-1</sup>; Ca – 3650 mg kg<sup>-1</sup>; Mg – 137 mg kg<sup>-1</sup>; CEC – 191 mmol (+) kg<sup>-1</sup>. Na pokusu jsou od roku 1995 používány tři technologie zpracování půdy – konvenční (CT - orba do 20–22 cm), redukované (RT - zpracování půdy do 8–10) a půda bez zpracování (NT). Na povrchu půdy zůstávají všechny posklizňové zbytky, které jsou zapravovány v závislosti na použité technologii zpracování půdy – (i) zcela u CT; (ii) částečně u RT, kdy na povrchu zůstává minimálně 30 % zbytků; (iii) ponechané jako mulč u půdy bez zpracování (NT). Osevní postup je čtyřletý: řepka ozimá – pšenice ozimá – hrách – pšenice ozimá.

Půdní vzorky jsou odebírány každoročně ve druhé polovině května z každé technologie zpracování půdy a v celkem 5 opakováních do hloubky 30 cm. Byl stanoven obsah organického uhlíku a objemová hmotnost půd. Na základě dat byly provedeny výpočty celkové hmotnosti uhlíku na hektar půdy. Výsledky jsou interpretovány jako čtyřleté průměry celého osevního sledu s cílem získat co nejspolehlivější data. Úsečky v grafech vyjadřují směrodatné odchylky.

## Výsledky a diskuze

V půdách dlouhodobého pokusu s různým zpracováním půdy byl zaznamenán rostoucí trend obsahu Corg. Organický uhlík je v půdním profilu do 30 cm rovnoměrněji rozložen u konvenčního orebného zpracování půd (Graf 1), v průběhu dvaceti let sledování se obsah Corg v horní vrstvě půdy 0–10 cm zvýšil z 1,25 na 1,38 %, podobně jako ve vrstvách 10–20 cm (1,29–1,34 %) a 20–30 cm (1,24–1,32 %). U redukovaného zpracování (RT) a u půdy bez zpracování (NT) se Corg koncentruje v povrchové vrstvě půdy, kde došlo k nárůstu u RT (1,55–1,70 %) a zejména NT (1,61–1,80 %). V hlubších vrstvách byl obsah Corg nižší v porovnání s povrchovou vrstvou půdy, ale i v tomto případě se obsah Corg postupně zvýšil jak u RT (10–20 cm: 1,29–1,43 % SOC; 20–30 cm: 1,15–1,28 % Corg), tak i u NT (10–20 cm: 1,21–1,29 % Corg; 20–30 cm: 1,10–1,19 % Corg). Po tomto období byla v poslední rotaci plodin pozorována stagnace obsahu Corg. Zatímco Corg při RT a NT ve vrstvách 0–10 cm a 10–20 cm nevykazoval jasný trend, zvýšená hodnota Corg byla u RT a NT zaznamenána ve vrstvě 20–30 cm od třetí a čtvrté rotace.

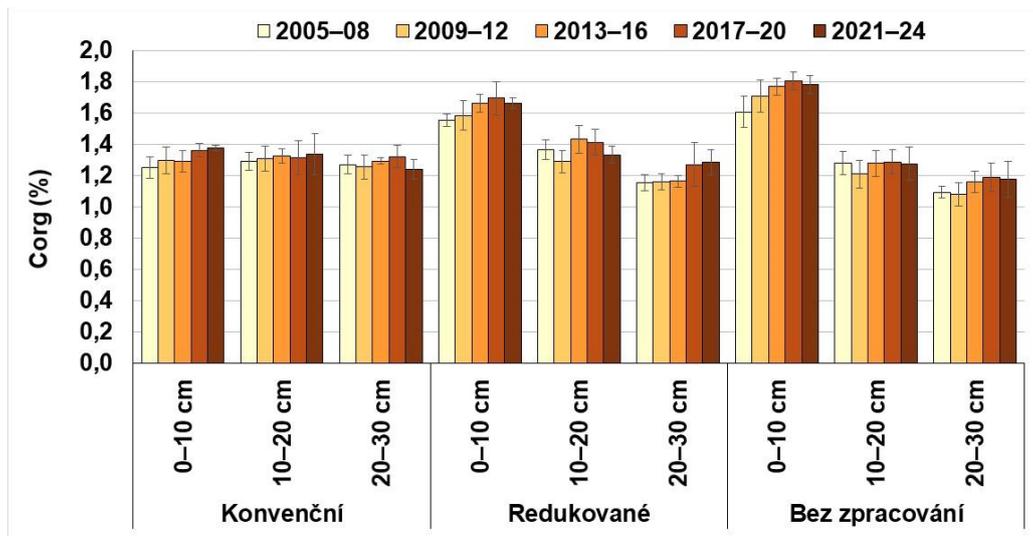
Nižší obsah organického uhlíku v půdě při konvenčním zpracování půdy než u bezorebných způsobů zpracování potvrzují také výsledky dalších autorů (Sae-Tun et al., 2022), kteří poukázali na vyšší mineralizační procesy v půdě po orbě, s nimiž souvisí ztráty organického uhlíku z půdy. Například Valkama et al. (2020) konstatovali, že ztráty Corg po orbě dosahovaly v některých případech až  $1 \text{ t C ha}^{-1} \text{ rok}^{-1}$ . U redukovaného zpracování a půdy bez zpracování byl obsah Corg ovlivněn nižší provzdušněností půdy, ale i posklizňovými zbytky, které jsou po sklizni na poli ponechávány. V případě NT pak mulč z posklizňových zbytků současně zabraňuje nadměrnému prohřívání a napomáhá zadržovat vodu v půdě. U RT se ukázalo, že hloubka zpracování pouze 8–10 cm vede k nižšímu obsahu Corg v půdě v porovnání s NT. U CT zpracování půdy způsobuje větší provzdušnění půdy a s tím související vyšší mineralizaci půdy a v důsledku nižší nárůst Corg.

Bezorebné způsoby zpracování půdy snižují obsah Corg v hlubších vrstvách půdy (10–20 cm a 20–30 cm). Do těchto hloubek totiž nebyly zapraveny posklizňové zbytky. V posledních letech se ale ukazuje, že obsah Corg v nejhlubší sledované vrstvě půdy 20–30 cm stoupal. Tento nárůst může souviset s transportem koloidů makropóry vytvořenými aktivitou makroedafonu, jak ostatně předpokládali Martínez et al. (2016). Organický uhlík mohl být transportován do hlubších vrstev půdního profilu i) aktivitou makroedafonu, ii) transportem rozpustných frakcí C, který mohly usnadnit například křovité kořeny řepky, iii) koloidním transportem Corg vytvořenými makropóry (Martínez et al., 2016).

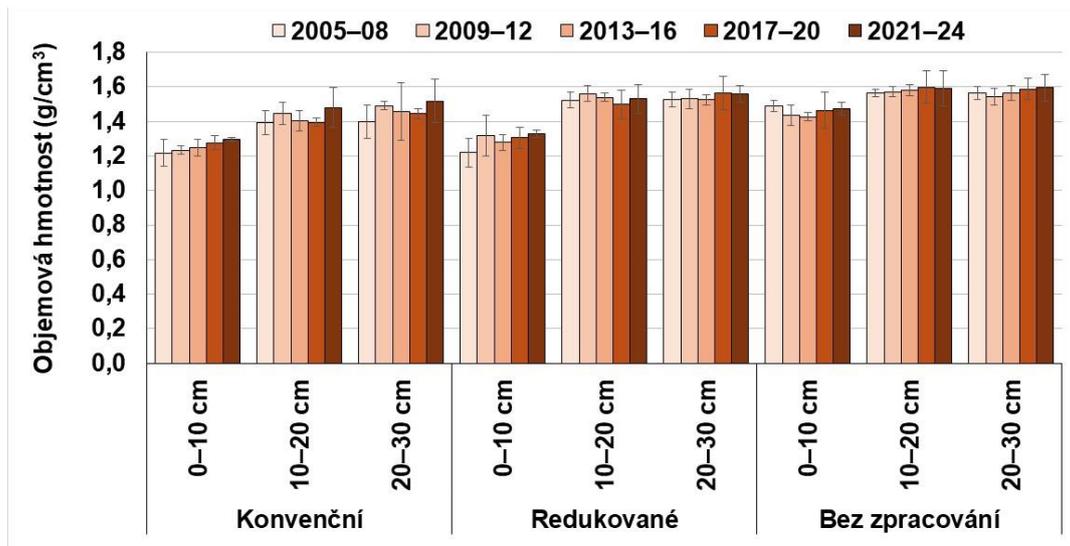
K výpočtu celkového množství uhlíku v půdním profilu po různém zpracování půdy byla použita její objemová hmotnost (Graf 2). Objemová hmotnost se u různých způsobů zpracování půdy lišila, současně byly zjištěny rozdíly v různých hloubkách. U konvenčního a redukovaného zpracování je půda zpracovávána, což vede k nižší objemové hmotnosti (CT: 1,22–1,28 g/cm; RT: 1,22–1,33 g/cm) v porovnání s půdou bez zpracování (NT: 1,43–1,49 g/cm), u které dochází jen k minimálnímu narušení povrchu půdy při setí. V hlubších vrstvách půdy se objemová hmotnost zvyšovala u všech způsobů zpracování půdy, v případě bezorebných technologií vzhledem k absenci zpracování půdy více, u RT vzrostla pod hloubkou 10 cm na 1,50 až 1,56 g/cm, podobně jako u NT na 1,57 až 1,60 g/cm.

Celková hmotnost uhlíku na hektar, při zohlednění objemové hmotnosti půdy se u konvenčního zpracování ve vrstvě 0–30 cm od 51,0 t/ha pohybovala v osevním sledu 2005–08 do 56,0 t/ha v posledním osevním sledu 2021–24 (Graf 3). Navzdory rozvrstvení obsahu Corg v různých půdních vrstvách u RT a NT (Graf 1) se hmotnost uhlíku na hektar zvýšila u RT z 57,4 až na 63,1 t/ha a u NT z 61,1 na 65,7 t/ha od prvního (2005–2009) po čtvrtý osevní sled (2017–2020).

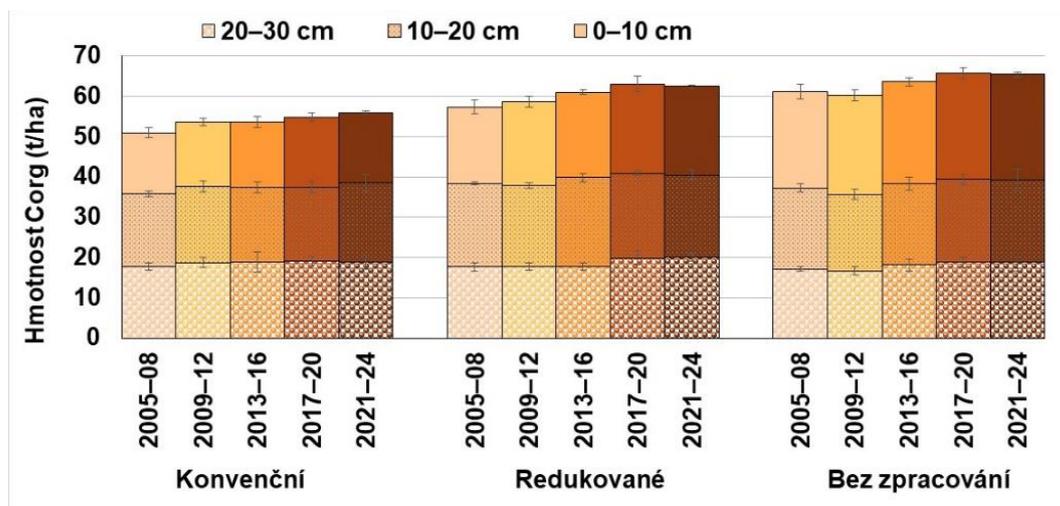
**Graf 1.** Obsah organického uhlíku v půdě (Corg) při různém zpracování půdy v letech 2005–2024.



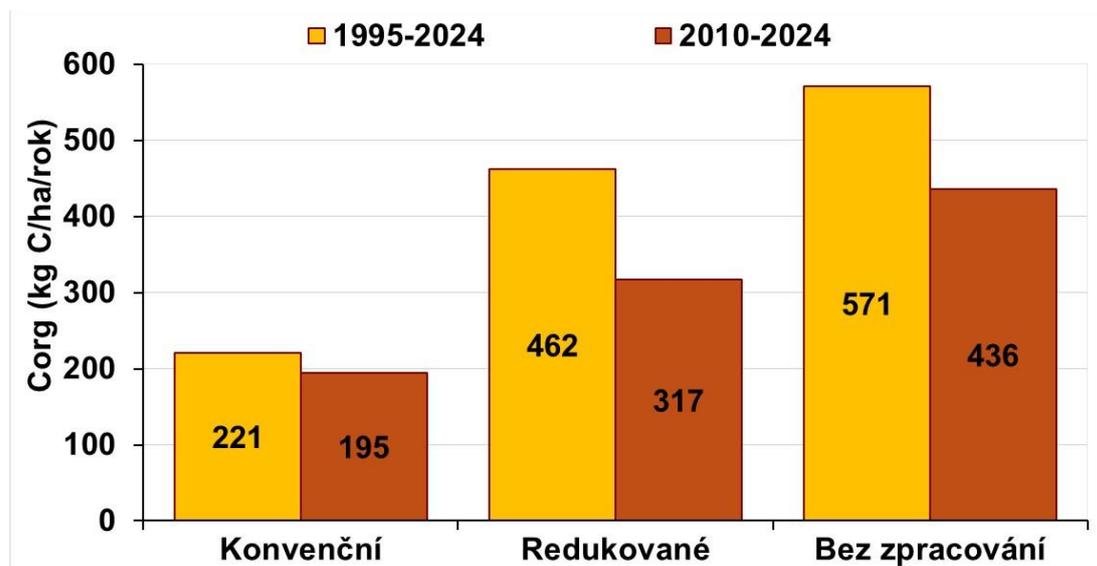
**Graf 2.** Objemová hmotnost v půdním profilu 0–30 cm při r různém zpracování půdy v letech 2005–2024



**Graf 3.** Hmotnost organického uhlíku (Corg) v půdním profilu 0–30 cm při různém zpracování půdy v letech 2005–2024



**Graf 4.** Nárůst hmotnosti organického uhlíku při různém zpracování půdy



Hmotnost uhlíku na hektar v půdě v prvních rotacích plodin po založení dlouhodobého polního pokusu rostla rychleji (v prvních 2 letech zařazena vojtěška) než v posledních letech (Graf 4). Zatímco mezi lety 1995 a 2024 dosáhl přírůstek hmotnosti uhlíku na hektar v půdě u CT, RT a NT hodnot 221, 462 a 571 kg C/ha/rok, pokud bylo započteno pouze období 2010–2024, průměrný roční nárůst hmotnosti Corg se snížil na 195, 317 a 436 kg C/ha/rok.

Nižší nárůst hmotnosti Corg lze mimo jiné spatřovat v nižším nárůstu biomasy ozimé řepky včetně dosažených výnosů v posledních letech a ve stagnaci obsahu Corg v poslední sledované rotaci plodin, která může být způsobena jak určitou saturací obsahu Corg v půdě, tak i současně i vyšší mineralizací půdy, a tím většími ztrátami uhlíku souvisejícími s postupným zvyšováním teplot vzduchu a snížením průměrných ročních srážek (Graf 5). Vliv stoupajících teplot a suchá

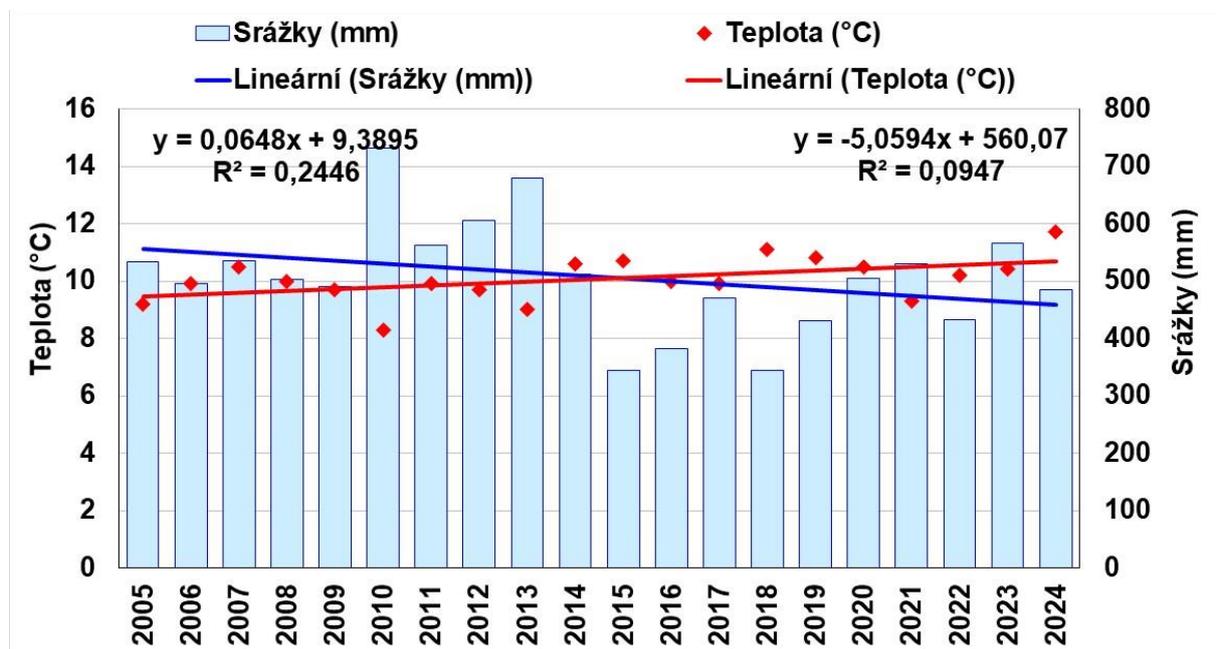
období významně ovlivňují obsah Corg, protože působí přímo na mikrobiální aktivity v půdě, a tedy na mineralizaci organických látek v půdě (Parihar et al., 2019). Důležitou roli v mineralizačních procesech hrají i další faktory jako je vlastní chemické složení posklizňových zbytků nebo poměr C:N v půdě (Grzyb et al., 2020). Kromě toho úroveň jejich zapravení, případně ponechání mulče přímo ovlivňuje teplotu a vlhkost půdy (Noor et al., 2021).

Dosavadní délka trvání dlouhodobého pokusu zatím není dostatečná pro definitivní zjištění všech vlivů povětrnostních podmínek na bioogické aktivity v půdě. Dosud získané výsledky ale naznačují, že v době měnícího se klimatu (Torbenon et al., 2024; Meitner et al., 2023) mohou být tyto aktivity náchylnější u orby než u bezorebných způsobů zpracování půdy.

Nutnost inovování různých způsobů sekvestrace uhlíku dokumentuje například zjištění Keela et al. (2019), kteří ve švýcarských zemědělských půdách zjistili pokles obsahu Corg až o 290 kg C na hektar za rok, a to bez ohledu na způsob zpracování a aplikace statkových a organických hnojiv. V našem dlouhodobém polním pokusu byl nárůst obsahu Corg pozorován až do období 2017-2020. Poté v posledním osevním sledu došlo ke stagnaci a částečně i mírnému poklesu obsahu Corg v půdě. V tomto období byly zjištěny nižší výnosy ozimé pšenice a především velmi nízký výnos řepky ozimé v roce 2021. Nižší výnosy způsobily nižší produkci slámy, do půdy se proto dostalo méně posklizňových zbytků.

Jako velmi cenné se ukázalo vyjádření obsahu organického uhlíku v přepočtu na hektar při současném zohlednění objemové hmotnosti půdy. Objemová hmotnost půdy odráží zhutnění půdy v závislosti na použitém zpracování půdy, přičemž vyšší objemová hmotnost je běžně vyšší u bezorebných způsobů zpracování půdy a v hlubších vrstvách (Kumar et al., 2019; Topa et al., 2021). Naše výsledky potvrdily nárůst obsahu Corg v půdách u všech způsobů zpracování půdy, u RT a zvláště NT více než u CT (Graf 3, 4).

**Graf 5:** Průměrné roční teploty a srážky v Praze – Ruzyni v letech 2005-2024



### Závěr

V dlouhodobém polním pokusu byly hodnoceny změny v obsahu organického uhlíku v půdě po různém zpracování půdy. Redukované zpracování půdy a půda bez zpracování vedly k výraznému rozvrstvení obsahu Corg v půdním profilu, kde Corg byl koncentrován více v povrchové vrstvě, kde byly zjišťovány největší rozdíly v obsahu Corg. Na druhou stranu oproti konvenčnímu zpracování byl u redukovaného zpracování a u půdy bez zpracování zjištěn vyšší

obsah Corg, který se v půdním profilu 0 – 30 cm ve sledovaném období postupně zvýšil u konvenčního zpracování z 51 na 56 t/ha, u redukoveného z 57,4 na 63,1 t/ha a u půdy bez zpracování z 61,1 na 65,7 t/ha. Mezi lety 1995 a 2024 dosáhl přírůstek hmotnosti uhlíku na hektar v půdě u CT, RT a NT hodnot 221, 462 a 571 kg C/ha/rok, pokud bylo započteno pouze období 2010–2024, průměrný roční nárůst hmotnosti Corg se snížil na 195, 317 a 436 kg C/ha/rok. V hlubších vrstvách půdy se u RT a NT v posledních letech zvyšuje obsah Corg, pravděpodobně díky společnému vlivu makroedafonu, toku rozpustných uhlíkových frakcí a koloidnímu transportu. Je třeba předpokládat, že zvyšování teplot a nepravidelné srážky budou pokračovat a stále více ovlivňovat půdní vlastnosti. Je proto třeba pro udržování a doplňování zásoby uhlíku v půdách přizpůsobit zpracování půdy a pěstování plodin klimatickým podmínkám a dále zlepšovat pěstební postupy.

## Literatura

- Gholamhoseini M., Dolatabadian A., Habibzadeh F. (2019): Ridge-Furrow Planting System and Wheat Straw Mulching Effects on Dryland, Sunflower Yield, Soil Temperature, and Moisture. *Agron J*, 111: 3383-3392
- Grzyb A., Wolna-Maruwka A., Niewiadomska A. (2020): Environmental Factors Affecting the Mineralization of Crop Residues. *Agronomy-Basel*, 10: 1951.
- Iocola I., Bassu S., Farina R., Antichi D., Basso B., Bindi M., Dalla Marta A., Danuso F., Doro L., Ferrise R., Corti G., Pasqui M., Seddaiu G., Tomozeiu R., Ventrella D., Villani G., Roggero P.P. (2017): Can conservation tillage mitigate climate change impacts in Mediterranean cereal systems? A soil organic carbon assessment using long term experiments. *Eur J Agron*, 90: 96-107.
- Keel S.G., Anken T., Büchi L., Chervet A., Fliessbach A., Flisch R., Huguenin-Elie O., Mäder P., Mayer J., Sinaj S., Sturny W., Wüst-Galley C., Zihlmann U., Leifeld J. (2019): Loss of soil organic carbon in Swiss long-term agricultural experiments over a wide range of management practices. *Agr Ecosyst Environ*, 286: 106654.
- Kumar V., Gathala M.K., Saharawat Y.S., Parihar C.M., Kumar R., Kumar R., Jat M.L., Jat A.S., Mahala D.M., Kumar L., Nayak H.S., Parihar M.D., Rai V., Jewlia H., Kuri B.R. (2019): Impact of Tillage and crop establishment methods on crop yields, profitability and soil physical properties in rice-wheat system of Indo-Gangetic plains of India. *Soil Use Manage*, 35: 303-313.
- Martínez I., Chervet A., Weisskopf P., Sturny W.G., Etana A., Stettler M., Forkman J., Keller T. (2016): Two decades of no-till in the Oberracker long-term field experiment: Part I. Crop yield, soil organic carbon and nutrient distribution in the soil profile. *Soil Tillage Res*, 163: 141-151.
- Meitner J., Balek J., Bláhová M., Semerádová D., Hlavinka P., Lukas V., Jurečka F., Žalud Z., Klem K., Trnka M. (2023): Estimating Drought-Induced Crop Yield Losses at the Cadastral Area Level in the Czech Republic. *Agronomy-Basel*, 13: 1669.
- Mühlbachová G., Růžek P., Kusá H., Vavera R. (2023): CO<sub>2</sub> Emissions from Soils under Different Tillage Practices and Weather Conditions. *Agronomy-Basel*, 13: 3084.
- Mühlbachová G., Růžek P., Kusá H., Káš M., Vavera R. (2024): Emise CO<sub>2</sub> po různém zpracování půdy. *Agromanuál*, 19(8): 86-87
- Noor M.A., Nawaz M.M., Ma W., Zhao M. (2021): Wheat straw mulch improves summer maize productivity and soil properties. *Ital J Agron*, 16: 1623.
- Parihar C.M., Singh A.K., Jat S.L., Ghosh A., Dey A., Nayak H.S., Parihar M.D., Mahala D.M., Yadav R.K., Rai V., Satyanaryana T., Jat M.L. (2019): Dependence of temperature sensitivity of soil organic carbon decomposition on nutrient management options under conservation agriculture in a sub-tropical Inceptisol. *Soil Tillage Res*, 190: 50-60.
- Rüdiger R., Wei J., Islam M.S., Schmid C., Wissel H., Schröder P., Schloter M. (2018): Brüggemann, N. Potential of Wheat Straw, Spruce Sawdust, and Lignin as High Organic

- Carbon Soil Amendments to Improve Agricultural Nitrogen Retention Capacity: An Incubation Study. *Front Plant Sci*, 8, 9: 900.
- Růžek P., Mühlbachová G., Kusá H., Vavera R. (2025): Rizika zpracování půdy v teplém letním období. *Agromanuál*, 20(7): 108-109
- Sae-Tun O., Bodner G., Rosinger C., Zechmeister-Boltenstern S., Mentler A., Keiblinger K. (2022): Fungal biomass and microbial necromass facilitate soil carbon sequestration and aggregate stability under different soil tillage intensities. *Appl Soil Ecol*, 179: 104599.
- Skaalsveen K., Ingram J., Clarke L.C. (2019): The effect of no-till farming on the soil function of water purification and retention in north-western Europe: A literature review. *Soil Tillage Res*, 189: 98-109.
- Topa D., Cara I.G., Jitäreanu G. (2021): Long term impact of different tillage systems on carbon pools and stocks, soil bulk density, aggregation and nutrients: A field meta-analysis. *CATENA*, 19: 105102.
- Torbenson M. C. A., Esper J., Brázdil R., Büntgen U., Olesen, J. E., Semarádová, D., Vlach, M., Urban, O., Balek, J., Kolář, T., Rybniček, M., Pernicová N., Reinig F., Martinez del Castillo E., Jones P.D., Trnka M. (2024): Past and Future Climate-Driven Changes of Agricultural Land in Central Europe. *Geophys Res Lett*, 51: e2024GL112363.
- Valkama E., Kunyipyayeva G., Zhapayev R., Karabayev M., Zhusupbekov E., Perego A., Schillaci C., Sacco D., Moretti B., Grignani C., Acutis M. (2020): Can conservation agriculture increase carbon sequestration? A modelling approach. *Geoderma*, 369: 114298.

**Poděkování:** příspěvek byl zpracován s podporou projektů MZE NAZV č. QL24020280 a MZE NAZV č. QL24020149.

**Kontaktní adresa:**

Ing. Gabriela Mühlbachová, Ph.D.,  
Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i.,  
Drnovská 507/73,  
PSČ: 161 06 Praha 6 – Ruzyně,  
e-mail: gabriela.muhlbachova@carc.cz

## Distribuce živin v půdním profilu po různých způsobech zpracování půdy

Nutrient distribution in the soil profile under different tillage practices

Mühlbachová G., Růžek P., Kusá H., Vavera R., Káš M.

Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i.

### Abstrakt:

Bezorebné způsoby zpracování půdy jsou v zemědělství stále častěji využívány. Při redukovaném zpracování a u půdy bez zpracování se mění rozložení obsahu živin v půdním profilu, což vyžaduje nové přístupy v oblasti výživy plodin. Současně není mnoho informací o dlouhodobých změnách v rozložení živin v půdním profilu. V dlouhodobém pokusu v Praze-Ruzyni založeném v roce 1995 s konvenčním (CT – orba do 20–22 cm) a redukovaným (RT – podmítka do 8–10 cm) zpracováním a půdou bez zpracování (NT) byl v půdním profilu 0–30 cm metodou Mehlich 3 a extrakcí v 0,5 M octanu amonném sledován obsah živin. Obsah P, K a Mg byl u RT a NT nejvyšší ve vrstvě 0–10 cm a snižoval se v hlubších vrstvách půdy. Obsah Ca a hodnoty pH se naopak zvyšovaly v hlubších půdních vrstvách. Byl zjištěn nevyvážený poměr živin u RT a NT způsobený vysokou koncentrací monovalentního kationtu  $K^+$  a vyplavováním bivalentních kationtů  $Ca^{2+}$  a  $Mg^{2+}$  do hlubších vrstev půdy.

**Klíčová slova:** Půda; Zpracování; Živiny; Poměr živin

### Abstract:

Conservation tillage practices are in the agriculture used more and more frequently. The distribution of nutrient content in the soil profile changes under reduced and no-tillage practices and requires new approaches in the crop nutrition. There is not enough information about the long-term changes in nutrient distribution in the soil profile. In a long-term experiment in Prague-Ruzyně established in 1995 with conventional (CT - tillage to 20-22 cm), reduced (RT - tillage to 8-10 cm) and no-tillage practices (NT), the nutrient content in the soil profile 0-30 cm was monitored using the Mehlich 3 method and extraction with 0.5 M  $NH_4^+$  acetate. The P, K, and Mg contents were the highest under RT and NT in the 0-10 cm layer and decreased in the deeper soil layers. The content of Ca and pH values increased in deeper soil layers. An unbalanced nutrient ratio was found under RT and NT due to the high concentration of the monovalent cation  $K^+$  and the leaching of bivalent cations  $Ca^{2+}$  and  $Mg^{2+}$  into deeper soil layers.

**Keywords:** Soil; Tillage; Nutrients; Nutrient ratio

### Úvod

Bezorebné způsoby zpracování půdy jsou v rostlinné výrobě stále častěji využívány v zemědělských podnicích. Jejich používáním se zmírňují některé negativní vlivy intenzivního zpracování půdy v době klimatické změny, ale některá jejich specifika vyžadují pozornost a hlubší porozumění agronomů, jak bezorebné zpracování půdy může působit na biologické a chemické vlastnosti půdy (Lv et al. 2023). Obecně bezorebné zpracování půdy zlepšuje obsah organického uhlíku v půdě, což má současně vliv i na půdní strukturu, lepší infiltraci vody a snížení půdní eroze. Z hlediska orniční vrstvy mohou být bezorebné způsoby problematické, protože současně dochází i k rozvrstvení a akumulaci organických látek i některých živin v povrchové vrstvě půdy a snížení jejich obsahu v hlubších vrstvách půdy (Bauer et al., 2002; Wright et al., 2007).

Obsah P, K se u redukovaných způsobů zpracování půdy a u půd bez zpracování kumuluje na povrchu půdy, zatímco obsah Ca a částečně i Mg se naopak zvyšují v hlubších vrstvách (Bauer et al., 2002; Wright et al., 2007; Yang et al., 2024).

Saturace půdy živinami by obecně měla obsahovat významný podíl vápníku (60 – 75 %), 10 – 20 % hořčíku, 3–5 % draslíku a zhruba 15 % ostatních kationtů. (Soto et al., 2023; Chaganti a Culman, 2017; Chaganti et al., 2021; Culman et al., 2021). Správné vzájemné poměry živin jsou určující pro půdní úrodnost a její vlastnosti. Možné změny těchto poměrů v důsledku omezeného zpracování půdy je proto třeba sledovat a vyhodnocovat. V současné době v České

republike neexistuje delší pokus s různými způsoby zpracování půdy, který by ilustroval vliv různých způsobů zpracování půdy na půdní vlastnosti a upozornil na potřebné změny v hospodaření na půdách s redukováným způsobem zpracování půdy nebo na půdách bez zpracování.

Cílem výzkumu proto bylo, sledovat v dlouhodobém polním pokusu s různými způsoby zpracování půdy, obsah živin v půdě, jejich rozložení v půdním profilu i změny během celkem čtyř osevních cyklů. Současně byl vyhodnocován možný transport živin do hlubších vrstev půdního profilu a vzájemné poměry živin.

### **Materiál a metody**

Dlouhodobý polní pokus s různými způsoby zpracování půdy byl založen v roce 1995 v Praze – Ruzyni (50°05' s.š.; 14°17' v.d.). Nadmořská výška je 360 m n. m., průměrná roční teplota v letech 2009–2024 byla 10,1 °C (8,3 °C - 11,1 °C) a průměrný roční úhrn srážek činil 509 mm (od 345 mm - 731 mm); Typ půdy je klasifikován jako luvisol na spraši, jílovito-hlinitá půda, hodnota pH (CaCl<sub>2</sub>) 7,0, pH (H<sub>2</sub>O) 7,8, obsah Corg. 1,3 %. Průměrný obsah živin stanovený metodou Mehlich 3 byl následující: P – 61 mg kg<sup>-1</sup>; K – 176 mg kg<sup>-1</sup>; Ca – 3650 mg kg<sup>-1</sup>; Mg – 137 mg kg<sup>-1</sup>; CEC – 191 mmol (+) kg<sup>-1</sup>. Na pokusu jsou od roku 1995 zavedeny celkem tři technologie zpracování půdy – konvenční zpracování (CT - orba do 20–22 cm), redukované cm (RT - zpracování půdy do 8–10) a půda bez zpracování (NT). Na povrchu půdy zůstávají všechny posklizňové zbytky, které jsou zapravovány v závislosti na použité technologii zpracování půdy – (i) zcela u CT; (ii) částečně u RT, kdy na povrchu zůstává minimálně 30 % zbytků; (iii) ponechané jako mulč u půdy bez zpracování (NT). Osevní postup je čtyřletý: řepka ozimá – pšenice ozimá – hrách – pšenice ozimá. Byly sledovány rozdíly v obsahu živin ve dvou rotacích plodin: 2016-19 a 2020-23. V podzimním období jsou aplikována fosforečná hnojiva (Amofos) v dávce 23 kg P kg<sup>-1</sup> a draselná hnojiva (Kamex), kde do roku 2020 dávka K představovala 66 kg K ha<sup>-1</sup>; od roku 2020 – 46 kg K ha<sup>-1</sup>. Současně byl k řepce aplikován síran hořečnatý v dávce 15 kg Mg ha<sup>-1</sup>, od roku 2020 již každoročně. Dusíkatá hnojiva jsou aplikována ve formě ledku amonného s vápencem a DAM v dávce závislé na plodině 120 – 160 kg N ha<sup>-1</sup> k pšenici ozimé a řepce ozimé.

Půdní vzorky jsou odebírány každoročně ve druhé polovině května z každé technologie zpracování půdy a v celkem 5 opakováních do hloubky 30 cm. Suché vzorky jsou stanoveny v hloubkách 0–10 cm, 10–20 cm a 20–30 cm metodou Mehlich 3 (10 g půdy a 100 ml roztoku Mehlich 3), která je používána ÚKZÚZ. Podíly živin, které jsou přístupnější pro rostliny, byly stanoveny ve výluhu 0,5 M octanu amonného při pH 7 (5 g půdy a 100 ml 0,5 M NH<sub>4</sub>COOH). Obsah živin ve zfiltrovaných extraktech byl stanoven pomocí Thermo Fisher Scientific 7400 iCAP ICP-OES analyzátoru (Carlsbad, CA, USA). Vzájemné poměry živin byly vypočteny po stanovení obsahu živin v octanu amonném a vydělení jejich koncentrací molekulovou hmotností a valencí daného prvku. Výsledky jsou interpretovány jako čtyřleté průměry celého osevního sledu s cílem získat co nejspolehlivější data. Úsečky v grafech vyjadřují směrodatné odchylky.

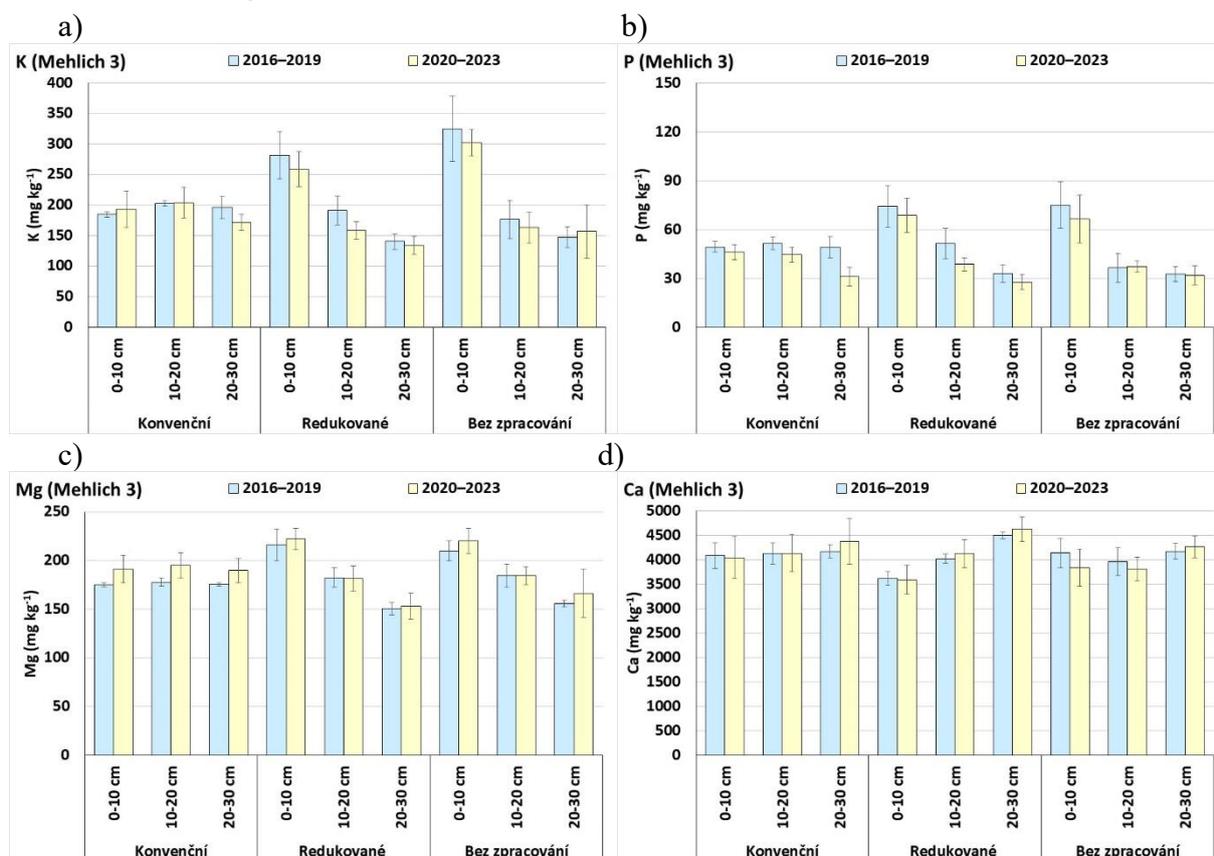
### **Výsledky a diskuze**

**Obsah živin v půdách.** Obsah živin v půdních vzorcích se lišil v půdním profilu v závislosti na použité metodě a na použité technologii zpracování půdy. Metoda Mehlich 3 (Mehlich, 1984; Zbiral, 2016) je využívána Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem k dlouhodobému stanovení obsahu živin v půdě. Tato metoda je jednoduchá a spolehlivá, a proto je použitelná v široké škále laboratoří. Kromě toho je pro stanovení obsahu několika živin dostačující jedno extrakční činidlo, což je samo o sobě výhodné. Současně je hodnota pH u tohoto extrakčního činidla nízká, což umožňuje extrahovat i méně dostupné frakce živin, nejen živiny dostupné

roślinám. Extrakcí v octanu amonném se stanoví výměnné frakce, které jsou pro rostliny dostupnější. Z tohoto hlediska stanovení výměnných frakcí živin v 0,5 M extraktu octanu amonného s neutrálním pH lépe odpovídá příjmu živin rostlinami (Matula, 2009).

U redukovaného zpracování (RT) a půdy bez zpracování (NT) se fosfor, draslík a hořčík koncentroval v povrchové vrstvě půdy 0-10 cm, což bylo potvrzeno oběma extrakčními metodami. Naopak u vápníku bylo při stanovení metodou Mehlich 3, zvláště u redukovaného zpracování, pozorováno zvýšení obsahu Ca v hlubších vrstvách půdy. U orebného zpracování půdy byl obsah živin ve sledovaném půdním profilu rovnoměrněji rozprostřen, přičemž mírný pokles byl pozorován v nejhlubší vrstvě 20-30 cm.

**Graf 1a-d.** Obsah P, K, Mg a Ca v půdě po různých způsobech zpracování půdy stanovený metodou Mehlich 3

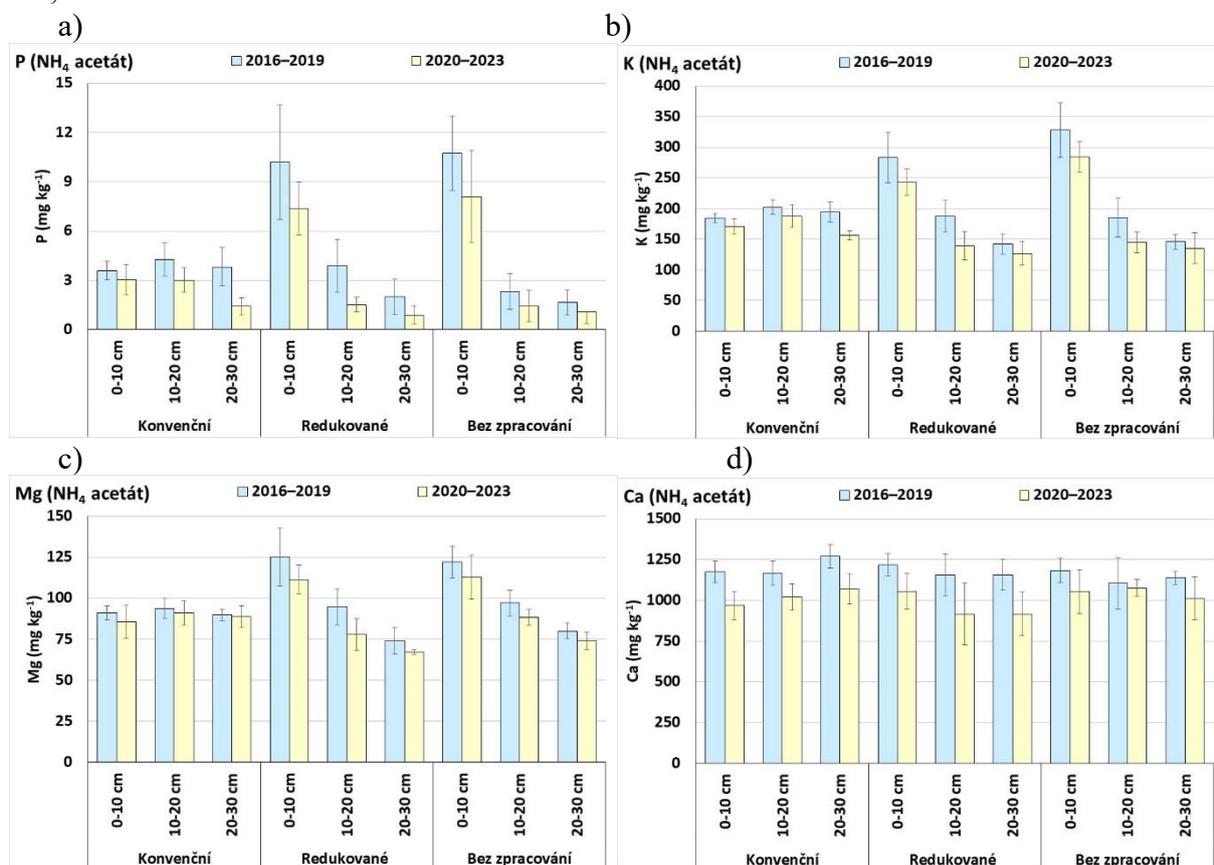


Obsah fosforu stanovený v octanu amonném byl přibližně desetkrát nižší než po extrakci metodou Mehlich 3, přičemž podobně jako u metody Mehlich 3 byl vyrovněnější ve sledovaných vrstvách půdního profilu u konvenčního zpracování, zatímco pokles obsahu P byl po extrakci v NH<sub>4</sub> acetátu u RT a NT zřetelnější než při stanovení metodou Mehlich 3 (Graf 1 a 2).

Snížení obsahu fosforu v období 2020-23 v porovnání s lety 2016-19 bylo zjištěno po stanovení oběma extrakčními metodami, jak Mehlich 3 i v octanu amonném. Toto snížení bylo patrné při stanovení výměnných podílů P dostupnějších pro rostliny. V předchozím období byly v suchých letech 2017 a 2018 zjištěny výnosy nižší o třetinu až polovinu v porovnání s běžnými lety. Není proto vyloučeno, že v půdě po nižším odběru rostlinami zůstalo více živin. Fosfor ale může negativně ovlivňovat vodní ekosystémy eutrofizací (Ryan et al., 2017). Fosfor v půdě je poměrně málo mobilní a snadno vytváří vazby s dalšími prvky v půdě. Redukované zpracování a půda bez zpracování pak napomáhají zabránit jeho případnému proplavení do

hlubších půdních vrstev. Navíc, obsah mobilnějšího P stanoveného octanem amonným, který se v hlubších vrstvách snižoval, tento trend potvrzuje.

**Graf 2a-d.** Obsah P, K, Mg a Ca v půdě po různých způsobech zpracování půdy stanovený v 0,5 M octanu amonném



V případě draslíku byla pozorována podobná distribuce živin jako u fosforu, tedy pokles obsahu K v hlubších vrstvách půdy u RT a NT v porovnání s CT. Celkově představoval obsah draslíku v hlubších vrstvách půdy u RT zhruba 60 % a u NT 50 % obsahu zjištěného u konvenčního zpracování. V poslední rotaci plodin byl obsah draslíku nižší v porovnání s rotací 2016-19. Tento pokles byl očekávaný s ohledem na snížení hnojení draslíkem od roku 2020.

V případě hořčíku byl trend obsahu Mg podobný jako u fosforu a draslíku, u RT a NT se snižoval s hloubkou půdního profilu. V případě obsahu Mg stanoveného v octanu amonném byl v období 2020-23 oproti rotaci plodin v letech 2016-19 zaznamenán mírný pokles, zatímco po stanovení metodou Mehlich 3 byl ve stejném období pozorován nárůst obsahu Mg. Dynamiku obsahu Mg v půdě mohlo částečně ovlivnit hnojení Mg, které je od roku 2020 aplikováno každoročně, které se zatím mohlo projevit pouze po stanovení touto metodou. V porovnání s ostatními živinami byl u vápníku zjištěn u redukovaného zpracování a u půdy bez zpracování opačný trend, tedy nárůst obsahu Ca v hlubších vrstvách půdy, který byl patrný především po stanovení obsahu Ca metodou Mehlich 3. U vápníku tak došlo k nárůstu v nejhlubší sledované vrstvě půdy 20-30 cm až o více než čtvrtinu. Naopak u výměnných frakcí Ca byl v hlubších vrstvách pozorován pokles obsahu vápníku, podobně pak byl pozorován pokles i v druhém sledovaném období 2020-23.

**Poměry živin.** Vzájemné poměry živin byly spočteny s využitím výměnných forem živin stanovených v octanu amonném. Vhodný vzájemný poměr K:Mg:Ca by měl být 1:2-3:10-15 (Loide, 2004; Matula, 2007). Vzájemný poměr K:Mg v dlouhodobém pokusu nebyl v půdách adekvátní u žádného zpracování půdy (Tabulka 1). Nejvyrovnanější byl u konvenčního orobného zpracování, kde dochází k obracení půdy. Pokud jde o redukované zpracování (RT) a půdu bez zpracování (NT), nejhorší poměr živin byl zjištěn v povrchové vrstvě 0-10 cm, kde byly současně zjištěny nejvyšší koncentrace draslíku. Z tohoto důvodu bylo hnojení draslíkem omezeno a do půdy začal být každoročně aplikován síran hořečnatý, který představuje především zdroj síry pro pěstovanou řepku, ale současně je významným zdrojem hořčíku. V hlubších vrstvách půdy se vzájemný poměr K:Mg zlepšoval. Vzájemný poměr živin ovlivňuje dostupnost živin pro rostliny. Pokud se obsah  $K^+$  v půdě zvyšuje, dostupnost hořčíku může být soutěží kationtů významně inhibována. Nesprávný poměr živin pak může ovlivnit vyplavení hořčíku a vápníku do hlubších vrstev půdního profilu při současné aplikaci NPK hnojiv, což dále může negativně ovlivnit intenzivní produkci plodin. Z těchto důvodů je potřebné hodnocení obsahu živin nejen z hlediska jejich obsahu v půdě, ale i správného vzájemného poměru. Snížení hnojení draslíkem vedlo k mírnému zlepšení tohoto poměru v období 2020-23 v porovnání s rotací plodin 2016-19.

Podobně jako poměr K:Mg, byl poměr K:Ca ovlivněn způsobem zpracování půdy, kde ve svrchní vrstvě 0-10 cm po RT a NT tento poměr nedosahoval ani 1:10 a byl u RT pouze 1:8,21 v letech 2016-19 a 1:8,15 v období 2020-23. V případě NT byl vzájemný poměr K:Ca nižší než 1:8 (Tabulka 1). Nepříznivý poměr živin v povrchové vrstvě půdy může negativně ovlivňovat strukturu půdy, vést k jejímu rozplavení. Pro udržení dobré struktury půdy je třeba dosáhnout optimálních poměrů živin. Živiny, které jsou v půdním profilu mobilní, jako je například vápník, je proto třeba pravidelně doplňovat. V případě vápníku lze použít například dolomitický vápenec, kde se současně do půdy dodá také hořčík.

**Tabulka 1:** K:Mg:Ca poměry živin u různých způsobů zpracování půdy.

Zpracování půdy	Hloubka (cm)	2016–2019	2020–2023
CT	0–10	1:1,55:11,92	1:1,70:11,83
	10–20	1:1,50:11,64	1:1,64:11,47
	20–30	1:1,57:12,31	1:1,89:13,61
RT	0–10	1:1,42: 8,21	1:1,49: 8,15
	10–20	1:1,74:12,81	1:1,82:12,66
	20–30	1:1,66:16,71	1:1,80:16,81
NT	0–10	1:1,21: 7,88	1:1,29: 7,21
	10–20	1:1,78:13,41	1:1,96:12,10
	20–30	1:1,77:16,06	1:1,81:14,49

Půdoochranné technologie zpracování půdy jsou stále častěji používány v souvislosti s klimatickou změnou. Jejich využívání snižuje emise  $CO_2$  z půdy, pomáhá zadržet vodu v půdě (Ferreira et al., 2009; Yao et al., 2023). Na druhou stranu konzervační způsoby zpracování půdy způsobují další problémy, mezi nimi je odlišné rozvrstvení živin v půdním profilu, a zejména jejich kumulování na povrchu půdy (Ferreira et al., 2009; Wright et al., 2007; Yang et al., 2024). Mezi živinami bylo největší rozvrstvení zjištěno u fosforu a draslíku (Wright et al., 2007), což je v souladu s dosaženými výsledky.

## Závěr

Dlouhodobý polní pokus ukázal, že v porovnání s konvenčním zpracováním půdy dlouhodobé používání bezorebných technologií zpracování půdy zvýšilo koncentrace P, K a Mg v povrchové vrstvě půdy. Naopak vápník se vyplavuje z povrchové vrstvy půdy a jeho obsah se zvyšuje v hlubších vrstvách. V případě vápníku byly změny snáze zjištělné při použití metody Mehlich 3. Při konvenčním zpracování jsou živiny v profilu půdy rozloženy rovnoměrněji. Vyšší koncentrace monovalentního kationtu  $K^+$  vedla k nevhodným poměrům živin v povrchové vrstvě půdy, což současně negativně ovlivnilo vzájemné poměry K:Mg:Ca. Povrchová vrstva u redukováného zpracování a půdy bez zpracování byla proto kvůli nevhodným poměrům K:Mg:Ca zranitelná, což negativně ovlivňovalo další vlastnosti půdy. V hlubších vrstvách se tyto poměry současně s poklesem obsahu draslíku zvyšovaly. Při hnojení plodin u bezorebně obhospodařovaných půd je proto nezbytné zohlednit nejen potřeby rostlin, ale také vliv jednotlivých živin na kvalitu povrchové vrstvy půdy, včetně její struktury. Při redukováném zpracování a na půdách bez zpracování by měly být obsahy živin a jejich vzájemné poměry hodnoceny ve více vrstvách půdy, což umožní odhalit případné problémy v horní vrstvě půdy, které musí být řešeny změnou hnojení. Tyto nesrovnalosti je obtížné určit klasickým odběrem vzorků půdy z celé půdní vrstvy 0–30 cm.

## Literatura

- Bauer P.J., Frederick J.R., Busscher W.J. (2002): Tillage effect on nutrient stratification in narrow- and wide-row cropping systems. *Soil Till. Res.*, 66, 175–182.
- Culman S.W., Brock C., Doohan D., Jackson-Smith D., Herms C., Chaganti V.N., Kleinhenz M., Sprunger C.D., Spargo J. (2021): Base cation saturation ratios vs. sufficiency level of nutrients: A false dichotomy in practice. *Agron. J.*, 113, 5623–5634.
- Chaganti V.N., Culman S.W., Herms C., Sprunger C.D., Brock C., Soto A.L., Doohan D. (2021): Base cation saturation ratios, soil health, and yield in organic field crops. *Agron. J.*, 113, 4190–4200.
- Chaganti V.N., Culman S.W. (2017): Historical perspective of soil balancing theory and identifying knowledge gaps: A review. *Crop Forage Turfgrass Manag.*, 3, 1–7.
- Ferreira E.V.D., Anghinoni I., Carvalho P.C.D., Costa S.E.V.G.D., Cao E.G. (2009): Soil potassium content in an integrated crop-livestock system under no-tillage with different grazing intensities. *Revista Bras. Ciencia Sol.*, 33, 1675–1684.
- Loide V. (2004): About the effect of the contents and ratios of soil's available calcium, potassium and magnesium in liming of acid soils. *Agronomy Res.*, 2, 71–82.
- Lv L.G., Gao Z.B., Liao K.H., Zhu Q., Zhu J.J. (2023): Impact of conservation tillage on the distribution of soil nutrients with depth. *Soil Till. Res.*, 225, 105527.
- Mehlich A. (1984): Mehlich 3 soil test extractant: A modification of Mehlich 2 extractant. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 15, 1409–1416.
- Matula J. (2007) Optimalizace výživného stavu půd pomocí diagnostiky KVK-UF. Metodika pro praxi. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha, 2007; 48p, ISBN 978-80-87011-16-4.
- Matula J. (2009): A relationship between multi-nutrient soil tests (Mehlich 3, ammonium acetate, and water extraction) and bioavailability of nutrients from soils for barley. *Plant Soil Environ.*, 55, 173–180.
- Soto A.L., Culman S.W., Herms C., Sprunger C., Doohan D. (2023): Managing soil acidity vs. soil Ca:Mg ratio: What is more important for crop productivity? *Crop Forage Turfgrass Manag.*, 9, e20210.
- Wright A.L., Hons F.M., Lemon R.G., McFarland M.L., Nichols R.L. (2007): Stratification of nutrients in soil for different tillage regimes and cotton rotations. *Soil Till Res.*, 96, 19–27.

- Yang F., He B., Dong B., Zhang G. (2024): Film mulched ridge–furrow tillage improves the quality and fertility of dryland agricultural soil by enhancing soil organic carbon and nutrient stratification. *Agric. Water Manag.*, 292, 108686.
- Yao Y., Li G., Lu Y., Liu S. (2023): Modelling the impact of climate change and tillage practices on soil CO<sub>2</sub> emissions from dry farmland in the Loess Plateau of China. *Ecol. Model.*, 478, 110276.
- Ryan M.H., Tibbett M., Lambers H., Bicknell D., Brookes P., Barrett-Lennard E.G., Ocampo C., Nicol D. (2017): Pronounced surface stratification of soil phosphorus, potassium and sulfur under pastures upstream of a eutrophic wetland and estuarine system. *Soil Res.*, 55, 657–669.
- Zbírál J. (2016): Determination of plant-available micronutrients by Mehlich 3 soil extractant— A proposal of critical values. *Plant Soil Environ.*, 62, 527–531.

**Poděkování:** Příspěvek byl zpracován s podporou projektů MZE NAZV č. QL24020149 a MZE-RO0425.

**Kontaktní adresa:**

Ing. Gabriela Mühlbachová, Ph.D.,  
Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i.,  
Drnovská 507/73,  
PSČ: 161 06 Praha 6 – Ruzyně,  
e-mail: gabriela.muhlbachova@carc.cz



## Změny v obsahu půdní organické hmoty u aluviální půdy při různém způsobu hospodaření

Changes of soil organic matter in different management systems

Plisková, J.<sup>1,3</sup>, Pospíšilová, L.<sup>3,4</sup>, Dryšlová, T.<sup>2</sup>, Sedlák, L.<sup>4</sup>, Menšík, L.<sup>1</sup>, Rábek, M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i., Obhospodařování a využívání trvalých travních porostů, VS Jevíčko, K. H. Borovského 461, 569 43 Jevíčko

<sup>2</sup>Mendelova univerzita v Brně, AF, Ústav agrosystémů a bioklimatologie, Zemědělská 1, 613 00 Brno

<sup>3</sup>Mendelova univerzita v Brně, AF, Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin, Zemědělská 1, 61200 Brno, e-mail: xplisko2@mendelu.cz

<sup>4</sup>Mendelova univerzita v Brně, LDF, Ústav geologie a pedologie, Zemědělská 3, 613 00 Brno

### Abstrakt

V průběhu let 2017-2023 byl hodnocen vliv monokulturního hospodaření na množství a kvalitu půdní organické hmoty. Dlouhodobý stacionární polní pokus je veden od roku 1969 na Polní pokusné stanici v Žabčicích Mendelovy univerzity v Brně. Odběr půdních vzorků byl prováděn v hloubkách 0-15 po sklizni jarního ječmene (*Hordeum vulgare* L.) při pěstování v dlouhodobé monokultuře a v osením postupu Norfolk. Celkový obsah uhlíku byl stanoven oxidimetricky a obsah humusových látek byl stanoven metodou krátké frakcionace. Statistické zpracování dat bylo provedeno pomocí ANOVA (Tuckey, Fisher LSD, Scheffe, Duncan, HSD) v programu Statistica 14.0 (TIBCO, Inc.). V průběhu sledovaného období bylo zjištěno, že monokulturní pěstování vede k průkaznému poklesu obsahu humusových látek. Důsledkem toho dochází k poklesu výměnné půdní reakce a snížení zásob uhlíku v půdě. Vyšší zásoby organického uhlíku vykazuje osevní postup Norfolk. Rozdíly v kvalitě (stupeň humifikace, Q4/6) půdní organické hmoty mezi sledovanými variantami nebyly průkazně odlišné.

**Klíčová slova:** fluvizem glejová, dlouhodobý polní pokus, ječmen jarní, monokultura, Norfolkský osevní postup

### Abstract

During the years 2017-2023, the influence of monoculture farming on the quantity and quality of soil organic matter was evaluated. A long-term stationary field experiment has been conducted since 1969 at the Field Experimental Station in Žabčice of Mendel University in Brno. Soil samples were taken at depths of 0-15 after the harvest of spring barley (*Hordeum vulgare* L.) when grown in long-term monoculture and in the Norfolk axial rotation. The total carbon content was determined oxidimetrically and the content of humus substances was determined by the short fractionation method. Statistical data processing was performed using ANOVA (Tuckey, Fisher LSD, Scheffe, Duncan, HSD) in the Statistica 14.0 program (TIBCO, Inc.). During the monitored period, it was found that monoculture farming leads to a significant decrease in the content of humus substances. As a result, there is a decrease in the soil exchange reaction and a decrease in carbon stocks in the soil. Higher organic carbon stocks are shown by the Norfolk crop rotation. Differences in the quality (degree of humification, Q4/6) of soil organic matter between the monitored variants were not significantly different.

**Keywords:** fluvial glei, long-term field trial, spring barley, monoculture, Norfolk crop rotation

### Úvod

Dlouhodobé polní pokusy mohou nejlépe dokumentovat konkrétní dopady hospodaření na půdní vlastnosti a pomoci v rozhodování v různých systémech hospodaření o jejich udržitelnosti (Křen et al., 2015). Dehumifikace a úbytek zapravované organické hmoty patří k nejčastější formě degradace našich půd. Tento problém souvisí s půdně-klimatickými faktory a se změnou klimatu obecně, a je často umocněn nevhodným způsobem hospodaření. Jedná se zejména o monokulturní způsob hospodaření a nedostatečnou aplikaci organických hnojiv (Prudil et al., 2023). I když humusové látky prošly procesem humifikace a jsou relativně odolné vůči rozkladu, za jistých podmínek mohou podléhat rozkladu (např. nárůst teploty spojený se

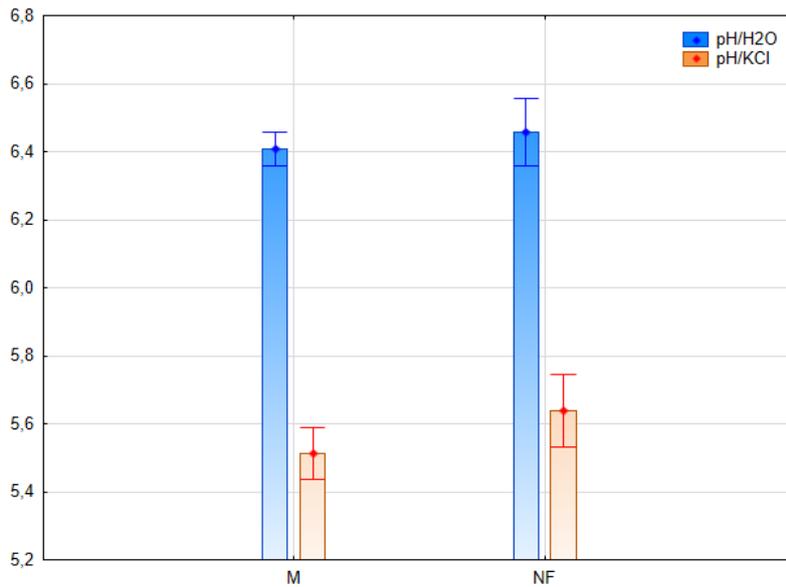
změnou klimatu). Vliv globální změny klimatu je dnes široce diskutován i v souvislosti se sekvestrací uhlíku do půdy (Campbell and Paustian, 2015; Rogers et al, 2019; Valkama et al., 2020). Podle Koven et al. (2017) a Allen et al. (2013) může zvýšení teploty vzduchu výrazně urychlit mineralizaci organických látek a zpomalit humifikační procesy, což výrazně ovlivní jeho zásoby v půdě. Jestli ale bude půda zdrojem nebo uložištěm uhlíku závisí i na dalších faktorech, jako půdní typ, textura, počáteční zásoba organického uhlíku, agrotechnické postupy a bezorební systémy, osevní postup a vstupy posklizňových a organických zbytků apod. (Banwart et al., 2015; Kunlanit et al., 2019). Lze předpokládat, že množství a kvalita humusových látek přímo souvisí se způsobem hospodaření a ovlivňuje půdní reakci intenzivně obhospodařovaných půd. Proto je úkolem správného hospodaření doplňovat zásoby organických látek, dodržovat osevní postup a zvolit vhodné agrotechnické postupy k ochraně produkční schopnosti půdy. Cílem výzkumu je vyhodnotit výsledky dlouhodobých polních pokusů (2017-2023) a poukázat na změny vybraných parametrů půdní organické hmoty. Hodnoceny budou tyto parametry – celkové množství organického uhlíku, humusových látek, HK/FK, stupeň humifikace, Q4/6.

### **Materiál a metody**

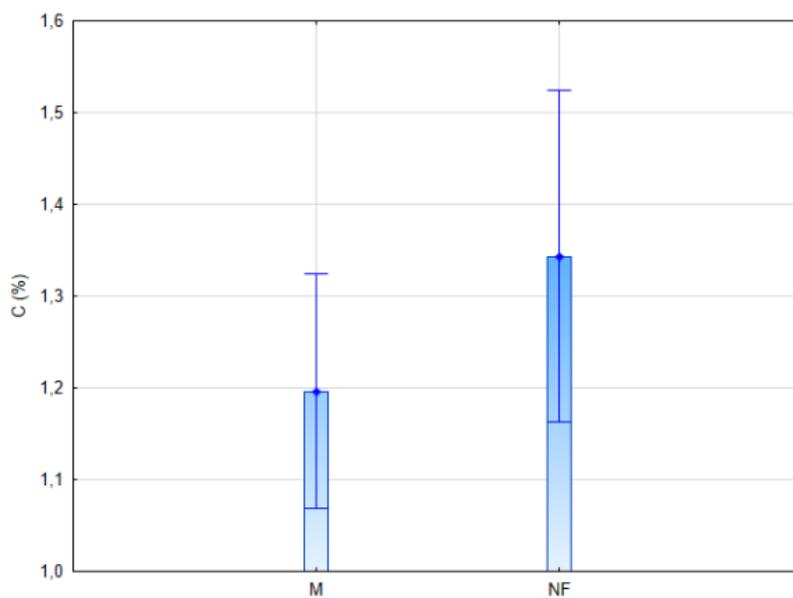
Dlouhodobé stacionární pokusy vedené Ústavem agrosystémů a bioklimatologie na polní pokusné stanici v Žabčicích byl založen na podzim v r. 1969, je veden metodou dělených dílců, jejichž velikost je 5,3 m x 7 m. Je zde sledováno více antropogenních vlivů na půdu (např. rozdílné osevní postupy, aplikace různých dávek minerálního dusíku, hospodaření s posklizňovými zbytky, zapravení slámy, různé způsoby zpracování půdy apod.). Odběry půdních vzorků (0-10 cm) byly prováděny v létě po sklizni v průběhu let 2017-2023 na variantě monokultura jarního ječmene (*Hordeum vulgare* L.) a v osevním postupu Norfolk. Byly použity tyto standardní analytické metody. Aktivní a výměnná půdní reakce podle Zbiral a kol. (2011). Celkový obsah organického uhlíku byl stanoven oxidimetrickou titrací (Nelson and Sommers, 1996). Množství a kvalita humusu byly stanoveny krátkou frakcionací podle Kononova a Bělčikova (1963). Stupeň humifikace (SH) byl vypočítán jako poměr obsahu HK/Corg \* 100 (%). Barevný index Q4/6 byl vypočítán jako poměr absorbance při 445 nm a 665 nm v UV-VIS oblasti spektra s využitím UV-VIS spektrofotometru Varian Carry 50 Probe s optickým vláknem. Ke statistickému vyhodnocení dat byl využit program Statistica 14.0 (TIBCO, Inc.) a byly využity Fisher LSD, Scheffe, Duncan, HSD a Tuckey test.

### **Výsledky a diskuse**

Fluvizem glejová má střední obsah humusu (2,5 %). Jedná se o zrnitostně těžkou, jílovitohlinitou půdu. Aktivní půdní reakce je slabě kyselá (6,40 – 6,45) a výměnná půdní reakce je kyselá (5,51 – 5,63) – viz obr 1. Statistický rozdíl byl zaznamenán u výměnné půdní reakce. Aktivní půdní reakce nevykazovala statisticky významné rozdíly. U monokultury (M) ječmene jarního (*Hordeum vulgare* L.) a Norfolk (NF) byl dále hodnocen celkový obsah organického uhlíku a výsledky jsou dokumentovány na obr. 2. Patrný je vyšší obsah organického uhlíku na variantě Norfolk v porovnání s monokulturou ječmene jarního. Rozdíly jsou statisticky neprůkazné.

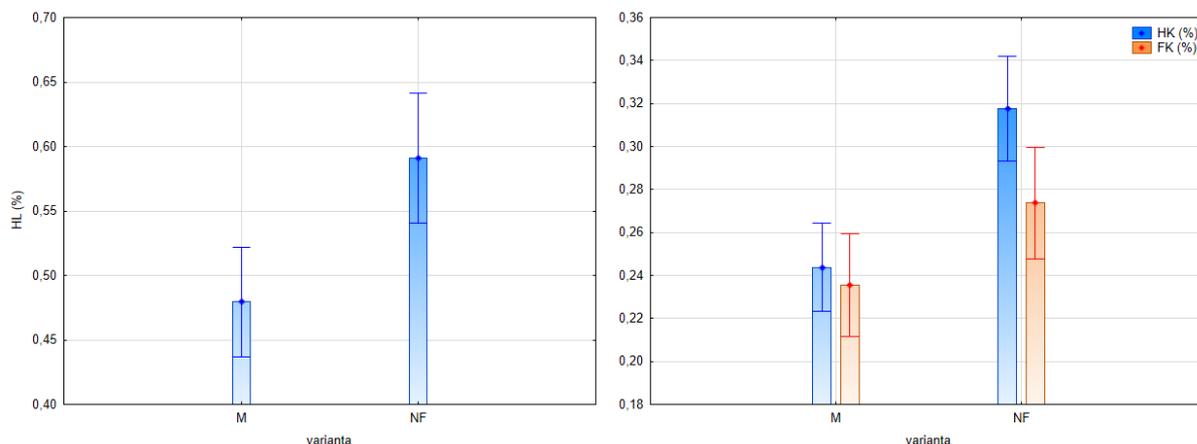


Obr. 1. Průměrné hodnoty aktivní (pH/H<sub>2</sub>O) a výměnné (pH/KCl) reakce za období 2017–2023 (kde: M=monokultura ječmene jarního; N=Norfolkský osevní postup)



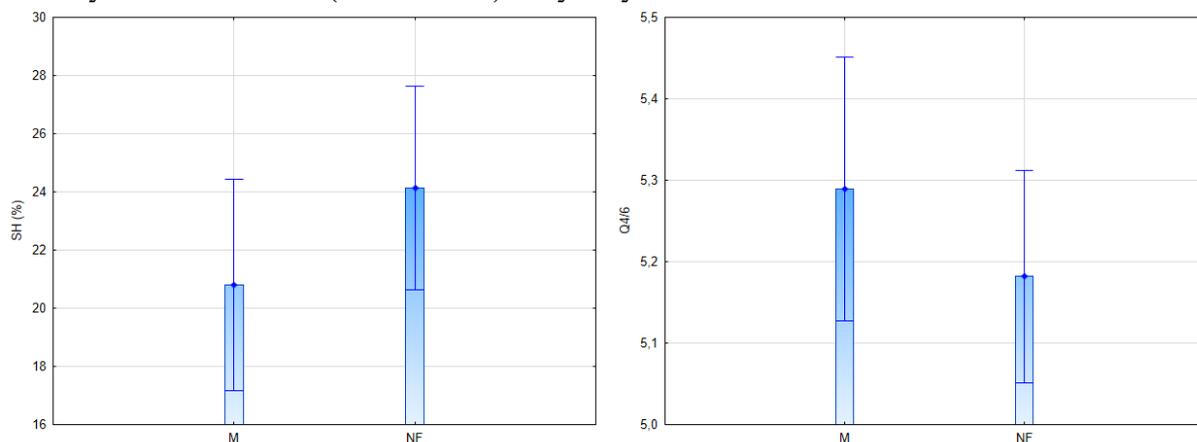
Obr. 2. Průměrný obsah organického uhlíku za období 2017-2023 (kde: M=monokultura ječmene jarního; N=Norfolkský osevní postup)

Stanovený obsah humusových látek (HL) a poměr obsahu huminových kyselin (HK) a fulvokyselin (FK) uvádíme na obr. 3a, b. Obsah HL v Norfolku (0,59 %) byl statisticky průkazně nižší než monokultuře ječmene jarního (0,47 %). Statisticky významný rozdíl byl zaznamenán i u poměru HK/FK. Průměrný obsah HK u Monokultury činil 0,24 % a obsah FK dosahoval 0,23 %. Norfolk vykazoval značně vyšší obsahy kyselin (HK – 0,31 %; FK – 0,27 %), což se projeví vyšší hodnotou poměru HK/FK.



Obr. 3a, b. Průměrný obsah humusových látek a poměr HK/FK za období 2017-2023 (kde: M=monokultura ječmene jarního; N=Norfolkský oseední postup; HL=humusové látky; HK= huminové kyseliny; FK= fulvokyseliny)

Na obrázku 4a je dán stupeň humifikace (SH %). U varianty Monokultura byla průměrná hodnota kolem 20 %. Vyšší SH byl u varianty Norfolk (24,12 %). Rozdíly jsou statisticky neprůkazné. Dále byl sledován barevný index (Q4/6). Hodnoty se pohybovaly od 5,18 – 5,28 a nevykazovaly žádný statisticky průkazný rozdíl mezi variantami. Lze tedy konstatovat, že rozdíly v obsahu humusových látek jsou významné, ale kvalita humusových látek daná barevným indexem a SH (viz. Obr. 4b) nebyla významně ovlivněna.



Obr. 4 a, b. Průměrná hodnota stupně humifikace a barevný index za období 2017-20243(kde: M=monokultura ječmene jarního; N=Norfolkský oseední postup; SH=stupeň humifikace; Q4/6=barevný index)

Výsledky dlouhodobých pokusů v Žabčicích ukazují na pokles obsahu uhlíku a humusových látek v půdě v případě monokulturního pěstování jarního ječmene. Norfolkský oseední postup ale rovněž vyžaduje doplňování zásob organické hmoty. Toto bylo prokázáno modelováním a predikcí zásob organického uhlíku na dané lokalitě do roku 2100 (Prudil et al. 2023). Byly modelovány různé způsoby hospodaření, různé vstupy organických zbytků a hnojení a různé klimatické scénáře. Bylo prokázáno, že pouze při dodržování oseedních postupů a dodávání externí organické hmoty lze v budoucnu na dané lokalitě udržitelně hospodařit. Monokulturní hospodaření by znamenalo výrazný pokles zásob uhlíku po roce 2050. Podobné výsledky publikovali Maillard a Angers (2014) a Poeplau a Don (2015). Zdůrazňují, že dodržování oseedního postupu, zaorávání posklizňových zbytků a aplikace externí organické hmoty vede ke stabilizaci obsahu uhlíku anebo k jeho zvýšené sekvestraci. Tiefenbacher et al. (2021) uvádí, že po aplikaci kompostu roste sekvestrace uhlíku, ale aplikace minerálních hnojiv a bezorebné

hospodaření nemají vliv na sekvestraci uhlíku. Zjištěné výsledky výzkumu jsou v souladu s těmito doporučeními a výsledky.

### **Závěr**

Způsob hospodaření má přímý vliv na množství sekvestrovaného uhlíku. V důsledku toho se monokulturní a konvenční hospodaření stávají neudržitelnými a vedou k poklesu zásob uhlíku v půdě. Vše je umocněno globální změnou klimatu a zvyšováním teploty, což vede k intenzivnější mineralizaci a rozkladu půdní organické hmoty. Výsledky výzkumu ukazují, že bez aplikace externích zdrojů organických látek, dodržování agrotechnických opatření a osevních postupů mohou postupně klesat zásoby organického uhlíku. Tím je ohrožena produkční schopnost půdy, která je klíčová pro produkci a zdraví půdy.

### **Dedikace a poděkování**

Práce vznikla s podporou projektů: NAZVA QK21010124 "Půdní organická hmota – indikátory kvality"; TAČR FW0601006 "Semiautonomní systém optimalizace degradovaných půd hloubkovou injektáží" a MZE-RO045, IGA25-AF-IP-053.

### **Použitá literatura**

- Allen D., Pringle M. J., Bray S., Hall J., O'Reagain P. O., Phelps D., Cobon D. H., Bloesch P. M., Dalal R.C. 2013. What determines soil organic carbon stocks in the grazing lands of north-eastern Australia? *Soil Research*, 51: 695–706.
- Banwart A. S., Noellemeyer E., Milne E. 2015. The Global Challenge for Soil Carbon. *Science, Management and Policy for Multiple benefits SCOPE Series volume 71*: 1-10.
- Campbel E. E., Paustian K. 2015. Current developments in soil organic matter modelling and the expansion of model applications: a review. *Environ. Res. Lett.*, 10: 123004.
- Koven C., Hugelius G., Lawrence D. M., Wiede W. 2017. Higher climatological temperature sensitivity of soil carbon in cold than warm climates. *Nature Climate Change*, 7: 817.
- Kononova, M. M., Belchikova, N. P. 1963. Organiceskoje vescestvo pocvy (Soil organic matter). Moscow, AN SSSR, 228-234. (In Russian).
- Křen J., Neudert L., Procházková B., Smutný V., Hůla J. 2015. *Obecná produkce rostlinná*. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2015. ISBN 978-80-7509-325-7.
- Kunlanit B., Butnan S., Vityakon P. 2019. Land-use changes influencing C sequestration and quality in topsoil and subsoil. *Agronomy*, 9: 520.
- Maillard, E., Angers, D. 2014. Animal manure application and soil organic carbon stocks: a meta-analysis. *Glob. Chang. Biol.*, 20, 666-679.
- Nelson, D. W., Sommers, L. E. 1982. Total carbon, organic carbon and organic matter. In: Sparks DL (Ed.). *Methods of soil analysis. Part 3. Chemical methods*. Madison: Soil Science Society of America. 961-1010.
- Poeplau, C., Don, A. 2015. Carbon sequestration in agricultural soils via cultivation of cover-crops. A meta-analysis. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 200, 33-41.
- Prudil, J., Pospíšilová, L., Dryšlová, T., Barančíková, G., Smutný, V., Sedlák, L., Ryant, P., Hlavinka, P., Trnka, M., Halas, J., Koco, Š., Jozef Takáč, J., Boturová, K., Dušková, S., Neudert, L., Rábek, M. 2023. Assessment of carbon sequestration as affected by different management practices using the RothC model. *Plant, Soil and Environment* 69(11), 532-544. ISSN 1214-1178. Dostupné z: <https://doi.org/10.17221/291/2023-PSE>.
- Rogers D., Setzler B., Yi-Wen Chiu. 2019. Using Plant Advances in *Environ. Studies*.vol. 3, Issue 1, 191-197.
- Tiefenbacher, A., Sandén, T., Haslmayr, H. P., Miloczki, J., Walter Wenzel., W., Spiegel, H. 2021. Optimizing Carbon Sequestration in Croplands: A Synthesis. *Agronomy* 2021, 11(5), 882; <https://doi.org/10.3390/agronomy11050882>.

- Valkama E., Kunyupiyeva G., Zhapayev R., Karabayev M., Zhusupbekov E., Perego A., Schillaci C., Sacco D., Moretti B., Grignani C., Acutis M. 2020. Can conservation agriculture increase soil carbon sequestration? A modelling approach. *Geoderma*, 369: 114298.
- Zbiral J., Malý S., Váňa M. a kol. 2011. Analýza půd III. Jednotné pracovní postupy ÚKZÚZ. Brno, Národní referenční laboratoř. 3. přepracované a rozšířené vydání. ISBN 978-80-7401-044-6.

**Kontaktní adresa**

Ing. Jana Plisková  
Mendelova univerzita v Brně  
Ústav APMVR  
Zemědělská 1  
613 00 Brno  
e-mail: [xplisko2@mendelu.cz](mailto:xplisko2@mendelu.cz)

## Hodnocení růstové dynamiky intenzivně ošetřovaného trávníku v kolekci genetických zdrojů kostřavy červené (*Festuca rubra* agg.)

Evaluation of growth dynamics of intensively managed turf in the red fescue genetic resource collection

Raab S.<sup>1</sup>, Macháč R.<sup>2</sup>, Ježková V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>OSEVA PRO s.r.o., Výzkumná stanice travinářská Zubří,

<sup>2</sup>OSEVA vývoj a výzkum s.r.o., Zubří

### Abstrakt

V letech 2023 až 2025 byl hodnocen průměrný denní přírůstek trávníku u 15 odrůd kostřavy červené (*Festuca rubra* agg.) z kolekce genetických zdrojů firmy OSEVA PRO s.r.o., Výzkumné stanice travinářská Zubří. Polní pokus byl založen v roce 2022 v lokalitě Zubří (49°27'57"N, 18°4'51"E, nadmořská výška 345 m, dlouhodobý průměr ročního úhrnu srážek 865 mm, průměrná roční teplota 7,5 °C). Porosty byly udržovány v intenzivní variantě trávníkového režimu. Průměrné denní přírůstky se pohybovaly v rozmezí 5,23–9,71 mm/den v závislosti na pořadí seče a odrůdě. Mezi hodnocenými odrůdami byly zjištěny statisticky významné rozdíly. Nejvyšší přírůstky vykazovaly odrůdy ADIO a PETRUNA (až 10,7 mm/den), zatímco nejnižší hodnoty byly zaznamenány u odrůd BARISAN a ROZÁRKA (5,6–6,9 mm/den). Výsledky potvrdily stabilní růstovou výkonnost a adaptabilitu vybraných odrůd napříč ročníky.

**Klíčová slova:** intenzivní trávník, rychlost růstu, *Festuca rubra*, kostřava červená, genetické zdroje

### Abstract

Between years 2023 and 2025, the average daily turf growth of 15 varieties of red fescue (*Festuca rubra* agg.) from the genetic resource collection of OSEVA PRO s.r.o., Zubří Grassland Research Station was evaluated. The field experiment was established in 2022 in the Zubří location (49°27'57"N, 18°4'51"E, altitude 345 m, long-term average annual precipitation 865 mm, average annual temperature 7.5 °C). The stands were maintained in an intensive variant of the turf regime. The average daily growth ranged from 5.23–9.71 mm/day depending on the mowing order and variety. Statistically significant differences were found between the evaluated varieties. The highest growth rates were recorded for ADIO and PETRUNA varieties (up to 10.7 mm/day), while the lowest values were recorded for BARISAN and ROZÁRKA varieties (5.6–6.9 mm/day). The results confirmed the stable growth performance and adaptability of the selected varieties across years.

**Keywords:** intensive turf, growth rate, *Festuca rubra*, red fescue, genetic resources

### Úvod

Genetické zdroje rostlin představují materiál rostlinného původu ve formě šlechtěných a krajových odrůd, planých druhů a forem, který má současné nebo potenciální využití a zasluhuje proto ochranu a zachování pro budoucnost. Shromažďování a uchovávání genetických zdrojů má význam pro získání donorů cenných vlastností (Roudná a Dotlačil, 2007).

Kostřava červená (*Festuca rubra* agg.) patří mezi nejvýznamnější trávníkové druhy, protože díky svým vlastnostem je velmi přizpůsobivá různorodým stanovištním podmínkám. V přirozených porostech se s ní můžeme setkat od suchých nížinných luk až po vlhké horské louky a pastviny. Vyznačuje se vytrvalostí, odolností k suchu a zastínění, toleruje nízké pH půdy, má malou náročnost na živiny, ale také na klimatické a půdní podmínky. Bylo také prokázáno, že má vyšší odolnost k zasolení půdy. K nevýhodám patří nižší odolnost k zatěžování trávníku a náchylnost k některým travním chorobám (kornatka travní, rez korunkatá aj.). V poslední době jsou však udávány novější kultivary z USA se zvýšenou odolností k zátěži. Naopak v nezatežovaných a nehnojených porostech je konkurenčně silná až agresivní a je schopná ostatní druhy vytlačovat. Nevýhodou je také poměrně krátká životnost osiva a s tím související rychlé

snížování klíčivosti semen. Morfologicky a cytologicky se rozlišuje na tři formy: kostřavu červenou trsnatou (*F. rubra* ssp. *commutata*), k. č. krátce výběžkatou (*F. trichophylla*) a k. č. dlouze výběžkatou (*F. rubra* ssp. *rubra*). Taxonomická problematika uvedených poddruhů je ovšem poměrně komplikovaná, což je způsobeno i nejednotností mezi zemědělským a botanickým názvoslovím. Trsnaté a krátce výběžkaté odrůdy se využívají především v okrasných a sportovních trávnících (golfová jamkoviště). Dlouze výběžkaté odrůdy nalézají uplatnění v krajinných a užitkových trávnících (Braun a kol., 2020; Hrabě a kol., 2009; Kaplan a kol., 2019; Krahulec, 2019; Ševčíková, 2010).

OSEVA PRO s.r.o., Výzkumná stanice travinářská v Zubří je v rámci ČR kurátorem genofondové sbírky travin, ve které je kolekce kostřavy červené tvořena v současnosti 233 dostupnými položkami, z toho 38 ekotypů a 195 odrůd. Kolekce je tvořena 102 genotypy trsnaté formy, 43 krátce výběžkatými genotypy a 88 genotypy dlouze výběžkaté formy (GRIN Czech, 2025). Ve Státní odrůdové knize ČR bylo k 30. 6. 2025 zapsáno celkem 61 odrůd, z toho 55 odrůd nebylo určených k využití jako pícnina (trávníkové odrůdy). Všechny získané genetické zdroje pro trávníkové využití jsou hodnoceny v intenzivní variantě polního pokusu, kde jsou hodnoceny specifické znaky. Hodnocení genetických zdrojů trav je nezbytným předpokladem pro jejich praktické využití ve šlechtění a výzkumu.

Cílem práce bylo vyhodnotit přírůstky kostřavy červené v jednotlivých sečích a hodnocení přírůstku trávníku u jednotlivých odrůd kostřavy červené v letech 2023–2025.

### **Materiál a metody**

Maloparcelkový polní pokus byl založen 3. května 2022 v katastru města Zubří a výška trávníku po každé seči byla hodnocena v letech 2023–2025. Vzhledem k omezenému množství osiva genetických zdrojů byl pokus založen ve 2 znáhodněných opakováních s velikostí jednotlivých parcel 1,5 m<sup>2</sup>. Výsev byl proveden ručně s následným zaválením ručním rýhovaným válcem a výsevné množství bylo stanoveno na základě užitné hodnoty osiva. Termíny sečí intenzivní varianty trávníkového pokusu probíhaly podle Metodiky práce s kolekcemi genetických zdrojů travin, která je součástí Rámcové metodiky pro práci s genetickými zdroji rostlin (Holubec a kol., 2015). Termíny sečí: zjara každý týden, od poloviny června po 10–14 dnech. Termíny sečí byly přizpůsobovány aktuálnímu stavu porostů a meteorologickým podmínkám. Celkem bylo v roce 2023 provedeno 18 sečí, v roce 2024 byly porosty posečeny 18x a v roce 2025 byl posečeny 11x. Pokusy byly hnojeny 4x ročně speciálními trávníkovými hnojivy Lovogreen NPK 20-5-8+2MgO (1. termín březen/duben, 2. termín květen/červen) a Lovogreen NPK - 10-5-20+4MgO (1. termín srpen, 2. termín říjen). Celková roční aplikovaná dávka základních živin: N 20,4 g.m<sup>-2</sup>, P (ve formě P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) 3,0 g.m<sup>-2</sup>, K (ve formě K<sub>2</sub>O) 16,2 g.m<sup>-2</sup>, Mg (ve formě MgO) 3,0 g.m<sup>-2</sup>. Trávníkové pokusy byly sečeny rotační travní sekačkou na výšku strniště 22 mm, nebo 31 mm (větší výška při zhoršeném stavu porostu v letním období – sucho). Před každou sečí bylo provedeno změření výšky trávníku. Rychlost růstu jednotlivých odrůd pak byla vypočtena jako rozdíl mezi výškou trávníku v další seči a výškou strniště předchozí seče, výsledná hodnota se poté vydělila počtem dnů mezi sečemi. Tímto způsobem bylo hodnocení prováděno podle klasifikátoru pro trávy (Ševčíková, Šrámek, Faberová, 2002). Seznam, původ a růstová forma hodnocených odrůd kostřavy červené jsou uvedeny v tabulce 1. Teplotní a srážkový průběh počasí v letech 2023–2025 je uveden v tabulce 2.

Získané výsledky byly statisticky zhodnoceny základními popisnými statistickými metodami a jednofaktorovou i vícefaktorovou analýzou variance ANOVA v programu STATISTICA CZ. Statistická významnost rozdílů středních hodnot u všech porovnávaných skupin byla zhodnocena pomocí Tukeyova HSD testu na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

**Tabulka 9: Hodnocené odrůdy kostřavy červené**

Druh	Odrůda	Původ	Forma
<i>Festuca rubra</i> var. <i>commutata</i>	BARBORKA	CZE	trsnatá
<i>Festuca rubra</i> var. <i>commutata</i>	BARISAN	NLD	trsnatá
<i>Festuca rubra</i> var. <i>commutata</i>	CASANOVA	DNK	trsnatá
<i>Festuca rubra</i> var. <i>commutata</i>	COMPASS II	USA	trsnatá
<i>Festuca rubra</i> var. <i>commutata</i>	DANCING	NLD	trsnatá
<i>Festuca rubra</i> var. <i>commutata</i>	ROZÁRKA	CZE	trsnatá
<i>Festuca rubra</i> var. <i>rubra</i>	PETRUNA	CZE	dlouze výběžkatá
<i>Festuca rubra</i> var. <i>rubra</i>	ADIO	POL	dlouze výběžkatá
<i>Festuca rubra</i> var. <i>rubra</i>	CARDINAL II	USA	dlouze výběžkatá
<i>Festuca rubra</i> var. <i>rubra</i>	MAXIMA 1	DNK	dlouze výběžkatá
<i>Festuca rubra</i> var. <i>trichophylla</i>	VIKTORKA	CZE	krátce výběžkatá
<i>Festuca rubra</i> var. <i>trichophylla</i>	BARQUESS	NLD	krátce výběžkatá
<i>Festuca rubra</i> var. <i>trichophylla</i>	HANKA	CZE	krátce výběžkatá
<i>Festuca rubra</i> var. <i>trichophylla</i>	LAROMA	SVK	krátce výběžkatá
<i>Festuca rubra</i> var. <i>trichophylla</i>	OLA	CZE	krátce výběžkatá

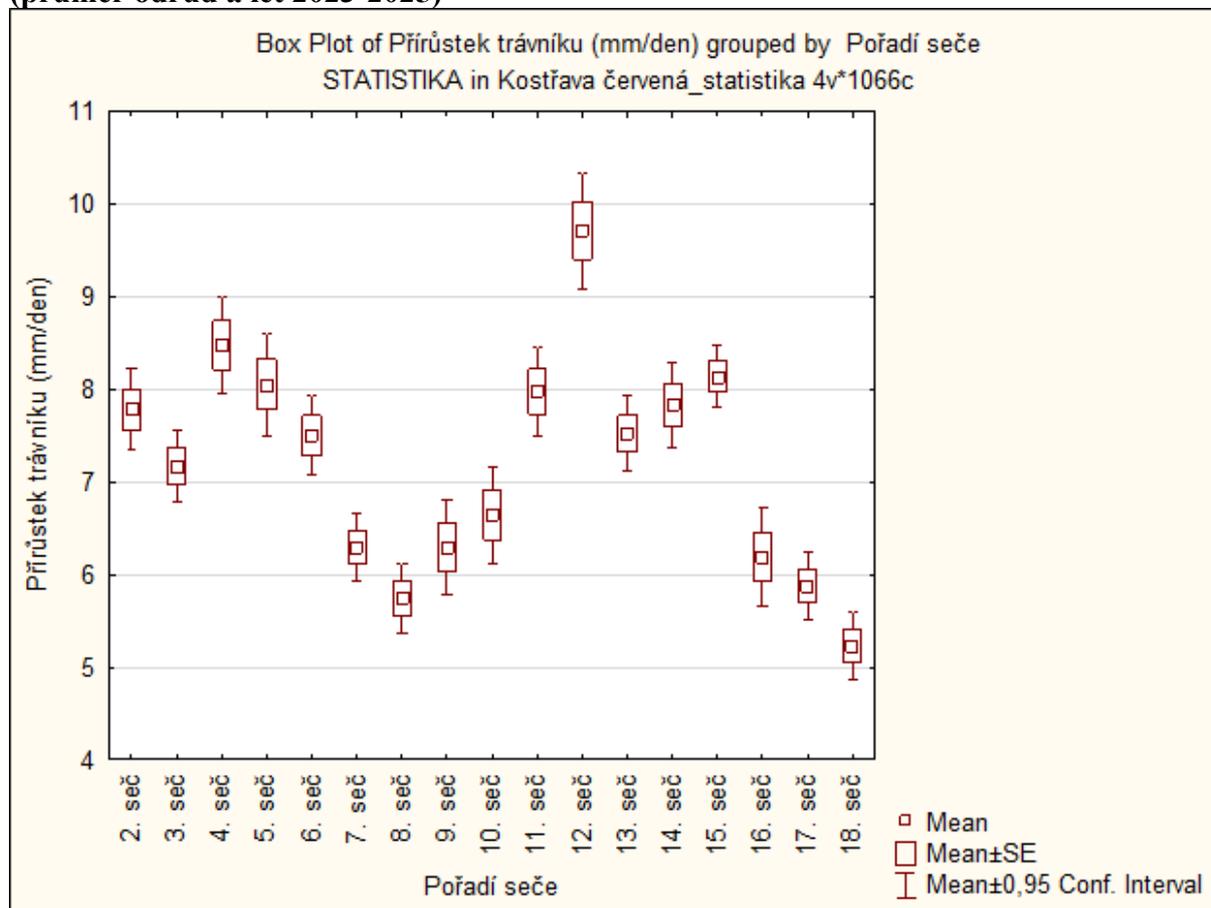
**Tabulka 10: Meteorologická charakteristika období 2023–2025 na lokalitě Zubří; srovnání se standardními klimatologickými normály (1961–1990)**

Měsíc	Průměrná teplota vzduchu ([C°]				Úhrn srážek [mm]			
	Normal	2023	2024	2025	Normal	2023	2024	2025
Leden	-2,6	2,4	-0,1	1,9	46,3	68,8	65,74	-7,96
Únor	-1	1,2	6,9	-0,3	48,7	27,2	43,44	-29,4
Březen	2,5	5,4	8,1	6,6	47,9	24,48	31,44	0,16
Duben	7,5	7,3	11,1	10,9	61,2	38,66	69,84	-35,64
Květen	12,5	12,6	15,7	11,5	92,4	72,24	54,82	3,88
Červen	15,3	17,9	19,1	19,1	114,7	24,96	171,7	-17,2
Červenec	16,7	20,6	21,2	19,1	113,9	60,72	55,74	16,56
Srpen	16,2	19,7	21,1	18,7	102,1	163,92	79,44	-35,5
Září	13	17,8	16,0		62,5	15,12	244,08	
Říjen	8,4	12,5	10,6		50,3	66,24	32,64	
Listopad	3,3	5,0	3,1		66,2	75,68	46,8	
Prosinec	-0,9	2,6	1,3		58,3	71,6	24,2	

## Výsledky a diskuze

Přírůstky kostřavy červené v jednotlivých sečích a v průměru tří let a všech odrůd jsou znázorněny v grafu 1.

**Graf 3: Dynamika rychlosti růstu trávniku kostřavy červené v jednotlivých sečích (průměr odrůd a let 2023-2025)**



Na základě výsledků hodnocení přírůstku trávniku v závislosti na pořadí seče byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými sečemi (Tukey HSD test,  $\alpha = 0,05$ ). Průměrné denní přírůstky se pohybovaly v rozmezí od 5,23 mm/den do 9,71 mm/den. Nejvyšší přírůstek byl zaznamenán u 12. seče (9,71 mm/den), která se statisticky významně lišila od většiny ostatních sečí. Zvýšené hodnoty byly dále pozorovány u 5. (8,47 mm/den) a 15. seče (8,13 mm/den), které rovněž patřily mezi výnosově nejvyšší období vegetace. Naopak nejnižší přírůstky byly zaznamenány u 18. (5,23 mm/den) a 7. seče (5,74 mm/den). Celkově lze sledovat trend kolísání růstu během sezóny, kdy se po úvodním mírném poklesu (6.–8. seč) objevuje výrazný nárůst kolem 10.–12. seče, následovaný opětovným poklesem směrem ke konci vegetačního období.

Tento vývoj odpovídá přirozenému průběhu růstu travních porostů, který je ovlivněn zejména klimatickými podmínkami, dostupností vláhy a teplotním režimem. Vrchol růstu uprostřed sezóny souvisí s optimální kombinací teploty, vlhkosti a dostatku živin po předchozích sečích, zatímco pokles přírůstku na konci sezóny lze přičíst zhoršujícím se vegetačním podmínkám, kratším dnům a vyčerpání regenerační kapacity rostlin.

Podobný průběh intenzity růstu kostřavy červené uvádí také John a kol. (2012), podle něhož se jedná o druh s časným a intenzivním jarním růstem, u kterého nastává do poloviny letního období zpomalení růstu a od pozdního léta dochází opět k intenzivnějšímu růstu, který trvá až do výskytu mrazů.

Výsledky hodnocení přírůstku trávníku u jednotlivých odrůd kostřavy červené v letech 2023–2025 (Tabulka 3) ukazují, že mezi sledovanými odrůdami existují statisticky významné rozdíly v intenzitě růstu (Tukey HSD,  $\alpha = 0,05$ ). Průměrné denní přírůstky se v jednotlivých letech pohybovaly přibližně v rozmezí 5,6–10,7 mm/den, přičemž hodnoty se mezi roky mírně lišily.

**Tabulka 11: Přírůstek trávníku u odrůd kostřavy červené v letech 2023-2025**

Odrůda	2023		2024		2025	
	Přírůstek trávníku (mm/den)	Statistická průkaznost *	Přírůstek trávníku (mm/den)	Statistická průkaznost *	Přírůstek k trávníku (mm/den)	Statistická průkaznost *
ADIO	8,71	a	10,07	a	10,7	a
BARBORKA	7,24	abc	7,11	cd	6,7	bcd
BARISAN	6,09	c	5,82	d	5,65	e
BARQUESS	7,26	abc	7,00	cd	7,5	abcd
CARDINAL II	7,68	abc	7,89	abc	7,4	bcd
CASANOV A	6,88	abc	7,86	abc	7,6	abcd
COMPASS II	6,41	bc	7,14	bcd	6,8	bcd
DANCING	6,71	abc	6,82	cd	5,9	de
HANKA	6,85	abc	7,50	bcd	7,2	bcd
LAROMA	7,76	abc	7,93	abc	8	abc
MAXIMA 1	8,24	ab	8,79	abc	8,4	ab
OLA	7,03	abc	7,14	bcd	7,5	abcd
PETRUNA	8,41	a	9,14	ab	9,05	a
ROZÁRKA	6,79	abc	7,11	cd	6,1	cd
VIKTORKA	7,03	abc	7,07	cd	7,65	abc

\* Tukey HSD test ( $P < 0,05$ )

Nejvyšší přírůstky byly ve všech třech letech dosaženy u odrůd ADIO a PETRUNA. Tyto odrůdy vykazovaly konzistentně vysokou růstovou výkonnost napříč lety, s hodnotami mezi 8,4–10,7 mm/den, což naznačuje jejich výraznou regenerační schopnost a intenzivní vegetativní růst. Naopak nejnižší přírůstky byly zaznamenány u odrůd BARISAN a ROZÁRKA. Jejich přírůstky se pohybovaly okolo 5,6–6,9 mm/den, což ukazuje na pomalejší růst a nižší reakci na seč.

U dalších odrůd (BARBORKA, CARDINAL II, CASANOVA, LAROMA, MAXIMA 1, VIKTORKA) byly zaznamenány střední hodnoty přírůstku (přibližně 7–8 mm/den), přičemž se často vyskytovaly ve více statistických skupinách, což svědčí o určité variabilitě v růstu v závislosti na ročníku.

Celkově lze pozorovat, že meziročně se pořadí odrůd z hlediska přírůstku výrazně neměnilo. Odrůdy s vyšší růstovou intenzitou si tento trend udržely i v následujících letech, což svědčí o jejich stabilní výkonnosti napříč různými podmínkami prostředí.

Rozdíly v přírůstku trávníku mezi jednotlivými odrůdami kostřavy červené lze přičíst jak genetickým faktorům, tak i rozdílné reakci odrůd na aktuální klimatické podmínky v jednotlivých letech. Odrůdy ADIO a PETRUNA prokázaly výraznou růstovou dynamiku, která

může být výhodná pro intenzivní trávníky (např. sportovní a okrasné plochy), kde je žádoucí rychlá obnova po seči a vysoká hustota porostu. Tyto odrůdy zároveň vykazovaly relativně stabilní výsledky i při proměnlivých podmínkách v jednotlivých ročnících, což potvrzuje jejich adaptabilitu. Naopak odrůdy BARISAN a ROZÁRKA se vyznačovaly nižší intenzitou růstu, která může být výhodná v extenzivně udržovaných trávnících, kde je preferována nižší potřeba sečení a pomalejší obrůstání.

Z pohledu meziroční stability lze konstatovat, že klimatické podmínky v letech 2023–2025 významně neovlivnily celkový trend růstu – nejvýkonnější odrůdy dosahovaly vysokých přírůstků ve všech letech, zatímco slabší odrůdy zůstaly konzistentně nižší. Tato stabilita poukazuje na vhodnost odrůd ADIO, PETRUNA a MAXIMA 1 pro dlouhodobé využití v podmínkách mírného klimatu.

### Závěr

Výsledky hodnocení růstové dynamiky kostřavy červené (*Festuca rubra*) v letech 2023–2025 ukázaly výrazné rozdíly jak mezi jednotlivými sečemi, tak mezi hodnocenými odrůdami. Průběh přírůstků v průběhu vegetační sezóny vykazoval typický kolísavý charakter s vrcholem růstu uprostřed sezóny (zejména kolem 10.–12. seče), což odpovídá optimálnímu souběhu teplotních a vláhových podmínek. Následný pokles růstové intenzity ke konci období je v souladu s přirozeným útlumem vegetace způsobeným zhoršujícími se klimatickými faktory.

Mezi odrůdami byly prokázány statisticky významné rozdíly v intenzitě růstu. Nejvyšší a zároveň stabilní přírůstky dosahovaly odrůdy ADIO a PETRUNA, které vykazovaly hodnoty až 10,7 mm/den a prokázaly vysokou regenerační schopnost i odolnost vůči proměnlivým podmínkám. Tyto odrůdy lze doporučit zejména pro intenzivně udržované trávníky, kde je žádoucí rychlá obnova po seči a vysoká hustota porostu.

Naopak odrůdy BARISAN a ROZÁRKA dosahovaly nejnižších přírůstků (okolo 5,6–6,9 mm/den), což je předurčuje spíše pro extenzivní využití, například na plochách s nižší frekvencí sečí. Ostatní odrůdy se vyznačovaly střední růstovou intenzitou a vykazovaly určitou meziroční variabilitu.

Celkově lze konstatovat, že pořadí odrůd z hlediska růstové výkonnosti zůstalo meziročně stabilní a nebylo výrazně ovlivněno klimatickými výkyvy jednotlivých let. Tato stabilita potvrzuje vysokou adaptabilitu a spolehlivost odrůd ADIO, PETRUNA a MAXIMA 1, které se jeví jako nejvhodnější pro dlouhodobé využití v podmínkách mírného klimatu střední Evropy.

### Literatura

- Hrabě F. a kol., 2009: Trávníky pro zahradu, krajinu a sport. Olomouc: Vydavatelství Petr Baštan. s. 76–78. ISBN 978-80-87091-07-4.
- Braun R., Patton A., Watkins E., Koch P., Anderson N., Bonos S., Brilman L., 2020: Fine fescues: A review of the species, their improvement, production, establishment, and management. *Crop Science*, 60 (128): 1142–1187.
- GRIN Czech Release 1.10.3 [online databáze]. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby [cit. 2025-10-22]. URL: <https://grinczech.carc.cz/gringlobal/search.aspx>.
- Holubec V. a kol., 2015: Rámcová metodika Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiverzity. Praha: VÚRV. s. 280–295.
- John S., Tilley L. D., Hunt P., Wright S., 2012: Plant Guide for Red Fescue (*Festuca rubra*) [online]. Aberdeen, Idaho, USA: USDA-Natural Resources Conservation Service, Plant Materials Center [cit. 2025-10-22]. URL: [https://plants.usda.gov/plantguide/pdf/pg\\_feru2.pdf](https://plants.usda.gov/plantguide/pdf/pg_feru2.pdf).
- Kaplan Z. a kol., 2019: Klíč ke květeně České republiky. Praha: Academia, s. 315–316. ISBN 978-80-200-2660-6.
- Krahulec F., 2019: Kostřava červená (*Festuca rubra*) a její taxonomická problematika.

- Pícninářské listy, 25: 68–70. ISBN 978-80-87091-84-5.
- Míka V., 2002: Morfogeneze trav. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 200 s. ISBN 80-86555-20-8.
- Gundel P., Zabalgogezcoa I., Vazquez A. B., 2012: Interaction between plant genotype and the symbiosis with *Epichloë* fungal endophytes in seeds of red fescue (*Festuca rubra*). Crop and Pasture Science, 62 (11): 1010–1016.
- Ševčíková M., Šrámek P., Faberová I., 2002: Klasifikátor. Trávy (*Poaceae*). Praha: VÚRV, 34 s.
- Ševčíková M., 2010: Pěstované rody a druhy trav. In: Cagaš B. Trávy pěstované na semeno. Olomouc: Vydavatelství Ing. Petr Baštan, s. 42–44. ISBN 978-80-87091-11-1.
- Wäli P., Helander M., Saloniemi I., Ahlholm J., Saikkonen K., 2008: Variable effects of endophytic fungus on seedling establishment of fine fescues. Oecologia, 159: 49–57.

### **Poděkování**

Práce vznikla za podpory Ministerstva zemědělství v rámci řešení Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agro-biodiversity č. MZE-62216/2022-13113 a institucionální podpory na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace MZE-RO1824.

### **Kontaktní adresa**

Ing. Simona Raab  
OSEVA PRO s.r.o.  
Výzkumná stanice travinářská Zubří  
Hamerská 698  
756 54 Zubří  
+420 739 077 123, raab@oseva.cz



## Růst kořenů meziplodin při různém zpracování půdy

Growth of catch crop roots under different soil tillage

*Svoboda P., Haberle J., Raimanová I., Moulík. M., Lhotská M., Káš M.*

*Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i.*

### Abstrakt

V letech 2021 až 2023 probíhal tříletý polní experiment s meziplodinami na 2 stanovištích v Ruzyni a Lukavci. Parametry kořenů byly zkoumány u různých druhů meziplodin samostatně, nebo ve směsích. Meziplodiny byly pěstovány při 2 způsobech zpracování půdy, na orbě a podmítce. Výsledky ukázaly na poměrně velké rozdíly v parametrech kořenů mezi jednotlivými meziplodinami nebo jejich směsmi. Způsob zpracování půdy neměl významný vliv na celkovou délku a sušinu kořenů u jednotlivých variant, ke změně docházelo v rámci distribuce kořenů v půdním profilu. Pozorované rozdíly v hustotě a distribuci kořenů, stejně jako jejich reakce na zpracování půdy, by mohly být důležité pro příjem omezených zdrojů, vody a živin, a měly by být brány v úvahu při navrhování směsí. Z hlediska dobrého prokořenění půdy se jeví jako nejlepší hořčice a její kombinace s pohankou a také oves a vikev. Nadzemní suchá hmota meziplodin významně korespondovala s parametry kořenů, zvláště s celkovou délkou.

**Klíčová slova:** redukované zpracování půdy, směsi krycích plodin, hustota kořenů, distribuce v půdě

### Abstract

A three-year field experiment with catch crops was conducted at two sites in Ruzyne and Lukavec from 2021 to 2023. Root parameters were examined in different types of catch crops, either individually or in mixtures. Catch crops were grown using two methods of tillage, plowing and shallow reduced tillage. The results showed relatively large differences in root parameters between individual catch crops or their mixtures. The tillage method had no significant effect on the total length or dry matter of roots in individual variants; the changes occurred in the distribution of roots in the soil profile. The observed differences in root density and distribution, as well as their responses to tillage, could be important for the uptake of limited resources - water and nutrients, and should be taken into account when designing mixtures. In terms of good root penetration into the soil, mustard and its combination with buckwheat, as well as oats and vetch, appeared to be the best. The above-ground dry matter of catch crops significantly corresponded with root parameters, especially total length.

**Keywords:** reduced tillage, cover crop mixtures, root length density, distribution in soil

### Úvod

Meziplodiny poskytují několik benefitů pro lepší kvalitu půdy a životní prostředí, zejména tím, že chrání půdu před erozí a ovlivňují vyčerpání zbytkového (dusičnanového) dusíku a jeho akumulaci v biomase, což má za následek snížené riziko vyplavování N během období mimo vegetaci (Thapa et al. 2018). Meziplodiny zvyšují input organické hmoty do půdy, přispívají k sekvestraci uhlíku v půdě nebo potlačení chorob v důsledku fungicidních, nematocidních a baktericidních aktivit kořenových exsudátů a rozkládající se biomasy (např. Adetunji et al. 2020). Zavedení meziplodin do pěstebních systémů je součástí konceptu klimaticky příznivého zemědělství. Očekávané přínosy závisí na dostatečném růstu meziplodin, který je často limitován nepříznivými podmínkami po sklizni předplodiny. Zakládání meziplodin je typicky narušeno nedostatkem půdní vody a dostupných živin, zbytky předplodin, zejména slámy z obilovin a dalších plodin (Koudahe et al. 2022). Systémy zpracování půdy s různou intenzitou a mírou zapravení zbytků předplodin mohou ovlivnit růst kořenů meziplodin. Meziplodiny se u nás většinou vysévají po redukovaném zpracování půdy, mělké orbě nebo vláčení, méně často pak do nezpracované půdy. Vzcházení je obvykle horší při redukovaném zpracování půdy než po orbě. Zemědělci často preferují mělké zpracování půdy, protože spotřebovává méně energie než orba a očekává se úspora vody v půdě.

Cílem této práce bylo zjistit vliv konvenčního a redukováného zpracování půdy po sklizni předplodiny na parametry a distribuci kořenů v ornici a podorniči u meziplodin pěstovaných samostatně a jako směs druhů.

### **Materiál a metody**

V letech 2021 až 2023 byly sledovány parametry kořenů různých druhů meziplodin, nebo jejich směsí. Meziplodiny byly pěstovány v maloparcelkových pokusech po předplodinách na stanovištích v Ruzyni (ozimá pšenice, 2krát jarní ječmen) a v Lukavci (ozimý ječmen, ozimá pšenice, ozimý ječmen). Ruzyně leží v nadmořské výšce 340 m n. m. v teplé oblasti, s hlubokou jílovito-hlinitou půdou vyvinutou na spraších (degradovaná černozem). Průměrné teploty (1991–2020) a úhrn srážek na této lokalitě jsou 9,6 °C a 497,5 mm. Lukavec se nachází v mírně teplé oblasti s kambizemí (hnědozem), hlinito-písčitou půdou, s průměrnou teplotou 7,5 °C (1991–2020) a úhrnem srážek 694 mm.

Meziplodiny byly zasety po sklizni předplodiny na 2 variantách způsobu zpracování půdy, na orbě (hloubka zpracování půdy 20–24 cm) a podmítce (hloubka 8–10 cm). Byly použity tyto druhy meziplodin nebo jejich kombinací 2 druhů: 1) hořčice bílá (výsevek 15 kg/ha), 2) svazenka vratičolistá (16 kg/ha), 3) lnička jarní setá a jetel alexandrijský (5 + 5 kg/ha), 4) konopí seté a bér italský (10 + 10 kg/ha), 5) pohanka a svazenka vratičolistá (17 + 3 kg/ha), 6) pohanka a hořčice bílá (22,5 + 2,5 kg/ha a 7) oves a vikev setá (75 + 75 kg/ha).

Vzorky půd s kořeny u jednotlivých variant meziplodin byly odebírány před zimou (listopad) kovovou sondýrkou o průměru 8 cm ve 2 opakováních tak, aby byl postižen průměrný porost na parcele a obsahoval sledovanou meziplodinu nebo směs obou meziplodin v centru vzorkovaného místa. Z hlediska přítomnosti výdrolu z předplodin a případně plevelných druhů byly přibližně měsíc před vzorkováním na části parcel tyto rostliny eliminovány, kvůli snadnějšímu odlišení kořenů meziplodin od kořenů výdrolu a plevelu. Vzorkování bylo provedeno po vrstvách 10 cm až do hloubky 60 cm. Vzorky půd s kořeny byly pročištěny na jemných sítích (proudem vody) a odstraněny organické a minerální nečistoty. Po dočištění vzorku byla zjišťována délka kořenů ruční metodou podle Tennanta (1975). Byla zjištěna sušina kořenů (při 65 °C). Hodnoty délky a sušiny kořenů meziplodin ze vzorku byly přepočteny na objem a plochu půdy.

Pro srovnání parametrů kořenů s nadzemní částí rostlin meziplodin byla na stanovišti v Ruzyni odebrána biomasa nadzemních částí rostlin meziplodin nebo jejich směsí z plochy 1 m<sup>2</sup> a určena sušina (při 65 °C). Výsledky byly statisticky zpracovány.

### **Výsledky**

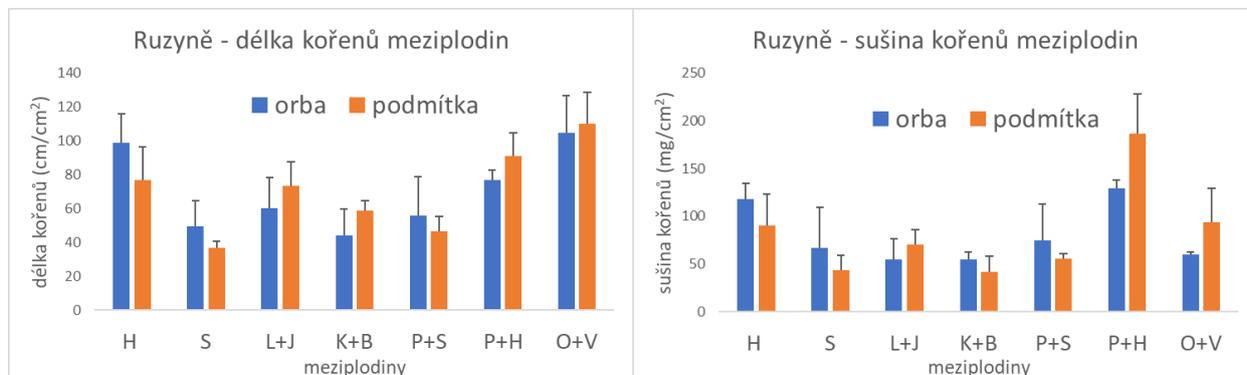
#### **Délka a sušina kořenů sledovaných meziplodin**

Hustější kořenový systém zajišťuje lepší využití živin z půdy, v případě meziplodin se jedná hlavně o využití zbytkového dusíku po předplodině a omezení rizika posunu nitrátového dusíku hlouběji. Z tohoto hlediska se jeví jako nejlepší oves s vikví na obou stanovištích a hořčice, popřípadě v kombinaci s pohankou, zvláště na stanovišti v Ruzyni. Průkazně nejmenší délka kořenů ve sledovaném profilu půdy byla naměřena u svazenky a kombinace konopí a béru, zvláště v Ruzyni (Graf 1 a 2). Mohutnější kořeny zlepšují strukturu půdy, umožňují lepší zasakování vody a také snadnější růst kořenů následných plodin vytvořenými biopóry. Jednoznačně nejpřínosnější z tohoto pohledu se ukázala hořčice, a zvláště v kombinaci s pohankou, na obou stanovištích. Nejmenší sušinu kořenů vykazovala kombinace konopí a béru, popřípadě lničky a jetele.

Nebyly zjištěny významnější rozdíly v parametrech kořenů mezi orbou a podmínkou, tendenci k lepšímu růstu kořenů z hlediska dosahované délky na podmítce měla kombinace lničky a jetele a konopí a béru v Ruzyni, ostatní druhy meziplodin vykazovaly lepší nebo podobný růst kořenů na orbě, výsledky byly většinou statisticky neprůkazné. Z hlediska srovnání obou

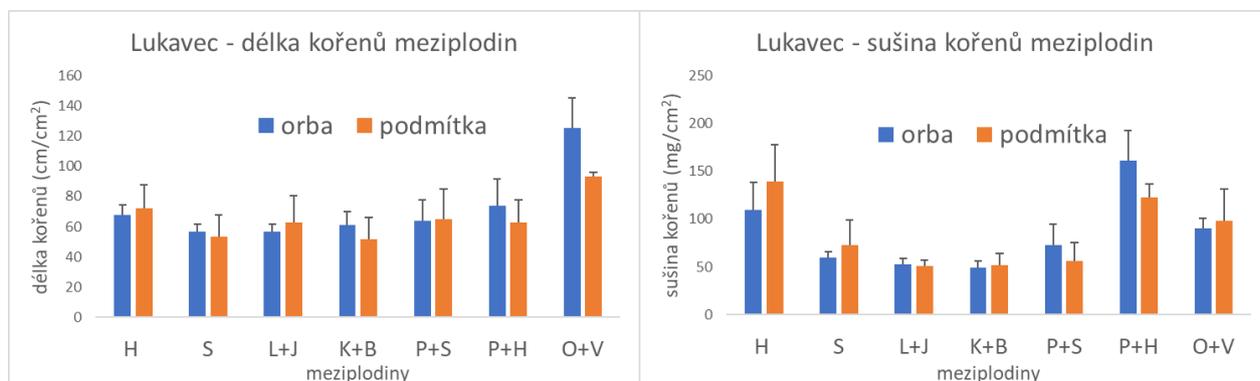
stanovišť vykazovala lepší parametry kořenů na stanovišti v Lukavci svazenka, popřípadě v kombinaci s pohankou (Graf 1 a 2).

Graf 1: Délka a sušina kořenů jednotlivých meziplodin v Ruzyni ve vrstvě půdy 0–60 cm, průměr let 2021–2023 (H=hořčice, S=svazenka, L+J=lnička a jetel, K+B=konopí a bér, P+S=pohanka a svazenka, P+H=pohanka a hořčice, O+V=oves a vikev).



Obrázek 1: Dobrý stav porostu meziplodin na stanovišti v Lukavci v roce 2023.

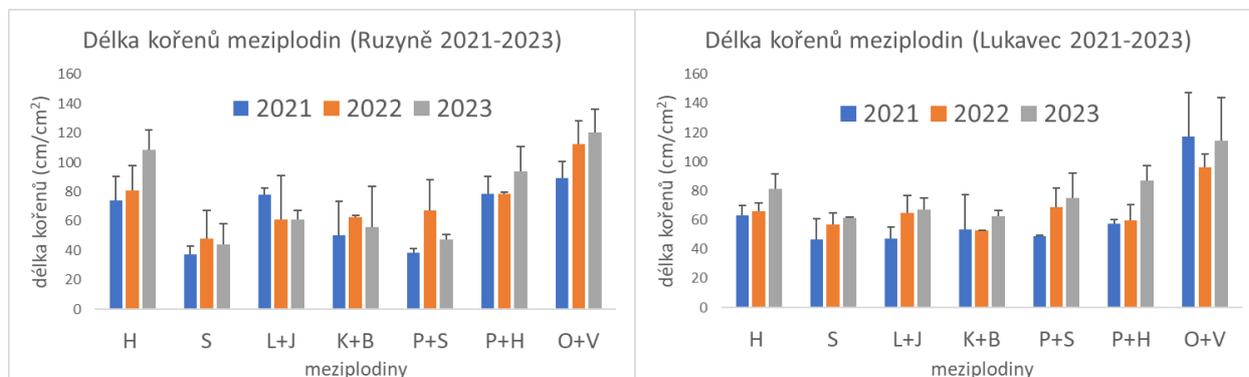
Graf 2: Délka a sušina kořenů jednotlivých meziplodin v Lukavci ve vrstvě půdy 0–60 cm, průměr let 2021–2023 (H=hořčice, S=svazenka, L+J=lnička a jetel, K+B=konopí a bér, P+S=pohanka a svazenka, P+H=pohanka a hořčice, O+V=oves a vikev).



Hodnoty parametrů kořenů meziplodin byly sledovány ve 3 letech, v Grafu č. 3 je znázorněna délka kořenů meziplodin ve sledovaném profilu půdy ve 3 letech na obou stanovištích. Výraznější ročníkové rozdíly se projeví v roce 2023 oproti předchozím letům, kdy zvláště

v Lukavci v tomto roce byly zaznamenány nejvyšší hodnoty parametrů kořenů, odpovídal tomu i dobrý porost meziplodin, viz Obrázek 1.

Graf 3: Délka kořenů jednotlivých meziplodin v Ruzyni a Lukavci ve vrstvě půdy 0–60 cm, v letech 2021–2023, průměr variant orby a podmínky (H=hořčice, S=svazenka, L+J=lnička a jetel, K+B=konopí a bér, P+S=pohanka a svazenka, P+H=pohanka a hořčice, O+V=oves a vikev).



### Distribuce kořenů meziplodin v půdním profilu a efektivní hloubka kořenů při orbě a podmítce

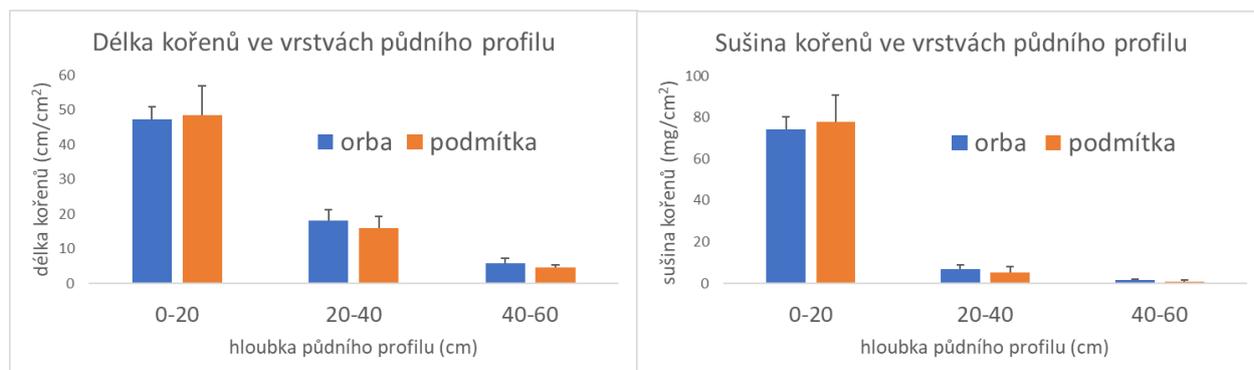
Pro příjem vody a živin kořeny nebo odčerpání zbytkového dusíku je důležitý hustý kořenový systém, ale důležité je i rozložení (distribuce) kořenů v půdním profilu. Rostlina svými kořeny může zasahovat i do větších hloubek, ale efektivní využití vody a živin z půdního profilu je možné jen při dostatečné hustotě kořenů v dané vrstvě půdy. V Tabulce 1 je znázorněna barevně tzv. efektivní hloubka kořenů sledovaných meziplodin, kdy hustota kořenů je větší než 0,5 cm/cm<sup>3</sup>. Je vidět, že na variantě s orbou byla dosažena efektivní hloubka kořenů do 40 cm půdního profilu téměř u všech variant meziplodin, do 50 cm hloubky u hořčice a kombinace ovsa a vikeve. Naproti tomu na variantě s podmínkou bylo dosaženo efektivní 40 cm hloubky jen u 3 variant meziplodin, v 50 cm hloubce už nebyla zaznamenána dostatečná hustota kořenů u žádné meziplodiny. Jelikož celková délka kořenů meziplodin ve sledovaném půdním profilu je na orbě a podmítce srovnatelná, z tabulky je vidět, že ke kompenzaci došlo vlivem vyšší hustoty kořenů v horní vrstvě půdy na variantě s podmínkou, oproti orbě (syťjší barva).

Tabulka 1: Hustota kořenů jednotlivých meziplodin ( $\text{cm}/\text{cm}^3$ ) v jednotlivých vrstvách půdy 0–60 cm, průměr let 2021–2023 a obou stanovišť (H=hořčice, S=svazenka, L+J=lnička a jetel, K+B=konopí a bér, P+S=pohanka a svazenka, P+H=pohanka a hořčice, O+V=oves a vikev). Barevně označené hodnoty v tabulce vyjadřují hustotu kořenů větší než  $0,5 \text{ cm}/\text{cm}^3$ .

Orba	hloubka	H	S	L+J	K+B	P+S	P+H	O+V
	(cm)							
Orba	10	3,46	2,10	2,48	2,48	2,49	2,92	4,80
	20	2,06	1,24	1,42	1,29	1,50	1,87	2,93
	30	1,24	0,92	0,85	0,70	0,92	1,25	1,92
	40	0,81	0,61	0,67	0,43	0,54	0,81	0,95
	50	0,54	0,30	0,30	0,25	0,33	0,45	0,54
	60	0,24	0,14	0,14	0,11	0,19	0,21	0,35
Podmítka	10	3,54	1,88	3,31	2,61	2,45	3,91	4,40
	20	1,70	1,13	1,70	1,73	1,29	1,73	2,50
	30	1,22	0,77	0,99	0,93	0,86	0,99	1,63
	40	0,48	0,38	0,47	0,41	0,51	0,54	0,87
	50	0,35	0,25	0,25	0,23	0,32	0,28	0,46
	60	0,16	0,07	0,08	0,10	0,16	0,22	0,29

Z těchto údajů vyplývá, že ve svrchní 20 cm vrstvě půdy je v průměru na variantě s podmínkou soustředěno 70 % délky kořenů meziplodin, při orbě 66 %. Ve spodnějších vrstvách se tento poměr obrací ve prospěch orby, vždy o více než 2 %. Vzhledem k zastoupení meziplodin s většími kulovými a svazčitými kořeny byla u hmotnosti sušiny kořenů většina soustředěna v horní 20 cm vrstvě půdy (podmítka 93 %, orba 90 %), spodnější vrstvy představovaly již malou část z celkové sušiny kořenů, v podobném poměru jako u délky kořenů (Graf 4).

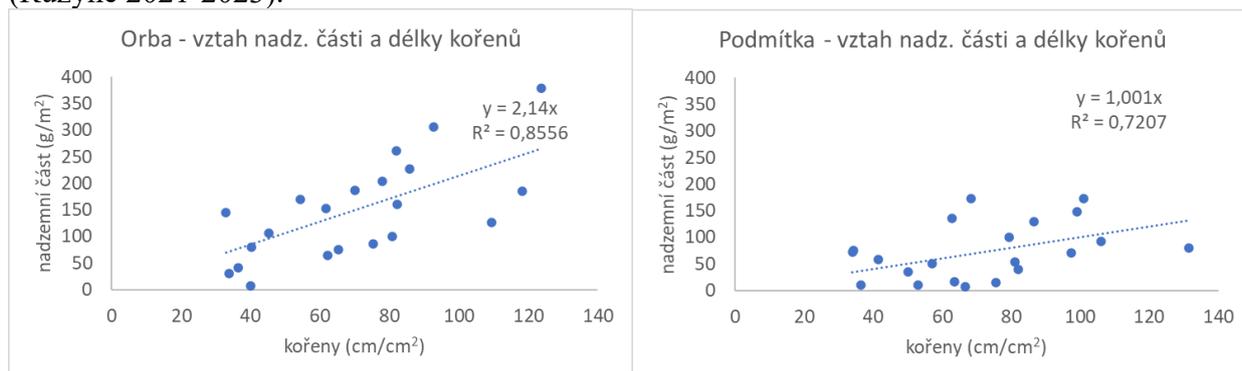
Graf 4: Délka a sušina kořenů všech meziplodin v jednotlivých vrstvách půdy, průměr let 2021–2023 a obou stanovišť.



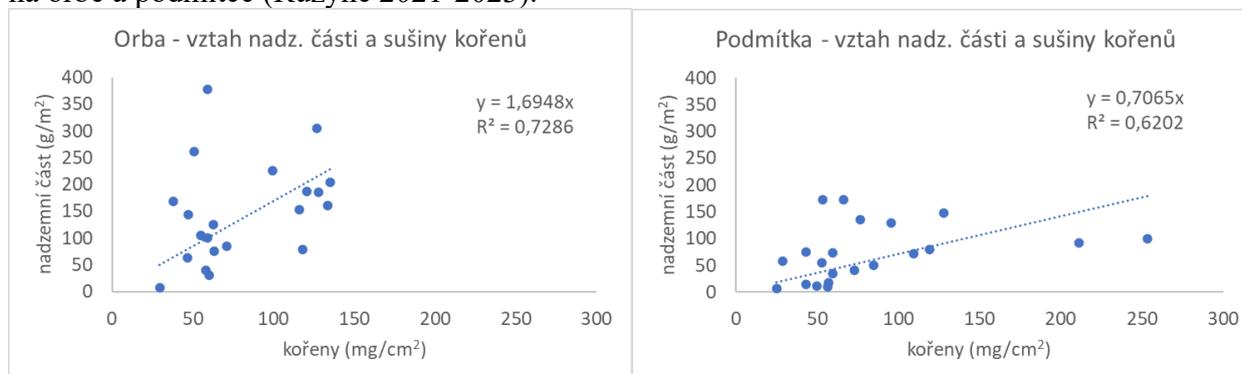
### Růst kořenů meziplodin ve vztahu k nadzemní části rostlin

Pro sledování a hodnocení meziplodin bylo vybráno různorodé spektrum druhů, s rozdílným habitem a růstem. Přesto byl nalezen průkazný, poměrně úzký vztah mezi sušinou nadzemní hmoty jednotlivých meziplodin a celkovou délkou kořenů, u sušiny kořenů byl tento korelační vztah také průkazný, ale slabší. Přes velmi rozdílné hodnoty sušiny nadzemní části většiny meziplodin na orbě a podmítce (na orbě zjištěna obvykle průkazně větší sušina nadzemních částí než na podmítce), parametry kořenů se mezi orbou a podmítkou lišily v podstatně menší míře (Graf 5 a 6).

Graf 5: Korelační vztah sušiny nadzemní části a délky kořenů meziplodin na orbě a podmítce (Ruzyně 2021-2023).



Graf 6: Korelační vztah sušiny nadzemní části a sušiny kořenů meziplodin ve vrstvě 0-60 cm na orbě a podmítce (Ruzyně 2021-2023).



## Diskuze

V této práci byl porovnáván růst nejrozšířenějších meziplodin pěstovaných v České republice, hořčice a svazenky, a to jak samostatně, tak ve směsi s pohankou, s důrazem na růst kořenů. Ostatní druhy meziplodin jsou u nás méně časté, ale jejich využití rozšiřuje možnosti uplatnění, například do různých směsí. Byl nalezen poměrně úzký vztah mezi sušinou nadzemní hmoty jednotlivých meziplodin, nebo jejich směsí a celkovou délkou kořenů, u sušiny kořenů byl tento korelační vztah s nadzemní biomasou již méně patrný. Lepší parametry kořenů byly obvykle dosahovány na těch porostech, kde meziplodiny vykazovaly dobrý růst nadzemních částí. To je závislé na více faktorech, např. době založení a vzházení porostů meziplodin, obsahu vody a živin v půdě, reakci na nízké podzimní teploty (poškození pohanky, bérů a konopí), výskytu konkurenčních rostlin výdrolu z předplodiny nebo přítomnosti plevelných rostlin.

Větší, i když statisticky neprůkazná hustota a sušina kořenů byla zjištěna u podmítky v horní vrstvě půdy oproti orbě, v hlubších vrstvách bylo prokořenění větší na orbě. Například Kadzienž et al. (2011) udává, že růst kořenů při omezeném nebo bezorebném zpracování půdy může být ve srovnání s orbou snížen, alespoň v některých vrstvách, což bylo přičítáno zvýšenému odporu proti pronikání kořenů. V naší práci tomu bylo obdobně, jen zde docházelo k určitému zvýšení růstu kořenů ve svrchní vrstvě půdy při podmítce, což naznačuje určitou kompenzaci z hlediska srovnatelné celkové dosahované délky kořenů na orbě a podmítce.

Sušina kořenů byla soustředěna převážně v horní 20 cm vrstvě půdy (okolo 90 %), tomu odpovídá typ kořenů použitých meziplodin (meziplodiny se silnými křivými a svazčitými kořeny). Od kořenového systému meziplodin se očekává také zlepšení půdních podmínek, zejména melioračního efektu na utužených půdách. V této souvislosti je důležitá morfologie kořenového systému meziplodin. Například Hudek et al. (2022) uvádí, že ve srovnání se

silnějšími kúlovými kořeny jsou meziplodiny s jemnějším kořenovým systémem výhodnější pro vytváření půdního prostředí s lepší pórovitostí. Blanco-Canqui et al. (2024) dospěl k závěru, že kombinace meziplodin s vláscitými kořeny a meziplodin s kúlovými kořeny může poskytnout výhody ke snížení rizika zhutnění půdy.

Údaje o kořenech meziplodin, a zvláště jejich směsí zjišťované v polních podmínkách vzhledem k metodologické náročnosti a pracnosti, jsou omezené. Získat relevantní výsledky podmiňuje dobře zvolená metodika, například je třeba brát ohled i na různě velký prostor mezi jednotlivými rostlinami meziplodin.

Parametry kořenů meziplodin nejspíše nedosahovaly svého maxima, protože za vhodnějších podmínek (delší doba pěstování, lepší teplotní a vláhové podmínky, více živin k dispozici) by sledované druhy lépe využily svůj potenciál, což u některých případů dokládají naše srovnávací sledování samostatně pěstovaných meziplodin v delším časovém úseku.

### **Závěr**

Závěrem lze říci, že očekávaný negativní vliv mělkého zpracování půdy na délku a hmotnost kořenů meziplodin se nepotvrdil. Avšak průměrná dosahovaná hloubka kořenů meziplodin s dostatečnou hustotou pro efektivní příjem vody a živin je na orbě posunuta v průměru zhruba o 7 cm hlouběji než na podmítce. Výsledky ukázaly na poměrně velké rozdíly v růstu kořenů mezi jednotlivými druhy nebo jejich směsmi. Tyto rozdíly by mohly být důležité pro využití omezených zdrojů, vody a živin, a při navrhování směsí meziplodin pro různé účely. Z hlediska dobrého prokořenění půdy se jeví jako nejlepší hořčice a její kombinace s pohankou a také oves a vikev.

### **Literatura**

- THAPA, R., MIRSKY, S. B. & TULLY, K. L. (2018). Cover Crops Reduce Nitrate Leaching in Agroecosystems: A Global Meta-Analysis. *J. Environ. Qual.* 47, 1400–1411.
- ADETUNJI, A. T., NCUBE, B., MULIDZI, R. & LEWU, F. B. (2020). Management impact and benefit of cover crops on soil quality: A review. *Soil Tillage Res.* 204, 104717.
- KOUDAHE, K., ALLEN, S. C. & DJAMAN, K. (2022). Critical review of the impact of cover crops on soil properties. *Int. Soil Water Conserv. Res.* 10, 343–354.
- TENNANT, D. (1975). A Test of a Modified Line Intersect Method of Estimating Root Length. *J. Ecol.* 63, 995–1001.
- KADŽIENŽ, G., MUNKHOLM, L. J. & MUTEGI, J. K. (2011). Root growth conditions in the topsoil as affected by tillage intensity. *Geoderma* 166, 66–73.
- HUDEK, C., PUTINICA, C., OTTEN, W. & DE BAETS, S. (2022). Functional root trait-based classification of cover crops to improve soil physical properties. *Eur. J. Soil Sci.* 73, e13147.
- BLANCO-CANQUI, H. (2024). Do cover crop mixtures improve soil physical health more than monocultures? *Plant Soil* 495, 99–112.

### **Poděkování**

Tento výzkum byl financován MZe, projekty č. QK21010308 a MZe-RO0425.

### **Kontaktní adresa**

Ing. Pavel Svoboda

Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i.

Drnovská 507/73, 161 00, Praha 6 - Ruzyně

Tel.: 702 087 708, e-mail: pavel.svoboda.1@carc.cz



## **Výsadba stromů do volné krajiny Moravského krasu: Obnova struktur a adaptační přínos**

Planting trees in the open landscape of the Moravian Karst: Restoring structures and contributing to adaptation

Špišek Z.<sup>1,2</sup>, Grimová V.<sup>1</sup>, Chalupková T.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Univerzita Palackého v Olomouci, Katedra chemické biologie, <sup>2</sup>Spolek pro agrosadařství,

<sup>3</sup>Dům přírody Moravského krasu, o.p.s.

### **Abstrakt**

Krajina Moravského krasu byla kolektivizací zemědělství výrazně přetvořena – zanikly tradiční meze a ovocné stromy, což snížilo biodiverzitu a ekologickou stabilitu. Projekt *Stromy pro Moravský kras* vrací stromy do krajiny, uchovává staré a krajové odrůdy „in situ“ a podporuje péči o krajinu komunitou. Příklady zahrnují pokusný sad ve Vilémovicích nebo výsadby podél cest na Ostrovské plošině, které zlepšují ekologickou kvalitu území.

**Klíčová slova:** ovocné dřeviny, komunitní výsadba, Moravský kras, obnova krajiny

### **Abstract**

The landscape of the Moravian Karst was significantly transformed by the collectivization of agriculture—traditional hedgerows and fruit trees disappeared, reducing biodiversity and ecological stability. *The Trees for the Moravian Karst* project is returning trees to the landscape, preserving old and local varieties in situ, and promoting community-based landscape management. Examples include an experimental orchard in Vilémovice and plantings along roads on the Ostrovská plateau, which improve the ecological quality of the area.

**Keywords:** fruit trees, community planting, Moravian Karst, landscape restoration

### **Úvod**

Krajina České republiky utrpěla v důsledku kolektivizace zemědělství výrazné zásahy do své původní struktury. Tradiční mozaikovitá polička, meze a remízky byly rozorány a sloučeny do rozsáhlých bloků orné půdy. Tím došlo k narušení ekologických, produkčních, krajinných a estetických funkcí krajiny (Šarapatka, 2012). Dřívější hranice mezi parcelami často doplňovaly stromy, zejména ovocné, které měly nejen produkční, ale i mikroklimatickou a stabilizační funkci (Hrdoušek et al., 2023). Zánik těchto prvků vedl k poklesu biodiverzity, zhoršení retenční schopnosti půdy a k celkovému snížení ekologické stability prostředí.

Ve volné krajině bylo mnoho ovocných stromů zlikvidováno v době socialismu. Na druhou stranu, až do 60. let 20. století byly stále podporovány výsadby silničních stromořadí a alejí, které byly považovány za významné produkční plochy. Díky této tradici, sahající již do doby vlády Marie Terezie, se české země protkaly hustou sítí ovocných alejí, jež se staly jedinečným fenoménem naší krajiny (Baroš et al., 2013). V současnosti však představují nejohroženější formu ovocných výsadeb, jelikož stromy bývají poškozovány ze strany zemědělsky využívaných polí, zatímco z opačné strany je ohrožuje vysoká dopravní zátěž na přilehlých komunikacích.

Tyto negativní změny jsou dobře patrné také v CHKO Moravský kras (Mk), kde byla ještě v 50. letech 20. století plošina pokryta drobnými poličky. Nešetrné formy zemědělství v minulém století zde představují zvlášť závažný problém, neboť se jedná o nejvýznamnější krasovou oblast v České republice. Kromě rozsáhlých podzemních prostor se zde vyskytují i významné povrchové krasové jevy, jako jsou závrtvy či škrapy, které jsou chráněny zákonem. Výjimečnost

území podtrhuje existence jediné mezinárodně chráněné podzemní mokřadní lokality v ČR —ramsarské lokality Podzemní Punkva (Halešová a Kotyzová, 2021).

Krasové prostředí vyžaduje ochranu nejen pod povrchem, ale i na povrchu, odkud se do podzemí mohou dostávat dusičnany a pesticidy z intenzivně obhospodařovaných ploch. Tyto látky znečišťují podzemní vody, které slouží v některých případech i jako zdroj pitné vody a zároveň představují biotop pro řadu ohrožených druhů. Zatravnění bezprostředního okolí závrťů a nad jeskynnými systémy, uskutečněné v letech 2019–2020 (Frei et al., 2024), přineslo pozitivní výsledky – došlo ke zlepšení stavu zemědělské krajiny a ke zvýšení kvality skapových vod, které pronikají do jeskyní přes půdní a horninové prostředí.

Právě úbytek ovocných dřevin vedl v roce 2017 k založení komunitního a dobrovolnického projektu Stromy pro Moravský kras, který si klade za cíl umožnit návrat dřevin, zejména ovocných stromů, do volné krajiny (Obr. 2). Iniciativa úzce spolupracuje s obcemi regionu, Agenturou ochrany přírody a krajiny ČR, Domem přírody Moravského krasu, dobrovolnými hasiči a dalšími partnery i sponzory projektu. Od svého vzniku bylo vysazeno více než 5 000 stromů, o které pečují místní obyvatelé ve spolupráci s obcemi a odbornými institucemi. Důležitou součástí projektu jsou kurzy řezu ovocných dřevin (Obr. 1.), které probíhají ve spolupráci s Domem přírody Moravského krasu. Tyto kurzy přispívají nejen k odbornému zvládnutí péče o stromy, ale i k posilování vztahu lidí ke krajině a k jejich praktickému vzdělávání v oblasti tradičního sadařství. Projekt tak propojuje ochranu přírody, vzdělávání a komunitní spolupráci, jelikož zapojuje dobrovolníky všech generací a rozvíjí povědomí o významu péče o kulturní krajinu jako společného dědictví.



**Obr. 1: Kurz řezu ve spolupráci s Domem přírody Moravského krasu, Obr. 2: Obnova polní cesty na krasové plošině**

## **Materiál a metody**

### Komunitní výsadby ovocných stromů na Ostrovské plošině a jejich vitalita

Při výběru starých ovocných odrůd pro Mk jsme vycházeli z již proběhlého pomologického mapování území Moravského krasu (Baroš et al., 2013). Důraz byl kladen na lokální mikroklima a půdní podmínky, pro peckoviny byly vybírány kamenitější, skeletnaté krasové půdy, zatímco pro jádroviny hlubší půdy typu hnědozemí. Výběr odrůd zohlednil i jejich vhodnost pro budoucí zpracování plodů (mošty, sušení, konzervace).

Nejvhodnějším obdobím pro výsadbu prostokořenných sazenic je doba vegetačního klidu, tedy období mezi opadem listů a rašením na jaře. Optimální termín je od poloviny října do konce listopadu (Sus & Nečas, 2011), kdy je půda stále prohřátá a umožňuje intenzivní růst kořenů,

zatímco nadzemní část rostliny již přechází do dormance. Podzimní termín zároveň podporuje lepší ujmoutí a růst dřevin (Kolařík, 2003).

Výsadbová jáma by měla být připravena tak, aby byla 1,5 až 2x širší než kořenový bal a dostatečně hluboká, aby kořenový krček po zasazení ležel v úrovni okolního terénu (AOPK ČR, 2025). Před výsadbou byly do jámy zatlučeny kotevní kůly z trvanlivého dřeva (modřín, akát, dub). U prostokořených sazenic byl proveden srovnávací řez, jehož účelem je kompenzovat disproporci mezi nadzemní a kořenovou částí vzniklou při manipulaci s výpěstkem (Kolařík, 2003). Stromy byly do jámy umístěny tak, aby kořenový krček ležel přesně v úrovni terénu. Příliš hluboká výsadba patří mezi časté chyby a může vést k uhnívání kořenového krčku (Wells et al., 2006). Je nutné dbát na to, aby při následném zasypávání nevznikly kolem kořenů vzduchové kapsy, které by zhoršily kontakt kořenů s půdou a zpomalily zakořenění (Kolařík, 2003). Po výsadbě je důležité provést důkladnou zálivku v množství 30 l vody (Hrdoušek et al., 2016). Bezprostředně po výsadbě byly stromky zajištěny proti vývratu větrem a mechanickému poškození. Kotvení se provádí pružným materiálem, který nepoškozuje kůru a zároveň umožňuje přirozený pohyb kmene. Strom se ke kotvicímu kůlu přivazuje osmičkovým uzlem, čímž je zajištěna stabilní fixace bez poškození kůry (Kolařík, 2003). Mezi kůl a úvaz byla vložena ovčí vlna, která omezuje odírání kmene a svým pachovým účinkem částečně odrazuje býložravou zvěř (Tetera, 2006). Na ochranu před zvěří se používá silné pletivo o výšce 150 cm a velikosti oka 6x6 cm.

Úspěch výsadby je podmíněn následnou péčí, která trvá minimálně tři až pět let po výsadbě. Ta zahrnuje pravidelnou zálivku, zejména během suchých období, doplňování mulče, kontrolu a úpravu kotvení, aby nedocházelo k poškození kmene a případně ošetření mechanických poranění kmene (AOPK ČR, 2025). Nezbytnou součástí povýsadbové péče je výchovný řez korun mladých stromů, který spočívá ve vytvoření vyvážené koruny před nástupem do plodnosti a odstranění poškozených či nevhodně rostoucích větví (Kolařík, 2003; Sus & Nečas, 2011). Po realizaci výsadeb a během prvních let povýsadbové péče se provádělo terénní hodnocení výsadeb. Hodnocení stavu a vitality výsadeb na Ostrovské plošině probíhalo v zimních měsících na přelomu roku 2024 a 2025. U jednotlivých vysazených ovocných stromů byly sledovány a zaznamenávány parametry jako vitalita stromu podle ročních přírůstů (pozornost byla věnována zejména hlavnímu výhonu a kosterním větvím), poškození obvodu kmene, poškození úvazu, poškození kůlu, GPS souřadnice a také byla pořízena fotodokumentace. U starých stromů, mezi nimiž byla realizována dosadba mladých jedinců v rámci obnovy aleje, byly zaznamenány pouze souřadnice GPS.

Vitalita stromu byla posuzována dle předem definovaných kategorií: 1 = přírůst do 10 cm, 2 = přírůst do 20 cm, 3 = přírůst 30-50 cm, 4 = přírůst 50 cm a více. Poškození obvodu kmene bylo hodnoceno dle následujících kategorií: 1 = poškození do 10 %, 2 = poškození do 20 %, 3 = poškození do 30 %, 4 = poškození do 40 %, 5 = poškození větší než 50 %.

#### Založení pokusného sadu na Vilémovské plošině

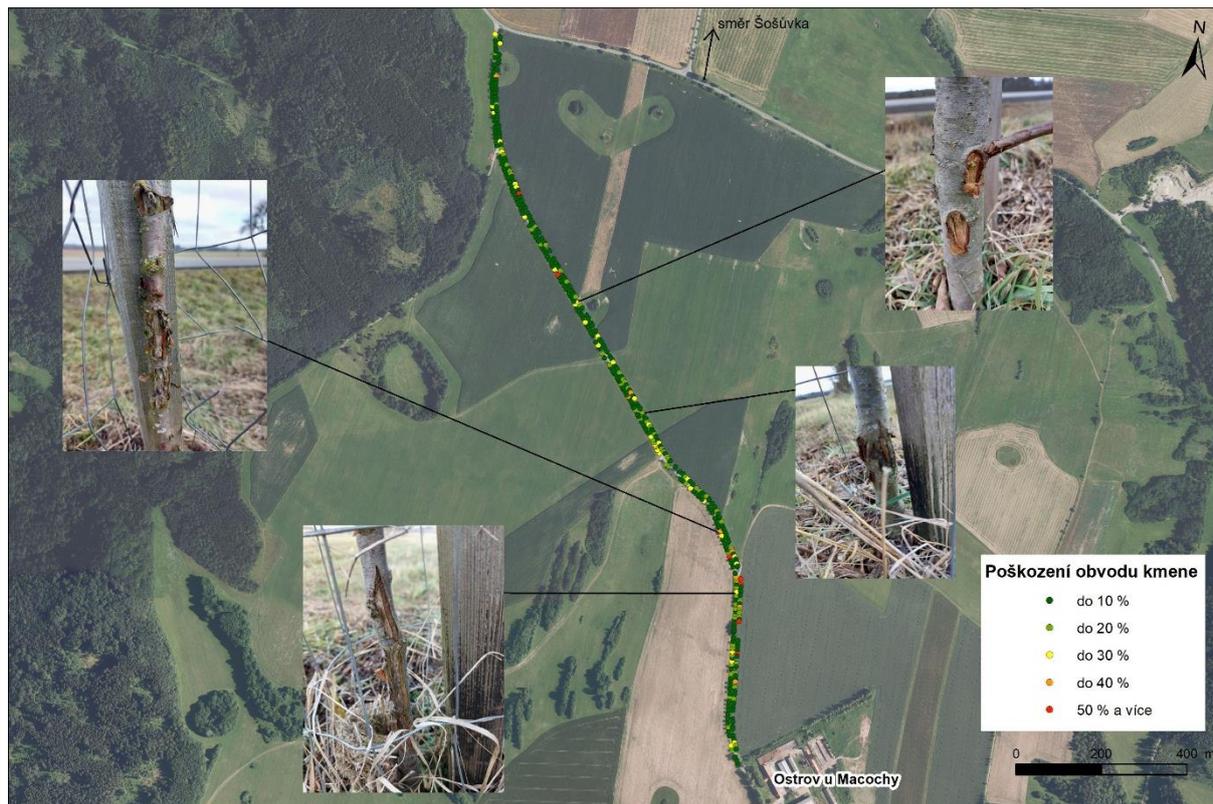
Pro založení modelového extenzivního sadu byl vybrán pozemek v k. ú. Vilémovice (p. č. 281, 1,26 ha), nacházející se v CHKO Moravský kras. Lokalita leží mimo mrazovou kotlinu, což minimalizuje riziko poškození sazenic, a její mírný západní svah odpovídá doporučenému typu stanoviště (Boček, 2007b). Před výsadbou byla plocha hluboce zorána, vytyčeny hranice a následně zatravněna směsí UNI-L-60 (Agrostis Trávníky s.r.o.) z důvodu ochrany půdního a krasového prostředí. Výsadba sestává ze šesti řad jabloní odrůd „Admirál“, „Jadernička“, „Lebelovo“ „Strýmka“, s mezištěpováním odrůdou „Croncelské“. Stromy byly vysazeny v sponu 9,5 × 21 m a opatřeny kůly a ochranným pletivem proti zvěří. Při výběru odrůd byla

zohledněna odolnost vůči klimatickým podmínkám a vhodnost pro moštárenské zpracování, které navazuje na tradiční podzimní práce v krajině. Výsadba byla realizována bez zálivky, pouze s použitím hydrogelu HG Plant s fytohormonální stimulací. Celkově bylo v rámci sadu vysazeno 66 vysokokmenů jabloní, 9 vysokokmenů starých a krajových odrůd, 12 vysokokmenů jabloní opylovačů, 21 drobných stromů tzv. špičáků a 22 listnatých odrostků javoru babyky (*Acer campestre*). V dubnu 2021 byl proveden povýsadbový řez, při němž byl špičák ponechán 60 cm nad mezištěpením. Řez vyrovnal velikost sazenic, kompenzoval nerovnováhu mezi kořenovou a nadzemní částí způsobenou možným poškozením kořenů při vyorání a snížil riziko špatného ujetí a zaostalého vývinu stromků (Kolařík, 2003). Růst stromů byl sledován měřením výčetního průměru kmene, celkové výšky a větvních přírůstků ve dvou po sobě jdoucích letech po výsadbě (Janáková, 2023). Fenologické fáze byly zaznamenávány dle stupnice BBCH (Boček, 2007a; Salaš et al., 2011) a zdravotní stav kmene hodnocen podle míry poškození (Špíšek, 2009).

## Výsledky a diskuze

### Hodnocení vitality vysazených ovocných dřevin na Ostrovské plošině

Na Ostrovské plošině bylo zaznamenáno celkem 914 vysazených stromů, z nichž bylo hodnoceno 669 jedinců. Třešňová alej o 140 stromech, vysazená v říjnu 2024 a jablečno oskerušová alej o 95 vysazená v roce 2025, nebyly do hodnocení zahrnuty, neboť od výsadby uplynul příliš krátký čas a parametry vitality a poškození nelze relevantně hodnotit. Z celkového souboru hodnocených stromů bylo identifikováno 623 vitálních a 46 uhynulých jedinců. Pro statistickou analýzu byli dále zahrnuti pouze jedinci vykazující známky vitality. Z hlediska vitality převládaly stromy s dobrou zdravotní kondicí. Roční přírůst do 10 cm vykazovalo 31 stromů, přírůst do 20 cm 106 stromů, přírůst 30-50 cm 268 stromů a přírůst nad 50 cm dosáhlo 218 stromů. Z těchto výsledků vyplývá, že více než 75 % sledovaných stromů dosahovalo ročních přírůstků nad 20 cm, což indikuje příznivý stav výsadeb. Hodnocení poškození obvodu kmenů ukázalo, že většina vysazených stromů (442 jedinců) měla poškození do 10 % obvodu kmene. Výrazné poškození obvodu kmene přesahující 40 % bylo zjištěno pouze u 29 stromů. U většiny z nich bylo poškození způsobeno nešetrnou mechanickou údržbou travního porostu silničáři, u některých stromů bylo příčinou poškození odírání o pletivo v důsledku poškozeného úvazu. Odírání o pletivo je zde umocněno větrností lokality.



**Mapa 1: Zobrazení poškození kmene v Povidlové aleji Ostrov u Macochy**

Nižší vitalitu vykazují stromy rostoucí v bezprostřední blízkosti starších a mohutnějších stromů. Z celkového počtu jedinců s nejvyšší vitalitou (kategorie 4) bylo 130 stromů bez přímého sousedství starších stromů, zatímco pouze 25 stromů s touto vitalitou rostlo v jejich těsné blízkosti. Tato skutečnost naznačuje vliv konkurence o světlo a vodu, kdy stromy v zastíněných podmínkách mají omezený růst, zatímco jedinci bez sousedství se staršími stromy dosahují vyšší vitality a přírůstků.

Výsledky provedeného hodnocení naznačují, že převážná většina vysazených stromů na Ostrovské plošině vykazuje dobrou vitalitu a nízký stupeň poškození. Tento výsledek je v souladu se zjištěními Filipa (2022), který obdobně dokumentoval příznivý fyziologický stav mladých výsadeb lip republiky realizovaných napříč několika kraji České republiky. Obě studie potvrzují, že vhodná volba stanoviště v kombinaci s kvalitní povýsadbovou péčí představuje klíčové faktory ovlivňující vysokou míru ujmavosti a příznivý růstový potenciál nově vysazených dřevin.

Zatímco Filip (2022) analyzoval soubor 213 výsadeb lip republiky uskutečněných v letech 2017–2019, tato práce představuje první pilotní hodnocení souboru 669 stromů vysazených v rámci jednotného územního celku Ostrovské plošiny. Aplikovaný přístup tak umožňuje detailnější regionální interpretaci úspěšnosti výsadeb a poskytuje výchozí rámec pro dlouhodobý monitoring vitality dřevin v dané oblasti.

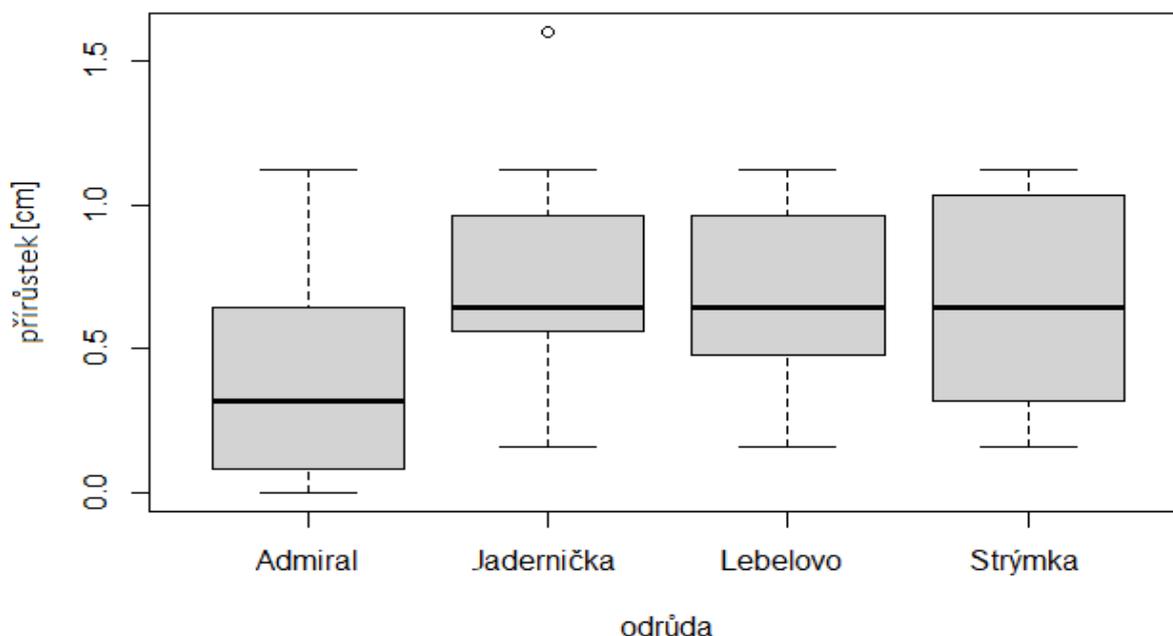
Podobně jako ve studii Filipa (2022) se i v tomto případě potvrdilo, že kvalitní následná péče a optimální stanovištní podmínky zásadním způsobem přispívají k úspěšnému ujetí výsadeb. Více než 75 % hodnocených stromů dosahovalo ročního přírůstu nad 20 cm, což indikuje uspokojivý růstový výkon. Filip (2022) zaznamenal obdobně vysokou vitalitu u většiny

sledovaných lip, přičemž tento trend přičítal výjimečnému postavení pamětních výsadeb, jimž byla věnována zvýšená péče. V případě Ostrovské plošiny lze obdobný efekt přisoudit vhodnému výběru odrůd a podnoží dále systematické povýsadbové péči a přípravě stanovišť v rámci realizace výsadeb.

### Pokusný sad ve Vilémovicích

Založení pokusného sadu bylo úspěšné, přičemž během prvních tří let přežily všechny vysazené jabloně. Analýza výčetního průměru v sezónách 2022 a 2023 neprokázala statisticky signifikantní rozdíly mezi sledovanými odrůdami ( $p = 0,06165$ ,  $\alpha = 0,05$ ). Přesto byla u odrůdy „Admirál“ zaznamenána tendence k nižšímu výčetnímu průměru ve srovnání s ostatními odrůdami (graf 1). Největší variabilitu vykazovala odrůda „Strýmka“, jejíž přírůstky se pohybovaly mezi 0,4 a 1,1 cm. Medián výčetního průměru u „Strýmky“, „Jaderničky moravské“ a „Lebelova“ byl 0,75 cm, přičemž u Jaderničky moravské byla identifikována odlehlá hodnota 1,6 cm.

V roce 2024 došlo k nárůstu poškození kořenového systému hlodavci, pravděpodobně v důsledku blízkosti okolních polí. Toto poškození negativně ovlivnilo vitalitu některých sazenic, což mělo za následek úhyn šesti stromů. Dále byly zaznamenány mechanické škody na terminálních výhonech způsobené dosedáním dravců, které rovněž mohly ovlivnit růst a vývoj jednotlivých odrůd.



**Graf 1: Zobrazení přírůstků výčetního průměru jednotlivých odrůd v rámci vegetačního období 2022 - 2023**

V sezóně 2022 odrůda „Strýmka“ začala vývoj listů opožděně (5. 4.) oproti „Admirálu“, „Jaderničce“ a „Lebelovu“ (1. 4.). Plný vývoj listů nastal nejdříve u „Lebelova“ (16. 4.) a nejpozději u „Strýmky“ (24. 4.). Květenství se rozvíjelo od 2. 5. do 15. 5., první květy se otevřely od 15. 5. do 27. 5., květenství skončilo mezi 19. 5. a 2. 6. Nejvíce květů vykazaly „Admirál“ a „Lebelovo“; „Jadernička“ nekvetla. Plody se vyvinuly od 10. 6., pokročilé dozrávání nastalo 8. 7.

## Závěr

Projekt *Stromy pro Moravský kras* prokázal, že systematická komunitní péče a vhodná volba stanovišť významně podporují ujímavost a vitalitu nově vysazených ovocných dřevin. Výsadby na Ostrovské plošině i pokusný sad ve Vilémovicích potvrzují, že obnova tradičních krajinných struktur přispívá ke zvýšení biodiverzity, ekologické stability a posílení vztahu obyvatel ke krajině Moravského krasu. Zároveň tyto výsadby napomáhají ekologické stabilizaci území, snižují erozní zátěž krasových půd, zlepšují retenční schopnost a působí jako klimatické pufrы zmírňující dopady sucha a teplotních extrémů. Obnovené stromové linie a sady vytvářejí cenné mikrohabitaty pro opylovače, ptáky a drobné savce a tím podporují dlouhodobou adaptaci krajiny na měnící se klimatické podmínky.

## Literatura

- AGENTURA OCHRANY PŘÍRODY A KRAJINY ČESKÉ REPUBLIKY. Standard péče o přírodu a krajinu – SPPK A02 001: Výsadba stromů. II. revize. Brno: AOPK ČR, 2025. Dostupné z: [https://aopk.gov.cz/documents/20121/8775405/SPPKA02+001\\_V%C3%BDsadba+strom%C5%AF\\_II+revize\\_2025.pdf/92384673-550e-a9cf-0414-0d0517542096?t=1747740756251](https://aopk.gov.cz/documents/20121/8775405/SPPKA02+001_V%C3%BDsadba+strom%C5%AF_II+revize_2025.pdf/92384673-550e-a9cf-0414-0d0517542096?t=1747740756251).
- BAROŠ, Adam, et al. Dřeviny a byliny vhodné pro venkovská sídla na území mikroregionu Moravský kras a Časnýř. 2013. ISBN: 978-80-87674-01-7
- BOČEK, Stanislav. 2007a. Zakládání extenzivních ovocných výsadeb. ZO ČSOP Veronica: Ovocné dřeviny v krajině – sborník přednášek a seminárních prací. 8(1): 86 – 89 s.
- BOČEK, Stanislav. 2007b. Růst a vývoj ovocných dřevin (Malý životní cyklus – fenologické fáze). Ovocné dřeviny v krajině: projekt OP RLZ CZ.04.1.03/3.3.13.2/0007.
- BOČEK, Stanislav, et al. Mapa vybraných stromů starých odrůd ovocných dřevin nalezených v mikroregionech Moravský Kras a Časnýř. 2013. Dostupné z: [https://www.venkovskazelen.cz/\\_soubory/Moravsky\\_kras/2013\\_anotace\\_mapa\\_ovoce\\_MK.pdf](https://www.venkovskazelen.cz/_soubory/Moravsky_kras/2013_anotace_mapa_ovoce_MK.pdf). [cit. 2025-11-01].
- FILIP, Antonín. Zhodnocení stavu a perspektivy nových výsadeb stromů („lípy republiky“). Diplomová práce. Lednice: MENDELU, Zahradnická fakulta, 2022.
- FREI, Ivana et. al. Studie zatravněných ploch v CHKO Moravský kras. Ochrana přírody. 2024, roč. 79. č. 5, s. 16-20.
- HALEŠOVÁ, Taťána a KOTYZOVÁ, Marie. Zatravnění I. zóny CHKO Moravský kras. Ochrana přírody. 2021, roč. 76, č. 1, s. 15-18.
- HRDOUŠEK, Vít, et al. The Service Tree The Tree for a New Europe. 2023. . Petr Brázda – vydavatelství spolu s MAS Strážnicko, z.s ISBN 978-80-87387-80-1.
- HRDOUŠEK, Vít et al. *Příručka pro výsadby ovocných dřevin do krajiny Čech, Moravy a Slezska*. Petr Brázda – vydavatelství spolu s MAS Strážnicko, z.s., září 2016. ISBN 978-80-87387-40-5. Dostupné online: [https://www.milionstromu.cz/images/dokumenty/Prirucka\\_ovoce\\_ver24-10-2016.pdf](https://www.milionstromu.cz/images/dokumenty/Prirucka_ovoce_ver24-10-2016.pdf)
- JANÁKOVÁ, Nikola. Založení modelového polního sadu v CHKO Moravský kras, k. ú. Vilémovice. Diplomová práce. Olomouc: Univerzita Palackého, Přírodovědecká fakulta. 2023.
- KOLAŘÍK, Jaroslav. Péče o dřeviny rostoucí mimo les. Vlašim: Český svaz ochránců přírody, 2003. ISBN 80-86327-36-1.
- SALAŠ, Petr. Časová variabilita nástupu fenofází ovocných dřevin sledovaných ve fenologické síti ČHMÚ za období 1991 – 2010. Úroda. 2011, roč. 59, č. 10, s. 87–98. ISSN 0139-6013.
- SUS, Josef a NEČAS, Tomáš. Řez ovocných dřevin. Praha: Grada, 2011. ISBN 978-80-247-2505-5.
- ŠARAPATKA, Bořivoj, Urs NIGGI a kol. Agriculture and landscape: the way to mutual

- harmony. Olomouc: Palacký University, 2012. ISBN 978-80-244-2824-6.
- ŠPÍŠEK, Zdeněk. Biologie rozšíření jeřábu oskeruše (*Sorbus domestica*) na území CHKO Bílé Karpaty. Bakalářská práce. Olomouc. Univerzita Palackého, Přírodovědecká fakulta. 2009.
- TETERA, Václav. Ovoce Bílých Karpat. 2006. ISBN 80-903444-5-3.
- WELLS, Christina, et al. Effects of planting depth on landscape tree survival and girdling root formation. *Arboriculture & Urban Forestry (AUF)*, 2006, 32.6: 305-311.

**Kontakt:** Mgr. Zdeněk Špíšek, Ph.D.  
Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta – Katedra chemické biologie  
Šlechtitelů 27, 783 71 Olomouc - Holic  
Tel: 585 63 4945  
e-mail: Zdenek.spisek@upol.cz

## Stimulace růstu rychle rostoucích dřevin s využitím hydrolyzátů z odpadů ryb a peří s fytohormonálními přísadami

Stimulation of growth of fast-growing woody plants using hydrolysates from fish waste and feathers with phytohormonal additives

Špišek Z.<sup>1</sup>, Rybářová D.<sup>2</sup>, Koprna R.<sup>1</sup>, Weger J.<sup>2</sup>, Vávrová K.<sup>2</sup>, Nožková V.<sup>1</sup>, Humplík J.F.<sup>1</sup>, Teplá K.<sup>1</sup>, Šolcová O.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Univerzita Palackého v Olomouci, Katedra chemické biologie,

<sup>2</sup> Výzkumný ústav pro krajinu, v.v.i., <sup>3</sup> Ústav chemických procesů AV ČR, v.v.i.

### Abstrakt

Cirkulární ekonomika je klíčová pro udržitelné využití zdrojů v zemědělství, kde roste produkce masa a s tím i odpad. Hydrolyzáty bílkovin získané enzymatickou nebo chemickou hydrolyzou slouží jako biostimulanty pro plodiny. Rychle rostoucí dřeviny (RRD), které se využívají k produkci energetické a surovinové biomasy jsou testovány pro efektivní obnovu poškozené krajiny a revitalizaci výsypek po těžbě uhlí. Jejich porosty zvyšují biodiverzitu a umožňují udržitelné získávání suroviny pro průmysl, čímž podporují ekologickou stabilitu a ekonomický rozvoj regionů po ukončení těžby.

**Klíčová slova:** hydrolyzáty, rychle-rostoucí dřeviny, chlorofyl

### Abstract

Circular economy is crucial for sustainable resource use in agriculture, especially as meat production and related waste continue to increase. Protein hydrolysates obtained through enzymatic or chemical hydrolysis serve as biostimulants for crops. Fast-growing woody plants (FGWPs), cultivated for energy and raw biomass production, are being tested for their effectiveness in restoring damaged landscapes and revitalizing spoil heaps after coal mining. These stands enhance biodiversity and enable sustainable harvesting of raw material for industry, thereby supporting ecological stability and economic development in post-mining regions.

**Keywords:** hydrolyzates, fast-growing woody plants, chlorophyll

### Úvod

V rámci udržitelného rozvoje získává cirkulární ekonomika stále větší význam jako klíčový přístup k efektivnímu využívání zdrojů a minimalizaci odpadů.

S nárůstem populace na naší planetě se očekává v následujícím desetiletí i nárůst produkce zemědělství, chovu dobytka a rybolovu. Dle odhadů FAO (2025) dojde k dramatickému nárůstu produkce masa, zejména kuřecího, které bude pokrývat až 43 % světové produkce bílkovin. To se odrazí i v nárůstu kalorického příjmu z ryb, masa a mléčných výrobků o 6 % na osobu. Se zvýšenou produkcí sekundární zemědělské výroby souvisí i zvýšená produkce odpadů při zpracování ryb, kuřat a dalších masných druhů. Tato situace poukazuje na naléhavou potřebu hledat inovativní a udržitelné způsoby zpracování a využití těchto odpadů v souladu s principy cirkulární ekonomiky.

Právě využití těchto organických odpadů bylo donedávna velmi problematické. Řada organických zbytků tak končí v kafilériích, přičemž obsahují cenné bílkoviny, které lze pomocí proteinové hydrolyzy rozštěpit na lépe využitelné peptidy a aminokyseliny. Hydrolyza probíhá za pomoci specifických enzymů zvaných proteázy (nebo proteolytické enzymy). Například v lidském těle k ní dochází při trávení v žaludku a střevech. Pro průmyslové využití je praktičtější chemická hydrolyza, při které se k rozkladu bílkovin používají silné kyseliny nebo zásady za vysoké teploty (Ambrosini et al. 2021). Tato metoda se využívá při výrobě hydrolyzovaných rostlinných proteinů pro potravinářský průmysl.

Uvedené metody bohužel často vedou k tvorbě solí minerálních kyselin, což omezuje jejich další využití, zejména v zemědělství (Šolcová et al. 2020). Inovativní použití jablečné kyseliny při hydrolyze představuje ekologicky šetrnou alternativu, která eliminuje vznik nežádoucích solí, zvyšuje ekonomickou efektivitu procesu a zároveň podporuje cirkulární využití odpadních produktů (Hanika et al. 2020). Hydrolyzáty takto získané mají potenciál sloužit jako biostimulanty pro polní i energetické plodiny (Špíšek et al. 2023) a přispívají k uzavření materiálových toků v rámci cirkulární ekonomiky.

Konec povrchové těžby hnědého uhlí na Mostecku je úzce spojen s rozsáhlou revitalizací krajiny, která zahrnuje komplexní rekultivační práce s cílem obnovit půdní funkce a navrátit těžbou narušeným územím jejich ekologickou i hospodářskou hodnotu (Veselý 2010). Celková rozloha území vyžadujících rekultivaci v Ústeckém kraji je 23,5 tis. ha podle analýz PKÚ s.p. Po ukončení těžby, která by měla v lomu Vršany proběhnout postupně v období let 2024–2036, se realizují především terestrické rekultivace zaměřené na vytváření nových lesních porostů, zemědělských ploch a přírodě blízkých biotopů. Hlavním cílem těchto procesů je stabilizace krajiny, zvýšení biodiverzity a zlepšení estetického charakteru území. Na rozdíl od Sokolovska, kde se uplatňuje více výsadba jehličnatých dřevin, jsou na Mostecku preferovány přístupy s důrazem na listnaté dřeviny a smíšené lesní porosty, které lépe odpovídají místním podmínkám. Navíc přechod od povrchové těžby uhlí k revitalizaci a rekultivaci krajiny otevírá nové příležitosti pro využití rychle rostoucích dřevin (RRD), které rozšiřují možnosti ekologické obnovy poškozených území a zároveň podporují udržitelné cykly materiálů a živin v krajině. Tyto dřeviny dokáží rychle zajistit produkci dřeva, čímž mohou nahradit ztráty v lesním hospodářství po kůrovcové kalamitě a přispět k udržení stabilních zásob surovin pro průmysl.

## **Materiál a metody**

### Nádobový pokus

Nádobový pokus byl navržen za účelem posouzení vlivu biologicky aktivních hydrolyzátnů na růst a vývoj klonů topolu (*Populus nigra* × *Populus maximowiczii*, klon J-105). Testovány byly dva typy hydrolyzátnů – rybí a z peří – a to ve variantách s přidavkem fytohormonální látky (FH) 2Cl-3MeO-BAB THP (10 μmol) i bez něj. Pokus probíhal na Univerzitě Palackého v Olomouci (UPOL) a jeho cílem bylo ověřit účinnost jednotlivých přípravků i jejich interakce s rozdílnými půdními podmínkami.

Experiment byl realizován během vegetační sezóny roku 2025. Do nádob byly naváženy dva půdní typy: 1 jílovitá půda (rekultivovaná půda z lokality po těžbě v lomu Vršany) a (2) kvalitní zemědělská půda z Olomouce-Holice, použitá jako kontrolní substrát. Každý půdní typ byl zastoupen v 75 nádobách, celkem tedy 150 nádob o objemu 5 litrů. Okrajové květináče sloužily jako bariéra k eliminaci okrajového efektu a nebyly zahrnuty do hodnocení. Výsadbovým materiálem byly osní řízky klonu J-105, rozříděné do tří velikostních kategorií a rovnoměrně rozdělené mezi jednotlivé varianty včetně kontroly. Před výsadbou byly řízky 16 hodin máčeny ve vodě, aby došlo k nasycení pletiv a zvýšení ujmavosti rostlin. Celkem bylo stanoveno pět pokusných variant: rybí hydrolyzát, rybí hydrolyzát + FH, peří hydrolyzát, peří hydrolyzát + FH a neošetřená kontrola. Objem použitého hydrolyzátnu byl ve všech variantách shodný (4,5 l na variantu, tj. 150 ml na rostlinu během celé sezóny). Aplikace probíhala formou závlivky ke kořenové zóně v dávce 400 ml roztoku, složeného z 30 ml hydrolyzátnu a 370 ml vody. Závlivka byla provedena pětkrát v pravidelných intervalech podle předem stanoveného harmonogramu. Na konci vegetační sezóny byla provedena komplexní analýza deseti reprezentativních rostlin z každé varianty (celkem 100 rostlin). Hodnocen byl přírůstek suché nadzemní biomasy zbavené listů a převedené na sušinu. Parametry velmi rychlé fluorescenční indukce chlorofylu *a*, tj.  $F_v/F_m$ ,  $(dV/dt)_0$ ,  $V_J$  a ABS/RC byly měřeny přístrojem PEA (Plant Efficiency Analyser, Hansatech Instruments, UK) po 20min adaptaci listů na tmou pomocí plastových svorek. O-J-I-

P křivka fluorescence byla zaznamenána po ozáření vzorku saturačním světlem (1 s, 3850  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Měření proběhlo v červenci na deseti listech ve střední části čepele mimo žilnatinu. Výsledky byly zpracovány do mediánů a kvartilů a hodnoty byly normalizovány na nejvyšší naměřenou hodnotu.

Výsadbba proběhla 23. dubna 2025, následovaly pravidelné aplikace hydrolyzátů, měření fyziologických parametrů a indukce stresových podmínek. Pokus byl ukončen začátkem září (1.–5. 9. 2025) sklizní biomasy, měřením průměrů řízku a odběrem vzorků pro další analýzy.

### Polní pokus na výsypce

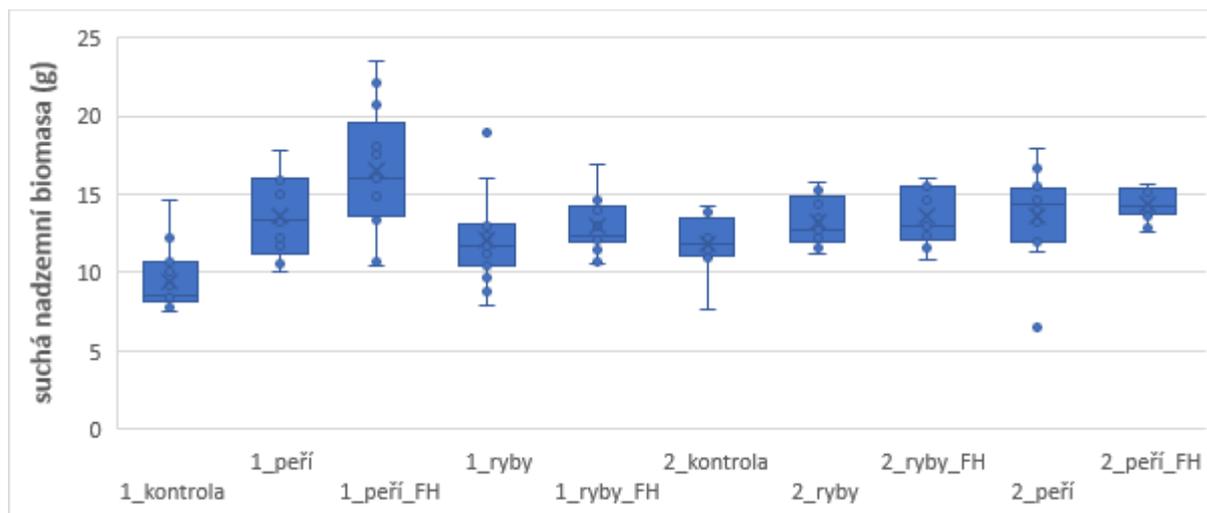
Polní pokus byl založen na podzim v roce 2024 na výzkumné lokalitě projektu BIOCIRKL na výsypce Malé Březno (výsypka Lom Vršany, Most, Ústecký kraj). Cílem pokusu bylo porovnat ujmavost a růst RRD na dvou plochách s odlišným typem substrátu (rekultivovaná ornice x nereakultivovaný jíl z lokality po těžbě v Lomu Vršany). Dalšími faktory pokusu byly aplikace biologicky aktivních hydrolyzátů peří s hormony (FH) 2Cl-3MeO-BAB THP (10  $\mu\text{mol}$ ) a jejich vliv a interakce s půdními podmínkami. Pokus se substrátem byl rozdělen dále na dvě části a to s výsadbou 20 cm dlouhých řízků RRD (design výmladková plantáž) a s výsadbou sazenic (design agrolesnický - ALS). Byly sledovány dvě varianty substrátu – (1) jílovitá půda (rekultivovaná půda z lokality po těžbě v lomu Vršany) a (2) ornice (kvalitní zemědělská půda z pole) – a čtyři varianty aplikace organických hydrolyzátů a dvě aplikace s vodou jako kontroly. Celková výměra pokusné plochy pro RRD činila 0,74 ha a celková výměra pokusné plochy pro ALS činila 0,99 ha. Pro pokus byly zvoleny čtyři odrůdy rychle rostoucích dřevin: dvě odrůdy vrb (*Salix* sp. odrůdy 'Stvola' a 'Rokyta') a dvě odrůdy topolu (*Populus* sp. - klon J-105 a odrůda 'Kaktu'). Celkem se vysadilo 2880 ks řízků pro plochu s RRD a 400 ks sazenic pro plochu s ALS. Řízky byly vysazeny do 10 řádků cca 3,2 m od sebe a sazenice byly vysazeny do 3 řádků/linií. Jednotlivé řádky dřevin u plochy s ALS byly odděleny zemědělskými plodinami (pšenice) pěstovanými v pásech širokých cca 18 m.

Po výsadbě v listopadu 2024 bylo na jaře 2025 provedeno hodnocení ujmavosti a vitality dřevin (vitalita byla hodnocena podle stupnice: 0 = mrtvý jedinec, 1 = přežívá, 2 = žije, 3 = vitální a ujmavost bylo hodnocena v procentech). Z hlediska statistického vyhodnocení jsme 0, resp. mrtvé jedince, v hodnocení nepočítali. Toto hodnocení bylo následně statisticky zpracováno a vyhodnoceno Kruskal Wallisovou ANOVA a Tukeyho testem (HSD). Proběhl odběr půdních vzorků z orniční vrstvy na začátku vegetačního období (srpen 2024) v hloubce 5 – 15 cm.

## **Výsledky a diskuze**

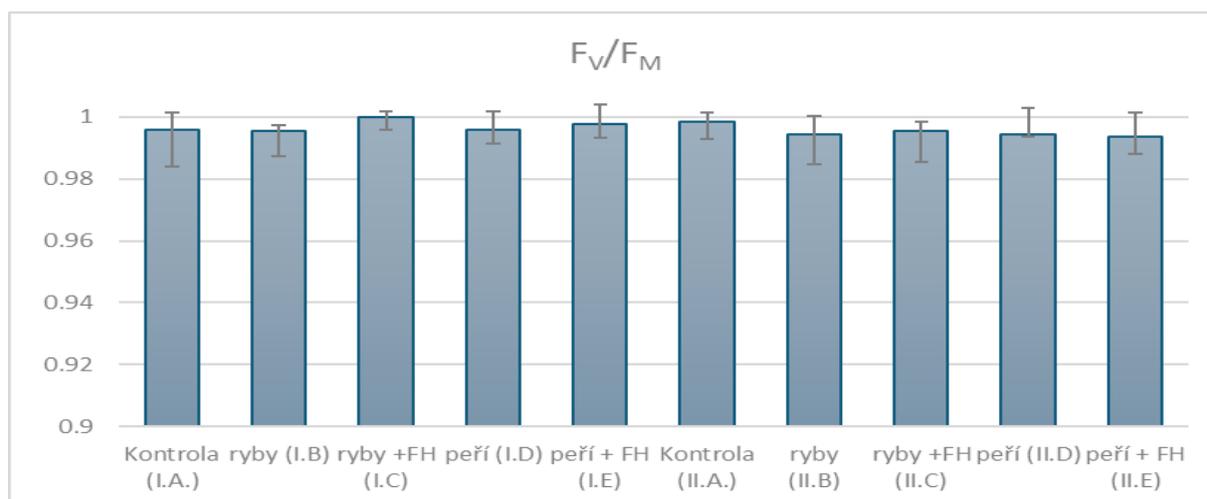
### Výsledky nádobový pokus Olomouc

Všech 150 osových řízků umístěných v pěstebních nádobách se ujalo. Z jednotlivých řízků vyrazily 1 – 3 výhony. Přičemž průměrná délka nejdelšího výhonu byla 101,5 cm u jílovité půdy. Průměrná délka nejdelšího výhonu u kontrolní půdy byla 90,86 cm. V rámci destruktivní analýzy bylo zjištěno, že všechny varianty vykazují nárůst nadzemní biomasy a to v obou půdách. Nejvyšší nárůst biomasy byl zaznamenán u aplikace hydrolyzátu z peří doplněné o FH aplikované na jílovitou půdu (Graf 1.).

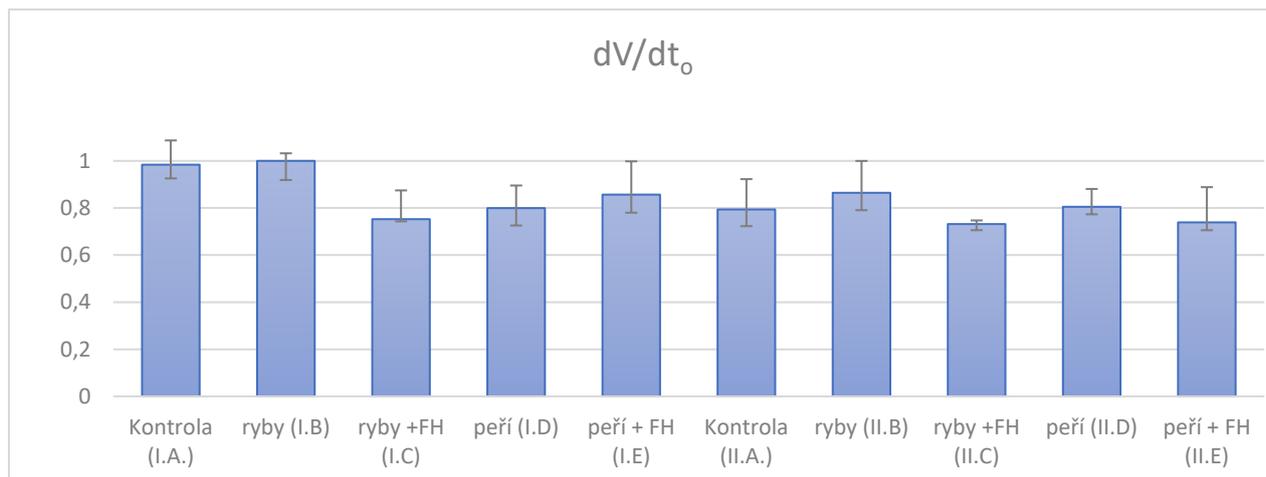


Graf 4. Hodnocení suché nadzemní biomasy topolů rostoucích ve dvou typech půd (jílovitá půda po těžbě v lomu Vršany -1, kontrolní - 2) s aplikací hydrolyzátů z ryb, peří a s přísadami fytohormonů

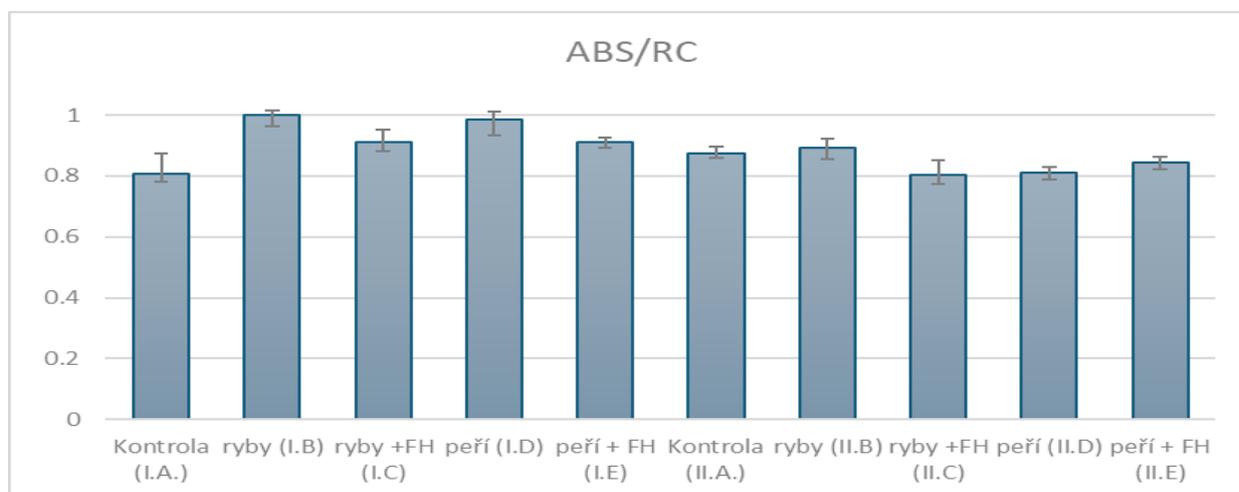
Maximální kvantový výtěžek fotochemie PSII ve stavu adaptovaném na tmou ( $F_V/F_M$ , Stirbet a kol., 2018) nevykazoval významné změny u variant ošetřených hydrolyzáty, pouze u varianty I.C (ryby + FH) jsme zaznamenali její mírný nárůst, což poukazuje na mírně vyšší účinnost zachytu excitační energie (Graf 2). Nejspíše zde došlo k ochrannému působení použitého fytohormonu (2Cl-3MeO-BAB THP) i přes růst na jílovité půdě, nicméně výsledek není statisticky signifikantní. Tento výsledek je podpořen nižší rychlostí redukce  $Q_A$  na  $Q_A^-$  a tedy pomalejším uzavíráním reakčních center PSII (Graf. 3,  $(dV/dt)_0$ ; Strasser a kol., 2000) u většiny topolů ošetřených hydrolyzáty (kromě varianty I.B ryby). Většina variant rostoucích na jílovité půdě (půda I) vykazovala větší zdánlivou velikost antén aktivních reakčních center PSII (Graf. 4,  $ABS/RC$ ; Stirbet a kol., 2018), což může souviset s vyšší mírou poškození funkčních reakčních center PSII. Na půdě kontrolní byl ve většině případů (kromě II.B ryby) pozorován opačný trend, kdy lze nižší zdánlivou velikost světlosběrných komplexů přičíst k protektivnímu působení použitých hydrolyzátů na funkčnost PSII.



Graf 2. Maximální kvantový výtěžek fotochemie PSII ve stavu adaptovaném na tmou ( $F_V/F_M$ ) měřen na adaxiální straně listu topolu ošetřených jednotlivými hydrolyzáty. Ukázány mediány a kvartily,  $n=10$ .



Graf 3. Maximální rychlost akumulace frakcí uzavřených reakčních center PSII ((dV/dt)<sub>0</sub>) měřena na adaxiální straně listu topolu ošetřených jednotlivými hydrolyzáty. Ukázány mediány a kvartily, n=10.



Graf 4. Zdánlivá velikost antén aktivních PSII (ABS/RC) měřena na adaxiální straně listu topolu ošetřených jednotlivými hydrolyzáty. Ukázány mediány a kvartily, n=10.

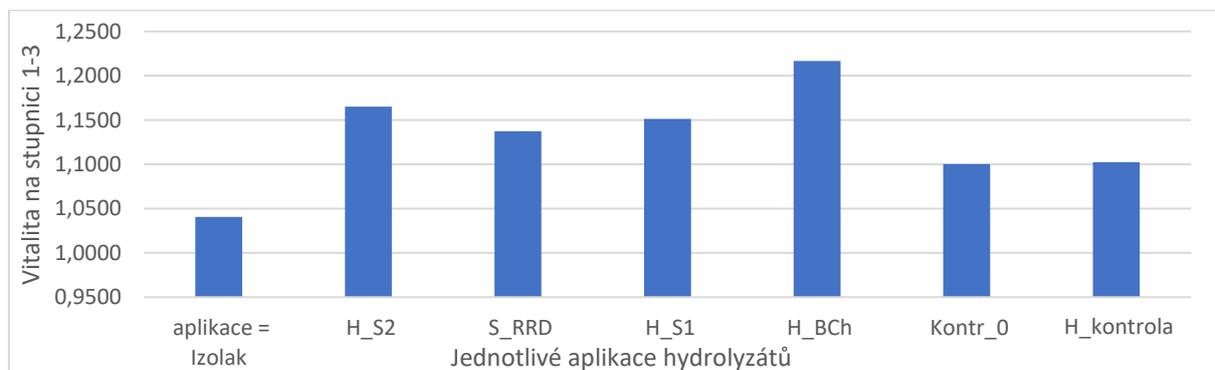
V uvedeném pilotním experimentu byly topoly testovány mírným stresem suchem, aby nedošlo k jejich uhynutí, a byl pozorován jejich fenotyp i fotosyntetické reakce na mírný stres po ošetření vybranými hydrolyzáty. V dalších experimentech se chceme zaměřit na silnější stres suchem, kterému jsou běžně stromy vystaveny v přírodních podmínkách. Navíc z běžné polní praxe měření fotosyntetických parametrů a působení protektivních látek na metabolismus rostlin je známo, že ochranný vliv látek se nejlépe projeví při vystavení rostlin více poškozujícímu stresu.

#### Výsledky polního pokusu na výsypce Malé Březno

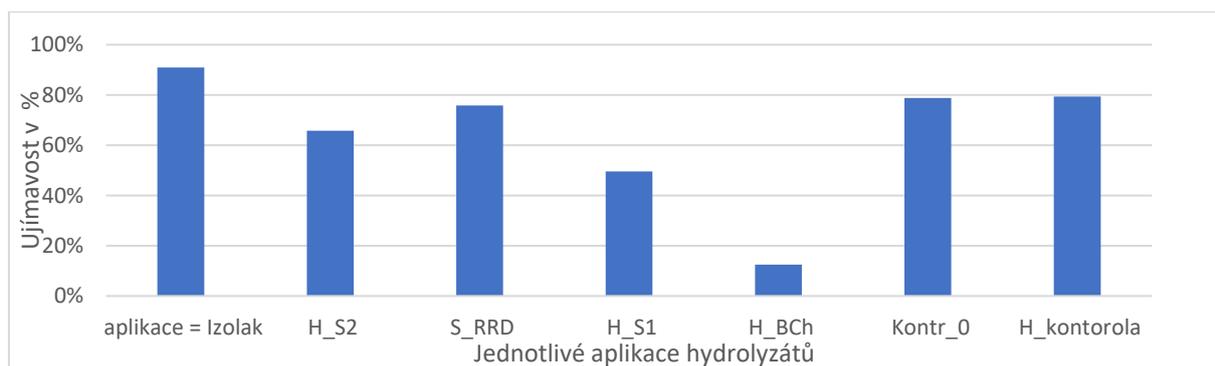
Na základě úvodního statistického vyhodnocení se zjistilo, že celková ujímavost řízků na ploše RRD byla 67 % a celková ujímavost sazenic na ploše ALS byla 51 %, což je poměrně nízká hodnota zřejmě ovlivněná nepříznivým vývojem počasí zejména po výsadbě.

Z hlediska vitality živých jedinců RRD nejlépe vyšla kombinace aplikace hydrolyzátu s biocharem (H\_BCh; viz graf 5). Nejhorší dopadly aplikace u typů s vodou (Kontr\_0 a H\_kontrola) a aplikace z okrajové části výsadby (izolační pás), kde byla vitalita nejhorší. Ostatní aplikace s hydrolyzátem a přísadami fytohormonů (H\_S2, S\_RRD, H\_S1) dopadli podobně s v průměru byla vitalita téměř stejná.

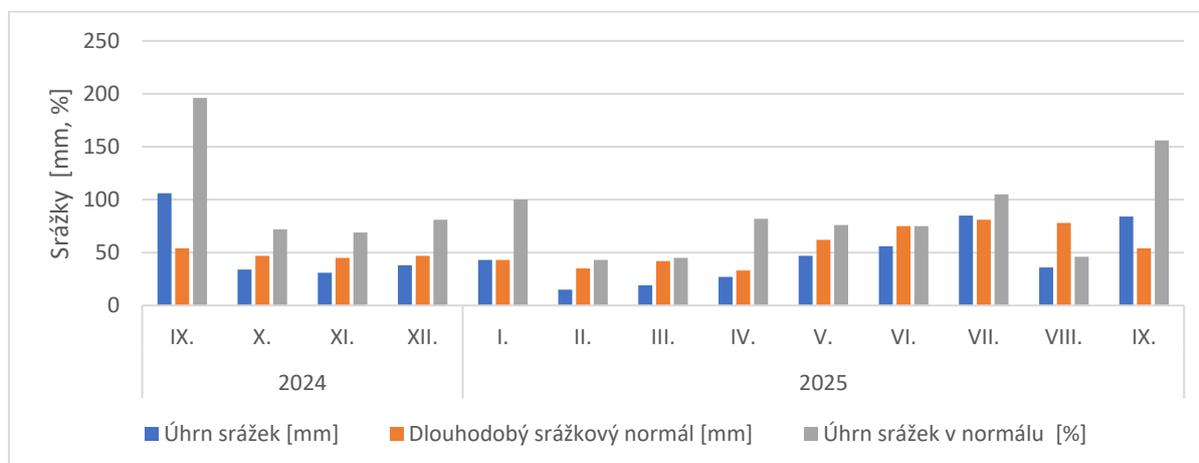
Naopak u ujímavosti nejlépe vyšly kontrolní výsadby RRD (izolační pás, kontr\_0, H\_kontr; viz graf 6), kde ujímavost dosahovala 90 % a aplikace s vodou dosahovala 79 %. Nejhorší dopadla kombinace aplikace hydrolyzátu s biocharem (H\_BCh viz graf 6) s 13 % ujímavostí. V kombinaci (průměru) obou parametrů vitality a ujímavosti nejlépe vyšla aplikace hydrolyzátu se štěpkou (S\_RRD) viz graf 5 a 6, kde ujímavost dosahovala 76 % a vitalita se pohybovala v průměru kolem hodnoty 1. Další hodnocení pokusu bude probíhat po skončení vegetace, kdy proběhne měření biometrických parametrů.



Graf 5 Hodnocení vitality všech RRD podle aplikací hydrolyzátu s přísadami (S1, S2), biocharem (H\_BCh) s kompostovanou štěpkou (S\_RRD); ostatní sloupce jsou kontrolní a izolační výsadby



Graf 6 Výsledky hodnocení vitality všech RRD v pokusu podle aplikací hydrolyzátu s přísadami (S1, S2), biocharem (H\_BCh) s kompostovanou štěpkou (S\_RRD); ostatní sloupce jsou kontrolní a izolační výsadby



Graf 7 Územní srážky v průběhu pokusu od září 2024 do září 2025 v Ústeckém kraji. Zdroj <https://www.chmi.cz/historicka-data/pocasi/uzemni-srazky>

Z přehledu průběhu srážek v pokusném období (viz Graf 7) lze shrnout, že úhrn srážek v dané oblasti byl ve většině měsíců slabě až silně podnormální (40-80%) - pod hodnotami dlouhodobého normálu. Zejména pak v jarních měsících a srpnu, kdy se hodnoty úhrnu srážek pohybovali kolem 20 – 80 mm. Nejmenší úhrn srážek byl v zimních měsících (únor 2025), kdy hodnota úhrnu srážek byla 15 mm a největší úhrn srážek byl na podzim (září 2024), kdy hodnota úhrnu srážek byla 106 mm.

Prezentované výsledky polních pokusů po polovině první vegetační sezony jsou pouze indikativní, protože podrobné měření biometrických parametrů a statistické vyhodnocování stále probíhá. Celkově nižší ujmavost RRD ve všech pokusech, proti obvyklým polním podmínkám (Weger, 2008; Weger, Bubeník, 2012), odpovídá extrémním podmínkám substrátů výsypek včetně slabších srážek v jarním a letním období. Z výsledků je možné konstatovat, že určité jednotlivé aplikace hydrolyzátů vykazují pozitivní vliv na vitalitu živých rostlin ve srovnání s kontrolami. Konkrétně tedy hydrolyzát s biocharem nebo FH. Příčiny nižší ujmavosti u těchto aplikací zejm. u biocharu, které je zmiňují i jiní autoři (Briones et al, 2020; Lin et al, 2025) ještě budeme analyzovat a řešit například optimalizací dávkování a složením jednotlivých aplikací.

### Závěr

Biologicky aktivní hydrolyzáty prokázaly pozitivní vliv na růst a vitalitu topolů v nádobovém pokusu, především kombinace hydrolyzátu peří s fytohormonem na jílovité půdě. Hodnocení polních pokusů je zatím předběžné, probíhá po první vegetační sezoně, která byla klimaticky zejména po výsadbě značně nepříznivá. Výsledky naznačují, že aplikace biologicky aktivních hydrolyzátů mají pozitivní vliv na vitalitu živých rostlin. Výsledky potvrzují jejich potenciál pro podporu růstu rostlin v podmínkách stresu a využití při rekultivaci půd.

### Literatura

- Ambrosini S., Sega D., Santi Ch., Zamboni A., Varanini Z., Pandolfini T. (2021): Evaluation of the Potential Use of a Collagen-Based Protein Hydrolysate as a Plant Multi-Stress Protectant. In: *Front. Plant Sci.*, 09 Feb. 2021, Sec. Crop and Product Phys., Vol. 12–2021.
- Briones, M.J.I., Panzacchi, P., Davies, C.A., Ineson, P., 2020. Contrasting responses of macro- and meso-fauna to biochar additions in a bioenergy cropping system. *Soil Biol. Biochem.* 145, 107803. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107803>.
- Český hydrometeorologický ústav (CHMI) (2025): Územní srážky - Historická data. In: CHMI.cz, available at: <https://www.chmi.cz/historicka-data/pocasi/uzemni-srazky> (accessed October 29, 2025).
- FAO (2025): Agricultural Outlook 2025–2034, Executive Summary. In: Agri-Outlook.org, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2025, available at: [https://www.agri-outlook.org/content/dam/fao-agri-outlook/en/pdfs/AgriOutlook25\\_ExecSum\\_EN.pdf](https://www.agri-outlook.org/content/dam/fao-agri-outlook/en/pdfs/AgriOutlook25_ExecSum_EN.pdf) (accessed October 29, 2025).
- Hanika J., Rousková M., Šabata S., Kaštánek F., Šolcová O. (2021): New Green Animal Waste Hydrolysis Initiated by Malic Acid, In: *Current Biochem. Eng.*, 2021, Vol. 7, No. 2.
- Lin Y., Cai Q., Chen B. & Garg A. (2025). A Review of the Negative Effects of Biochar on Soil in Green Infrastructure with Consideration of Soil Properties. *Indian Geotechnical Journal*, 55, 2563-2577
- Stirbet, A., D. Lazar, J. Kromdijk & Govindjee (2018) Chlorophyll a fluorescence induction: Can just a one-second measurement be used to quantify abiotic stress responses? *Photosynthetica*, 56, 86-104.
- Strasser R.J., Tsimilli-Michael M. & A. Srivastava (2000) The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. *Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation*. 445-483.

- Šolcová O., Knapěk J., Wimmerová L., Vávrová K. et al. (2021): Environmental aspects and economic evaluation of new green hydrolysis method for waste feather processing. In: Clean Technol. and Environmental Policy, Springer, doi.org/10.1007/s10098-021-02072-5.
- Špíšek Z., Koprna R., Weger J., Humplík J. Možnosti využití hydrolyzátů z odpadních surovin při pěstování rychle rostoucích dřevin. Agromanuál. 12/2023.
- Veselý, M. (2010). *Revitalizace post-těžebních ploch = Revitalisation of post-mining sites* [Bachelor thesis, Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta]. CU-Digital Repository. <https://dspace.cuni.cz/handle/20.500.11956/30122>
- Weger, J., Bubeník, J., (2012): Produkce biomasy nových klonů vrb a topolů po šesti letech pěstování na zemědělské půdě v tříletém obmýtí. Acta Pruhoniana, vol. 100, s. 51–62.
- Weger, J. (2008): Výnos vybraných klonů vrb a topolů po 9 letech výmladkového pěstování – Acta Pruhoniana 89: 5–10.

**Dedikace:** Výsledky byly získány za podpory projektu NCK/NPO č. TN02000044 „Biorafinace a cirkulární ekonomika pro udržitelnost“.

**Kontakt:** Mgr. Zdeněk Špíšek, Ph.D.

Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta – Katedra chemické biologie

Šlechtitelů 27, 783 71 Olomouc - Holic

Tel: 585 63 4945

e-mail: Zdenek.spisek@upol.cz

## Využití bentonitu v zemědělství a jeho vliv na fyzikální a biologické vlastnosti půdy

Utilization of bentonite in agriculture and its impact on physical and biological soil properties

<sup>1</sup>Vašíňka M., <sup>2</sup>Badalíková B., <sup>2</sup>Prudil J.

<sup>1</sup>Agrovýzkum Rapotín s.r.o., <sup>2</sup>Zemědělský výzkum, spol. s r.o., Troubsko

### Abstrakt

Cílem dvouletého polního experimentu (2019–2020) bylo vyhodnotit vliv aplikace dvou typů bentonitu (Rokle a Černý vrch) v různých dávkách (400, 800 a 1200 kg·ha<sup>-1</sup>) na fyzikální a biologické vlastnosti půdy při pěstování kukuřice seté (*Zea mays L.*) v bramborářské výrobní oblasti poblíž obce Hodov. Hodnoceny byly parametry objemové hmotnosti redukované (O<sub>Hr</sub>), maximální kapilární kapacity (MKK), minimální vzdušné kapacity (MVK), půdní vlhkosti a obsahu mikrobiální biomasy uhlíku (C<sub>mic</sub>). Aplikace bentonitu vedla ke snížení objemové hmotnosti půdy a mírnému zvýšení vodní retenční kapacity, zejména u bentonitu typu Černý vrch při vyšších dávkách. Současně byl pozorován mírný nárůst hodnot C<sub>mic</sub> (o 1–9 %) u variant s bentonitem Černý vrch oproti bentonitu Rokle. Výsledky potvrzují, že i relativně nízké dávky bentonitu mohou zlepšit fyzikální stav půdy a vytvořit příznivější podmínky pro mikrobiální aktivitu při pěstování kukuřice, přičemž výraznější efekty lze očekávat při dlouhodobějším působení nebo kombinaci bentonitu s organickými látkami.

**Klíčová slova:** bentonit, půda, fyzikální vlastnosti, mikrobiální biomasa, kukuřice setá

### Abstract

The aim of this two-year field experiment (2019–2020) was to evaluate the effects of two bentonite types (Rokle and Černý vrch) applied at different rates (400, 800, and 1200 kg·ha<sup>-1</sup>) on soil physical and biological properties during the cultivation of maize (*Zea mays L.*) in a potato-growing region near Hodov (Czech Republic). The study assessed bulk density (BD), maximum capillary capacity (MCC), minimum air capacity (MAC), soil moisture, and microbial biomass carbon (C<sub>mic</sub>). Bentonite application reduced soil bulk density and slightly increased water retention capacity, particularly for the Černý vrch bentonite at higher doses. A moderate increase in C<sub>mic</sub> (1–9%) was observed in Černý vrch variants compared to Rokle. The findings indicate that even relatively low bentonite doses can improve soil physical conditions and support microbial activity during maize cultivation, with more pronounced effects expected under long-term application or in combination with organic amendments.

**Key words:** bentonit, soil, physical properties, microbial biomass, maize

### Úvod

V moderním zemědělství představuje zlepšování půdních vlastností jednu z hlavních cest, jak dosáhnout stabilních a udržitelných výnosů plodin při současném omezení vstupů hnojiv a vody. V posledních letech se do popředí zájmu dostávají přírodní půdní doplňky, které podporují úrodnost půdy a zároveň respektují principy ochrany životního prostředí. Jejich cílem je zvýšit kvalitu půdního prostředí, zlepšit retenci vody, stabilitu půdní struktury a dostupnost živin rostlinám bez negativních dopadů na ekosystém. K nejpoužívanějším přírodním doplňkům patří organické materiály (např. kompost, hnůj, biouhel, mikrořasy nebo extrahované huminové látky), minerální doplňky (vápenec, sádrovec, bentonit) a jejich kombinace, tzv. organo-minerální směsi (Garbowski et al., 2023). Bentonit je jemnozrná reziduální hornina tvořená převážně jílovými minerály skupiny smektitů, zejména montmorillonitem, který tvoří přibližně 65–80 % hmotnostního podílu (Croker et al., 2004). Montmorillonit se vyznačuje výraznou bobtnavostí, záporným povrchovým nábojem a vysokou kationtovou výměnnou kapacitou (KVK), díky čemuž dokáže zadržovat vodu a živiny v půdním profilu (Czaban a Siebielec, 2013). Bobtnavé vlastnosti montmorillonitu pomáhají omezit rychlé vysychání půdy. Působení se projevuje i na chemických vlastnostech půdy, protože hydrolyza montmorillonitu

a následná kationtová výměna ( $\text{Na}^+ \leftrightarrow \text{H}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+} \leftrightarrow \text{Na}^+$ ) vedou ke zvýšení nasycení půdy bázemi (Kaufhold et al., 2008). Hornina bohatá na vápník rovněž přispívá ke stabilizaci pH a podporuje neutralizaci kyselých půd. V České republice se významná ložiska bentonitu nacházejí v Doupovských horách (Rokle, Černý vrch), na Karlovarsku (Hájek, Velký rybník) a na jižní Moravě (Velké Němčice, Ivančice). Zdejší surovina je převážně vápenatá (Ca-typu) s KVK 56–60 meq/100 g a swell indexem 5,5–22 ml/2 g, což ji činí vhodnou nejen pro technické, ale i zemědělské aplikace (CEG, 2002; Řehoř et al., 2017). V zemědělství je jeho hlavní předností schopnost zlepšovat fyzikální a chemické vlastnosti půdy, zejména u lehkých a propustných půd s nízkým obsahem jílovitých částic (do 20 %), které mají omezenou schopnost vázat živiny a rychle vysychají (Vašinka a Badalíková, 2020). Mi et al. (2020) v dlouhodobém pokusu na písčito-jílovité půdě v severní Číně zjistili, že dávky bentonitu v rozmezí 0–30 t·ha<sup>-1</sup> zvýšily polní vodní kapacitu až o 12 % a dostupnost vody pro rostliny přibližně o 10 % oproti kontrolní variantě. Podobně Zhang et al. (2020) prokázali, že přidavek bentonitu do písčitých půd zlepšil tvorbu makroagregátů, zvýšil obsah půdní vlhkosti a podíl živin, což přispívá k lepší stabilitě půdní struktury a odolnosti vůči erozi. Zemědělské experimenty rovněž potvrzují pozitivní vliv na výnosy a kvalitu plodin při variabilním dávkování. Na písčitých půdách aplikace 24 t·ha<sup>-1</sup> výrazně zvýšila výnos kukuřice (*Zea mays* L.), zatímco u bėru italského (*Setaria italica*) byla tato dávka optimální pro růst a fotosyntetickou aktivitu. Co se týče kvality zrna, konkrétně obsahu bílkovin, tuků a vlákniny, byla nejlepší dávka 18 t·ha<sup>-1</sup> (Mi et al., 2020). Pokusy s prosem setým (*Panicum miliaceum* L.) ukázaly, že dávky 6–30 t·ha<sup>-1</sup> vedly k nárůstu nadzemní biomasy o 2–39 % a výnosu zrna o 3–20 %, přičemž optimální dávka činila 24 t·ha<sup>-1</sup> a ekonomicky nejvýhodnější 18 t·ha<sup>-1</sup> (Mi et al., 2017). Hornina se uplatňuje i jako sorbent těžkých kovů a kontaminantů. Díky vysoké specifické povrchové ploše a zápornému náboji dokáže imobilizovat kovy jako Pb, Cd, Zn nebo Cu prostřednictvím iontové výměny a adsorpce na minerálních površích, což je vhodné při fytostabilizaci kontaminovaných půd, nebo čištění odpadních vod (Sun et al., 2015; Maged et al., 2020).

## Materiál a metody

### Chemické složení bentonitu a parametry pokusu

Chemické složení bentonitových typů je popsáno v

Tab. 1. Oba typy bentonitu byly poskytnuty firmou Keramost, a.s. Aplikace bentonitu probíhala vždy na začátku vegetačního období v letech 2019–2020 v bramborářské výrobní oblasti na pokusné ploše 100 x 52 m (GPS souřadnice: 49.2862300N, 15.9784139E), poblíž obce Hodov. K rozmetání bentonitu bylo použito rozmetadlo RMS 8 a bentonit byl následně zapraven do půdy podmiřákem Lemken. Pokusná plocha byla rozdělena do následujících 8 variant s rozměrem 6,5 x 100 m. K setí byla zvolena silážní kukuřice setá (*Zea mays* L.), odrůda Donremi. Výsevek byl v dubnu každého roku v počtu 95 tis.zrn/ha, rozteč řádků 75 cm.

**Tab. 1: Chemické složení bentonitových typů. Vyjádřeno v procentech hmotnostních a přepočteno na hlavní oxidy pro standardizované geochemické srovnání a interpretaci.**

hm. %	Typ bentonitu	
	Rokle	Černý vrch
SiO <sub>2</sub>	46,12	48,78
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	15,75	15,96
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	14,98	11,24
TiO <sub>2</sub>	1,00	0,65
MgO	2,87	5,67
CaO	2,35	2,52
Na <sub>2</sub> O	0,49	2,30
K <sub>2</sub> O	0,70	1,77

### **Varianty pokusu a aplikační dávky bentonitů Rokle a Černý vrch, přepočteno na ha**

IA, IB kontrola – bez přidavku bentonitu

IIA – aplikace 26 kg bentonitu, typ Rokle ( $400 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ )

IIB – aplikace 26 kg bentonitu, typ Černý vrch ( $400 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ )

IIIA – aplikace 52 kg bentonitu, typ Rokle ( $800 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ )

IIIB – aplikace 52 kg bentonitu, typ Černý vrch ( $800 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ )

IVA – aplikace 78 kg bentonitu, typ Rokle ( $1200 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ )

IVB – aplikace 78 kg bentonitu, typ Černý vrch ( $1200 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ )

### **Stanovení fyzikálních vlastností půdy**

Pro stanovení fyzikálních vlastností byly odebrány neporušené půdní vzorky dle Kopeckého válečků z hloubek 0–0,10 m, 0,10–0,20 m, 0,20–0,30 m. Ze vzorků byla stanovena objemová hmotnost redukovaná, maximální kapilární vodní kapacita a minimální vzdušná kapacita (Kutílek, 1978). Zastoupení jednotlivých pórů bylo stanoveno výpočtem pro naměřené hodnoty při odsávání vody ze vzorků.

### **Stanovení půdní vlhkosti**

Vlhkost půdy (% hm.) v půdě byla zjišťována gravimetrickou metodou z hloubek 0–0,05; 0,05–0,10; 0,10–0,20 a 0,20–0,30 m. Obsah vody ve vzorku byl vypočítán z úbytku hmotnosti vzorku po jeho vysušení při  $105 \text{ }^\circ\text{C}$  do konstantní hmotnosti. Na jaře 2019 byly odebrány vstupní vzorky půdní vlhkosti pouze z kontrolních variant (IA, IB), a proto byly pro porovnání biologických vlastností použity průměrné hodnoty půdní vlhkosti z podzimních odběrů po aplikaci bentonitu. Pro porovnání vlhkosti s  $C_{mic}$  byla použita průměrná hodnota z hloubky 0–0,30 m.

### **Stanovení půdní mikrobiální biomasy**

Stanovení obsahu půdní biomasy bylo zjištěno jako kvantitativní obsah mikroorganismů Fumigačně-extrakční metodou (podle Vance et al., 1987). U této metody se půdní vzorky fumigují chloroformem 24 hodin. Obsah půdní mikrobiální biomasy byl stanoven z rozdílu mezi fumigovanými a nefumigovanými vzorky. Uhlík byl stanoven dichromanovou oxidací v přítomnosti silné kyseliny a následnou titrací Mohrovou solí, popř. spektrofotometricky.

### **Výsledky**

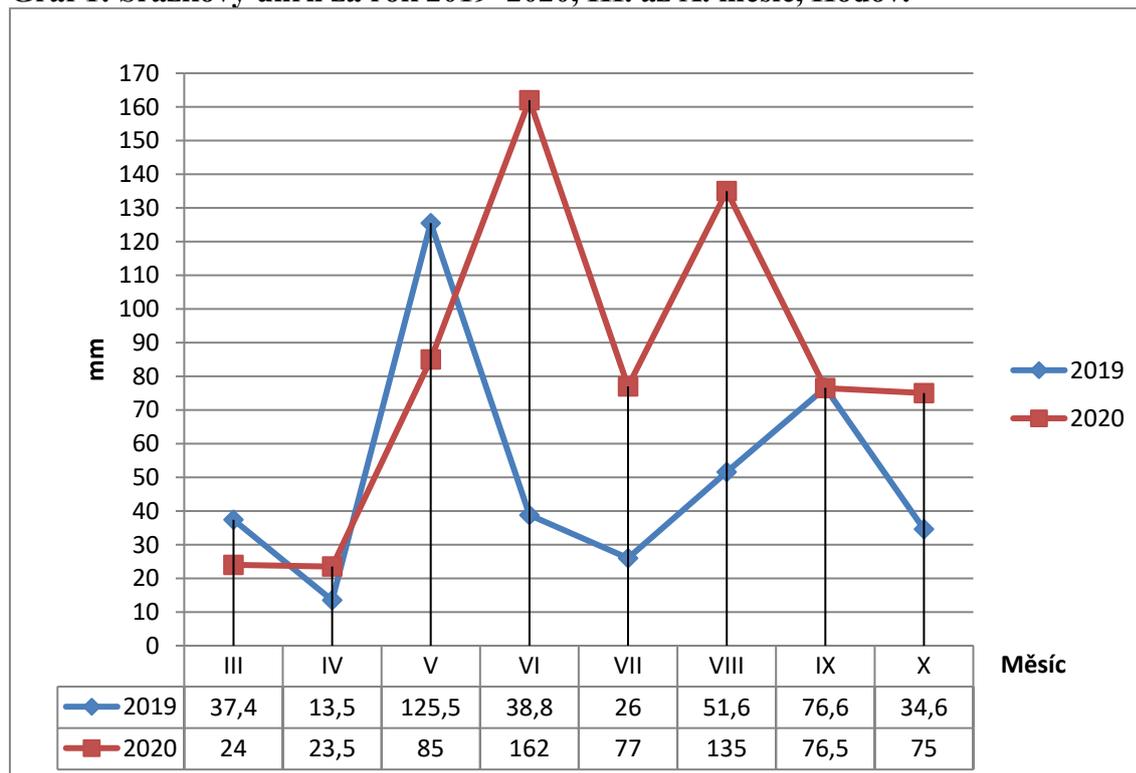
Hodnocení fyzikálních vlastností půdy po aplikaci různých dávek a typů bentonitu (Rokle, Černý vrch) ukázalo zřetelné změny zejména v průměrných hodnotách objemové hmotnosti redukované (O<sub>Hr</sub>), maximální kapilární kapacity (MKK) a minimální vzdušné kapacity (MVK) půdy v hloubce 0–0,3 m v letech 2019–2020 (Tab. 2).

V roce 2019 byla O<sub>Hr</sub> v kontrolní variantě bez přidavku bentonitu  $1,34 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ . Po aplikaci bentonitu došlo k jejímu mírnému poklesu u většiny variant, nejvíce u variant IIB ( $1,23 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ ) a IIIA ( $1,22 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ ), což naznačuje zlepšení půdní struktury a vyšší pórovitost vlivem začlenění jílových částic bentonitu mezi hrubší půdní frakce, a tím i příznivější podmínky pro radikální růst kořenů, pohyb vody a výměnu plynů. S rostoucí dávkou bentonitu se objemová hmotnost obecně snižovala, a to výrazněji u bentonitu typu Černý vrch. Maximální kapilární kapacita, vyjadřující schopnost půdy zadržovat vodu v pórech proti gravitačním silám, se mezi variantami pohybovala od 30,9 % do 34,9 %. Nejvyšší hodnoty byly dosaženy u variant IVA (34,92 %) a kontrolní IA (33,65 %), zatímco nejnižší u IVB (30,89 %). Minimální vzdušná kapacita vykazovala opačný trend. S rostoucí dávkou bentonitu se převážně snižovala, což je důsledkem zaplnění větších pórů jemnými částicemi. Nejvyšší hodnota 23,52 % byla zjištěna u varianty IVB (Černý vrch,  $1200 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ ) s nejvyšší aplikační dávkou, což může naznačovat

příznivější poměr mezi vodní a vzdušnou složkou v půdě při této dávce. V roce 2020 se OHR ve všech variantách mírně zvýšila (na 1,32–1,43 g·cm<sup>-3</sup>), pravděpodobně vlivem dlouhodobé mechanické zátěže (např. přejezdy mechanizace), sedání půdy po předchozím roku, nebo i vyšší srážkové aktivity (viz Graf. 1), která mohla podporovat zhutnění jemnozrnných částic. Přesto však byly hodnoty u variant s vyšší dávkou bentonitu (IVA, IVB) nižší než u kontroly, což potvrzuje dlouhodobý pozitivní efekt bentonitu na půdní strukturu. MKK se v roce 2020 pohybovala v rozmezí 32,95–34,68 %. Opět se zde ukázal pozitivní vliv bentonitu na vodní retenční schopnost, přičemž nejvyšší hodnoty dosáhla varianta IIIB (Černý vrch, 800 kg·ha<sup>-1</sup>). V případě MVK došlo ve všech variantách v roce 2020 k poklesu hodnot oproti roku 2019. U kontrolní varianty se hodnota snížila z 15,31 % obj. na 11,21 % obj. U variant s přídatkem bentonitu se pokles pohyboval v rozmezí 2–9 % obj. Celkově lze shrnout, že aplikace bentonitu vedla ke zlepšení fyzikálních vlastností půdy, především ke snížení objemové hmotnosti redukované a zvýšení vodní kapacity, přičemž efekt byl výraznější u bentonitu typu Černý vrch při vyšších aplikačních dávkách. Žádná z měřených hodnot nepřekročila běžně uváděnou kritickou hranici ~1,45 g·cm<sup>-3</sup> pro minerální půdy, což naznačuje, že aplikace bentonitu v našem případě i při vyšších dávkách nepřispěla k nepříznivému zvýšení hutnosti půdy.

**Tab. 2: Přehled sledovaných fyzikálních půdních vlastností za rok 2019–2020, Hodov. Průměrné hodnoty z hloubky 0–0,3 m. Půdní typ: kambizem mesobazická.**

Varianta	Hloubka půdy (m)	2019			2020		
		Objemová hmotnost red. (g·cm <sup>-3</sup> )	Max.kapilár. kapacita	Min.vzduš. kapacita	Objemová hmotnost red. (g·cm <sup>-3</sup> )	Max.kapilár. kapacita	Min.vzduš. kapacita
			%obj.			%obj.	
I- kontrola	0 - 0,3	1,34	33,65	15,31	1,43	34,14	11,21
IIA	0 - 0,3	1,38	32,33	15,13	1,43	33,72	11,78
IIB	0 - 0,3	1,23	30,98	21,91	1,43	33,31	12,00
IIIA	0 - 0,3	1,22	33,49	19,86	1,41	32,95	13,39
IIIB	0 - 0,3	1,29	32,68	18,19	1,41	34,68	11,46
IVA	0 - 0,3	1,28	34,92	16,39	1,41	33,60	12,58
IVB	0 - 0,3	1,19	30,89	23,52	1,32	33,67	14,14

**Graf 1: Srážkový úhrn za rok 2019–2020, III. až X. měsíc, Hodov.**

## Diskuze

### Vliv aplikace bentonitu na biologické půdní vlastnosti

Bentonit je sám o sobě anorganickou pomocnou půdní látkou, a jeho vliv na obsah organického uhlíku v půdě a biologické půdní vlastnosti je spíše nepřímý. Hlavní mechanismus spočívá ve schopnosti bentonitu zvyšovat zadržování vody v půdě, čímž se zlepšují fyzikálně-chemické podmínky půdního mikroprostředí (např. vyšší vlhkost, lepší půdní struktura, nižší objemová hmotnost) a tím se vytváří příznivější prostředí pro mikrobiální populaci a enzymatickou aktivitu. Vyšší půdní vlhkost podporuje růst rostlin a zároveň zvyšuje příspěvek organické hmoty do půdy, čímž mikroorganismům poskytuje více substrátů pro jejich metabolismus.

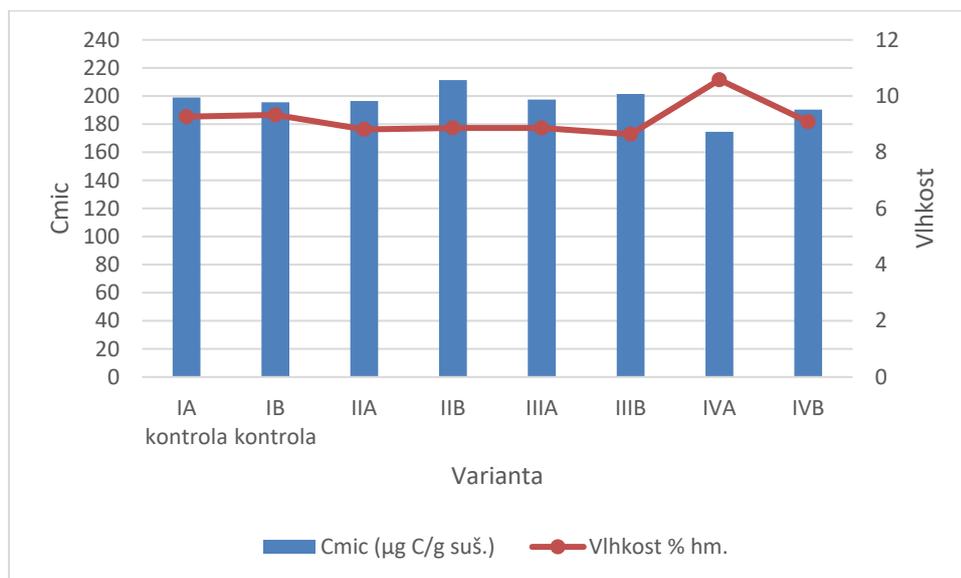
Tuto souvislost potvrzuje pětiletý experiment provedený v suchém až polopouštním regionu severní Číny, ve kterém byly aplikovány dávky bentonitu 0, 6, 12, 18, 24 a 30 Mg ha<sup>-1</sup>. Výsledky ukázaly statisticky významné navýšení mikrobiální biomasy uhlíku (MBC), mikrobiální biomasy dusíku (MBN) a mikrobiální biomasy fosforu (MBP) ve vrstvě 0–20 cm. Konkrétně aplikace bentonitu vedla k navýšení MBC až o ~50 % (v porovnání s kontrolou), MBN až o ~42 % a MBP až o ~34 %. (Mi et al., 2021). Současně starší studie prokázala, že jednorázová aplikace bentonitu měla v témže regionu významný dopad ( $p < 0,05$ ) na aktivitu půdních enzymů (kataláza, invertáza, ureáza, alkalická fosfatáza). Tento nárůst byl stanoven ~42 % pro katalázu, ~46 % pro invertázu, ~58 % pro ureázu a ~50 % pro alkalickou fosfatázu, přičemž efekt rostl s dávkou až do ~24 Mg ha<sup>-1</sup> (Mi et al., 2018).

V našem dvouletém experimentu se projevil zejména typ použitého bentonitu, který měl vliv na obsah mikrobiální biomasy uhlíku ( $C_{mic}$ ) bez přímé korelace s naměřenou půdní vlhkostí (Graf 2, 3). Průměrná hodnota  $C_{mic}$  u všech variant byla na podzim v prvním roce testování 174,6–211,4  $\mu\text{g C g}^{-1}$  suš. a ve druhém roce 188,6–224,8  $\mu\text{g C g}^{-1}$  suš. U bentonitu „Černý vrch“ (var. IIB, IIIB, IVB) byla průměrná hodnota  $C_{mic}$  vyšší o 2,0–9,0 % v prvním roce (2019) a o 1,0–7,9 % ve druhém roce (2020) ve srovnání s obdobnými variantami bentonitu typu „Rokle“ (var. IIA, IIIA, IVA). V celkovém měřítku vliv nebyl natolik zásadní, což lze částečně přičíst délce trvání experimentu. V druhém roce byly v podzimním období lepší vláhové

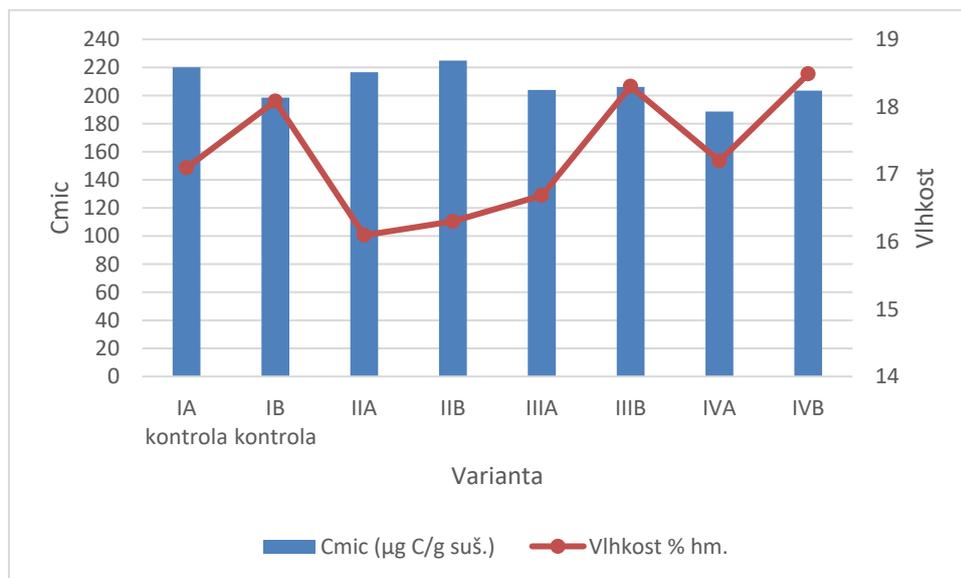
poměry a průměrná vlhkost u jednotlivých variant se pohybovala v rozmezí 17,1–18,5 % hm. Mechanistické poznatky u bentonitových systémů zdůrazňují, že mikrobiální růst může být silně ovlivněn nikoli pouze samotnou vlhkostí půdy, ale zejména její vodní aktivitou (water activity,  $a_{(w)}$ ) a strukturálními faktory systému (např. výtlačný tlak, swelling pressure). Při hodnotách  $a_{(w)} < 0,96$  a/nebo výtlačném tlaku nad  $\sim 2$  MPa dochází k výraznému omezení mikrobiálního růstu ve vzorcích bentonitu (Punch et al., 2025). Tento výsledek implikuje, že i když obsah vody v objemu (vlhkost) může být relativně přijatelný, dostupnost vody pro mikroorganismy (což odráží  $a_{(w)}$ ) a fyzikální podmínky půdy (např. míra konzistence bentonitu, objemová hmotnost, pórovitost) mohou výrazně modulovat mikrobiální aktivitu. Punch et al. (2025) také poznamenali, že u oxických podmínek (které pravděpodobně byly i v našem experimentu) existuje přímý vztah: vyšší vodní aktivita  $\rightarrow$  vyšší mikrobiální abundace. Naopak u podmínek nízké  $a_{(w)}$  či zvýšeného tlaku dochází k potlačení růstu, tedy k efektu, který mohl být ve vašem pokusu částečně limitován právě kratší dobou sledování či menším rozdílem ve fyzikálních vlastnostech mezi jednotlivými typy bentonitu. Tyto výsledky naznačují, že různé typy bentonitu se mohou lišit schopností udržet vodu biologicky dostupnou, což by mohlo vysvětlovat i pozorované rozdíly mezi variantami v našem pokusu.

Zatímco anorganické pomocné půdní látky, jako je bentonit mohou samy o sobě podporovat mikrobiální biomasu a enzymatickou aktivitu, nemusí vždy jednoznačně způsobovat pozitivní efekty ve všech parametrech. Například v experimentu v období 2014–2017 v Rapotíně byly porovnávány čtyři typy ošetření: kontrolní NPK, NPK + hnůj, NPK + bentonit a kombinace NPK + hnůj + bentonit, přičemž bylo zjištěno, že samotný bentonit zvyšoval bakteriální a houbovou biomasu (na základě 16S rDNA a 18S rDNA), ale v případě  $C_{mic}$  a aktivity dehydrogenázy (DHA) došlo ke snížení oproti kontrole. Nejvýraznější zlepšení bylo dosaženo při kombinaci NPK + bentonit + hnůj, kde všech sedm měřených parametrů (DHA, PLFA,  $C_{mic}$ , 16S rDNA, 18S rDNA, amoniak-oxidující bakterie) dosáhlo maximálních hodnot. (Datta et al., 2020). Kromě hnoje se také například hojně využívá kombinace bentonitu s biouhlem. Ve dvouletém polním pokusu v eolických písčítých půdách kombinace  $12 \text{ t ha}^{-1}$  bentonitu a  $1,9 \text{ t ha}^{-1}$  biouhlu z kukuřičné slámy významně zlepšila ( $P < 0,05$ ) fyzikálně-chemické a biologické vlastnosti půdy.  $C_{mic}$  se ve druhém roce zvýšila až  $2,4\times$  oproti kontrole, a aktivita sukrázy dosáhla maxima při fázi zrání, kdy byla zvýšena o přibližně 159,6 % ve srovnání s kontrolou (Weijing et al., 2025). Bentonit může mít výraznější vliv na půdní prostředí také v kombinaci s huminovými látkami. Například aplikace směsi bentonitu s huminovou kyselinou (B-HA) při pěstování stejné plodiny jako v našem experimentu (*Zea mays* L.) v semi-aridní písčité půdě významně zlepšila fyzikální i biologické vlastnosti půdy. Při dávce  $30 \text{ Mg ha}^{-1}$  vedla během 1, 3, 5 a 7 let po aplikaci k významnému zvýšení vodou vyplněného pórového prostoru a obsahu organického uhlíku, především ve 3. až 5. roce po aplikaci. Úprava půdy B-HA rovněž zvýšila obsah mikrobiální biomasy uhlíku, dusíku a fosforu a aktivitu ureázy, invertázy, katalázy a alkalické fosfatázy. Analýza rozptylu ukázala, že růstová fáze kukuřice objasnila 58 % variability mikrobiální biomasy a 84 % variability enzymových aktivit, zatímco samotná aplikace B-HA přispěla k dalším 8 % variability u obou sledovaných parametrů. Kromě toho aplikace B-HA významně zlepšila příjem N a P rostlinami kukuřice seté a celkově podpořila úrodnost a obnovu degradovaných písčítých půd v semi-aridních oblastech (Zhou et al., 2022).

**Graf 2: Vztah průměrné půdní mikrobiální biomasy ( $C_{mic}$ ) a průměrné půdní vlhkosti v orničním horizontu (0–0,3 m) za rok 2019 (podzim).**



**Graf 3: Vztah průměrné půdní mikrobiální biomasy ( $C_{mic}$ ) a průměrné půdní vlhkosti v orničním horizontu (0–0,3 m) za rok 2020 (podzim).**



### Závěr

Aplikace bentonitu měla pozitivní vliv na fyzikální i biologické vlastnosti půdy. Došlo ke snížení objemové hmotnosti a ke zlepšení vodní retenční schopnosti půdy, což se odrazilo ve zvýšené aktivitě půdní mikroflóry. Efekt byl zřetelnější u bentonitu typu Černý vrch, pravděpodobně v důsledku jeho odlišného chemického složení a vyššího obsahu  $\text{Na}_2\text{O}$  a  $\text{MgO}$ . Přestože zjištěné rozdíly v hodnotách půdní mikrobiální biomasy nebyly výrazné, výsledky potvrzují potenciál bentonitu jako pomocné půdní látky ke zlepšení půdní struktury, vodního režimu a biologické aktivity. Dlouhodobější sledování a kombinace s organickými materiály, jako jsou hnojiva, nebo biouhel, mohou dále posílit pozitivní účinky bentonitu a přispět k trvalému zlepšení kvality půdního prostředí.

## Literatura

- CEG (2002): Nejdůležitější ložiska bentonitu v ČR. Centrum experimentální geotechniky, Fakulta stavební, ČVUT. [https://ceg.fsv.cvut.cz/ceg-old/CZ/ceguvod/04\\_loziska.htm](https://ceg.fsv.cvut.cz/ceg-old/CZ/ceguvod/04_loziska.htm).
- Crocker, J., Hartmann, C., Bhuthorndharaj, S. (2004): Effects of recycled bentonite addition on soil properties, plant growth and nutrient uptake in a tropical sandy soil. *Plant and Soil*, 267, 155–163. 10.1007/s11104-005-4641-x.
- Czaban, J., Siebielec, G. (2013): Effects of Bentonite on Sandy Soil Chemistry in a Long-Term Plot Experiment (II); Effect on pH, CEC, and Macro- and Micronutrients. *Polish Journal of Environmental Studies*, 22(6), 1669–1676.
- Datta, R., Holátko, J., Látal, O., Hammerschmiedt, T., Elbl, J., Pecina, V., Kintl, A., Baláková, L., Radziemska, M., Baltazar, T., Škarpa, P., Danish, S., Zafar-ul-Hye, M., Vyhnánek, T., Brtnický, M. (2020): Bentonite-based organic amendment enriches microbial activity in agricultural soils. *Land*, 9(8), 258. 10.3390/land9080258
- Garbowski, T., Bar-Michalczyk, D., Charazińska, S., Grabowska-Polanowska, B., Kowalczyk, A., Lochyński, P. (2023): An overview of natural soil amendments in agriculture. *Soil and Tillage Research*, 225, 105462. 10.1016/j.still.2022.105462.
- Kaufhold, S., Dohrmann, R., Koch, D., Houben, G. (2008): The pH of Aqueous Bentonite Suspensions. *Clays and Clay Minerals*, 56 (3), 338–343. 10.1346/CCMN.2008.0560304.
- Kutílek, M. (1978): Vodohospodářská pedologie. 2. přeprac. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 295 str.
- Maged, A., Kharbish, S., Ismael, I. S., Bhatnagar, A. (2020): Characterization of activated bentonite clay mineral and the mechanisms underlying its sorption for ciprofloxacin from aqueous solution. *Environmental science and pollution research international*, 27(26), 2980–32997. 10.1007/s11356-020-09267-1.
- Mi, J., Gregorich, E., Xu, S., McLaughlin, N. B., Ma, B., Liu, J. (2017): Effect of bentonite amendment on soil hydraulic parameters and millet crop performance in a semi-arid region. *Field Crops Research*, 212, 107–114. 10.1016/j.fcr.2017.07.009.
- Mi, J., Gregorich, E. G., Xu, S., McLaughlin, N. B., Liu, J. (2018): Effects of a one-time application of bentonite on soil enzymes in a semi-arid region. *Canadian Journal of Soil Science*, 98(3), 542–555. 10.1139/cjss-2018-0011.
- Mi, J., Gregorich, E., Xu, S., McLaughlin, N. B., Ma, B., Liu, J. (2020): Effect of bentonite as a soil amendment on field water-holding capacity, and millet photosynthesis and grain quality. *Scientific Reports*, 10, 18282. 10.1038/s41598-020-75350-9.
- Mi, J., Gregorich, E. G., Xu, S., McLaughlin, N. B., Ma, B., Liu, J. (2021): Changes in soil biochemical properties following application of bentonite as a soil amendment. *European Journal of Soil Biology*, 102, 103251. 10.1016/j.ejsobi.2020.103251.
- Punch, R., Stofer, L. B. V., Neurauter, C. M. J., Beaver, R. C., Engel, K., Stroes-Gascoyne, S., Kim, C. S., Binns, W. J., Simpson, M. J., Slater, G. F., Neufeld, J. D. (2025): Low water activity limits bentonite-associated microbial growth. *Journal of applied microbiology*, 136(10), lxaf140. 10.1093/jambio/lxaf140.
- Sun, Y., Li, Y., Xu, Y., Liang, X., Wang, L. (2015): *In situ* stabilization remediation of cadmium (Cd) and lead (Pb) co-contaminated paddy soil using bentonite. *Applied Clay Science*, 105–106, 200–206. 10.1016/j.clay.2014.12.031.
- Řehoř, M., Vráblík, P., Vráblíková, J., Žižka, L. (2017): Sorbent Mineralogy in the Most Basin and Their Utilization for Reclamation Works. *Open Journal of Geology*, 7, 1767–1773. 10.4236/ojg.2017.712118.
- Vance, E. D., Brookes, P. C., Jenkinson, D.S. (1987): An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*, 19(6), 703–707. 10.1016/0038-0717(87)90052-6.
- Vašinka, M., Badalíková, B. (2020): Utilization of bentonite in light soils affected by drought

in order to increase yields and soil fertilization. *Proceedings of the International Multidisciplinary Scientific GeoConference (SGEM)*, 20, 619–626. 10.5593/sgem2020/3.1/s13.080.

Weijing, L., Jiayi, T., Yu, L., Sizhu, S., Xiaoyu, J., Liyu, H., Shuyu, T., Miaomiao, H. (2025): Biochar and bentonite application improves aeolian sandy soil health and enhances soil carbon sequestration and emission reduction potential. *Scientific Reports*, 15. 10.1038/s41598-025-86636-1.

Zhang, H., Chen, W., Zhao, B., Phillips, L. A., Zhou, Y., Lapen, D. R., Liu, J. (2020): Sandy soils amended with bentonite induced changes in soil microbiota and fungistasis in maize fields. *Applied Soil Ecology*, 146, 103378. 10.1016/j.apsoil.2019.103378.

Zhou, L., Xu, S.-t., Monreal, C. M., McLaughlin, N. B., Zhao, B.-p., Liu, J.-h., Hao, G.-c. (2022): Bentonite-humic acid improves soil organic carbon, microbial biomass, enzyme activities and grain quality in a sandy soil cropped to maize (*Zea mays* L.) in a semi-arid region. *Journal of Integrative Agriculture*, 21(1), 208–221. 10.1016/S2095-3119(20)63574-2.

### **Poděkování**

Výsledek vznikl za podpory projektem Technologické agentury ČR (TA ČR), projekt TJ02000068 „Využití bentonitu v lehkých půdách postižených suchem za účelem zvýšení výnosů a zúrodnění půd“ v programu ZÉTA a Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO1225 a za podpory programu Interreg Central Europe, projekt CE0100255 a za podpory Ministerstva zemědělství, v rámci institucionální podpory MZe-RO1725.

### **Kontaktní adresa:**

Mgr. Martin Vašinka, Ph.D.

Agrovýzkum Rapotín s.r.o.

Zemědělská 2520/16

787 01 Šumperk

E-mail: vasinka@agrovyzkum.cz



## Role kvasinek rodu *Zygosaccharomyces* v ekologii včelího úlu: nové možnosti detekce pomocí real-time LAMP

The role of *Zygosaccharomyces* yeasts in hive ecology: new detection opportunities using real-time LAMP

Žáková H.<sup>1</sup>, Stehlíková D.<sup>1</sup>, Beran P.<sup>1</sup>, Čurn V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra genetiky a biotechnologií, Fakulta zemědělská a technologická, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Na Sádkách 1780, 370 05, České Budějovice

### Abstrakt

Ve včelím úlu probíhají přirozené fermentační procesy, které zajišťují uchování potravy pro včely. Na těchto procesech se podílejí také kvasinky rodu *Zygosaccharomyces*, schopné přežít v prostředí s vysokým obsahem cukru a nízkou vodní aktivitou. Jejich přítomnost byla potvrzena ve fermentovaném pylu i v larvách včel, což naznačuje jejich roli při přeměně a stabilizaci živin ve včelí potravě. Získané poznatky přinášejí nový pohled na fungování mikrobioty včelího úlu a mohou být využity i při hodnocení kvality včelích produktů.

**Klíčová slova:** Molekulární detekce, fermentovaný plástový pyl, *Apis mellifera*

### Abstract

Natural fermentation processes take place within the beehive, ensuring the preservation of food for honeybees. Yeasts of the genus *Zygosaccharomyces*, capable of surviving in environments with high sugar content and low water activity, also participate in these processes. Their presence was confirmed in fermented pollen and in honeybee larvae, suggesting their role in the transformation and stabilization of nutrients in bee food. The findings provide new insights into the functioning of the hive microbiota and may also contribute to the assessment of bee product quality.

**Keywords:** Molecular detection, bee bread, *Apis mellifera*

### Úvod

Včela medonosná (*Apis mellifera*) patří mezi nejvýznamnější opylovatele zemědělských plodin i planě rostoucích rostlin. Její činnost je klíčová pro stabilitu zemědělských výnosů, biodiverzitu i celkové fungování ekosystémů. Kromě opylovací aktivity udržují včely také složité vztahy s celou řadou mikroorganismů, mezi něž patří bakterie, vláknité houby i kvasinky (Rutkowski et al., 2023). Tyto mikroorganismy mohou mít jak pozitivní, tak neutrální vliv na zdraví a vitalitu včel. Jejich složení se přitom mění podle druhu včel, složení potravy i prostředí, ve kterém včelstva žijí (Tiusanen et al., 2024). Jedním z nejzajímavějších včelích produktů je fermentovaný plástový pyl (včelí chléb, perga) – směs pylu, medu a výměšků slinných žláz včel, která v úlu prochází přirozeným fermentačním procesem. Představuje zásadní zdroj bílkovin, aminokyselin, tuků a vitamínů pro larvy i mladé dělnice (Gilliam, 1979). Jeho vznik je výsledkem činnosti mikroorganismů, především bakterií mléčného kvašení a kvasinek (Anderson et al., 2011; Podrižnik & Božič, 2015). Tyto mikroorganismy přispívají k fermentaci, snižují pH a zajišťují dlouhodobou stabilitu a trvanlivost plástového pylu. Zvláštní pozornost si zaslouží kvasinky rodu *Zygosaccharomyces*. Tyto osmotolerantní mikroorganismy dokážou růst v prostředí s až 70% obsahem glukózy, což jim umožňuje přežít ve sladkých substrátech, jako jsou med, ovocné šťávy, sirupy či víno (Aneja et al., 2014; James & Stratford, 2011; Martorell et al., 2007; Zuehlke et al., 2013). Díky této schopnosti se uplatňují i v prostředí včelího úlu navzdory nízké vodní aktivitě v tomto prostředí. V souvislosti s prostředím včelího úlu byly detekovány konkrétně *Z. mellis* ve fermentovaném a rouskovém pylu, *Z. rouxii* ve fermentovaném pylu a *Z. favi* ve fermentovaném pylu a medu (Čadež et al., 2015; Detry et al., 2020; Javůrková et al., 2025; Liu et al., 2016). Kvasinky rodu *Zygosaccharomyces* jsou také běžně detekovány v trávicím traktu včely medonosné, což naznačuje, že včely přispívají

k přenosu těchto kvasinek do medu (Xiong et al., 2023). Předpokládá se, že se podílejí na fermentačních procesech a konzervaci potravy pro včely, čímž podporují stabilitu mikrobiálního prostředí v úlu i celkové zdraví včelstva (Detry et al., 2020). Pro pochopení jejich ekologické role i pro hodnocení kvality včelích produktů je nezbytné disponovat spolehlivými metodami jejich detekce. Klasické kultivační postupy jsou často zdlouhavé a mohou přehlédnout pomalu rostoucí nebo málo zastoupené druhy. Molekulární metody, jako je PCR, jsou sice citlivější, ale vyžadují laboratorní vybavení a jejich účinnost může být omezena přítomností látek, které inhibují reakci (Rodrigues et al., 2018). V posledních letech se proto dostává do popředí metoda LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification), která umožňuje amplifikaci DNA při konstantní teplotě bez potřeby nákladného laboratorního vybavení. K amplifikaci cílové sekvence DNA se používá 4–6 primerů, což má zásadní význam pro specifitu reakce (Nagamine et al., 2002; Notomi et al., 2000). Důležitou složkou LAMP reakce je *Bst* DNA polymeráza, která dokáže rozplétat a syntetizovat dvouřetězcovou DNA bez nutnosti tepelné denaturace. Tato metoda je navíc tolerantní vůči běžným inhibitorům a nevyžaduje purifikaci DNA (Rolando et al., 2018). Její varianta, tzv. real-time LAMP, umožňuje sledovat průběh reakce v reálném čase na základě fluorescenčního signálu (Oscorbin et al., 2016) a nachází široké uplatnění jak v medicínské diagnostice (např. SARS-CoV-2, chřipka), tak při detekci mikroorganismů v potravinách (Kundrod et al., 2022; Le Thi et al., 2020; Li et al., 2022). Díky své rychlosti, citlivosti a jednoduchosti je vhodná i pro použití mimo laboratoř, například přímo v terénu (Moehling et al., 2021). Metoda real-time LAMP tak představuje nový, rychlý a dostupný nástroj pro detekci kvasinek rodu *Zygosaccharomyces* ve včelích produktech a pro studium mikrobioty včelího úlu.

### **Materiál a metody**

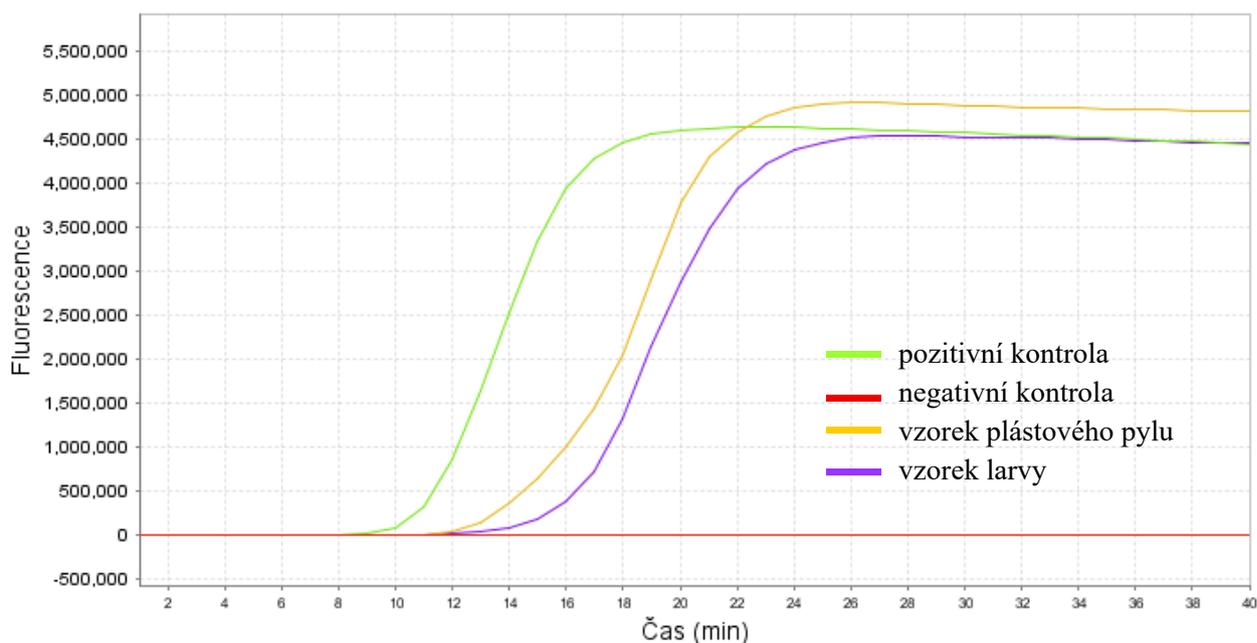
Z plástů několika včelstev byly v letním období odebrány vzorky fermentovaného plástového pylu a larev. Po odběru byly vzorky uchovány zmrazené (-80 °C) až do zpracování. Před analýzou byla provedena homogenizace vzorků a izolace DNA kitem DEP-25 DNA Extraction Kit (Top-Bio), pomocí kterého je DNA poměrně rychle připravena k analýze. Postup se skládá ze tří jednoduchých kroků: přidání START reagens k vzorkům, inkubace 10 min 95 °C, přidání stejného množství STOP reagens. Získaná DNA byla následně použita jako templátová DNA pro samotnou analýzu. Pro detekci kvasinek rodu *Zygosaccharomyces* byla použita metoda real-time LAMP, která umožňuje rychlé namnožení cílové DNA při konstantní teplotě. Na rozdíl od metody end-point PCR, která vyžaduje střídání teplotních cyklů, probíhá LAMP reakce za stálých podmínek a výsledek je možné sledovat v reálném čase pomocí fluorescenčního signálu. To umožňuje nejen rychlou, ale i přehlednou interpretaci výsledků. Byly navrženy tři samostatné real-time LAMP reakce se shodnými reakčními podmínkami, přičemž každý ze sledovaných druhů (*Z. rouxii*, *Z. mellis* a *Z. favi*) byl rozpoznáván na základě unikátního úseku své DNA. Reakce byly nejprve optimalizovány za použití sbírkových kultur kvasinek (Tabulka 1) příslušných ke konkrétní sadě primerů a byla ověřena citlivost a specifita reakcí. Aby bylo možné zhodnotit citlivost LAMP metody, byla provedena také konvenční PCR, která byla zvolena jako referenční metoda. Poté byla porovnána citlivost obou metod. Následně byly provedeny real-time LAMP analýzy získaných vzorků fermentovaného pylu a larev, které umožnily přímou detekci jednotlivých druhů kvasinek bez nutnosti předchozí kultivace na kultivačních médiích. Hodnocení probíhalo na základě amplifikačních křivek a teplot tání produktů. Každá reakce zahrnovala pozitivní i negativní kontrolu a všechny vzorky byly testovány v duplikátech. Reakční směs obsahovala master mix (Isothermal Mastermix, Optigene), sadu specifických primery a templátovou DNA. Analýzy byly provedeny nejprve na systému QuantStudio™ 6 Flex Real-Time PCR Systém (Thermo Fisher Scientific) a následně také pomocí přenosného zařízení Genie III (Optigene) určeného pro real-time LAMP detekci. Amplifikace probíhala 40 minut při 65 °C.

**Tabulka 12:** Kultury kvasinek, Sběrka mléčárenských mikroorganismů (CCDM)

Název	Sbírkové číslo	Zdroj
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	CCDM 2049	larvy včely medonosné
<i>Zygosaccharomyces favi</i>	CCDM 2047	plástový pyl včely medonosné
<i>Zygosaccharomyces mellis</i>	CCDM 2048	směs rouskového pylu včely medonosné
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	CCDM 2041	kombucha
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	CCDM 275	pivovarská kvasinka

### Výsledky

Metoda real-time LAMP se osvědčila jako spolehlivý nástroj pro detekci kvasinek rodu *Zygosaccharomyces* ve vzorcích fermentovaného plástového pylu a larev. Umožnila potvrdit výskyt *Z. rouxii*, *Z. mellis* a *Z. favi* v plástovém pylu a *Z. rouxii* ve vzorcích larev (Obrázek 1). Výsledky odpovídají poznatkům z předchozích studií, které poukazují na výskyt těchto kvasinek v prostředí včelího úlu. Citlivost metody real-time LAMP byla porovnána s konvenční PCR. Nově vyvinutý přístup prokázal výrazně (1000x) vyšší citlivost a rychlost. Celý proces detekce, včetně přípravy vzorku, lze zvládnout během jedné hodiny a s použitím přenosného zařízení i přímo v terénu. Specificita metody byla ověřena testováním na sbírkových kulturách kvasinek. Všechny LAMP reakce prokázaly jednoznačnou specificitu vůči příslušnému druhu kvasinky. Každá reakce byla doplněna analýzou křivky tání, která specificitu dále potvrdila – teploty tání produktů odpovídaly hodnotám pozitivní kontroly. Spolu se zahrnutím negativní kontroly (bez templátové DNA) tento přístup spolehlivě ověřil, že v reakcích nedošlo ke kontaminaci ani k nespecifické amplifikaci. Získané výsledky potvrzují, že osmotolerantní kvasinky rodu *Zygosaccharomyces* představují běžnou a pravděpodobně funkčně významnou součást mikrobioty včelího úlu, kde mohou přispívat k fermentaci a konzervaci potravy pro včely.



**Obrázek 2:** Real-time LAMP detekce *Z. rouxii* – amplifikační křivky (QuantStudio™ 6 Flex Real-Time PCR System)

## Diskuze

Kvasinky rodu *Zygosaccharomyces* jsou známé především ve spojení s kazivostí potravin. Jejich výskyt ve včelích produktech však poukazuje na mnohem širší ekologickou rozmanitost a potvrzuje možnost přirozených symbiotických vztahů se včelami. Díky své vysoké osmotoleranci dokážou tyto kvasinky přežívat ve včelích produktech charakteristických vysokým obsahem cukru a nízkou vodní aktivitou (Péter, 2022). Pomocí metody real-time LAMP byl v této studii potvrzen výskyt *Z. favi*, *Z. rouxii* a *Z. mellis* ve fermentovaném plástovém pylu. Tato zjištění jsou v souladu s předchozími výzkumy, kdy Čadež et al. (2015), Detry et al. (2020) a Javůrková et al. (2025) detekovali *Z. favi* v plástovém pylu; první dva zmínění autoři navíc identifikovali také *Z. mellis* a Detry et al. (2020) potvrdili i výskyt *Z. rouxii*. Ve studii (de Paula et al., 2023) bylo dále zjištěno, že larvy několika druhů bezžihadlových včel (*Scaptotrigona*, *Tetragona*, *Melipona*, *Partamona*) konzumují houbová vlákna *Zygosaccharomyces* sp., aby získaly ergosterol, který je prekurzorem pro biosyntézu ekdysteroidů významných pro vývoj těchto včel. Javůrková et al. (2025) ve svém výzkumu detekovali konkrétně *Z. rouxii* ve vzorcích larev včely medonosné, což je v souladu s výsledky této práce, kde byl výskyt *Z. rouxii* ve vzorcích larev rovněž potvrzen. Ve výše uvedených studiích byly pro detekci kvasinek použity převážně kultivační postupy, zatímco v této práci byla aplikována přímá molekulární detekce metodou real-time LAMP. DNA byla izolována přímo ze vzorků bez nutnosti předchozí kultivace na živných médiích, což významně urychlilo celý proces detekce. K vyhodnocení výsledků LAMP metody lze využít různé přístupy. Liu et al. (2021) představili LAMP test pro identifikaci kvasinek rodu *Zygosaccharomyces* s následnou detekcí pomocí testovacího proužku (LFD, Lateral Flow Dipstick). Jinou možností je kolorimetrické vyhodnocení založené na pozorování barevné změny reakční směsi (Papadakis et al., 2022). V této práci byla zvolena detekce pomocí fluorescence, která představuje velmi citlivý a spolehlivý způsob hodnocení a ve spojení s přenosným přístrojem ji lze využít i v terénních podmínkách bez nákladného laboratorního vybavení. Další pokračování výzkumu by se mohlo zaměřit na zjednodušení celého postupu, například využitím LFD nebo kolorimetrické detekce, které představují finančně dostupnější a uživatelsky přívětivější alternativy k přenosným přístrojům pro real-time LAMP.

## Závěr

Metody real-time LAMP se ukázala jako efektivní nástroj pro detekci osmotolerantních kvasinek rodu *Zygosaccharomyces* v prostředí úlu a ve včelích produktech. Díky své rychlosti, jednoduchosti a možnosti použití přímo v terénu bez potřeby složité laboratorní techniky představuje významný posun oproti dosavadním postupům. Získané výsledky potvrzují, že tyto kvasinky jsou běžnou a pravděpodobně funkčně významnou součástí mikrobioty včelího úlu, kde se podílejí na fermentačních procesech a konzervaci plástového pylu. Nový přístup tak přispívá k lepšímu porozumění ekologii včelího úlu a zároveň nabízí praktický nástroj pro monitoring kvality včelích produktů, diagnostiku mikrobiálních společenstev i kontrolu v oblasti potravinářství.

## Literatura

- Anderson, K. E., Sheehan, T. H., Eckholm, B. J., Mott, B. M., & DeGrandi-Hoffman, G. (2011). An emerging paradigm of colony health: Microbial balance of the honey bee and hive (*Apis mellifera*). In *Insectes Sociaux* (Roč. 58, Číslo 4, s. 431–444). <https://doi.org/10.1007/s00040-011-0194-6>
- Aneja, K. R., Dhiman, R., Aggarwal, N. K., & Aneja, A. (2014). Emerging preservation techniques for controlling spoilage and pathogenic microorganisms in fruit juices. *International Journal of Microbiology*, 2014, 758942. <https://doi.org/10.1155/2014/758942>

- Čadež, N., Fülöp, L., Dlačny, D., & Péter, G. (2015). *Zygosaccharomyces favi* sp. nov., an obligate osmophilic yeast species from bee bread and honey. *Antonie van Leeuwenhoek*, 107(3), 645–654. <https://doi.org/10.1007/s10482-014-0359-1>
- de Paula, G. T., Melo, W. G. da P., Castro, I. de, Menezes, C., Paludo, C. R., Rosa, C. A., & Pupo, M. T. (2023). Further evidences of an emerging stingless bee-yeast symbiosis. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1221724>
- Detry, R., Simon-Delso, N., Bruneau, E., & Daniel, H. M. (2020). Specialisation of yeast genera in different phases of bee bread maturation. *Microorganisms*, 8(11), 1–14. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111789>
- Gilliam, M. (1979). MICROBIOLOGY OF POLLEN AND BEE BREAD: THE YEASTS. *Adipologie*, 10(1), 43–53. <https://doi.org/10.1051/apido:19790106>
- James, S. A., & Stratford, M. (2011). *Zygosaccharomyces* Barker (1901). In C. P. Kurtzman, J. W. Fell, & T. Boekhout (Ed.), *The Yeasts* (5th ed., s. 937–947). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52149-1.00084-7>
- Javůrková, P., Vočadlova, K., Motis, J., Žáková, H., Rost, M., Čurn, V., & Beneš, K. (2025). Identification of *Zygosaccharomyces* yeasts isolated from honeybee environment. *J Cent Eur Agric*, 26(2), 305–314. <https://doi.org/10.5513/JCEA01/26.2.4222>
- Kundrod, K. A., Natoli, M. E., Chang, M. M., Smith, C. A., Paul, S., Ogoe, D., Goh, C., Santharaj, A., Price, A., Eldin, K. W., Patel, K. P., Baker, E., Schmeler, K. M., & Richards-Kortum, R. (2022). Sample-to-answer, extraction-free, real-time RT-LAMP test for SARS-CoV-2 in nasopharyngeal, nasal, and saliva samples: Implications and use for surveillance testing. *PLoS ONE*, 17(2 February), e0264130. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0264130>
- Le Thi, N., Ikuyo, T., Nguyen Gia, B., Truong Thai, P., Vu Thi, T. Van, Bui Minh, V., Dao Xuan, C., Le Trung, D., Phan Thu, P., Do Duy, C., Pham The, T., Do, V. T., Pham Thi, P. T., Ngo Quy, C., Dang Quoc, T., Jin, T., Shohei, S., Takato, O., Noriko, N., & Tsutomu, K. (2020). A clinic-based direct real-time fluorescent reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay for influenza virus. *Journal of Virological Methods*, 277, 113801. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2019.113801>
- Li, X., Zhang, X., Shi, X., Shi, H., Wang, Z., & Peng, C. (2022). Review in isothermal amplification technology in food microbiological detection. In *Food Science and Biotechnology* (Roč. 31, Číslo 12, s. 1501–1511). The Korean Society of Food Science and Technology. <https://doi.org/10.1007/s10068-022-01160-6>
- Liu, G., Tao, C., Zhu, B., Bai, W., Zhang, L., Wang, Z., & Liang, X. (2016). Identification of *Zygosaccharomyces mellis* strains in stored honey and their stress tolerance. *Food Science and Biotechnology*, 25(6), 1645–1650. <https://doi.org/10.1007/s10068-016-0253-x>
- Liu, Y., Wu, J., Chen, L.-Q., Shi, Y., Zhao, H.-X., Chen, W., Li, H., & He, L.-P. (2021). A rapid detection method on-site for *Zygosaccharomyces* based on loop-mediated isothermal amplification (LAMP) combined with a lateral flow dipstick (LFD). *African Journal of Biotechnology*, 20(5), 202–209. <https://doi.org/10.5897/AJB2021.17333>
- Martorell, P., Stratford, M., Steels, H., Fernández-Espinar, M. T., & Querol, A. (2007). Physiological characterization of spoilage strains of *Zygosaccharomyces bailii* and *Zygosaccharomyces rouxii* isolated from high sugar environments. *International Journal of Food Microbiology*, 114(2), 234–242. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.09.014>
- Moehling, T. J., Choi, G., Dugan, L. C., Salit, M., & Meagher, R. J. (2021). LAMP Diagnostics at the Point-of-Care: Emerging Trends and Perspectives for the Developer Community. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 21(1), 43–61. <https://doi.org/10.1080/14737159.2021.1873769>

- Nagamine, K., Hase, T., & Notomi, T. (2002). Accelerated reaction by loop-mediated isothermal amplification using loop primers. *Molecular and Cellular Probes*, 16(3), 223–229. <https://doi.org/10.1006/mcpr.2002.0415>
- Notomi, T., Okayama, H., Masubuchi, H., Yonekawa, T., Watanabe, K., Amino, N., & Hase, T. (2000). Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research*, 28(12), e63.
- Oscorbin, I. P., Belousova, E. A., Zakabunin, A. I., Boyarskikh, U. A., & Filipenko, M. L. (2016). Comparison of Fluorescent Intercalating Dyes for Quantitative Loop-Mediated Isothermal Amplification (qLAMP). *BioTechniques*, 61(1), 20–25. <https://doi.org/10.2144/000114432>
- Papadakis, G., Pantazis, A. K., Fikas, N., Chatziioannidou, S., Tsiakalou, V., Michaelidou, K., Pogka, V., Megariti, M., Vardaki, M., Giarentis, K., Heaney, J., Nastouli, E., Karamitros, T., Mentis, A., Zafiroopoulos, A., Sourvinos, G., Agelaki, S., & Gizeli, E. (2022). Portable real-time colorimetric LAMP-device for rapid quantitative detection of nucleic acids in crude samples. *Scientific Reports*, 12(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/S41598-022-06632-7>;SUBJMETA
- Péter, G. (2022). Biodiversity of Zygosaccharomyces species in food systems. *Acta Alimentaria*, 51(1), 43–51. <https://doi.org/10.1556/066.2021.00142>
- Podrižnik, B., & Božič, J. (2015). Maturation and stratification of antibacterial activity and total phenolic content of bee bread in honey comb cells. *Journal of Apicultural Research*, 54(2), 81–92. <https://doi.org/10.1080/00218839.2015.1090774>
- Rodrigues, A. M. D., Pinheiro, R. E. E., Costa, J. A., Santos, J. T. O., Poli, J. S., Rosa, C. A., Soares, M. J. S., Muratori, M. C. S., & Nóbrega, M. M. G. P. (2018). Comparison between morphophysiological and molecular methods for the identification of yeasts isolated from honey. *International Food Research Journal*, 25(1), 418–422.
- Rolando, J. C., Jue, E., Schoepp, N. G., & Ismagilov, R. F. (2018). Real-Time, Digital LAMP with Commercial Microfluidic Chips Reveals the Interplay of Efficiency, Speed, and Background Amplification as a Function of Reaction Temperature and Time. *Analytical Chemistry*, 91(1), 1034–1042. <https://doi.org/10.1021/ACS.ANALCHEM.8B04324>
- Rutkowski, D., Weston, M., & Vannette, R. L. (2023). Bees just wanna have fungi: A review of bee associations with nonpathogenic fungi. *FEMS Microbiology Ecology*, 99(8), 1–16. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiad077>
- Tiusanen, M., Becker-Scarpitta, A., & Wirta, H. (2024). Distinct Communities and Differing Dispersal Routes in Bacteria and Fungi of Honey Bees, Honey, and Flowers. *Microbial Ecology*, 87(1), 100. <https://doi.org/10.1007/s00248-024-02413-z>
- Xiong, Z. R., Sogin, J. H., & Worobo, R. W. (2023). Microbiome analysis of raw honey reveals important factors influencing the bacterial and fungal communities. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1099522. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2022.1099522/BIBTEX>
- Zuehlke, J. M., Petrova, B., & Edwards, C. G. (2013). Advances in the control of wine spoilage by Zygosaccharomyces and Dekkera/Brettanomyces. In *Annual Review of Food Science and Technology* (Roč. 4, Číslo 1, s. 57–78). <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030212-182533>

**Poděkování**

Poděkování patří včelařům, kteří ochotně poskytli vzorky pro tento výzkum a také Sbírci mlékárenských mikroorganismů za poskytnutí sbírkových kmenů. Tuto studii podpořila Grantová agentura Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích (GAJU 083/2025/Z).

**Kontaktní adresa**

Hana Žáková, Ing.

Katedra genetiky a biotechnologií, Fakulta zemědělská a technologická

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Na Sádkách 1780

370 05 České Budějovice

389 032 934, zakovh01@fzt.jcu.cz



## 4. Technologie pěstování plodin a ekologie

### Mechanické a energetické vlastnosti pelet z energetických travin

Mechanical and energetic properties of pellets from energy grasses

*Derbenev A.<sup>1,2</sup>, Jezerská L.<sup>1</sup>, Prokeš R.<sup>1</sup>, Sýkorová V.<sup>1,2</sup>, Dospiva P.<sup>3</sup>, Frydrych J.<sup>4</sup>*

<sup>1</sup>VŠB-TU Ostrava, CEET, ENET, Vyzkumná skupina sypkých hmot, 17. listopadu 2172/15, 708 00 Ostrava, ČR, <sup>2</sup>VŠB-TU Ostrava, Fakulta strojní, Katedra energetiky, 17. listopadu 2172/15, 708 00 Ostrava, ČR, <sup>3</sup>RPS Ostrava a. s., Nákladní 3179/1, 702 00 Moravská Ostrava, ČR, <sup>4</sup>OSEVA vývoj a výzkum s.r.o., Hamerská 698, 756 54 Zubří, ČR

#### Abstrakt

Na území České republiky se pěstuje široké spektrum travin určených pro energetické využití. Mechanické zpracování biomasy významně ovlivňuje její vlastnosti a tím i procesy energetického využití. V rámci této studie bylo experimentálně hodnoceno šest druhů energetických travin: festulolium, srha laločnatá, kostřava rákosovitá, kostřava červená, kostřava luční a jílek mnohokvětý. Kvalita pelet byla posuzována podle mechanických (sypná hustota, měrná hustota, voděodolnost, mechanická odolnost, tvrdost) a energetických parametrů (prvkové složení, spalné teplo, výhřevnost, obsah vody, podíl prchavé a neprchavé hořlaviny, obsah popela). Výsledky přispívají k lepšímu porozumění vztahů mezi vlastnostmi biomasy a její vhodností pro efektivní energetické využití.

**Klíčová slova:** biomasa, pelety, hustota, pevnost, výhřevnost

#### Abstract

A wide range of grasses intended for energy use are cultivated in the Czech Republic. Mechanical processing of biomass significantly affects its properties and thus also the processes of energy use. Six types of energy grasses were experimentally evaluated in this study: festulolium, cock's foot, tall fescue, red fescue, meadow fescue, and italian ryegrass. The quality of the pellets was assessed according to mechanical (bulk density, specific density, water resistance, mechanical resistance, hardness) and energy parameters (elemental composition, calorific value, water content, proportion of volatile and non-volatile combustibles, ash content). The results contribute to a better understanding of the relationships between biomass properties and its suitability for efficient energy use.

**Keywords:** biomass, pellets, density, hardness, low heating value

#### Úvod

Celosvětová poptávka po energii neustále roste, a to i přes rozsáhlé snahy o zvyšování energetické účinnosti a snižování spotřeby v rozvinutých zemích (Mazariegos et al., 2025). Primární energetické potřeby jsou však i nadále z převážné části pokrývány fosilními palivy, která v roce 2023 tvořila 81,5 %. Tento podíl zůstává vysoký navzdory dynamickému rozvoji obnovitelných zdrojů energie (Energy Institute, 2024).

Omezená dostupnost fosilních surovin spolu s negativními environmentálními dopady jejich těžby a využívání, významně ohrožuje dlouhodobě udržitelný rozvoj společnosti. Proto se rychlý rozvoj obnovitelných zdrojů energie stal jednou z centrálních strategií globální energetické transformace a zároveň důležitým nástrojem při zmírňování změny klimatu (Li et al., 2025).

Významné místo v budoucím energetickém mixu má bioenergie, a to zejména díky široké dostupnosti biomasy a jejímu obnovitelnému charakteru (Jezerska et al., 2023). Podle Mezinárodní energetické agentury pokrývá bioenergie přibližně 10 % celosvětové poptávky primární energie (IEA, 2024).

Biomasa je organická hmota vznikající fotosyntézou, při níž se sluneční energie ukládá ve formě chemické energie. Tato energie může být dále přeměňována na pevná, kapalná či plynná paliva a sloužit tak jako náhrada fosilních paliv. Díky své obnovitelnosti a ekologické povaze má biomasa značný potenciál pro další rozvoj (Popp et al., 2021). Výzkumy navíc prokázaly, že využívání biomasy jako paliva může výrazně snížit emise skleníkových plynů a zvýšit energetickou účinnost výrobních procesů (Ren et al., 2025). Zdroje biomasy jsou velmi rozmanité, přičemž zvláštní význam má biomasa zemědělského původu (Antar et al., 2021). Specifickou skupinu zemědělské biomasy tvoří energetické trávy, které se vyznačují vysokou výnosností, rychlým růstem, širokou dostupností a schopností přizpůsobit se různým klimatickým podmínkám. Zároveň jsou odolné vůči chorobám a plevelům, což z nich činí efektivní plodiny pro pěstování s energetickým využitím (Scordia a Cosentino, 2019).

Dalším krokem k efektivnímu využití biomasy je její úprava prostřednictvím peletizace. Tento proces spočívá v lisování biomasy pod vysokým tlakem do podoby válcových pelet. Výhodou peletizace je především zlepšení manipulace s biomasou, která v původní formě obsahuje vysoký podíl vlhkosti, má nepravidelný tvar a nízkou sypanou hustotu. Peletizace přeměňuje biomasu na hustší energetický nosič s vyšší energetickou hodnotou a jednotným tvarem, čímž výrazně usnadňuje skladování, přepravu i samotné spalování (Liu et al., 2024).

Pro tento výzkum bylo vybráno šest druhů energetických travin: festulolium, kostřava rákosovitá, srha laločnatá, kostřava luční, kostřava červená a jílek mnohokvětý. Tyto plodiny byly zvoleny pro svůj vysoký potenciál v oblasti energetického využití (Seed Service, 2021).

Cílem této práce je analyzovat vlastnosti pelet vyrobených z vybraných druhů energetických travin a zhodnotit vztahy a souvislosti mezi jejich mechanickými vlastnostmi a energetickými parametry. Získané výsledky mohou sloužit jako podklad pro optimalizaci technologie výroby pelet, výběr vhodných druhů trav pro energetické využití a jejich efektivnější uplatnění jako obnovitelného zdroje energie, stejně jako pro zlepšení kvality paliva z hlediska mechanických parametrů i energetické účinnosti.

### **Materiál a metody**

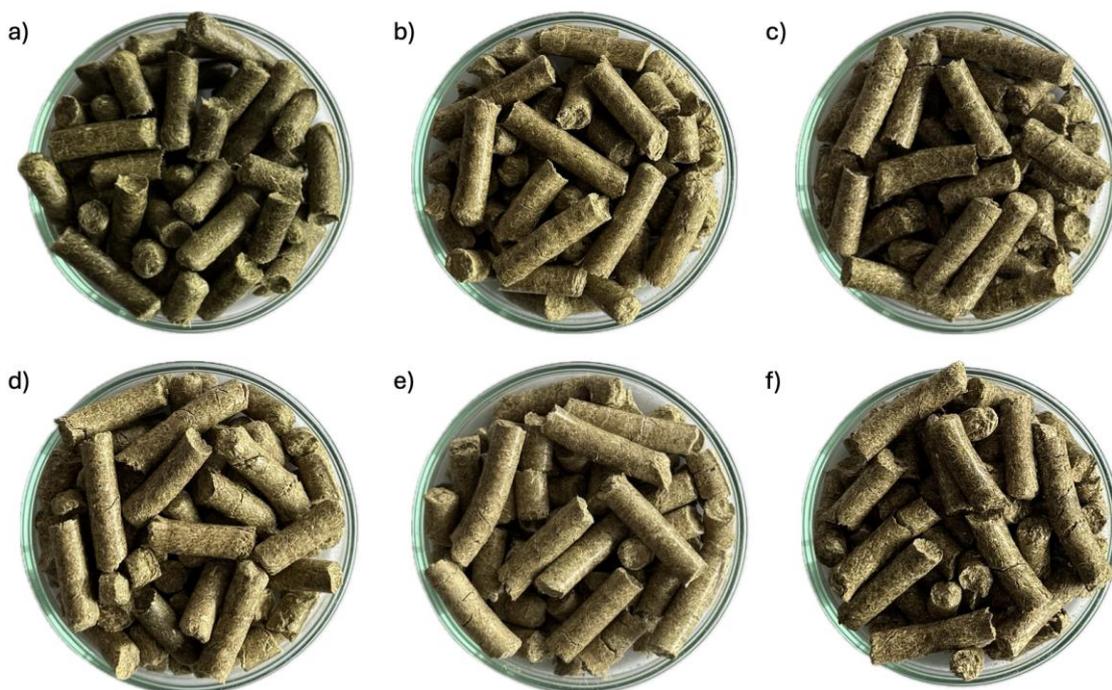
Pro výzkum bylo zvoleno celkem šest druhů energetických trav sklizených v roce 2024, které jsou pro ilustraci znázorněny na obrázku 1. Jednalo se o festulolium (Obrázek 1a), kostřavu rákosovitou (Obrázek 1b), srhu laločnatou (Obrázek 1c), kostřavu luční (Obrázek 1d), kostřavu červenou (Obrázek 1e) a jílek mnohokvětý (Obrázek 1f) ze společnosti OSEVA vývoj a výzkum, s.r.o., Zubří.



Obrázek 3: Festulolium (a), Kostřava rákosovitá (b), Srha laločnatá (c), Kostřava luční (d), Kostřava červená (e), Jílek mnohokvětý (f).

Festulolium (*Festulolium*) ‘Hykor’ je odrůda kostřavovitých trav vhodná pro seno a senáž (Agromanual, 2017). Vyniká vysokým výnosem, vytrvalostí, odolností vůči suchu i vyšší hladině podzemní vody. Často nahrazuje kostřavu luční nebo rákosovitou a uplatňuje se v lučních směsích s jílkou, vojtěškou či jetelem. Hluboké kořeny zvyšují vytrvalost porostů a rostlina dobře reaguje na živiny i vláhu (DLF, 2025). Kostřava rákosovitá (*Festuca arundinacea*) ‘Kora’ je ceněna pro vysoké výnosy dobře stravitelné píče, což potvrzují i zahraniční testy. Udrží stabilní kvalitu a výnosy i v náročných podmínkách sucha, chladu či krátkodobého zamokření. Daří se jí na těžších, vlhčích půdách a je oblíbenou součástí pícninových směsí díky své přizpůsobivosti (Biom, 2011). Srha laločnatá (*Dactylis glomerata*) ‘Zora’ je vytrvalá tráva dorůstající 0,45–0,75 m (Flos, 2025). Má rychlý růst a vysokou odolnost vůči suchu, což ji činí vhodnou pro intenzivní pastvu. Poskytuje kvalitní krmivo, je mrazuvzdorná a přizpůsobivá širokému spektru půd i klimatických podmínek, nejlépe prospívá na slunných až polostinných stanovištích (DLF, 2025). Kostřava luční (*Festuca pratensis*) ‘Rožnovská’ je víceletá, středně raná tráva dosahující 0,8–1,1 m. Vyznačuje se rychlým jarním růstem, ale pomalejším obrůstáním po sečích a nižší vytrvalostí při intenzivním využití. Přináší střední až vyšší výnosy píče velmi dobré kvality a vysoké semenářské výnosy. Hodí se do krátkodobých i víceletých lučních porostů, méně na pastviny (Oseva, 2025). Snáší sušší podmínky i drsnější klima, ale hůře reaguje na vysoké dávky dusíku (Agrostis, 2025). Kostřava červená (*Festuca rubra*) ‘Zulu’ je víceletá, velmi raná tráva s výškou 0,2–1 m. Poskytuje časnou zelenou hmotu, v létě však obrůstá pomaleji. Má dobrou vytrvalost, střední odolnost proti chorobám a průměrnou kvalitu píče. Uplatňuje se v pastevních porostech, trávnicích i na sušších stanovištích (Oseva, 2025). Díky variabilitě (trsnaté, krátce i dlouze výběžkaté formy) nachází využití jak v pícninářství, tak při zakládání kvalitních trávniců (Agrostis, 2025). Jílek mnohokvětý (*Lolium multiflorum ssp. italicum*) ‘Nana’ je rychle rostoucí tráva s vysokou výnosností, využívaná v pícninových směsích pro pastviny a siláž (DLF, 2025). Dorůstá 0,3–1 m, rychle obnovuje porost a poskytuje kvalitní píči. Vyžaduje úrodné půdy, dostatek vláhy a tepla, je však citlivý na vysokou hladinu podzemní vody. Jednoletá forma se využívá i jako mezplodina a druh je významným genetickým zdrojem pro šlechtění (Agrostis, 2025).

Samotná peletizace byla provedena po předúpravě biomasy drcením na peletovacím lisu KL200C (STILER, výkon 9 kW). Výsledné pelety jsou pro ilustraci znázorněny na obrázku 2, z kterého je patrný relativní rozdíl v kvalitě vyrobených pelet. Například praskliny ve struktuře pelet z kostřavy luční.



Obrázek 4: Pelety z Festulolia (a), Kostřavy rákosovité (b), Srhy laločnaté (c), Kostřavy luční (d), Kostřavy červené (e), Jílku mnohokvětého (f).

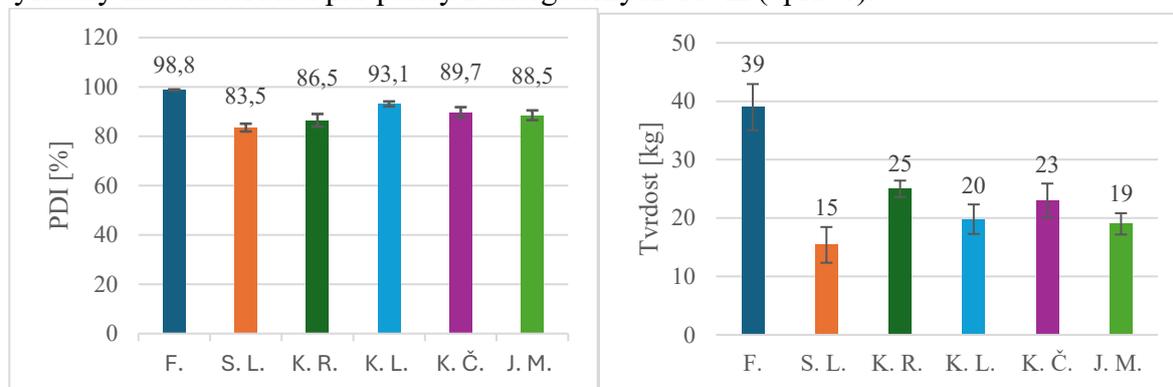
Měrná hustota byla určena pomocí přístroje Mettler Toledo JEW-DNY-43 pracujícího na principu Archimédova zákona. Každá peleta byla nejprve zvážena na vzduchu a poté při ponoření do destilované vody o teplotě 27 °C. Na základě rozdílu hmotností byla přístrojem vypočtena měrná hustota. Voděodolnost pelet byla zjišťována zvážením pelet před a po jejich ponoření do vody o teplotě 27 °C na 60 sekund. Rozdíl hmotností odpovídal množství absorbované vody vyjádřené v procentech. Tvrdost pelet byla měřena na testeru Hercules L (KAHL). Na vloženou peletu je působen příčný tlak až do prasknutí. V okamžiku destrukce se odečetla hodnota tvrdosti v kilogramech. Mechanická odolnost byla testována přístrojem HOLMEN NHP 100. Odvážený vzorek pelet byl vystaven kaskádovému pohybu v proudu vzduchu o tlaku 70 mBar po dobu 60 sekund. Následně byly pelety prosevány a zváženy. Mechanická odolnost byla vyjádřena jako Pellet Durability Index (PDI), tedy poměr hmotnosti celých pelet před a po testu.

Analýza prvkového složení (C, H, N, S) byla provedena v laboratořích Institutu Environmentálních Technologií (VŠB-TU Ostrava, CEET) pomocí analyzátoru LECO CHN 628. Vzorky byly spalovány v oxidační atmosféře při teplotách 950 °C (C, H, N) a 1350 °C (S). Obsah C, H a S byl detekován infračerveným senzorem, koncentrace N teplotně vodivostním senzorem. Obsah kyslíku (O) byl dopočítán rozdílem z celkové hmotnosti vzorku. Energetické parametry byly stanoveny termogravimetrickou analýzou na přístroji LECO TGA 701. Byly určeny obsah vlhkosti, popela a hořlaviny. Spalné teplo bylo měřeno kalorimetrem LECO AC600 na základě spalování vzorku v oxidační atmosféře.

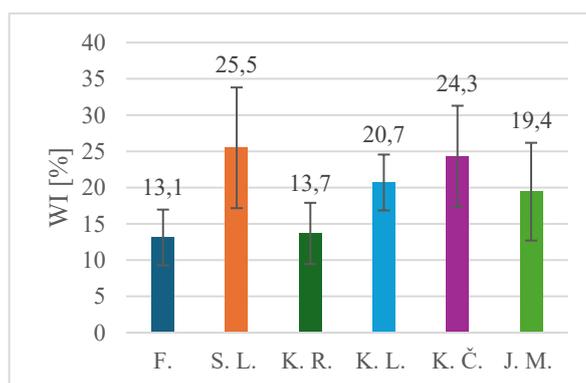
## Výsledky

V této části budou v grafech a tabulkách pelety označeny takto: z festulolia jako F., ze srhy laločnaté jako S. L., z kostřavy rákosovité jako K. R., z kostřavy luční jako K. L., z kostřavy červené jako K. Č. a z jílku mnohokvětého jako J. M. Výsledky měření mechanické odolnosti jsou zobrazeny na Grafu 1. Z nich je patrné, že nejvyšší hodnotu PDI vykazují pelety z festulolia, zatímco nejnižší ze srhy laločnaté. Ostatní vzorky dosahují podobných výsledků. Měření tvrdosti pelet (Graf 1) ukazuje stejný trend: nejvyšší hodnoty vykazují pelety z festulolia a nejnižší opět ze srhy laločnaté, přičemž ostatní pelety mají srovnatelné hodnoty. Výsledky testu voděodolnosti (Graf 2) potvrzují obdobný průběh. Nejlepších výsledků dosáhly pelety z festulolia a nejhorších ze srhy laločnaté. Ze srovnání sypné hustoty (Graf 3) vyplývá, že většina vzorků má podobné hodnoty. Výjimkou jsou pelety z jílku mnohokvětého s výrazně nižší sypnou hustotou, zatímco nejvyšší hustotu vykazují pelety z kostřavy rákosovité. Měření měrné hustoty (Graf 3) ukazuje, že nejvyšší hodnotu dosahují pelety z festulolia a nejnižší pelety ze srhy laločnaté.

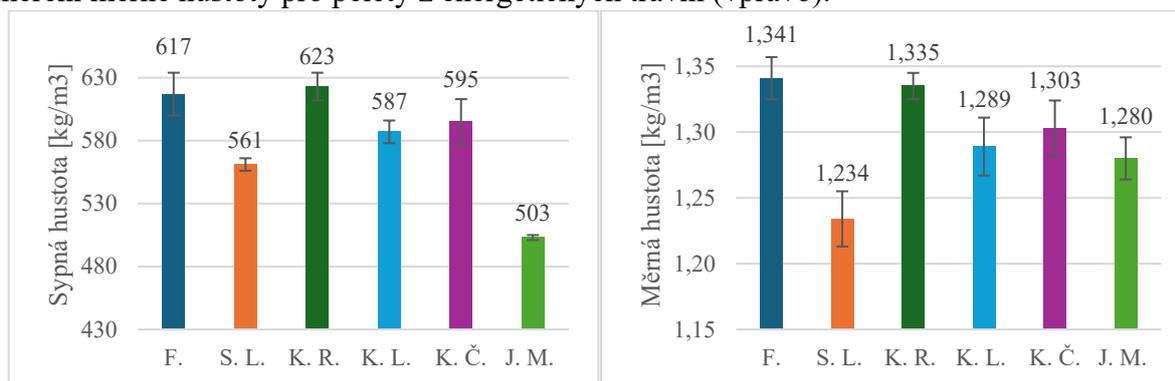
Graf 5: Výsledky měření mechanické odolnosti pro pelety z energetických travin (vlevo). Výsledky měření tvrdosti pro pelety z energetických travin (vpravo).



Graf 6: Výsledky měření voděodolnosti pro pelety z energetických travin.



Graf 7: Výsledky měření sypné hustoty pro pelety z energetických travin (vlevo). Výsledky měření měrné hustoty pro pelety z energetických travin (vpravo).



Výsledky elementárního rozboru pelet z energetických travin (Tabulka 1) ukazují, že všechny sledované odrůdy mají velmi podobné chemické složení, liší se jen drobnými odchylkami. Nejvyšší obsah uhlíku, který přispívá k výhřevnosti, měla košťava červená ‘Zulu’, zatímco nejnižší obsah byl zaznamenán u festulolia ‘Hykor’. Obsah vodíku, jenž rovněž zvyšuje výhřevnost, byl nejvyšší u dvou vzorků – košťavy červené a srhy laločnaté ‘Zora’, naopak nejnižší u košťavy rákosovité ‘Kora’. Největší zastoupení dusíku, který je z hlediska spalování nežádoucí, vykazovaly pelety z festulolia, zatímco nejnižší obsah měl vzorek z košťavy červené. Podobný trend se projevil také u síry; nejvyšší obsah byl zjištěn u pelet z festulolia a nejnižší u košťavy červené.

Tabulka 13: Výsledky elementárního prvkového rozboru pelet z energetických travin

Vzorek	C [hm. %]	H [hm. %]	N [hm. %]	S [hm. %]	O [hm. %]
F.	41,01	6,36	1,52	0,20	36,6
S. L.	43,71	6,42	0,93	0,11	37,5
K. R.	42,51	6,22	0,57	0,11	38,1
K. L.	42,68	6,29	0,54	0,10	38,5
K. Č.	44,03	6,42	0,41	0,09	38,1
J. M.	42,31	6,31	0,61	0,13	37,5

Na základě výsledků měření energetických parametrů pelet z energetických travin (Tabulka 2) lze konstatovat, že nejnižší obsah popela vykazovaly pelety z košťavy červené ‘Zulu’, zatímco nejvyšší obsah byl zjištěn u pelet z festulolia ‘Hykor’. Podobně vyšší podíl hořlaviny byl naměřen u pelet z košťavy červené a nižší u pelet z festulolia. Nejvyšší výhřevnost dosáhly pelety ze srhy laločnaté ‘Zora’, zatímco nejnižší, jak lze očekávat, měly pelety z festulolia.

Tabulka 14: Výsledky měření energetických parametrů pelet z energetických travin

Vzorek	Popel [hm. %]	Celková hořlavina [hm. %]	Prchavá hořlavina [hm. %]	Spalné teplo [kJ/kg]	Výhřevnost [kJ/kg]
F.	6,3	93,66	75,32	18181	16963
S. L.	2,9	97,08	79,10	19202	17973
K. R.	4,5	95,50	75,85	18560	17372
K. L.	3,8	96,23	76,61	18553	17349
K. Č.	2,7	97,34	77,76	19201	17970
J. M.	4,6	95,38	78,17	18657	17456

### Diskuze

Výsledky měření mechanických vlastností pelet ukazují, že jednotlivé vzorky z energetických travin se výrazně liší především v mechanické odolnosti a voděodolnosti. Z hlediska těchto parametrů dosahovalo nejlepší hodnoty pelety z festulolia, které vykazovaly nejvyšší PDI, tvrdost, voděodolnost i měrnou hustotu. Naopak pelety ze srhy laločnaté měly ve všech těchto ukazatelích nejnižší hodnoty.

Grafy ukazují korelaci mezi mechanickou odolností a tvrdostí pelet a jejich voděodolností. Lze předpokládat, že odolnější pelety vůči mechanickým nárazům a stlačení lépe odolávají nasákavosti vody, což je v souladu s literaturou (YILMAZ et al., 2024). Sytná hustota pelet se mezi vzorky liší jen mírně, zatímco měrná hustota vykazuje přímou korelaci s tvrdostí – vyšší měrná hustota odpovídá vyšší tvrdosti, jak uvádí literatura (Dao et al., 2022). Tyto hypotézy byly ověřeny korelační analýzou v programu R. První hypotéza ukázala negativní vztah mezi mechanickou odolností pelet a jejich nasákavostí; korelace mezi PDI a WI byla  $r = -0,51$ , mezi tvrdostí a WI  $r = -0,76$ , což potvrzuje výraznější vliv tvrdosti na voděodolnost. Druhá hypotéza týkající se měrné hustoty a tvrdosti byla rovněž potvrzena; korelační koeficient  $r = 0,83$  indikuje silnou pozitivní závislost.

Výsledky měření energetických parametrů pelet ukazují, že chemické složení travin logicky ovlivňuje jejich výhřevnost. Lze očekávat vyšší hodnoty u pelet s větším podílem uhlíku a vodíku a s nižším obsahem síry, dusíku a popela. Nižší výhřevnost mezi zkoumanými travinami vykazovaly pelety z festulolia. Vyšší výhřevnost byla naměřena u pelet ze srhy laločnaté, přestože pelety z kostřavy červené měly vyšší obsah uhlíku, stejný podíl vodíku a zároveň nižší obsah síry, dusíku a popela. Lze tedy konstatovat, že vyšší výhřevnost srhy laločnaté byla způsobena větším podílem prchavé hořlaviny ve srovnání s kostřavou červenou.

Při analýze vztahu mezi mechanickými vlastnostmi a energetickými parametry pelet lze pozorovat souvislost mezi obsahem popela a jejich voděodolností; pelety s vyšším podílem popela často vykazují vyšší odolnost vůči absorpci vody. Tato korelace je však převážně nepřímá a úzce souvisí s druhem použité suroviny, hustotou pelet a jejich mechanickou kvalitou. Obecně přitom platí, že pelety s nižším obsahem popela dosahují lepší mechanické odolnosti i vyšší odolnosti proti vodě (Kamperidou, 2022).

### Závěr

Cílem práce bylo analyzovat vlastnosti pelet vyrobených z vybraných druhů energetických trav a zhodnotit vztahy a souvislosti mezi jejich mechanickými vlastnostmi a energetickými parametry. Výsledky ukázaly výrazné rozdíly mezi jednotlivými vzorky, zejména v mechanické odolnosti, tvrdosti a voděodolnosti. Nejlepších mechanických parametrů dosáhly pelety z festulolia 'Hykor', které vykazovaly nejvyšší PDI, tvrdost, voděodolnost i měrnou hustotu, zatímco nejnižší hodnoty měly pelety ze srhy laločnaté 'Zora'.

Chemické složení všech travin bylo podobné, drobné odchylky však významně ovlivnily energetické vlastnosti. Nejnižší výhřevnost byla zjištěna u pelet z festulolia, zatímco nejvyšší u pelet ze srhy laločnaté. Rozhodující se ukázal být vyšší podíl prchavé hořlaviny.

Analýza vztahů mezi mechanickými a energetickými parametry ukázala, že vyšší měrná hustota souvisí s vyšší tvrdostí a že pelety s vyšším obsahem popela často vykazují lepší voděodolnost. Získané poznatky mohou sloužit jako podklad pro optimalizaci technologie výroby pelet, pro výběr vhodných druhů trav k energetickému využití také pro zlepšení kvality paliva z hlediska mechanických vlastností a energetické účinnosti.

## Literatura

- Antar, M., Lyu, D., Nazari, M., Shah, A., Zhou, X., & Smith, D. L. (2021). Biomass for a sustainable bioeconomy: An overview of world biomass production and utilization. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 139, 110691. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110691>
- Agromanual, Festulolium – více než 2 v 1, Martin Müller, <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/osivo-a-sadba-1/festulolium-vice-nez-2-v-1>.
- Agrostis, Kapesní atlas trav, Jílek mnohokvětý (*Lolium multiflorum* Lamk.), <https://www.agrostis.cz/produkt/jilek-mnohokvety-lolium-multiflorum-lamk>.
- Agrostis, Kapesní atlas trav, Kostřava červená (*Festuca rubra* L.), <https://www.agrostis.cz/produkt/kostrava-cervena-festuca-rubra-l>.
- Agrostis, Kapesní atlas trav, Kostřava luční (*Festuca pratensis* Huds.), <https://www.agrostis.cz/produkt/kostrava-lucni-festuca-pratensis-huds>
- Biom CZ, Kostřava rákosovitá, <https://biom.cz/cz/odborne-clanky/kostrava-rakosovita>.
- Dao, C. N., Salam, A., Kim Oanh, N. T., & Tabil, L. G. (2022). Effects of length-to-diameter ratio, pinewood sawdust, and sodium lignosulfonate on quality of rice straw pellets produced via a flat die pellet mill. *Renewable Energy*, 181, 1140-1154. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2021.09.088>
- DLF Seeds, Festulolium - kostřavovité, Hykor, <https://dlf.cz/druhy-a-dlf-odrudy/picni-druhy-a-odrudy/festulolium-kostravovite/details/hykor-prod5063>.
- DLF Seeds, Jílek mnohokvětý italský (*Lolium multiflorum* ssp. *Italicum*), <https://dlf.cz/druhy-a-dlf-odrudy/picni-druhy-a-odrudy/jilek-mnohokvety-italsky>
- DLF Seeds, Srha laločnatá, <https://dlf.cz/druhy-a-dlf-odrudy/picni-druhy-a-odrudy/srha-lalocnata>
- Energy Institute, Statistical Review of World Energy, <https://www.energyinst.org/statistical-review>, 2024.
- Flos Zahradnictví, Srha laločnatá (*Dactylis glomerata*), <https://www.zahradnictvi-flos.cz/dactylis-glomerata-variegata-10-pe.html>.
- International Energy Agency (IEA), 2024. World Energy Outlook 2024. <https://www.iea.org/reports/world-energy-outlook-2024>.
- Jezerska, L., Sassmanova, V., Prokes, R., & Gelnar, D. (2023). The pelletization and torrefaction of coffee grounds, garden chaff and rapeseed straw. *Renewable Energy*, 210, 346-354. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2023.04.016>
- Kamperidou, V. (2022). Quality Analysis of Commercially Available Wood Pellets and Correlations between Pellets Characteristics. *Energies*, 15(8), 2865-2865. <https://doi.org/10.3390/en15082865>
- Li, P., Liang, J., Xue, Y., & Tan, S. (2025). Optimization of agricultural biomass Supply: Dual reduction of cost and carbon emissions based on multi-objective arithmetic optimization algorithm. *Journal of Cleaner Production*, 511, 145670. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2025.145670>

- Liu, J., Jiang, X., Li, Z., Gu, H., & Li, T. (2024). Insights into the pelletization behaviors of artificial lignocellulosic biomass based on cellulose, hemicellulose and lignin: A simplex lattice mixture design approach. *International Journal of Biological Macromolecules*, 280, 136000. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.136000>
- Mazariegos, I., Abdelfath-Aldayyat, E., González-Rojo, S., & Gómez, X. (2025). Reducing fossil fuel demand by using biofuels as an alternative hydrothermal liquefaction is a promising process for transforming biomass into drop-in fuels. *RSC Sustainability*, 3(8), 3228-3265. <https://doi.org/10.1039/d5su00148j>
- Oseva, Kostřava červená - Zulu (Festuca rubra), <https://www.oseva.cz/new/?d=odrudy&p=kostrava>.
- Oseva, Kostřava luční - Rožnovská (Festuca pratensis Huds.), [https://www.oseva.cz/old/semenarstvi/Cesky/travy/jednodruhove\\_travy/kostrava\\_lucni.html](https://www.oseva.cz/old/semenarstvi/Cesky/travy/jednodruhove_travy/kostrava_lucni.html).
- Popp, J., Kovács, S., Oláh, J., Divéki, Z., & Balázs, E. (2021). Bioeconomy: Biomass and biomass-based energy supply and demand. *New Biotechnology*, 60, 76-84. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2020.10.004>
- Ren, T., Yan, D., Zhang, Y., Li, X., Chen, J., Wang, C., Wang, C., Li, P., Wang, L., Zeng, Q., & Cai, X. (2025). Biomass moulding fuel for zero-emission agricultural waste management: A case study of tobacco curing in China. *Journal of Environmental Management*, 377, 124612. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2025.124612>
- Scordia, D., & Cosentino, S. (2019). Perennial Energy Grasses: Resilient Crops in a Changing European Agriculture. *Agriculture*, 9(8), 169. <https://doi.org/10.3390/agriculture9080169>
- Seed Service, Charakteristika druhů a odrůd trav. <https://seedservice.cz/clanky/charakteristika-druhu-a-odrud-trav>.
- Yilmaz, H., Çanakci, M., Karayel, D., Turgud, F., Topakci, M. (2024). Effect of pellet diameter on pellet quality and torrefaction efficiency in corn stalk pellets at high torrefaction temperature. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 15(10), 15569-15584. <https://doi.org/10.1007/s13399-024-06293-8>

### Poděkování

Projekt č. SS07020061 „Výzkum procesů zahrnujících výrobu biopellet“ je spolufinancován se státní podporou Technologické agentury ČR v rámci programu Prostředí pro Život. Tento projekt je financován v rámci Národního plánu obnovy z evropského Nástroje pro oživení a odolnost. Tento článek je podpořen v rámci projektu „Odpady jako alternativní zdroj energie“, reg. číslo CZ.02.01.01/00/23\_021/0008590 v rámci Operačního programu Jan Amos Komenský. Výsledky experimentální části této práce byly získány s využitím velké výzkumné infrastruktury ENREGAT, podporované MŠMT, č. projektu LM2018098.

### Kontaktní adresa

Ing. Derbenev Aleksandr, Ing. Lucie Jezerská, Ph.D.  
VŠB-TU Ostrava, CEET, ENET  
17. listopadu 2172/15, 708 00 Ostrava-Poruba  
+420 596 999 429, [aleksandr.derbenev@vsb.cz](mailto:aleksandr.derbenev@vsb.cz)  
+420 596 999 430, [lucie.jezerska@vsb.cz](mailto:lucie.jezerska@vsb.cz)



## Možnosti snížení obsahu volného asparaginu v zrně obilovin agrotechnickými postupy

Possibilities of reducing the content of free asparagine  
in cereal grains by agrotechnical methods

*Dvořák P.<sup>1</sup>, Benešová M.<sup>2</sup>, Hradecká B.<sup>2</sup>, Pírová H.<sup>2</sup>, Satranský M.<sup>1</sup>, Král M.<sup>1</sup>,  
Kouřimský T.<sup>2</sup>, Stará L.<sup>2</sup>, Hajšlová J.<sup>2</sup>, Capouchová I.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Česká zemědělská univerzita v Praze, Katedra agroekologie a rostlinné produkce, Kamýcká 129, Praha 6 Suchbátka, <sup>2</sup>Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Ústav analýzy potravin a výživy, Technická 3, Praha 6 Dejvice*

### Abstrakt

Monitoring o obsahu volného asparaginu (Asn) v zrně probíhal v letech 2023 a 2024 u obilovin vypěstovaných v ČR na 11 lokalitách. Přináší hodnocení a porovnání obsahu Asn u hlavních obilných druhů a odrůd při různém způsobu pěstování (KON a EKO) a intenzitě pěstování. Obsah Asn byl ovlivněn pěstitelskou sezónou, kdy v roce 2024 byly obsahy Asn nižší. Vliv odrůdy či technologie pěstování měl efekt slabší a v jednotlivých letech dosahoval i protichůdných výsledků. V průměru hodnocených let byly u ovsa nahého (884,5 mg/kg) a žita setého (824,9 mg/kg) zjištěny nejvyšší obsahy Asn. Nejnižší obsah Asn byl u pšenice ozimé a to pouze 256,7 mg/kg. Odrůdy ozimé a jarní pšenice jakostní skupiny E („elitní“) a také vzorky vypěstované ekologickým způsobem měly tendenčně nižší hodnoty Asn. Závěrem lze říci, že hladina volného Asn může být výrazně ovlivněna ročníkem pěstování, výběrem druhu a jakostní skupinou odrůd obilovin.

**Klíčová slova:** akrylamid, odrůda, konvenční zemědělství, ekologické zemědělství, výběr lokality

### Abstract

Monitoring of the content of free asparagine (Asn) in grain was carried out in 2023 and 2024 in cereals grown in the CR at 11 locations. It provides an assessment and comparison of the Asn content in the main cereal species and varieties under different cultivation methods (CONV and BIO) and cultivation intensity. The Asn content was influenced by the growing season, when in 2024 the Asn content was lower. The influence of the variety or cultivation technology had a weaker effect and in individual years they even achieved opposite results. On average, the highest Asn amounts were found in naked oats (884.5 mg/kg Asn) and rye (824.9 mg/kg Asn) in the evaluated years. The lowest Asn content was in winter wheat, only 256.7 mg/kg Asn. Winter and spring wheat varieties of quality group E ("elite") as well as samples grown organically tended to have lower Asn values. In conclusion, it can be said that the level of free Asn can be significantly influenced by the year of cultivation, the choice of species and the quality group of cereal varieties.

**Keywords:** acrylamide, cultivar, conventional farming, organic farming, site selection

### Úvod

Volný asparagin je prekursorem k tvorbě akrylamidu a vzhledem k objemu výrobků na bázi obilovin je jedním z hlavních dietetických přispěvatelů akrylamidu v konzumovaných výrobcích (EFSA, 2015). Proto je žádoucí nalézt vztahy a identifikovat faktory, které mohou vést ke snížení tohoto prekursoru v obilninách, protože koncentrace volného asparaginu byla u pšenice a dalších obilovin identifikována jako hlavní determinant potenciálu tvorby akrylamidu (Raffan and Halford, 2019). Akrylamid je klasifikován jako pravděpodobný lidský karcinogen skupiny 2A (IARC, 1994). A proto také současné postupy ve šlechtění směřují ke snížení obsahu asparaginu v moderních odrůdách čímž lze významně přispět i ke snížení akrylamidu (Tafari et al., 2023).

### Materiál a metody

Cílem této studie bylo zmapovat v ČR obsah volného asparaginu v pěstovaných obilovinách a prozkoumat vliv několika faktorů, včetně ekologického a konvenčního pěstování, úrovně ošetření (dusíkem a fungicidů) a především místa a podmínek pěstování. V této rozsáhlé studii bylo v obou letech (2023 a 2024) shromážděno více než 800 vzorků obilovin (pšenice – ozimé a jarní, žito, oves nahého a špaldy) z 11 různých lokalit (pokusné stanice ÚKZÚZ a lokality SDO s ekologicky certifikovanou plochou) a analyzovány pomocí ultra-vysokoúčinné kapalinové chromatografie (U-HPLC) spojené s hmotnostní spektrometrií s vysokým rozlišením. Založení a vedení pokusů probíhalo dle plodinových metodik ÚKZÚZ a u ekologických lokalit pěstování odpovídalo zásadám ekologického zemědělství (tj. bez použití průmyslových hnojiv a pesticidů a regulace plevelů probíhala pouze mechanickou cestou). V konvenčním zemědělství byla zhodnocena i intenzita pěstování (standartní „neošetření varianta“, tj. základní dávka dusíku bez ošetření morforegulátorem a bez fungicidu a intenzivní „ošetřená varianta“ základní dávka dusíku zvýšena o 40 kg/ha s morforegulátorem a s dvěma fungicidy).

### Výsledky

Výsledky ukázaly, že obsah asparaginu ovlivnila pěstitelská sezóna (Tab. 1) a druh obiloviny. Nejvyšší hladiny Asn byly shodně v obou letech zjištěny u ovesa nahého (v průměru 884,5 mg/kg) a následně pak druhé nejvyšší obsahy Asn u žita (824,9 mg/kg). Díky tomu, že jsou oves a žito často vyhledávanou alternativou k pšeničné mouce je toto zjištění nelichotivé. Vyšší hladina volného asparaginu byla zjištěna také u pšenice špalda (362,1 mg/kg). Naopak stabilně nejnižší obsah Asn byl u pšenice ozimé (256,7 mg/kg).

Tabulka 1. Vliv druhu obilovin na obsah volného asparaginu v zrně (mg/kg)

Druh	2023	2024	Průměr let
<b>Pšenice ozimá</b>	<b>239,8</b>	<b>273,6</b>	256,7
<b>Pšenice jarní</b>	<b>256,2</b>	<b>384,1</b>	320,2
<b>Pšenice špalda</b>	<b>328,2</b>	<b>395,9</b>	362,1
<b>Žito</b>	<b>922,2</b>	<b>733,0</b>	824,9
<b>Oves nahý</b>	<b>995,1</b>	<b>773,8</b>	884,5
<i>Průměr</i>	<i>547,2</i>	<i>512,1</i>	<i>529,6</i>

Tabulka 2. Vliv odrůdy na obsah volného asparaginu v zrně (mg/kg)

Druh	Odrůdy	2023	2024	Průměr let
<b>Pšenice ozimá</b>	<b>E</b>	<b>236,2</b>	<b>305,9</b>	271,1
	<b>A</b>	<b>242,3</b>	<b>303,9</b>	273,1
<b>Pšenice jarní</b>	<b>E</b>	<b>233,5</b>	<b>308,3</b>	270,9
	<b>A</b>	<b>251,9</b>	<b>406,1</b>	329,0
	<b>B</b>	<b>271,6</b>	<b>460,0</b>	365,8
<b>Žito</b>	<b>Hybridní</b>	<b>912,5</b>	<b>704,6</b>	808,6
	<b>Populační</b>	<b>920,5</b>	<b>710,8</b>	815,7

Nižší obsahy volného asparaginu u pšenice seté byly dále ovlivněny i zatříděním do jakostních skupin (E, A, B). Obsahy Asn u odrůd zatříděných do elitní skupiny odrůd (E) byly nižší (271 mg/kg) v porovnání s ostatními jakostními skupinami A a B (301 mg/kg a 365 mg/kg). To naznačuje, že výběr či preference odrůd z elitní skupiny (E) může být vhodným agrotechnickým nástrojem pro řízení obsahu volného asparaginu. Tento příspěvek tak přináší další možný parametr ke zhodnocení odrůd pšenice z hlediska volného asparaginu. U žita setého byl z

pohledu odrůd zjištěn trend nižšího obsahu volného asparaginu u hybridních odrůd (Tab. 2). Význam odrůd a dalších agrotechnických postupů bude dále upřesňován v polních pokusech.

### Diskuze

Oves se využívá nejčastěji k výrobě ovesných vloček a ty následně pro výrobu ovesné mouky. Vločky se však nejčastěji používají do müsli a ovesná mouka stejně jako žitná k výrobě pečiva. Vyšší obsahy Asn zjištěné u těchto dvou obilovin vyvolávají opodstatněné obavy z jejich skutečného vlivu na výsledný obsah akrylamidu ve výsledných výrobcích.

Studie Stockmann et al. (2018) uvádí, že nejvyšší množství volného asparaginu vykazovalo žito (686 mg/kg), průměrná hladina asparaginu se v této studii u pšenice seté pohybovala na úrovni 132 mg/kg a u špaldy jen na 105 mg/kg, což je výrazně méně než naše výsledky (256 mg/kg u pšenice a 362 mg/kg u špaldy). Naše výsledky tak lépe korespondují se závěry studie Rapp et al. (2018), kde průměrný obsah asparaginu se u kultivarů pšenice pohyboval od 143 do 393 mg/kg. Naopak Malunga et al. (2019) zjistili, že obsah asparaginu v kanadské pšenici se pohyboval od 302 do 965 mg/kg. To jsou relativně vyšší hodnoty, než ty, které byly zjištěny u odrůd pšenice v podmínkách ČR (od 128 do 739 mg/kg).

Jsme přesvědčeni, že hledání a testování dalších inovativních agrotechnických opatření, může vysoký obsah volného asparaginu především u ovsa nahého a žita setého ještě snížit (Curtis et al., 2018; Žilić et al., 2020). Rozhodující bude také prověřit distribuci Asn v zrně a přizpůsobit tomu mletí a technologii výroby pečiva. U žita podobně jako u pšenice již výsledky naznačují, že Asn je v žitném zrně rozložen nerovnoměrně a nejvyšší koncentrace se nachází v otrubách (Stockmann et al. (2018)). A proto celozrnná žitná mouka či ovesné vločky budou mít přirozeně vyšší obsah asparaginu než mouka rafinovaná, protože obsahuje i otruby a klíček (Corol et al., 2016).

Tabulka 3. Vliv lokality na obsah asparaginu (mg/kg) u pšenice ozimé

Lokalita	Nadmořská výška (m)	Dlouhodobá průměrná teplota (°C)	Dlouhodobý průměrný úhrn srážek (mm)	Výrobní oblast	2023	2024
<b>Žabčice</b>	187	10,2	491	KVO	<b>302,1</b>	<b>472,9</b>
<b>Braňšovice</b>	190	10,1	482	KVO	<b>265,6</b>	--
<b>Věrovany</b>	207	9,3	517	ŘVO	--	<b>411,0</b>
<b>Čáslav</b>	260	9,6	580	ŘVO	<b>256,0</b>	<b>375,8</b>
<b>Stupice</b>	287	9,7	537	ŘVO	<b>229,6</b>	--
<b>Uhřetěves</b>	295	8,3	575	ŘVO	<b>248,9</b>	<b>228,9</b>
<b>Chrastava</b>	345	8,7	791	BVO	<b>136,2</b>	<b>193,6</b>
<b>Soběkury</b>	390	8,3	570	OVO	<b>323,2</b>	<b>347,8</b>
<b>Zvíkov</b>	490	7,2	634	OVO	<b>163,6</b>	<b>274,3</b>
<b>Domanínec</b>	572	7,7	604	BVO	<b>184,9</b>	<b>200,5</b>
<b>Vysoká</b>	585	8,3	656	BVO	--	<b>220,3</b>

Ročníkové rozdíly a změna i základních klimatických podmínek může mít vliv na akumulaci asparaginu (Tafari et al. 2023). To je patrné i z výsledků 11 lokalit, které spadaly do všech hlavních pěstitelských oblastí (Tab. 3 a 4). Obsah asparaginu byl v průměru zde pěstovaných odrůd pšenice ozimé tendenčně vyšší na lokalitách s nižší nadmořskou výškou (kromě lokality Soběkury) a u jarních forem pšenice byla také vyšší hladina volného asparaginu v zrně zjištěna spíše na lokalitách s nižší nadmořskou výškou, zejména v roce 2024 (Tab. 4).

Tabulka 4. Vliv lokality na obsah asparaginu (mg/kg) u pšenice jarní

Lokalita	Nadmořská výška (m)	Dlouhodobá průměrná teplota (°C)	Dlouhodobý průměrný úhrn srážek (mm)	Výrobní oblast	2023	2024
<b>Žabčice</b>	187	10,2	491	KVO	--	<b>520,2</b>
<b>Chrlice</b>	190	9,4	456	ŘVO	<b>279,9</b>	--
<b>Čáslav</b>	260	9,6	580	ŘVO	<b>214,1</b>	<b>351,4</b>
<b>Kujavy</b>	260	8,8	655	BVO	<b>199,9</b>	<b>549,0</b>
<b>Stupice</b>	287	9,7	537	ŘVO	<b>247,1</b>	--
<b>Uhřetěves</b>	295	8,3	575	ŘVO	<b>284,3</b>	<b>326,4</b>
<b>Chrastava</b>	345	8,7	791	BVO	<b>296,4</b>	<b>435,1</b>
<b>Soběkury</b>	398	8,2	580	ŘVO	--	<b>469,5</b>
<b>Zvíkov</b>	490	7,2	634	OVO	<b>219</b>	<b>336,2</b>
<b>Domanínec</b>	572	7,7	604	BVO	<b>325,3</b>	<b>307,0</b>

Ze studie Tafuri et al. (2023), kde testování pšenice seté probíhalo na třech italských lokalitách po dobu dvou let, zjistili podobné obsahy volného asparaginu v prvním (od 99 do 282 mg/kg sušiny) i druhém roce (55 do 284 mg/kg sušiny) u 18 genotypů. To není zcela v souladu s našimi výsledky, kdy ledované roky 2023 a 2024 se v podmínkách ČR lišily výrazněji (Tab. 3 a 4). Bude parně nutné podrobnější sledování a zhodnocení role dalších prvků životního prostředí pro akumulaci asparaginu.

Základní zhodnocení obsahu asparaginu v zrně proběhlo i z pohledu KON a EKO způsobu pěstování a intenzity pěstování obilnin v KON. Obsahy Asn u konvenčně a ekologicky pěstovaných obilnin jsou uvedeny v Tabulce 5. Tato studie tak přináší kromě ekologicky pěstované pšenice seté, i podrobnější informace o vlivu ekologického systému na obsah asparaginu v zrně u pšenice špaldy, žita a ovsa nahého.

Tabulka 5. Vliv způsobu pěstování na obsah volného asparaginu v zrně (mg/kg) u jednotlivých druhů obilnin

Druh	EKO		KON	
	2023	2024	2023	2024
<b>Pšenice ozimá</b>	<b>270,0</b>	<b>259,8</b>	<b>240,9</b>	<b>284,9</b>
<b>Pšenice jarní</b>	<b>268,8</b>	<b>371,9</b>	<b>259,3</b>	<b>401,5</b>
<b>Pšenice špalda</b>	<b>328,2</b>	<b>346,0</b>	--	<b>398,4</b>
<b>Žito</b>	<b>910,6</b>	<b>786,6</b>	<b>916,7</b>	<b>727,7</b>
<b>Oves nahý</b>	<b>879,0</b>	<b>861,0</b>	<b>1088,7</b>	<b>766,0</b>
<i>průměr</i>	<i>531,3</i>	<i>525,1</i>	<i>626,4</i>	<i>515,7</i>

Je zajímavé, že vliv ekologického či konvenčního systému na obsah Asn není jednoznačný (Tab. 5). Ekologický systém (EKO) tendenčně zvyšoval hladiny asparaginu u žita, a naopak neprůkazně snižoval vysoké hodnoty u ovsa v porovnání s konvenční technologií (KON).

V rámci konvenčního systému (KON) je možné zhodnotit i dopad intenzity pěstování (Tab. 6), kdy tendenčně nižší hladina Asn byla zjištěna u odrůd na nižší pěstitelské úrovni (Standard) s pouze základní dávkou dusíku, namořeným osivem bez ošetření morforegulátory či bez ošetření fungicidy. Naopak u „Intenzity“ tj. při zvýšené základní dávce dusíku o 40 kg/ha, s aplikací morforegulátoru a fungicidu byly u všech hodnocených druhů tendenčně vyšší hodnoty asparaginu (Tab. 6).

Tabulka 6. Vliv intenzity pěstování v konvenčním zemědělství na obsah asparaginu v zrně (mg/kg)

Druh	Standard		Intenzita	
	2023	2024	2023	2024
<b>Pšenice ozimá</b>	<b>210,4</b>	<b>264,7</b>	<b>213,1</b>	<b>298,7</b>
<b>Pšenice jarní</b>	<b>246,9</b>	<b>367,0</b>	<b>258,8</b>	<b>479,8</b>
<b>Žito</b>	<b>915,8</b>	<b>726,3</b>	<b>935,2</b>	<b>728,8</b>
<i>průměr</i>	<i>457,7</i>	<i>452,7</i>	<i>469,0</i>	<i>502,4</i>

### Závěr

Závěrem lze říct, že tyto dvouleté výsledky naznačují, že mezi významný faktor určující obsah volného asparaginu (Asn) může být zařazena i pěstitelská sezóna.

Nejvyšší obsahy volného asparaginu byly zjištěny v obou letech u souboru odrůd ovsa nahého a žita setého.

Z pohledu volby odrůdy či jakostních skupin výsledky naznačují, že volba elitních potravinářských odrůd (E) posiluje záměr eliminovat obsah asparaginu v zrně.

### Literatura

- Corol, D. I., Ravel, C., Rakszegi, M., Charmet, G., Bedo, Z., Beale, M. H., Ward, J. L. (2016). <sup>1</sup>H-NMR screening for the high-throughput determination of genotype and environmental effects on the content of asparagine in wheat grain. *Plant Biotechnology Journal*, 14(1), 128-139.
- Curtis, T.Y., Powers, S.J., Wang, R., Halford, N.G. (2018). Effects of variety, year of cultivation and sulphur supply on the accumulation of free asparagine in the grain of commercial wheat varieties. *Food Chem.*, 239, 304–313
- Malunga, L. N., Ames, N. P., Masatcioglu, M. T., Khorshidi, A. S., Thandapilly, S. J., Cuthbert, R. D., ... & Scanlon, M. G. (2019). Free asparagine concentrations in Canadian hard red spring wheat cultivars. *Canadian Journal of Plant Science*, 99(3), 338-347.
- Stockmann, F., Weber, E.A., Mast, B., Schreiter, P., Merkt, N., Claupein, W., Graeff-Hönninger, S. (2018). Evaluation of Asparagine Concentration as an Indicator of the Acrylamide Formation in Cereals Grown under Organic Farming Conditions. *Agronomy*, 8, 294.
- Raffan, S., & Halford, N. G. (2019). Acrylamide in food: Progress in and prospects for genetic and agronomic solutions. *Annals of Applied Biology*, 175(3), 259-281.
- Rapp, M., Schwadorf, K., Leiser, W. L., Würschum, T., & Longin, C. F. H. (2018). Assessing the variation and genetic architecture of asparagine content in wheat: What can plant breeding contribute to a reduction in the acrylamide precursor? *Theoretical and Applied Genetics*, 131, 2427-2437.
- Stockmann, F., Weber, E. A., Mast, B., Schreiter, P., Merkt, N., Claupein, W., & Graeff-Hönninger, S. (2018). Evaluation of asparagine concentration as an indicator of the acrylamide formation in cereals grown under organic farming conditions. *Agronomy*, 8(12), 294.
- Tafari, A., Zuccaro, M., Ravaglia, S., Pirona, R., Masci, S., Sestili, F. & Baldoni, E. (2023). Exploring variability of free asparagine content in the grain of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties cultivated in Italy to reduce acrylamide-forming potential. *Plants*, 12(6), 1349.
- Žilić, S., Aktağ, I.G., Dodig, D., Filipović, M., Gökmen, V. (2020). Acrylamide formation in biscuits made of different wholegrain flours depending on their free asparagine content and baking conditions. *Food Res. Int.*, 132, 109109

**Poděkování**

Pracovníkům pokusných stanic ÚKZÚZ za přípravu a poskytnutí vzorků jednotlivých odrůd obilovin. Studie byla podpořena projektem MSMT2213005 „Bezpečné, senzoricky atraktivní tepelně zpracované potraviny z cereálií s nízkým obsahem asparaginu“ (ev. č. LUC23140).

**Kontakt:**

Ing. Petr Dvořák, Ph.D.

Česká zemědělská univerzita Praha

Kamýcká 129, 165 00 Praha Suchdol

+420 605 967 290, [dvorakp@af.czu.cz](mailto:dvorakp@af.czu.cz)

## Technologická kvalita netradične zafarbených pšeníc

### Technological Quality of Colored Wheat Varieties

Gavurníková S.<sup>1</sup>, Hozlár, P.<sup>1</sup>, Havrlentová M.<sup>1,2</sup>, Hendrichová J.<sup>1</sup>, Šliková, S.<sup>1</sup>, Jágr M.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav rastlinnej výroby v Piešťanoch, Slovenská republika, <sup>2</sup>Fakulta prírodných vied, Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave, Slovenská republika, <sup>3</sup>Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i. – Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. Praha-Ruzyně, Česká republika

#### Abstrakt

Cieľom práce bolo zhodnotiť technologickú kvalitu netradične zafarbených odrôd pšenice registrovaných na Slovensku (PS Karkulka, PS Denim a Cherry) a posúdiť ich vhodnosť pre využitie v pekárskych výrobkoch. Hodnotením boli mlynárske, kvalitatívne a reologické parametre vrátane výťažnosti múky, obsahu N-látok, gluten indexu, čísla poklesu, sedimentačného indexu a farinografických charakteristík. Najlepšiu technologickú kvalitu preukázala odroda PS Karkulka, ktorá mala vysokú výťažnosť múky, dobrú stabilitu cesta a vyvážené reologické vlastnosti. Odrôda PS Denim sa vyznačovala najvyšším objemom bochníka, avšak slabším lepkovým komplexom, zatiaľ čo Cherry dosiahla najlepšie senzorycké hodnotenie. Získané výsledky potvrdzujú, že farebné pšenice majú porovnateľnú technologickú kvalitu s konvenčnými odrodami a predstavujú perspektívnu surovinu pre výrobu funkčných a nutrične hodnotných pekárskych výrobkov.

**Kľúčové slova:** Farebná pšenica, výťažnosť múky, pekárska kvalita, farinograf, objem bochníka

#### Abstract

The aim of this study was to evaluate the technological quality of non-traditionally colored wheat varieties registered in Slovakia (PS Karkulka, PS Denim, and Cherry) and to assess their suitability for use in bakery production. Milling, qualitative, and rheological parameters were analyzed, including flour yield, protein content, gluten index, falling number, sedimentation index, and farinograph characteristics. The variety PS Karkulka showed the best technological quality, with a high flour yield, good dough stability, and balanced rheological properties. PS Denim exhibited the highest loaf volume but a weaker gluten structure, while Cherry achieved the best sensory evaluation. Overall, the findings indicate that colored wheat varieties possess technological quality comparable to conventional wheat and represent a promising raw material for the production of functional and nutritionally valuable bakery products.

**Keywords:** Colored wheat, flour extraction, baking quality, farinograph, loaf volume

#### Úvod

Pšenica (*Triticum aestivum* L.) patrí medzi najvýznamnejšie obilniny sveta a predstavuje základnú zložku výživy ľudskej populácie, zabezpečujúc približne pätinu celkového kalorického príjmu. Okrem vysokého obsahu škrobu je cenným zdrojom bielkovín, vlákniny, minerálnych látok a ďalších bioaktívnych zložiek. V posledných desaťročiach sa šľachtiteľské programy zameriavajú nielen na zvyšovanie úrodnosti, ale aj na zlepšovanie kvalitatívnych a nutričných parametrov zrna. Tým pšenica nadobúda významnú úlohu v riešení globálnych problémov výživy a v prevencii tzv. skrytého hladu – chronického nedostatku esenciálnych mikronutrientov, ako sú železo, zinok, selén či vitamíny, ktorý sa neprejavuje pocitom hladu, no negatívne ovplyvňuje zdravie a výkonnosť populácie.

Osobitnú pozornosť si v súčasnosti získavajú farebné (pigmentované) odrody pšenice, ktoré predstavujú dôležitý zdroj antokyánov, karotenoidov, flavonoidov a fenolových zlúčenín. Tieto prirodzené pigmenty sú lokalizované najmä v perikarpe a aleurónovej vrstve zrna a ovplyvňujú nielen jeho farbu, ale aj technologické, senzorycké a zdravotné vlastnosti výrobkov. Vďaka vyššiemu obsahu antioxidantov a ďalších bioaktívnych látok majú farebné pšenice priaznivejšie

nutričné zloženie a potenciál využitia ako funkčné potraviny s pridanou hodnotou (Padhy *et al.*, 2022).

Priekopnícke práce v oblasti modrej pšenice uskutočnil Dr. Emil Šebesta z USDA-ARS na Oklahoma State University, ktorý v rokoch 1958–1988 vyvinul línie SB-1, SB-2 a SB-3 („Sebesta Blue“) s využitím chromozómových segmentov z druhu *Thinopyrum ponticum* (Morrison, Metzger & Lukaszewski, 2004). Následne boli registrované viaceré farebné odrody po celom svete: modré pšenice *Purendo* (Abdel-Aal *et al.*, 2008), *Hedong Wumai* (Hu *et al.*, 2007), *UC66049* (Tyl & Bunzel, 2012) a *Skorpion*, ktorá bola v roku 2011 zaregistrovaná v Rakúsku a následne zaradená do Európskeho katalógu odrôd (Martinek *et al.*, 2013). V Českej republike boli vyvinuté viaceré modré a fialové genotypy (Lachman *et al.*, 2018), zatiaľ čo na Slovensku bola v roku 2013 registrovaná prvá lokálna odroda s fialovým zrnom *PS Karkulka* (Garg *et al.*, 2018). Odrody so žltým endospermom *Bona Dea* (2006) a *Bona Vita* (2011) boli vyšľachtené taktiež na Slovensku. Fialová pšenica *Indigo* bola registrovaná v Rakúsku v roku 2006 (Eticha *et al.*, 2011), pričom odrody *Purple* a *Purple Feed* s génom Pp-D1 na chromozóme 7DS opísali Dobrovolskaya *et al.* (2006).

Farebné odrody pšenice sa vyznačujú jedinečnými fyzikálno-chemickými, biochemickými, nutričnými a senzorickými vlastnosťami, ktoré sú determinované genetickými, agroenvironmentálnymi a technologickými faktormi. Vďaka vysokému obsahu antioxidantných pigmentov predstavujú významný prínos k podpore zdravia populácie, pričom môžu slúžiť ako funkčné potraviny, nutraceutiká a prirodzené alternatívy syntetických farbív. Ich pestovanie môže zároveň prinášať vyššiu ekonomickú hodnotu pre producentov (Eticha *et al.*, 2011; Padhy *et al.*, 2022).

Rozvoj a využitie farebných odrôd pšenice preto predstavuje strategický krok smerom k posilneniu globálnej potravinovej a nutričnej bezpečnosti. Spája genetický pokrok, technologické inovácie a rastúci spotrebiteľský dopyt po zdravých, prirodzených a udržateľných produktoch.

Cieľom práce bolo zhodnotiť technologické a kvalitatívne vlastnosti netradične zafarbených odrôd pšeníc vyšľachtených a registrovaných na Slovensku s dôrazom na ich praktické využitie pri výrobe funkčných pekárskych výrobkov.

## **Materiál a metódy**

V rámci štátnych odrodových skúšok, každý genotyp (šľachtiteľ: NPPC-VÚRV, Výskumno-šľachtiteľská stanica Vígláš-Pstruša) bol pestovaný na pokusných staniach Ústredného kontrolného a skúšobného ústavu poľnohospodárskeho na 4 rôznych lokalitách Slovenska (Želiezovce, Veľké Ripňany, Báhoň, Vranov nad Topľou). Odroda PS Karkulka (purpurová farba zrna) bola skúšaná v rokoch 2011-2013 a registrovaná v roku 2014, odroda PS Denim (modrá farba zrna) bola skúšaná v rokoch 2020-2022 a registrovaná v roku 2023, odroda Cherry (purpurová farba zrna) bola skúšaná v rokoch 2022-2024 a registrovaná v r. 2025. zrno farebných pšeníc je znázornené na obrázku 1.

Mlynárske kvalitatívne a pekárske parametre sme analyzovali podľa platných národných a medzinárodných štandardov: výmeľnosť múky bola stanovovaná na mlyne Quadrumat Junior (Brabender) s maximálnou možnou výťažnosťou múky 60 %, objemová hmotnosť podľa STN EN ISO 7971-3 (2010) (obilný skúšač OS - 01, GAC 500 XT, Diceky-John), celkový popol podľa STN ISO 2171 (2008) (muflová pec Carbolite AAF 11/7), obsah dusíkatých látok Dumasovou metódou STN EN ISO 16634-2 (2016) (Tru Mac, LECO), dusíkaté látky boli prepočítané na bielkoviny faktorom 5,7, mokrý lepok a gluten index podľa ICC č. 155 (1994) (Glutomatic 2200, Centrifuge 2015, Perten), číslo poklesu podľa STN EN ISO 3093 (2010) (Falling Number 1000, Perten), sedimentačný index podľa Zelenyho podľa STN ISO 5529 (2008) (Trepacha Brabender), farinografické ukazovatele podľa ICC č. 115/1 (1992) (Farinograph AT, Brabender), pekársky pokus (stavebnicová pec Domino, Marton), základná

receptúra pekárskeho pokusu pozostáva z 250 g múky, 12,5 g droždia, 2,5 g cukru, 3,75 g soli, 2,5 g bravčovej masti, voda podľa farinografickej väznosti. Suroviny boli vymiesené na cesto spôsobom na záraz, Vymiesené cesto zrelo 20 minút pri teplote  $32\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , rozdelené bolo na 5 rovnakých častí. Následne klonky boli ručne tvarované do tvaru bochníka (žemle). Vytvarované cestové kusy sme nechali dokysnúť v kysniarni 25 minút pri teplote  $32\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , vlhkosti  $80\text{ } \% \pm 1\text{ } \%$ . Bochníky sa piekli v elektrickej rúre 20 minút pri teplote  $230\text{ }^{\circ}\text{C}$  so záparou. Po vychladnutí (2 hodiny po upečení), sme zmerali objem bochníkov, pomer výška/šírka a bochníky sme senzorycky ohodnotili. Hodnotenú vlastnosti boli celkový vzhľad a tvar, povrch a vlastnosti kôrky, nakysnutie a vzhľad striedky, štruktúra a pružnosť striedky, vôňa a chuť.



Obrázok 1. Zrno farebných odrôd pšeníc: PS Denim - modrá farba zrna, PS Karkulka, Cherry – purpurová farba zrna, na porovnanie odroda PS Dobromila – bežná červená farba zrna

### Výsledky

Dosiahnuté výsledky mlynárskej kvality farebných odrôd pšeníc sú uvedené v tabuľke 1. Hodnoty objemovej hmotnosti odrody PS Karkulka sa počas 3 rokov pohybovali od 738 do 817  $\text{g.l}^{-1}$ , s priemernou hodnotou 786  $\text{g.l}^{-1}$ . Odroda PS Denim mala priemerne za 3 roky objemovú hmotnosť 763  $\text{g.l}^{-1}$ , a odroda Cherry 769  $\text{g.l}^{-1}$ . Medzi hodnotenými odrodami farebných pšeníc, priemerne neboli štatisticky významné rozdiely v tomto parametri. Z mlynských parametrov však štatisticky významne najnižšiu výťažnosť múky mala odroda Cherry (37,0 %) v porovnaní s odrodou PS Karkulka (51,8 %) a PS Denim (52,5 %).

Tabuľka 1. Mlynárska kvalita farebných odrôd pšeníc (PS Karkulka, PS Denim, Cherry)

Odroda	Objemová hmotnosť ( $\text{g.l}^{-1}$ ) <sup>1)</sup>	Výťažnosť múky (%)	Obsah popola (%)
PS Karkulka	$786 \pm 21,644$ a	$51,8 \pm 2,872$ b	$1,90 \pm 0,660$ a
PS Denim	$763 \pm 19,303$ a	$52,5 \pm 2,836$ b	$1,57 \pm 0,158$ a
Cherry	$769 \pm 33,073$ a	$37,0 \pm 6,402$ a	$1,78 \pm 0,115$ a

Hodnoty označené rozdielnymi písmenami vykazujú štatisticky významné rozdiely (Tukey's HSD,  $p < 0.05$ ,  $N=12$ )

Základné kvalitatívne parametre analyzovaných odrôd farebných pšeníc sú znázornené v Tabuľke 2. Obsah N-látok farebných odrôd pšeníc sa priemerne za 3 roky pohyboval od 13,4 % do 14,5 %. V obsahu N-látok medzi odrodami neboli štatisticky významné rozdiely, čo platí i pre obsah mokrého lepku. Farebné odrody sa vyznačujú pomerne vysokým obsahom N-látok aj vysokým obsahom mokrého lepku, nakoľko v týchto parametroch pšenice zodpovedajú E triede kvality podľa STN 46 1100-2. Štatisticky významné rozdiely medzi odrodami boli v parametri gluten index. Najnižšiu kvalitu lepku s najnižšou hodnotou gluten indexu mala odroda PS Denim (25,8). Medzi hodnotami čísla poklesu sme nezaznamenali výrazné rozdiely, všetky hodnotené vzorky presahovali hodnotu čísla poklesu 300 s. Štatisticky významne najvyššiu hodnotu čísla poklesu mala odroda PS Karkulka (427 s). Sedimentačný index sa u farebných odrôd pšeníc priemerne pohyboval od 31 ml do 37 ml čím v tomto parametri pšenice zodpovedajú A triede kvality podľa STN 46 1100-2.

Tabuľka 2. Základné kvalitatívne parametre farebných odrôd pšeníc (PS Karkulka, PS Denim, Cherry).

Odroda	N-látky x 5,7 (%)	Mokrý lepok v sušine (%)	Gluten index	Číslo poklesu (s)	Sedimentačný index (ml)
PS Karkulka	14,5 ± 1,307 a	33,2 ± 4,131 a	68,7 ± 12,783 b	427 ± 49,197 b	37 ± 6,742 b
PS Denim	13,4 ± 0,950 a	32,0 ± 2,503 a	25,8 ± 20,272 a	362 ± 56,060 a	31 ± 4,303 a
Cherry	13,7 ± 1,218 a	30,5 ± 3,940 a	58,1 ± 15,354 b	331 ± 20,551 a	35 ± 3,693 ab

Hodnoty označené rozdielnymi písmenami vykazujú štatisticky významné rozdiely (Tukey's HSD,  $p < 0.05$ , N=12)

Kvalitu múky sme hodnotili reologickými meraniami-farinografom (Tabuľka 3). Na základe farinografického hodnotenia môžeme konštatovať, že odrody PS Karkulka a PS Denim sa vyznačujú pomerne vysokou väznosťou vody (59,2 a 59,3 %) v porovnaní s odrodou Cherry, ktorá má väznosť vody štatisticky významne nižšiu (52,7 %). Podľa farinografického hodnotenia, štatisticky preukazne pekársky najsilnejšiu múku má odroda PS Karkulka (stabilita cesta 7,1 min, číslo kvality 94). Avšak na základe pekárského pokusu, čo je jediná priama metóda hodnotenia pekárskej kvality múky. Odroda PS Denim sa síce vyznačovala najvyšším objemom bochníka, avšak bochník bol nízko klenutý (pomer výška/šírka 0,44) a takisto mal aj najnižšie senzorické hodnotenie. Nízke klenutie bochníka je výsledkom ťažného a málo pružného lepku, čo je vyjadrené aj nízkou hodnotou gluten indexu. Senzoricky bola najvyššie ohodnotená odroda Cherry. Takisto táto odroda mala najvyššie pomerné číslo (0,65).

Tabuľka 3. Farinografické hodnotenie farebných odrôd pšenice

Odroda	Väznosť vody (%)	Vývin cesta (min)	Stabilita cesta (min)	Číslo kvality
PS Karkulka	59,3 ± 1,879 b	3,8 ± 1,285 b	7,1 ± 2,419 b	94 ± 29,274 b
PS Denim	59,2 ± 1,308 b	2,6 ± 0,407 a	3,4 ± 0,958 a	66 ± 15,904 a
Cherry	52,7 ± 1,504 a	2,3 ± 1,151 a	4,5 ± 1,645 a	57 ± 22,173 a

Hodnoty označené rozdielnymi písmenami vykazujú štatisticky významné rozdiely (Tukey's HSD,  $p < 0.05$ , N=12)

Tabuľka 4. Výsledky pekárenského pokusu farebných odrôd pšeníc

Odroda	Objem bochníka z 250 g múky (ml)	Pomer výška/šírka	Senzorické hodnotenie (stupnica 1-9)
PS Karkulka	1121 ± 44,407 a	0,58 ± 0,047 b	5,6 ± 0,733 a
PS Denim	1290 ± 70,065 b	0,44 ± 0,105 a	5,4 ± 1,264 a
Cherry	1171 ± 77,043 a	0,65 ± 0,039 b	6,5 ± 0,620 b

Hodnoty označené rozdielnymi písmenami vykazujú štatisticky významné rozdiely (Tukey's HSD,  $p < 0.05$ ,  $N=12$ )

## Diskuze

Hodnotenie technologickej kvality netradične zafarbených odrôd pšenice ukázalo, že všetky sledované genotypy (PS Karkulka, PS Denim a Cherry) dosahujú niektoré parametre porovnateľné s potravinárskymi pšeniciami vyšších kvalitatívnych tried. V objemovej hmotnosti zrna ( $763\text{--}786\text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ ) sa medzi odrodami nepreukázali štatisticky významné rozdiely. Objemová hmotnosť farebných odrôd pšeníc zodpovedá A prípadne B triedy kvality podľa STN 46 1100-2. Podobné hodnoty uvádzajú aj Eticha *et al.* (2011) a Lachman *et al.* (2018), podľa ktorých farebné pšenice spravidla nevykazujú zníženu objemovú hmotnosť v porovnaní s konvenčnými odrodami, ak sú pestované v rovnakých agroekologických podmienkach.

Z mlynských parametrov sa štatisticky významne nižšia výťažnosť múky zistila u odrody Cherry (37 %), zatiaľ čo PS Karkulka a PS Denim dosiahli viac ako 51 %. Nižšia výťažnosť u fialových a modrých pšeníc býva často spojená s vyšším podielom pigmentovaných vrstiev, vyššou hrúbkou perikarpu a pevnejšou štruktúrou aleurónovej vrstvy (Abdel-Aal *et al.*, 2008; Hu *et al.*, 2007). Tieto morfológické znaky síce znižujú výťažnosť múky, ale zároveň zvyšujú obsah fenolických látok, vlákniny a minerálov, čo zvyšuje ich nutričnú hodnotu.

Obsah N-látok v rozsahu 13,4–14,5 % naznačuje veľmi dobrú kvalitu zrna, pričom všetky odrody spĺňajú kritériá triedy E podľa STN 46 1100-2. Podobne vysoké hodnoty bielkovín v pigmentovaných pšeničiach uvádzajú Garg *et al.* (2016) a Padhy *et al.* (2022), ktorí potvrdili, že farebné odrody často obsahujú viac dusíkatých látok v dôsledku odlišného metabolizmu aminokyselín a vyššieho obsahu mikroprvkov. Vysoký obsah mokrého lepku (30–33 %) taktiež poukazuje na dobré technologické predpoklady spracovania.

V parametri gluten index boli medzi odrodami výrazné rozdiely. Odroda PS Denim dosiahla najnižšiu hodnotu (25,8), čo naznačuje slabší a málo pružný lepok, zatiaľ čo PS Karkulka a Cherry mali hodnoty typické pre pšenice s dobrou pekárenskou kvalitou. Podobné zistenia uvádza Sharma *et al.* (2018), podľa ktorých niektoré modré a čierne odrody vykazujú nižšiu kvalitu lepku v dôsledku rozdielov v gliadínovo-gluténinovom profile. Naopak, fialové pšenice často dosahujú lepší pomer týchto frakcií, čo vedie k vyššej pružnosti cesta a priaznivým senzorickým vlastnostiam (Gamel *et al.*, 2019).

Reologické merania farinografom potvrdili, že odrody PS Karkulka a PS Denim majú vyššiu väznosť vody (59,2–59,3 %), čo je typické pre pšenice s vyšším obsahom vlákniny a bielkovín. Odroda Cherry mala síce nižšiu väznosť vody (52,7 %), no vykazovala vyvážený vývin cesta a dobré senzorické vlastnosti. Podobne Kumari *et al.* (2020) zistili, že fialové pšenice majú nižšiu absorpciu vody, ale lepšie senzorické vlastnosti chleba a pečiva, čo súvisí s jemnejšou štruktúrou lepku.

Z pohľadu pekárenského pokusu sa ako technologicky najvhodnejšia javí PS Karkulka, ktorá dosiahla vysokú stabilitu cesta, silnú múku (číslo kvality 94) a rovnomerný objem bochníka. Odroda PS Denim dosiahla najväčší objem bochníka, ale mala nízke klenutie a nižšie senzorické hodnotenie, čo je dôsledkom slabšieho lepku. Cherry sa vyznačovala najlepším senzorickým hodnotením (6,5 bodu) a vysokým pomerom výška/šírka (0,65), čo naznačuje jej

potenciál pre výrobu špeciálnych alebo funkčných pekárskych produktov s atraktívnym vzhľadom.

Získané výsledky potvrdzujú, že farebné odrody pšenice pestované na Slovensku disponujú technologickým potenciálom. Ich spracovateľská kvalita je porovnateľná s tradičnými potravinárskymi pšenicami, pričom poskytujú pridanú hodnotu v podobe zvýšeného obsahu bioaktívnych látok a prirodzenej farby zrna (Padhy *et al.*, 2022; Abdel-Aal *et al.*, 2018). Vzhľadom na rastúci dopyt po funkčných a esteticky atraktívnych potravinách môžu tieto odrody predstavovať významný prínos pre rozvoj domáceho pekárskeho a potravinárskeho sektora.

### **Záver**

Na základe hodnotenia technologickej kvality netradične zafarbených odrôd pšenice možno konštatovať, že všetky sledované genotypy spĺňajú kritériá potravinárskej kvality, avšak medzi nimi existujú rozdiely v mlynárskych a pekárskych parametroch.

Odroda PS Karkulka bola v štátnych odrodových skúškach klasifikovaná ako potravinárska pšenica s pekárskou kvalitou 5,3 B. Vyznačuje sa nízkou mlynárskou výťažnosťou, ale vysokým obsahom bielkovín a lepku, stabilným a vysokým číslom poklesu, vysokou väznosťou vody a dobrou stabilitou cesta. Napriek nižšiemu objemu a menej klenutému pečivu vykazuje vhodné parametre pre výrobu špeciálnych pekárskych produktov s vyššou nutričnou hodnotou. Odroda PS Denim dosiahla hodnotenie 3,1 C, čo ju zaraďuje medzi pšenice s nízkou mlynárskou kvalitou a slabším farinografickým profilom. Charakterizuje ju vysoký obsah bielkovín, ale slabší lepok, čo sa prejavilo nižším klenutím pečiva a slabšou pružnosťou cesta. Naopak, odroda Cherry bola hodnotená ako potravinárska pšenica s pekárskou kvalitou 5,1 B. Má nižšiu objemovú hmotnosť, no zároveň vysoký obsah bielkovín a mokrého lepku, priemerný sedimentačný index, avšak dobrý objem pečiva a výborné senzorické vlastnosti.

Získané výsledky potvrdzujú, že farebné odrody pšenice registrované na Slovensku sa vyznačujú uspokojivou technologickou kvalitou, porovnateľnou s konvenčnými odrodami. Ich využitie v praxi predstavuje perspektívny smer vo výrobe funkčných pekárskych výrobkov s pridanou hodnotou.

Odroda Cherry, ktorá bola registrovaná v roku 2025, bola následne uvedená do praxe a stala sa základom modelového spracovateľského reťazca, ktorý zahŕňal cestu od šľachtiteľa cez mletie zrna v kamennom mlyne Fachman (Bratislava) a výrobu chleba v remeselnej pekárni Bloom Bakery (Bratislava) (obrázok 2).

Obrázok 2. Bochníky chleba z odrody Cherry upečené v kváskovej pekárni Bloom Bakery (Bratislava)



### Literatura

- Abdel-Aal, E. S. M., Abou-Arab, A. A., Gamel, T. H., Hucl, P., Young, J. 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.
- Datta, S., Chhuneja, P., & Dhaliwal, H. S. (2011). *Plant Genetic Resources Newsletter*, 165, 16–19.
- Dobrovolskaya, O., Arbuzova, V. S., Lohwasser, U., Röder, M. S., & Börner, A. (2006). Microsatellite mapping of complementary genes for purple grain colour in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica*, 150(3), 355–364.
- Eticha, F., Grausgruber, H., Siebenhandl-Ehn, S., & Berghofer, E. (2011). Some agronomic and chemical traits of blue aleurone and purple pericarp wheat (*Triticum* L.). *Journal of Agricultural Science and Technology*, 1, 48–58.
- Gamel, T. H.; Wright, A. J.; Pickard, M.; Abdel-Aal, E. S. M. (2019). *Absorption and metabolites of anthocyanins and phenolic acids after consumption of purple wheat crackers and bars by healthy adults*. *Journal of Cereal Science*, 86, 60–68.
- Garg, M., Chawla, M., Chunduri, V., Kumar, R., Sharma, S., Sharma, N. K., Kaur, N., Kumar, A., Munday, J. K., & Saini, M. K. (2016). Transfer of grain colors to elite wheat cultivars and their characterization. *Journal of Cereal Science*, 71, 138–144.
- Garg, M., Sharma, N., Sharma, S., Kapoor, P., Kumar, A., Chunduri, V., & Arora, P. (2018). Biofortified crops generated by breeding, agronomy, and transgenic approaches are improving lives of millions of people around the world. *Frontiers in Nutrition*, 5(12), 12.
- Hu, C., Cai, Y. Z., Li, W., Corke, H., & Kitts, D. D. (2007). Anthocyanin characterization and bioactivity assessment of a dark blue grained wheat (*Triticum aestivum* L.). *Food Chemistry*, 104(3), 955–961.
- Kumari, A., Sharma, S., Sharma, N., Chunduri, V., Kapoor, P., Kaur, S., Goyal, A., & Garg, M. (2020). Influence of biofortified colored wheats (purple, blue, black) on physicochemical,

- antioxidant and sensory characteristics of chapatti (Indian flatbread). *Molecules*, **25**(21), 5071. <https://doi.org/10.3390/molecules25215071>
- Lachman, J., Hejtmánková, A., Orsák, M., Popov, M., & Martinek, P. (2018). Tocotrienols and tocopherols in colored-grain wheat, tritordeum and barley. *Food Chemistry*, *240*, 725–735.
- Martinek, P., Škorpík, M., Chrpová, J., Fučík, P., & Schweiger, J. (2013). Development of the new winter wheat variety Skorpion with blue grain. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, *49*(2), 90–94.
- Morrison, L. A., Metzger, R. J., & Lukaszewski, A. J. (2004). Origin of the blue-aleurone gene in Sebesta Blue wheat genetic stocks and a protocol for its use in apomixis screening. *Crop Science*, *44*(6), 2063–2067.
- Padhy, A. K. (2019). *Marker assisted selection in wheat for high carotenoid and protein content in grains* (M.Sc. dissertation). Punjab Agricultural University, Ludhiana.
- Padhy, A. K., Kaur, P., Singh, S., Kashyap, L., & Sharma, A. (2022). Colored wheat and derived products: Key to global nutritional security. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2119366>
- Tyl, C. E., & Bunzel, M. (2012). Antioxidant activity-guided fractionation of blue wheat (UC66049 *Triticum aestivum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(3), 731–739.

### **Poděkování**

Tento příspěvek vznikol vďaka finančnej podpore a projektu „zo zdrojov Agentúry na podporu výskumu a vývoja Slovenskej republiky DS-FR-24-0021”.

### **Kontaktní adresa**

Ing. Soňa Gavurníková, PhD.

Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav rastlinnej výroby v Piešťanoch

Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany, Slovenská republika

+421 908 625 470, [sona.gavurnikova@nppc.sk](mailto:sona.gavurnikova@nppc.sk)

## Kvalita pšenice tvrdej (*Triticum durum* Desf.) v Slovenskej republike v priebehu rokov 2022 až 2025

Quality of durum wheat (*Triticum durum* Desf.)  
in the Slovak Republic during the years 2022 to 2025

Havrlentová M.<sup>1,2</sup>, Gavurníková S.<sup>1</sup>, Hendrichová J.<sup>1</sup>, Jágr M.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav rastlinnej výroby v Piešťanoch, Slovenská republika, <sup>2</sup>Fakulta prírodných vied, Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave, Slovenská republika, <sup>3</sup>Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i. – Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. Praha-Ruzyně, Česká republika

### Abstrakt

Pšenica tvrdá je v európskom poľnohospodárstve plodinou s vysokou technologickou a nutričnou hodnotou. Jej kvalitatívne atribúty sú podmienené agronomickými a genetickými faktormi a faktormi vonkajšieho prostredia. Úloha pšenice tvrdej pri produkcii potravín na báze obilnín bohatých na živiny je v súlade s cieľmi verejného zdravia a stravovania. V rokoch 2022 až 2025 bolo každý rok hodnotených od 45 do 94 vzoriek pšenice tvrdej z hľadiska základných kvalitatívnych parametrov ako objemová hmotnosť, obsah N-látok x 5,7, obsah mokrého lepku, číslo poklesu a sklovitosť. Z výsledkov môžeme konštatovať, že okrem roku 2022, vo zvyšných hodnotených rokoch pšenica tvrdá vykazovala v SR triedu kvality B a nižšiu, čo ovplyvnilo hlavne počasie.

**Kľúčová slova:** Pšenica tvrdá, *Triticum durum*, kvalita, bielkoviny, podmienky prostredia

### Abstract

Durum wheat is a crop with high technological and nutritional value in European agriculture. Agronomic, genetic, and environmental factors determine its quality attributes. Its role in producing nutrient-rich, cereal-based foods aligns with public health and dietary objectives. The role of durum wheat in producing nutrient-rich, cereal-based foods aligns with public health and nutrition goals. Between 2022 and 2025, 45 to 94 durum wheat samples were evaluated each year in terms of basic quality parameters such as bulk density, N-content x 5.7, wet gluten content, slump number, and glassiness. From the results, we can conclude that, except for 2022, in the remaining evaluated years, durum wheat showed quality class B and lower in the Slovak Republic, mainly influenced by weather.

**Keywords:** Durum wheat, *Triticum durum*, quality, proteins, environmental factors

### Úvod

Z hospodárskeho hľadiska má veľký význam okrem pšenice letnej aj pšenica tvrdá. Pšenica tvrdá (*Triticum turgidum* ssp. *Durum*, Desf.) zohráva významnú úlohu v európskej produkcii obilnín a taktiež v oblasti ľudskej výživy. Hoci predstavuje relatívne malý podiel na európskej produkcii pšenice (≈5,6 % produkcie pšenice v Európe), má strategický význam, najmä v agrosystémoch stredomorského typu. Opodstatnenie tvrdej pšenice v humánnej výžive je tiež veľké z hľadiska zdravej výživy a tvorby tzv. funkčných potravín.

Mletím tvrdej pšenice sa získava múka nazývaná semolina. Svojimi vlastnosťami je ideálna na výrobu cestovín a kuskusu. Kľúčovými vlastnosťami tvrdej pšenice sú jej tvrdosť, intenzívna žltá farba a oriešková chuť. V mnohých krajinách, ako je Taliansko, Francúzsko a Grécko, je povinné zo zákona vyrábať cestoviny výlučne zo 100 % krupice z tvrdej pšenice. Produkty vyrobené z tvrdej pšenice majú relatívne jednoduché výrobné procesy a preto kvalitatívne charakteristiky zrna majú zásadný vplyv na kvalitu výsledného potravinového produktu.

Tvrdá pšenica je cenená pre svoje tvrdé, jantárovo sfarbené zrná, vysoký obsah bielkovín a lepku, ktoré sú nevyhnutné pre cestoviny, kuskus a niektoré špeciálne druhy kysnutých produktov. Z agronomického hľadiska je kvalita ovplyvnená interakciami genotyp x prostredie. Štúdie v stredomorskej Európe ukazujú, že tepelný stres a nedostatok vody znižujú výnos aj kvalitu, pričom ovplyvňujú najmä koncentráciu bielkovín v zrne a reologickú funkčnosť lepku.

Vzhľadom k tomu, že literatúra zdôrazňuje agronomické, biotické a abiotické faktory ako kľúčové, ktoré ovplyvňujú výnos a kvalitu tvrdej pšenice, potreba cieleného riadenia rizík v produkčných systémoch je nevyhnutná.

Z nutričného hľadiska poskytujú celozrnné zrná tvrdej pšenice konzumentovi komplexné sacharidy, značné množstvo bielkovín (s dostatočným množstvom lepok tvoriacich podielov), potravinovú vlákninu, minerálne látky (napr. Fe, Zn, Mg) a biologicky aktívne zlúčeniny, ako sú karotenoidy, fenoly a tokoly. Technologická kvalita zrna a krupice (hmotnosť, sklovitosť, žltý pigment, obsah lepok) priamo ovplyvňuje kvalitu konečného produktu a jeho prijateľnosť pre spotrebiteľa. Kritériá pre hodnotenie tvrdej pšenice sú definované v STN 46 1100-3: Potravinárske obilniny. Časť 3: Zrno pšenice tvrdej (*Triticum durum*) (2002). Podľa tejto normy za zrno tvrdej pšenice sa považuje zrno odrôd pšenice tvrdej (*Triticum durum* Desf.), ktoré pochádza z domácej produkcie, z registrovaných odrôd tvrdej pšenice zaradených do listiny povolených odrôd, pričom musí mať zodpovedajúcu kvalitu na výrobu cestovinárskej múky semoliny, alebo z dovozu, zodpovedajúce kvalitou pšenici tvrdej na výrobu cestovinárskej múky semoliny z domácej produkcie. Hlavné požiadavky na kvalitu zrna tvrdej pšenice sú uvedené v tabuľke 1. Podľa normy, zrno tvrdej pšenice má dve triedy kvality, triedu kvality A a triedu kvality B.

Tabuľka. 1: Hlavné požiadavky na kvalitu pšenice tvrdej podľa STN 46 1100-3.

Parameter	Trieda kvality	
	A	B
<b>vlhkosť v % hmot.</b>	14	14
<b>objemová hmotnosť v g/l najmenej</b>	800	780
<b>obsah dusíkatých látok (N x 5,70) v sušine, hmot. % najmenej</b>	13,0	11,5
<b>číslo poklesu v šrote zo 7 g, s najmenej</b>	250	220
<b>nečistoty spolu v hmot. % najviac</b>	5	12
<b>sklovitosť v % hmot. najmenej</b>	85	65
<b>odporúčaný znak kvality:</b>		
<b>obsah mokrého lepku v sušine (test G<sub>0</sub>) v hmot. % najmenej</b>	27	

Environmentálne faktory, ako je daždivé počasie počas zberu a nedostatočné hnojenie spolu s genetickými faktormi, negatívne ovplyvňujú obsah bielkovín v tvrdej pšenici a sklovitosť. Sklovitosť zrna je kvalitatívny parameter, ktorý je pri tvrdej pšenici veľmi dôležitý. Sklovité zrná sú priesvitné, zatiaľ čo nesklovité zrná pšenice sú nepriehľadné. A práve v sušených cestovinách pri nedostatočnej sklovitosti sú viditeľné biele škvrny, ktoré negatívne ovplyvňujú vzhľad produktu.

V Európe je produkcia tvrdej pšenice sústredená v krajinách ako Taliansko, Francúzsko a Grécko a čoraz viac sa rozširuje v krajinách strednej a východnej Európy. Európska únia je najväčším producentom a spotrebiteľom tvrdej pšenice na svete. Taliansko, Francúzsko, Španielsko a Grécko produkujú približne 80 % ročnej produkcie Únie. Slovenská republika je za týmito krajinami, pričom pestovateľské plochy pšenice tvrdej na Slovensku sa každoročne zvyšujú. Kým v roku 2011 osiata plocha tvrdej pšenice bola na úrovni cca 13 tis. ha, v roku 2016 to už bolo cca 40 tis. ha a v roku 2023 viac ako 64 tis. ha. Napriek dôležitosti a významu pšenice tvrdej v poľnohospodárstve a produkcii surovín pre humánnu výživu faktory prostredia ohrozujú jej pestovanie, výnosy a kvalitu. Medzi tieto faktory prostredia patrí napr. klimatická zmena. Taktiež modelové simulácie naznačujú potenciálne straty vhodnej pôdy do polovice storočia, pokiaľ nedôjde k adaptácii. Okrem toho literatúra uvádza pokles obsahu bielkovín a zmeny kvality zrna pšenice tvrdej v dôsledku intenzívnejšej produkcie, čo vyvoláva obavy v mlynárskom a spracovateľskom sektore.

## Materiál a metódy

V rámci ÚOP MPRV SR: „Monitoring kvalitatívnych parametrov pšenice letnej dopestovanej v Slovenskej republike“ na pracovisku Národné poľnohospodárskeho a potravinárskeho centra, Výskumného ústavu rastlinnej výroby v Piešťanoch boli zozbierané okrem pšenice letnej, aj vzorky pšenice tvrdej. Z úrody v roku 2023 bolo napr. zozbieraných 45 vzoriek pšenice tvrdej od pestovateľov predovšetkým z Nitrianskeho (17 vzoriek) a Trnavského (16 vzoriek) kraja, ale zastúpenie mali aj vzorky z Banskobystrického, Košického, Bratislavského a Prešovského kraja. V roku 2024 bolo analyzovaných 94 vzoriek s najvyšším zastúpením krajov Nitriansky (32 vzoriek) a Trnavský (24 vzoriek). V roku 2025 to bolo 80 vzoriek pšenice tvrdej, pričom opäť najväčšie zastúpenie mal kraj Nitriansky (35 vzoriek) a Trnavský (18 vzoriek). Z kvalitatívnych parametrov boli hodnotené: objemová hmotnosť, obsah N-látok x 5,7 (Dumasova metóda automatickým analyzátorom dusíka TruMac CNS, LECO Corporation, St. Joseph, Michigan, USA), obsah mokrého lepku, číslo poklesu a sklovitosť.

## Výsledky

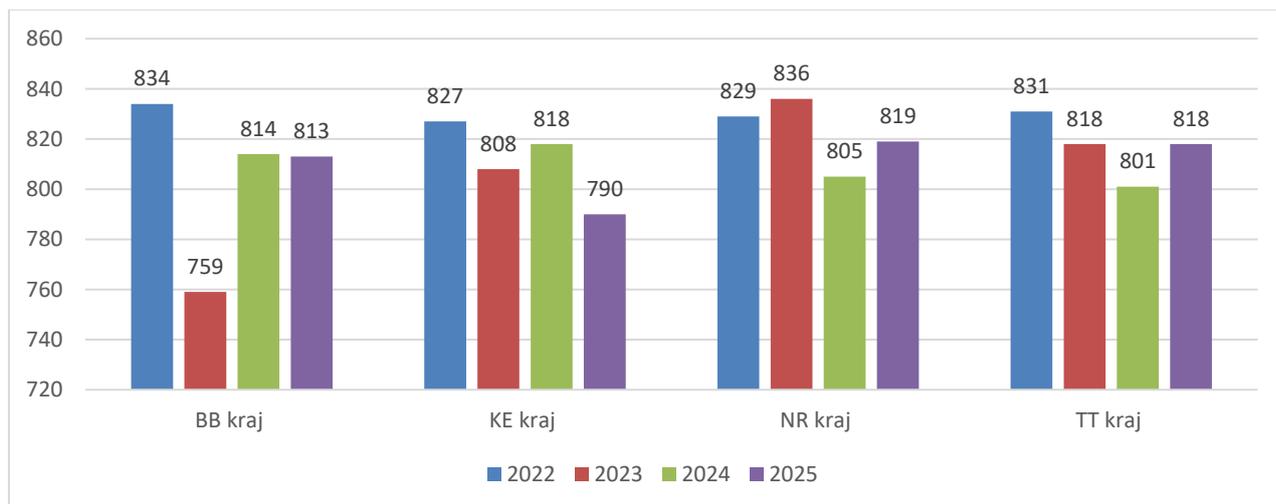
Priemerné hodnoty kvalitatívnych parametrov pšenice tvrdej pestovanej v SR v rokoch 2022 až 2025 sú znázornené v tabuľke 2. Na základe týchto priemerných hodnôt môžeme konštatovať, že kvalita pšenice tvrdej v roku 2022 zodpovedala A triede kvality a v roku 2023 B triede kvality. V roku 2024 zozbierané vzorky pšenice tvrdej tiež vykazovali B triedu kvality, ako aj v roku 2025.

Tvrdá pšenica na Slovensku sa najviac pestuje v Nitrianskom, Trnavskom, Košickom a Banskobystrickom kraji. Sporadicky sa vyskytuje jej pestovanie aj v Bratislavskom a Trenčianskom kraji.

Tabuľka 2. Minimálne a maximálne hodnoty kvalitatívnych parametrov pšenice tvrdej v Slovenskej republike v rokoch 2022 až 2025.

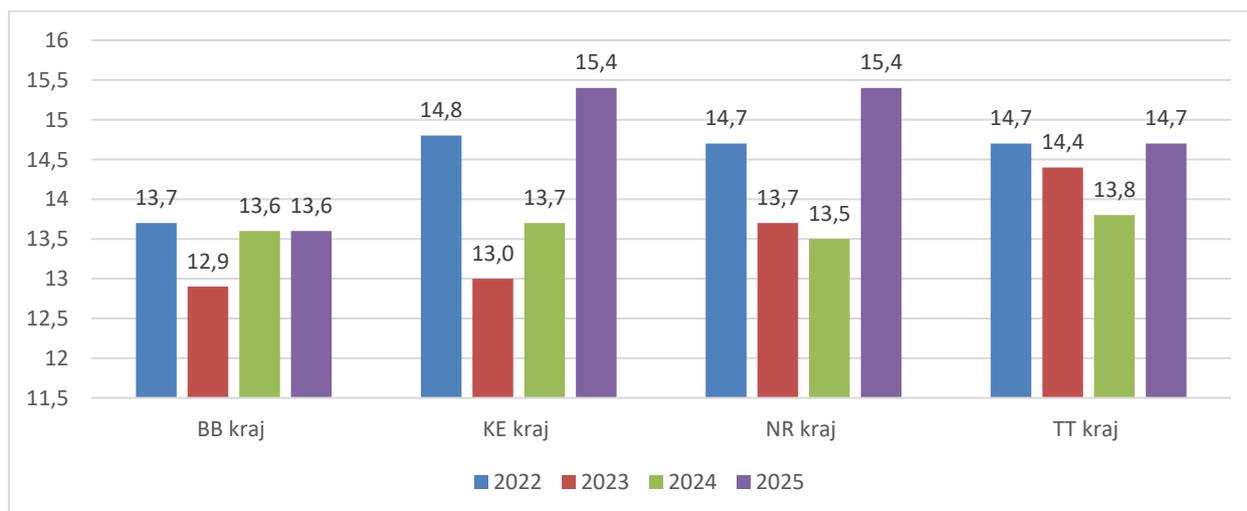
Rok	Ukazovatele	Objemová hmotnosť (g.l <sup>-1</sup> )	Obsah N-látok v sušine (%)	Mokrý lepok (%)	Číslo poklesu (s)	Sklovitosť (%)
2022	Minimum	753	11,2	15,0	318	74,1
	Maximum	862	19,3	45,0	656	98,4
2023	Minimum	679	9,8	17,9	62	6,5
	Maximum	897	16,4	37,1	489	96,5
2024	Minimum	705	10,8	2,8	262	2,3
	Maximum	851	15,6	31,8	464	98,2
2025	Minimum	736	11,8	13,9	65	0,1
	Maximum	873	19,9	44,3	477	93,6

Priemerne najnižšia objemová hmotnosť zrna bola v Banskobystrickom kraji v roku 2023 (759 g.l<sup>-1</sup>) nasledovaná druhou najnižšou hodnotou (790 g.l<sup>-1</sup>) v roku 2025 v Košickom kraji. V ostatných krajoch vo všetkých štyroch hodnotených rokoch objemová hmotnosť priemerne presiahla požadovanú hodnotu pre A triedu kvality, čo je min. 800 g.l<sup>-1</sup> (obrázok 1).



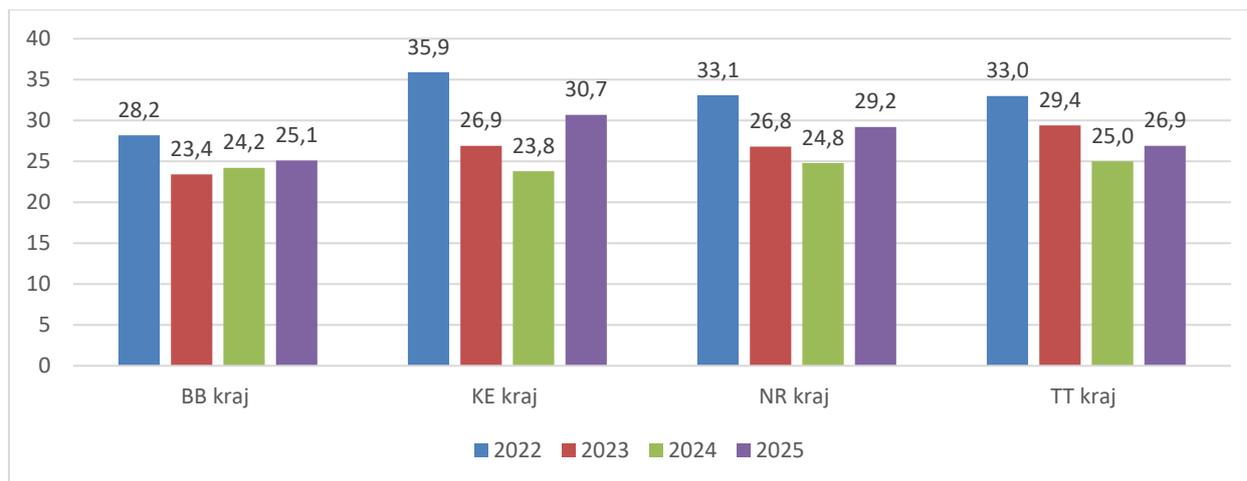
Obrázok 1. Priemerná objemová hmotnosť (g.l<sup>-1</sup>) vzoriek pšenice tvrdej pestovanej v krajoch SR (BB – Banskobystrický, KE – Košický, NR – Nitriansky, TT – Trnavský) v rokoch 2022 až 2025.

Priemerná hodnota N-látok bola v analyzovaných vzorkách takmer vo všetkých prípadoch min 13,0 %, čo je minimum pre A triedu kvality. Výnimkou bol rok 2023, kde sme vo vzorkách z Banskobystrického kraja pozorovali priemernú hodnotu N-látok 12,9 % (obrázok 2).



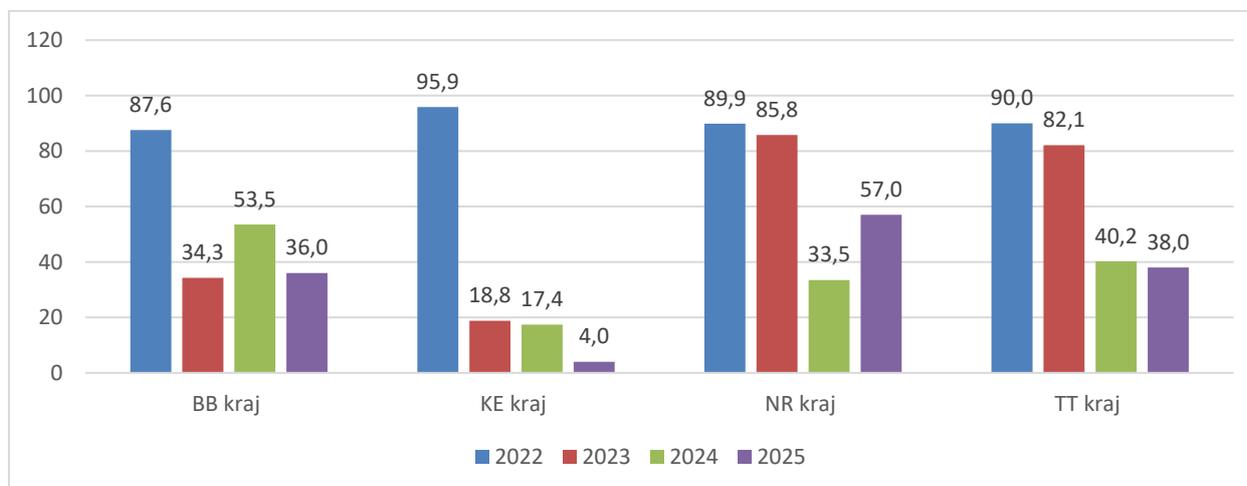
Obrázok 2. Priemerný obsah N-látok (%) vzoriek pšenice tvrdej pestovanej v krajoch SR (BB – Banskobystrický, KE – Košický, NR – Nitriansky, TT – Trnavský) v rokoch 2022 až 2025.

Minimálna hodnota obsahu mokrého lepku 27,0 % bola v hodnotených vzorkách počas štyroch rokov a v štyroch krajoch SR dosiahnutá iba v niektorých prípadoch (obrázok 3). Napr. v prípade Banskobystrického kraja to bolo iba v roku 2022. V prípade Košického a Nitrianskeho kraja to bolo v rokoch 2022 a 2025 a v prípade kraja Trnavského v rokoch 2022 a 2023. Konštatovať tiež môžeme, že iba v roku 2022 vo všetkých hodnotených krajoch dosahovali priemerné hodnoty mokrého lepku min. 27,0 %.



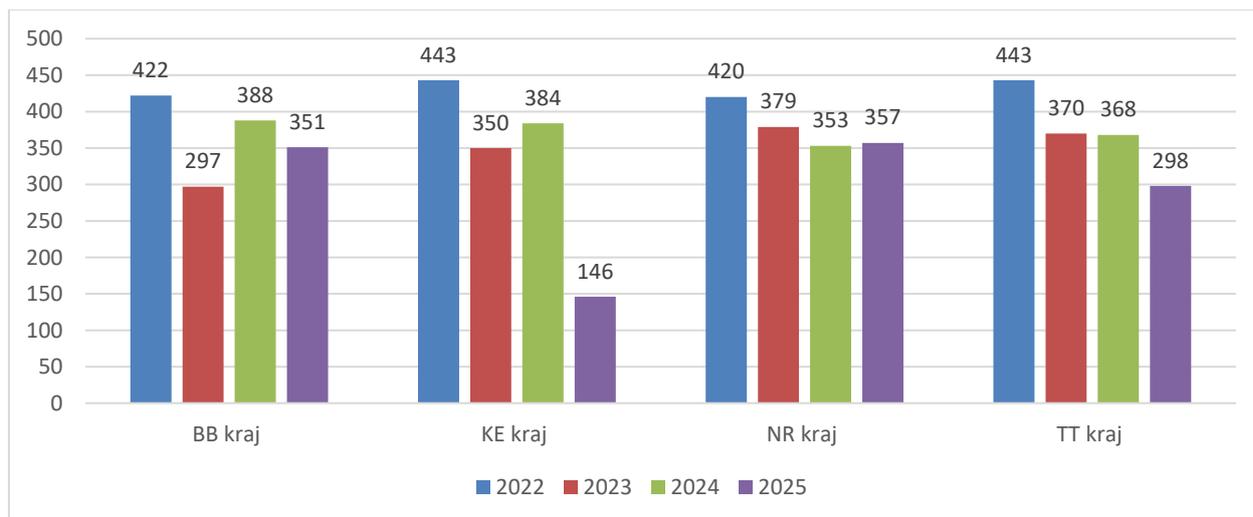
Obrázok 3. Priemerný obsah mokrého lepku v sušine (%) vzoriek pšenice tvrdej pestovanej v krajoch SR (BB – Banskobystrický, KE – Košický, NR – Nitriansky, TT – Trnavský) v rokoch 2022 až 2025.

Priemerne najnižšia sklovitosť pšenice tvrdej bola pozorovaná v Košickom kraji (v roku 2025 to boli 4 %, v roku 2024 – 17,4 % a v roku 2023 – 18,8 %) (obrázok 4). Nízke boli hodnoty tohto parametra v rokoch 2023 až 2025 aj v Banskobystrickom kraji a v rokoch 2024 a 2025 aj v kraji Trnavskom. Priemerne najvyššiu sklovitosť dosahovali pšenice pestované v Nitrianskom kraji. Z hľadiska hodnotených rokov môžeme konštatovať, že najvyššie hodnoty sklovitosti vykazovali analyzované vzorky v roku 2022, kedy bola priemerná hodnota vo všetkých krajoch presahujúca 85 %.



Obrázok 4. Priemerná sklovitosť (%) vzoriek pšenice tvrdej pestovanej v krajoch SR (BB – Banskobystrický, KE – Košický, NR – Nitriansky, TT – Trnavský) v rokoch 2022 až 2025.

Číslo poklesu sa priemerne v krajoch SR vo všetkých analyzovaných rokoch s výnimkou jedného kraja pohybovalo v hodnotách vyšších ako je 250 s, čo je minimálna hodnota pre zatriedenie pšenice tvrdej do A triedy kvality (obrázok 5). Výnimkou je rok 2025 a Košický kraj, kde bola priemerná hodnota tohto parametra 146 s.



Obrázok 4. Priemerné číslo poklesu (s) vzoriek pšenice tvrdej pestovanej v krajoch SR (BB – Banskobystrický, KE – Košický, NR – Nitriansky, TT – Trnavský) v rokoch 2022 až 2025.

## Diskuze

V porovnaní s rokom 2022 môžeme v takmer všetkých ďalších hodnotených rokoch (2023, 2024 a 2025) sledovať pokles hodnotených kvalitatívnych parametrov pšenice tvrdej. Pokles sledujeme v prípade objemovej hmotnosti, obsahu mokrého lepku v sušine, v priemernom percente sklovitosti a v čísle poklesu. Výnimkou je rok 2023 v Nitrianskom kraji, kde sledujeme vyššiu objemovú hmotnosť v porovnaní s rokom 2022 a výnimkou je aj priemerný obsah N-látok. V prípade tohto kvalitatívneho parametra pozorujeme v jednotlivých analyzovaných rokoch pomerne vyvážené hodnoty, 14,5 % v roku 2022, 13,5 % v roku 2023, 13,7 % v roku 2024 a 14,8 % v roku 2025.

Priemerne nižšia kvalita pšenice tvrdej v rokoch 2023 až 2025 bola dosiahnutá z dôvodu nižších hodnôt sklovitosti. V roku 2022 bol tento parameter v analyzovaných vzorkách 90,9 %, pričom od roku 2023 výrazne klesal. V roku 2023 to bolo 55,3 %, v roku 2024 – 36,2 % a v roku 2025 len 33,8 %. Pre dosiahnutie A triedy kvality to ani v jednom prípade v rámci rokov 2023 až 2025 nebolo požadovaných 85 %.

Vysvetlením pre získané výsledky je napr. vplyv počasia, pričom ročník 2023 sa vyznačoval daždivým počasím počas zberu predovšetkým v oblastiach stredného a východného Slovenska, čo malo negatívny vplyv pre dosiahnutie dobrej sklovitosti zrna. Pestovatelia tvrdých pšeníc v týchto lokalitách preto pravdepodobne nebudú vedieť dostatočne speňažiť svoju produkciu, nakoľko sklovitosť je veľmi limitujúcim kvalitatívnym parametrom pšenice tvrdej.

Odroda pšenice tvrdej, ktoré sa v SR najčastejšie pestujú, sú Lunadur, Sambadur, Diadur a Sanodur. Z ďalších odrôd sú to Julidur, Auradur, Toscadou, IS Belladur, IS Karmadur, Winterstern. V rokoch 2022 a 2023 sa odrody Lunadur a Diadur vyznačovali priemerne A triedou kvality a odroda Diadur mala v priemere najvyššie hodnoty sklovitosti a v roku 2023 aj najvyšší obsah N-látok a mokrého lepku. Odroda Sanodur dosahovala v rokoch 2022 a 2023 priemerne najvyššie hodnoty objemovej hmotnosti, avšak mala nízke hodnoty mokrého lepku (20,1 % a 23 %). Odroda Sambadur v roku 2023 priemerne nedosiahla A triedu kvality pre nízku sklovitosť zrna. V tomto parametri priemerne nevyhovela dokonca ani B triede kvality, sklovitosť zrna mala priemerne na úrovni 63,4 %. Odroda Sambadur bola pestovaná aj na lokalite východného Slovenska, kde mala hodnotu sklovitosti iba 7,1 %, čo samozrejme výrazne ovplyvňuje a znižuje celkovú priemernú hodnotu sklovitosti. Avšak napr. odroda Lunadur na lokalite východného Slovenska mala hodnotu sklovitosti vyššiu, 30,6 %, čo však taktiež nie je dostatočné pre ďalšie využitie zrna pre produkciu semoliny.

## Záver

Zhodnotením kvalitatívnych parametrov pšenice tvrdej, ktorá bola pestovaná v rokoch 2022 až 2025 na plochách SR môžeme konštatovať, že v porovnaní s rokom 2022 sa okrem obsahu N-látok znížili výrazne všetky analyzované kvalitatívne parametre a v mnohých prípadoch nedosahovali A triedu kvality. Dôvodom zníženej kvality pšenice tvrdej v rokoch 2023 až 2025 je predovšetkým nižšia sklovitosť zrna a nižší obsah mokrého lepku. V rokoch 2022 a 2023 zodpovedá najvyššej A triede kvality iba 27 % analyzovaných vzoriek. V roku 2023 však celkovo 76 % vzoriek zodpovedá požiadavkám normy STN minimálne pre B triedu kvality, čo je ale o 10 % menej ako v predchádzajúcom roku 2022. Dôvodom pre pokles kvality pšenice tvrdej je hlavne počasie, pričom napr. rok 2023 sa vyznačoval výskytom dažďov počas zberu predovšetkým v oblastiach stredného a východného Slovenska, čo malo negatívny vplyv pre dosiahnutie dobrej sklovitosti zrna. Najčastejšie pestované odrody na Slovensku sú Lunadur, Sambadur a Diadur a Sanodur, pričom ponuka odrôd pšenice tvrdej pre pestovateľov sa postupne rozširuje aj vďaka prebiehajúcim registráciám nových odrôd šľachtiteľských firiem, ktoré reflektujú zvyšujúci sa záujem zo strany pestovateľov. Pozitívny je aj trend rozširujúcich sa plôch pšenice tvrdej v SR.

## Literatúra

- De Santis, M.A., Soccio, M., Laus, M.N., Flagella, Z. 2021. Influence of Drought and Salt Stress on Durum Wheat Grain Quality and Composition: A Review. *Plants (Basel)*: 10(12): 2599. doi: 10.3390/plants10122599
- Dvořáček, V., Jelínek, M., Jágr, M., Hermuth, J. 2025. The benefits of experimental breeding research genotypes for the genetic resources of spring durum wheat. *Genetic Resources and Crop Evolution*: 72: 429–443. <https://doi.org/10.1007/s10722-024-01946-z>
- European Commission. 2021. [https://knowledge4policy.ec.europa.eu/publication/global-loss-climatically-suitable-areas-durum-wheat-growth-future-0\\_en?utm\\_source=chatgpt.com](https://knowledge4policy.ec.europa.eu/publication/global-loss-climatically-suitable-areas-durum-wheat-growth-future-0_en?utm_source=chatgpt.com)
- Houssemeddine, S.M., Di Mola, I., Ottaiano, L., Cozzolino, E., De Vita, P., Mori, M. 2024. Assessing temporal variability in durum wheat performance and stability through multi-trait mean performance selection in Mediterranean climate. *Frontiers in Agronomy*: 6. <https://doi.org/10.3389/fagro.2024.1466040>
- Chab, L., Biagini, L., Severini, S. 2024. Towards an Effective Risk Management in Durum Wheat Production: A Systematic Review and Bibliometric Analysis of Factors Influencing Quality and Yield. *Agriculture*: 14(12): 2266. <https://doi.org/10.3390/agriculture14122266>
- Orlando, F., Mancini, M., Motha, R., Qu, J.J., Orlandini, S., Dalla Marta, A. 2017. Modelling durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. durum) grain protein concentration. *The Journal of Agricultural Science*: 155(6):930-938. doi:10.1017/S0021859616001003
- Tavena, K. Durum wheat grain quality under organic and conventional farming conditions. 2025. *Agricultural Science and Technology*: 17(1): 32-39. doi: 10.15547/ast.2025.01.004

## Poděkování

Tento príspevok vznikol vďaka finančnej podpore Úlohy odbornej pomoci MPRV SR: „Monitoring kvalitatívnych parametrov pšenice letnej dopestovanej v Slovenskej republike“ a projektu „ zo zdrojov Agentúry na podporu výskumu a vývoja Slovenskej republiky.

## Kontaktní adresa

Ing. Soňa Gavurníková, PhD.

Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav rastlinnej výroby v Piešťanoch

Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany, Slovenská republika

+421 33 79 47 119, [sona.gavurnikova@nppc.sk](mailto:sona.gavurnikova@nppc.sk)



## Vliv biologických přípravků při různých teplotách fermentace vojtěšky

### The effect of biological preparations at different temperatures of alfalfa fermentation

*Homolka P., Jančík F., Kubelková P., Loučka R.*

*Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i., Uhřetěves*

#### Abstrakt

Cílem studie bylo vyhodnotit vliv biologického silážního inokulantu s hydrolytickými enzymy a bez nich na teplotní profil fermentace vojtěšky při teplotách 20 °C a 30 °C v porovnání s kontrolou a kyselinou mravenčí. Experiment byl navržen jako faktoriální pokus 4×2 s kontinuálním monitoringem teploty po 51 dní pomocí čidel DS1922L. Všechny testované přípravky vykazovaly statisticky významné rozdíly oproti kontrole ( $p < 0,05$ ), kromě kyseliny mravenčí při 30 °C. Největší efekt byl u inokulantu s enzymy při 30 °C (+0,76°C). Fermentační ztráty sušiny se pohybovaly od 0,54 % (kyselina mravenčí, 30 °C) do 3,42 % (kontrola, 20 °C). Inokulant s enzymy dosáhl nejvyššího poměru kyseliny mléčné k těkavým mastným kyselinám při 30 °C (3,46) i 20 °C (3,01). Kontinuální monitoring teploty se prokázal jako vhodná metoda pro hodnocení účinnosti silážních přípravků.

**Klíčová slova:** vojtěška, teplotní profil, fermentační ztráty, silážní přípravky, bakterie mléčného kvašení

#### Abstract

The objective was to evaluate the effect of biological silage inoculant with and without hydrolytic enzymes on temperature profile of alfalfa fermentation at 20°C and 30°C compared to control and formic acid. A 4×2 factorial experiment was designed with continuous temperature monitoring for 51 days using DS1922L sensors. All tested additives showed statistically significant differences compared to control ( $p < 0.05$ ), except formic acid at 30°C. The largest effect was recorded for enzyme inoculant at 30°C (+0.76°C). Dry matter fermentation losses ranged from 0.54% (formic acid, 30°C) to 3.42% (control, 20°C). Enzyme inoculant achieved highest lactic acid to volatile fatty acids ratio at 30°C (3.46) and 20°C (3.01). Continuous temperature monitoring proved suitable for evaluating silage additive effectiveness.

**Keywords:** alfalfa, temperature profile, fermentation losses, silage additives, lactic acid bacteria

#### Úvod

Silážování vojtěšky (*Medicago sativa* L.) představuje důležitou technologii konzervace krmiva s vysokou nutriční hodnotou. Kvalita siláže je významně ovlivněna průběhem fermentačního procesu, který lze monitorovat pomocí teplotních změn během skladování (Chen et al., 2019). Biologické silážní přípravky obsahující selektované bakterie mléčného kvašení a hydrolytické enzymy jsou používány pro optimalizaci fermentačních procesů.

Teplota během fermentace je klíčovým ukazatelem metabolické aktivity mikroorganismů a může sloužit jako indikátor účinnosti silážních přípravků. Teplotní profil fermentace přímo ovlivňuje aktivitu různých skupin mikroorganismů, což má zásadní dopad na fermentační ztráty sušiny prostřednictvím odlišných metabolických drah (Goeser et al., 2015).

Teplota skladování představuje kritický faktor ovlivňující jak fermentační dynamiku, tak dlouhodobou stabilitu siláže, přičemž účinky se významně liší v závislosti na typu použitého bakteriálního inokulantu (Lau et al., 2025; Cruz et al., 2025). Výzkumy ukazují, že optimální teploty pro silážování se pohybují mezi 15-30 °C, kdy probíhá úspěšná fermentace s vysokou abundancí prospěšných bakterií mléčného kvašení (Zhang et al., 2018).

Dosavadní výzkum se zaměřoval především na chemické parametry kvality siláže, zatímco kontinuální monitoring teplotních profilů během fermentace nebyl dostatečně prozkoumán. Cílem této studie bylo vyhodnotit vliv biologického silážního přípravku s hydrolytickými enzymy a kontrolního přípravku bez nich na teplotní profil fermentace vojtěšky při dvou různých teplotách prostředí.

## Materiál a metody

Pokus byl proveden s řezankou vojtěšky (*Medicago sativa* L.) na pracovišti Výzkumného ústavu živočišné výroby, v.v.i. v Uhřetěvsi. Základní chemické složení vojtěšky bylo: sušina 359,5 g/kg, N-látky 191,9 g/kg sušiny, ADF 317,2 g/kg sušiny, NDF 399 g/kg sušiny.

Experiment byl navržen jako faktoriální pokus 4×2 s následujícími variantami: A) Kontrola - bez přípravku, B) Formasil Alfa s enzymy (1 g/t) obsahující *Pediococcus pentosaceus* a enzymy, C) Kontrolní inokulant bez enzymů (1 g/t), D) Kyselina mravenčí (4 l/t). Teploty prostředí byly 20 °C a 30 °C v klimatizovaných místnostech. Každá kombinace byla provedena ve dvou replikacích, celkem 16 vzorků v množství cca 500 g řezanky ve vakuových sáčcích.

Do každého vzorku bylo vloženo bateriové teplotní čidlo Thermochron DS1922L s nastaveným intervalem měření 3 hodiny. Měření probíhalo kontinuálně po dobu 51 dní (13. května až 2. července 2025). Po skončení fermentační části byla měřena aerobní stabilita po dobu 7 dní. Fermentační ztráty sušiny byly vypočítány podle standardního vzorce. U všech variant byly stanoveny hodnoty pH, obsah kyseliny mléčné a těkavých mastných kyselin.

Data byla analyzována pomocí software Statistica v. 13. Pro porovnání průměrných teplot byl použit Welch's t-test. Velikost efektu byla kvantifikována pomocí Cohen's d koeficientu. Hladina statistické významnosti byla stanovena na  $\alpha = 0,05$ .

## Výsledky

Všechny siláže s testovanými přípravky vykazovaly statisticky významné rozdíly oproti kontrole bez přípravku ( $p < 0,05$ ), s výjimkou kyseliny mravenčí při 30 °C ( $p > 0,05$ ). Průměrné teploty vzorků se pohybovaly od 20,46 °C (kontrola při 20 °C) do 25,01 °C (inokulant s enzymy při 30 °C). Největší efekt byl zaznamenán u inokulantu s enzymy při 30 °C (+0,76 °C oproti kontrole, Cohen's d = 0,240).

**Tabulka 1. Průměrné teploty a fermentační parametry testovaných variant**

Varianta	Teplota prostředí	Teplota vzorku (°C)	Ztráty (% sušiny)	Poměr KM/TMK
Kontrola	20 °C	20,46	3,42 ± 0,15	2,75 ± 0,01
Kontrola	30 °C	24,25	1,98 ± 0,12	2,73 ± 0,01
Formasil s enzymy	20 °C	20,63	1,24 ± 0,08	3,01 ± 0,01
Formasil s enzymy	30 °C	25,01	1,81 ± 0,09	3,46 ± 0,01
Kontrolní inokulant	20 °C	20,59	2,98 ± 0,13	2,54 ± 0,00
Kontrolní inokulant	30 °C	24,88	1,32 ± 0,07	2,22 ± 0,00
Kyselina mravenčí	20 °C	20,72	0,57 ± 0,05	2,71 ± 0,00
Kyselina mravenčí	30 °C	24,34	0,54 ± 0,04	2,52 ± 0,00

*KM/TMK = poměr kyseliny mléčné k těkavým mastným kyselinám*

Fermentační ztráty sušiny se pohybovaly od 0,54% (kyselina mravenčí, 30 °C) do 3,42% (kontrola, 20 °C) (viz Tabulka 1). Byla zjištěna významná interakce mezi typem konzervačního prostředku a teplotním režimem ( $P < 0,001$ ). Kyselina mravenčí vykazovala nejstabilnější profil ztrát napříč teplotními režimy. Zajímavé je porovnání obou inokulantů - Formasil s enzymy měl paradoxně vyšší ztráty při vyšší teplotě (1,24% → 1,81%), zatímco kontrolní inokulant bez enzymů vykazoval opačný trend (2,98% → 1,32%).

Inokulant s enzymy dosáhl nejvyššího poměru kyseliny mléčné k těkavým mastným kyselinám při 30 °C (3,46) i při 20 °C (3,01), což indikuje dominanci žádoucí homofermentativní dráhy. Všechny vzorky vykazovaly vysoké korelace s teplotou prostředí ( $r = 0,794-0,965$ ).

## Diskuze

Výsledky studie potvrdily biologickou aktivitu všech testovaných silážních přípravků prostřednictvím měřitelných změn v teplotních profilech fermentace. Statisticky významné rozdíly oproti kontrole potvrzují vliv přípravků na metabolickou aktivitu mikroorganismů.

Pozorované rozdíly ve fermentačních ztrátách přímo korespondují s teplotními profiley jednotlivých variant. Při teplotách kolem 30 °C dochází k aktivaci heterofermentativních bakterií a nežádoucích mikroorganismů, které produkují více CO<sub>2</sub> a etanolu podle stechiometrie heterofermentativní dráhy, což vede k vyšším ztrátám sušiny.

Nečekané zvýšení ztrát u inokulantu s enzymy při 30 °C pravděpodobně souvisí s teplotní senzitivitou enzymatických systémů. Enzymy mohou při zvýšených teplotách katalyzovat rozklad polysacharidů rychleji, než dokáže *Pediococcus pentosaceus* využít uvolněné cukry pro homofermentativní dráhu.

Kyselina mravenčí vykazovala nejstabilnější chování při obou teplotních režimech, což koresponduje s jejím mechanismem okamžitého snížení pH pod kritickou hranici 4,0. Absence statisticky významného rozdílu mezi variantami s enzymy a bez nich naznačuje, že hydrolytické enzymy nemají výrazný vliv na teplotní profil fermentace.

## Závěr

Studie prokázala, že kontinuální monitoring teploty je vhodnou metodou pro hodnocení účinnosti silážních přípravků a odhalení biochemických mechanismů jejich působení. Všechny testované biologické přípravky měly měřitelný vliv na teplotní profil fermentace vojtěšky, přičemž vyšší teplota prostředí (30 °C) vedla k výraznějším rozdílům mezi přípravky.

Inokulant s enzymy vykazoval nejlepší poměr kyseliny mléčné k těkavým mastným kyselinám, zejména při 30 °C, což indikuje dominanci žádoucí homofermentativní dráhy. Kyselina mravenčí se ukázala jako nejstabilnější konzervant z hlediska jak teplotní kontroly, tak minimalizace fermentačních ztrát.

Pro praktické zemědělství je důležité, že volba silážního přípravku musí zohledňovat očekávané teplotní podmínky. Enzymatické přípravky jsou optimální při standardních teplotách, zatímco pro letní podmínky se jeví jako nejbezpečnější volba kyselina mravenčí.

## Literatura

- Chen, L., Li, J., Dong, Z., Shao, T. (2019): Effects of lactic acid bacteria inoculants and fibrolytic enzymes on the fermentation quality, in vitro degradability, ruminal variables and microbial communities of high-moisture alfalfa silage. *Grassland Science*, 65(4), 216-225.
- Cruz, G. F. L., Pupo, M. R., Diepersloot, E. C., Ribeiro, K. G., Daniel, J. L. P., Ferraretto, L. F. (2025): Effect of microbial inoculation, storage temperature and storage length on fermentation profile of whole-plant corn silage. In: *Proceedings of the XX International Silage Conference*, Gainesville, FL, USA.
- Goesser, J. P., Heuer, C. R., Crump, P. M. (2015): Forage fermentation product measures are related to dry matter loss through meta-analysis. *The Professional Animal Scientist*, 31(2), 137-145.
- Lau, N., Buchebner-Jance, M., Schein, H., Weidenholzer, E., Witt, J., Kramer, E. (2025): Effect of *Lactocaseibacillus huelsenbergensis* DSM 115424 on fermentation of grass and corn silage at different storage temperatures. In: *Proceedings of the XX International Silage Conference*, Gainesville, FL, USA.
- Zhang, Q., Yu, Z., Wang, X., Tian, J. (2018): Effects of inoculants and environmental temperature on fermentation quality and bacterial diversity of alfalfa silage. *Animal Science Journal*, 89(8), 1085-1092.

**Poděkování**

Autoři děkují Výzkumnému ústavu živočišné výroby, v.v.i. za poskytnutí experimentálního zázemí a technické podpory a firmě VVS Verměřovice s.r.o. za poskytnutí přípravků. Výzkum byl podpořen grantem MZE-RO0723 (V-04/250 300).

**Kontaktní adresa**

Doc. Ing. Petr Homolka, CSc., Ph.D.

Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i.

Přátelství 815, 104 00 Praha-Uhřetěves

Tel.: +420 731 650 836, e-mail: [loucka.radko@vuzv.cz](mailto:loucka.radko@vuzv.cz)

## Aktuální poznatky z hodnocení kvality zrna pšenice tvrdé pěstované v ČR a testování jejího využití pro produkci celozrnných těstovin

Actual knowledge from the evaluation of durum wheat grain grown in CZ and testing of its utilisation for production of wholegrain pasta

Jelínek M., Jágr M., Dvořáček V.

Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i.

### Abstrakt

Pšenice tvrdá je suchomilný druh pšenice s původem ve Středomoří. V současnosti dochází k introdukci této plodiny do klimatických podmínek Střední Evropy, v ČR je však její pěstování zatím velmi limitované. Proto také není pro případné pěstitele dostatek relevantních dat. Na základě toho byly v pokusné stanici Čáslav v letech 2023 a 2024 pěstovány čtyři ozimé odrůdy pšenice tvrdé: Diadur, Karmadur, Belladur a Fortidur se třemi úrovněmi ošetření: intenzivní, základní a tzv. low-input. Ukázalo se, že obsah mokrého lepku a gluten indexu (GI) byly parametry nejvíce závislé na daném ročníku. Použití Intenzivního ošetření vedlo k nejvyššímu výnosu a objemové hmotnosti, zároveň byl ale snížen obsah luteinu. Zásadní vlastnostmi pro produkci těstovin, kterými se lišily jednotlivé odrůdy, byly výnos, GI a obsah žlutého pigmentu. V rámci pilotního experimentu byly ze všech čtyř odrůd připraveny čerstvé těstoviny. Můžeme tedy shrnout, že pšenice tvrdá je v současné době perspektivní plodinou pro pěstování v ČR.

**Klíčová slova:** pšenice tvrdá, kvalita zrna, agrotechnika, výroba těstovin

### Abstract

Durum wheat is xerophytic wheat species with origin in the Mediterranean. Nowadays, this crop is introduced into the climatic conditions of the Central Europe. However, its growing is currently very limited. Therefore, there is not sufficient relevant data for potential growers. Thus, four winter durum wheat varieties: Diadur, Karmadur, Belladur and Foridur with three levels of agricultural treatment: intensive (IT), basic (BT) and low-input (LI) were grown in experimental station in Čáslav in years 2023 and 2024. It was shown that contain of wet gluten and gluten index (GI) were the parameters mostly dependent on the year. Next, using of the Intensive treatment led to the highest yield and test weight, at the same time a contain of lutein decreased. The key properties needed to produce pasta, that differed among single varieties, were yield, GI and a contain of yellow pigment. Within a pilot study, fresh pasta was prepared from all four tested varieties. We can conclude that durum wheat represents perspective crop for growing in the CZ.

**Keywords:** durum wheat, grain quality, agrotechnology, production of pasta

### Úvod

Současné evropské zemědělství, samozřejmě včetně toho českého, je nuceno reagovat na globální klimatické změny. K nejvýznamnějším změnám klimatu patří oteplování a zároveň, při stejném objemu srážek, i rozšiřování suchých oblastí. V ČR se jedná zejména o jižní Moravu, Polabí, Lounsko a Rakovnicko. Řešením může být vyžití perspektivních minoritních druhů zemědělských plodin, jako je čirok, nebo pšenice tvrdá, které jsou lépe přizpůsobené pěstování v suchých a teplých oblastech.

Pšenice tvrdá (*Triticum durum*, syn. *Triticum turgidum* subsp. *durum*) je blízké příbuzná pšenici seté. Původ této plodiny se předpokládá na Blízkém východě, odkud se přibližně před 10 tis. rozšířila nejprve do Středomoří, a poté i do dalších částí světa. S pš. setou není pš. tvrdá volně křížitelná, protože její genom obsahující 28 chromozomů je tetraploidní oproti hexaploidnímu genomu pš. seté (Blanco 2024). Krupice z pšenice tvrdé se nazývá semolina a jejími klíčovými znaky jsou jantarová barva, optimální granulace a vysoký podíl pevného lepku. Primární využití semoliny je v přípravě těstovin, ale využívá se také pro přípravu speciálních chlebů, placek nebo kuskusu (Božek et al. 2022). Výnosové parametry zrna pš. tvrdé bývají nižší než u pš.

seté, naopak hodnoty HTZ a obsahu zásobních bílkovin jsou obvykle vyšší než u pšenice seté. Zrno pš. tvrdé obvykle obsahuje méně celiakálně reaktivního lepku, zdraví prospěšné karotenoidy, jako je lutein, polyfenoly a další látky s potenciálně vysokou antioxidační aktivitou (Menga et al. 2023, Digesú et al 2009, Wivart et al. 2024).

Mezi problémy spojené s pěstováním pš. tvrdé patří riziko vyzimování, citlivost na přemokření pozemku v průběhu přezimování a vyšší náchylnost k fuzariózám. Proto v současné době probíhají intenzivní snahy o vyšlechtění odrůd rezistentních k těmto rizikovým faktorům. Vliv na zvýšení výnosů může mít dále časnější setí nebo intenzivnější aplikace fungicidů a herbicidů (Beres et al. 2020, Blanco 2024).

Pšenice tvrdá se dnes řadí mezi deset nejvýznamnějších světových obilovin, přičemž její roční produkce dosahuje přibližně 35 milionů tun. To představuje přibližně 5 % veškeré celosvětové produkce pšenice. Celosvětově se pš. tvrdá v současnosti pěstuje na 13 až 14 mil. hektarech, přičemž Evropská unie je v největším producentem s více než 8,0 miliony tun zrna. V rámci EU je nejvíce zrna produkováno v Itálii (kolem 5 mil. tun) mezi významné producenty dále patří Turecko (kolem 3,5 mil. tun), USA, Alžírsko, Maroko, Francie, Mexiko a zejména Kanada, která patří mezi nejvýznamnější světové vývozce (Beres et al. 2020, Blanco 2024).

Středoevropská oblast pěstování pš. tvrdé zahrnuje především maďarské, rakouské či německé pěstební oblasti. Nicméně zájem o pěstování této plodiny se objevuje v posledních letech i v Polsku (Bozek et al. 2022, Wyzińska, M. & Rózewicz 2021). Významný nárůst produkčních ploch zaznamenalo v posledních letech Slovensko, a to od několika tisíců hektarů v roce 2007 k téměř 90 tis. ha osetých v roce 2025 (Babincová 2025). Tento nárůst zvláště vynikne při srovnání ploch osetých na Slovensku pšenicí setou, což bylo v roce 2025 290 000 ha. To znamená, že podíl pšenice tvrdé na celkové osevní ploše tvořil kolem 23 % (Babincová 2025). Přestože klimatické podmínky v úrodných a teplých oblastech v ČR nejsou výrazně odlišné od podobných oblastí v okolních státech, pš. tvrdá se u nás zatím plošně nepěstuje. Čeští pěstitelé se totiž pravděpodobně obávají nízkých zimních teplot s možností vyzimování ozimých odrůd, nebo vyšší frekvenci výskytu deštivého počasí, především v období finálního dozrávání zrna, které může významně snížit výnos, a technologické i hygienické kvality zrna. Nezájem českých farmářů může také spočívat v nízké informovanosti, absenci účinné propagace této plodiny, v případné negativní zkušenosti nebo nízkém zájmu mlynářů. Lokální pěstování pš. tvrdé se ale na vybraných lokalitách ČR objevuje (Kladno, Strakonice 2018, Haná a jižní Čechy mezi roky 2020 a 2024, jižní Morava 2024).

Výraznou změnu stávající situace by mohlo představovat zahájení provozu nového tuzemského mlýna Faulhammer na Litomyšlsku, který je specializován pouze na výrobu semoliny. Tento mlýn je zároveň velmi významným zpracovatelem zrna pš. tvrdé pěstované v ČR. Semolina z tuzemského zrna by mohla být s výhodou využita zejména na produkci těstovin, pouze u menšího podílu se dá předpokládat specifická pekárenská produkce.

V současné době produkuje a rozvází těstoviny v Česku kolem 30 firem (Europasta SE, rodinné firmy), přičemž velkovýrobci sušených těstovin používají obvykle směs 50 % pš. seté a 50 % pš. tvrdé. Původ využívané semoliny u zmíněných firem je ovšem zatím zahraniční, což by se mohlo zásadně změnit po nárůstu pěstebních ploch v ČR a po otevření mlýna Faulhammer, který bude zrno pš. tvrdé vykupovat (viz výše).

Hlavním cílem naší práce bylo vypěstovat na maloparcelkových pokusech v podmínkách středních Čech čtyři zimní komerční odrůdy pšenice tvrdé při použití tradičního intenzivního, základního a tzv. low-input ošetření v ročnicích 2023 a 2024. Na sklizeném zrnu jsme poté určili základní technologické a nutriční parametry s důrazem na využití testovaných odrůd pro produkci těstovin. Nakonec bylo v rámci pilotního pokusu připraveno 8 druhů čerstvých těstovin z celozrnné mouky z pš. tvrdé sklizené v roce 2024.

## **Materiál a Metody**

Na lokalitě pokusné stanice Čáslav byly na pokusných parcelách s rozsahem 10 m<sup>2</sup> pěstovány čtyři ozimé odrůdy pšenice tvrdé (*Triticum turgidum* L. *subsp.* *Durum*). Pokusy byly provedeny ve standardních čtyřech opakováních ve dvou ročnících 2023 a 2024. Předplodinou byla v obou letech řepka olejka.

Testované odrůdy byly ošetřeny ve 3 úrovních: základní, intenzivní a tzv. low-input. Základní ošetření (ZO) zahrnovalo jarní hnojení NPK 15:15:15 v dávce 250 kg/ha a následné produkční hnojení ledkem amonným s vápencem (LAV 27) v dávce 30 kg N/ha na začátku května. Opatření na ochranu rostlin zahrnovala aplikaci přípravků Biathlon a Axial Plus na začátku května spolu s insekticidním přípravkem Rafan Max aplikovaným na začátku června.

Intenzivní ošetření (IO) zachovalo srovnatelnou dávku dusíku, fosforu a draslíku jako základní ošetření (ZO). Produkční hnojení však bylo oproti původní dávce zvýšeno na dvojnásobek, a to s využitím hnojiva LAV 27 v dávce 60 kg N/ha. Dále byla zvýšena opatření na ochranu rostlin, včetně aplikace herbicidních přípravků Biathlon a Axial na začátku května, následovaná aplikací morforegulátoru Moddus. Dále byl koncem května aplikován insekticid Rafan Max a v červnu fungicid Kantik.

U low-input ošetření (LI) byla rovněž aplikována jarní základní dávka NPK ve stejné úrovni jako u ZO, ale bez dalšího produkčního hnojení. Ochrana plodin byla zajištěna aplikací herbicidních přípravků Biathlon a Axial Plus na začátku května. Dále byl na konci května aplikován přírodní biostimulátor ExelGrow (ADAMA s.r.o.) v dávce 0,6 ml v 0,56 l vody na pokusnou parcelu.

Po sklizni byl vyhodnocen výnos zrna, objemová hmotnost (OH) a hmotnost tisíce zrn (HTZ). Zrno bylo dále zpracováno na celozrnný šrot pomocí laboratorního mlýnku Perten 3100 se sítím 0,8 mm pro stanovení pádového čísla, mokrého lepku, gluten indexu a obsahu N-látek. Pro laboratorní stanovení tvrdosti zrna byl využit lab. mlýnek Perten 3303, pro stanovení Zelenyho sedimentu (ZS) laboratorní mlýn Brabender, pro stanovení obsahu celkového škrobu a žlutého pigmentu (YP) mlýn Cyklotec 1093 a pro stanovení obsahů deoxyvalenolu (DON), luteinu a celkových polyfenolů mlýnek IKA A10 Universal.

Z technologických, nutričních a hygienických požadavků byl určen obsah hrubých bílkovin dle Kjeldahla - EN ISO 20483, tvrdost zrna (particle size index – PSI) dle metody AACC 55-30, obsah mokrého lepku a gluten index laboratorně dle metody ICC Standard N°155 a obsah celkových karotenoidů s využitím upraveného postupu stanovení TYP (total YP) dle upravené metody Digesù et al. (2009). Stanovení obsahu celkových polyfenolů, luteinu a deoxyvalenolu je shrnuto ve Dvořáček et al., 2024a. Obsah škrobu byl změřen podle standardního protokolu na polarimetru Anton Paar PMC 200. Hodnoty Zelenyho sedimentu a pádového čísla byly určeny v souladu s normou ČSN ISO 3093 a ČSN ISO 5529. Těstoviny typu Cassarecce (krátké těstoviny se zahnutými okraji), které obsahovaly kolem 80 % celozrnné mouky z pš. tvrdé, byly vyrobeny standardním postupem firmou Mezi řádky s.r.o. Po dokončení výroby byly jednotlivé vzorky hodnoceny z hlediska textury a konzistence těstovin, barvy, vůně a vizuálního vzhledu produktu.

Pro základní statistické analýzy byl použit Software Statistica 7.1 CZ (průměr, standardní směrodatná odchylka – St. Dev., variační koeficient), pro statistickou analýzu vlivu hlavních faktorů (ANOVA) a na ní navázaný porovnávací post-hoc Tukey HSD test.

## **Výsledky**

Základní statistické parametry sledovaných nutričních a technologických parametrů zrna čtyř zvolených odrůd a tří úrovní ošetření jsou zachyceny v tabulce 1. Je patrné, že průměrné hodnoty výnosu (11 t/ha) a obsahu bílkovin (12,3 %) dosahovaly hodnot srovnatelných s některými odrůdami pš. seté, na druhou stranu průměrné hodnoty objemové hmotnosti (78,4 kg/hl) a HTZ (40,9 g), stejně jako obsah mokrého lepku (19,1 %) byly nižší, nebo dokonce

podprůměrné, ve srovnání s hodnotami běžnými pro pšenici setou. Průměrné hodnoty gluten indexu (77,8 %) a pádového čísla (310 s) byly poměrně vysoké, ukazující na relativně pevný lepek a porůstáním nepoškozený škrob. Zcela nevyhovující pro případné pečárenské využití byly výsledky Zeleného sedimentace (14 ml), zde je ale potřeba uvést, že ZS se u pš. tvrdé obvykle nehodnotí a nejedná se ani o výkupní parametr (Menga et al. 2023). Tvrdost zrna (PSI) testované materiály zcela odpovídají hodnotám typickým pro pš. tvrdou (průměr 4,7 %). Typické pro pš. tvrdou jsou i průměrné vysoké koncentrace celkových polyfenolů (4,74 mg/kg), luteinu (4,11 mg/kg) a zároveň i určitý obsah DON (průměr 105 µg/kg), který byl ale ve všech testovaných vzorcích pod legislativní normou.

Nejvyšší variabilitu vykazovaly hodnoty DON (Vk 81,94 %) a TPC (Vk 83,98 %). V případě DON tato vysoká hodnota může být dána faktem, že se jedná spíše o kvalitativní výskyt tohoto mykotoxinu (u mnoha testovaných vzorků se nevyskytuje v kvantifikovatelném množství). Poměrně vysokou hodnotu Variačního koeficientu jsme pozorovali i u obsahu mokrého lepku (Vk 47,52 %). Mezi stabilní parametry patřily OH (Vk 2,92 %), obsah škrobu (Vk 2,61 %), N-látek (Vk 5,2 %), výnos (Vk 7,42 %) a HTZ (Vk 9,56 %), (viz Tabulka 1).

Tab. 1 Základní statistické vyhodnocení sledovaných nutričních a technologických parametrů

Parametry	Průměr	Minimum	Maximum	Sm. odch.	Var. koef (%)
Výnos (t/ha)	11,00	8,73	12,95	0,82	7,42
OH (kg/hl)	78,44	72,80	84,70	2,29	2,92
HTZ (g)	40,91	33,50	51,30	3,91	9,56
N-látky (%)	12,3	10,8	13,8	0,64	5,20
Škrob (%)	68,2	62,8	71,5	1,78	2,61
ML (%)	19,11	4,65	32,60	9,08	47,52
GI (%)	77,76	31,24	98,76	22,05	28,36
FN (s)	310	158	396	62,57	20,18
ZS (ml)	14	10	18	2,03	14,5
PSI (%)	4,7	3,7	6,9	0,68	14,47
DON (µg/kg)	105	0	199	86,04	81,94
TPC (mg/kg)	6,74	0,98	15,4	5,66	83,98
Lutein (mg/kg)	4,11	2,62	5,38	0,66	16
YP (mg/kg)	7,62	5,54	10,8	0,91	11,94

OH - objemová hmotnost, HTZ – hmotnost tisíce zrn, ML - mokrý lepek, GI - gluten index, FN – pádové číslo, ZS – Zeleného sediment, PSI - particle size index, DON – deoxyvalenol, TPC – total phenol content – obsah celkových polyfenolů, TYP - total yellow pigment - obsah žlutého pigmentu

Statistické vyhodnocení vlivu 3 hlavních sledovaných faktorů (odrůda, úroveň ošetření, ročník) na vybrané parametry, které jsou podle literatury (Blanco 2024, Cecchini et al. 2021, Menga et al. 2023) důležité pro přípravu těstovin, je uvedeno v tabulce 2. Za odrůdově specifické parametry lze považovat hodnoty výnosu, OH, GI a žlutého pigmentu, kdy nejvyšších výnosů a OH dosahovaly odrůdy Karmadur a Belladur, nejvyššího GI odrůda Belladur a Fortidur a nejvyšší hodnoty YP odrůdy Karmadur a Fortidur. Zpracování Karmaduru a Fortiduru by se pak mělo projevit i ve zpracování semoliny v její příznivější barvě i následné barvě těstovin. Rozdíly v obsahu ML mezi odrůdami nebyly statisticky významné, rozdíly v obsahu N-látek, luteinu a PSI, které pak statisticky významné byly, nenaznačovaly žádný významnější trend. Intenzivní ošetření se očekávatelně projevilo na statisticky průkazné nejvyšší hodnotě výnosu, OH, N-látek, a rovněž ML, poslední zmíněný výsledek ale nebyl statisticky průkazný. Poněkud

překvapivě nebyl pozorován zásadní rozdíl mezi variantami ošetření ZO a LI. Varianta IO dále dosáhla statisticky nejnižších hodnot obsahů luteinu a tvrdosti. Z dalších testovaných parametrů stojí za zmínku nejvyšší hodnota GI u varianty ZO, nicméně v tomto případě nebyl výsledek statisticky průkazný. V podstatě žádný vliv ošetření nebyl pozorován u YP, což může být spojeno se silnou genetickou podmíněností tohoto parametru (viz Dvořáček et al. 2024).

Co se týká vlivu ročníku, pozorovali jsme statisticky významné rozdíly v hodnotách OH, obsahu mokrého lepku a YP (vyšší v roce 2023) a GI (vyšší v roce 2024). Vliv ročníku na PSI a obsah luteinu byl rovněž statisticky významný (oba vyšší v roce 2024), i když se nejednalo o tak vysokou hladinu signifikance jako u výše uvedených parametrů. Žádný statisticky významný vliv ročníku na výnos a obsah N-látek jsme nepozorovali (viz Tabulka 2).

Tab. 2 Statistické vyhodnocení vlivu tří hlavních faktorů (odrůda, ošetření, ročník) na vybrané technologické parametry zrna pšenice tvrdé

Faktory		Výnos (t/ha)	OH (kg/hl)	NL (%)	ML (%)	GI (%)	Lutein (mg/kg)	PSI (%)	TYP (µg/g)
Odrůda	Diadur	10,76 <sup>a</sup>	77,45 <sup>a</sup>	12,5 <sup>b</sup>	21,7	69,2 <sup>a</sup>	3,4 <sup>a</sup>	4,4 <sup>a</sup>	6,7 <sup>a</sup>
	Karmadur	11,30 <sup>b</sup>	79,18 <sup>b</sup>	12,1 <sup>a</sup>	20,1	66,3 <sup>a</sup>	4,5 <sup>b</sup>	5,3 <sup>b</sup>	8,2 <sup>c</sup>
	Belladur	11,39 <sup>b</sup>	79,81 <sup>b</sup>	12,1 <sup>a</sup>	16,2	81,7 <sup>b</sup>	4,2 <sup>b</sup>	4,6 <sup>a</sup>	7,2 <sup>b</sup>
	Fortidur	10,56 <sup>a</sup>	77,33 <sup>a</sup>	12,7 <sup>c</sup>	18,4	93,8 <sup>c</sup>	4,3 <sup>b</sup>	4,5 <sup>a</sup>	8,4 <sup>d</sup>
Ošetření	Základní	10,91 <sup>a</sup>	78,17 <sup>a</sup>	11,9 <sup>a</sup>	17,8	80,6	4,2 <sup>a</sup>	5,1 <sup>a</sup>	7,6
	Intenzivní	11,91 <sup>b</sup>	79,63 <sup>b</sup>	12,9 <sup>b</sup>	20,9	75,1	3,7 <sup>b</sup>	4,4 <sup>b</sup>	7,5
	Low-input	10,60 <sup>a</sup>	77,53 <sup>a</sup>	12,3 <sup>c</sup>	18,6	77,5	4,5 <sup>a</sup>	4,6 <sup>c</sup>	7,7
Ročník	2023	11,06	79,18 <sup>a</sup>	12,4	27,6 <sup>a</sup>	61,4 <sup>a</sup>	3,9 <sup>a</sup>	4,5 <sup>a</sup>	8 <sup>a</sup>
	2024	10,94	77,7 <sup>b</sup>	12,3	10,7 <sup>b</sup>	94,2 <sup>b</sup>	4,3 <sup>b</sup>	4,9 <sup>b</sup>	7,2 <sup>b</sup>

OH - objemová hmotnost, NL - obsah proteinů, ML - mokrá lepek, GI - gluten index, PSI - particle size index, TYP - total yellow pigment - obsah žlutého pigmentu  
hodnoty s odlišnými písmennými indexy jsou statisticky signifikantní pro  $p < 0,05$  (ANOVA s návazným Tukey HSD testem)

Následně byla ze zrna sklizeného v roce 2024 z každé odrůdy po IO a LI ošetření (celkem 8 vzorků) namleta celozrnná mouka. Ve společnosti Mezi řádky s.r.o. byly poté připraveny těstoviny obsahující kolem 80 % celozrnné mouky z každého vzorku. Klíčové vlastnosti připravených těstovin jsou shrnuty v Tabulce 3.

Tab. 3 Vlastnosti těstovin připravených ze 4 odrůd po Intenzivním a Low-input (LI) ošetření

Odrůda	Ošetření	Aroma	Barva	Míchání směsi	Výroba těstoviny
Diadur	Intenzivní	Žádné	Polotmavá	Malé zrna, směs polosuchá	Polotmavá, drží tvar, třepení okrajů
Diadur	LI	Kukuřičné lupínky	Polotmavá	Malé zrna, směs suchá	Polotmavá, drží tvar, kvalitní
Karmadur	Intenzivní	Intenzivní, silné	Tmavá	Větší zrna, směs polosuchá	Tmavá, drží tvar
Karmadur	LI	Silná	Tmavá	Větší zrna, směs polosuchá	Tmavá, drží tvar, třepení okrajů

Belladur	Intenzivní	Semola	Tmavá	Jemné zrno, směs suchá	Tmavá, drží tvar, nevzhledná
Belladur	LI	Semoly	Tmavá	Větší zrno, směs mokřejší	Tmavá, drží tvar
Fortidur	Intenzivní	Intenzivní	Polotmavá	Jemné zrno, směs suchá	Polotmavá, drží tvar, třepení okrajů
Fortidur	LI		Polotmavá	Velké zrno, směs mokrá	Polotmavá, nedostatečné spojení v matici

Z Tabulky 3 je zřejmé, že barva a aroma těstovin závisí na použité odrůdě, parametry Míchání směsi a vlastní Výroba těstoviny jsou zřejmě ovlivněny odrůdou, ošetřením a možná i dalšími vlivy. Zajímavé je zjištění, že kromě těstovin z Fortiduru po LI byly všechny vzorky pevné, vzorky obsahující celozrnnou mouku z odrůd Karmadur po OI a Belladur po LI měly navíc pevné okraje, těstoviny z obsahující celozrnnou mouku z odrůdy Diadur po LI byly výrobcem označeny jako „kvalitní“.

### Diskuze

Většímu rozšíření pěstování pš. tvrdé v ČR brání mimo jiné nedostatek dat nezbytných ke zhodnocení výhod a nevýhod jejího pěstování v tuzemských podmínkách a nedostatek tuzemských zpracovatelů.

Proto jsme se rozhodli zanalyzovat technologické a nutriční parametry zrna pš. tvrdé pěstované na maloparcelkových pokusech v podmínkách středních Čech (Čáslav). V naší práci jsme zjistili nečekaně nízký rozdíl ve výnosu mezi ZO a LI (viz Tabulka 2). Toto zjištění je v rozporu s hodnotami výnosů zjištěných u 4 jarních odrůd pěstovaných na stejném stanovišti v Čáslavi v letech 2020 a 2023, kde byly hodnoty výnosů u LI varianty výrazně nižší než hodnoty IO a ZO, zatímco velké rozdíly ve výnosech mezi IO a ZO pozorovány nebyly (Dvořáček et al. 2024b). Dá se tedy předpokládat, že u jarních odrůd je v rámci optimalizace ošetření možné vystačit se ZO, u ozimých bude pravděpodobně nutné využít IO, případně i s vyššími obsahy dusíku (Božek et al. 2022.).

Objemová hmotnost byla závislá na odrůdě, intenzitě ošetření a významně i na ročníku (viz Tabulka 2). Přestože v některých konkrétních kombinacích došlo k dosažení 78 kg/hl (Česká norma 461100-3), v průměru na tuto hodnotu všechny testované vzorky nedosáhly. Rovněž obsah dusíkatých látek, který byl ovlivněn zejména typem ošetření (nejvyšší IO), průměrně nedosahoval požadovaných 13 % (Wyzińska & Rózewicz 2021, Cecchini et al. 2021). Je zřejmé, že pro OH, N-látky a také HTZ, která dosahovala průměrně nižších hodnot (viz Tabulka 2), bude do budoucna nutné optimalizovat takové ošetření, které povede k jejich zvýšení (Božek et al. 2022).

Kvalita a pevnost lepku přímo podmiňuje kvalitu těstovin, zejména jejich pevnost (Torbica et al. 2016). Z Tabulky 2 je patrné, že hodnoty lepku a GI byly statisticky ovlivněné pouze ročníkem a hodnoty GI ročníkem a odrůdou. Zajímavý je negativní vztah lepku a GI mezi ročníky, kdy v roce 2023 vzorky obsahovaly průměrně 27,6 % lepku s GI 61,4 % a rokem 2024, kdy vzorky obsahovaly průměrně pouze 10,7 % mokrého lepku, ale s GI 94,2 %. Tyto výsledky potvrdily již dříve zjištěný údaj, že pš. tvrdá má nízký obsah lepku, který je ale mimořádně pevný (Cecchini et al. 2021).

Další vlastností zrna, která je důležitá pro produkci těstovin, je barva. Ta je podmíněna přítomností barviv, nejčastěji karotenoidů, z nichž pravděpodobně nejvýznamnější je protein lutein. Dalším parametrem ovlivňujícím barvu je pak obsah žlutého pigmentu (YP), který reprezentuje sumu xantofylových barviv (Digesú et al. 2009). Z našich výsledků vyplývá, že

obsah luteinu se sice statisticky lišil mezi odrůdami, ošetřeními i mezi jednotlivými ročníky, žádný významný trend v jeho výskytu jsme ale nepozorovali. Tento výsledek úplně nekoreluje s obsahem YP, kde jsme pozorovali výrazné rozdíly mezi jednotlivými odrůdami, což potvrzuje zásadní genetický základ tohoto parametru (Beleggia et al. 2010, Menga et al., Dvořáček et al. 2024b). Z Tabulky 2 vyplývá, že použití IO sice mírně, ale statisticky významně, snížilo obsah luteinu. Tento jev může samozřejmě souviset s prostým „naředováním“ látek v objemnějších zrnech, v rámci zvyšování výnosů ale bude nutné sledovat, zda se v zrně současně nesnižují hladiny zdraví prospěšných látek.

Srovnáme-li jednotlivé odrůdy, Karmadur měl vysoký výnos a obsah YP, Belladur nejvyšší výnos a hodnotu GI a Fortidur měl nejvyšší GI a vysokou hodnotu YP. Při teoretickém výběru vhodné odrůdy bude tedy nutné vzít do úvahy, zda se budeme řídit potřebou vysokého výnosu, pevnosti lepku pro tvorbu kvalitních těstovin, nebo obsahem YP (a také luteinu), které jsou důležité pro jejich barvu. Vliv na výběr odrůdy bude mít také výkupní cena a další specifické výkupní parametry.

Pilotní experimenty přípravy čerstvých těstovin ukázaly, že některé jejich vlastnosti (barva, aroma) jsou takřka určité podmíněné odrůdou (Menga et al. 2023), pš. tvrdé další, zejména technologická příprava a vzhled, jsou ovlivněny více faktory (viz Tabulka 3). Těstoviny obsahující celozrnnou mouku z Karmaduru po IO a Belladuru po LI ošetření byly výrobcem hodnoceny pozitivně, kombinace Diaduru po LI ošetření dokonce jako „kvalitní“. Tyto pilotní experimenty musí být samozřejmě zopakovány. Nicméně již teď se dá považovat za prokázané, že lze připravit čerstvé těstoviny z celozrnné mouky z pš. tvrdé pěstované v ČR. V následných experimentech bychom se chtěli zaměřit na konkurenceschopnost finálního výrobku na tuzemském trhu, respektive možnostech exportu do zahraničí.

### **Závěr**

Kvalita zrna ozimé pšenice tvrdé pěstované v ČR závisí na zvolené odrůdě, způsobu ošetření, zejména aplikaci dusíku, a v neposlední řadě také na povětrnostních podmínkách v daném roce. Ze 4 testovaných odrůd se všechny svými parametry ukázaly být různým způsobem vhodné pro výrobu těstovin. Nejvyšší výnos vykazovalo podle očekávání intenzivní ošetření, rozdíly mezi základním a low-input ošetřením pak nebyly příliš velké. Jistý vliv na testované parametry mělo i počasí v daném roce. Pilotní pokusy dále prokázaly, že celozrnná mouka ze všech 4 testovaných odrůd může být využita na přípravu čerstvých těstovin. Otázkou zůstává jejich případná konkurenceschopnost na tuzemském a zahraničním trhu. Můžeme tedy shrnout, že pokud provedeme vhodný výběr odrůdy, typ ošetření a nedojde k velkým výkyvům z dlouhodobého trendu v počasí, tak může být pšenice tvrdá perspektivní plodinou pro pěstování v řadě lokalit ČR.

### **Poděkování**

Tato výzkumná studie byla financována Ministerstvem zemědělství České republiky prostřednictvím projektu číslo QK22010029 a institucionální podporou v rámci projektu číslo MZE-RO0423. Autoři by také chtěli poděkovat firmě Mezi řádky s.r.o. za přípravu těstovin.

### **Literatura**

- Blanco, A. Structure and trends of worldwide research on durum wheat by bibliographic mapping. *International Journal of Plant Biology* 2024, 15, 132-160.
- Božek, K. S., Žuk-Golaszewska, K., Bojarczuk, J., & Golaszewski, J. The effect of different nitrogen fertilizer rates, sowing density, and plant growth regulator application on the quality and milling value of *Triticum durum* Desf. grain. *Agronomy*, 2022, 12(7), 1622.
- Menga, V., Giovanniello, V., Savino, M., Gallo, A., Colecchia, S.A., De Simone, V., Zingale, S., Ficco, D.B.M. Comparative analysis of qualitative and bioactive compounds of whole

- and refined flours in durum wheat grains with different year of release and yield potential. *Plants* 2023, 12, 1350.
- Digesù, A., Platani, C., Cattivelli, L., Mangini, G., Blanco, A. Genetic variability in yellow pigment components in cultivated and wild tetraploid wheats. *J. Cereal Sci.* 2009, 50, 210–218.
- Wiwart, M., Suchowilska, E., Stuper-Szablewska, K., Przybylska, A., Wachowska, U. & ontarz, D. Variation in the concentrations of phenolic compounds and carotenoids in the grain of a large collection of *Triticum durum* Desf. accessions. *Journal of Cereal Science* 2024, 116, 103842
- Beres, B. L., Rahmani, E., Clarke, J. M., Grassini, P., Pozniak, C. J., Geddes, C. M.; ... & Ransom, J. K. A systematic review of durum wheat: Enhancing production systems by exploring genotype, environment, and management (G× E× M) synergies. *Frontiers in Plant Science* 2020, 11, 568657
- Wyzińska, M. & Rózewicz, M. Durum wheat–crop cultivation strategies, importance and possible uses of grain. *Polish Journal of Agronomy* 2021, 44, 30-38.
- Babincová, Z. Súpis Plôch Osiatych Poľnohospodárskymi Plodinami k 20. 5. 2025. (In Slovak). Dostupné online: <https://slovak.statistics.sk/wps/portal/ext/products/publikacie>
- Dvoráček, V., Jágr, M., Jelínek, M., Polisenká, I., Spitzer, T., Hermuth, J. Phenolic acids and their relationship to nutritional and technological grain parameters of durum wheat under variable treatment intensity in central European conditions. *Agronomy* 2024, 14 (11), DOI 10.3390/agronomy14112633
- Dvořáček, V., Jelínek M., Jágr M., Hermuth, J.: Vybrané parametry pšenice tvrdé pěstované v klimatických podmínkách ČR. *Úroda* 12, roč. LXXII, 2024, vědecká příloha. s. 343-353
- Cecchini, C., Bresciani, A., Menesatti, P., Pagani, M. A., & Marti, A. Assessing the rheological properties of durum wheat semolina: A review. *Foods*, 2021, 10(12), 2947.
- Torbica, A., Draskovic, M., Tomic, J., Dodig, D., Boskovic, J., Zecevic, V. Utilization of Mixolab for assessment of durum wheat quality dependent on climatic factors. *Journal of Cereal Science*, 2016, 69, 344-350.
- Beleggia, R., Platan, C., Nigro, F., Cattivelli, L. (2010) A micro-method for the determination of Yellow Pigment content in durum wheat. *Journal of Cereal Science*, 2010, 52 (1), 106-110

**Kontakt:**

Mgr. Michael Jelínek, Ph.D.

Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu v. v. i

Drnovská 507/73, Praha 6 - Ruzyně, 161 00

732 987 997, michael.jelinek@carc.cz

## Porovnání výživných hodnot a kvality fermentace siláží luskovin ve Velkých Opatovicích v roce 2024

Comparison of nutritional values and fermentation quality of legume silages in Velké Opatovice in 2024

Loučka R.<sup>1</sup>, Jambor V.<sup>2</sup>, Synková H.<sup>2</sup>, Homolka P.<sup>1</sup>,  
Koukolová V.<sup>1</sup>, Kubelková P.<sup>1</sup>, Jančík F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i. Praha-Uhřetěves, <sup>2</sup>NutriVet s.r.o., Pohořelice

### Abstrakt

Cílem pokusu bylo porovnat výsledky výživných hodnot a ukazatelů kvality siláží u úponkatých hrachů, pelušky a bobu v oblasti Malá Haná v roce 2024. Do pokusu bylo zařazeno 6 plodin: úponkatý hrách Gambit a Avatar, hrách listového typu Protecta, peluška Ervika, bob Mistral a Merkur. Sklizeň proběhla 9.7.2024 ve Velkých Opatovicích. Peluška měla vyšší sklizňovou sušinu a stravitelnost organické hmoty než úponkaté hrachy, ale nižší hodnoty vlákniny. Bob Mistral měl vyšší obsah dusíkatých látek než Merkur. Nejlepší ukazatele fermentace měl bob, následován peluškou a nejhorší byly u úponkatých hrachů. Studie potvrdila rozdíly jak mezi plodinami, tak mezi jejich odrůdami.

**Klíčová slova:** úponkatý hrách, peluška, bob, fermentace, výživná hodnota

### Abstract

The aim of the experiment was to compare the results of nutritional values and silage quality indicators in semi-leafless peas, field peas and faba beans in the Malá Haná region in 2024. Six crops were included in the experiment: semi-leafless pea Gambit and Avatar, leafed pea type Protecta, field pea Ervika, faba bean Mistral and Merkur. The harvest took place on 9.7.2024 in Velké Opatovice. Field pea had higher harvest dry matter and organic matter digestibility than semi-leafless peas, but lower fiber values. Faba bean Mistral had higher crude protein content than Merkur. The best fermentation indicators were found in faba bean, followed by field pea, and the worst were in semi-leafless peas.

**Keywords:** semi-leafless pea, field pea, faba bean, fermentation, nutritional value

### Úvod

Luštěniny představují důležitou součást píceinářských systémů díky své schopnosti biologické fixace dusíku a vysokému obsahu bílkovin (Shen et al., 2022). Silážování celých rostlin luskovin umožňuje zachování jejich výživné hodnoty pro zimní období. Různé druhy a odrůdy luskovin se však liší ve svých vlastnostech ovlivňujících kvalitu siláže.

Úponkaté (semi-leafless) odrůdy hrachu mají lepší agronomické vlastnosti než listnaté odrůdy, včetně lepší odolnosti proti poléhání (Shen et al., 2022). Peluška (*Pisum arvense*) je tradičně pěstována jako krmná plodina s dobrými vlastnostmi pro silážování. Bob (*Vicia faba*) má vysoký obsah bílkovin, ale může vykazovat problémy při fermentaci kvůli vyššímu obsahu pufrijících látek.

Cílem výzkumu bylo porovnat výživné hodnoty a kvalitu fermentace siláží různých odrůd luskovin v podmínkách oblasti Malá Haná.

### Materiál a metody

#### Pokusné plochy a odrůdy

Pokus proběhl ve Velkých Opatovicích na lokalitě Velká Routka v nadm. výšce 433 m na půdním typu hnědozem. Do pokusu bylo zařazeno 6 plodin: úponkatý hrách Gambit (270 kg/ha) a Avatar (270 kg/ha), hrách listového typu Protecta (270 kg/ha), peluška Ervika (160 kg/ha), bob Mistral (330 kg/ha) a Merkur (260 kg/ha).

### Pěstební podmínky

Předplodiny: 2023 pšenice jarní, 2022 kukuřice, 2021 pšenice ozimá. Zpracování půdy: hloubkové kypření (13.11.), příprava půdy (28.3., 3.4.), setí (4.4.). Hnojení: Ferti Start 42 NPK 200 kg/ha (3.4. a 6.4.). Sklizeň proběhla 9.7.2024.

Úhrny srážek v době vegetace byly nízké: březen 38 mm, duben 21 mm, květen 73 mm, červen 42 mm.

### Analýzy

Chemické složení původních rostlin a siláží bylo analyzováno standardními metodami. Sušina (DM), popel, dusíkaté látky (CP), neutrálně detergentní vláknina (NDF), acidodetergentní vláknina (ADF) a škrob byly stanoveny podle AOAC (2005). Parametry kvality fermentace včetně pH, organických kyselin a NH<sub>3</sub>-N byly analyzovány podle Kung et al. (2018).

### Statistické zpracování

Data byla zpracována jednocestnou ANOVA analýzou rozptylu s následným Tukeyovým testem mnohonásobného porovnání na hladině významnosti  $P < 0,05$ .

### Výsledky

**Výživné hodnoty původních rostlin** se signifikantně lišily mezi plodinami i odrůdami. Hrách Gambit měl nejnižší sušinu (20,1 %) ze všech testovaných luskovin, zatímco peluška dosáhla nejvyšší sušiny (27,1 %). Obsah dusíkatých látek byl nejvyšší u bobu Mistral (17,1 %) a nejnižší u hrachu Protecta (14,2 %).

**Tabulka 1. Výživné hodnoty původních rostlin (% v sušině)**

Ukazatel	Gambit	Avatar	Protecta	Peluška	Mistral	Merkur
Sušina (% čerstvé hmoty)	20,1 <sup>b</sup>	22,6 <sup>c</sup>	22,1 <sup>c</sup>	27,1 <sup>d</sup>	16,7 <sup>a</sup>	16,5 <sup>a</sup>
Dusíkaté látky	14,9 <sup>a</sup>	15,1 <sup>a</sup>	14,2 <sup>a</sup>	16,2 <sup>b</sup>	17,1 <sup>b</sup>	14,8 <sup>a</sup>
NDF	55,5 <sup>d</sup>	54,1 <sup>cd</sup>	51,2 <sup>bc</sup>	45,1 <sup>a</sup>	50,2 <sup>b</sup>	54,5 <sup>cd</sup>
ADF	39,2 <sup>cd</sup>	39,3 <sup>cd</sup>	36,4 <sup>b</sup>	32,3 <sup>a</sup>	37,5 <sup>bc</sup>	40,3 <sup>d</sup>
Škrob	10,5 <sup>ab</sup>	8,67 <sup>a</sup>	9,16 <sup>ab</sup>	16,6 <sup>b</sup>	4,35 <sup>b</sup>	6,31 <sup>c</sup>

*NDF -- neutrálně detergentní vláknina, ADF -- acidodetergentní vláknina. Různá písmena označují statisticky významné rozdíly ( $P < 0,05$ )*

**Výživné hodnoty siláží** vykazovaly podobné trendy jako původní rostliny. Peluška si udržela nejvyšší sušinu (25,5 %) a stravitelnost organické hmoty (78 %), zatímco bob Merkur měl nejnižší sušinu (14,8 %). Obsah dusíkatých látek se po silážování u většiny plodin mírně zvýšil.

**Tabulka 2. Kvalita fermentace siláží**

Ukazatel	Gambit	Avatar	Protecta	Peluška	Mistral	Merkur
pH	5,21 <sup>c</sup>	5,24 <sup>c</sup>	5,33 <sup>c</sup>	4,54 <sup>b</sup>	3,76 <sup>a</sup>	3,68 <sup>a</sup>
Kyselina mléčná (% čerstvé hmoty)	0,23 <sup>a</sup>	0,12 <sup>a</sup>	0,11 <sup>a</sup>	0,78 <sup>b</sup>	1,30 <sup>c</sup>	1,20 <sup>c</sup>
Kyselina octová (% čerstvé hmoty)	0,78 <sup>a</sup>	0,80 <sup>a</sup>	0,79 <sup>a</sup>	0,67 <sup>a</sup>	0,78 <sup>a</sup>	0,69 <sup>a</sup>
Kyselina máselná (% čerstvé hmoty)	0,58 <sup>b</sup>	0,62 <sup>b</sup>	0,70 <sup>b</sup>	0,12 <sup>a</sup>	0,03 <sup>a</sup>	0,03 <sup>a</sup>
Poměr KM/TMK	0,15 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a</sup>	0,93 <sup>b</sup>	1,56 <sup>c</sup>	1,61 <sup>c</sup>
NH <sub>3</sub> -N (% celkového N)	9,76 <sup>c</sup>	8,33 <sup>c</sup>	6,05 <sup>b</sup>	2,44 <sup>a</sup>	2,97 <sup>a</sup>	4,07 <sup>ab</sup>

*KM/TMK -- poměr kyseliny mléčné k těkavým mastným kyselinám. Různá písmena označují statisticky významné rozdíly ( $P < 0,05$ )*

**Kvalita fermentace siláží** se výrazně lišila mezi plodinami (viz Tabulka 2). Nejlepší fermentační parametry vykazoval bob s nejnižším pH (3,68-3,76), nejvyšším obsahem kyseliny mléčné (1,20-1,30 %) a nejnižší proteolýzou (NH<sub>3</sub>-N 2,97-4,07 %). Úponkaté hrachy měly nejhorší fermentaci s vysokým pH (5,21-5,33), nízkým obsahem kyseliny mléčné (0,11-0,23 %) a vysokou proteolýzou (6,05-9,76 %).

### Diskuze

Výsledky potvrdily významné rozdíly mezi druhy luskovin i mezi odrůdami stejného druhu. Bob vykazoval nejlepší fermentační charakteristiky, což je v souladu s literárními údaji o jeho dobré silážovatelnosti při vyšší sušině (Kung et al., 2018). Nízké pH a vysoký obsah kyseliny mléčné u bobu naznačují dominanci žádoucí homofermentativní fermentace.

Peluška dosáhla lepších výsledků než úponkaté hrachy, pravděpodobně díky vyšší sušině při sklizni a lepšímu obsahu rozpustných cukrů. Úponkaté hrachy vykazovaly problémy s fermentací, zejména vysokou proteolýzou a tvorbu kyseliny máselné, což naznačuje aktivitu klostridií.

Rozdíly mezi odrůdami byly patrné zejména u bobu, kde odrůda Mistral měla konzistentně lepší parametry než Merkur, což odpovídá výsledkům z předchozího roku.

### Závěr

Studie prokázala významné rozdíly ve výživných hodnotách a kvalitě fermentace mezi různými druhy a odrůdami luskovin. Bob vykazoval nejlepší fermentační charakteristiky, následován peluškou, zatímco úponkaté hrachy měly nejproblematictější fermentaci. Výsledky naznačují potřebu optimalizace technologie silážování u různých druhů luskovin a pečlivého výběru odrůd pro zajištění kvalitní siláže.

### **Literatura**

- AOAC (2005): Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis, 18th ed. AOAC International: Gaithersburg, MD, USA.
- Kung Jr L., Shaver R.D., Grant R.J., Schmidt R.J. (2018): Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. *Journal of Dairy Science*, 101: 4020-4033.
- Shen Y., Johnson E.N., Syrový L.D., Warkentin T.D., Devini D.S., Shirtliffe S.J. (2022): Evaluation of yield and agronomic performance of leafed and semi-leafless pea blends. *Agronomy Journal*, 114: 2762-2773.

### **Poděkování**

Práce byla podpořena projektem QK21010344.

### **Kontaktní adresa**

Ing. Radko Loučka, CSc.  
Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i.  
Přátelství 815, 104 00 Praha-Uhřetěves  
Telefon: +420 731 650 836  
E-mail: loucka.radko@vuzv.cz

## Studie porovnávající kvalitu siláže vyrobené z listnatého a úponkového hrachu

Study comparing the quality of silage made from leafed or semi-leafless pea

Loučka R.<sup>1</sup>, Jambor V.<sup>2</sup>, Synková H.<sup>2</sup>, Homolka P.<sup>1</sup>, Koukolová V.<sup>1</sup>, Kubelková P.<sup>1</sup>, Jančík F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i. Praha-Uhřetěves, <sup>2</sup>NutriVet s.r.o., Pohořelice

### Abstrakt

Cílem dvouletého výzkumu bylo analyzovat siláže vyrobené z listnatého (L) nebo úponkového (SL) hrachu nebo ze směsky SL hrachu s jarním ječmenem (SLxB). Experimentálním účelem bylo získat více informací o chemickém složení a kvalitě luskovinových siláží pro zemědělskou praxi. Plodiny byly silážovány ve speciálních laboratorních silech vybavených fermentačními víčky umožňujícími unik plynů. Nebyly použity žádné silážní přísady. SL siláž měla signifikantně vyšší sušinu a škrob, ale nižší dusíkaté látky a NDF v sušině ve srovnání s L siláží. SLxB siláž měla vyšší NDF, ale nižší dusíkaté látky a popel v sušině ve srovnání se SL siláží. Studie potvrdila hypotézu, že kvalita SL siláže je lepší než L siláže, ale horší než SLxB.

**Klíčová slova:** výživná hodnota, fermentace, luštěniny, hrách-ječmen směska, počasí

### Abstract

The aim of the two years study was to analyze silages made from leafed (L) or semi-leafless (SL) peas or bi-crop of SL pea with spring barley (SLxB). The experimental purpose was that agricultural practice needs more information on the chemical composition and quality of legume silages. The crops were ensiled in special laboratory silos equipped with a fermentation cap enabling gas leakage. No silage additives were used. The SL pea silage had significantly higher DM and starch; but lower CP and NDF in contrast to the L silage. The study confirmed the hypothesis that the quality of SL silage is better than L silage, but worse than SLxB.

**Keywords:** nutritional value, fermentation, leguminoses, pea-barley bi-crop, weather

### Úvod

Nutriční a fermentační složky siláže mohou být použity k vysvětlení typu fermentace, která proběhla, a mohou vysvětlit špatnou užitkovost zvířat při zkrmování siláží, když se tyto složky výrazně odchyľují od normy (Kung et al., 2018). To platí i pro luštěniny.

Polní hrách má dva odlišné typy listů: listnatý (L) typ se složenými lichozpeřenými listy a semi-leafless (SL) typ, u kterého jsou lístky nahrazeny úponky. Vývoj SL odrůd vedl ke zlepšené odolnosti proti poléhání a snížené konkurenci plevelů. Současné SL odrůdy mají lepší agronomické vlastnosti než L odrůdy pro mnoho znaků (Shen et al., 2022).

Smíšené pěstování (MC) je současné pěstování dvou nebo více plodin na stejném poli a hraje ústřední roli v tradičních zemědělských postupech. Dosud bylo publikováno pouze málo studií zabývajících se silážovatelností hrachu, a to jak celých rostlin monokulturního hrachu, tak smíšených hracho-obilných kultur (Rondahl et al., 2011). Většina studií se zabývá agronomickými otázkami a výnosem zrna.

Cílem této studie je analyzovat siláže vyrobené z odrůdy Arvika (L odrůda) nebo Gambit (SL odrůda), nebo ze směsky odrůdy Gambit s jarním ječmenem Solist (SLxB).

### Materiál a metody

#### Materiál

Pro pokusy byly vybrány dvě odrůdy hrachu (L, SL) a jedna odrůda jarního ječmene.

Jarní hrách Arvika je pozdní, listnatá (L), adaptabilní odrůda s hmotností tisíce semen asi 150 g. Šlechtitel SELGEN, registrovaná v roce 1972.

Jarní hrách Gambit je pozdní, semi-leafless (SL) odrůda vhodná pro směsné porosty a siláže s hmotností tisíce semen 283 g. Šlechtitel SELGEN, registrovaná v roce 2011.

Jarní ječmen Solist je nesladovnická, středně raná odrůda vhodná pro směsné porosty se SL hrachem. Šlechtitel SELGEN, registrovaná v roce 2015.

### **Pěstování a výroba siláže**

Pokusy byly provedeny v letech 2021 a 2023 na pozemcích u Velkých Opatovic (49°36'32,0"N 16°39'26,0"E). Plocha každé parcely byla 110 m × 12 m, tj. 1 320 m<sup>2</sup>. Výsevek byl 250 kg/ha pro SL hrách Gambit a 180 kg/ha pro L hrách Arvika. MC výsevek byl 220 kg/ha pro SL hrách a 50 kg/ha pro ječmen.

Odběr vzorků pro experimentální výrobu siláže byl proveden 7.7.2021 a 11.7.2023. Vzorky píce (ze 4 opakování) byly silážovány ve speciálních laboratorních silech vybavených fermentačními víčky. 5 kg nasečených rostlin (délka 25 mm) bylo zhutněno v silech. Nebyly použity žádné silážní přísady. Po 120 dnech fermentace byla sila otevřena a ihned provedeny chemické analýzy.

### **Chemické analýzy**

Chemické složení čerstvé píce a siláží bylo analyzováno 3krát. Vzorky byly sušeny při 50 °C po 48 h a pak mlety přes síto 1 mm. Sušina (DM), popel, dusíkaté látky (CP), škrob, neutrálně detergentní vláknina (NDF), acido detergentní vláknina (ADF) byly stanoveny podle oficiálních metod AOAC (2005). Rozpustné sacharidy (WSC) byly stanoveny podle Weiss a Hall (2020).

Ihned po otevření sil byly získány výluhy. Vzorky siláže byly analyzovány na parametry kvality fermentace: pH elektrometricky, kyselinu mléčnou (LA), octovou (AA), propionovou (PA) a máselnou (BA) podle Kvasnička (2000).

### **Statistické zpracování**

Data byla zpracována dvoucestnou ANOVA analýzou rozptylu, program STATISTICA, verze 10. Rozdíly mezi průměry byly stanoveny Tukeyovým testem mnohonásobného porovnání na hladině významnosti  $P < 0,05$  a  $P < 0,01$ .

## **Výsledky**

**Porovnání nutriční hodnoty surovin** použitých v této studii je uvedeno v Tabulce 1. Signifikantní rozdíly byly nalezeny mezi typy hrachu, roky sklizně i v interakcích mezi nimi. L hrách se signifikantně lišil od ostatních plodin (SL hrách, SLxB směska) ve všech parametrech (nižší sušina a škrob, ale vyšší CP a obsah vlákniny v sušině), kromě WSC.

V roce 2023, ve srovnání s rokem 2021, byly sledované nutriční hodnoty signifikantně vyšší.

**Tabulka 1. Nutriční hodnoty hrachu a směsky hrachu SL s ječmenem**

<b>Ukazatel</b>	<b>L</b>	<b>SL</b>	<b>SLxB</b>	<b>2021</b>	<b>2023</b>	<b>P-hodnota C</b>	<b>P-hodnota Y</b>
DM g/kg čerstvé hmoty	244	335	326	218	385	<0,01	<0,01
CP g/kg DM	181	146	112	194	209	<0,01	<0,01
NDF g/kg DM	389	356	408	361	407	<0,01	<0,01
Škrob g/kg DM	92,9	91,4	59,0	133	188	<0,01	<0,01
Popel g/kg DM	123	186	173	68.2	94.0	<0,01	<0,01

DM -- sušina, CP -- hrubé bílkoviny, NDF -- neutrálně detergentní vláknina, C -- plodina, Y - rok

**Nutriční hodnota hrachových siláží** je uvedena v Tabulce 2. SL hrách měl signifikantně ( $P < 0,01$ ) vyšší DM a škrob, ale signifikantně nižší CP a NDF ve srovnání s L siláží. SLxB siláž měla signifikantně vyšší NDF a signifikantně nižší CP, popel ve srovnání se SL siláží.

**Tabulka 2. Nutriční hodnoty hrachových siláží**

Ukazatel	L	SL	SLxB	2021	2023	P-hodnota C	P-hodnota Y
DM g/kg čerstvé hmoty	226	299	290	183	360	<0,01	<0,01
CP g/kg DM	168	139	120	143	142	<0,01	0,802
NDF g/kg DM	368	343	395	355	382	<0,01	<0,01
Škrob g/kg DM	142	177	188	152	186	<0,01	<0,01
Popel g/kg DM	97.6	90.0	60.4	69.8	95.6	<0,01	<0,01

DM -- sušina, CP -- hrubé bílkoviny, NDF -- neutrálně detergentní vláknina

**Kvalita fermentace hrachových siláží** je uvedena v Tabulce 3. SL siláž měla signifikantně ( $P < 0,01$ ) vyšší kyselinu mléčnou (LA) a poměr LA/VFA (těkavé mastné kyseliny) než L siláže, a signifikantně nižší pH, kyselinu octovou (AA) a propanol. SLxB, ve srovnání se SL siláží, měla signifikantně vyšší LA.

**Tabulka 3. Kvalita fermentace siláží**

Ukazatel	L	SL	SLxB	2021	2023	P-hodnota C	P-hodnota Y
pH	4,39	4,08	3,93	4,05	4,22	<0,01	<0,05
LA % čerstvé hmoty	2,33	2,77	3,15	2,68	2,82	<0,01	0,232
AA % čerstvé hmoty	1,17	0,76	0,91	0,75	1,15	<0,01	<0,01
LA/VFA	2,24	3,77	3,88	4,00	2,60	<0,01	<0,01
NH <sub>3</sub> -N % celkového N	5.98	4.91	5.10	6.23	4.44	<0,01	<0,01

LA -- kyselina mléčná, AA -- kyselina octová, VFA -- těkavé mastné kyseliny, , C -- plodina, Y -- rok

### Diskuze

Výsledky silážování jsou ovlivněny mnoha faktory, jako je druh a odrůda rostlin, lokalita, počasí během vegetačního období, pěstování plodin, způsob sklizně, management siláže, použití přísad atd. V našich pokusech jsme eliminovali tyto faktory kromě počasí v daném roce a typu plodiny.

Podle údajů získaných z meteorologické stanice v blízkosti pokusných lokalit se počasí během vegetačního období lišilo nejen od dlouhodobých průměrných hodnot, ale také mezi měsíci. V roce 2023 byly plodiny silážovány při signifikantně vyšší sušině než v roce 2021.

Při porovnání dvou typů hrachu a MC hrachu SL s ječmenem byly splněny předpoklady, že SL hrách bude mít méně CP ve srovnání s L hrachem a více CP ve srovnání se SLxB, a že bude mít více škrobu než L typ. Naše výsledky jsou v souladu s experimenty Jacobs a Ward (2013), kteří zkoumali nutriční charakteristiky hrachu a směsných porostů obilovin s hrachem.

Účelem silážování je zachování píce ve vhodné kvalitě po dlouhou dobu. To se provádí především produkcí LA a snižováním pH, které by mělo být rychlé (Kung et al., 2018). Průměrné pH  $4,14 \pm 0,26$  naměřené v hrachových silážích v této studii je v souladu s literárními údaji.

V ČR proběhl v letech 2015–2018 projekt NAZV č. QJ1510312 - „Využití luskovino-obilných směsek ke zvýšení schopnosti udržitelné produkce objemných krmiv se zvýšeným obsahem energie a živin za účelem zlepšení kvality živočišných produktů v konvenčním i ekologickém zemědělství“. Zatímco pokusy v tomto projektu byly zakládány hlavně za účelem vyzkoušení nových potenciálně vhodných odrůd a jejich kombinací pro pěstování v luskovino-obilných směskách a stanovení optimálního poměru komponent směsky z hlediska jejich vhodnosti pro

pěstování v podmínkách ekologického zemědělství, pokusy VÚŽV byly zaměřeny na na kvalitu siláží luskovin, čímž je originální.

### **Závěr**

Cílem výzkumu bylo získat více informací o kvalitě vybraných luskovinových siláží, což má určitou praktickou aplikační hodnotu. Potvrdila se hypotéza, že rozdíly mezi jednotlivými variantami plodin a rokem jejich pěstování jsou významné u hlavních nutričních i fermentačních ukazatelů. Je obecně známo, že vyšší obsah CP vyvolává proteolýzu v siláži a snižuje její kvalitu fermentace. Vzhledem k tomu, že CP v této studii nebyl příliš vysoký, byla kvalita fermentace zkoumaných hrachových siláží dobrá. Výsledky také ukázaly, že ostatní složky hrachových siláží se výrazně neodchylovaly od normovaných, zejména pokud jde o hodnoty pH, kvantifikaci produkce organických kyselin a amoniakální dusík, které jsou hlavními ukazateli kvalitní siláže.

### **Literatura**

- AOAC (2005): Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis, 18th ed. AOAC International: Gaithersburg, MD, USA.
- Kung Jr L., Shaver R.D., Grant R.J., Schmidt R.J. (2018): Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. *Journal of Dairy Science*, 101: 4020-4033.
- Kvasnička F. (2000): Application of isotachopheresis in food analysis. *Electrophoresis*, 21: 2780-2787.
- Rondahl T., Bertilsson J., Martinsson K. (2011): Effects of maturity stage, wilting and acid treatment on crude protein fractions and chemical composition of whole crop pea silages. *Animal Feed Science and Technology*, 163: 11-19.
- Shen Y., Johnson E.N., Syrový L.D., Warkentin T.D., Devini D.S., Shirtliffe S.J. (2022): Evaluation of yield and agronomic performance of leafed and semi-leafless pea blends. *Agronomy Journal*, 114: 2762-2773.
- Weiss W.P., Hall M.B. (2020): Laboratory methods for evaluating forage quality. *Forages: The Science of Grassland Agriculture*, 2: 659-672.

### **Poděkování**

Práce byla podpořena projektem QK21010344.

### **Kontaktní adresa**

Ing. Radko Loučka, CSc.  
Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i.  
Přátelství 815, 104 00 Praha-Uhřetěves  
Telefon: +420 731 650 836  
E-mail: loucka.radko@vuzv.cz

## Stanovení obsahu a kvality půdní organické hmoty pomocí blízké infračervené spektroskopie na příkladu provozních pokusů v oblasti Boskovické brázdy

Determination of soil organic matter content and quality using near-infrared spectroscopy based on operational trials in the Boskovice furrow area

*Menšík L.<sup>1</sup>, Nerušil P.<sup>1</sup>, Pospíšilová L.<sup>2</sup>, Plisková J.<sup>1,2</sup>, Kunzová E.<sup>1</sup>, Madaras M.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v. v. i. (CARC), Odbor systémů hospodaření na půdě, Drnovská 507/73, 161 00 Praha – Ruzyně, Česká republika, [ladislav.mensik@carc.cz](mailto:ladislav.mensik@carc.cz), <sup>2</sup>Mendelova univerzita v Brně, Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin, Zemědělská 1, 61200 Brno*

### Abstrakt

Studie představuje rychlé a přesné analytické postupy stanovení obsahu a kvality půdní organické hmoty (obsah půdního organického uhlíku /SOC/, humusových látek /HL/, huminových kyselin /HK/, fulvokyselin /FK/ a barevného kvocientu /Q<sub>4/6</sub>/), v suchých a přesátých vzorcích (2 mm) půd blízkou infračervenou spektroskopií (NIRS). Vzorky půdy pocházely z oblasti Boskovické brázdy a Dražanské vrchoviny. Sledované parametry byly stanoveny klasickou metodou a dále byly měřeny spektra NIR spektroskopií. Vývoj kalibračních rovnic byl proveden pomocí vícerozměrných regresních metod. Byla prokázána vysoká míra shody laboratorní metody se stanovením NIRS (kalibrační rovnice i nezávislá validace). Měření je velmi rychlé (stanovení vzorku trvá cca 2–5 minut), dostatečně přesné a metoda NIRS má reálné předpoklady se prosadit v precizním zemědělství (Zemědělství 4.0).

**Klíčová slova:** půda, půdní organická hmota, humusové látky, NIR spektroskopie, regresní modelování

### Abstract

This study presents rapid and accurate analytical methods for determining the content and quality of soil organic matter in dry and sieved soil samples (2 mm). These methods use near-infrared spectroscopy (NIRS) to analyse soil organic carbon content (SOC), humic substances (HS), humic acids (HA), fulvic acids (FA) and colour quotient (Q<sub>4/6</sub>). The soil samples were collected from the Boskovice Furrow and Dražany Highlands regions. The monitored parameters were first determined using the classical method and then measured using NIRS. Calibration equations were developed using multidimensional regression methods. There was a high degree of agreement between the laboratory method and NIRS determination (calibration equations and independent validation). The measurement process is very fast (taking approximately 2–5 minutes per sample), sufficiently accurate, and the NIRS method has real potential to become established in precision agriculture (Agriculture 4.0).

**Keywords:** soil, soil organic matter, humus substances, NIR spectroscopy, regression modelling

### Úvod

Zdravá půda je základním kamenem pro dosažení potravinové bezpečnosti a podporu environmentální udržitelnosti v současném zemědělství (Mahmood et al. 2023). V posledním desetiletí se celosvětově prosadil koncept kvality a zdraví půdy „Soil Health“, který popisuje biologické, chemické a fyzikální funkce půdy, včetně jejich úlohy v udržitelné produkci plodin (Wood and Blankinship 2022).

Produkční schopnosti půdy jsou přímo závislé na stavu fyzikálních, chemických a biologických vlastností – všechny jsou prostorově a časově proměnné (Amin et al. 2020). V současném precizním zemědělství (PZ), ale i konvenčním zemědělství je úrodnost půdy důležitým faktorem ovlivňujícím růst rostlin (Javadi et al. 2021). Úrodnost půdy by měla být neustále monitorována v reálném čase stanovením jejích vlastností, jako jsou mikro a makro-živiny, půdní reakce (pH), obsah a kvalita půdní organické hmoty (SOM), rizikové prvky apod.

(Recena et al. 2019). Monitoring přírodního prostředí (půdy) je proto velmi důležitý pro udržení, resp. zvýšení současné kvality a zdraví zemědělských půd (Munnaf and Mouazen 2021).

Moderním směrem výzkumu v oblasti stanovení obsahu uhlíku a jeho frakcí v půdě je využití spektroskopie v blízké infračervené oblasti (NIRS). Z naměřených spekter lze na základě charakteristických absorpčních pásů, po vhodném chemometrickém zpracování (např. pomocí metod PCA, PLSR, MPLSR aj.), kvantifikovat obsah daných chemických prvků ve vzorku. Ve srovnání s konvenčními laboratorními metodami je NIRS levná rychlá nedestruktivní, neprodukuje žádné chemické látky a vyžaduje minimální přípravu vzorku, což ji činí velmi atraktivní (Safanelli et al. 2025).

Cílem příspěvku je představit nejnovější postupy stanovení kvalitativních parametrů půdní organické hmoty /SOM/ (obsah SOC, HL, HK, FK,  $Q_{4/6}$ ) v usušených a přesátých vzorcích půd pomocí NIRS (blízké infračervené spektroskopie) na příkladu provozních pokusů v oblasti Boskovické brázdy.

## Materiál a metody

Podkladem pro zpracování kalibračních rovnic ke stanovení (predikci) parametrů kvality půdy (SOC, HL, HK, FK a poměr  $Q_{4/6}$ ) a jejich nezávislou validaci byly usušené a přesáté vzorky půdy (jemnozem – velikost částic  $<2$  mm) z experimentálních polí modelového zemědělského podniku AGROSPOL, a.d. Knínice s různými typy půd /černozem /CE/, hnědozem /HM/, kambizem /KA/ apod. a s různým způsobem jejich využití /orná půda, travní prostory, sady apod./ v oblasti Boskovické brázdy a Dražanské vrchoviny. Půdní vzorky byly odebrány z horizontu Ap (0–30 cm) v období 2018–2022. Celkem bylo odebráno a změřeno 144 vzorků (kalibrační soubor byl tvořen 130 vzorky a validační soubor obsahoval 14 vzorků půdy).

Obsah půdního organického uhlíku (SOC) byl stanoven kolorimetricky dle (Sims and Haby 1971), byla použita oxidometrická titrace podle (Nelson and Sommers 1996). Frakcionace humusových látek byla provedena krátkou frakcionací dle metody Kononové-Belchikové (Kononova 1963). Postup: obsah HK a FK (= součet HL) byl extrahován z 5 g vzorku půdy se 100 ml 0,1 M roztoku NaOH a 0,1 M  $Na_4P_2O_7$  (1:1, obj./obj.). Uhlík v HL, HK, byl stanoven metodou oxidimetrické titrace. Obsah HK byl vypočten jako rozdíl mezi HL a HK. Barevný index /kvocient/ ( $Q_{4/6}$ ) byl vypočten jako poměr absorbance HL ve spektrálním rozsahu UV-VIS při 465 nm a 665 nm (=  $A_{465}/A_{665}$ ). UV-VIS spektra byla měřena za použití Varian Carry 50 Probe s optickým vláknem v rozmezí 300–700 nm (Varian Mulgrave, Victoria, Austrálie). Identické vzorky půdy byly proměřeny na disperzním spektrometru FOSS NIRSystems 6500 instrument (Company NIRSystems, Inc., Silver Spring, USA), umístěném na pracovišti CARC Praha, VS Jevíčko. Měření vzorků bylo provedeno v malých kruhových kyvetách (*small ring cups*) ve dvou paralelních opakováních. Skenování vzorku bylo nastaveno v režimu reflektance pro oblast 400–2500 nm, tj. ve viditelné a blízké infračervené oblasti spektra (Vis-NIR), krok snímání 2 nm.

Pro vývoj kalibračních rovnic a jejich validaci včetně grafických výstupů v byl využit software WinISI II (Infrasoft International, Inc., USA), verze 1.50. Byly použity metody vícerozměrných regresních kalibrací: (1) regrese hlavních komponent PCR (anglicky *Principal Component Regression /PCR/*) (Chauhan et al. 2021) (2) regrese částečných nejmenších čtverců PLS (anglicky *Partial Least Squares /PLSR/*) (de Santana et al. 2019) a (3) modifikovaná PLS /MPLSR/ (González-Martín et al. 2015). Pojem kalibrace je používán k popsání postupu konverze informací o NIR absorpci do hodnot laboratorní referenční metody. Přesnost této konverze se posuzuje na základě směrodatné odchylky kalibrace (SEC) a směrodatné odchylky predikce (*standard error of performance*, SEP). SEP při úspěšné NIR kalibraci bývá přibližně dvojnásobně velká ve srovnání se směrodatnou odchylkou při laboratorním stanovení (Míka et al. 2008). Kritériem pro výběr kalibrační rovnice je pak SEC a  $R^2$  (koeficient determinace).

Posouzení vhodnosti predikčního modelu pro jeho praktické využití je obvykle prováděno podle koeficientu determinace  $R^2$ .

## Výsledky

### Základní popis dat

Minimální, maximální a střední hodnoty koncentrací a směrodatné odchyly chemického složení (SOC, HL, HK, FK,  $Q_{4/6}$ ) vzorků půd měřené standardními laboratorními postupy z oblasti Boskovické brázdy (Malé Hané) a Dražanské vrchoviny uvádí tab. 1. Celkem bylo měřeno cca 144 vzorků, které byly rozděleny do dvou souborů (skupin), kalibrační (130 vzorků) a externí (nezávislý) validační (14 vzorků) soubor viz *tab. 1*.

Tab. 1. Základní popis kalibračního a validačního souboru vzorků půd z oblasti Boskovické brázdy (Malé Hané) a Dražanské vrchoviny (experimentální pole AGROSPOL, a.d. Knínice).

Parametr	Kalibrace (n = 130)				Validace (n = 14)			
	Min.	Max.	Průměr	SD	Min.	Max.	Průměr	SD
SOC (%)	0,69	2,85	1,65	0,51	0,89	2,78	1,68	0,51
HL (mg.kg <sup>-1</sup> )	1,41	10,48	5,41	2,04	1,93	8,85	5,23	2,25
HK (mg.kg <sup>-1</sup> )	1,48	6,38	3,17	1,26	1,85	5,93	3,40	1,16
FK (mg.kg <sup>-1</sup> )	1,28	7,03	2,66	0,90	1,64	4,80	2,90	0,95
$Q_{4/6}$	3,11	6,88	5,04	1,15	3,45	6,59	5,16	1,12

Pozn.: n - počet vzorků; SD - směrodatná odchylka; SOC - půdní organický uhlík, HL - humusové látky, HK - huminové kyseliny, FK - fulvokyseliny,  $Q_{4/6}$  - barevný kvocient

Obsah SOC v půdě v kalibračním souboru ve vzorcích půdy z oblasti Boskovické brázdy (Malé Hané) a Dražanské vrchoviny (AGROSPOL, a.d. Knínice) se pohyboval v rozpětí hodnot od 0,69 do 2,85 % mg.kg<sup>-1</sup> s průměrnou hodnotou 1,65 %. Obsah humusových látek /HL/ v půdě v kalibračním souboru byl stanoven od 1,41 do 10,48 mg.kg<sup>-1</sup> s průměrnou hodnotou 5,41 mg.kg<sup>-1</sup>. Validací (nezávislý na kalibračním) soubor svými parametry byl obdobný kalibračnímu souboru. Obsah (koncentrace) u jednotlivých parametrů kvality SOM se v rámci kalibračního a validačního souboru od sebe významně nelišily. Svými průměrnými hodnotami si oba soubory byly podobné, což odpovídá správnému výběru vzorků pro kalibrační i validační soubor (validační soubor byl významně menší proti kalibračnímu souboru).

### Predikce kvalitativních parametrů půdní organické hmoty (SOC, HL, HK, FK, poměr $Q_{4/6}$ ) v půdě

Vývoj kalibračních rovnic byl proveden na kalibračním souboru o 130 vzorcích půdy. Spektra vzorků půdy v obou souborech (kalibrační, validační) byla podobná (významně se od sebe nelišila). Před samotným vývojem kalibrací (vývoj kalibračních rovnic pro predikci parametrů) byla provedena analýza hlavních komponent (PCA). Ve všech případech byla vysvětlená spektrální variabilita vyšší než 99 %. Kalibrace byly prováděny s využitím všech tří metod (PCR, PLSR, MPLSR). Výsledné statistické parametry kalibrace (regrese) viz *tab. 2* byly získány pro každý parametr (SOC, HL, HK, FK a  $Q_{4/6}$ ) pomocí výpočtů za využití (1) spektrálních kritérií (H-kritérium /statistika/) nebo (2) chemických kritérií (T-kritérium/statistika/). Anomální spektra byla detekována pomocí Mahalanobisovy vzdálenosti od střední hodnoty a eliminována z kalibračního modelu.

Tab. 2. Kalibrace a predikce parametrů kvality půdy pomocí techniky NIRS v oblasti Boskovické brázdy a Dražanské vrchoviny.

Parametr	Model	Kalibrace				Predikce	
		n	Průměr	SEC	R <sup>2</sup>	SEP	R <sup>2</sup>
SOC	MPLSR	<b>120</b>	<b>1,597</b>	<b>0,120</b>	<b>0,935</b>	<b>0,164</b>	<b>0,884</b>
	PLSR	125	1,636	0,136	0,927	0,172	0,881
	PCR	125	1,622	0,209	0,818	0,214	0,808
HL	MPLSR	114	5,258	0,686	0,885	0,926	0,787
	PLSR	<b>109</b>	<b>5,155</b>	<b>0,615</b>	<b>0,906</b>	<b>0,862</b>	<b>0,809</b>
	PCR	116	5,230	0,877	0,811	0,941	0,780
HK	MPLSR	<b>118</b>	<b>2,074</b>	<b>0,349</b>	<b>0,917</b>	<b>0,584</b>	<b>0,766</b>
	PLSR	115	2,995	0,443	0,857	0,585	0,751
	PCR	112	2,930	0,600	0,721	0,634	0,700
FK	MPLSR	<b>110</b>	<b>2,689</b>	<b>0,271</b>	<b>0,895</b>	<b>0,424</b>	<b>0,735</b>
	PLSR	115	2,622	0,398	0,718	0,489	0,584
	PCR	115	2,621	0,429	0,672	0,503	0,564
Q <sub>4/6</sub>	MPLSR	115	5,016	0,253	0,952	0,309	0,927
	PLSR	<b>112</b>	<b>4,947</b>	<b>0,210</b>	<b>0,967</b>	<b>0,287</b>	<b>0,938</b>
	PCR	112	4,993	0,272	0,946	0,329	0,920

Pozn.: MPLSR - modifikovaná částečných nejmenších čtverců (Modified Partial Least Squares Regression), PLSR - metoda částečných nejmenších čtverců (Partial Least Squares Regression), PCR - regrese hlavních komponent (Principal Component Regression); n - počet vzorků kalibrace, SEC - směrodatná odchylka kalibrace, SEP - směrodatná odchylka predikce, R<sup>2</sup> - koeficient determinace; SOC - půdní organický uhlík, HL - humusové látky, HK - huminové kyseliny, FK - fulvokyseliny, Q<sub>4/6</sub> - barevný kvocient; tučně zvýrazněné řádky představují nejlepší kalibrační model pro daný parametr

Riziko chyb ve vyvinutých rovnicích je v praktických podmínkách velmi nízké nebo téměř nulové, když se standardizovaná H statistika (Mahalanobisova vzdálenost<sup>1</sup>) používá při rutinní analýze neznámých vzorků (odlišné spektrum neznámého vzorku od průměrného spektra v kalibrační sadě). Vzorky s hodnotou H > 3 mohou být považovány za tzv. outliery (vzorky nepatřící do souboru, ze které jsou rovnice vytvořeny), a v tomto případě by rovnice neměly být používány k provádění predikcí (González-Martín et al. 2011).

Tab. 3. Validace parametrů kvality půdy pomocí techniky NIRS v oblasti Boskovické brázdy a Dražanské vrchoviny.

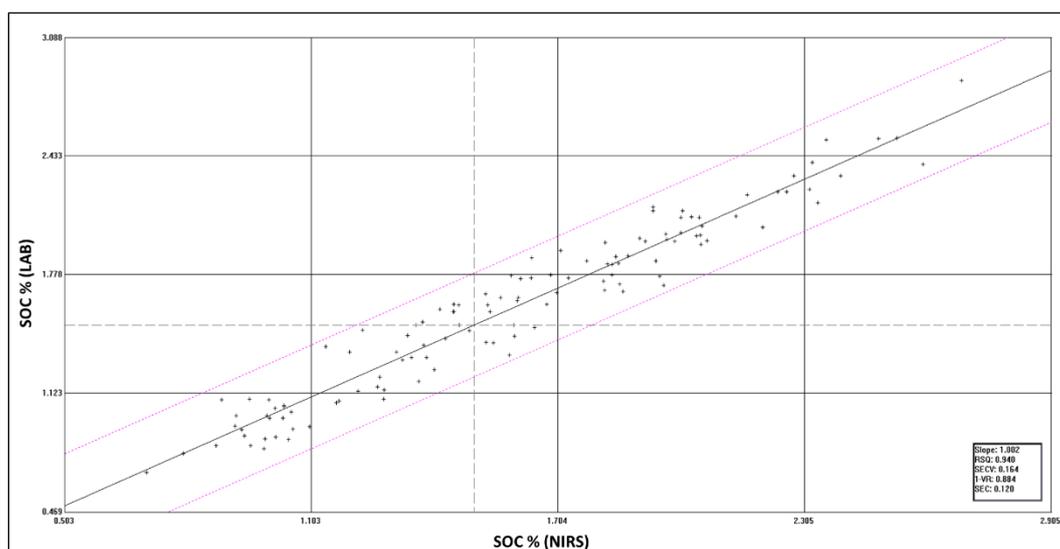
Parametr	Validace					
	n	SEP	SEP (C)	BIAS	SLOPE	R <sup>2</sup>
SOC	13	0,187	0,177	-0,077	0,982	<b>0,878</b>
HL	13	0,642	0,665	-0,061	1,094	<b>0,919</b>
HK	13	0,466	0,467	-0,129	0,933	<b>0,853</b>
FK	14	0,446	0,451	-0,101	1,184	<b>0,795</b>
Q <sub>4/6</sub>	12	0,371	0,380	-0,075	0,893	<b>0,909</b>

Pozn.: n - počet vzorků validace, SEP - směrodatná odchylka predikce, SEP (C) - směrodatná odchylka predikce korigovaná konstantou kalibrační křivky (BIAS), BIAS - konstanta kalibrační křivky, SLOPE - směrnice kalibrační křivky, R<sup>2</sup> - koeficient determinace; SOC - půdní organický uhlík, HL - humusové látky, HK - huminové kyseliny,

Mahalanobisova vzdálenost (MV), pravděpodobnostní vzdálenost od průměru. Dá se přirovnat ke vzdálenosti od střední hodnoty jednorozměrného výběru v jednotkách sigma. Velká hodnota MV je málo pravděpodobná, a tedy podezřelá. Spolehlivější pro diagnostiku vybočujících dat je robustní MV založená na M-odhadu střední hodnoty místo průměru, která není ovlivněna vybočujícími daty ([https://www.trilobyte.cz/downloadfree/qcemanual/multioar\\_an.pdf](https://www.trilobyte.cz/downloadfree/qcemanual/multioar_an.pdf); Mahalanobis 1936; De Maesschalck et al. 2000).

FK - fulvokyseliny,  $Q_{4/6}$  - barevný kvocient

Dosažené výsledky přesnosti predikcí obsahu SOC, HL, HK, FK,  $Q_{4/6}$  v půdě na experimentálních polích zemědělského družstva AGROSPOL, a.d. Knínice ověřené na nezávislém validačním souboru vzorků shodného charakteru ( $n = 14$ ) potvrzují předpoklad vysoké míry shody klasické laboratorní metody se stanovením NIRS pomocí metod lineární regrese MPLSR a PLSR /kalibrace:  $R^2 = 0,89$  až  $0,97$  viz tab. 2, tučně zvýrazněné řádky představují nejlepší kalibrační model pro daný parametr/. Validace vyvinutých kalibračních rovnic měla parametry koeficientu determinace ( $R^2 = 0,79$  až  $0,92$ ) viz tab. 3. Směrnice přímky se blíží hodnotě 1,0 (od 0,9 / $Q_{4/6}$ / do 1,2 /FK/). Vybraný parametr kvality půdy (SOC) je uveden na obrázku 2. Metoda PCR má nižší vypovídací hodnotu oproti metodám MPLSR a PLSR. Uvedené regresní parametry kalibračního dle dosaženého koeficientu determinace jsou u všech hodnocených parametrů excelentní ( $R^2 = 0,90$  a více) a tedy použitelné pro běžnou zemědělskou praxi, resp. sledování kvality přírodního prostředí (Dvořáček, Prohasková et al. 2014).



Pozn.: LAB - standardní laboratorní metoda, NIRS - blízká infračervená spektroskopie; metoda MPLSR

Obr. 2. Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu pro obsah SOC v půdě v oblasti Boskovické brázdy a Dražanské vrchoviny.

## Diskuze

Současné požadavky na analýzu kvality půdy ve vysokém rozlišení a s vysokou přesností, pro charakterizaci prostorové variability, je možné plnit jen analýzou (stanovením) velkého množství vzorků pro získání podrobných pokrytí dat o kvalitě a zdraví půdy (Tajik et al. 2020), což je časově náročné a nákladné při použití standardních (klasických) laboratorních metod (Brevik et al. 2016, Menšík et al. 2022). Podrobné znalosti dynamiky koncentrací SOM, resp. SOC a dále i humusových frakcí (HK, FK), ale i obsahu dusíku (N) v přírodním prostředí mohou pomoci porozumět tokům a výměně uhlíku, mezi atmosférou a půdním prostředím, dále sekvestrací uhlíku i přístupností živin v půdě pro rostliny (Hicks Pries et al. 2024). Zjištěné výsledky přesnosti predikce pro parametry SOC, HL, HK, HK,  $Q_{4/6}$  dosažené provedeným výzkumem, potvrzují vysokou míru shody s výsledky celé řady výzkumných prací (Sepúlveda et al. 2021, Reda et al. 2021). Pro hodnocení frakcionace humusových látek (predikce pomocí NIRS) jsou naše výsledky plně v souladu s uvedenými výzkumnými pracemi (viz podrobně Albrecht et al. 2011, Ribeiro et al. 2023 a další).

## Závěr

Blízká infračervená spektroskopie (NIRS) je moderní laboratorní metoda vhodná pro velké série měření. Při jejím použití lze stanovit složky (více parametrů) analyzovaného materiálu (vzorku půdy) z jednoho měření (vysušený a přesátý vzorek). NIRS analýza je sekundární instrumentální metoda, kde je o něco nižší přesnost měření ve srovnání s klasickou laboratorní (referenční) analýzou. Precizním regresním modelováním s využitím vhodných vícerozměrných kalibrací (MLR, PCR, PLSR, MPLSR) a ve světě používaných predikčních modelů (RF, SVMR, ANN apod.) včetně využití umělé inteligence (AI) lze dospět k velmi hodnotným výsledkům predikce parametrů kvality půdy (viz *kap. výsledky*). Hodnoty koeficientů determinace ( $R^2$ ) kalibračního souboru pro parametry kvality SOM (obsah SOM, HL, HK, FK a  $Q_{4/6}$ ) se pohybovaly v rozmezí od 0,89 do 0,96. Hodnoty  $R^2$  validačního souboru pak dosahovaly u parametrů kvality půdy od 0,79 do 0,92. Velmi významný vliv má počet kalibračních vzorků (čím více vzorků stanovení, tím lepší parametry kalibrace) a dále heterogenní podmínky (druh půdy, klimatické podmínky apod.). Pro analýzu NIRS je potřebné malé množství vzorku půdy (cca 5–10 g). Výhodou je bezpečnost práce a ekologická nezávadnost měření (není spotřebováván žádný materiál a nevznikají žádné chemické odpady). Měření je dostatečně rychlé (cca 2–5 minut, podle nastavení přístroje), přesné, pracovní bezpečné, nemá negativní vliv na životní prostředí a je velmi levné.

## Literatura

- Albrecht, R., J. Le Petit, G. Terrom, and C. Périsol. 2011. Comparison between UV spectroscopy and nirs to assess humification process during sewage sludge and green wastes co-composting. *Bioresource Technology* 102(6):4495–4500.
- Amin, I., F. Fikrat, E. Mammadov, and M. Babayev. 2020. Soil Organic Carbon Prediction by Vis-NIR Spectroscopy: Case Study the Kur-Aras Plain, Azerbaijan. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 51(6):726–734.
- Brevik, E. C., C. Calzolari, B. A. Miller, P. Pereira, C. Kabala, A. Baumgarten, and A. Jordán. 2016. Soil mapping, classification, and pedologic modeling: History and future directions. *Geoderma* 264 (February 2016):256–274.
- Chauhan, R., R. Kumar, V. Kumar, K. Sharma, and V. Sharma. 2021. On the discrimination of soil samples by derivative diffuse reflectance UV–vis-NIR spectroscopy and chemometric methods. *Forensic Science International* 319 (2021).
- Conant, R. T., K. Paustian, S. J. Del Grosso, and W. J. Parton. 2005. Nitrogen pools and fluxes in grassland soils sequestering carbon. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 71(3):239–248.
- Dvořáček, V., A. Prohasková, and L. Štočková. 2014. Efektivní využití blízké infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací pro hodnocení technologických vlastností pšenice. *Metodika pro praxi*. Praha.
- González-Martín, I., J. M. Hernández-Hierro, I. Revilla, A. Vivar-Quintana, and I. Lobos Ortega. 2011. The mineral composition (Ca, P, Mg, K, Na) in cheeses (cow's, ewe's and goat's) with different ripening times using near infrared spectroscopy with a fibre-optic probe. *Food Chemistry* 127(1):147–152.
- González-Martín, M. I., O. Escuredo, I. Revilla, A. M. Vivar-Quintana, M. Carmen Coello, C. P. Riocerezo, and G. W. Moncada. 2015. Determination of the mineral composition and toxic element contents of propolis by near infrared spectroscopy. *Sensors (Switzerland)* 15(11):27854–27868.
- Hicks Pries, C. E., R. Ryals, B. Zhu, K. Min, A. Cooper, S. Goldsmith, J. Pett-Ridge, M. Torn, and A. A. Berhe. 2024. The Deep Soil Organic Carbon Response to Global Change. *Annual Review of Ecology* 20 (2024):56.
- Javadi, S. H., M. A. Munnaf, and A. M. Mouazen. 2021. Fusion of Vis-NIR and XRF spectra

- for estimation of key soil attributes. *Geoderma* 385(November 2020).
- Kononova, M. M. 1963. *Organičeskoje veščestvo počvy: jeho priroda, svojstva i metody izucenija*. Moskva: AN SSSR.
- Leone, A. P., R. A. Viscarra-Rossel, P. Amenta, and A. Buondonno. 2012. Prediction of Soil Properties with PLSR and vis-NIR Spectroscopy: Application to Mediterranean Soils from Southern Italy. *Current Analytical Chemistry* 8(2):283–299.
- De Maesschalck, R., D. Jouan-Rimbaud, and D. L. Massart. 2000. The Mahalanobis distance. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 50(1):1–18.
- Mahalanobis, P. C. 1936. On the Generalized Distance in Statistics. *Proceedings of the National Institute of Science of India* 2 (1936):49–55.
- Mahmood, S., M. R. Nunes, D. A. Kane, and Y. Lin. 2023. Soil health explains the yield-stabilizing effects of soil organic matter under drought. *Soil & Environmental Health* 1(4):100048.
- Menšík, L., E. Kunzová, L. Hlisnikovský, P. Nerušil, Hangen E., and Schilling B. 2022. Vývoj kalibračních rovnic pro stanovení obsahu uhlíku, dusíku a rizikových prvků v půdě v česko-bavorském příhraničí pomocí techniky NIRS. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
- Míka, V., P. Nerušil, and A. Kohoutek. 2008. Spektroskopie v blízké infračervené oblasti (NIR). Výběr praktických aplikací v zemědělství. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha 6 - Ruzyně.
- Munnaf, M. A., and A. M. Mouazen. 2021. Development of a soil fertility index using on-line Vis-NIR spectroscopy. *Computers and Electronics in Agriculture* 188 (September 2021):106341.
- Nelson, D. W., and L. E. Sommers. 1996. Total carbon, organic carbon, and organic matter. *In Methods of Soil Analysis. Part 3*, ed. D. L. et al. Sparks, 961–1010.
- Rahul Datta, Ram Swaroop Meena, Shamina Imran Pathan, and Maria Teresa Ceccherini. 2020. *Carbon and Nitrogen Cycling in Soil*. Singapore: Springer Singapore.
- Recena, R., V. M. Fernández-Cabanás, and A. Delgado. 2019. Soil fertility assessment by Vis-NIR spectroscopy: Predicting soil functioning rather than availability indices. *Geoderma* 337(March 2018):368–374.
- Reda, R., T. Saffaj, H. Derrouz, S. E. Itqiq, I. Bouzida, O. Saidi, B. Lakssir, and E. M. El Hadrami. 2021. Comparing CalReg performance with other multivariate methods for estimating selected soil properties from Moroccan agricultural regions using NIR spectroscopy. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 211 (April 15, 2021).
- Ribeiro, S. G., M. R. R. de Oliveira, L. M. Lopes, M. C. G. Costa, R. S. Toma, I. C. da S. Araújo, L. C. J. Moreira, and A. D. S. Teixeira. 2023. Reflectance spectroscopy in the prediction of soil organic carbon associated with humic substances. *Revista Brasileira de Ciencia do Solo* 47 (2023):1–22.
- Safanelli, J. L., T. Hengl, L. L. Parente, R. Minarik, D. E. Bloom, K. Todd-Brown, A. Gholizadeh, W. de S. Mendes, and J. Sanderman. 2025. Open Soil Spectral Library (OSSL): Building reproducible soil calibration models through open development and community engagement. *PLOS ONE* 20(1):e0296545.
- de Santana, F. B., L. O. de Giuseppe, A. M. de Souza, and R. J. Poppi. 2019. Removing the moisture effect in soil organic matter determination using NIR spectroscopy and PLSR with external parameter orthogonalization. *Microchemical Journal* 145(October 2018):1094–1101.
- Sepúlveda, M. de los Á., M. Hidalgo, J. Araya, M. Casanova, C. Muñoz, S. Doetterl, D. Wasner, B. Colpaert, S. Bodé, P. Boeckx, and E. Zagal. 2021. Near-infrared spectroscopy: Alternative method for assessment of stable carbon isotopes in various soil profiles in Chile. *Geoderma Regional* 25 (2021).

- Sims, J. R., and V. A. Haby. 1971. Simplified colorimetric determination of soil organic matter. *Soil Science* 112 (1971):137–141.
- Tajik, S., S. Ayoubi, and M. Zeraatpisheh. 2020. Digital mapping of soil organic carbon using ensemble learning model in Mollisols of Hyrcanian forests, northern Iran. *Geoderma Regional* 20 (March 2020):e00256.
- Tang, B., K. S. Rocci, A. Lehmann, and M. C. Rillig. 2023. Nitrogen increases soil organic carbon accrual and alters its functionality. *Global Change Biology* 29(7):1971–1983.
- Wood, S. A., and J. C. Blankinship. 2022. Making soil health science practical: guiding research for agronomic and environmental benefits. *Soil Biology and Biochemistry* 172 (September 2022):108776.

### **Poděkování**

Příspěvek byl zpracován v rámci finanční podpory MZe ČR a je výstupem projektu NAZV QK21010124 (70 %) a dále i řešením institucionální podpory MZE-RO0425 (30 %).

### **Kontaktní adresa**

Ladislav Menšík, Ing., Ph.D.

Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i., Odbor systémů hospodaření na půdě, VS Jevíčko

Drnovská 507/73, 161 00 Praha – Ruzyně, Česká republika

ladislav.mensik@carc.cz, +420 461 327 814

## Zajímavé faktory ovlivňující kvalitu sladu

### Interesting factors influencing malt quality

Psota, V.<sup>1</sup>, Garčárová, M.<sup>1</sup>, Martinek, P.<sup>2</sup>, Zavřelová, M.<sup>2</sup>, Benešová, K.<sup>1</sup>, Mikyška, A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s., <sup>2</sup>Agrotest fyto, s.r.o.

#### Abstrakt

Tato případová studie se zaměřuje na komparativní analýzu kvality sladů vyrobených ze dvou odrůd ozimé pšenice: Dagmar, charakterizované žlutou až zlatavou barvou obilky, a AF Zora, s černým zrnem určeným pro speciální využití. Hodnocení zahrnovalo klíčové technologické a biochemické parametry, včetně obsahu extraktu, diastatické mohutnosti, dosažitelného stupně prokvašení, koncentrace volné a vázané kyseliny ferulové, tokoferolů a tokotrienolů, dusíkatých látek a senzorických vlastností sladiny. Výsledky prokázaly významné rozdíly mezi odrůdami: odrůda Dagmar vykazovala vyšší obsah extraktu a antioxidační kapacitu, zatímco odrůda AF Zora disponovala vyšší enzymatickou aktivitou a fenolickým potenciálem.

**Klíčová slova:** ozimá pšenice, sladovnická kvalita, fenolické sloučeniny, vitamin E, rostlinné pigmenty

#### Abstract

This case study focuses on a comparative analysis of malt quality produced from two winter wheat varieties: Dagmar, characterized by a yellow to golden grain color, and AF Zora, with black kernels intended for specialized applications. The evaluation included key technological and biochemical parameters such as extract content, diastatic power, apparent final attenuation, concentrations of free and bound ferulic acid, tocopherols and tocotrienols, nitrogenous compounds, and the sensory properties of wort. The results revealed significant differences between the varieties: Dagmar exhibited higher extract content and antioxidant capacity, whereas AF Zora demonstrated greater enzymatic activity and phenolic potential.

**Keywords:** winter wheat, malting quality, phenolic compounds, vitamin E, plant pigments

#### Úvod

Potravinu s vysokým obsahem antioxidantů jsou dlouhodobě spojovány se zdravotními přínosy, jako je snížení rizika chronických onemocnění, zlepšení metabolických funkcí a podpora imunity. Mezi tyto látky patří zejména antokyany, které se vyskytují v barevných obilovinách, včetně „černé“ pšenice (Abdel-Aal et al. 2006). Tato surovina je známá nejen vysokým obsahem antokyaninů, ale také antiobezitními, hypoglykemickými a prebiotickými vlastnostmi. Studie Tsuda et al. (2003) prokázala, že cyanidin-3-glukosid z purpurové kukuřice může předcházet obezitě a ovlivňovat hladinu glukózy v krvi.

Výroba sladu a piva z černého zrna pšenice tak může představovat nový směr v oblasti funkčních nápojů, které kombinují tradiční senzorické vlastnosti s nutričním přínosem. Pšeničný slad je přitom klíčovou surovinou pro výrobu tradičních piv typu Weizen a Witbier, kde je žádoucí specifický fenolický profil, vyšší podíl bílkovin a dobrá pěnovost.

Kvalita sladu je ovlivněna jak genetickými vlastnostmi odrůdy, tak technologickým postupem sladování. Mezi nejvýznamnější parametry patří:

- enzymatická aktivita (diastatická mohutnost),
- obsah dusíkatých látek (včetně rozpustného dusíku),
- obsah fenolických kyselin, zejména kyseliny ferulové, která je prekurzorem 4-vinylguajakolu, sloučeniny odpovědné za typické hřebíčkové aroma pšeničných piv (Coghe et al., 2004, Cui et al., 2015, Lentz 2018),
- obsah antioxidantů, jako jsou tokoferoly a tokotrienoly, které přispívají k oxidační stabilitě piva (Carvalho et al., 2016).

Obsah těchto bioaktivních látek je ovlivněn nejen odrůdou, ale také délkou klíčení, stupněm domočení a teplotou sladování. Například vyšší teploty při hvozdění mohou vést k degradaci tokoferolů, zatímco nižší teploty napomáhají jejich zachování (Samaras et al., 2005, Carvalho et al., 2016).

Zajímavým fenotypovým znakem některých odrůd pšenice je černá barva obilky, která může souviset s přítomností melaninových pigmentů. Studie Shoeva et al. (2020) prokázala, že melanin v ječmeni vzniká v plastidech perikarpu a pluchy, kde se hromadí během zrání zrna. Tyto pigmenty jsou nerozpustné ve vodě, ale mohou přispívat k ochraně zrna a odolnosti vůči UV záření.

Cílem této případové studie je porovnat vybrané znaky dvou odrůd ozimé pšenice – Dagmar a AF Zora – s odlišnou barvou zrna na základě jednorázového měření a na základě dosažených výsledků odhadnout jejich využití v pivovarské praxi. Studie se zaměřuje na technologické parametry sladu, senzorické vlastnosti sladiny, antioxidační profil a obsah fenolických látek.

## **Materiál a metody**

### Původ odrůd

Odrůda Dagmar (Apache × Nela) byla vyšlechtěna ve šlechtitelské stanici firmy Limagrain Česká republika, s. r. o. v Hrubčicích. Odrůda AF Zora ((Skorpion × Bohemia) × (Indigo × Bohemia)) s černou obilkou, kterou tvoří modrá aleuronová vrstva a purpurový perikarp, byla vyšlechtěna firmou Agrotest Fyto, s. r. o. v Kroměříži.

### Analýzy zrna pšenice a sladu

Experiment zahrnoval porovnání dvou odrůd pšenice (Dagmar a AF Zora) z hlediska vlastností nesladovaného zrna a sladu. Sledované parametry zahrnovaly: obsah vody, zákal sladiny, viskozitu, pH, dosažitelný stupeň prokvašení, diastatickou mohutnost, obsah dusíkatých látek, extraktivnost, friabilitu, obsah polyfenolů, tokoferolů, tokotrienolů a kyseliny ferulové.

Analýza zrna, mikrosladování a následné analýzy sladu byly provedeny podle metodik MEBAK (2011, 2018), EBC Analysis Committee (2010), Běláková et al. (2010) a Benešová et al. (2014).

Bylo provedeno jednorázové měření vybraných znaků u dvou odrůd ozimé pšenice s kontrastní barvou obilky. Výsledky jsou prezentovány formou případové studie. Vzhledem k tomu, že měření proběhlo bez replikace, nelze provést statistické vyhodnocení. Přesto rozdíly mezi odrůdami poskytují zajímavý pohled na kvalitu sladu.

## **Výsledky**

V rámci hodnocení sladovnické kvality vzorků odrůd pšenice Dagmar a AF Zora byly sledovány fyzikální, chemické, enzymatické a senzorické parametry jak u nesladovaného zrna (tab. 1), tak u výsledného sladu (tab. 2). Výsledky ukazují výrazné rozdíly mezi odrůdami, které ovlivňují jejich vhodnost pro různé typy pív.

### Fyzikální a senzorické vlastnosti

Odrůda AF Zora se vyznačuje černou barvou obilky, která ji fenotypově odlišuje od běžných odrůd pšenice. Sladina ze vzorku této odrůdy vykazovala výrazně lepší čirost než vzorek odrůdy Dagmar – zákal při 12° EBC činil 0,89 (AF Zora) oproti 3,44 (Dagmar), při 90° EBC pak 0,84 vs. 2,51. Barva sladiny byla u vzorku odrůdy AF Zora tmavší (5,0 EBC) než u vzorku odrůdy Dagmar (4,0 EBC), stejně tak barva po povaření (7,0 vs. 6,1 EBC). Vůně sladiny byla u vzorku odrůdy Dagmar slabě sladová, zatímco u vzorku odrůdy AF Zora obilná.

Tab. 1 Analýza nesladovaného zrna

		Dagmar	AF ZORA
Obsah vody	%	11.4	11.8
Dusíkaté látky v sušině	%	12.40	15.56
Objemová hmotnost přístrojem GAC 2100	kg	85.6	78.3
Energie klíčení	%	99	93
Index klíčení		8,1	8,1
Rychlost klíčení	%	89	85
Číslo poklesu	s	442	302
beta-tokotrienol	mg/kg	30.2	15.0
alfa-tokotrienol	mg/kg	3.1	3.2
beta-tokoferol	mg/kg	2.6	2.4
alfa-tokoferol	mg/kg	4.6	4.7
suma izomerů	mg/kg	40.6	25.3
Obsah kyseliny ferulové volné	mg/kg	3.0	3.5
Obsah kyseliny ferulové vázané	mg/kg	431.7	792.9

Tab. 2 Analýza sladu

		Dagmar	AF ZORA
Obsah vody	%	4.82	4.77
Zákal 12°	j.EBC	3.44	0.89
Zákal 90°	j.EBC	2.51	0.84
Vůně sladiny		sladová slabá	obilná
Viskozita 8,6 %	mPa.s	1.832	1.872
pH sladiny		6.01	6.06
Dosažitelný stupeň prokvašení	%	71.7	79.3
Diastatická mohutnost	j. WK	261	393
Alfa-aminodusík	mg/l	150	184
Beta - glukany (sladina)	mg/l	124	98
Extrakt moučky v sušině	%	84.9	80.0
RE 45 °C	%	35.3	37.1
Barva sladiny EBC	j.EBC	4.0	5.0
Barva po povaření EBC	j.EBC	6.1	7.0
Dusíkaté látky v sušině	%	11.87	15.34
Celkový dusík v sušině	%	2.08	2.69
Kolbachovo číslo	%	40.9	35.0
Rozpustné dusíkaté látky	%	4.9	5.4
Rozpustný dusík	mg/100g	851	941
Rozpustný dusík	mg/100ml	94.6	105.0
Friabilita	%	26.9	38.2
Obsah celkových polyfenolů	%	44.0	47.0
beta-tokotrienol	mg/kg	15.7	8.9
alfa-tokotrienol	mg/kg	2.9	3.3
beta-tokoferol	mg/kg	1.6	1.9
alfa-tokoferol	mg/kg	4.2	5.2
suma izomerů	mg/kg	24.5	19.4
Obsah kyseliny ferulové volné	mg/kg	7.6	12.8
Obsah kyseliny ferulové vázané	mg/kg	706.0	685.2

### Enzymatická aktivita a fermentační potenciál

Vzorek odrůdy AF Zora dosáhl vysoké diastatické mohutnosti (393 j. WK) a dosažitelného stupně prokvašení (79,3 %). Partie sladu s touto kvalitou je vhodná pro výrobu piv s lehčím tělem a vyšší úrovní prokvašení. Naproti tomu vzorek odrůdy Dagmar vykazoval nižší enzymatickou aktivitu (261 j. WK) i dosažitelný stupeň prokvašení (71,7 %). Slad této kvality by poskytl pivo s plnějším chuťovým profilem.

### Obsah extraktu a modifikace bílkovin

Vzorek odrůdy Dagmar vykázal vyšší obsah extraktu v sušině sladu (84,9 %) a vyšší úroveň modifikace bílkovin (Kolbachovo číslo 40,9 %), což je výhodné pro tvorbu stabilní pěny a senzorickou čistotu piva. Vzorek odrůdy AF Zora měl nižší obsah extraktu v sušině sladu (80,0 %) a vyšší obsah dusíkatých látek ve sladu (15,34 %). Vysoký obsah dusíkatých látek byl příčinou nižší extraktivnosti. Partie sladu s tak vysokým obsahem dusíkatých látek může vést k vyššímu riziku zákalu sladiny, což se v tomto případě nepotvrdilo.

### Antioxidanty a fenolické látky

Vzorek odrůdy Dagmar měl výrazně vyšší obsah  $\beta$ -tokotrienolu ve sladu (15,7 mg/kg) i v zrna (30,2 mg/kg), což přispívá k vyšší antioxidační stabilitě. Suma tokoferolů a tokotrienolů byla u vzorku odrůdy Dagmar 24,5 mg/kg, zatímco u odrůdy AF Zora 19,4 mg/kg.

Naopak vzorek odrůdy AF Zora vykazoval vyšší obsah volné kyseliny ferulové ve sladu (12,8 mg/kg oproti 7,6 mg/kg u Dagmar), což zvyšuje potenciál pro tvorbu fenolických tónů (např. Carvalho íček) typických pro piva typu **Weizen** nebo **Witbier**.

### **Diskuze**

Výsledky ukazují, že oba vzorky obou odrůd měly specifické přednosti. Partie sladu s takovými vlastnostmi jsou předurčeny pro odlišné pivovarské účely. Vzorek odrůdy Dagmar by byl vhodný pro výrobu pšeničných ležáků, exportních piv a piv s delší trvanlivostí, kde je žádoucí vyšší výtěžnost, neutrální sensorický profil a antioxidační stabilita. Naproti tomu vzorek odrůdy AF Zora by byl ideální pro tradiční svrchně kvašená pšeničná piva.

Zvláštní pozornost si zaslouží černá barva obilky u vzorku odrůdy AF Zora. Tento fenotyp může být spojen s přítomností melaninových pigmentů, jak bylo popsáno ve studii Häge et al. (2024), která identifikovala melaniny v ječmeni jako nerozpustné pigmenty lokalizované v obalových vrstvách zrna. Melaniny slouží jako ochrana proti UV záření a mohou přispět k vyšší odolnosti zrna vůči stresu. Na rozdíl od antokyaninů, které jsou rozpustné a mohou ovlivnit barvu piva, melaniny se do barvy piva nepřenášejí, ale mohou ovlivnit stabilitu sladu.

Z hlediska sladovnické technologie je odrůda pšenice AF Zora a jí podobné odrůdy zajímavá i díky obsahu antokyaninů, jak ukazuje studie Singh et al. (2023), která prokázala, že slad z černého zrna pšenice může být bohatý na bioaktivní látky a vhodný pro výrobu nutričně hodnotného piva. Výsledné pivo by mohlo mít vyšší obsah fenolických látek, lepší sensorické hodnocení a potenciál pro komerční využití.

Vzhledem k těmto poznatkům lze doporučit další výzkum zaměřený na experimentální sladování pšenice s černým zrnem, sledování enzymatické aktivity, modifikace bílkovin a vlivu pigmentů na stabilitu a sensoriku piva. Barevná zrna pšenice, ale i ječmene (Häge et al., 2024) představují nový směr ve vývoji speciálních sladů, které mohou obohatit pivovarskou nabídku o produkty s vyšší nutriční hodnotou a unikátními organoleptickými vlastnostmi.

## Závěr

V této případové studii byly analyzovány vzorky dvou odrůd ozimé pšenice – Dagmar a AF Zora – s cílem posoudit jejich sladovnické vlastnosti a potenciál pro pivovarské využití. Výsledky ukázaly, že vzorek odrůdy Dagmar měl vyšší obsah extraktu, lepší modifikaci bílkovin a vyšší obsah antioxidantů. Naproti tomu vzorek odrůdy AF Zora vykazoval vyšší enzymatickou aktivitu, vyšší stupeň prokvašení a vyšší obsah volné kyseliny ferulové. Zjištěné rozdíly mezi vzorky potvrdily, že technologické vlastnosti sladu se mohou výrazně lišit v závislosti na genetickém pozadí a fenotypových znacích odrůdy. Vzorek odrůdy AF Zora vykazoval znaky, které naznačují jeho vhodnost pro výrobu piv s typickými fenolickými tóny (např. hřebíček).

Práce přinesla praktický přínos pro sladovny a pivovary, které hledají nové suroviny pro výrobu speciálních piv. Zároveň má teoretický přínos v oblasti výzkumu bioaktivních látek v obilovinách, zejména antokyaninů a melaninů, a jejich vlivu na kvalitu sladu a piva. Pro další výzkum se nabízí možnost opakovaného mikrosladování s různými parametry klíčení a hvozdění, pilotní výroby piva z obou odrůd a smyslové analýzy výsledných produktů.

Závěrem je třeba zdůraznit, že výsledky této studie se vztahují výhradně ke konkrétním vzorkům použitým v experimentu a nelze je bez dalšího ověřování zobecňovat na celou odrůdu.

## Literatura

- Abdel-Aal, E.-S.M., Young, J.C. & Rabalski, I., 2006. Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple, and red cereal grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(13), pp.4696–4704.
- Běláková, S., Benešová, K., Mikulíková, R. and Svoboda, Z., 2010. Sledování změn obsahu ferulové kyseliny v pivovarských surovinách metodou UPLC s PDA detekcí. *Kvasný Průmysl*, 56(6), pp.266–269. <https://doi.org/10.18832/kp2010032>
- Benešová, K., Hartman, I., Běláková, S. and Mikulíková, R., 2014. Charakteristika ječného sladu pomocí HPLC. *Chemické Listy*, 108(10), pp.961–966. <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/451>
- Carvalho, D.O., Gonçalves, L.M. & Guido, L.F. (2016) Overall antioxidant properties of malt and how they are influenced by the individual constituents of barley and the malting process. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(6), pp.1307–1328. doi:10.1111/1541-4337.12212.
- Coghe, S., Benoot, K., Delvaux, F., Vanderhaeghen, B. & Delvaux, F.R. (2004) Ferulic acid release and 4-vinylguaiacol formation during brewing and fermentation: indications for feruloyl esterase activity in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(3), pp.602–608. doi:10.1021/jf0346556.
- Cui, Y., Cui, Y., Wang, A., Zhang, Z. & Speers, R.A. (2015) Enhancing the levels of 4-vinylguaiacol and 4-vinylphenol in pilot-scale top-fermented wheat beers by response surface methodology. *Journal of the Institute of Brewing*, 121(1), pp.189–198. doi:10.1002/jib.189.
- EBC Analysis Committee, 2010. Fachverlag Hans Carl, Nuremberg, 794 p. ISBN 978-3-418-00759-5.
- Häge, D., Linde, B., Krause, B., Reichenbacher, M., Bernhard, M., Schneider, K. & Zarnkow, M., 2024. Identification of colouring substances in barley. *Brauwelt International*, 42(4), pp.198–202.
- Lentz, M. (2018) The impact of simple phenolic compounds on beer aroma and flavor. *Fermentation*, 4(1), 20. doi:10.3390/fermentation4010020.
- MEBAK, 2011. Raw Materials: barley, adjuncts, malt, hops and hop products. Collection of brewing analysis methods of the Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission (MEBAK), Freising-Weihenstephan.

- MEBAK, 2018. Mitteleuropäische Brautechnische Analysenmethoden. Freising-Weihenstephan.
- Samaras, T.S., Camburn, P.A., Chandra, S.X., Gordon, M.H. & Ames, J.M. (2005) Antioxidant properties of kilned and roasted malts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(20), pp.8068–8074. doi:10.1021/jf051410f.
- Shoeva, O.Y., Mursalimov, S.R., Gracheva, N.V., Glagoleva, A.Y., Börner, A. & Khlestkina, E.K., 2020. Melanin formation in barley grain occurs within plastids of pericarp and husk cells. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-32687-1>.
- Singh, A., Singh, S., Kansal, S.K., Garg, M. & Krishania, M., 2023. Production and characterization of anthocyanin-rich beer from black wheat by an efficient isolate *Saccharomyces cerevisiae* CMS12. *Scientific Reports*. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-32687-1>.
- Tsuda, T., Horio, F., Uchida, K., Aoki, H. and Osawa, T., 2003. Dietary cyanidin 3-O-β-D-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice. *The Journal of Nutrition*, 133(7), pp.2125–2130. <https://doi.org/10.1093/jn/133.7.2125>

### **Poděkování**

Předložená případová studie byla podpořena Ministerstvem zemědělství České republiky v rámci institucionální podpory MZE-RO1923 a v rámci projektu QL24010230.

### **Kontaktní adresa**

Ing. Vratislav PSOTA, CSc.  
Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s.  
Mostecká 971/7, 614 00 Brno  
0420 773 767 788, [psota@beerresearch.cz](mailto:psota@beerresearch.cz)

## Charakterizace zahradního odpadu pro účely následné peletizace

Characterization of garden waste for the purposes of subsequent pelletization

*Sýkorová V.<sup>1,2</sup>, Jezerská L.<sup>1</sup>, Prokeš R.<sup>1</sup>, Gelnar D.<sup>1</sup>, Židek M.<sup>1</sup>, Derbenev A.<sup>1,2</sup>*

*<sup>1</sup>VŠB-TU Ostrava, CEET, ENET, Výzkumná skupina sypkých hmot, 17. listopadu 2172/15, 70800 Ostrava, ČR, <sup>2</sup>VŠB-TU Ostrava, Fakulta strojní, Katedra energetiky, 17. listopadu 2172/15, 70800 Ostrava, ČR*

### Abstrakt

Výzkum se zabývá charakterizací zahradního odpadu, který byl tvořen zejména listím ze stromů a keřů, pro účely jeho následné peletizace. Pro energetické využití biologicky rozložitelného odpadu je potřeba tento odpad vhodně zpracovávat. Byly provedeny experimentální zkoušky zaměřené na frakční složení a mechanicko-fyzikální vlastnosti materiálu. Zahradní odpad byl na základě hodnot sypného úhlu, sypné a setřesné hustoty klasifikován jako volně sypný materiál, dle kompresibility jako vysoce kompresibilní materiál, což je příznivé pro proces peletizace a podle úhlu vnitřního tření jako lehce tekoucí materiál. Frakční analýza prokázala převahu jemnějších částic, které usnadňují formování pelet. Připravené pelety vykazovaly vysokou mechanickou odolnost, dostatečnou pevnost a zároveň vyhovující odolnost proti absorpci vody, což potvrzuje vhodnost zahradního odpadu jako vstupní suroviny pro výrobu pelet jako biopaliva.

**Klíčová slova:** Biomasa, tokovost, pelety, mechanicko-fyzikální vlastnosti

### Abstract

The research deals with the characterization of garden waste, which mainly consisted of leaves from trees and shrubs, for the purposes of its subsequent pelletization. For the energy utilization of biodegradable waste, this waste needs to be processed appropriately. Experimental tests were carried out focusing on the fractional composition and mechanical-physical properties of the material. Based on the values of the angle of repose, bulk and tap density, garden waste was classified as a fair to passable flowing material, according to compressibility as highly compressible, which is favorable for the pelletization process and according to the angle of internal friction as easy flowing material. Fractional analysis demonstrated the predominance of finer particles, which facilitate the formation of pellets. The prepared pellets showed high mechanical resistance, sufficient hardness and satisfactory resistance to water absorption, which confirms the suitability of garden waste as an input material for the production of pellets as biofuel.

**Keywords:** Biomass, flowability, pellets, mechanical-physical properties

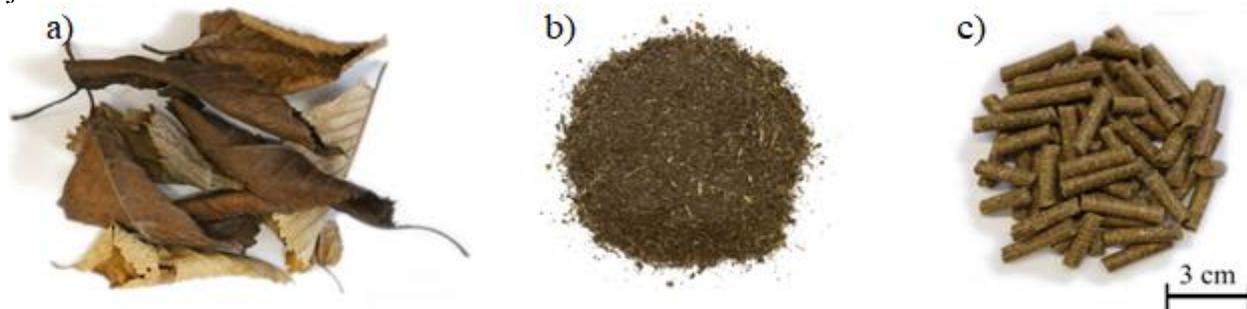
### Úvod

V dnešní době je kladen důraz na snižování emisí skleníkových plynů a zvyšování energetické efektivity. Biomasa jako obnovitelný zdroj energie je vhodnou vstupní surovinou pro výrobu alternativních paliv (Sykorova a kol., 2024). Biomasa je uhlíkově neutrální, protože během spalovacího procesu se uvolňuje CO<sub>2</sub>, který byl rostlinou vstřebáván během jejího růstu (Garcia a kol., 2019). Mezi dostupné formy biomasy lze zahrnout i zahradní odpad, který má potenciál pro energetické využití (Gutiérrez a Pérez, 2025). Při vhodné úpravě, jako je sušení, mletí a frakční třídění, lze tento materiál peletizovat. Pelety mají výhodné vlastnosti při skladování a manipulaci, dobrou výhřevnost a homogenní mechanické vlastnosti (Mašán a kol., 2023). Výhřevnost pelet z listí se pohybuje v rozmezí 13 až 20 MJ/kg (Pňakovič a Dzurenda, 2015). Tokovost materiálu je důležitá pro kontinuální podávání materiálu v peletizačních zařízeních. Hodnoty jako Hausnerův poměr či Carrův index jsou běžně využívány k hodnocení režimu toku materiálu (Dikici a kol., 2024). Materiály s horší tokovostí, která může být způsobena například vyšší vlhkostí, mohou vést ke zhoršené práci zařízení, vyšší spotřebě energie a komplikovanějšímu transportu a špatné manipulaci (Lu a kol., 2023). Důležitým parametrem, který ovlivňuje kvalitu vyrobených pelet je velikost částic.

Nejvhodnější pro výrobu kvalitních pelet je široká škála velikostí částic. Příliš velké množství jemných částic (menších než 0,5 mm v průměru) může mít negativní vliv na tření a kvalitu pelet (Lisowski a kol., 2020). Mechanická odolnost a pevnost pelet jsou dalšími velmi důležitými parametry pro jejich praktické využití. Pelety s nižší trvanlivostí (pod 96,5%) mohou vést k problémům se skladováním a přepravou. Mechanická odolnost pelet závisí na několika důležitých faktorech, mezi které patří použitý materiál, procesy a zařízení použité pro výrobu pelet a peletizační podmínky (Rupasinghe a kol., 2024). Odolnost proti absorpci vody je další důležitý aspekt. Vysoká schopnost materiálu absorbovat vlhkost může vést ke snížení pevnosti a ke zvýšené degradaci pelet při skladování (Matkowski a kol., 2020). Materiály s vyšší pórovitostí jsou většinou více náchylné k absorpci vlhkosti (Anisimov a kol., 2023). Literatura rovněž zdůrazňuje vliv vlhkosti vstupního materiálu a podmínek sušení. Materiál s optimální vlhkostí (10 %) zpravidla vede k vyšší kvalitě pelet, lepší pevnosti, mechanické odolnosti a menšímu rozkladu během skladování. Vlhkost pelet pod 5% mají nízkou pevnost a jsou křehké. Naopak vlhkost nad 15% může pelety poškozovat během skladování (Ungureanu a kol., 2018). Přestože existuje celá řada studií, které se věnují vlastnostem běžné biomasy (dřevo, sláma, seno, zemědělské zbytky atd.), méně je těch, které se soustředí přímo na zahradní odpad složený převážně z listí stromů a keřů. V kontextu peletizace je proto nezbytné přesně charakterizovat takový materiál z hlediska tokovosti a mechanicko-fyzikálních vlastností, aby bylo možné posoudit jeho skutečnou vhodnost jako alternativního paliva.

### Materiály a metody

Pro tento výzkum byl jako vstupní materiál vybrán zahradní odpad, který se skládal převážně z listí stromů a keřů (Obrázek 1a). Sběr materiálu proběhl na podzim roku 2024. Nasbírané listí bylo nasušeno a vlhkost byla změřena na halogenovém vlhkoměru HG63 (Mettler Toledo, Švýcarsko) při teplotě 110°C. Vstupní materiál byl nadrcen na kladívkovém drtiči (Kovo Novák, Česká republika). Nadrcené listí je na Obrázku 1b. Dalším krokem byla peletizace připraveného materiálu na peletizačním lisu Stiler KL200C (Stiler, Polsko). Výsledné pelety jsou na Obrázku 1c.



Obrázek 1: Listí ze stromů a keřů (a), nadrcené listí (b), pelety z listí (c).

Pro nadrcený vstupní materiál byl změřen sypný úhel. Měřený materiál byl sypán přes vibrační dopravník na misku, kde vznikl tvar kužele. Kužel byl vyfotografován z osmi stran a pomocí programu eScope vyhodnocen. Výsledný sypný úhel byl průměrem všech naměřených hodnot. Setřesná a sypná hustota byly naměřeny na analyzátoru setřesné hustoty Ultratap 500 (Anton Paar, Rakousko). Setřesná hustota se získala skleпáváním odměrného válce s materiálem. Po zaznamenání původního objemu byl válec skleпáván, dokud byly pozorovány změny objemu.

Podle setřesné a sypné hustoty byl vypočítán Hausnerův poměr (rovnice 1) a Carrův index (rovnice 2).

$$HR = \frac{\rho_t}{\rho_b} [-] \quad (1)$$

$$CI = \frac{\rho_t - \rho_b}{\rho_t} \cdot 100 [\%] \quad (2)$$

$\rho_t$  – setřesná hustota [kg/m<sup>3</sup>]

$\rho_b$  – sypná hustota [kg/m<sup>3</sup>]

Podle sypného úhlu, Hausnerova poměru a Carrova indexu byl materiál zařazen do režimu tokovosti (Tabulka 1).

Tabulka 1: Režimy toku pro sypké materiály podle individuálních kritérií.

Režim toku	Sypný úhel [°]	Hausnerův poměr [-]	Carrův index [%]
Volně tekoucí	25 – 30	1,00 – 1,11	1 – 10
Lehce tekoucí	31 – 35	1,12 – 1,18	10 – 15
Tekoucí	36 – 40	1,19 – 1,25	16 – 20
Volně sypný	41 – 45	1,26 – 1,34	21 – 25
Kohezivní	46 – 55	1,35 – 1,45	26 – 31
Velmi kohezivní	56 – 65	1,46 – 1,59	32 – 37
Extrémně kohezivní	> 66	>1,6	>38

Pro vstupní materiál byla naměřena tokovost dle ffc (Jenikeho toková funkce), která koresponduje se schopností prášku téct. Pro výpočet tokovosti dle ffc byly využity hodnoty získané ze smykové zkoušky na práškovém reometru (Freeman Technology, UK). Výpočet ffc byl proveden dle rovnice 3.

$$ffc = \frac{\sigma_1}{\sigma_c} [-] \quad (3)$$

$\sigma_1$  – hlavní normálové napětí [kPa]

$\sigma_c$  – smyková pevnost [kPa]

Pro vstupní materiál byla naměřena distribuce velikosti částic pomocí sítové analýzy na vibrační prosévačce Fritsch 3 Spartan (Fritsch, Německo). Byla využita síta o velikosti ok 63, 200, 500, 1000, 1400, 2000 a 2500  $\mu\text{m}$ .

Další vlastnosti vstupního materiálu, které byly charakterizovány jsou kompresibilita, úhel vnitřního tření a tokovost. Tyto parametry byly naměřeny na práškovém reometru Freeman (Freeman Technology, UK).

Pelety byly vyrobeny na peletizačním lisu Stiler (Stiler, Polsko). Průměr vyrobených pelet ze zahradního odpadu byl 6 cm. Princip peletování spočívá v protlačování materiálu skrz matici pomocí rolny. Teplota se postupně zvyšuje v důsledku tření mezi maticí a biomasou a mezi částicemi, dokud není dosaženo stabilní teploty peletizace.

Pro výsledné pelety ze zahradního odpadu byla měřena pevnost na tvrdoměru Kahl (Amandus Kahl, Německo), mechanická odolnost na NHP 100 (Holmen, UK), sypná hustota pelet byla měřena pomocí odměrného válce, měrná hustota na váze Mettler Toledo (Mettler Toledo, Švýcarsko) a index smáčivosti byl měřen pomocí testu, kdy byly pelety ponořeny do vody po dobu 60 s při teplotě 27°C. Pro vyrobené pelety byla naměřena také vlhkost (Mettler Toledo, Švýcarsko) při teplotě 110°C.

Všechny experimenty a měření jak na vstupním materiálu, tak na vyrobených peletách proběhly v roce 2025.

### Výsledky

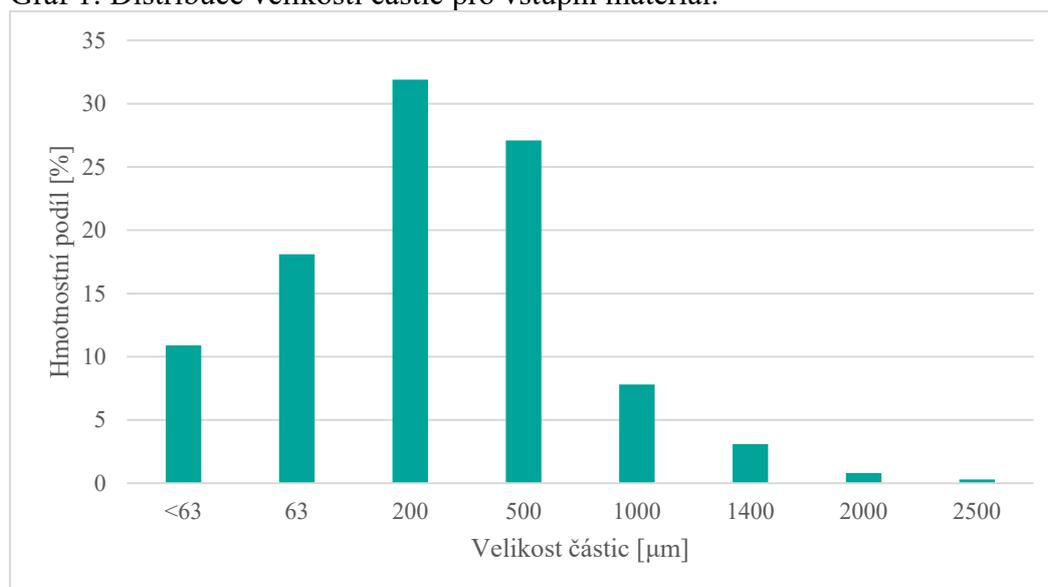
Výsledky charakterizace vstupního materiálu podle různých parametrů jsou uvedeny v Tabulce 2. Vlhkost vstupního materiálu po sušení byla 9,20%. Sypný úhel je 46°, což značí volně sypný materiál. Sypná hustota je 179 kg/m<sup>3</sup> a setřesná hustota 229 kg/m<sup>3</sup>. Z těchto dvou hodnot byl vypočítán Hausnerův poměr, který vychází 1,28 a Carrův index, jehož hodnota je 21,83 %. Dle těchto hodnot byl zahradní odpad zařazen mezi volně sypné materiály. Kompresibilita je 27,44 % a tudíž se jedná o vysoce kompresibilní materiál. Úhel vnitřního tření je 44,52°. Tokovost dle ffc je 5,64 a jedná se o lehce tekoucí materiál. Úhel vnějšího tření pro zahradní odpad je 14,7°.

Tabulka 2: Výsledné hodnoty charakterizace vstupního materiálu podle různých parametrů.

Parametr	Hodnota	Charakterizace
Vlhkost [%]	9,20	-
Sypný úhel [°]	46	Volně sypný materiál
Sypná hustota [kg/m <sup>3</sup> ]	179	-
Setřesná hustota [kg/m <sup>3</sup> ]	229	-
Hausnerův poměr [-]	1,28	Volně sypný materiál
Carrův index [%]	21,83	Volně sypný materiál
Kompresibilita [%]	27,44	Vysoce kompresibilní materiál
Úhel vnitřního tření [°]	44,52	-
Tokovost dle ffc [-]	5,64	Lehce tekoucí materiál
Úhel vnějšího tření [°]	14,70	-

Výsledky distribuce velikosti částic pro vstupní materiál jsou znázorněny na Grafu 1. Nejvyšší množství materiálu se zachytilo na síte o velikosti ok 200 µm. Výrazné množství materiálu bylo zachyceno na síte o velikosti ok 500 µm a 63 µm. Menší množství potom na síte menším než 63 µm a 1000 µm. Částice 1400 µm a větší se vyskytovaly v malém až zanedbatelném množství.

Graf 1: Distribuce velikosti částic pro vstupní materiál.



Výsledky mechanicko-fyzikálních vlastností vyrobených pelet ze zahradního odpadu jsou uvedeny v Tabulce 3.

Tabulka 3: Mechanicko-fyzikální vlastnosti vyrobených pelet ze zahradního odpadu.

Parametr	Hodnota
Vlhkost [%]	5,95±0,5
Pevnost [kg]	21,0±2,2
Mechanická odolnost [%]	98,0±0,2
Sypná hustota [kg/m <sup>3</sup> ]	550,0±6,5
Měrná hustota [kg/m <sup>3</sup> ]	1007,00±0,03
Index smáčivosti [%]	7,65±1,74

## Diskuze

Distribuce velikosti částic ovlivňuje průběh peletizace i výslednou kvalitu pelet. Z výsledků je patrné, že největší hmotnostní podíl představují částice o velikosti přibližně 200–500 µm, ale v materiálu jsou obsaženy i další velikosti částic, což může být považováno za optimální pro efektivní zhutnění biomasy. Podle studie, která se věnovala vlivu velikosti částic na zpracování biomasy je zřejmé, že materiály s různými velikostmi částic mají pozitivní vliv na pevnost v tlaku, hustotu a spotřebu energie během peletizace na rozdíl od materiálů, které obsahují pouze jednu velikost částic (Wang a kol., 2018). Výsledky distribuce velikosti částic pro zahradní odpad jsou ve shodě s touto studií, jelikož uvedené poznatky potvrzují, že směs částic různé velikosti přispívá k lepší pevnosti v tlaku, vyšší hustotě a efektivnějšímu průběhu peletizace ve srovnání s materiály tvořenými částicemi jedné velikosti.

Tokovost materiálu je taktéž důležitá při podávání a homogenizaci směsi před peletizováním. Na základě měření sypného úhlu, Hausnerova poměru a Carrova indexu lze materiál klasifikovat jako volně sypný. Tento režim toku může být příznivý pro rovnoměrné dávkování a stabilní proces peletizace. Podle výsledků tokovosti dle ffc se jedná o materiál lehce tekoucí, což naznačuje dostatečnou schopnost částic vzájemně se posouvat. Dostupné studie uvádějí, že špatná tokovost biomasy představuje problémy při manipulaci a jejím zpracování (Lu a kol., 2021). V případě listů jako materiálu vhodného pro peletizaci je tokovost klasifikována jako volně sypný materiál, takže by při peletizaci neměly nastávat problémy.

Zahradní odpad má nízký úhel vnějšího tření (14,7°). Pokud je úhel vnějšího tření nízký, snižuje se třecí odpor, opotřebení zařízení i energetická náročnost lisování. Příliš nízký úhel vnějšího tření může snižovat kohezi mezi částicemi, takže určitá míra tření je nutná pro vytvoření dostatečného tlaku a pevné vazby v peletě. Vlastnosti materiálu během peletizace mohou pomoci zlepšovat různá organická a anorganická pojiva (Butler a kol., 2023), která ale v tomto případě nebyla využita.

Vlhkost vstupního materiálu před peletizací se pohybovala kolem 9%. Před procesem peletizace byl nadrcený materiál navlhčen na 10 – 15%. V tomto rozmezí má materiál optimální vlhkost pro výrobu pelet s dobrými mechanicko-fyzikálními vlastnostmi (Ungureanu a kol., 2018).

Pevnost a mechanická odolnost pelet představují zásadní faktor jejich kvality a využitelnosti. Pro vyrobené pelety ze zahradního odpadu vycházejí tyto parametry velmi dobře i přesto, že na rozdíl od dřevěných pelet mají tyto materiály často nižší mechanickou odolnost. To může být způsobeno především odlišným chemickým složením a strukturou vstupní suroviny. Nedřevní biomasa obsahuje nižší podíl ligninu, který u dřeva funguje jako přirozené pojivo (Whittaker a Shield, 2017). Mechanická odolnost pro studované pelety ze zahradního odpadu je 98%. Pro srovnání pelety vyrobené ze slunečnicových slupek mají mechanickou odolnost kolem 95% (Dyjakon a kol., 2021). Lze tedy říci, že pelety ze zahradního odpadu mají dostatečnou pevnost a mechanickou odolnost pro manipulaci a dopravu.

Odolnost pelet proti absorpci vody je ovlivněna procesem peletizace. Vysoký tlak při lisování zvyšuje hustotu pelet a snižuje pórovitost, což omezuje pronikání vody. Vyšší teplota během peletizace uvolňuje lignin, který při ochlazení slepuje částice a vytváří pevnější, méně propustnou strukturu. Důležitá je také optimální vlhkost suroviny. Přídavek pojiv či aditiv může

zlepšovat soudržnost a odolnost proti vlhkosti. Index smáčivosti, který udává schopnost absorpce vlhkosti, je 7,65% pro pelety ze zahradního odpadu. Například pelety z kalu a melasy mají index smáčivosti 45,79% (Klinsukon a kol., 2025). Zde je vidět, že pelety vyrobené ze zahradního odpadu, který obsahoval převážně listí ze stromů a keřů, mají dobrou odolnost proti absorpci vody a jsou vhodné pro skladování.

### Závěr

Cílem výzkumu bylo charakterizovat zahradní odpad, který se skládal převážně z listí stromů a keřů, pro účely následné peletizace. Pro zahradní odpad byla naměřena sypná ( $179 \text{ kg/m}^3$ ) a setřesná hustota ( $229 \text{ kg/m}^3$ ). Z těchto hodnot byl vypočítán Hausnerův poměr (1,28) a Carrův index (21,83%). Vstupní materiál byl tímto klasifikován jako volně sypný. Tento režim toku materiálu může být vhodný pro rovnoměrné dávkování a stabilní proces peletizace. Dále byl změřen úhel vnitřního tření pro zahradní odpad ( $44,52^\circ$ ) a dle ffc (5,64) byl materiál klasifikován jako lehce tekoucí, což naznačuje dostatečnou schopnost částic vzájemně se posouvat. Pro zahradní odpad byla naměřena také kompresibilita a výsledky ukázaly, že se jedná o vysoce kompresibilní materiál. To znamená, že vstupní materiál je vysoce citlivý ke kompresi. Dalším stanoveným parametrem byl úhel vnějšího tření, jehož hodnota je relativně nízká ( $14,7^\circ$ ). Pokud je úhel vnějšího tření nízký, snižuje se třecí odpor, opotřebení zařízení i energetická náročnost lisování. Dále byla pro vstupní materiál naměřena distribuce velikosti částic, kdy největší množství materiálu mělo velikost částic přibližně 200 až 500  $\mu\text{m}$ . V materiálu ale byly obsaženy i jiné velikosti, kdy další největší skupinou byly částice o velikosti kolem 63  $\mu\text{m}$ . Materiály s různými velikostmi částic mají pozitivní vliv na proces peletizace oproti materiálům, které obsahují pouze jednu velikostní frakci.

Vyrobene pelety byly charakterizovány z hlediska mechanicko-fyzikálních vlastností. Byla naměřena pevnost (21 kg) a mechanická odolnost (98%), kdy bylo zjištěno, že pelety ze zahradního odpadu mají dostatečnou pevnost a mechanickou odolnost pro manipulaci s peletami a jejich dopravu. Naměřené hodnoty sypné a měrné hustoty pelet ( $550 \text{ kg/m}^3$  a  $1007 \text{ kg/m}^3$ ) ukazují, že pelety mají porézní strukturu a mezi jednotlivými částicemi zůstává vzduch, protože pelety nejsou dokonale stlačené během peletizace. Čím více vzduchu mezi nimi je, tím větší je rozdíl mezi sypnou a měrnou hustotou. Nakonec byla změřena odolnost proti absorpci vody, která byla určena pomocí indexu smáčivosti (7,65%). Zde je vidět, že pelety vyrobené ze zahradního odpadu, který obsahoval převážně listí ze stromů a keřů, mají dobrou odolnost proti absorpci vody a jsou vhodné pro skladování.

Zahradní odpad tvořený převážně listím ze stromů a keřů představuje cenný obnovitelný zdroj suroviny, který má mnohem větší potenciál než jen prosté kompostování. Jeho peletizací lze získat ekologické palivo s dobrou výhřevností, které je vhodné pro energetické využití. Tento způsob zpracování snižuje objem odpadu, usnadňuje manipulaci a zároveň podporuje principy cirkulární ekonomiky, tedy efektivní využívání dostupných zdrojů a jejich návrat do oběhu. Peletizace listí tak přispívá k udržitelnému hospodářství a šetrnějšímu přístupu k životnímu prostředí.

### Literatura

- Sykorova, V., Jezerska, L., Sassmanova, V., Honus, S., Peikertova, P., Kielar, J., Zidek, M., Biomass pellets with organic binders – before and after torrefaction. *Renew. Energy* 221 (2024), 1-10. [10.1016/j.renene.2023.119771](https://doi.org/10.1016/j.renene.2023.119771).
- Garcia, R., Gil, M.V., Rubiera, F., Pevida, C., Pelletization of wood and alternative residual biomass blends for producing industrial quality pellets. *Fuel* 251 (2019), 739-753. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.03.141>.
- Gutiérrez, J., Pérez, J.F., Pyrolysis and Combustion Kinetics of Garden Waste Pellets as Solid Biofuel for Thermochemical Energy Recovery. *Materials* 18 (2025), 1-23.

- <https://doi.org/10.3390/ma18071634>.
- Mašán, V., Burg, P., Souček, J., Slaný, V., Vašítk, L., Energy Potential of Urban Green Waste and the Possibility of Its Pelletization. *Sustainability* 15 (2023), 1-13. <https://doi.org/10.3390/su152316489>.
- Pňakovič, L., Dzurenda, L., Combustion characteristics of fallen fall leaves from ornamental trees in city and forest parks. *BioRes.* 10 (2015), 5563-5572. <https://doi.org/10.15376/biores.10.3.5563-5572>.
- Dikici, B., Saad, H.A.K., Zhao, B., Evaluating Flow Characteristics of Ground and Cut Biomass for Industrial Applications, *Powders* 3 (2024), 437-459. <https://doi.org/10.3390/powders3030024>.
- Lu, Y., Jin, W., Klinger, J.L., Dai, S., Effects of the Moisture Content on the Flow Behavior of Milled Woody Biomass. *ACS Sustain. Chem. Eng.* 11, (2023), 11482-11489. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.3c01344>.
- Lisowski, A., Matkowski, P., Dąbrowska, M., Piątek, M., Świętochowski, A., Klonowski, J., Mieszkalski, L., Reshetiuk, V., Particle Size Distribution and Physicochemical Properties of Pellets Made of Straw, Hay, and Their Blends. *Waste Biomass Valor.* 11 (2020), 63-75. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0458-8>.
- Rupasinghe, R.L., Perera, P., Bandara, R., Amarasekera, H., Vlosky, R., Insights into Properties of Biomass Energy Pellets Made from Mixtures of Woody and Non-Woody Biomass: A Meta-Analysis. *Energies* 17 (2024), 1-35. <https://doi.org/10.3390/en17010054>.
- Matkowski, P., Lisowski, A., Świętochowski, A., Characterisation of Wheat Straw Pellets Individually and in Combination with Cassava Starch or Calcium Carbonate under Various Compaction Conditions: Determination of Pellet Strength and Water Absorption Capacity. *Materials* 13 (2020), 1-15. <https://doi.org/10.3390/ma13194375>.
- Anisimov, Y.A., Steiger, B.G.K., Cree, D.E., Wilson, L.D., Moisture Content and Mechanical Properties of Bio-Waste Pellets for Fuel and/or Water Remediation Applications. *J. Compos. Sci.* 7 (2023), 1-15. <https://doi.org/10.3390/jcs7030100>.
- Ungureanu, N., Vladut, V., Volcu, G., Dinca, M.N., Zabava, B.S., Influence of biomass moisture content on pellet properties – review. *ERD* 2018, 1876-1883. <https://doi.org/10.22616/ERDev2018.17.N449>.
- Wang, Y., Wu, K., Sun, Y., Effects of raw material particle size on the briquetting process of rice straw. *J. Energy Inst.* 91 (2018), 153-162. <https://doi.org/10.1016/j.joei.2016.09.002>.
- Lu, Y., Jin, W., Klinger, J., Westover, T.L., Dai, S., Flow characterization of compressible biomass particles using multiscale experiments and a hypoplastic model. *Powder Technol.* 383 (2021), 396-409. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2021.01.027>.
- Butler, J.W., Skrivan, W., Lotfi, S., Identification of Optimal Binders for Torrefied Biomass Pellets. *Energies* 16 (2023), 1-23. <https://doi.org/10.3390/en16083390>.
- Whittaker, C., Shield, I., Factors affecting wood, energy grass and straw pellet durability – A review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 71 (2017), 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.12.119>.
- Dyjakon, A., Noszczyk, T., Mostek, A., Mechanical Durability and Grindability of Pellets after Torrefaction Process. *Energies* 14 (2021), 1-16. <https://doi.org/10.3390/en14206772>.
- Klinsukon, C., Boonlue, S., Juntahum, S., Laloon, K., Valorization of sugar industry waste into pelletized soil amendments for enhanced plant growth and soil improvement. *Results Eng.* 28 (2025), 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2025.107068>.

### **Poděkování**

Projekt č. SS07020061 „Výzkum procesů zahrnujících výrobu biopelet“ je spolufinancován se státní podporou Technologické agentury ČR v rámci programu Prostředí pro Život. Tento projekt je financován v rámci Národního plánu obnovy z evropského Nástroje pro oživení a odolnost. Tento článek vznikl za finanční podpory Evropské unie v rámci projektu REFRESH – Research Excellence For Region Sustainability and High-tech Industries, reg. č. CZ.10.03.01/00/22\_003/0000048, prostřednictvím Operačního programu Spravedlivá transformace. Tento článek je podpořen v rámci projektu „Odpady jako alternativní zdroj energie“, reg. číslo CZ.02.01.01/00/23\_021/0008590 v rámci Operačního programu Jan Amos Komenský.

### **Kontaktní adresa**

Ing. Veronika Sýkorová, Ing. Lucie Jezerská, PhD.  
VŠB-TUO, CEET, CENET  
17. listopadu 2172/15, 708 00 Ostrava-Poruba  
+420 596 999 361, veronika.sykorova@vsb.cz  
+420 596 999 430, lucie.jezerska@vsb.cz

## Ostatní sdělení

### Od prvních testů po výsledky – tři roky projektu Carbon Farming CE

From the first tests to results – three years of the Carbon Farming CE project

*Prudil J.<sup>1,2</sup>, Krejčí Š.<sup>1,3</sup>, Drda A.<sup>1,2</sup>, Šedová L.<sup>1</sup>, Vašínka M.<sup>4</sup>*

*<sup>1</sup>Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko, <sup>2</sup>Mendelova univerzita v Brně,*

*<sup>3</sup>Masarykova univerzita, <sup>4</sup>Agrovýzkum Rapotín s.r.o.*

#### Abstrakt

Zemědělství ve střední Evropě čelí naléhavé potřebě transformace směrem k udržitelnosti, která je klíčová pro dosažení klimatických cílů i zachování produkční funkce půd. Projekt Carbon Farming CE, financovaný z programu Interreg Central Europe, na tuto výzvu reaguje vytvořením uceleného rámce pro zavedení uhlíkového zemědělství do praxe. Cílem je ověřit účinnost vybraných agrotechnik pro sekvestraci uhlíku v půdě (SOC) a identifikovat funkční obchodní modely. Projekt kombinuje terénní experimenty v devíti zemích, vývoj standardizované metodiky monitoringu založené na modelu ICBM a úzkou spolupráci se zemědělci. První výsledky z českých lokalit prokazují pozitivní vliv aplikace kompostu a kombinace minimalizačního zpracování půdy s meziplodinami na obsah a stabilitu SOC a na vodní režim půdy.

**Klíčová slova:** uhlíkové zemědělství, sekvestrace uhlíku v půdě, půdní organická hmota, obchodní modely, střední Evropa

#### Abstract

Agriculture in Central Europe requires a fundamental transformation towards sustainability, which is essential for meeting climate targets and maintaining soil productivity. The Carbon Farming CE project, funded by the Interreg Central Europe programme, addresses this challenge by developing a comprehensive framework for the implementation of Carbon Farming. The project aims to verify the effectiveness of selected agricultural practices for soil organic carbon (SOC) sequestration and to identify viable business models for their adoption. It combines field experiments in nine countries, the development of a standardised monitoring methodology based on the ICBM model, and close collaboration with farmers. Initial results from Czech pilot sites demonstrate the positive impact of compost application and the combination of minimal tillage with cover crops on SOC content, its stability, and the soil water regime.

**Keywords:** Carbon Farming, soil organic carbon sequestration, soil organic matter, business models, Central Europe

#### Úvod

Zemědělství stojí na prahu zásadní transformace, která je nezbytná pro dosažení klimatických cílů a zároveň pro zachování produkční schopnosti našich půd. Koncept uhlíkového zemědělství představuje perspektivní cestu, jež propojuje environmentální, agronomické i ekonomické aspekty hospodaření. Jeho hlavním cílem je zvýšit obsah organického uhlíku v půdě (SOC), čímž přispívá ke zmírnění klimatických změn a zároveň zlepšuje úrodnost, vododržnost a stabilitu půdy.

Překážkou širšího rozšíření těchto praktik je často nejednoznačná účinnost v různých podmínkách, absence jednotného monitorovacího rámce a nejasná ekonomická návratnost. Mezinárodní projekt Carbon Farming CE, zahájený v dubnu 2023, si klade za cíl tyto bariéry překonat. Sdružuje jedenáct partnerů z devíti zemí střední Evropy s cílem vypracovat ucelený rámec pro zavedení uhlíkového zemědělství do běžné zemědělské praxe. Tento rámec zahrnuje ověření konkrétních technik, vytvoření metodiky monitoringu, testování obchodních modelů a

formulaci doporučení pro zemědělce i tvůrce politik. Tento článek představuje koncepci projektu, použité metodologie a první výsledky z pilotních lokalit v České republice.

### **Materiál a metody**

Přístup projektu vychází z logického rámce, který propojuje praktické testování, vědecké vyhodnocení a socio-ekonomickou analýzu.

1. Terénní experimenty: V každé zapojené zemi jsou na pilotních lokalitách testovány vybrané techniky uhlíkového zemědělství. Mezi ně patří: aplikace externích organických hnojiv (hnůj, kejda, kompost), přemísťování posklizňových zbytků, diverzifikace osevních sledů (podsevy, meziplodiny), zařazování agrolesnických systémů, omezení intenzivního zpracování půdy a vápnění kyselých půd. V České republice byly vybrány čtyři lokality (Blatnice, Mělčany, Bratčice, Troubsko), kde se konkrétně testovala povrchová aplikace kompostu, podsev žita svatojánského do kukuřice, bezorebné zpracování půdy se směsí meziplodin a přemísťování posklizňových zbytků netradiční plodiny (jestřabina východní).

2. Monitorování a modelování SOC: Pro věrohodné vyhodnocení sekvestrace uhlíku je vyvíjena standardizovaná metodika. Jejím základem je matematický model ICBM (Introductory Carbon Balance Model), který simuluje dynamiku SOC na základě vstupů (rostlinné zbytky, organická hnojiva) a výstupů (dekompozice) s ohledem na místní klimatické a půdní podmínky. Partneři z Univerzity v Boloni model kalibrují na datech z dlouhodobých pokusů a validují výsledky pomocí Bayesovského přístupu, který umožňuje zohlednit nejistoty v odhadech.

3. Analýza obchodních modelů: V každé zemi je hodnoceno pět typů obchodních modelů: model spolupráce vedený zemědělci, model v rámci agropotravinářského řetězce, model spolupráce mimo agropotravinářský řetězec, model vedený vládou a model orientovaný na přenos znalostí. Analýza se zaměřuje na jejich udržitelnost, přenositelnost a potenciál pro širší škálování.

### **Výsledky**

První data z českých pilotních lokalit ukazují měřitelné pozitivní efekty testovaných opatření. V Blatnici vedla aplikace kompostu nejen k navýšení celkového obsahu SOC, ale také k transformaci půdního humusu směrem k vyšší stabilitě, což se projevilo zvýšením poměru huminových kyselin k fulvokyselinám. Kompost navíc působil jako ochranná vrstva, která snížila výpar vody a zlepšila vodní bilanci půdy.

V Bratčicích se jako zvláště účinný ukázal kombinovaný přístup zahrnující minimalizační zpracování půdy a použití směsi meziplodin. Tato kombinace přispěla k ukládání uhlíku, posílila půdní strukturu a zvýšila retenci vody, což je zásadní zejména v kontextu probíhajících klimatických změn.

### **Diskuze**

Získané výsledky potvrzují hypotézu, že cílené zásahy mohou významně přispět k akumulaci uhlíku v půdě a zlepšení jejích funkcí. Transformace humusového profilu po aplikaci kompostu je obzvláště významná, neboť vyšší poměr huminových kyselin indikuje nejen kvantitativní, ale i kvalitativní zlepšení SOC, které je spojeno s delší dobou jeho setrvání v půdě. To zvyšuje dlouhodobý přínos tohoto opatření pro zmírňování změny klimatu.

Synergický efekt minimalizačního zpracování a meziplodin pozorovaný v Bratčicích zdůrazňuje výhody integrovaného přístupu. Zatímco minimalizace omezuje narušení půdy a erozi, meziplodiny zajišťují kontinuální přívod organické hmoty a podporují biologickou aktivitu. Tato kombinace tak vytváří resilientní agroekosystém, který je lépe přizpůsoben extrémním projevům počasí, jako je sucho.

Vývoj standardizované metodiky monitoringu pomocí modelu ICBM je klíčový pro věrohodné kvantifikování uhlíkových zásob a pro vytvoření důvěryhodného systému certifikace

uhlíkových kreditů. Kalibrace na dlouhodobých datech a použití Bayesovského přístupu zvyšuje robustnost a spolehlivost predikcí.

Testování obchodních modelů, jako je model založený na transferu znalostí v ČR, ukazuje, že pro úspěšnou adopci uhlíkového zemědělství je zásadní nejen agronomická účinnost, ale i ekonomická motivace a funkční znalostní síť. Propojení zemědělců, poradců a výzkumníků umožňuje vzájemnou výměnu zkušeností a optimalizaci postupů.

### **Závěr**

Projekt Carbon Farming CE představuje komplexní přístup k implementaci uhlíkového zemědělství v podmínkách střední Evropy. První výsledky z českých lokalit prokazují, že techniky jako aplikace kompostu a kombinace minimalizačního zpracování půdy s mezplodinami jsou účinné pro zvýšení zásob SOC, zlepšení jeho stability a posílení vodního režimu půdy. Klíčem k širšímu rozšíření těchto praktik je však vytvoření věrohodného systému pro monitorování sekvestrace uhlíku a identifikace ekonomicky životaschopných obchodních modelů. Projekt ukazuje, že úspěšný přechod k uhlíkovému zemědělství vyžaduje těsnou spolupráci mezi zemědělci, výzkumem, soukromým sektorem a veřejnou správou.

### **Poděkování**

Výsledek vznikl za podpory programu Interreg Central Europe, projekt CE0100255 a za podpory Ministerstva zemědělství, v rámci institucionální podpory MZe-RO1725 a za podpory projektem Technologické agentury ČR (TA ČR), projekt TJ02000068 „Využití bentonitu v lehkých půdách postižených suchem za účelem zvýšení výnosů a zúrodnění půd“ v programu ZÉTA a Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO1225

### **Kontaktní adresa**

Ing. Jakub Prudil  
Zemědělský výzkum, spol. s r.o.  
Zahradní 1, 664 41 Troubsko  
tel.: +420 547 138 822  
e-mail: prudil@vupt.cz

*Název publikace:* **Aktuální poznatky v pěstování, šlechtění, ochraně rostlin a zpracování produktů**

*Druh publikace:* **Vědecká příloha časopisu Úroda 12/2025**

*Autoři publikace:* **Kolektiv autorů dle obsahu**

*Editoři:* **Ing. Jakub Prudil  
Mgr. Helena Hutyrová**

*Forma:* **QR kod**

*Vydal:* **Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r.o. Troubsko  
Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko  
a Úroda 12/2025**

---

ISSN 0139-6013